



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



ERIKA PINTO SILVA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS DO SEMIÁRIDO
BAIANO PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS**

Feira de Santana, BA.

2025

ERIKA PINTO SILVA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS DO SEMIÁRIDO
BAIANO PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profª. Dra. Raquel Guimarães Benevides

Feira de Santana, BA.

2025

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

Silva, Erika Pinto

S579p Potencial biotecnológico de leveduras do semiárido baiano para produção de enzimas hidrolíticas / Erika Pinto Silva. - 2025.
73f. : il

Orientadora: Raquel Guimarães Benevides

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2025.

1. Hidrolases. 2. Fungos. 3. Bioprospecção. 4. Atividade enzimática.
5. Solo. 6. Microorganismo. I. Benevides, Raquel Guimarães, orient. II.
Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia. III. Título.

CDU: 582.28

Erika Pinto Silva

**Potencial biotecnológico de leveduras do semiárido
Baiano para produção de enzimas hidrolíticas.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de mestre.

Feira de Santana, Bahia, 25 de setembro de 2025

Documento assinado digitalmente
 **RAQUEL GUIMARAES BENEVIDES**
Data: 25/09/2025 11:14:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientadora: Prof^a. Dr^a. **Raquel Guimarães Benevides**

Universidade Federal do Ceará

Documento assinado digitalmente
 **DANIELE DE OLIVEIRA BEZERRA DE SOUSA**
Data: 02/10/2025 13:33:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Prof^a. Dr^a. **Daniele de Oliveira Bezerra de Sousa**

Universidade Federal do Ceará

Documento assinado digitalmente
 **PATRICIA TEIXEIRA DAMASCENO LOBO**
Data: 06/10/2025 11:14:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro: Prof^a. Dr^a. **Patricia Teixeira Damasceno Lobo**

Universidade Estadual de Feira de Santana

Dedico este trabalho à memória do meu avô Roque († 30 de maio), cuja vida foi exemplo de força e amor à família. Sua lembrança me inspira a seguir firme, mesmo diante das dificuldades.

Dedico também à minha avó Luiza, que me ensina o verdadeiro significado de amar ao próximo, manter a fé em Deus e perseverar sem jamais desistir. Que esta conquista seja também dela, em reconhecimento à sua força, amor e dedicação à família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, pela força, proteção e pela oportunidade de trilhar este caminho.

À minha mãe, Sabrina, meu pai, Cláudio, meus irmãos, Amanda e Samuel, e às minhas avós, Elza e Luiza, por serem meu porto seguro e pela confiança depositada em mim. Estendo este agradecimento a toda a minha família, que torceram por mim perto ou distante.

Ao meu companheiro, Emanuel, por sua paciência, compreensão e apoio em todos os momentos, especialmente nos dias mais desafiadores desta jornada.

À memória do meu avô Roque de Jesus, que partiu durante esta jornada, mas permanece vivo em minhas lembranças e na inspiração para seguir firme.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^a. Raquel Guimarães Benevides, pela confiança, paciência e incentivo constante. Seu exemplo como professora e pesquisadora foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UEFS, pelo convívio, aprendizado e pelas discussões que ampliaram minha visão científica.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia (LAPEM/UEFS), pela amizade, risadas e ajuda nas longas jornadas de bancada.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que esta etapa fosse concluída, o meu sincero agradecimento. Cada palavra de apoio e cada gesto de incentivo foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido.
É hora de compreender mais, para temer menos.”*

(Marie Curie)

RESUMO

Enzimas são biomoléculas amplamente utilizadas na produção de alimentos, fármacos, biocombustíveis e outros setores. Em vista disso, existem microrganismos com significativo potencial biotecnológico para sintetizar diversas enzimas. Entre esses microrganismos, destacam-se as leveduras, microrganismos eucariontes unicelulares que atuam como fontes promissoras de enzimas devido à diversidade metabólica, facilidade de cultivo e produção em larga escala. Este estudo avaliou 52 linhagens de leveduras isoladas de solo do semiárido baiano quanto à produção das enzimas lipase, amilase, protease e pectinase. Sendo assim, propõe-se (1) reativar linhagens de leveduras provenientes de coletas de solo no semiárido baiano; (2) avaliar a capacidade de leveduras do solo quanto à produção de enzimas hidrolíticas; (3) analisar o índice enzimático obtidos quanto à produção de lipase, amilase, protease e pectinase em meios específicos; e (4) classificar as culturas mais promissoras para aplicações biotecnológicas, conforme os testes realizados. As colônias foram reativadas e cultivadas em meio *yeast malt agar*, e posteriormente submetidas à triagem qualitativa em meios sólidos específicos à cada enzima, incubadas a 28 °C por 21 dias, com determinação do Índice Enzimático Médio (IEM). Os resultados apresentaram destaque para lipases (51,9% das cepas), seguidas por pectinases (15,38%), amilases (13,46%) e proteases (13,46%). Das linhagens avaliadas, 48,63% apresentaram alta atividade ($IEM \geq 2$) para pelo menos uma das enzimas testadas. Além disso, destacam-se também linhagens com atividade enzimática multifuncional, incluindo cepas capazes de produzir duas ou três enzimas simultaneamente, como P1A23 (lipase, protease e pectinase) e P2B5 (lipase, amilase e pectinase). A ocorrência dessas linhagens sugere vantagem adaptativa no ambiente semiárido e potencial econômico, devido reduzir etapas e custos em processos. A diversidade de perfis enzimáticos revela o potencial da bioprospecção de leveduras do solo para processos biotecnológicos.

Palavras-chave: Solo. Microrganismo. Hidrolases. Fungos. Bioprospecção. Atividade enzimática.

ABSTRACT

Enzymes are biomolecules widely used in the production of food, pharmaceuticals, biofuels and other sectors. Therefore, microorganisms have significant biotechnological potential for synthesizing various enzymes. Among these microorganisms, yeasts stand out, unicellular eukaryotic microorganisms that act as promising enzyme sources due to their metabolic diversity, ease of cultivation, and large-scale production. This study evaluated 52 yeast strains isolated from soil in the semiarid region of Bahia for the production of lipase, amylase, protease, and pectinase. Therefore, we propose (1) to reactivate yeast strains from soil samples collected in the semiarid region of Bahia; (2) to evaluate the capacity of soil yeasts to produce hydrolytic enzymes; (3) to analyze the enzyme indices obtained for the production of lipase, amylase, protease, and pectinase in specific media; and (4) classify the most promising cultures for biotechnological applications, based on the tests performed. The colonies were reactivated and grown on yeast malt agar medium, and subsequently subjected to qualitative screening on solid media specific for each enzyme, incubated at 28°C for 21 days, with determination of the Mean Enzymatic Index (MEI). The results highlighted lipases (51,9% of the strains), followed by pectinases (15.38%), amylases (13.46%), and proteases (13.46%). Of the strains evaluated, 48,63% showed high activity ($MEI \geq 2$) for at least one of the enzymes tested. Furthermore, strains with multifunctional enzymatic activity also stood out, including strains capable of producing two or three enzymes simultaneously, such as P1A23 (lipase, protease, and pectinase) and P2B5 (lipase, amylase, and pectinase). The occurrence of these strains suggests an adaptive advantage in the semiarid environment and economic potential, due to the reduction in process steps and costs. The diversity of enzyme profiles reveals the potential of bioprospecting soil yeasts for biotechnological processes.

Keywords: Soil. Microorganism. Hydrolases. Fungi. Bioprospecting. Enzymatic activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADROS

Quadro 1 - Enzimas hidrolíticas, suas fontes microbianas e aplicações biotecnológicas.....	15
Quadro 3 - Critérios de valores de IE em triagens qualitativas em meio sólido.....	27

FIGURAS

Figura 1 - Cultivo de leveduras do solo em fluxo laminar.....	21
Figura 2 - Método de medição do halo de degradação.....	24
Figura 3 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade lipolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.....	31
Figura 4 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade lipolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.....	32
Figura 5 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade proteolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.....	34
Figura 6 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade proteolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.....	35
Figura 7 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade amilolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido.....	36
Figura 8 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade amilolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.....	36
Figura 9 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade pectinolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.....	38
Figura 10 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade pectinolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.....	38

GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição de atividade por enzima de leveduras do solo do semiárido baiano	28
Gráfico 2 - Distribuição de atividade alta ($IEM \geq 2$) por enzima de leveduras do solo do semiárido baiano.....	29
Gráfico 3 - Distribuição de linhagens multifuncionais com $IEM \geq 2$ por enzima de leveduras do solo do semiárido baiano.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para lipase de leveduras do solo do semiárido baiano.....	30
Tabela 2 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para protease de leveduras do solo do semiárido baiano.....	34
Tabela 3 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para amilase de leveduras do solo do semiárido baiano.....	36
Tabela 4 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para pectinase de leveduras do solo do semiárido baiano.....	38
Tabela 5 - Linhagens multifuncionais de leveduras do solo do semiárido baiano, com resultados de IEM ≥ 2	41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 ENZIMAS HIDROLÍTICAS	15
2.1.1 Lipase	16
2.1.2 Protease	17
2.1.3 Amilase	17
2.1.4 Pectinase	18
2.2 MICRORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS	19
2.3 LEVEDURAS	19
3 METODOLOGIA	21
3.1 ORIGEM DO MATERIAL BIOLÓGICO	21
3.2 REATIVAÇÃO E CULTIVO DE LEVEDURAS	21
3.3 TRIAGEM DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA	22
3.3.1 Atividade Lipolítica	22
3.3.2 Atividade Proteolítica	23
3.3.3 Atividade Amilolítica	23
3.3.4 Atividade Pectinolítica	23
3.4 ANÁLISE QUALITATIVA	24
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA E ÍNDICE ENZIMÁTICO	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 ATIVIDADE ENZIMÁTICA	26
4.1.1 Atividade Lipolítica	30
4.1.2 Atividade Proteolítica	34
4.1.3 Atividade Amilolítica	35
4.1.4 Atividade Pectinolítica	37
4.2 CULTURAS PROMISSORAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS	39
4.2.1 Lipases	39
4.2.2 Proteases	40
4.2.3 Amilases	40
4.2.4 Pectinases	40
4.2.5 Atividade Enzimática Intermediária	41

4. 2. 6 Linhagens multifuncionais.....	41
4. 3 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVA FUTURAS.....	43
5 CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
APÊNDICE A - Análise do Índice Enzimático (IE).....	49
APÊNDICE B - Análise do Índice Enzimático Médio (IEM).....	65

1 INTRODUÇÃO

Enzimas são biomoléculas orgânicas que atuam como catalisadores de reações químicas e biológicas, encontrando-se presentes em animais, plantas e microrganismos (ALLETTO, GARCIA & MARCHESAN, 2023; CARVALHO *et al.*, 2021; FAROOQ *et al.*, 2021; MAGHRABY *et al.*, 2023), desempenhando papel importante em processos metabólicos e industriais.

Os processos mediados por enzimas destacam-se devido sua alta eficiência e rendimento, baixo custo de refino, menor gasto energético, além de proporcionarem maior segurança nos processos produtivos, sendo amplamente aplicadas em indústrias alimentícias, de detergentes, farmacêuticas e de papeis (PRABHU *et al.*, 2022; RAVEENDRAN *et al.*, 2018).

Enzimas produzidas por vias biotecnológicas são consideradas de alto valor aquisitivo, sendo as enzimas hidrolíticas as principais utilizadas no setor industrial, correspondentes a lipases, proteases e glicosilases, devido a capacidade de realizar reações de clivagem hidrolítica das ligações (LAMILLA *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2016).

Entre as diferentes fontes enzimáticas, as enzimas microbianas destacam-se pela eficiência de produção e amplas possibilidades de aplicação, especialmente no setor alimentício (RAVEENDRAN *et al.*, 2018). Além disso, enzimas provenientes de células microbianas cultivadas por processo de fermentação apresentam vantagens em comparação com as enzimas obtidas de origem animal e vegetal, como alta produtividade, menor custo, produção de diferentes classes de enzimas e controle das condições de cultivo (GONÇALVES & FONSECA, 2018).

Os fungos mantêm associações com a fauna e a flora, constituindo um vasto universo biológico, dentre eles, as leveduras são microrganismos que têm se destacado em estudos, especialmente na biotecnologia, devido à sua elevada eficiência produtiva. A bioprospecção de leveduras é uma estratégia promissora para agregar valor a materiais destinados ao consumo humano, além de representar um uso mais sustentável e eficiente dos recursos renováveis do planeta (VIEIRA *et al.*, 2025).

Nesse contexto, a bioprospecção de microrganismos presentes no solo é promissora, pois trata-se de um ambiente que oferece grande biodiversidade naturalmente presente (ALVES, 2018), sendo de interesse industrial a realização de estudos utilizando microrganismos do solo com potencial para a produção enzimática.

O Brasil é um país megadiverso localizado na América do Sul, apresentando um vasto território de mais de 851 Mha que abrange seis biomas ricos em biodiversidade: Amazônia, Cerrado, Caatinga, Pampa, Pantanal e Mata Atlântica, estes apresentam características diferentes de vegetação, solo, disponibilidade hídrica, biodiversidade endêmica e condições climáticas (SOUZA *et al.*, 2020), conduzindo um enorme potencial para a exploração biotecnológica de microorganismos adaptados a ambientes específicos. Nesse contexto, a Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro caracterizado por condições climáticas semiáridas que estabelece um reservatório promissor para a prospecção de leveduras com potencial na produção de enzimas hidrolíticas de interesse industrial.

Embora as condições ambientais do semiárido favoreçam microrganismos com características únicas, poucos estudos investigam o potencial biotecnológico de leveduras de solo do semiárido na produção de enzimas hidrolíticas. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade de leveduras provenientes do semiárido baiano para a síntese de enzimas hidrolíticas requeridas em diversos processos industriais.

Neste estudo, linhagens de leveduras provenientes de coletas de solo no semiárido baiano serão reativadas para avaliar a capacidade dessas leveduras do solo quanto à produção de enzimas hidrolíticas em meios específicos para a produção de lipase, amilase, protease e pectinase, e classificar as culturas mais promissoras para aplicações biotecnológicas. Considerando que esse ambiente abriga uma microbiota única, adaptada a condições extremas, espera-se que tais microrganismos possam sintetizar enzimas de interesse industrial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ENZIMAS HIDROLÍTICAS

As enzimas constituem um grupo altamente diverso de biocatalisadores em processos bioquímicos, geralmente apresentando origem protéica de estrutura tridimensional complexa, com exceção de ribozimas, que são ácidos ribonucleicos catalíticos (ALLETTO, GARCIA & MARCHESAN, 2023; SINGH *et al.*, 2016). Nesse cenário, o mercado global de enzimas apresenta alta demanda em diferentes setores industriais, como demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Enzimas hidrolíticas, suas fontes microbianas e aplicações biotecnológicas

Enzimas	Fontes microbianas mais comuns	Principais aplicações biotecnológicas/industriais
Lipases	<i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Candida rugosa</i> , <i>Rhizopus spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> (RAVEENDRAN <i>et al.</i> , 2018), <i>Geotrichum candidum</i> (KAMILARI <i>et al.</i> , 2023), bactérias como <i>Bacillus spp.</i> e <i>Pseudomonas spp.</i> (SOPALUN & IAMTHAM, 2020)	Detergentes (remoção de gorduras); Síntese de biocombustíveis (biodiesel); Transformações orgânicas finas (esterificação/transesterificação) (MAGHRABY <i>et al.</i> , 2023); Indústria alimentícia (queijos, aromas, bebidas) (ALI <i>et al.</i> , 2023; RAVEENDRAN <i>et al.</i> , 2018).
Proteases	<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> (MAGHRABY <i>et al.</i> , 2023), leveduras como <i>Kluyveromyces marxianus</i> e <i>Candida spp.</i> (MAGHRABY <i>et al.</i> , 2023; VIEIRA <i>et al.</i> , 2025)	Detergentes (quebra de proteínas); Amaciamento e processamento de couro; Indústria alimentícia (queijos, bebidas, panificação) (RAVEENDRAN <i>et al.</i> , 2018); Triagens com gelatina (VERMELHO <i>et al.</i> , 1996);
Amilases	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Kluyveromyces spp.</i> , <i>Wickerhamomyces anomalus</i> (GOPINATH <i>et al.</i> , 2017), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (algumas cepas)	Indústria de alimentos (panificação, cervejaria, produção de xaropes de glicose/maltose); Indústria de etanol e biocombustíveis; Papel e têxtil; Tratamento de resíduos ricos em amido; Processos de sacarificação e pré-tratamento de biomassa (RAVEENDRAN <i>et al.</i> , 2018).
Pectinases	Fungos filamentosos (<i>Aspergillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i>) (KC <i>et al.</i> , 2020), leveduras como <i>Meyerozyma guilliermondii</i> , <i>Wickerhamomyces anomalus</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> (BILIAL <i>et al.</i> , 2022; KC <i>et al.</i> , 2020)	Clarificação de sucos e vinhos (LONGHI <i>et al.</i> , 2022); Maceração de frutas; Extração de óleos essenciais; Pré-tratamento de biomassa lignocelulósica; Indústria têxtil e de fibras vegetais (BILIAL <i>et al.</i> , 2022; KC <i>et al.</i> , 2020; RAVEENDRAN <i>et al.</i> , 2018).

Fonte: Autoria própria (2025).

As enzimas apresentam alta eficiência, especificidade e versatilidade em reações enzimáticas atóxicas que atuam em um substrato específico e ocorrem em condições baixas de

pH e temperatura, podendo ser aplicadas em diversos setores industriais para a produção de detergentes, alimentos, fermentados, têxteis, farmacêuticos, processos como panificação, fabricação de cerveja, biocombustíveis, processamento de couro, gerenciamento de resíduos e na medicina (MAGHRABY *et al.*, 2023; RIGOLDI, *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2016).

A diversidade enzimática têm movimentado estudos dedicados ao desenvolvimento de sistemas internacionais padronizados de classificação e nomenclatura. O sistema mais utilizado é da Comissão de Enzimas (CE), introduzido pela União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular, no qual o sistema EC é composto por quatro números que descrevem a reação catalisada, por exemplo, as hidrolases são identificadas pelo código inicial EC 3, designando reações hidrolíticas (ALLETTO, GARCIA & MARCHESAN, 2023).

As enzimas hidrolíticas representam aproximadamente 90% dos catalisadores biológicos utilizados comercialmente, atuando em reações de hidrólise pela clivagem de moléculas específicas do substrato na presença de água (ALLETTO, GARCIA & MARCHESAN, 2023; LIU & KOKARE, 2017). Entre as enzimas hidrolíticas, as lipases, proteases, glicosilhidrolases (GHs) como amilase, celulase e xilanase, polimerases e nucleases apresentam ampla gama em aplicações industriais (ALLETTO, GARCIA & MARCHESAN, 2023; ALVES *et al.*, 2018; EL-GENDI *et al.*, 2022; LIU & KOKARE, 2017).

2. 1. 1 Lipase

As lipases são enzimas hidrolíticas responsáveis pela degradação de triacilgliceróis de cadeia longa em ácidos graxos e glicerol, sendo produzidas por diferentes fontes, mas especialmente exploradas em microrganismos devido o fácil cultivo, baixo custo, robustez, resistência a solventes orgânicos e capacidade de suportar variações de pH e temperatura (ALLETTO, GARCIA & MARCHESAN, 2023; MAGHRABY *et al.*, 2023; RAVEENDRAN *et al.*, 2018).

Lipases microbianas apresentam grande variedade de substratos, incluindo lipídios, fosfolipídios, lipídios de éter e lisofosfolipídios, e são valorizados em aplicações industriais, incluindo setores de alimentos e bebidas, detergentes, biocombustíveis, cosméticos, couro, papel, têxteis e ração animal (ALI *et al.*, 2023; RAVEENDRAN *et al.*, 2018). Essas enzimas destacam-se pela catalisação versátil e ampla variação de aplicações industriais, tornando-se biocatalisadores de interesse biotecnológico.

2. 1. 2 Protease

As proteases são amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas em animais, plantas, vírus e microrganismos, constituem uma classe de enzimas responsáveis pela catálise da hidrólise de ligações peptídicas em aminoácidos e pequenos polipeptídeos, desempenhando papel fundamental na degradação e reaproveitamento de compostos nitrogenados (MAGHRABY *et al.*, 2023; RAVEENDRAN *et al.*, 2018; VIEIRA *et al.*, 2025).

As proteases são encontradas em funções biológicas fundamentais, como digestão de proteínas ingeridas, catabolismo proteico e sinalização celular, apresentando aplicações em diversos setores industriais, sendo utilizados na produção de detergentes, farmacêuticos e alimentos (ALLETTO, GARCIA & MARCHESAN, 2023; RAVEENDRAN *et al.*, 2018). Destacam-se no setor de panificação, contribuindo para a qualidade de pães, bolachas ou waffles, e na produção de queijos, influenciando no sabor (RAVEENDRAN *et al.*, 2018).

A triagem da atividade proteolítica em microrganismos pode ser conduzida a partir de diferentes substratos proteicos. Entre eles, a gelatina tem se mostrado um dos mais eficazes, uma proteína de elevado peso molecular que permite um ensaio qualitativo simples, rápido e de baixo custo (VERMELHO *et al.*, 1996), tornando-se um recurso metodológico amplamente empregado em estudos de prospecção enzimática.

2. 1. 3 Amilase

As amilases são enzimas responsáveis pela hidrólise do amido, desempenhando papel central em processos biológicos e industriais voltados para a conversão de polissacarídeos em açúcares mais simples. A produção de amilases pode ser realizada por diferentes processos fermentativos, incluindo a fermentação em estado sólido ou submerso, cuja eficiência depende de fatores físico-químicos específicos (MAGHRABY *et al.*, 2023), como pH, temperatura e disponibilidade de nutrientes.

As amilases são classificadas em três principais subtipos, denominados α -amilase (EC 3.2.1.1), β -amilase (EC 3.2.1.2) e glucoamilase (EC 3.2.1.3) (FAROOQ *et al.*, 2021; GOPINATH *et al.*, 2017). As α -amilases atuam como endoenzimas na clivagem aleatória de ligações α -1,4-glicosídicas do amido, enquanto as glucoamilases atuam como exoenzimas na catalização da hidrólise do amido, liberando β -glicose a partir de extremidades não redutoras (ASHOK *et al.*, 2023; RAVEENDRAN *et al.*, 2018). Industrialmente, as α -amilases são mais exploradas por sua eficiência catalítica e ampla aplicabilidade (RAVEENDRAN *et al.*, 2018).

As amilases produzidas por microrganismos destacam-se por sua eficiência e versatilidade. As amilases microbianas podem ter origem bacteriana, fúngica e leveduriforme, apresentando ampla aplicabilidade industrial, destacando-se ensaios em meio sólido utilizando amido como substrato (GOPINATH *et al.*, 2017). Além disso, as amilases microbianas podem ser usadas para hidrolizar o amido em açúcares antes da fermentação e minimizar ou remover a turbidez em bebidas alcoólicas, sintetizar polímeros biodegradáveis e em indústrias de papel de celulose (SINGH *et al.*, 2016).

2. 1. 4 Pectinase

As pectinases constituem um grupo de enzimas responsáveis pela hidrólise de ligações glicosídicas presentes em polímeros pécticos, atuando na degradação de componentes estruturais de frutos e vegetais, como laranja, abacaxi, maçã e tomate (HAILE & AVELE, 2022; RAVEENDRAN *et al.*, 2018). Podem ser ácidas ou alcalinas, dependendo do pH, e são classificadas de acordo com o mecanismo de ação e o substrato em que atuam, incluindo poligalacturonases, pectina liases e pectina metilesterases (KC *et al.*, 2020). Além disso, endopectinases clivam as cadeias poliméricas aleatoriamente e exopectinases atuam nas extremidades terminais (HAILE & AVELE, 2022).

A relevância dessas enzimas associa-se à ampla utilização industrial, especialmente em setores que envolvem a degradação da pectina. O interesse industrial por pectinases relaciona-se especialmente com a clarificação de sucos e vinhos, já que a pectina aumenta a viscosidade e turbidez, outra característica é a capacidade de aumentar a eficiência em relação à maceração mecânica (LONGHI *et al.*, 2022; RAVEENDRAN *et al.*, 2018). Além disso, fatores como pH, temperatura e concentração de substrato são essenciais para otimizar a produção e estabilidade enzimática (SOPALUN & LAMTHAM, 2020; KC *et al.*, 2020).

As principais fontes microbianas de pectinases relatadas em estudos são os fungos filamentosos, como *Aspergillus spp.* e *Penicillium spp.* (KC *et al.*, 2020). Contudo, estudos têm demonstrado que as leveduras também destacam-se pela capacidade de sintetizar diferentes tipos de enzimas pectinolíticas com aplicações potenciais em indústrias de vinificação e processos fermentativos (BILIAL *et al.*, 2022; LONGHI *et al.*, 2022). Martin *et al.* (2024) aponta que leveduras não-*Saccharomyces* possuem alto potencial para a vinificação sustentável, pois contribuem para a complexidade sensorial dos vinhos e são capazes de produzir enzimas hidrolíticas de interesse, como pectinases. Sendo assim, a bioprospecção de leveduras como fontes inovadoras de enzimas é promissora.

2. 2 MICRORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS

A biodiversidade brasileira, distribuída entre seis biomas (Amazônia, Cerrado, Caatinga, Pampa, Pantanal e Mata Atlântica), constitui uma ampla fonte de microrganismos com diferentes características metabólicas (SOUZA *et al.*, 2020). Essa biodiversidade influencia a composição e a adaptação de microrganismos no ambiente, favorecendo o reconhecimento de solos desses biomas como fonte de elevado interesse para a bioprospecção de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas, especialmente do semiárido.

As enzimas produzidas por microrganismos têm se tornado essenciais em vários setores industriais por permitirem produção em grande escala e de baixo custo, capacidade de liberação extracelular, alta estabilidade e potencial para expressão recombinante (GOPINATH *et al.*, 2017). Os microrganismos produtores de enzimas oferecem fácil disponibilidade, rápida taxa de crescimento, ciclo de vida curto e ampla manipulação genética, sendo mais eficazes que fontes vegetais e animais, apresentando cultivo por fermentação em estado sólido ou submersa (HAILE & AYELE, 2022; RAVEEDRAN *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2016).

As enzimas microbianas são utilizadas principalmente em indústrias de panificação para melhorar a estabilidade da massa, maciez e estrutura do miolo, indústrias de laticínios, principalmente no processamento de queijos, indústrias de bebidas, além da síntese de polímeros biodegradáveis e indústria de papel e celulose (SINGH *et al.*, 2016).

Conforme Alves (2018), microrganismos com capacidade de produção enzimática podem ser isolados a partir de diversos ambientes, com destaque para o solo, um ambiente que apresenta grande biodiversidade naturalmente presente, sendo um meio promissor a bioprospecção microbiana. Os microrganismos do solo são capazes de produzir mais de um tipo de enzima como mecanismo adaptativo devido às diferentes condições presentes neste habitat (ALVES, 2018).

2. 3 LEVEDURAS

Existem muitas espécies de microrganismos na natureza, mas apenas uma pequena fração dessa biodiversidade encontra-se descrita na literatura. Os fungos, embora não pertençam a fauna ou flora, apresentam forte conexão ecológica com ambos e constituem um vasto universo biológico (VIEIRA *et al.*, 2025). Entre a diversidade de fungos, as leveduras

destacam-se por sua alta eficiência produtiva, tornando-as valiosas para a biotecnologia (MADIGAN *et al.*, 2016; VIEIRA *et al.*, 2025).

As leveduras são consideradas biocatalisadores com vantagens em relação às enzimas de origem animal ou vegetal, pois são organismos de fácil obtenção, apresentam exigências nutricionais simples, ciclos fermentativos curtos, maior estabilidade térmica e pode ser manipulados geneticamente para obtenção em larga escala (CARVALHO *et al.*, 2021).

A bioprospecção de leveduras em biomas tropicais pode unir valor agregado a produtos de interesse humano e o uso mais sustentável de recursos renováveis, e a descoberta de novas linhagens produtoras de enzimas é relevante para os bioprocessos, visto que leveduras e seus derivados apresentam aplicações em alimentos e bebidas fermentadas, produtos farmacêuticos, enzimas industriais, vitaminas, carotenóides, lipídios, esteróides, polissacarídeos, β -glucanos, nucleotídeos, aromas, biocombustíveis e diversos compostos químicos de plataforma (VIEIRA *et al.*, 2025).

As leveduras são microrganismos de interesse para a utilização em diversos processos biotecnológicos, visto que apresentam características favoráveis por causa do elevado potencial na produção de enzimas hidrolíticas extracelulares (SINGH *et al.*, 2016), podendo ser utilizadas como uma fonte alternativa para a produção de enzimas em larga escala, devido à sua diversidade metabólica e facilidade de cultivo.

3 METODOLOGIA

3.1 ORIGEM DO MATERIAL BIOLÓGICO

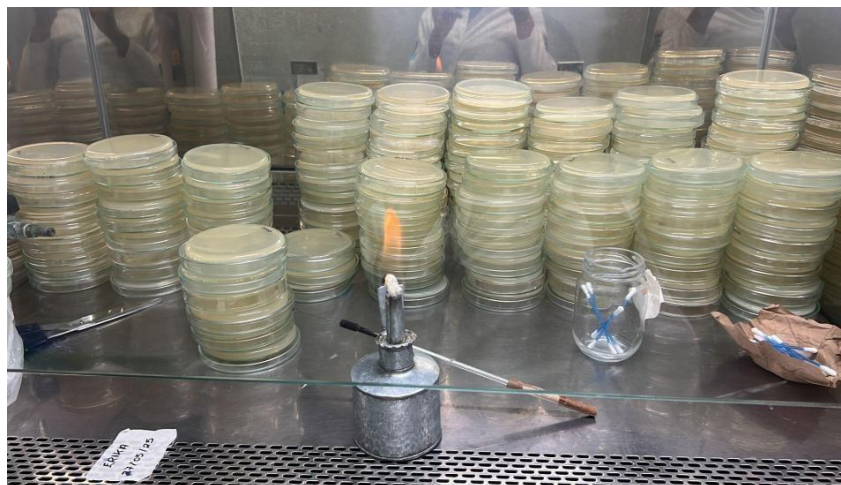
As leveduras foram provenientes de coletas de solo em duas parcelas de uma área no município de Riachão do Jacuípe, realizadas pela KBO Rios (2022) em 14 de fevereiro de 2020, na região semiárida da Bahia. As coordenadas geográficas dos locais de coleta foram 11° 45.534' – 39° 29.279' (Parcela 1) e 11° 45.533' – 39° 29.297' (Parcela 2), sob temperatura do solo de 43 °C no dia da coleta. Esses microrganismos estão armazenados em ultrafreezer no Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da Universidade Estadual de Feira de Santana (LAPEM/UEFS), localizado no prédio de Laboratórios de Biologia (LABIO/UEFS).

A atividade de pesquisa foi cadastrada na plataforma do SISGEN, sob registro número AA4F4F2.

3.2 REATIVAÇÃO E CULTIVO DE LEVEDURAS

Os isolados de leveduras permanecem armazenados em tubos no ultra-freezer para conservação. As culturas foram reativadas e cultivadas (Figura 1) em placas com meio *yeast malt agar* (YMA), inoculados com ensaios em três repetições, para garantir a fase exponencial de crescimento das leveduras antes da inoculação nos ensaios enzimáticos, otimizando a viabilidade celular e o potencial de produção.

Figura 1 - Cultivo de leveduras do solo em fluxo laminar



Fonte: Autoria própria (2025).

A reativação foi realizada ao coletar uma pequena fração da colônia desejada utilizando a alça de platina esterilizada na chama da lamparina, depositadas em estrias simples na superfície do meio em placas de Petri, e então incubadas na BOD a 28 °C por 48 horas. Além disso, foram feitas triplicatas de culturas de estoque temporárias, armazenadas em tubos a -20 °C, para utilização durante o experimento. As leveduras foram cultivadas mensalmente para a manutenção das culturas.

3.3 TRIAGEM DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA

A triagem de linhagens de leveduras potencialmente produtoras de enzimas com atividade hidrolítica foi realizada em meios sólidos específicos para cada enzima. Todos os experimentos deste estudo foram realizados em triplicata.

O uso de meios sólidos suplementados com substratos específicos é uma metodologia padrão para detectar a produção enzimática microbiana, permitindo medir o crescimento radial das colônias e os halos de hidrólise, estabelecendo o índice enzimático (IE) (VIEIRA et al., 2025).

O período de 21 dias foi definido com base na observação de estudos anteriores, como de Oliveira (2015) e Carvalho *et al.* (2021), pois períodos curtos de incubação resultaram em halos pouco definidos, entretanto períodos maiores não aumentaram significativamente a produção, além de aumentar o risco de contaminação.

Além disso, estudos indicam a incubação a temperatura de 30 °C (OLIVEIRA, 2015; CARVALHO *et al.*, 2021). Contudo, neste estudo a temperatura de 28 °C foi estabelecida após testes realizados previamente com incubação a 30 °C por 21 dias, resultando em contaminação das culturas após 7 dias de experimento.

3.3.1 Atividade Lipolítica

A atividade lipolítica foi avaliada pelo método Sierra (1956) com modificações de Oliveira (2015), utilizando Tween-20 (monolaurato de sorbitan) como substrato. O meio utilizado 10 g.l⁻¹ de peptona, 5 g.l⁻¹ de NaCl, 0,1 g.l⁻¹ de CaCl₂, 20 g.l⁻¹ de ágar bacteriológico, 1000 mL de água destilada, com o pH ajustado para 6,0 com solução de KOH. O Tween-20 foi autoclavado e adicionado ao meio específico na concentração 10 g.l⁻¹ antes de verter nas

placas. A atividade enzimática foi analisada como um precipitado visível por meio da formação de cristais de sais de cálcio ou um halo claro do precipitado ao redor das colônias.

3.3.2 Atividade Proteolítica

A atividade proteolítica foi avaliada conforme Oliveira (2015), com modificações, utilizando a gelatina como substrato. O meio utilizado foi composto por 10 g.l⁻¹ de glicose, 5 g.l⁻¹ de extrato de levedura, 10 g.l⁻¹ de gelatina comercial sem sabor, 20 g.l⁻¹ de ágar bacteriológico e 1000 mL de água destilada, e o pH foi ajustado para 7,0 com a solução de KOH. A atividade enzimática foi avaliada com a presença de halos de liquefação ao redor das colônias (YARROW, 1998).

3.3.3 Atividade Amilolítica

A atividade amilolítica foi avaliada conforme Looder (1970) com modificações da autora, utilizando amido como substrato. O meio utilizado continha 20 g.l⁻¹ de amido solúvel, 5 g.l⁻¹ de (NH₄)₂SO₄, 10 g.l⁻¹ de KH₂PO₄, 20 g.l⁻¹ de ágar bacteriológico e 1000 mL de água destilada. A verificação foi realizada por meio da formação de um halo claro ao redor das colônias de leveduras.

3.3.4 Atividade Pectinolítica

A atividade pectinolítica foi avaliada conforme Oliveira (2015), com modificações da autora, utilizando pectina como substrato. O meio utilizado foi composto por 5 g.l⁻¹ de extrato de levedura, 10 g.l⁻¹ de glicose, 10 g.l⁻¹ de pectina cítrica, 20 g.l⁻¹ de ágar bacteriológico e 1000 mL de tampão fosfato 50 mM, com pH ajustado para 5,5. A verificação foi realizada por meio da formação de um halo claro ao redor das colônias de leveduras.

3.4 ANÁLISE QUALITATIVA

A atividade hidrolítica foi analisada qualitativamente pela formação de halo ao redor das colônias em meios específicos. Em todos os ensaios, os diâmetros das colônias (DC) e das zonas de hidrólise foram medidos com auxílio de uma régua milimetrada, em dois eixos perpendiculares (Figura 2), considerando-se a média dos valores obtidos. O diâmetro da zona de hidrólise (DH) foi definido como o diâmetro total da área de degradação observada, incluindo a colônia e o halo ao seu redor (HANKIN & ANAGNOSTAKIS, 1975).

Figura 2 - Método de medição do halo de degradação



Fonte: Autoria própria (2025).

Como todos os experimentos deste estudo foram realizados em triplicata, as análises foram feitas por triplicata independente ($n = 3$), calculando-se os valores do DC e DH por cada triplicata de cada linhagem para todas as atividades enzimáticas analisadas, sob as mesmas condições de incubação.

3. 5 ANÁLISE ESTATÍSTICA E ÍNDICE ENZIMÁTICO

Para a análise de dados, realizou-se a análise estatística descritiva de frequência relativa através do Microsoft Office Excel 2019, obtendo tabelas contendo os valores de Índice Enzimático de cada replicata independente ($n = 3$) de cada linhagem por enzima, e posteriormente o Índice Enzimático Médio das linhagens por enzima pela média de três repetições.

Por meio dos valores de DC e DH, calculou-se o Índice Enzimático (IE) para cada replicata de cada linhagem isolada, obtido pela razão entre o diâmetro médio da zona de degradação (DH) e o diâmetro médio da colônia (DC), lê-se:

$$= \frac{\text{DH}}{\text{DC}}$$

Foram considerados satisfatórios os resultados de $IE \geq 2$, conforme o critério estabelecido por Lealem e Gashe (1994), com modificações de Stamford *et al.* (1998). Posteriormente, para obter o Índice Enzimático Médio (IEM) de cada linhagem, calculou-se a média entre os valores de IE de cada replicata dos isolados, lê-se:

$$= \frac{I + 2 + 3}{3}$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados foram repicados em meio de cultura YMA com o tempo de incubação na BOD de 48 horas a 28 °C para o crescimento colonial. As culturas foram replicadas em triplicatas mensalmente para a manutenção do material isolado. Os aspectos morfológicos foram observados após o crescimento das colônias de leveduras.

4.1 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A capacidade de microrganismos para a produção de enzimas hidrolíticas extracelulares é diversamente registrada, mas especialmente em estudos com bactérias. Em estudo similar, Lamilla *et al.* (2022) obtiveram 30 isolados de Actinobactérias, sendo 18 do solo (60%), 10 de sedimentos marinhos (33%) e 2 da água (7%), e relataram que todas as cepas produziram pelo menos uma enzima extracelular a 4 °C, sendo 24 com atividade para lipase, 20 para proteases e gelatinases, 13 para amilase e 7 para celulase. Enquanto Alves (2018) isolou 376 colônias bacterianas de três amostras do solo no bioma Cerrado, confirmando 85 como produtoras de enzimas extracelulares de interesse biotecnológico, sendo 26 para produção de lipase, 25 amilase, 20 xilanase e 14 celulase. Com destaque para microrganismos do solo, esses estudos demonstram a diversidade e o potencial de microrganismos em diferentes ambientes para a produção enzimática.

No presente estudo, cinquenta e duas linhagens de levedura foram coletadas e isoladas provenientes de dois locais de solo na região semiárida da Bahia. Destas, 24 foram isoladas da Parcela 1 (P1) e 28 da Parcela 2 (P2). A triagem foi realizada para produção de lipase, amilase, protease e pectinase por meio de testes qualitativos em meio sólido e cálculo do Índice Enzimático ($IE = DH/DC$) em triplicata (APÊNDICE A).

Os valores de Índice Enzimático Médio (IEM) foram obtidos pela razão do Índice Enzimático (IE) das amostras em triplicata para cada linhagem e cada enzima. Assim, o valor médio de IE foi considerado com alta atividade enzimática quando a média dos valores de Índice Enzimático das triplicatas resultou em valor maior ou igual a dois ($IEM \geq 2$).

Embora o ponto de corte $IE \geq 2$ seja referência para amilases (LEALEM & GASHE, 1994), outros grupos de enzimas apresentam comportamentos de difusão distintos em ágar, o que exige critérios ajustados. Neste estudo, observa-se também critérios específicos por enzima (Quadro 2), baseados na literatura, de modo a evitar vieses comparativos e refletir melhor a atividade real de cada grupo enzimático.

Quadro 2 - Critérios de valores de IE em triagens qualitativas em meio sólido

Enzimas	Critérios	Justificativas	Referências
Lipases	IE > 1,0 IE ≥ 1,5 IE ≥ 2,0	Lipases têm difusão limitada em ágar, apresentando halos menores mesmo em linhagens com boa produção. Desse modo, alguns pesquisadores já consideram valores de IE > 1,0 e IE ≥ 1,5 relevantes. Mas, muitos estudos consideram apenas valores de IE ≥ 2,0.	Sierra (1956); Alves (2019); Sopalum e Iamtham (2020); Luz <i>et al.</i> (2021).
Proteases	IE > 1,0 IE ≥ 2,0	Ensaio utilizando gelatina como substrato demonstram que IE > 1,0 já representa atividade significativa, enquanto valores de IE ≥ 2 representam alta atividade. Contudo, em proteases microbianas, o tamanho do halo depende fortemente do substrato utilizado.	Vermelho <i>et al.</i> (1996); Sopalum e Iamtham (2020); Vieira <i>et al.</i> (2025).
Amilases	IE > 1,0 IE ≥ 1,5 IE ≥ 2,0	Tradicionalmente, valores de IE ≥ 2 é adotado para triagens em bactérias/actinomicetos, indicando linhagens promissoras em degradação de amido, mas não corresponde à todas os microrganismos. Estudos em fungos e leveduras revelam potencial enzimático com valores de IE > 1,0 ou ≥ 1,5, mas considerando IE ≥ 2 como alta atividade de interesse.	Lealem e Gashe (1994); Alves (2019); Sopalum e Iamtham (2020); Santos e De Faria Silva (2023); Vieira <i>et al.</i> (2025).
Pectinases	IE > 1,0 IE ≥ 1,5 IE ≥ 2,0	A variabilidade dos halos depende do grau de metoxilação da pectina. Muitos trabalhos aceitam IE > 1,0 ou IE ≥ 1,5 como atividade intermediária, considerando IE ≥ 2 como alta atividade.	Oumer e Abate (2018); Sopalum e Iamtham (2020); Longhi <i>et al.</i> (2022)

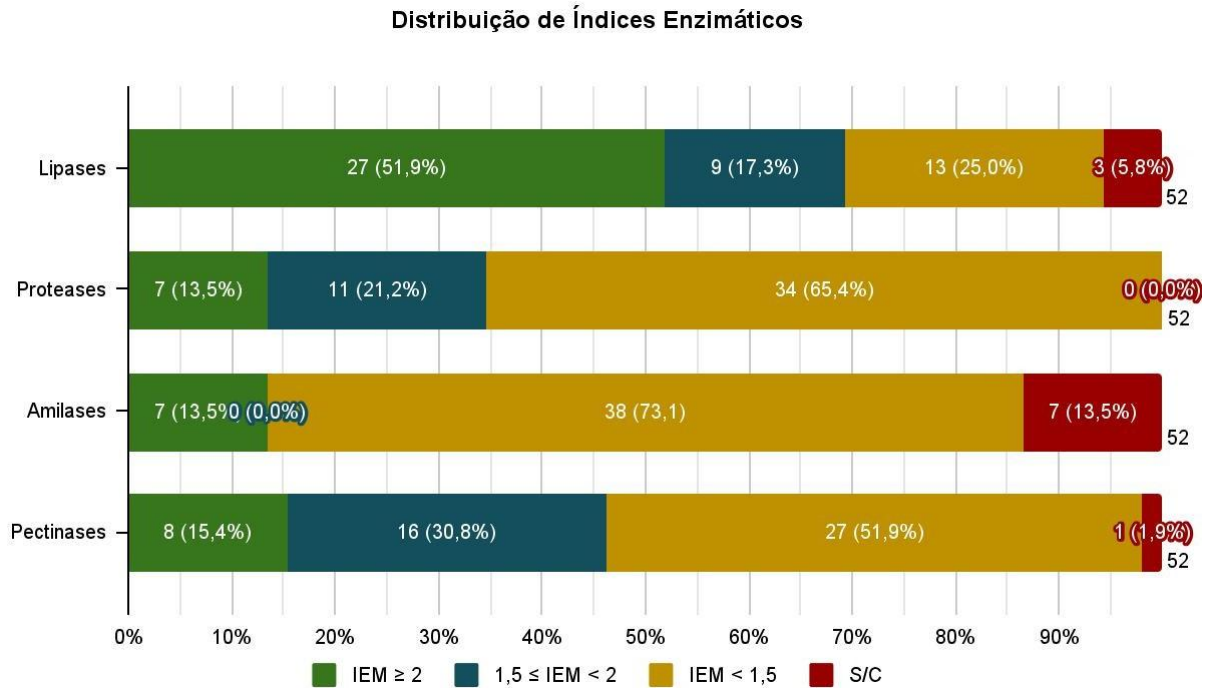
Fonte: Autoria própria (2025).

O IE observado por halo em ágar constitui uma triagem qualitativa, que difere de acordo com a atividade testada. Segundo Luz *et al.* (2021), a análise dos halos para atividade lipolítica não equivalem à atividade real da enzima e demandam validação via ensaio líquido. No caso da pectinase, recomenda-se confirmar a atividade via métodos quantitativos após triagem em placa, como DNS (OUMER & ABATE, 2018). Portanto, neste estudo foram adotados critérios específicos complementados por apresentação da distribuição completa dos IEM, visando maior precisão na seleção das linhagens promissoras.

Para melhor representar a distribuição dos índices enzimáticos por enzima, as linhagens foram agrupadas em quatro classes: IE ≥ 2 (atividade alta), $1 \leq \text{IE} < 2$ (atividade intermediária), IE < 1 (atividade fraca) e S/C (sem crescimento, ou atividade negativa), como pode-se analisar no Gráfico 1. Essa classificação permite observar a proporção de linhagens

consideradas promissoras segundo o ponto de corte adotado, mas também visualizar aquelas com atividades potenciais, que podem ser relevantes em condições otimizadas de cultivo.

Gráfico 1 - Distribuição de atividade por enzima de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: IEM ≥ 2 (atividade alta). 1,5 ≤ IEM < 2 (atividade intermediária). IEM < 1,5 (atividade fraca). S/C (sem crescimento, ou atividade negativa).

O Gráfico 1 demonstra que a maior parcela das culturas cresceram em todos os meios sólidos específicos utilizados, mesmo aqueles com índices enzimáticos baixos, indicando que essas cepas degradam o substrato utilizado para o seu crescimento. No entanto, trinta e oito culturas apresentaram atividade amilolítica fraca e nenhuma intermediária, sendo apenas sete com atividade alta para amilase. Além disso, percebe-se que sete leveduras não cresceram no meio enriquecido para atividade amilolítica, mesmo com repetição do experimento para as leveduras que não cresceram, o que revela que essas culturas não foram capazes de degradar o amido presente no meio.

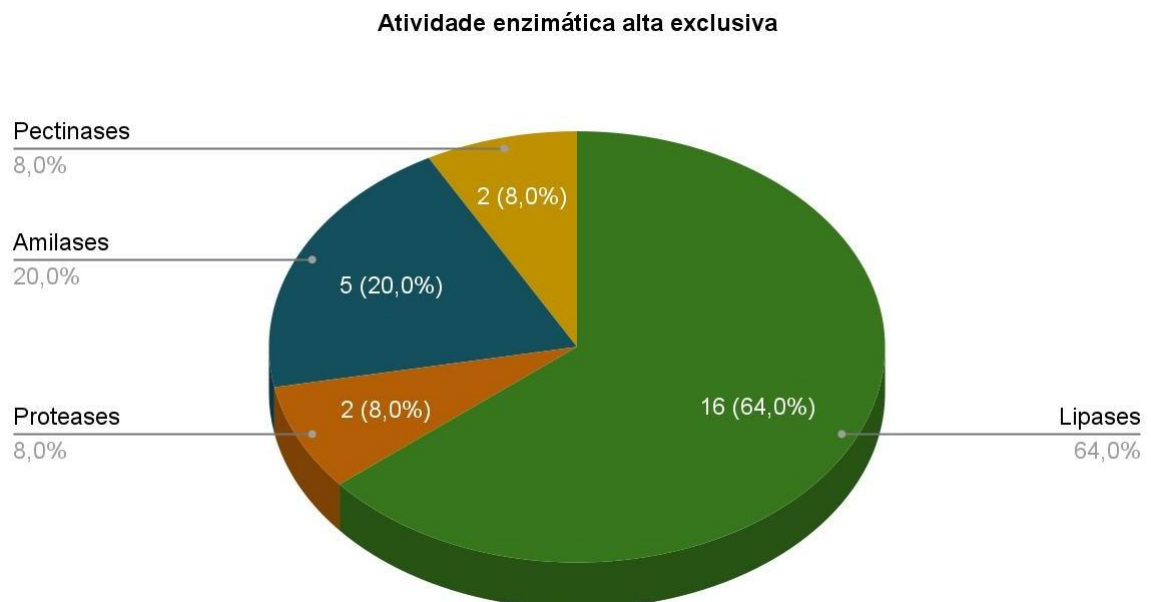
Como demonstrado no Gráfico 1, das 52 leveduras testadas para cada enzima, a maior parcela das culturas não apresentaram atividade alta (IEM ≥ 2) para as enzimas protease, amilase e pectinase. Apenas 7 revelaram alta atividade enzimática para protease, sendo 45 culturas com IE < 2. Similarmente, o mesmo acontece para a amilase. Para a pectinase, apenas 8 demonstraram alta atividade, e 43 cepas com atividade intermediária,

baixa ou negativa. De modo diferente, para atividade lipolítica foram registrados dados de alta atividade na maior parcela das culturas analisadas neste estudo, sendo 27 culturas com $IEM \geq 2$ e apenas 25 com $IE < 2$.

As maiores atividades podem ser observadas no APÊNDICE B, para lipase em P2B24 ($IEM=4,33$), P2B20 e P2B26 ($IEM=3,66$), seguidas por P12B16 ($IEM=3,16$), e P1A6, P1A7, P1A12, P2B4 e P2B14, todas com $IEM=3,00$, e para amilase em P1A17 ($IE \text{ Médio} = 5,00$), P1A18 ($IE \text{ Médio} = 4,33$) e P1B5 ($IE \text{ Médio} = 4,16$). Estas atividades altas podem estar associadas a adaptações ecológicas da região semiárida, como tolerância a opções hídricas e disponibilidade limitada de resíduo celular, características que favorecem a produção de enzimas extracelulares.

Das 52 linhagens avaliadas neste estudo, 25 (48,63%) apresentaram atividade enzimática de interesse ($IEM \geq 2$, atividade alta) para pelo menos uma das hidrolases testadas. Conforme o Gráfico 2, dentre essas 25 cepas, 16 (64%) apresentaram alta atividade exclusivamente para lipase, somente 2 (8,33%) apenas para protease, 5 (20,83%) apenas para amilase e 2 (8,33%) exclusivas para pectinase.

Gráfico 2 - Distribuição de atividade alta ($IEM \geq 2$) por enzima de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

De modo diferente, no estudo de Ruginescu *et al.* (2022), os pesquisadores observaram a produção de enzimas extracelulares capazes de degradar proteínas, lipídios e polissacarídeos em 66 cepas bacterianas, analisando que 83% das cepas produziram pelo menos uma atividade hidrolítica, com maior frequência para lipases, seguida de amilases e proteases. Apesar da similaridade entre as frequências encontradas neste estudo, sendo as mais altas para lipases e amilase, os valores encontrados por Ruginescu *et al.* (2022) para a produção de pelo menos uma das enzimas testadas foram significativamente mais elevados.

Carvalho *et al.* (2021), foram isoladas 75 leveduras em ambiente lótico para teste de atividade enzimática, os autores destacam que fatores externos, como temperatura e tempo de incubação, podem influenciar na variação do halo enzimático observado, o que é validado visto que 83% das 75 leveduras isoladas apresentaram capacidade de produzir e secretar amilase, celulase e protease, sendo 62% coletadas na Parcela 1 e 38% na Parcela 2, além de que 35% das leveduras foram capazes de produzir duas ou três enzimas simultaneamente.

Além disso, microrganismos endofíticos têm se destacado como fontes relevantes de enzimas. Em um estudo com orquídeas tailandesas, Sopalum e Iamtham (2020) isolaram 52 fungos endofíticos de folhas, caules e raízes e avaliaram quanto à produção de enzimas extracelulares. Os resultados demonstraram elevada diversidade metabólica, com 67% dos isolados apresentando atividade lipolítica, 56% celulolítica e 49% pectinolítica. Esses achados ilustram o potencial de microrganismos endofíticos em aplicações biotecnológicas.

4. 1. 1 Atividade Lipolítica

No presente estudo, 27 dos isolados avaliados (51,9%) apresentaram atividade lipolítica alta (Tabela 1), com Índice Enzimático Médio (IEM) ≥ 2 , sendo 11 provenientes de coleta do solo na Parcela 1 (Figura 3) e 16 da Parcela 2 (Figura 4), indicando um potencial promissor para a bioprospecção de novas lipases microbianas.

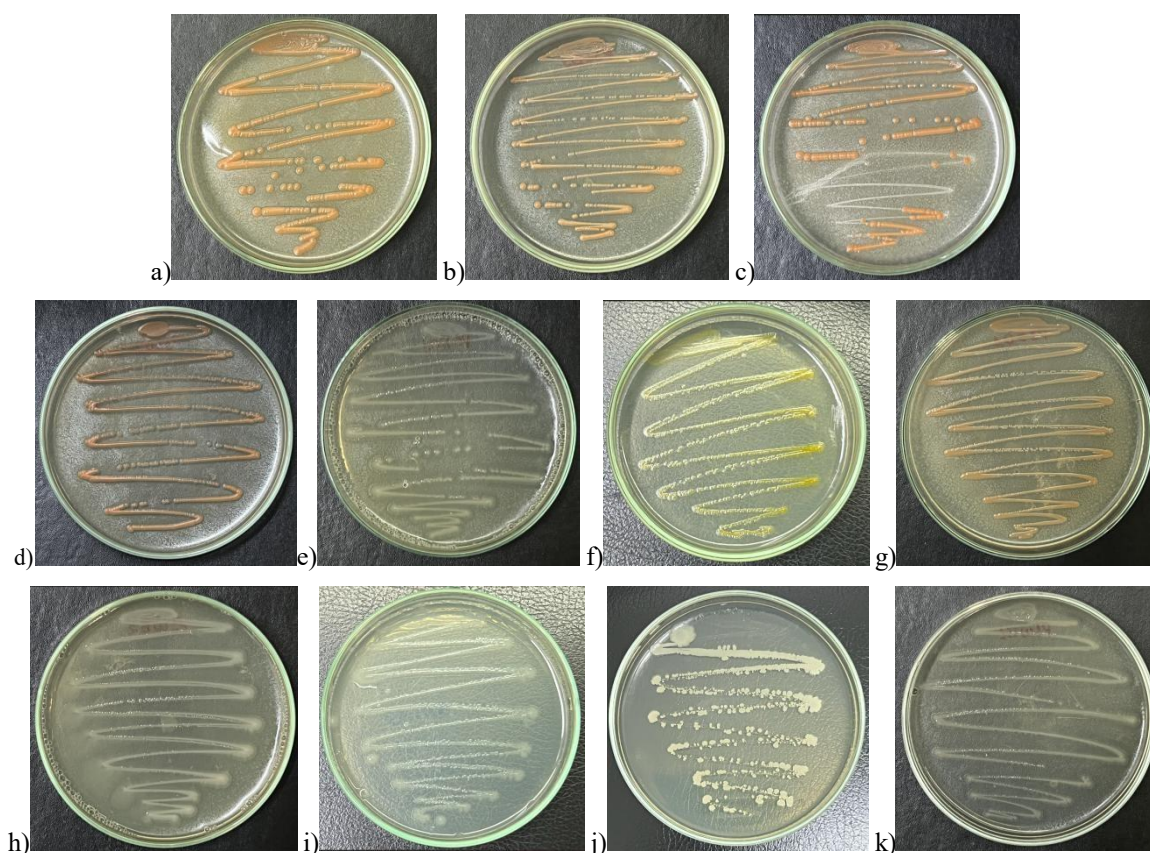
Tabela 1 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para lipase de leveduras do solo do semiárido baiano

Parcela 1		Parcela 2	
Linhagem	IE Médio	Linhagem	IE Médio
P1A1	2,33	P2B3	2,16
P1A2	2,00	P2B4	3,00
P1A6	3,00	P2B5	2,00

Parcela 1		Parcela 2	
Linhagem	IE Médio	Linhagem	IE Médio
P1A7	3,00	P2B9	2,00
P1A12	3,00	P2B12	2,66
P1A13	2,00	P2B14	3,00
P1A19	2,66	P2B16	3,16
P1A20	2,00	P2B17	2,50
P1A21	2,00	P2B19	2,16
P1A22	2,00	P2B20	3,66
P1A23	2,00	P2B21	2,00
		P2B23	2,22
		P2B24	4,33
		P2B26	3,66
		P2B27	2,50
		P2B28	2,00

Fonte: Autoria própria (2025).

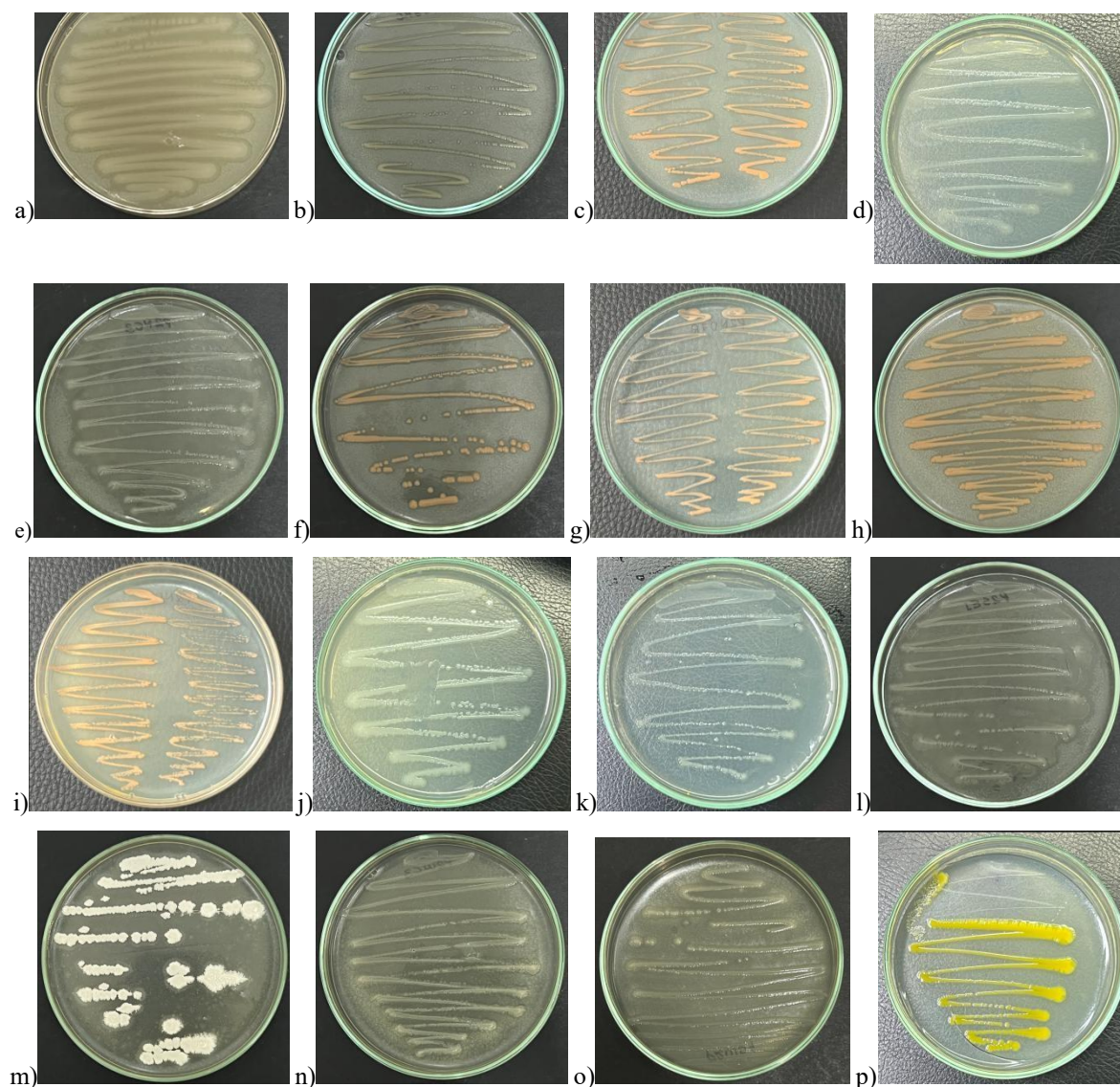
Figura 3 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade lipolítica alta ($IE M \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P1A1. b) P1A2. c) P1A6. d) P1A7. e) P1A12. f) P1A13. g) P1A19. h) P1A20. i) P1A21. j) P1A22. k) P1A23.

Figura 4 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade lipolítica alta ($IEM \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P2B3. b) P2B5. c) P2B5. d) P2B9. e) P2B12. f) P2B14. g) P2B16. h) P2B17. i) P2B19. j) P2B20. k) P2B21. l) P2B23. m) P2B24. n) P2B26. o) P2B27. p) P2B28.

Neste estudo, as linhagens de leveduras apresentaram atividade lipolítica significativa, destacando-se as cepas P2B24 ($IEM=4,33$), P2B20 e P2B26 ($IEM=3,66$), seguidas por P2B16 ($IEM=3,16$), e P1A6, P1A7, P1A12, P2B4 e P2B14, todas com $IEM=3,00$. Assim, existe significativa diversificação e variabilidade de índices enzimáticos entre as leveduras.

A frequência observada neste estudo (51,9%) é similar aos relatados em outros estudos. Oliveira (2015) avaliou 142 leveduras coletadas de frutos do Cerrado para produção enzimática, resultando em 61 com resultados para lipase, com índices variando de 1,22 a 9,59,

sendo 28 linhagens (45,9 %) com $IE \geq 2$. Além disso, o autor demonstrou que a origem dos isolados influenciou nos resultados, pois 6 foram obtidos de tucum (*Bactris inundata*), 6 de inajá (*Attalea maripa*), 5 de buriti (*Mauritia flexuosa*) e apenas 1 de babaçu (*Orbignya* sp.). Assim, demonstrando uma variação na expressão enzimática conforme a origem dos isolados.

Além disso, Sopalun e Iamtham (2020) observaram atividade lipolítica em 34 (67%) dos fungos endófitos de *Ascocentrum curvifolium*, com destaque para o isolado AcS03 ($IE = 17,0$). Enquanto Lamilla *et al.* (2022) identificaram 24 cepas de Actinobactérias produtoras de lipase. A discrepância de IE pode estar relacionada com a origem do material biológico ou às condições metodológicas empregadas, o que reforça que o ambiente e substrato influenciam na expressão de enzimas extracelulares.

No estudo de Santos e Silva (2023) para atividade lipolítica, foram isolados 60 fungos endofíticos de umbuzeiro, e 63,33% não cresceram no meio enriquecido com azeite de oliva extravirgem, indicando que não degradam o azeite no meio e não tiveram atividade lipolítica. Os autores relatam que 20% conseguiram crescer, mas não produziram halo de degradação, e apenas 16,67% conseguiram crescer e apresentaram halo de degradação, sendo 50% provenientes de raízes, 20% de caules, 20% dos xilemas e 10% das folhas.

Em um estudo conduzido no Parque Estadual da Serra de Ouro Branco (MG), Luz *et al.* (2021) isolaram 46 microrganismos de diferentes substratos naturais (água, briófitas, solo, material de cupinzeiro, folhas, caule de árvores e bromélias), sendo 36 bactérias e 10 fungos. Na triagem, 25 apresentaram atividade lipolítica alta em pelo menos um dos meios de detecção (Tween 80 e Rodamina B), com destaque para *Serratia marcescens* e *Pseudomonas fluorescens*. Como no presente estudo, esses isolados apresentaram $IE \geq 2,0$, sendo considerados potenciais produtores de lipases de interesse industrial.

A variabilidade encontrada nos resultados de estudos semelhantes indica que fatores ambientais e filogenéticos influenciam na expressão lipolítica, o que reforça a importância de explorar diferentes biomas. Além disso, Nhim *et al.* (2025) estudou a suplementação de Tween 20 em co-culturas, e resultados sugerem que a suplementação de surfactantes, como o Tween-20, pode aumentar a eficiência enzimática e a sacarificação de biomassa. Esse recurso tem sido amplamente empregado em estudos de prospecção de microrganismos produtores de lipases (LUZ *et al.*, 2021). Ademais, os resultados obtidos neste estudo confirmam a eficiência do uso de Tween 20 como estratégia de triagem, visto que permitiu a detecção clara de halos lipolíticos em diferentes isolados.

4. 1. 2 Atividade Proteolítica

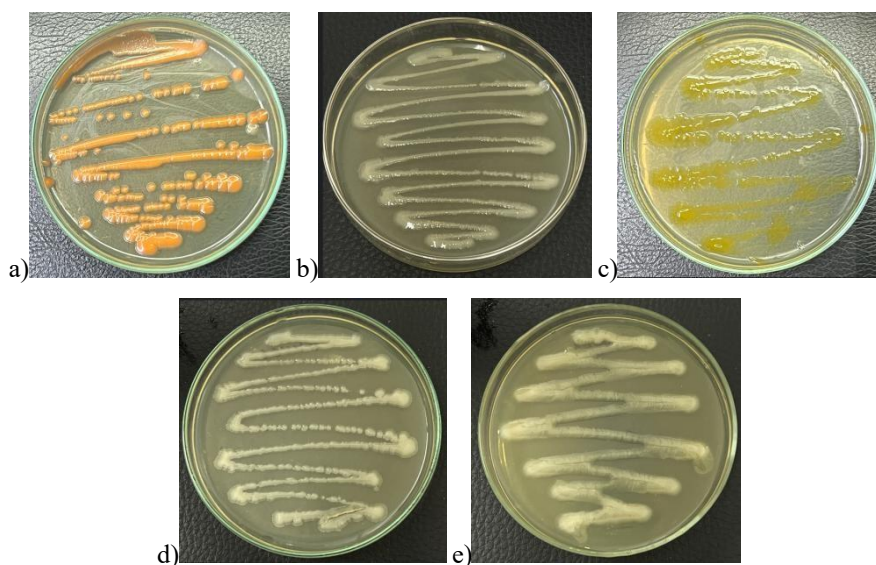
A triagem para atividade proteolítica revelou que apenas sete (13,46%) apresentaram atividade proteolítica alta (Tabela 2), com IEM ≥ 2 , sendo cinco provenientes de coleta do solo na Parcela 1 (Figura 5) e apenas dois da Parcela 2 (Figura 6). O isolado P1A13 mostrou o maior potencial, com IE médio de 3,00.

Tabela 2 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para protease de leveduras do solo do semiárido baiano

Parcela 1		Parcela 2	
Linhagem	IE Médio	Linhagem	IE Médio
P1A4	2,00	P2B19	2,11
P1A8	2,50	P2B24	2,25
P1A13	3,00		
P1A22	2,66		
P1A23	2,50		

Fonte: Autoria própria (2025).

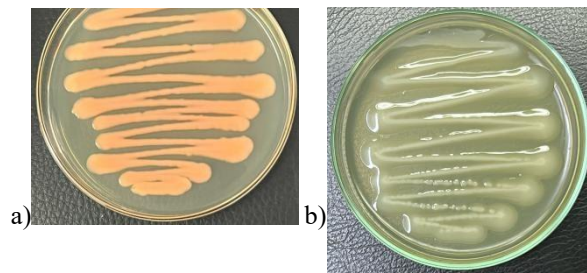
Figura 5 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade proteolítica alta (IEM $\geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P1A4. b) P1A8. c) P1A13. d) P1A22. e) P1A23.

Figura 6 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade proteolítica alta ($\text{IEM} \geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P2B19. b) P2B24.

Em um estudo realizado por Carvalho *et al.* (2021), a levedura *Naganishia diffluens* apresentou índice enzimático de protease de 3,50, e o registro dessa espécie em ambiente lótico sugere alta capacidade adaptativa, mas trata-se de um estudo que reforça o potencial biotecnológico de leveduras isoladas de ecossistemas aquáticos.

Sopalun e Iamtham (2020) detectaram atividade proteolítica em 20 fungos endofíticos isolados (39%), com IE variando entre 1,00 e 25,33. Os autores destacam isolado AcL07, proveniente de folhas de *Ascocentrum curvifolium*, que apresentou $\text{IE} = 25,33$. Esse resultado é significativamente superior aos demais e aos resultados encontrados no presente estudo, evidenciando o potencial de determinados endófitos como fontes promissoras de proteases e o impacto da origem na diferença de atividade.

A proporção de produtores encontrados neste estudo foi menor do que a relatada por Lamilla *et al.* (2022), em ambientes extremos como sedimentos marinhos, onde os autores encontraram taxas de positividade entre 80 a 100% de Actinobactérias. Assim, é possível que ecossistemas marinhos extremos selecionem microrganismos adaptados a alta produção de enzimas extracelulares para promover a degradação de matéria orgânica.

A diferença de resultados pode estar relacionada com a composição taxonômica distinta das comunidades microbianas, leveduras e bactérias, mas também pode relacionar-se com as pressões seletivas de ambientes aos quais os microrganismos desenvolvem-se.

4. 1. 3 Atividade Amilolítica

No presente estudo, apenas sete linhagens de leveduras (13,46%) apresentaram resultados com atividade amilolítica alta (Tabela 3), com $\text{IEM} \geq 2$, sendo quatro provenientes de coleta do solo na Parcela 1 (Figura 7) e três da Parcela 2 (Figura 8). A linhagem P1A17

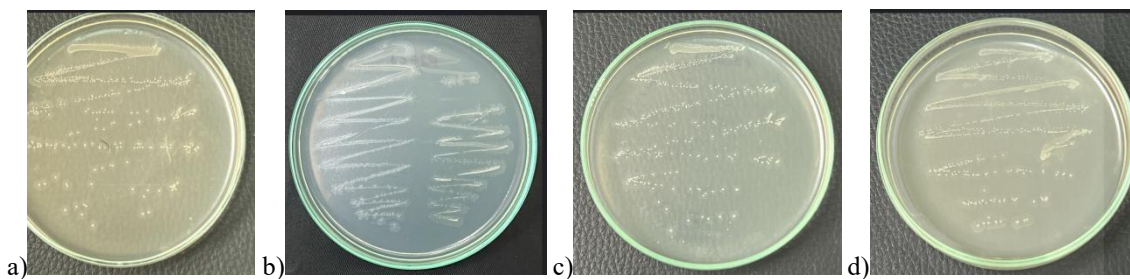
destacou-se com o maior IEM, atingindo 5,00, seguido de P1A18 e P1B5, respectivamente com IEM de 4,33 e 4,16, e P2B21 com IEM de 3,33.

Tabela 3 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para amilase de leveduras do solo do semiárido baiano

Parcela 1		Parcela 2	
Linhagem	IE Médio	Linhagem	IE Médio
P1A15	4,16	P2B5	2,33
P1A16	2,83	P2B7	2,50
P1A17	5,00	P2B21	3,33
P1A18	4,33		

Fonte: Autoria própria (2025).

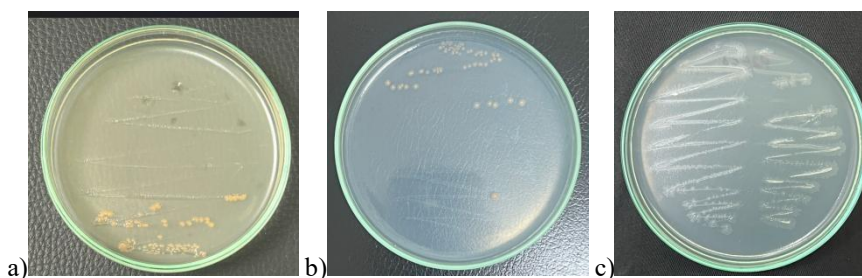
Figura 7 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade amilolítica alta (IEM $\geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P1A15. b) P1A16. c) P1A17. d) P1A18.

Figura 8 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade amilolítica alta (IEM $\geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P2B5. b) P2B7. c) P2B21.

Os índices com resultados de IEM ≥ 2 obtidos neste estudo (entre 2,0 e 5,0) demonstram que as leveduras do semiárido apresentam potencial amilolítico comparável ou superior ao relatado na literatura. Oliveira (2015) avaliou linhagens provenientes de frutos do Cerrado, registrando apenas uma levedura com resultado de atividade enzimática para amilase

(IE = 1,57), isolada de tucum (*Bactris inundata*). De forma similar, Carvalho *et al.* (2021) estudaram a capacidade de isolados de ambientes lóticos para a secreção de amilase, porém com índices baixos (IE $\geq$ 1).

Sopalun e Iamtham (2020) estudaram isolados de fungos endofíticos, demonstrando atividades amilolíticas muito superiores (AcS03 com IE = 11,3 e DanS03 com IE = 8,67) aos relatados neste estudo. Contudo, Santos e Silva (2023) também realizaram um estudo com fungos endofíticos, neste caso obtidos de umbuzeiro, e seus resultados mostraram índices inferiores a 2,0. Esses resultados evidenciam que a origem do isolado e o nicho ecológico exercem influência direta na atividade amilolítica.

Os resultados encontrados neste estudo indicam que o semiárido baiano constitui um ambiente que favorece a seleção de microrganismos com capacidade amilolítica promissora, que podem decorrer de pressões seletivas impostas por condições ambientais extremas. Contudo, quando comparados a outros grupos de microrganismos, os resultados obtidos com leveduras do semiárido mostram-se intermediários.

Em estudo recente, Chaib *et al.* (2024) identificaram *G. candidum* PO27 isolado de bagaço de azeitona, apresentando um halo de 40 mm (IEM = 1,6) e produção de α -amilase de 180,71 U/g em fermentação em estado sólido, o que pode validar a potencialidade de resíduos agroindustriais como substrato alternativo. Os valores de atividade absoluta são distintos aos relatados aqui, mas as condições ambientais e a origem dos isolados indicam que microrganismos adaptados a diferentes habitats podem expressar diversidade metabólica com aplicações industriais relevantes, mesmo aquelas com índices enzimáticos mais baixos.

4.1.4 Atividade Pectinolítica

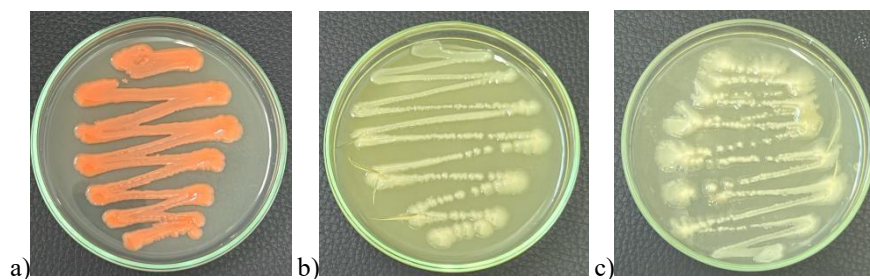
Em relação à atividade pectinolítica, apenas oito linhagens (15,38%) demonstraram resultados com atividade pectinolítica alta (Tabela 4), com IEM $\geq$ 2, sendo três provenientes de coleta do solo na Parcela 1 (Figura 9) e cinco da Parcela 2 (Figura 10). O isolado P2B5 obteve o maior Índice Enzimático Médio, com um valor de 3,33, seguido de P2B20 (IEM=3,00). As linhagens P1A23 e P1A24 alcançaram um IE Médio de 2,33.

Tabela 4 - Índice Enzimático Médio (IEM) com resultados ≥ 2 para pectinase de leveduras do solo do semiárido baiano

Parcela 1		Parcela 2	
Linhagem	IE Médio	Linhagem	IE Médio
P1A2	2,00	P2B2	2,00
P1A23	2,33	P2B5	3,33
P1A24	2,33	P2B9	2,00
		P2B16	2,00
		P2B20	3,00

Fonte: Autoria própria (2025).

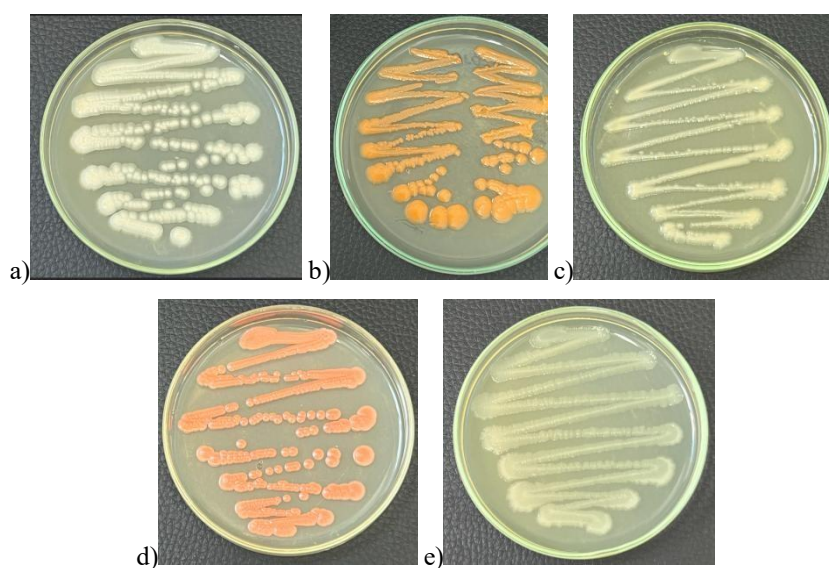
Figura 9 - Linhagens da Parcela 1 de solo com atividade pectinolítica alta (IEM $\geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P1A2. b) P1A23. c) P1A24.

Figura 10 - Linhagens da Parcela 2 de solo com atividade pectinolítica alta (IEM $\geq 2,0$) de leveduras do solo do semiárido baiano.



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: a) P2B2. b) P2B5. c) P2B9. d) P2B16. e) P2B20.

A presença de sete isolados produtores de pectinase revela que as leveduras de solo do semiárido podem contribuir para a degradação de polímeros pécicos, mesmo que em menor proporção do que relatado por fungos filamentosos, tradicionalmente reconhecidos como principais produtores pectinolíticos (KC *et al.*, 2020).

De modo diferente, Sopalun e Iamtham (2020) realizaram um estudo no qual 49% de isolados fúngicos foram produtores de pectinase. Dentre eles, o isolado DapR02 destacou-se pela produção de pectinase com IE de 23,17, significativamente superior aos demais. Enquanto neste estudo a frequência foi de apenas 15,38% com IEM ≥ 2 , com o maior valor sendo 3,33 para P2B5, que pode refletir de diferenças entre condições experimentais ou da origem da coleta microbiológica.

O índice obtido para os isolados apresentados na Tabela 4 está dentro da faixa descrita para microrganismos com potencial biotecnológico para a produção pectinolítica (KC *et al.*, 2020), sugerindo que esses isolados são interessantes para futuras aplicações industriais. Além disso, a diferença de respostas entre os isolados (IEM=2,00-3,00) sugere variabilidade intraespecífica na capacidade enzimática, como descrito em leveduras pectinolíticas por Longhi *et al.* (2022).

Em um estudo conduzido com polpa de café, Oumer e Abate (2018) isolaram 95 microrganismos e avaliaram quanto à produção de pectinases, sendo 21,06% actinomicetos, 65,26% bactérias e 13,68% fungos. Aproximadamente 31% dos isolados apresentaram atividade enzimática alta, com destaque para a cepa Btk27, que exibiu a maior razão entre zona de hidrólise e diâmetro da colônia ($4,7 \pm 1,2$). Esses resultados reforçam o potencial biotecnológico dos microrganismos como fontes de enzimas de interesse.

4.2 CULTURAS PROMISSORAS PARA APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

4.2.1 Lipases

Neste estudo, a cultura de maior destaque para produção de lipase para aplicações biotecnológicas neste estudo foi P2B24 (IEM = 4,33), seguido de P2B20 e P2B26 (IEM = 3,66). Outras culturas promissoras são P1A6, P1A7, P1A12, P2B2 e P2B14 (todas com IEM = 3,00). A enzima lipase foi a mais difundida entre os isolados, sendo 51,9% das culturas tiveram alta atividade lipolítica, demonstrando a adaptabilidade de microrganismos a

ambientes semiáridos e sua relevância industrial para aplicações em indústrias de detergentes, alimentos, biocombustíveis e outros.

4. 2. 2 Proteases

A atividade proteolítica apresentada neste estudo releva um destaque para a cepa P1A13 (IEM = 3,00), e também para P1A22 (IEM = 2,66), P1A23 (IEM = 2,50), P2B24 (IEM = 2,25), P2B19 (IEM = 2,11). Apesar de apenas 7 linhagens (13,46%) terem demonstrado alta atividade pectinolítica, todas as cepas cresceram no meio enriquecido para a produção de protease, mesmo que com índices enzimáticos baixos ou intermediários, indicando que os isolados foram capazes de degradar a gelatina presente no meio. As proteases apresentam alto valor em indústrias farmacêuticas, alimentícias e de detergentes, e este estudo demonstra que a gelatina é um substrato de interesse na identificação de atividade proteolítica microbiana em meio sólido.

4. 2. 3 Amilases

A atividade amilolítica demonstrou que as cepas com melhor potencial enzimático foram P1A17 (IEM = 5,00), P1A18 (IEM = 4,33) e P1B5 (IEM = 4,16), outras relevantes foram P2B21 (3,33), P1A16 (2,83) e P2B7 (2,50). Apesar de somente 7 linhagens (13,46%) terem apresentado $IE \geq 2$, as que apresentaram atividade alta, demonstram valores mais altos do que para outras enzimas, indicando potencial para aplicações em setores industriais, como biocombustíveis, panificação e indústria de amidos.

4. 2. 4 Pectinases

A atividade pectinolítica apresentou resultados satisfatórios para os isolados P2B5 (IEM = 3,33) e P2B20 (IEM = 3,00), outras relevantes foram P1A23 e P1A24 (2,33), P2B2, P2B9 e P2B16 (todas 2,00). Apesar de apenas 8 linhagens terem apresentado alto índice enzimático para pectinases, a presença de isolados com valores consistentes indica um potencial interessante para a produção industrial, como em setores de sucos, vinhos, fibras vegetais e biodegradação.

4. 2. 5 Atividade Enzimática Intermediária

A análise qualitativa resultou em diversas linhagens com atividade enzimática intermediária ($IEM < 2$), como demonstrado no Gráfico 1, para um ou mais ensaios. Embora não tenham atingido o critério estabelecido para alta atividade ($IEM \geq 2$), a identificação dessas linhagens representa um dado positivo e promissor para a bioprospecção de leveduras.

A detecção da capacidade de hidrólise do substrato em condições de cultivo não otimizadas é um indicativo promissor de que a enzima é funcional naquele organismo. Desse modo, a otimização do bioprocessamento pode ser utilizada para produção em níveis industriais, como variação de pH do meio de cultivo próximo ao ponto ótimo da atividade enzimática específica ou testes de temperatura para aumentar a taxa de reação sem desnaturação.

4. 2. 6 Linhagens multifuncionais

As linhagens mais promissoras são aquelas que apresentam atividade enzimática multifuncional. Neste estudo, conforme a Tabela 5, quatro cepas (P1A13, P1A22, P2B19 e P2B24) expressaram atividades para lipase e protease; apenas uma (P2B21) para lipase e amilase; quatro (P1A2, P2B9, P2B16 e P2B20) expressaram atividade para lipase e pectinase. Apenas duas cepas apresentaram atividades para três enzimas, uma delas na Parcela 1 de coleta de solo (P1A23), para lipase, protease e pectinase, e a outra na Parcela 2 (P2B5), para lipase, amilase e pectinase. Nenhuma das linhagens estudadas expressou atividade enzimática paralela para todas as quatro enzimas testadas.

Tabela 5 - Linhagens multifuncionais de leveduras do solo do semiárido baiano, com resultados de $IEM \geq 2$

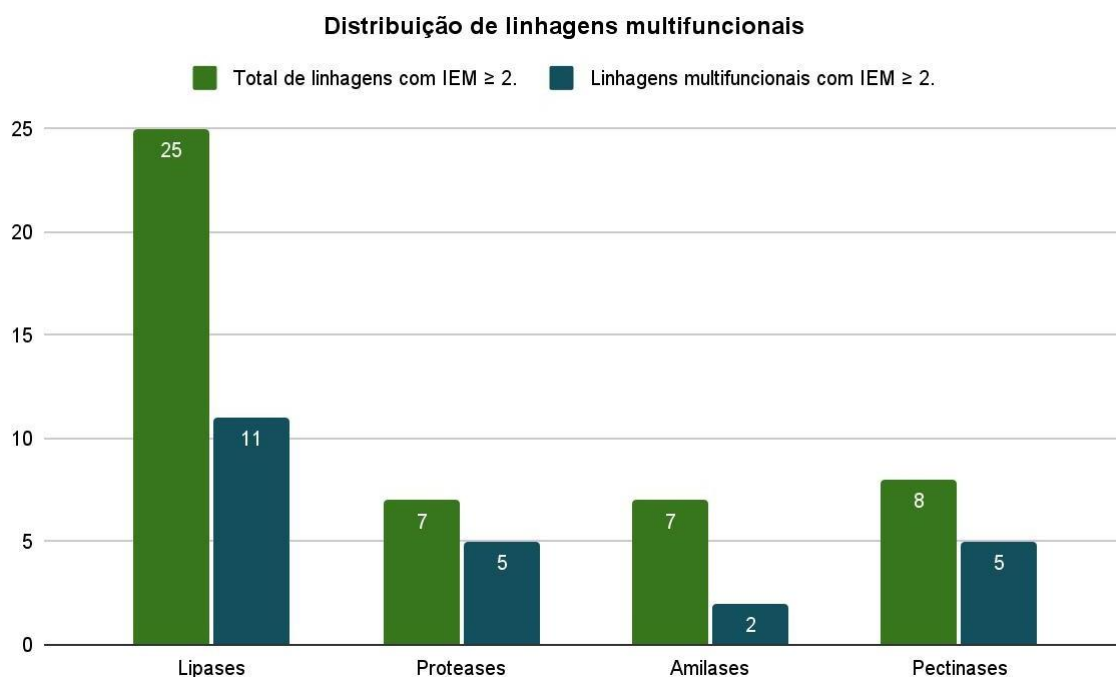
Parcela 1		Parcela 2	
Linhagem	Atividade multifuncional (IE)	Linhagem	Atividade multifuncional (IE)
P1A2	Lipase (2,00) + Pectinase (2,00)	P2B5	Lipase (2,00) + Amilase (2,33) + Pectinase (3,33)
P1A13	Lipase (2,00) + Protease (3,00)	P2B9	Lipase (2,00) + Pectinase (2,00)
P1A22	Lipase (2,00) + Protease (2,66)	P2B16	Lipase (3,16) + Pectinase (2,00)
P1A23	Lipase (2,00) + Protease (2,50) + Pectinase (2,33)	P2B19	Lipase (2,16) + Protease (2,11)
		P2B20	Lipase (3,66) + Pectinase (3,00)
		P2B21	Lipase (2,00) + Amilase (3,33)
		P2B24	Lipase (4,33) + Protease (2,25)

Fonte: Autoria própria (2025).

Os resultados na Tabela 5 demonstram linhagens com alta atividade para duas ou mais enzimas, indicando uma tendência natural das cepas à serem multifuncionais, mas com especificações. Apenas duas cepas apresentaram atividade para três enzimas, e estas (P1A23 e P2B5) são especialmente promissoras para serem exploradas em processos industriais mais complexos ou para a produção multifuncional de enzimas, reduzindo os custos de produção, fermentação e purificação dos processos. A ausência de cepas com alta atividade enzimática para todas as quatro enzimas testadas sugere limitações fisiológicas.

O Gráfico 3 mostra a distribuição das linhagens de leveduras com alta atividade enzimática ($IEM \geq 2$) para cada enzima, dentre elas, comparando com aquelas que apresentaram mais de uma atividade ao mesmo tempo.

Gráfico 3 - Distribuição de linhagens multifuncionais com $IEM \geq 2$ por enzima de leveduras do solo do semiárido baiano



Fonte: Autoria própria (2025).

Legenda: As linhagens multifuncionais representam aquelas leveduras de solo do semiárido que apresentaram alta atividade enzimática ($IEM \geq 2$) para duas ou mais enzimas.

Sendo assim, no Gráfico 3, verifica-se que as lipases têm a maior quantidade de linhagens com $IEM \geq 2$, tal como o maior número de linhagens multifuncionais (11 de 25, 44%), prevalecendo um maior número de leveduras com atividade exclusiva, mas com significativa atividade multifuncional. As proteases (5 de 7, 71, 43%) e as pectinases (5 de 8,

62,5%) apresentam uma proporção similar e elevada entre a quantidade total de linhagens com $IE \geq 2$ e o número de linhagens multifuncionais, indicando que essas linhagens podem vir acompanhadas a produção enzimática diversa. Enquanto as amilases têm o menor número de linhagens multifuncionais relacionadas ao total com $IE \geq 2$ (2 de 7, 28,57%), indicando que a capacidade produtiva de amilases em leveduras pode não vir associada a outras.

Um estudo conduzido no Cerrado no norte de Minas Gerais por Vieira *et al.* (2025) destacou a prospecção de leveduras associadas a flores de *Qualea grandiflora*, onde foram isoladas 58 leveduras, destas haviam dois fungos semelhantes a leveduras. Foram identificadas 18 espécies diferentes distribuídas em 14 gêneros, e a *Candida rhopalochaeta* mostrou-se particularmente versátil, apresentando atividade em múltiplos testes enzimáticos, incluindo amilase, protease e tanase, reforçando sua relevância biotecnológica. Contudo, Vieira *et al.* (2025) destacou que entre 20 isolados com halos de hidrólise, apenas oito apresentaram $IE \geq 2,0$. Esse valor é similar aos relatados neste estudo, com exceção da atividade lipolítica, na qual 50% dos isolados apresentaram $IE \geq 2,0$.

Os resultados do presente estudo demonstram que atividades em múltiplos testes enzimáticos são de interesse industrial e biotecnológico, podendo ser explorados em diversas aplicações. Exemplificando, uma mesma cepa que produz lipase e protease pode ser utilizada em formulações de detergentes, e uma cepa que produz lipase e pectinase pode ser aplicada na indústria de processamento de alimentos ou na produção de bioetanol. Sendo assim, a multifuncionalidade aumenta a eficiência em aplicações industriais, pois reduz os custos de processos devido uma mesma cepa produzir mais de uma enzima.

Al Halim, Hemeda e Serag (2024) analisaram 42 isolados de leveduras, das quais sete cepas apresentaram produção simultânea de lipase e pectinase, e duas foram capazes de produzir amilase, pectinase, lipase, protease e urease de forma concomitante. Entre essas, os autores relatam as linhagens duas linhagens atribuídas ao gênero *Hanseniaspora*, frequentemente relatada como levedura não-*Saccharomyces* associada à superfície de uvas. Desse modo, as leveduras são microrganismos promissores para apresentar perfis enzimáticos multifuncionais, como observado nas linhagens P1A23 e P1B5.

4.3 LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVA FUTURAS

Neste estudo, a bioprospecção de leveduras do semiárido baiano para a produção de enzimas hidrolíticas foi efetuada, mas com algumas limitações. A natureza qualitativa dos ensaios em meio sólido apresentam baixo custo e alta vazão, fornecendo o Índice Enzimático

e a capacidade de produção. Contudo, o estudo foi conduzido sob condições de cultivo padrão, que podem não ser ideais para a máxima expressão de todas as enzimas.

Em perspectivas futuras, objetiva-se realizar a identificação molecular das linhagens mais promissoras e estatisticamente superiores, por meio do sequenciamento de regiões ribossomais, para confirmar o gênero e espécie, agregando valor científico e industrial aos isolados de leveduras do solo do semiárido baiano.

A confirmação da atividade pode ser feita através de ensaios quantitativos em fermentação submersa, utilizando métodos colorimétricos ou fluorimétricos, para determinar a atividade específica e o rendimento de produção das enzimas (Lipase, Protease, Amilase, Pectinase). Além disso, as linhagens mais promissoras devem ser submetidas a ensaios de otimização de bioprocessos, investigando o efeito de variações de pH, temperatura, aeração e tempo de incubação para maximizar a produção das enzimas de interesse.

5 CONCLUSÃO

Nesta pesquisa, a identificação molecular ainda não foi finalizada, o que impede afirmar quais espécies correspondem às linhagens promissoras. Além disso, compreende-se que as condições do meio podem influenciar a difusão de substrato e o tamanho do halo de hidrólise, afetando o IE. Recomenda-se, como próximos passos, extração de DNA e sequenciamento para identificação molecular das leveduras, seguido de cultivo em meio líquido para a quantificação enzimática e testes de otimização.

Os resultados deste estudo demonstram que o semiárido baiano é um depósito relevante de leveduras com potencial para a produção de enzimas hidrolíticas. Das 52 linhagens avaliadas, 48,63% apresentaram alta atividade enzimática ($IEM \geq 2,0$) para pelo menos uma das enzimas, representando uma distribuição significativa. Além disso, foram observadas cepas multifuncionais capazes de secretar duas ou três enzimas, demonstrando o valor biotecnológico das leveduras para estudos com enzimas, pois favorecem processos industriais constituídos por diversidade enzimática.

No presente estudo, foi realizada a triagem qualitativa em meio sólido, apresentando resultados promissores que justificam etapas posteriores de caracterização bioquímica e otimização das condições de cultivo das linhagens selecionadas, como pH, estabilidade térmica, além da identificação das cepas. Portanto, este estudo corrobora com o potencial de microrganismos do solo do semiárido como fontes de novas enzimas de interesse biotecnológico, além de evidenciar a necessidade de aprofundar estudos voltados à caracterização das enzimas produzidas, principalmente sobre especificidade do substrato, termoestabilidade e desempenho em diferentes condições.

REFERÊNCIAS

- AL HALIM, Laila R. Abd; HEMEDA, Nada F.; SERAG, Ahmed M. Isolation, characterization, and screening of yeast biodiversity for multi-hydrolytic enzymes. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, v. 10, n. 3, p. 474-484, 2024.
- ALI, Sajid *et al.* The recent advances in the utility of microbial lipases: A review. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 510, 2023.
- ALLETTO, Paola; GARCIA, Ana Maria; MARCHESAN, Silvia. Short Peptides for Hydrolase Supramolecular Mimicry and Their Potential Applications. **Gels**, v. 9, n. 9, p. 678, 2023.
- ALVES, Bianca Aguiar *et al.* Bioprospecção de bactérias produtoras de enzimas de interesse biotecnológico. 2018.
- ASHOK, Patel Pratima *et al.* Challenges and prospects of microbial α -amylases for industrial application: a review. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 2, p. 44, 2024.
- BILAL, Muhammad *et al.* Bioprospecting *Kluyveromyces marxianus* as a robust host for industrial biotechnology. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, v. 10, p. 851768, 2022.
- CARVALHO, Jéssyca Ketterine *et al.* Yeasts isolated from a lotic continental environment in Brazil show potential to produce amylase, cellulase and protease. **Biotechnology Reports**, v. 30, p. e00630, 2021.
- CHAIB, Ibtissem *et al.* Extracellular enzymes producing yeasts study: cost-effective production of α -amylase by a newly isolated thermophilic yeast *Geotrichum candidum* PO27. **AIMS microbiology**, v. 10, n. 1, p. 83, 2024.
- EL-GENDI, Hamada *et al.* A comprehensive insight into fungal enzymes: structure, classification, and their role in mankind's challenges. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 1, p. 23, 2021.
- FAROOQ, Muhammad Adeel *et al.* Biosynthesis and industrial applications of α -amylase: A review. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 4, p. 1281-1292, 2021.
- GONÇALVES, Caroline da Costa Silva; DA FONSECA, Francine Souza Alves. Reações de oxidação catalisadas por enzimas. *Revista Virtual de Química*, 2018.
- GOPINATH, Subash CB *et al.* Biotechnological processes in microbial amylase production. **BioMed research international**, v. 2017, n. 1, p. 1272193, 2017.
- HAILE, Setegn; AYELE, Abate. Pectinase from microorganisms and its industrial applications. **The Scientific World Journal**, v. 2022, n. 1, p. 1881305, 2022.
- HANKIN, Lester; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. **Mycologia**, v. 67, n. 3, p. 597-607, 1975.
- KAMILARI, Eleni *et al.* Uncovering the biotechnological importance of *Geotrichum candidum*. **Foods**, v. 12, n. 6, p. 1124, 2023.

KC, Sudeep *et al.* Production, characterization, and industrial application of pectinase enzyme isolated from fungal strains. **Fermentation**, v. 6, n. 2, p. 59, 2020.

LAMILLA, Claudio *et al.* Bioprospecting for extracellular enzymes from culturable Actinobacteria from the South Shetland Islands, Antarctica. **Polar Biology**, v. 40, n. 3, p. 719-726, 2017.

LEALEM, F.; GASHE, B. A. Amylase production by a Gram-positive bacterium isolated from fermenting tef (*Eragrostis tef*). **Journal of Applied bacteriology**, v. 77, n. 3, p. 348-352, 1994.

LIU, Xiangyang; KOKARE, Chandrakant. Microbial enzymes of use in industry. In: **Biotechnology of microbial enzymes**. Academic Press, 2023. p. 405-444.

LONGHI, Sara Jaquelina *et al.* Yeast multi-enzymatic systems for improving colour extraction, technological parameters and antioxidant activity of wine. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 4, p. 556-570, 2022.

LOODER, J. General classification of the yeast. **KREGER-VAN RIJ, NJW The yeast, a taxonomic study**. Amsterdam: North-Holland Publishing Co, 1970.

LUZ, BÁRBARA D. *et al.* Lipase production by microorganisms isolated from the Serra de Ouro Branco State Park. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, p. e20190672, 2021. MAGHRABY, Yasmin R. *et al.* Enzyme immobilization technologies and industrial applications. **ACS omega**, v. 8, n. 6, p. 5184-5196, 2023.

MAGHRABY, Yasmin R. *et al.* Enzyme immobilization technologies and industrial applications. **ACS omega**, v. 8, n. 6, p. 5184-5196, 2023.

MARTÍN, María Carolina *et al.* Biocontrol and enzymatic activity of non-Saccharomyces wine yeasts: improvements in winemaking. **Fermentation**, v. 10, n. 4, p. 218, 2024.

NHIM, Sreyneang *et al.* Effective semi-fed-batch saccharification with high lignocellulose loading using co-culture of *Clostridium thermocellum* and *Thermobrachium celere* strain A9. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1519060, 2025.

OLIVEIRA, Tássia de Sousa. Seleção de leveduras de frutos do cerrado tocantinense para produção de hidrolases e otimização de suas condições de cultivo. 2015.

OUMER, Oliyad Jeilu; ABATE, Dawit. Screening and molecular identification of pectinase producing microbes from coffee pulp. **BioMed research international**, v. 2018, n. 1, p. 2961767, 2018.

PRABHU, Girisa *et al.* A critical look at bioproducts co-cultured under solid state fermentation and their challenges and industrial applications. **Waste and Biomass Valorization**, v. 13, n. 7, p. 3095-3111, 2022.

RAVEENDRAN, Sindhu *et al.* Applications of microbial enzymes in food industry. **Food technology and biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 16, 2018.

RIGOLDI, Federica *et al.* Engineering of thermostable enzymes for industrial applications. **APL bioengineering**, v. 2, n. 1, p. 011501, 2018.

RIOS, Karine B. O. Bioprospecção de compostos com potencial antimicrobiano de leveduras do Semiárido baiano. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS, Março, 2022.

RUGINESCU, Robert *et al.* Bioprospecting for novel bacterial sources of hydrolytic enzymes and antimicrobials in the Romanian littoral zone of the Black Sea. **Microorganisms**, v. 10, n. 12, p. 2468, 2022.

SANTOS, Kalila Silva; DE FARIA SILVA, Luciana Amaral. Fungos endofíticos isolados do umbuzeiro (*spondias tuberosa* arruda câmara): fontes alternativas potenciais para a produção de enzimas e pigmentos naturais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 103761-103774, 2020.

SIERRA, Gonzalo. A simple method for the detection of lipolytic activity of micro-organisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. Laboratory of Microbiology, Amsterdam, Holland and Department of Biochemistry, **Institute aine Ferrán of Microbiology**, Madrid, Spain. p. 15-22, 1956.

SINGH, Rajendra *et al.* Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. 3 **Biotech**, v. 6, p. 1-15, 2016.

SOPALUN, Kathawut; IAMTHAM, Siriluck. Isolation and screening of extracellular enzymatic activity of endophytic fungi isolated from Thai orchids. **South African Journal of Botany**, v. 134, p. 273-279, 2020.

SOUZA JR, Carlos M. *et al.* Reconstructing three decades of land use and land cover changes in brazilian biomes with landsat archive and earth engine. **Remote Sensing**, v. 12, n. 17, p. 2735, 2020.

STAMFORD, T. L.M.; ARAÚJO, J. M.; STAMFORD, N.P. Atividade enzimática de microrganismos isolados do Jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol. 18 n. 4 Campinas Oct./Dec. 1998.

VERMELHO, Alane Beatriz *et al.* Detection of extracellular proteases from microorganisms on agar plates. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, p. 755-760, 1996.

VIEIRA, Jaqueline Silva *et al.* Phylogenetic Diversity and Extracellular Enzymatic Activities of Yeasts and Yeast-Like Fungi Isolated From *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in Cerrado Areas in Northern Minas Gerais, Brazil. **International Journal of Microbiology**, v. 2025, n. 1, p. 2663995, 2025.

WICKERMAN, L., J. Taxonomy of yeasts. **Technical Bulletin 1029US. Department of Agriculture**, Washington DC, 1951.

YARROW, D. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. In: Kurtzman, C. P., Fell, J. W.(eds). The yeasts – a taxonomic study. 4rd ed. **Elsevier Science Publ.**, p.77-100, 1998.

APÊNDICE A - Análise do Índice Enzimático (IE).

Tabela 1 - Análise do Índice Enzimático (IE) para a enzima lipase.

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A1	1	1	3	3	Sim
P1A1	2	2	4	2	Sim
P1A1	3	2	4	2	Sim
P1A2	1	1	3	3	Sim
P1A2	2	2	3	1,5	Não
P1A2	3	2	3	1,5	Não
P1A3	1	1	1,5	1,5	Não
P1A3	2	2	2,5	1,25	Não
P1A3	3	1	1,5	1,5	Não
P1A4	1	2	2,5	1,25	Não
P1A4	2	2	2,5	1,25	Não
P1A4	3	1	1,5	1,5	Não
P1A5	1	1	1	1	Não
P1A5	2	1	1	1	Não
P1A5	3	1	1	1	Não
P1A6	1	1	3	3	Sim
P1A6	2	1	3	3	Sim
P1A6	3	1	3	3	Sim
P1A7	1	1	3	3	Sim
P1A7	2	2	4	2	Sim
P1A7	3	1	3	3	Sim
P1A8	1	0,5	1	2	Sim
P1A8	2	1	1	1	Não
P1A8	3	1	1	1	Não
P1A9	1	1	1,5	1,5	Não
P1A9	2	1	2	2	Sim
P1A9	3	1	1,5	1,5	Não
P1A10	1	1	2	2	Sim
P1A10	2	1	2	2	Sim
P1A10	3	0,5	0,5	1	Não
P1A11	1	2	3	1,5	Não
P1A11	2	2	3	1,5	Não
P1A11	3	2	2	1	Não
P1A12	1	1	2	2	Sim
P1A12	2	1	3	3	Sim
P1A12	3	1	4	4	Sim

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A13	1	0,5	1	2	Sim
P1A13	2	0,5	1	2	Sim
P1A13	3	0,5	1	2	Sim
P1A14	1	2	3	1,5	Não
P1A14	2	2	3	1,5	Não
P1A14	3	2	3	1,5	Não
P1A15	1	1	1	1	Não
P1A15	2	1	1	1	Não
P1A15	3	1	1	1	Não
P1A16	1	S/C	S/C	S/C	Não
P1A16	2	S/C	S/C	S/C	Não
P1A16	3	S/C	S/C	S/C	Não
P1A17	1	S/C	S/C	S/C	Não
P1A17	2	S/C	S/C	S/C	Não
P1A17	3	S/C	S/C	S/C	Não
P1A18	1	0,5	0,5	1	Não
P1A18	2	0,5	0,5	1	Não
P1A18	3	0,5	0,5	1	Não
P1A19	1	1	3	3	Sim
P1A19	2	2	4	2	Sim
P1A19	3	1	3	3	Sim
P1A20	1	1	2	2	Sim
P1A20	2	1	2	2	Sim
P1A20	3	1	2	2	Sim
P1A21	1	0,5	1	2	Sim
P1A21	2	0,5	1	2	Sim
P1A21	3	0,5	1	2	Sim
P1A22	1	1	2	2	Sim
P1A22	2	1	2	2	Sim
P1A22	3	1	2	2	Sim
P1A23	1	0,5	1	2	Sim
P1A23	2	0,5	1	2	Sim
P1A23	3	0,5	1	2	Sim
P1A24	1	1,5	2,5	1,666666667	Não
P1A24	2	1	2	2	Sim
P1A24	3	1	2	2	Sim
P2B1	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B1	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B1	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B2	1	1	1,5	1,5	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B2	2	1	1,5	1,5	Não
P2B2	3	1	1,5	1,5	Não
P2B3	1	1	3	3	Sim
P2B3	2	2	3	1,5	Não
P2B3	3	2	4	2	Sim
P2B4	1	1	2,5	2,5	Sim
P2B4	2	1	3	3	Sim
P2B4	3	1	3,5	3,5	Sim
P2B5	1	1	2	2	Sim
P2B5	2	1	2	2	Sim
P2B5	3	1	2	2	Sim
P2B6	1	1	1	1	Não
P2B6	2	2	2	1	Não
P2B6	3	1	1	1	Não
P2B7	1	1,5	2	1,3333333	Não
P2B7	2	2	2	1	Não
P2B7	3	3	3	1	Não
P2B8	1	1	2	2	Sim
P2B8	2	2	3	1,5	Não
P2B8	3	1	2	2	Sim
P2B9	1	0,5	1	2	Sim
P2B9	2	1	2	2	Sim
P2B9	3	0,5	1	2	Sim
P2B10	1	1	1,5	1,5	Não
P2B10	2	1,5	2	1,3333333	Não
P2B10	3	1,5	2	1,3333333	Não
P2B11	1	1	1,5	1,5	Não
P2B11	2	1	1,5	1,5	Não
P2B11	3	1	1,5	1,5	Não
P2B12	1	1	2	2	Sim
P2B12	2	1	3	3	Sim
P2B12	3	1	3	3	Sim
P2B13	1	1	1	1	Não
P2B13	2	1	1	1	Não
P2B13	3	1	1	1	Não
P2B14	1	0,5	2	4	Sim
P2B14	2	1	3	3	Sim
P2B14	3	1	2	2	Sim
P2B15	1	1	1	1	Não
P2B15	2	1	1	1	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B15	3	1	1	1	Não
P2B16	1	1	1,5	1,5	Não
P2B16	2	0,5	2	4	Sim
P2B16	3	0,5	2	4	Sim
P2B17	1	2	3	1,5	Não
P2B17	2	1	3	3	Sim
P2B17	3	1	3	3	Sim
P2B18	1	0,5	1	2	Sim
P2B18	2	1	1,5	1,5	Não
P2B18	3	0,5	1	2	Sim
P2B19	1	1	2,5	2,5	Sim
P2B19	2	1	2	2	Sim
P2B19	3	1	2	2	Sim
P2B20	1	1	4	4	Sim
P2B20	2	1	3	3	Sim
P2B20	3	1	4	4	Sim
P2B21	1	1	2	2	Sim
P2B21	2	1	2	2	Sim
P2B21	3	1	2	2	Sim
P2B22	1	1	2	2	Sim
P2B22	2	2	3	1,5	Não
P2B22	3	1	2	2	Sim
P2B23	1	1,5	4	2,666666667	Sim
P2B23	2	1	2	2	Sim
P2B23	3	1	2	2	Sim
P2B24	1	1	4	4	Sim
P2B24	2	1	5	5	Sim
P2B24	3	1	4	4	Sim
P2B25	1	1	1,5	1,5	Não
P2B25	2	2	2,5	1,25	Não
P2B25	3	1	1,5	1,5	Não
P2B26	1	1	3	3	Sim
P2B26	2	0,5	2,5	5	Sim
P2B26	3	1	3	3	Sim
P2B27	1	1	3	3	Sim
P2B27	2	2	4	2	Sim
P2B27	3	2	5	2,5	Sim
P2B28	1	1	2	2	Sim
P2B28	2	1	2	2	Sim
P2B28	3	1	2	2	Sim

Tabela 2 - Análise do Índice Enzimático (IE) para a enzima protease.

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A1	1	5	5	1	Não
P1A1	2	5	5	1	Não
P1A1	3	5	5	1	Não
P1A2	1	3	3	1	Não
P1A2	2	4	4	1	Não
P1A2	3	4	4	1	Não
P1A3	1	1,5	1,5	1	Não
P1A3	2	1	1	1	Não
P1A3	3	1,5	1,5	1	Não
P1A4	1	2	4	2	Sim
P1A4	2	1,5	3	2	Sim
P1A4	3	2	4	2	Sim
P1A5	1	1,5	1,5	1	Não
P1A5	2	2	2	1	Não
P1A5	3	1,5	1,5	1	Não
P1A6	1	3	3	1	Não
P1A6	2	3	3	1	Não
P1A6	3	3	3	1	Não
P1A7	1	3	3	1	Não
P1A7	2	1	2	2	Sim
P1A7	3	2	2	1	Não
P1A8	1	1	3	3	Sim
P1A8	2	1	2	2	Sim
P1A8	3	1	2,5	2,5	Sim
P1A9	1	1	1,5	1,5	Não
P1A9	2	1	1,5	1,5	Não
P1A9	3	1	1,5	1,5	Não
P1A10	1	1	1	1	Não
P1A10	2	1,5	1,5	1	Não
P1A10	3	1,5	1,5	1	Não
P1A11	1	2	3	1,5	Não
P1A11	2	3	4	1,333333333	Não
P1A11	3	3	4	1,333333333	Não
P1A12	1	3	4	1,333333333	Não
P1A12	2	2	3	1,5	Não
P1A12	3	3	4	1,333333333	Não
P1A13	1	1	3	3	Sim

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A13	2	1	3	3	Sim
P1A13	3	1	3	3	Sim
P1A14	1	1,5	2	1,333333333	Não
P1A14	2	1,5	2	1,333333333	Não
P1A14	3	1,5	2	1,333333333	Não
P1A15	1	1,5	1,5	1	Não
P1A15	2	1	1	1	Não
P1A15	3	1,5	1,5	1	Não
P1A16	1	1	1	1	Não
P1A16	2	1	1	1	Não
P1A16	3	1	1	1	Não
P1A17	1	2	2	1	Não
P1A17	2	2	2	1	Não
P1A17	3	2	2	1	Não
P1A18	1	1	1	1	Não
P1A18	2	1	1	1	Não
P1A18	3	1	1	1	Não
P1A19	1	2	3,5	1,75	Não
P1A19	2	2	3	1,5	Não
P1A19	3	2	4	2	Sim
P1A20	1	3	5	1,666666667	Não
P1A20	2	2	4	2	Sim
P1A20	3	2	4	2	Sim
P1A21	1	2	2,5	1,25	Não
P1A21	2	1	2	2	Sim
P1A21	3	1,5	2	1,333333333	Não
P1A22	1	1	3	3	Sim
P1A22	2	2	4	2	Sim
P1A22	3	1	3	3	Sim
P1A23	1	2	5	2,5	Sim
P1A23	2	2	4	2	Sim
P1A23	3	2	5	2,5	Sim
P1A24	1	S/C	S/C	S/C	Não
P1A24	2	S/C	S/C	S/C	Não
P1A24	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B1	1	2	3	1,5	Não
P2B1	2	1,5	3	2	Sim
P2B1	3	1,5	3	2	Sim
P2B2	1	1	1	1	Não
P2B2	2	2	3	1,5	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B2	3	3	3	1	Não
P2B3	1	2	2,5	1,25	Não
P2B3	2	2,5	3	1,2	Não
P2B3	3	2	2	1	Não
P2B4	1	1	1,5	1,5	Não
P2B4	2	2	2	1	Não
P2B4	3	1	1	1	Não
P2B5	1	1	1	1	Não
P2B5	2	1,5	1,5	1	Não
P2B5	3	1	1,5	1,5	Não
P2B6	1	2	3	1,5	Não
P2B6	2	2	3,5	1,75	Não
P2B6	3	2	3	1,5	Não
P2B7	1	3	5	1,666666667	Não
P2B7	2	3	5	1,666666667	Não
P2B7	3	2	4	2	Sim
P2B8	1	3	4	1,333333333	Não
P2B8	2	3	4	1,333333333	Não
P2B8	3	3	4,5	1,5	Não
P2B9	1	1	1,5	1,5	Não
P2B9	2	1	2	2	Sim
P2B9	3	1	2	2	Sim
P2B10	1	2	2	1	Não
P2B10	2	1	1	1	Não
P2B10	3	2	2	1	Não
P2B11	1	3	4	1,333333333	Não
P2B11	2	3	4	1,333333333	Não
P2B11	3	3	4	1,333333333	Não
P2B12	1	1	1,5	1,5	Não
P2B12	2	1	1	1	Não
P2B12	3	1	1,5	1,5	Não
P2B13	1	1	1	1	Não
P2B13	2	1	1	1	Não
P2B13	3	1	1	1	Não
P2B14	1	3	4	1,333333333	Não
P2B14	2	3	5	1,666666667	Não
P2B14	3	3	4	1,333333333	Não
P2B15	1	2	2	1	Não
P2B15	2	3	3	1	Não
P2B15	3	2	2	1	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B16	1	2	2	1	Não
P2B16	2	1,5	1,5	1	Não
P2B16	3	1,5	1,5	1	Não
P2B17	1	2	3	1,5	Não
P2B17	2	2	3	1,5	Não
P2B17	3	2	3	1,5	Não
P2B18	1	1,5	3	2	Sim
P2B18	2	1	2	2	Sim
P2B18	3	1,5	2,5	1,666666667	Não
P2B19	1	1,5	3,5	2,333333333	Sim
P2B19	2	2	4	2	Sim
P2B19	3	2	4	2	Sim
P2B20	1	1	1	1	Não
P2B20	2	2	2	1	Não
P2B20	3	1	1	1	Não
P2B21	1	1	1	1	Não
P2B21	2	1,5	1,5	1	Não
P2B21	3	1,5	1,5	1	Não
P2B22	1	1	1	1	Não
P2B22	2	1	1	1	Não
P2B22	3	1	1	1	Não
P2B23	1	3	4	1,333333333	Não
P2B23	2	3	4	1,333333333	Não
P2B23	3	2	3	1,5	Não
P2B24	1	1	3	3	Sim
P2B24	2	1,5	3	2	Sim
P2B24	3	2	3,5	1,75	Não
P2B25	1	3	3	1	Não
P2B25	2	2,5	3	1,2	Não
P2B25	3	1,5	2	1,333333333	Não
P2B26	1	1	1,5	1,5	Não
P2B26	2	2	3	1,5	Não
P2B26	3	2,5	4	1,6	Não
P2B27	1	1	1	1	Não
P2B27	2	1	1	1	Não
P2B27	3	1	1	1	Não
P2B28	1	2	2	1	Não
P2B28	2	2	2	1	Não
P2B28	3	2	2	1	Não

Tabela 3 - Análise do Índice Enzimático (IE) para a enzima amilase.

Linagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A1	1	2	2	1	Não
P1A1	2	2	2	1	Não
P1A1	3	2	2	1	Não
P1A2	1	1	1	1	Não
P1A2	2	2	2	1	Não
P1A2	3	2	2	1	Não
P1A3	1	1	1	1	Não
P1A3	2	2	2	1	Não
P1A3	3	2	2	1	Não
P1A4	1	2	2	1	Não
P1A4	2	2	2	1	Não
P1A4	3	2	2	1	Não
P1A5	1	0,5	0,5	1	Não
P1A5	2	0,5	0,5	1	Não
P1A5	3	0,5	0,5	1	Não
P1A6	1	0,5	0,5	1	Não
P1A6	2	0,5	0,5	1	Não
P1A6	3	0,5	0,5	1	Não
P1A7	1	2	2	1	Não
P1A7	2	2	2	1	Não
P1A7	3	2	2	1	Não
P1A8	1	S/C	S/C	S/C	Não
P1A8	2	S/C	S/C	S/C	Não
P1A8	3	S/C	S/C	S/C	Não
P1A9	1	S/C	S/C	S/C	Não
P1A9	2	S/C	S/C	S/C	Não
P1A9	3	S/C	S/C	S/C	Não
P1A10	1	1	1	1	Não
P1A10	2	3	3	1	Não
P1A10	3	3	3	1	Não
P1A11	1	0,2	0,2	1	Não
P1A11	2	0,2	0,2	1	Não
P1A11	3	0,2	0,2	1	Não
P1A12	1	0,2	0,2	1	Não
P1A12	2	0,2	0,2	1	Não
P1A12	3	0,2	0,2	1	Não
P1A13	1	0,3	0,3	1	Não
P1A13	2	0,3	0,3	1	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A13	3	0,3	0,3	1	Não
P1A14	1	2	2	1	Não
P1A14	2	2	2	1	Não
P1A14	3	2	2	1	Não
P1A15	1	1	3	3	Sim
P1A15	2	1	3,5	3,5	Sim
P1A15	3	0,5	3	6	Sim
P1A16	1	1	3	3	Sim
P1A16	2	2	5	2,5	Sim
P1A16	3	2	4	2	Sim
P1A17	1	0,5	3	6	Sim
P1A17	2	0,5	3	6	Sim
P1A17	3	1	3	3	Sim
P1A18	1	0,5	2	4	Sim
P1A18	2	1	3	3	Sim
P1A18	3	0,5	3	6	Sim
P1A19	1	1	1	1	Não
P1A19	2	1	1	1	Não
P1A19	3	1	1	1	Não
P1A20	1	S/C	S/C	S/C	Não
P1A20	2	S/C	S/C	S/C	Não
P1A20	3	S/C	S/C	S/C	Não
P1A21	1	0,2	0,2	1	Não
P1A21	2	0,2	0,2	1	Não
P1A21	3	0,2	0,2	1	Não
P1A22	1	0,2	0,2	1	Não
P1A22	2	0,2	0,2	1	Não
P1A22	3	0,2	0,2	1	Não
P1A23	1	1	1	1	Não
P1A23	2	1	1	1	Não
P1A23	3	1	1	1	Não
P1A24	1	1	1,2	1,2	Não
P1A24	2	1	1,2	1,2	Não
P1A24	3	1	1,2	1,2	Não
P2B1	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B1	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B1	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B2	1	0,5	0,5	1	Não
P2B2	2	0,3	0,3	1	Não
P2B2	3	0,3	0,3	1	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B3	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B3	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B3	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B4	1	2	2	1	Não
P2B4	2	2	2	1	Não
P2B4	3	1	1	1	Não
P2B5	1	1	2	2	Sim
P2B5	2	1	3	3	Sim
P2B5	3	1	2	2	Sim
P2B6	1	0,5	0,5	1	Não
P2B6	2	1	1	1	Não
P2B6	3	1	1	1	Não
P2B7	1	1	2	2	Sim
P2B7	2	1	2,5	2,5	Sim
P2B7	3	1	3	3	Sim
P2B8	1	0,2	0,2	1	Não
P2B8	2	0,2	0,2	1	Não
P2B8	3	0,2	0,2	1	Não
P2B9	1	0,2	0,2	1	Não
P2B9	2	0,2	0,2	1	Não
P2B9	3	0,2	0,2	1	Não
P2B10	1	0,2	0,2	1	Não
P2B10	2	0,2	0,2	1	Não
P2B10	3	0,2	0,2	1	Não
P2B11	1	0,2	0,2	1	Não
P2B11	2	0,2	0,2	1	Não
P2B11	3	0,2	0,2	1	Não
P2B12	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B12	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B12	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B13	1	0,5	0,5	1	Não
P2B13	2	0,5	0,5	1	Não
P2B13	3	0,5	0,5	1	Não
P2B14	1	1	1	1	Não
P2B14	2	0,5	0,5	1	Não
P2B14	3	1	1	1	Não
P2B15	1	0,5	0,5	1	Não
P2B15	2	1	1	1	Não
P2B15	3	1	1	1	Não
P2B16	1	0,5	0,5	1	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B16	2	0,5	0,5	1	Não
P2B16	3	0,5	0,5	1	Não
P2B17	1	1	1	1	Não
P2B17	2	1	1	1	Não
P2B17	3	1	1	1	Não
P2B18	1	0,5	0,5	1	Não
P2B18	2	0,5	0,5	1	Não
P2B18	3	0,5	0,5	1	Não
P2B19	1	5	5	1	Não
P2B19	2	5	5	1	Não
P2B19	3	3	3	1	Não
P2B20	1	0,2	0,2	1	Não
P2B20	2	0,2	0,2	1	Não
P2B20	3	0,2	0,2	1	Não
P2B21	1	0,5	2	4	Sim
P2B21	2	0,5	1,5	3	Sim
P2B21	3	1	3	3	Sim
P2B22	1	1	1	1	Não
P2B22	2	1	1	1	Não
P2B22	3	1	1	1	Não
P2B23	1	0,2	0,2	1	Não
P2B23	2	0,2	0,2	1	Não
P2B23	3	0,2	0,2	1	Não
P2B24	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B24	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B24	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B25	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B25	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B25	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B26	1	0,3	0,3	1	Não
P2B26	2	0,4	0,4	1	Não
P2B26	3	0,4	0,4	1	Não
P2B27	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B27	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B27	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B28	1	S/C	S/C	S/C	Sim
P2B28	2	S/C	S/C	S/C	Sim
P2B28	3	S/C	S/C	S/C	Sim

Tabela 4 - Análise do Índice Enzimático (IE) para a enzima pectinase.

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A1	1	4	5	1,25	Não
P1A1	2	2	3	1,5	Não
P1A1	3	2	3	1,5	Não
P1A2	1	1	2	2	Sim
P1A2	2	1	2	2	Sim
P1A2	3	1	2	2	Sim
P1A3	1	1	1,5	1,5	Não
P1A3	2	1	1,5	1,5	Não
P1A3	3	1	1,5	1,5	Não
P1A4	1	2	3	1,5	Não
P1A4	2	3	4	1,333333333	Não
P1A4	3	3	4	1,333333333	Não
P1A5	1	1,5	1,5	1	Não
P1A5	2	2	2	1	Não
P1A5	3	3	3	1	Não
P1A6	1	1	1,5	1,5	Não
P1A6	2	2	3	1,5	Não
P1A6	3	3	4	1,333333333	Não
P1A7	1	4	4	1	Não
P1A7	2	4	4	1	Não
P1A7	3	4	4	1	Não
P1A8	1	1,5	1,5	1	Não
P1A8	2	2	2	1	Não
P1A8	3	2	2	1	Não
P1A9	1	3	5	1,666666667	Não
P1A9	2	3	5	1,666666667	Não
P1A9	3	3	5	1,666666667	Não
P1A10	1	1	1	1	Não
P1A10	2	2	2	1	Não
P1A10	3	2	2	1	Não
P1A11	1	1	1	1	Não
P1A11	2	1	1	1	Não
P1A11	3	1	1	1	Não
P1A12	1	1	1,5	1,5	Não
P1A12	2	1	2	2	Sim
P1A12	3	1	2	2	Sim
P1A13	1	1	2	2	Sim
P1A13	2	1,5	2,5	1,666666667	Não
P1A13	3	2	3	1,5	Não
P1A14	1	1	1	1	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P1A14	2	1	1	1	Não
P1A14	3	1	1	1	Não
P1A15	1	1	1	1	Não
P1A15	2	2	2	1	Não
P1A15	3	2	2	1	Não
P1A16	1	2	2	1	Não
P1A16	2	3	3	1	Não
P1A16	3	3	3	1	Não
P1A17	1	1	1	1	Não
P1A17	2	2	2	1	Não
P1A17	3	2	2	1	Não
P1A18	1	1	1	1	Não
P1A18	2	2	2	1	Não
P1A18	3	2	2	1	Não
P1A19	1	2	3	1,5	Não
P1A19	2	2	3	1,5	Não
P1A19	3	2	3	1,5	Não
P1A20	1	2	2	1	Não
P1A20	2	1	2	2	Sim
P1A20	3	1	2	2	Sim
P1A21	1	1,5	1,5	1	Não
P1A21	2	1,5	1,5	1	Não
P1A21	3	2	2	1	Não
P1A22	1	1,5	1,5	1	Não
P1A22	2	1,5	1,5	1	Não
P1A22	3	2	2	1	Não
P1A23	1	1	2	2	Sim
P1A23	2	1	3	3	Sim
P1A23	3	1,5	3	2	Sim
P1A24	1	1	3	3	Sim
P1A24	2	1	3	3	Sim
P1A24	3	2	4	2	Sim
P2B1	1	1	1	1	Não
P2B1	2	1	1	1	Não
P2B1	3	1	1	1	Não
P2B2	1	2	4	2	Sim
P2B2	2	2	4	2	Sim
P2B2	3	2	4	2	Sim
P2B3	1	2	2,5	1,25	Não
P2B3	2	1	1,5	1,5	Não

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B3	3	1,5	3	2	Sim
P2B4	1	4	5,5	1,375	Não
P2B4	2	4	5	1,25	Não
P2B4	3	6	8	1,333333333	Não
P2B5	1	2	2	1	Não
P2B5	2	10	11	1,1	Não
P2B5	3	5	6	1,2	Não
P2B6	1	1	1	1	Não
P2B6	2	1	1	1	Não
P2B6	3	1	1	1	Não
P2B7	1	3,5	5	1,428571429	Não
P2B7	2	2	3,5	1,75	Não
P2B7	3	2	4	2	Sim
P2B8	1	1	1,5	1,5	Não
P2B8	2	1,5	2	1,333333333	Não
P2B8	3	1,5	2	1,333333333	Não
P2B9	1	1	2	2	Sim
P2B9	2	1	2	2	Sim
P2B9	3	1	2	2	Sim
P2B10	1	1	1	1	Não
P2B10	2	2	2	1	Não
P2B10	3	2	2	1	Não
P2B11	1	2	2	1	Não
P2B11	2	2	2	1	Não
P2B11	3	2	2	1	Não
P2B12	1	S/C	S/C	S/C	Não
P2B12	2	S/C	S/C	S/C	Não
P2B12	3	S/C	S/C	S/C	Não
P2B13	1	1	1	1	Não
P2B13	2	1	1	1	Não
P2B13	3	1	1	1	Não
P2B14	1	2	3,5	1,75	Não
P2B14	2	2	3	1,5	Não
P2B14	3	2	3,5	1,75	Não
P2B15	1	5	7	1,4	Não
P2B15	2	4	6	1,5	Não
P2B15	3	3	7	2,333333333	Sim
P2B16	1	2	4	2	Sim
P2B16	2	2	4	2	Sim
P2B16	3	2	4	2	Sim

Linhagem	Replicata	DC (mm)	DH (mm)	IE	IE ≥ 2
P2B17	1	3	5	1,666666667	Não
P2B17	2	4	6	1,5	Não
P2B17	3	5	7	1,4	Não
P2B18	1	3	4	1,333333333	Não
P2B18	2	2	3	1,5	Não
P2B18	3	3	4	1,333333333	Não
P2B19	1	2	1,5	1,25	Não
P2B19	2	2	3	1,5	Não
P2B19	3	2	3	1,5	Não
P2B20	1	1	3	3	Sim
P2B20	2	1	3	3	Sim
P2B20	3	1	3	3	Sim
P2B21	1	1,5	2,5	1,666666667	Não
P2B21	2	1	2,5	2,5	Sim
P2B21	3	1	1,5	1,5	Não
P2B22	1	2	3	1,5	Não
P2B22	2	1,5	3	2	Sim
P2B22	3	1,5	3	2	Sim
P2B23	1	1	1,5	1,5	Não
P2B23	2	1	1,5	1,5	Não
P2B23	3	1	1,5	1,5	Não
P2B24	1	1	1	1	Não
P2B24	2	1	1	1	Não
P2B24	3	1	1	1	Não
P2B25	1	2	3	1,5	Não
P2B25	2	2	3	1,5	Não
P2B25	3	3	5	1,6666667	Não
P2B26	1	1	1,5	1,5	Não
P2B26	2	1	1,5	1,5	Não
P2B26	3	1	1,5	1,5	Não
P2B27	1	1	1	1	Não
P2B27	2	0,5	0,5	1	Não
P2B27	3	0,5	0,5	1	Não
P2B28	1	3	3	1	Não
P2B28	2	3	3	1	Não
P2B28	3	3	3	1	Não

APÊNDICE B - Análise do Índice Enzimático Médio (IEM).

Tabela 1 - Análise do Índice Enzimático Médio (IEM) para a enzima lipase.

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P1A1	3	2	2	2,33333333	Sim
P1A2	3	1,5	1,5	2	Sim
P1A3	1,5	1,25	1,5	1,41666667	Não
P1A4	1,25	1,25	1,5	1,33333333	Não
P1A5	1	1	1	1	Não
P1A6	3	3	3	3	Sim
P1A7	3	2	3	3	Sim
P1A8	2	1	1	1,33333333	Não
P1A9	1,5	2	1,5	1,66666667	Não
P1A10	2	2	1	1,66666667	Não
P1A11	1,5	1,5	1	1,33333333	Não
P1A12	2	3	4	3	Sim
P1A13	2	2	2	2	Sim
P1A14	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P1A15	1	1	1	1	Não
P1A16	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P1A17	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P1A18	1	1	1	1	Não
P1A19	3	2	3	2,66666667	Sim
P1A20	2	2	2	2	Sim
P1A21	2	2	2	2	Sim
P1A22	2	2	2	2	Sim
P1A23	2	2	2	2	Sim
P1A24	1,66666667	2	2	1,88888889	Não
P2B1	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B2	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P2B3	3	1,5	2	2,16666667	Sim
P2B4	2,5	3	3,5	3	Sim
P2B5	2	2	2	2	Sim
P2B6	1	1	1	1	Não
P2B7	1,33333333	1	1	1,11111111	Não
P2B8	2	1,5	2	1,83333333	Não
P2B9	2	2	2	2	Sim
P2B10	1,5	1,33333333	1,33333333	1,38888887	Não
P2B11	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P2B12	2	3	3	2,66666667	Sim

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P2B13	1	1	1	1	Não
P2B14	4	3	2	3	Sim
P2B15	1	1	1	1	Não
P2B16	1,5	4	4	3,16666667	Sim
P2B17	1,5	3	3	2,5	Sim
P2B18	2	1,5	2	1,83333333	Não
P2B19	2,5	2	2	2,16666667	Sim
P2B20	4	3	4	3,66666667	Sim
P2B21	2	2	2	2	Sim
P2B22	2	1,5	2	1,83333333	Não
P2B23	2,66666667	2	2	2,22222222	Sim
P2B24	4	5	4	4,33333333	Sim
P2B25	1,5	1,25	1,5	1,41666667	Não
P2B26	3	5	3	3,66666667	Sim
P2B27	3	2	2,5	2,5	Sim
P2B28	2	2	2	2	Sim

Tabela 2 - Análise do Índice Enzimático Médio para a enzima protease.

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P1A1	1	1	1	1	Não
P1A2	1	1	1	1	Não
P1A3	1	1	1	1	Não
P1A4	2	2	2	2	Sim
P1A5	1	1	1	1	Não
P1A6	1	1	1	1	Não
P1A7	1	2	1	1,33333333	Não
P1A8	3	2	2,5	2,5	Sim
P1A9	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P1A10	1	1	1	1	Não
P1A11	1,5	1,33333333	1,33333333	1,38888889	Não
P1A12	1,33333333	1,5	1,33333333	1,38888889	Não
P1A13	3	3	3	3	Sim
P1A14	1,33333333	1,33333333	1,33333333	1,33333333	Não
P1A15	1	1	1	1	Não
P1A16	1	1	1	1	Não
P1A17	1	1	1	1	Não
P1A18	1	1	1	1	Não
P1A19	1,75	1,5	2	1,75	Não
P1A20	1,66666667	2	2	1,88888889	Não

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P1A21	1,25	2	1,333333333	1,537777778	Não
P1A22	3	2	3	2,666666667	Sim
P1A23	2,5	2	2,5	2,333333333	Sim
P1A24	1	1	1	1	Não
P2B1	1,5	2	2	1,833333333	Não
P2B2	1	1,5	1	1,166666667	Não
P2B3	1,25	1,2	1	1,15	Não
P2B4	1,5	1	1	1,166666667	Não
P2B5	1	1	1,5	1,166666667	Não
P2B6	1,5	1,75	1,5	1,583333333	Não
P2B7	1,666666667	1,666666667	2	1,777777778	Não
P2B8	1,333333333	1,333333333	1,5	1,388888889	Não
P2B9	1,5	2	2	1,833333333	Não
P2B10	1	1	1	1	Não
P2B11	1,333333333	1,333333333	1,333333333	1,333333333	Não
P2B12	1,5	1	1,5	1,333333333	Não
P2B13	1	1	1	1	Não
P2B14	1,333333333	1,666666667	1,333333333	1,333333333	Não
P2B15	1	1	1	1	Não
P2B16	1	1	1	1	Não
P2B17	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P2B18	2	2	1,666666667	1,888888889	Não
P2B19	2,333333333	2	2	2,111111111	Sim
P2B20	1	1	1	1	Não
P2B21	1	1	1	1	Não
P2B22	1	1	1	1	Não
P2B23	1,333333333	1,333333333	1,5	1,388888889	Não
P2B24	3	2	1,75	2,25	Sim
P2B25	1	1,2	1,333333333	1,177777777	Não
P2B26	1,5	1,5	1,6	1,533333333	Não
P2B27	1	1	1	1	Não
P2B28	1	1	1	1	Não

Tabela 3 - Análise do Índice Enzimático Médio para a enzima amilase.

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P1A1	1	1	1	1	Não
P1A2	1	1	1	1	Não
P1A3	1	1	1	1	Não
P1A4	1	1	1	1	Não

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P1A5	1	1	1	1	Não
P1A6	1	1	1	1	Não
P1A7	1	1	1	1	Não
P1A8	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P1A9	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P1A10	1	1	1	1	Não
P1A11	1	1	1	1	Não
P1A12	1	1	1	1	Não
P1A13	1	1	1	1	Não
P1A14	1	1	1	1	Não
P1A15	3	3,5	6	4,16666667	Sim
P1A16	3	2,5	3	2,83333333	Sim
P1A17	6	6	3	5	Sim
P1A18	4	3	6	4,33333333	Sim
P1A19	1	1	1	1	Não
P1A20	S/C	S/C	S/C	1	Não
P1A21	1	1	1	1	Não
P1A22	1	1	1	1	Não
P1A23	1	1	1	1	Não
P1A24	1,2	1,2	1,2	1,2	Não
P2B1	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B2	1	1	1	1	Não
P2B3	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B4	1	1	1	1	Não
P2B5	2	3	2	2,33333333	Sim
P2B6	1	1	1	1	Não
P2B7	2	2,5	3	2,5	Sim
P2B8	1	1	1	1	Não
P2B9	1	1	1	1	Não
P2B10	1	1	1	1	Não
P2B11	1	1	1	1	Não
P2B12	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B13	1	1	1	1	Não
P2B14	1	1	1	1	Não
P2B15	1	1	1	1	Não
P2B16	1	1	1	1	Não
P2B17	1	1	1	1	Não
P2B18	1	1	1	1	Não
P2B19	1	1	1	1	Não
P2B20	1	1	1	1	Não

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P2B21	4	3	3	3,33333333	Sim
P2B22	1	1	1	1	Não
P2B23	1	1	1	1	Não
P2B24	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B25	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B26	1	1	1	1	Não
P2B27	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B28	S/C	S/C	S/C	S/C	Não

Tabela 4 - Análise do Índice Enzimático Médio para a enzima pectinase.

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P1A1	1,25	1,5	1,5	1,41666667	Não
P1A2	2	2	2	2	Sim
P1A3	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P1A4	1,5	1,33333333	1,33333333	1,38888889	Não
P1A5	1	1	1	1	Não
P1A6	1,5	1,5	1,33333333	1,38888889	Não
P1A7	1	1	1	1	Não
P1A8	1	1	1	1	Não
P1A9	1,66666667	1,66666667	1,66666667	1,66666667	Não
P1A10	1	1	1	1	Não
P1A11	1	1	1	1	Não
P1A12	1,5	2	2	1,83333333	Não
P1A13	2	1,66666667	1,5	1,72222222	Não
P1A14	1	1	1	1	Não
P1A15	1	1	1	1	Não
P1A16	1	1	1	1	Não
P1A17	1	1	1	1	Não
P1A18	1	1	1	1	Não
P1A19	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P1A20	1	2	2	1,66666667	Não
P1A21	1	1	1	1	Não
P1A22	1	1	1	1	Não
P1A23	2	3	2	2,33333333	Sim
P1A24	3	3	2	2,33333333	Sim
P2B1	1	1	1	1	Não
P2B2	2	2	2	2	Sim
P2B3	1,25	1,5	2	1,58333333	Não
P2B4	1,375	1,25	1,33333333	1,31944444	Não

Linhagem	IE Rep.1	IE Rep.2	IE Rep.3	IEM	IEM ≥ 2
P2B5	1	1,1	1,2	3,3	Sim
P2B6	1	1	1	1	Não
P2B7	1,428571429	1,75	2	1,72619048	Não
P2B8	1,5	1,333333333	1,333333333	1,38888889	Não
P2B9	2	2	2	2	Sim
P2B10	1	1	1	1	Não
P2B11	1	1	1	1	Não
P2B12	S/C	S/C	S/C	S/C	Não
P2B13	1	1	1	1	Não
P2B14	1,75	1,5	1,75	1,66666667	Não
P2B15	1,4	1,5	2,333333333	1,74444444	Não
P2B16	2	2	2	2	Sim
P2B17	1,666666667	1,5	1,4	1,52222222	Não
P2B18	1,333333333	1,5	1,333333333	1,38888889	Não
P2B19	1,25	1,5	1,5	1,33333333	Não
P2B20	3	3	3	3	Sim
P2B21	1,666666667	2,5	1,5	1,88888889	Não
P2B22	1,5	2	2	1,83333333	Não
P2B23	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P2B24	1	1	1	1	Não
P2B25	1,5	1,5	1,6666667	1,55555557	Não
P2B26	1,5	1,5	1,5	1,5	Não
P2B27	1	1	1	1	Não
P2B28	1	1	1	1	Não