

**ALEXANDRE KOPTE GARCIA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA DE FUNGOS FILAMENTOSOS DA  
COSTA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientadora: Dra. Lara Durães Sette

São Paulo  
2011

## RESUMO

GARCIA, A. K. **Avaliação da atividade lipolítica de fungos filamentosos da costa brasileira.** 2011. 55 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

A produção de compostos biologicamente ativos por micro-organismos marinhos tem atraído crescente interesse de biotecnólogos e microbiologistas nas últimas décadas, uma vez que os oceanos cobrem mais de 70% da superfície do planeta e constituem ambientes pouco explorados em relação a sua biodiversidade e recursos genéticos. A grande maioria dos compostos provenientes de fungos derivados de ambientes marinhos foi encontrada em fungos associados a invertebrados como esponjas, algas, tunicados e moluscos. Portanto, especula-se que muitos dos compostos de interesse biotecnológico encontrados em invertebrados marinhos sejam na verdade produzidos pela microbiota associada. Entre as biomoléculas pesquisadas, uma das que mais chama atenção são as lipases, devido a sua vasta gama de aplicações em diversos setores industriais, e também no ambiente. No presente trabalho 162 isolados de fungos filamentosos recuperados de amostras de água do mar e de dez diferentes macro-organismos marinhos (*Amphimedon viridis*, *Axinella corrugata*, *Chelonaplysilla erecta*, *Codium intertextum*, *Didemnum* sp., *Dragmacidon reticulata*, *Echinaster brasiliensis*, *Mycale laxissima*, *Petromica citrina* e uma estrela do mar não identificada) foram avaliados quanto a produção de lipases pelo método de *High Throughput Screening* (HTS). Destes, 45 isolados tiveram a produção de lipases confirmada individualmente, cerca de 28% dos fungos avaliados. Os invertebrados *Didemnum* sp., *D. reticulata* e *A. viridis* foram os que derivaram o maior número de fungos lipolíticos, totalizando 36 isolados. A atividade lipolítica foi quantificada, e os resultados sugerem que fungos filamentosos oriundos de ambientes marinhos tem maior potencial para produção de lipases estáveis em pH alcalino. Sete isolados apresentaram atividade de lipase maior que 1U em pH 8,0 e foram identificados e depositados na Coleção Brasileira de micro-organismos de Ambiente e Indústria (CBMAI). Entre estes, *Fusarium* sp. CBMAI 1227, *Aspergillus parasiticus* CBMAI 1228 e *Trichoderma* sp. CBMAI 1229 apresentaram atividade expressiva e de interesse biotecnológico em pH 8,0 (23,1, 12,7 e 12,2 U respectivamente). Adicionalmente, os três isolados passaram por avaliação da atividade emulsificante, porém, não apresentaram resultados significativos, justificando a realização de novos estudos acerca da produção destes compostos por fungos filamentosos de origem marinha. Os resultados

deste trabalho demonstram o potencial dos fungos provenientes de ambiente marinho para aplicações biotecnológicas, e estimulam novos estudos de caracterização enzimática, detecção e caracterização de genes que codificam para a produção de lipases, bem como de otimização e produção destas enzimas em escala industrial.

**Palavras-chave:** Fungos marinhos. Bioprospecção. Lipase. Emulsificante. Biorremediação.

## ABSTRACT

GARCIA, A. K. **Evaluation of the lipolytic activity of filamentous fungi from the Brazilian coast.** 2011. 55 p. Master thesis (Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

The production of biologically active compounds by marine microorganisms has been drawing increasing interest of biotechnologists and microbiologists in the last decades, since the oceans cover more than 70% of the planet's surface and are underexplored in relation to their biodiversity and genetic resources. Most of the compounds from marine-derived fungi were found in fungi associated to invertebrates such as sponges, algae, tunicates and mollusks. Thereby, it has been speculated that many of the biotechnologically-interesting compounds found in marine invertebrates are in fact produced by the associated microorganisms. Among the studied biomolecules, one that draws greater attention is the lipase, due to their wide range of applications in many industries, and in the environment as well. In the present work 162 filamentous fungi isolates recovered from water samples and ten different marine macroorganisms (*Amphimedon viridis*, *Axinella corrugata*, *Chelonaplysilla erecta*, *Codium intertextum*, *Didemnum* sp., *Dragmacidon reticulata*, *Echinaster brasiliensis*, *Mycale laxissima*, *Petromica citrina* and one unidentified starfish) were evaluated for the production of lipases by the method of High Throughput Screening (HTS). Out of those, 45 had the lipase production individually confirmed, about 28% of the total fungi studied. The macroorganisms *Didemnum* sp., *D. reticulata* and *A. viridis* were the ones that derived the greatest number of lipolytic fungi, totalizing 36 isolates. The lipolytic activity was quantified, and the results suggest that marine-derived filamentous fungi have a greater potential for the production of lipases stable under alkaline pH. Seven isolates showed activity greater than 1U in pH 8,0 and were identified and deposited in the Brazilian Collection of Environmental and Industrial Microorganisms (CBMAI). Among these, *Fusarium* sp. CBMAI 1227, *Aspergillus parasiticus* CBMAI 1228 and *Trichoderma* sp. CBMAI 1229 showed expressive and biologically interesting activity in pH 8,0 (23,1, 12,7 and 12,2 U respectively). Additionally, the three isolates had their emulsification activity evaluated, but did not show significant results, justifying new studies concerning the production of those compounds by marine-derived fungi. The results of the present work show the potential of marine-derived fungi in biotechnological applications, and stimulate new studies of enzymatic characterization, lipase-encoding genes detection and characterization, as well as the optimization and production of those enzymes in industrial scale.

**Keywords:** Marine fungi. Bioprospection. Lipase. Emulsifier. Bioremediation.

## ***1 INTRODUÇÃO***

Os micro-organismos derivados de ambientes marinhos transformaram-se em uma fonte muito importante de recursos genéticos para aplicação em biotecnologia, pois por pertencerem a ambientes ainda pouco explorados, podem representar a descoberta de novas drogas ou novos compostos de interesse. Devido ao fato de a micologia marinha ser uma ciência relativamente recente e de pouco se conhecer sobre a natureza biológica dos fungos marinhos, este grupo de organismos tem sido foco de estudos de biodiversidade e bioprospecção de compostos de interesse industrial.

Entre os compostos que despertam crescente interesse encontram-se as lipases. Estas são enzimas de grande potencial econômico com aplicações em diversos setores industriais, incluindo as indústrias alimentícias e de bebidas, química e farmacêutica, papelreira, cosmética, de couro, entre outras. Além das diversas aplicações das lipases, cabe ressaltar que o isolamento e seleção de micro-organismos de ambientes marinhos produtores destas enzimas, visando sua aplicação em processos de degradação de hidrocarbonetos resultantes de derramamento acidental nos oceanos, são estrategicamente muito interessantes, uma vez que estes organismos já estão adaptados às condições destes ambientes. Em contrapartida os fungos filamentosos derivados de ambientes marinhos são pouco estudados em relação à produção de lipases se comparados a bactérias e leveduras.

Surfactantes e emulsificantes são compostos que, assim como as lipases, tem diversas aplicações em setores como a indústria farmacêutica, de cosméticos, petrolífera e alimentícia, entre outras, além de encontrarem aplicação na bioremediação de hidrocarbonetos. Porém, a maioria dos surfactantes e emulsificantes conhecidos e utilizados é derivada do petróleo. Estes compostos não são facilmente biodegradados e sua produção gera subprodutos danosos ao meio ambiente. Os biosurfactantes e bioemulsificantes produzidos por micro-organismos apresentam uma série de vantagens sobre os sintéticos, além de atenderem a normas ambientais cada vez mais rígidas para diversas aplicações. Como são biodegradáveis, podem ser produzidos em larga escala por micro-organismos e não dependem do petróleo, podendo substituir os surfactantes sintéticos utilizados tradicionalmente em algumas aplicações. Entretanto, estudos avaliando a produção de surfactantes e emulsificantes por fungos filamentosos ainda são escassos, e em menor escala ainda os que envolvem fungos isolados de ambientes marinhos.

Neste contexto, a Divisão de Recursos Microbianos do CPQBA/UNICAMP vem participando e desenvolvendo projetos de pesquisas que envolvem isolamento, avaliação do potencial biotecnológico, caracterização taxonômica e preservação de fungos derivados de ambientes marinhos, sob a Coordenação e/ou participação da Dra. Lara Durães Sette.

Encontram-se preservados em nosso laboratório (CBMAI/DRM – CPQBA/UNICAMP), cerca de 800 isolados de fungos filamentosos recuperados de amostras marinhas (água do mar, invertebrados, alga, corais) da região de São Sebastião/Ilhabela-SP no âmbito dos projetos Fapesp 05/51213-8 “Fungos derivados de ambientes marinhos: isolamento, caracterização taxonômica e avaliação do potencial biotecnológico” (coordenado pela Dra. Lara D. Sette) e Temático Fapesp 05/60175-2 “Descoberta e desenvolvimento de potenciais agentes quimioterapêuticos a partir de invertebrados marinhos e de micro-organismos associados” (processo 05/60175-2), sob coordenação do Dr. Roberto Gomes de Souza Berlinck (IQ-USP/SC), do qual este trabalho também faz parte.

Assim, o presente projeto utilizou fungos filamentosos derivados de ambiente marinho visando os seguintes objetivos: a) isolamento de fungos filamentosos a partir de amostras de água do mar e de macro-organismos marinhos; b) seleção de fungos lipolíticos; c) avaliação da produção e quantificação da atividade lipolítica produzida pelos isolados selecionados; d) avaliação da atividade de emulsificação dos isolados que apresentaram melhores resultados de atividade lipolítica e e) caracterização taxonômica dos isolados que apresentaram potencial para utilização em processos biotecnológicos.

## 6 CONCLUSÕES

- O método de seleção dos fungos filamentosos derivados marinhos lipolíticos, baseado em triagem de alto desempenho e confirmação individual, foi empregado com sucesso no presente estudo, resultando na obtenção de 45 fungos lipolíticos (28% do total de 162 isolados avaliados);
- Os invertebrados marinhos *Didemnum* sp., *Dragmacidon reticulata* e *Amphimedon viridis* se mostraram fontes potenciais de fungos filamentosos com atividade lipolítica;
- Os resultados de quantificação da atividade lipolítica sugerem que fungos filamentosos derivados de ambientes marinhos tem maior potencial para produção de lipases estáveis em pH alcalino do que ácido;
- Os fungos *Fusarium* sp. CBMAI 1227, *Aspergillus parasiticus* CBMAI 1228 e *Trichoderma* sp. CBMAI 1229 apresentaram atividade lipolítica expressiva em pH alcalino;
- Nas condições em que foram avaliados, os fungos *Fusarium* sp. CBMAI 1227, *Aspergillus parasiticus* CBMAI 1228 e *Trichoderma* sp. CBMAI 1229 não apresentaram atividade emulsificante significativa, justificando a realização de mais estudos acerca da produção destes compostos por fungos filamentosos de origem marinha;
- Os resultados do presente estudo demonstram o potencial dos fungos derivados de ambiente marinho para aplicação biotecnológica e estimulam novos estudos de caracterização enzimática, detecção e caracterização de genes que codificam para a produção das lipases, bem como de otimização e produção destas enzimas em escala industrial.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

ABARCA, M. L.; ACCENSI, F.; CANO, J.; CABAÑES, F. J. Taxonomy and significance of Black aspergilli. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 86, n. 1, p. 33-49, 2004.

ABLITZ, P.; FUKUSHIMA, K.; TAKIZAWA, K.; NISHIMURA, K. Identification of pathogenic dematiaceous fungi and related taxa based on large subunit ribosomal DNA D1/D2 domain sequence analysis. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 41-49, 2004.

ADENKUNLE, A. A.; ADEBAMBO, O. A. Petroleum hydrocarbon utilization by fungi isolated from *Detarium senegalense* (J. F. Gmelin) seeds. **Journal of American Science**, Lansing, v. 3, n. 1, p. 69-76, 2007.

ALVES, A. C.; CARDOSO, J. J. F.; ALMEIDA, M. A. P.; MELO, C. K.; LOUZEIRO, H. C.; CÁRDIAS, H. T. C. Reaproveitamento de lipase imobilizada na transesterificação do óleo de babaçu. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL, 1., 2006, Brasília. **Anais...** Brasília: MCT/ABIPITI, 2006. p. 85-89.

ATLAS, R. M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. **Microbiological Reviews**, v. 45, n. 1, p. 180-209, 1981.

BAHARUM, S. N.; BENG, E. K.; MOKHTAR, M. A. A. Marine microorganisms: potential applications and challenges. **Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 6, p. 555-564, 2010.

BERLINCK, R. G. S.; HAJDU, E.; DA ROCHA, R. M.; DE OLIVEIRA, J. H. H. L.; HERNÁNDEZ, I. L. C.; SELEGHIM, M. H. R.; GRANATO, A. C.; DE ALMEIDA, É. V. R.; NUÑEZ, C. V.; MURICY, G.; PEIXINHO, S.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; CAVALCANTI, B. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; THIEMANN, O.; SILVA, M.; SOUZA, A. O.; SILVA, C. L.; MINARINI, P. R. R. Challenges and rewards of research in marine natural products chemistry in Brazil. **Journal of Natural Products**, Columbus, v. 67, n. 3, p. 510-522, 2004.

BISEN, P. S.; SANODIYA, B. S.; THAKUR, G. S.; BAGHEL, R. K.; PRASAD, G. B. K. S. Biodiesel production with special emphasis on lipase-catalyzed transesterification. **Biotechnology Letters**, v. 32, p. 1019-1030, 2010.

---

<sup>1</sup> De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.



BONUGLI-SANTOS, R. C. Avaliação do potencial biosurfactante de fungos filamentosos associados a cnidários marinhos com atividade de degradação de HPAs. **Microbiologia in Foco**, n. 7, p. 12-17, 2009.

BOSCH, M. P.; ROBERT, M.; MERCADÉ, M. E.; ESPUNY, M. J.; PARRA, J. L.; GUINEA, J. . Surface active compounds on microbial cultures. **Tenside Surfactants Detergents**, v. 25, n. 4, p. 208-211, 1988.

BUGNI, T. S.; IRELAND, C. M. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. **Natural Product Reports**, v. 21, p. 143-163, 2004.

BULL, A. T.; WARD, A. C.; GOODFELLOW, M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 3, p. 573-606, 2000.

CAVALCANTI, E. D. C.; GUTARRA, M. L. E.; FREIRE, D. M. G.; CASTILHO, L. R.; SANT'ANNA JÚNIOR, G. L. Lipase production by solid-state fermentation in fixed-bed bioreactors. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 79-84, 2005. Número especial.

CHOI, S.; HWANG, J. M.; KIM, S. I. A colorimetric microplate assay method for high throughput analysis of lipase activity. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 36, n. 4, p. 417-420, 2003.

CIRIGLIANO, M. C.; CARMAN, G. M. Isolation of a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 747-750, out. 1984.

COLIN, V. L.; BAIGORÍ, M. D.; PERA, L. M. Bioemulsifier production by *Aspergillus niger* MYA 135: presumptive role of iron and phosphate on emulsifying ability. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2010. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/39g23u3t78800841/>>. Acesso em: 8 jan. 2011.

COSTA NETO, P. R. **Obtenção de ésteres alquílicos (biodiesel) por via enzimática a partir de óleo de soja**. 2002. 152 f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

CRUZ, L. J.; INSUA, M. M.; BAZ, J. P.; TRUJILLO, M.; RODRIGUEZ-MIAS, R. A.; OLIVEIRA, E.; GIRALT, E.; ALBERICIO, F.; CAÑEDO, L. M. IB-01212, a new cytotoxic cyclodepsipeptide isolated from the marine fungus *Clonostachys* sp. ESNA-A009. **Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 9, p. 3335-3338, 2006.

DAS, S.; LYLA, P. S.; KHAN, A. Marine microbial diversity and ecology: importance and future perspectives. **Current Science**, v. 90, n. 10, p. 1325-1335, 2006.

DAVIES-COLEMAN, M. T.; BEUKES, D. R. Ten years of marine natural product research at Rhodes university. **South African Journal of Science**, n. 100, p. 539-544, 2004.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FIGUERAS, M. J. **Atlas of Clinical Fungi**. Reus: Universitat Rovira i Virgili, 2000.

DE MARÍA, P. D.; CARBONI-OERLEMANS, C.; TUIN, B.; BARGEMAN, G.; VAN DER MEER, A.; VAN GEMERT, R. Biotechnological applications of *Candida Antarctica* lipase A: state-of-the-art. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 37, p. 36-46, 2005.

DE OLIVEIRA, B. H.; CORADI, G. V.; NETO, P. O.; LIMA, V. M. G. Produção e caracterização de lipase produzida por *Fusarium* sp. e sua aplicação na produção de biodiesel. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 21., 2009, São José do Rio Preto. **Anais...** São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista, 2009.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T-H. **Compendium of Soil Fungi**. London: Academic Press, 1980. 859 p.

FERRER, M.; PLOU, F. J.; NUERO, O. M.; REYES, F.; BALLESTEROS, A. Purification and properties of a lipase from *Penicillium chrysogenum* isolated from industrial wastes. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 75, p. 569-576, 2000.

GESNER, S.; COHEN, N.; ILAN, M.; YARDEN, O.; CARMELI, S. Pandangolide 1a, a metabolite of the sponge-associated fungus *Cladosporium* sp., and the absolute stereochemistry of Pandangolide 1 and *iso*-Cladospolide B. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 9, p. 1350-1353, 2005.

GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 3, p. 454-500, 1999.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 235-251, 2006.

HÖLLER, U.; WRIGHT, A. D.; MATTHEE, G. F.; KONIG, G. M.; DRAEGER, S.; AUST, H.; SCHULZ, B. Fungi from marine sponges: diversity, biological activity and secondary metabolites. **Mycological Research**, v. 104, n. 11, p. 1354-1365, 2000.

HOUDE, A.; KADEMI, A.; LEBLANC, D. Lipases and their industrial applications. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 118, n. 1-3, p. 155-170, 2004.

IMHOFF, J. F. New natural products from marine microorganisms. **IFM-Geomar Report 2002-2004**, p. 44-46, 2005.

JAEGER, K-E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 390-397, 2002.

JAEGER, K-E.; REETZ, M. T. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 16, p. 396-403, 1998.

JENSEN, R. G.; MARKS, T. A.; SAMPUGNA, J.; QUINN, J. G.; CARPENTER, D. L. Purification of triglycerides with an alumina column. **Lipids**, v. 1, n. 6, p. 451-452, 1966.

JHA, R. K.; ZI-RONG, X. Biomedical compounds from marine organisms. **Marine Drugs**, v. 2, p. 123-146, 2004.

JOSEPH, B.; RAMTEKE, P. W.; THOMAS, G.; SHRIVASTAVA, N. Standard review cold-active microbial lipases: a versatile tool for industrial applications. **Biotechnology and Molecular Biology Reviews**, v. 2, n. 2, p. 39-48, 2007.

KASHMIRI, M. A.; ADNAN, A.; BUTT, B. W. Production, purification and partial characterization of lipase from *Trichoderma viride*. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 10, p. 878-882, 2006.

KELECOM, A. Secondary metabolites from marine microorganisms. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 74, n. 1, p. 151-170, 2002.

KIRK, P. W.; GORDON, A. S. Hydrocarbon degradation by filamentous marine higher fungi. **Mycologia**, v. 80, n. 6, p. 776-782, 1988.

KLICH, M. A.; PITT, J. I. **A Laboratory Guide to Common *Aspergillus* Species And Their Teleomorphs**. New South Wales: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 1988. 116 p.

KOBAYASHI, M.; KITAGAWA, I. Bioactive substances isolated from marine sponge, a miniature conglomerate of various organisms. **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n. 4, p. 819-826, 1994.

KÖNIG, G. M.; KEHRAUS, S.; SEIBERT, S. F.; ABDEL-LATEFF, A.; MÜLLER, D. Natural products from marine organisms and their associated microbes. **ChemBioChem**, v. 7, p. 229-238, 2006.

KOUKER, G.; JAEGER, K-E. Specific and sensitive plate assay for bacterial lipases. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 211-213, 1987.

LEAHY, J. G.; COLWELL, R. R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. **Microbiological Reviews**, v. 54, n. 3, p. 305-315, 1990.

LEMOS, J. L. S.; RIZZO, A. C.; MILLIOLI, V. S.; SORIANO, A. U.; SARQUIS, M. I. M.; SANTOS, R. Petroleum degradation by filamentous fungi. In: INTERNATIONAL PETROLEUM ENVIRONMENTAL CONFERENCE, 9., 2002, Albuquerque. **Anais...** Albuquerque: Integrated Petroleum Environmental Consortium, 2002.

LIPTON, A. P. Marine bioactive compounds and their applications in mariculture. **Environmental Management Capacity Building Technical Assistance Project – Environmental Information System Newsletter**, v. 2, n. 4, p. 2-12, 2003.

LOBUGLIO, K. F.; TAYLOR, J. W. Phylogeny and PCR identification of the human pathogenic fungus *Penicillium maeneffeii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 85-89, 1995.

LUNA-VELASCO, M. A.; ESPARZA-GARCÍA, F.; CAÑÍZARES-VILLANUEVA, R. O.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R. Production and properties of a bioemulsifier synthesized by phenanthrene-degrading *Penicillium* sp. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 310-314, 2007.

MacGILLIVRAY, A. R.; SHIARIS, M. P. Biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons by yeasts isolated from coastal sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 5, p. 1613-1618, 1993.

MAIA, M. M. D.; DE MORAIS, M. M. C.; MORAIS JÚNIOR, M. A.; MELO, E. H. M.; LIMA FILHO, J. L. Production of extracellular lipase by the phytopathogenic fungus *Fusarium solani* FS1. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 30, n. 4, p. 304-309, 1999.

MALISZEWSKA, I.; MASTALERZ, P. Production and some properties of lipase from *Penicillium citrinum*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 14, n. 3, p. 190-193, 1992.

MANEERAT, S. Biosurfactants from marine microorganisms. **Songklanakarin Journal of Science & Technology**, v. 27, n. 6, p. 1263-1272, 2005.

MARSHALL, M. N.; COCOLIN, L.; MILLS, D. A.; VANDERGHEYNST, J. S. Evaluation of PCR primers for denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities in compost. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, n. 5, p. 934-948, 2003.

MARTINS, V. G.; KALIL, S. J.; COSTA, J. A. V. Co-produção de lipase e biossurfactante em estado sólido para utilização em biorremediação de óleos vegetais e hidrocarbonetos. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1942-1947, 2008.

MAYER, A. M. S.; HAMANN, M. T. Marine Pharmacology in 2000: Marine Compounds with Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti-inflammatory, Antimalarial, Antiplatelet, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting the Cardiovascular, Immune, and Nervous Systems and Other Miscellaneous Mechanisms of Action. **Marine Biotechnology**, v. 6, p. 37-52, 2004.

MAYER, A. M. S.; LEHMANN, V. K. B. Marine pharmacology in 1998: Marine Compounds with Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti-inflammatory, Anthelmintic, Antiplatelet, Antiprotozoal, and Antiviral Activities; with actions on the Cardiovascular, Endocrine, Immune, and Nervous Systems; and other Miscellaneous Mechanisms of Action. **The Pharmacologist**, v. 42, n. 2, p. 62-69, 2000.

MENEZES, C. B. A.; BONUGLI-SANTOS, R. C.; MIQUELETTI, P. B.; PASSARINI, M. R. Z.; SILVA, C. H. D.; JUSTO, M. R.; LEAL, R. R.; FANTINATTI-GARBOGGINI, F.; OLIVEIRA, V. M.; BERLINCK, R. G. S.; SETTE, L. D. Microbial Diversity associated with algae, ascidians and sponges from the north coast of São Paulo state, Brasil. **Microbiological Research**, v. 165, n. 6, p. 466-482, 2010.

MUNN, C. B. **Marine Microbiology: ecology & applications**. Londres: BIOS Scientific Publishers, 2004.

NELSON, L. A.; FOGLIA, T. A.; MARMER, W. N. Lipase-catalyzed production of biodiesel. **Journal Of The American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 8, p. 1191-1195, 1996.

NELSON, P. E.; TOUSSOUN, T. A.; MARASAS, W. F. O. **Fusarium Species: an illustrated manual for identification**. University Park: The Pennsylvania State University Press, 1983.

NERURKAR, A. S.; HINGURAO, K. S.; SUTHAR, H. G. Bioemulsifiers from marine microorganisms. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v. 68, p. 273-277, 2009.

PANG, K.; MITCHELL, J. I. Molecular approaches for assessing fungal diversity in marine substrata. **Botanica Marina**, v. 48, p. 332-347, 2005.

PASSARINI, M. R. Z.; RODRIGUES, M. V. N.; DA SILVA, M.; SETTE, L. D. Marine-derived filamentous fungi and their potential application for polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. **Marine Pollution Bulletin**, 2010. In press.

PASTORE, G. M.; DA COSTA, V. S. R.; KOBLITZ, M. G. B. Purificação parcial e caracterização bioquímica de lipase extracelular produzida por nova linhagem de *Rhizopus* sp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 135-140, 2003.

PEINTNER, U.; MOSER, M. M.; THOMAS, K. A.; MANIMOHAN, P. First records of ectomycorrhizal *Cortinarius* species (*Agaricales*, *Basidiomycetes*) from tropical India and their phylogenetic position based on rDNA ITS sequences. **Mycological Research**, Amsterdam, v. 107, p. 485-494, 2003.

PERA, L. M.; ROMERO, C. M.; BAIGORI, M. D.; CASTRO, G. R. Catalytic properties of lipase extracts from *Aspergillus niger*. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, n. 2, p. 247-252, 2006.

PIMENTEL, M. C. B.; LEÃO, A. B. F.; MELO, E. H. M.; LEDINGHAM, W. M.; LIMA FILHO, J. L.; KENNEDY, J. F. Immobilization of *Penicillium citrinum* lipase on ferromagnetic azide-dacron. **Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 228-233, 2006.

PIMENTEL, M. C. B.; MELO, E. H. M.; LIMA FILHO, J. L.; LEDINGHAM, W. M.; DURÁN, N. Lipase from a Brazilian strain *Penicillium citrinum* cultured in a simple and inexpensive medium – heat denaturation, kinetics and pH stability. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 66, n. 2, p. 185-195, 1997.

PITT, J. I. **The Genus *Penicillium* And Its Teleomorphic States *Eupenicillium* And *Talaromyces***. London: Academic Press, 1979. 634 p.

PRASANNARAI, K.; SRIDHAR, K. R. Diversity and abundance of higher marine fungi on woody substrates along the west coast of India. **Current Science**, v. 81, n. 3, p. 304-311, 2001.

PROKSCH, P.; EBEL, R.; EDRADA, R. A.; SCHUPP, P.; LIN, W. H.; SUDARSONO; WRAY, V.; STEUBE, K. Detection of pharmacologically active natural products using ecology. Selected examples from Indopacific marine invertebrates and sponge-derived fungi. **Pure and Applied Chemistry**, v. 75, n. 2-3, p. 343-352, 2003.

PROSKOVÁ, A.; KOPICOVÁ, Z.; KUCERA, J.; SKARKOVÁ, L. Lipase-catalyzed transesterification of rendering plant fat – short communication. **Research in Agricultural Engineering**, v. 56, n. 3, p. 122-125, 2010.

- RAGHUKUMAR, C. Diversity and adaptations of deep-sea microorganisms. In: SATYANARAYANA, T.; JOHRI, B. N. **Microbial Diversity: Current Perspectives and Potential Applications**, New Delhi: I. K. International Publishing House Pvt. Ltd., 2005. p. 1-23.
- RAJESH, E. M.; ARTHE, R.; RAJENDRAN, R.; BALAKUMAR, C.; PRADEEPA, N.; ANITHA, S. Investigation of lipase production by *Trichoderma reesei* and optimization of production parameters. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 9, n. 7, p. 1177-1189, 2010.
- RESEARCHERS study lipase applications. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 9, p. 1234, 1987.
- RHEINHEIMER, G. **Microbiologia de las Aguas**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1987.
- ROBERTS, R. G.; MORRISON III, W. H.; ROBERTSON, J. A. Extracellular lipase production by fungi from sunflower seed. **Mycologia**, v. 79, n. 2, p. 265-273, 1987.
- RODRIGUES, R. C. **Síntese de biodiesel através de transesterificação enzimática de óleos vegetais catalisada por lipase imobilizada por ligação covalente multipontual**. 2009. 171 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- SABU, A. Sources, properties and applications of microbial therapeutic enzymes. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 334-341, 2003.
- SAFFO, M. B. Distribution of endosymbiont *Nephromyces giard* within the ascidian family Molgulidae. **Biology Bulletin**, v. 162, p. 95-104, 1982.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C. **Introduction to Food- and Airborne Fungi**. 6th ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002. 389 p.
- SANDOVAL, G.; RIVERA, I.; CASAS, L.; SÁNCHEZ, I. Biodiesel synthesis from waste lipids catalyzed by immobilized lipases. In: CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA 13., 2009, Acapulco. **Trabajos...** Acapulco: Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, 2009.
- SARUBBO, L. A.; DE LUNA, J. M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. C. Production and stability studies of the bioemulsifier obtained from a new strain of *Candida glabrata* UCP 1002. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 400-406, 2006.

SAVITHA, J.; SRIVIDYA, S.; JAGAT, R.; PAYAL, P.; PRIYANKI, S.; RASHMI, G. W.; ROSHINI, K. T.; SHANTALA, Y. M. Identification of potential fungal strain(s) for the production of inducible, extracellular and alkalophilic lipase. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 5, p. 564-568, 2007.

SAVITHA, J.; RATLEDGE, C. An inducible, intracellular, alkalophilic lipase in *Aspergillus flavipes* grown on triacylglycerols. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 8, p. 129-131, 1992.

SAXENA, R. K.; GHOSH, P. K.; GUPTA, R.; DAVIDSON, W. S.; BRADDOO, S.; GULATI, R. Microbial lipases: potential biocatalysts for the future industry. **Current Science**, Bangalore, v. 77, n. 1, p. 101-115, 1999.

SAXENA, R. K.; DAVIDSON, W. S.; SHEORAN, A.; GIRI, B. Purification and characterization of an alkaline thermostable lipase from *Aspergillus carneus*. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 239-247, 2003.

SCHABEREITER-GURTNER, C.; PIÑAR, G.; LUBITZ, W.; RÖLLEKE, S. Analysis of fungal communities on historical church window glass by denaturing gradient gel electrophoresis and phylogenetic 18 rDNA sequence analysis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 47, p. 345-354, 2001.

SCHMID, R. D.; VERGER, R. Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 37, p. 1608-1633, 1998.

SEITZ, E. W. Industrial application of microbial lipases: a review. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 51, p. 12-16, 1974.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 627-662, 2001.

SHIGEMORI, H.; KASAI, Y.; KOMATSU, K.; TSUDA, M.; MIKAMI, Y.; KOBAYASHI, J. Sporiolides A and B, new cytotoxic twelve-membered macrolides from a marine-derived fungus *Cladosporium* species. **Marine Drugs**, v. 2, p. 164-169, 2004.

SHIVAJI, S.; PRASAD, G. S. Antarctic yeasts: biodiversity and potential applications. In: SATYANARAYANA, T.; KUNZE, G. (Ed.). **Yeast Biotechnology: Diversity and Applications**. New Delhi: Springer Science, 2009. p. 3-18.

SHU, Z.; YANG, J.; YAN, Y. Purification and characterization of a lipase from *Aspergillus niger* F044. **Chinese Journal of Biotechnology**, v. 23, n. 1, p. 96-101, 2007.



STERFLINGER, K.; PRILLINGER, H. Molecular taxonomy and biodiversity of rock fungal communities in an urban environment (Vienna, Austria). **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 80, p. 275-286, 2001.

SUTAR, R.; DAVID, J. K.; GANESAN, K.; GHOSH, A. K.; SINGHI, S.; CHAKRABARTI, A.; BACHHAWAT, A. K. Comparasion of ITS and IGS regions for strain typing of clinical and non-clinical isolates of *Pichia anomal*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 53, p. 1-5, 2004.

TAYLOR, M. W.; RADAX, R.; STEGER, D.; WAGNER, M. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology and biotechnological potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 71, n. 2, p. 295-347, 2007.

THAKUR, N. L.; MÜLLER, W. E. G. Biotechnological potential of marine sponges. **Current Science**, v. 86, n. 11, p. 1506-1512, 2004.

VASCONCELLOS, S. P. **Atividades enzimáticas e de biodegradação de microrganismos do petróleo da Bacia de Campos (Pampo Sul)**. 2006. 238 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

WANDREY, C.; LIESE, A.; KIHUMBU, D. Industrial biocatalysis: past, present and future. **Organic Process Research and Development**, v. 4, n. 4, p. 286-290, 2000.

WILLUMSEN, P. A.; KARLSON, U. Screening of bacteria, isolated from PAH-contaminated soils, for production of biosurfactants and bioemulsifiers. **Biodegradation**, v. 7, p. 415-423, 1997.

YOUSSEF, D. Marine biotechnology in Egypt. In: **BIOACTIVE NATURAL PRODUCTS: CURRENT STATUS AND FUTURE SCENARIOS**, 2007, Cairo. **Abstracts...** Cairo: National Research Center, 2007. p. 14.