



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS

MARIÇULA VIEIRA DE FARIAS

**PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS POR LEVEDURAS ISOLADAS DE
SOLOS DE ÁREAS PRESERVADAS EM RORAIMA, BRASIL**

Boa Vista

2008

MARIÇULA VIEIRA DE FARIAS

**PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS POR LEVEDURAS ISOLADAS DE
SOLOS DE ÁREAS PRESERVADAS EM RORAIMA, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Federal de Roraima, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais na Área de Bioprospecção.

Orientador: Prof. Dr. Marcos José Salgado Vital.

Boa Vista

2008

MARIÇULA VIEIRA DE FARIAS

**PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS POR LEVEDURAS ISOLADAS DE
SOLOS DE ÁREAS PRESERVADAS EM RORAIMA, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, Universidade Federal de Roraima, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais na Área de Bioprospecção, defendida em 29 de fevereiro de 2008 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira
Universidade Federal do Amazonas

Profa. Dra. Silvana Túlio Fortes
Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Pablo Óscar Amézaga Acosta
Universidade Federal de Roraima

A minha Família, em especial aos meus pais, pela presença constante em minha vida, como exemplo de dignidade, amor e fé.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Marcos José Salgado Vital pela orientação, o estímulo e a amizade que tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos amigos Ana Cristina Gonçalves Reis de Melo, técnica do Laboratório de Microbiologia da UFRR e Iran da Silva Melo, bolsista de iniciação científica, pela imensa colaboração e amizade.

Aos amigos e colegas de Mestrado, com os quais compartilhei as dificuldades e alegrias nesta árdua jornada, pelas palavras de incentivo e mensagens de fé nos momentos difíceis.

À Sra. Maria Inácia Ferreira, secretária do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, pelas palavras de carinho e encorajamento e atitudes de solidariedade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Universidade Federal de Roraima por envidar todos os esforços a fim de viabilizar o Mestrado em Recursos Naturais e possibilitar a cada um de nós concluí-lo.

À Capes pela concessão da bolsa de estudo.

A todos os meus familiares, por todo o carinho e estímulo constantes que me fizeram capaz de suportar todos os desafios da jornada até a conclusão deste trabalho.

Sobretudo a Deus, sem O qual absolutamente nada é possível.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar algumas características biotecnológicas de leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, em Roraima. Os ensaios enzimáticos realizados incluíram a hidrólise de óleo de oliva extra virgem, gelatina, Tween 80, carboximetilcelulose e amido solúvel, visando avaliar a habilidade das cepas de leveduras em produzir e secretar, respectivamente, lipases, proteases, esterases, celulasas e amilases, a 25°C, 37°C e 45°C. Foram avaliadas, em média, 397 linhagens de leveduras. Aproximadamente 90% das cepas avaliadas exibiram pelo menos uma atividade enzimática e 30%, duas ou mais atividades. As cepas VR16, VR343, VR367, VR380, VR407, VR430, VR464 e VR474 mostraram expressiva atividade amilolítica. A produção de celulasas foi mais frequente a 37°C, com 8,85% de leveduras positivas. Por outro lado, somente 2,71% das cepas mostraram atividade celulolítica a 25°C. O maior percentual de leveduras positivas foi observado nos ensaios para produção de esterases, mais de 70% das cepas demonstraram possuir habilidade para produzir a enzima nos ensaios realizados, sendo que aproximadamente 60% destas mostraram forte produção de esterases. A atividade proteolítica foi observada em 6,49% das cepas avaliadas a 25°C. A produção de lipases, em 26,98% das cepas testadas, sendo os melhores índices de produção registrados para as cepas VR36, VR172, a 25°C e VR408, VR475 e VR481 a 37°C, as quais demonstraram ser excelentes produtoras da enzima. Este estudo claramente revelou o potencial de leveduras de solo em produzir uma ampla variedade de enzimas hidrolíticas extracelulares biotecnologicamente interessantes.

Palavras-chave: Leveduras; Solo; Enzimas; Biotecnologia; Região Amazônica.

ABSTRACT

The present work, as its objective, aims at assessing some biotechnological characteristics of yeasts isolated from soils of Maracá Ecological Station and Viruá National Park, in Roraima. The assays included hydrolysis of olive oil, gelatin, Tween 80, Carboximethylcellulose and soluble starch in order to assess the ability of strains to produce lipases, proteases, esterases, cellulases, and amylases respectively at 25°C, 37°C and 45°C. It was assessed an average of 397 strains. Approximately 90% of the strains exhibited at least one enzymatic activity, and 30% two or more activities. Strains VR16, VR343, VR367, VR380, VR407, VR430, VR464 and VR474 showed expressive amylolytic activity. Cellulases production was more frequent at 37°C, with 8,85% of positive yeast strains. On the other hand, only 2,71% of strains showed cellulolytic activity at 25°C. The highest percentage of positive yeast was observed on assays for the production of esterases, over 70% of yeast strains demonstrated ability to produce the enzyme on assays carried out and, approximately 60% them showed strong esterases production. Proteolytic activity was observed on 6,49% of yeasts at 25°C. The lipases production was observed on 26,98% of strains, being the best production indexes recorded by strains VR36, VR172 at 25°C and, VR408, VR475 and VR481 at 37°C, which performed as excellent lipases producers. This study clearly revealed the potential of soil yeast strains to produce a wide range of hydrolytic extracellular enzymes biotechnologically interesting.

Key words: Yeasts; Soil; Enzymes; Biotechnology; Amazon Region.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Produção de enzimas extracelulares por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá, Roraima, nos ensaios realizados a 25°C, 37°C e 45°C	42
TABELA 2 – Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de amilases, a 25°C, 37°C e 45°C	46
TABELA 3 – Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de celulasas, a 25°C, 37°C e 45°C	48
TABELA 4 – Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de lipases a 25°C, 37°C e 45°C	51
TABELA 5 – Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de esterases, a 25°C, 37°C e 45°C.	55
TABELA 6 – Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de proteases a 25°C, 37°C e 45°C	61

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Mapa de localização das Unidades de Conservação Federais no Estado de Roraima, incluindo PARNA do Viruá e ESEC de Maracá.	34
FIGURA 2 -	Desenho amostral do PPBio no sítio de pesquisa do PARNA do Viruá - <i>grid</i> completo	35
FIGURA 3 -	Fluxograma do processamento das amostras de solo para isolamento de leveduras	36
FIGURA 4 -	Multi-inoculador usado no <i>screening</i> de atividade enzimática. (A): vista geral do inoculador; (B,C e D): ilustração do procedimento de inoculação.	38
FIGURA 5 -	Potencial (%) das cepas de leveduras na produção e secreção de enzimas ..	43
FIGURA 6 -	Comparativo dos resultados obtidos por diversos autores na avaliação do potencial de leveduras e fungos semelhantes a leveduras para produção de enzimas	44

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	AS ENZIMAS MICROBIANAS COMO RECURSO BIOTECNOLÓGICO	12
1.1.1	Amilases	15
1.1.2	Celulases	17
1.1.3	Lipases e esterases	20
1.1.4	Proteases	24
1.2	ASPECTOS ECOLÓGICO E BIOTECNOLÓGICO DAS LEVEDURAS	27
2	OBJETIVOS	31
2.1	OBJETIVO GERAL	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3	MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1	ORIGEM DAS LEVEDURAS	32
3.1.1	Parque Nacional do Viruá	32
3.1.2	Estação Ecológica de Maracá	33
3.2	AMOSTRAGEM	33
3.3	ISOLAMENTO E RECUPERAÇÃO DE LEVEDURAS	36
3.4	AVALIAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR LEVEDURAS ISOLADAS DE SOLO	37
3.4.1	Produção de amilases	38
3.4.2	Produção de celulases	39
3.4.3	Produção de lipases	39
3.4.4	Produção de esterases.....	40
3.4.5	Produção de proteases	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41

4.1	ISOLAMENTO DE LEVEDURAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE SOLO E REVITALIZAÇÃO DE CEPAS MANTIDAS EM COLEÇÃO	41
4.2.	AVALIAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR LEVEDURAS ISOLADAS DE SOLO.....	41
4.2.1	Produção de amilases	44
4.2.2	Produção de celulasas	47
4.2.3	Produção de lipases	50
4.2.4	Produção de esterases	54
4.2.5	Produção de proteases	60
4.2.6	Produção de multienzimas	62
5	CONCLUSÕES	64
	REFERÊNCIAS	66
	APÊNDICES	79

1 INTRODUÇÃO

A tecnologia enzimática é hoje um dos campos mais promissores dentro da área de biotecnologia, não apenas por permitir a produção de compostos de alto valor agregado através de processos produtivos industriais, como também por representar a possibilidade de uso mais eficiente dos recursos naturais renováveis.

Uma ampla variedade de atividades biotecnológicas é realizada com o uso de microrganismos e/ou suas enzimas, incluindo hidrólise de polímeros, síntese de compostos de alto valor agregado e descontaminação de solos. O melhoramento de processos industriais através da utilização de enzimas microbianas tem se tornado um dos mais importantes campos da pesquisa biotecnológica. Tal proeminência é devida à alta seletividade e eficiência das reações catalisadas com geração de subprodutos muito menos poluentes, e usualmente atividade em condições energéticas brandas com menor gasto de energia e água, aspectos que refletem em substancial redução dos custos de produção. Por outro lado, o grande interesse das indústrias na obtenção de enzimas microbianas se deve principalmente a dificuldades operacionais e econômicas dos processos de extração de enzimas a partir de tecidos animais e vegetais; e a relativa facilidade de controle dos processos de produção de enzimas microbianas, o que significa vantagens adicionais para produção em grande escala com vistas a atender as necessidades do mercado. Além do mais, uma maior diversidade de enzimas pode ser obtida a partir dos processos metabólicos microbianos.

A diversidade genética e metabólica dos microrganismos, visando a obtenção de produtos biotecnológicos, tem sido explorada desde os primórdios da humanidade. A produção de antibióticos, como estreptomicina e penicilina; de alimentos como molho de soja, queijo, iogurte; de bebidas, como vinho e cerveja; de ácidos orgânicos, como cítrico e fumárico e de álcool combustível são apenas alguns bons exemplos do tradicional e expressivo uso da versatilidade metabólica dos microrganismos, evidenciada na atividade das enzimas produzidas por eles. Se antes a exploração ocorria em pequena escala, mais recentemente, a partir da década de 1950, passa à escala industrial de produção.

As indústrias têxteis, de papel e celulose, de processamento de couro, agroquímica, farmacêutica, de biocombustíveis e de processamento de alimentos entre outras são responsáveis pelo crescimento exponencial do mercado de enzimas nas últimas décadas. Essa expansão tem

sido influenciada tanto por uma questão de eficiência e economia nos processos produtivos, como também pela crescente preocupação da sociedade com a sustentabilidade ambiental, cristalizada nas exigências do mercado consumidor por produtos fabricados com tecnologias ambientalmente mais adequadas e a uma regulação governamental cada vez mais rigorosa quanto ao descarte de resíduos industriais no ambiente. Em consequência, tecnologias baseadas em biocatalisadores vêm sendo introduzidas no processo produtivo e/ou no tratamento dos resíduos gerados pelas indústrias têxteis, de celulose, de laticínios e de processamento de couro, entre outras, como alternativa ao tradicional uso de química sintética, altamente poluidora.

Desta forma, é crescente tanto a procura como o desenvolvimento de novos biocatalisadores que possuem propriedades distintas com potencial biotecnológico. E a biodiversidade é sempre o ponto de partida. Por certo, a diversidade de ecossistemas, habitats, plantas e animais, encontrada, especialmente, nas regiões tropicais, devem se refletir nas espécies de microrganismos e processos metabólicos aí presentes. E isso justifica a procura, focando principalmente locais ainda inexplorados, por novas linhagens de microrganismos produtoras de enzimas com características especiais, que possam ser aplicadas em processos produtivos industriais.

Este trabalho trata do isolamento e seleção de cepas de leveduras produtoras de enzimas hidrolíticas, enfatizando a produção de amilases, celulasas, proteases, esterases e lipases.

1.1 ENZIMAS MICROBIANAS COMO RECURSO BIOTECNOLÓGICO

As enzimas são proteínas especiais que catalisam reações químicas em todos os sistemas biológicos. Capacidade também relatada para certos anticorpos e um tipo específico de RNA, conhecido como RNA catalítico (WALSH, 2001). As enzimas são classificadas e codificadas pelo NC-IUBMB (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*). De acordo com suas propriedades catalíticas estão divididas em seis classes principais: 1- oxidoredutases que atuam em reações de oxi-redução, por meio da transferência de elétrons; 2 - transferases que catalisam reações de transferência de grupamentos funcionais como os grupos amina, fosfato, acil, carboxil; 3 - hidrolases que catalisam reações de hidrólise de ligação covalente; 4 - liases que atuam na adição de grupos a ligações duplas ou formação de duplas ligações pela remoção de grupos; 5 - isomerases que

catalisam reações de isomerização por meio da transferência de grupos dentro da molécula, isto é, reações de interconversão entre isômeros ópticos ou geométricos; 6 - ligases que catalisam reações de síntese de novas moléculas através da formação de ligações C-C, C-S, C-O, e C-N por meio de reações de condensação acopladas a clivagem de ATP. A nomenclatura definida para as enzimas é composta pela abreviatura, em inglês, do nome da Comissão para Enzimas (EC) da NC-IUBMB, seguida por até quatro dígitos referentes à classe e subclasses a que pertence a enzima e um nome sistemático que identifica a reação que catalisa (HELD *et al.*, 2000; NELSON; COX, 2006).

As enzimas constituem a base catalítica do metabolismo biológico e por essa razão têm sido uma das moléculas biológicas mais extensivamente estudadas. Nas células vivas elas atuam como biocatalisadores e realizam reações bioquímicas específicas que integram os processos metabólicos das próprias células. Além disso, desempenham importante papel na degradação da matéria orgânica e, portanto, na ciclagem de nutrientes nos ambientes naturais. Os mais distintos tipos de enzimas degradativas, secretadas essencialmente pela microbiota presente nos ecossistemas terrestre e aquático, possibilitam a disponibilidade de nutrientes que sustentam a vida no planeta. As enzimas também estão envolvidas nos processos de infecção microbiana em hospedeiros, na deterioração de alimentos e em diversos processos produtivos. A produção de vinhos, cervejas, vinagre, queijo e pão; a modificação de gomas; a fabricação de couro, índigo e linho são processos tradicionalmente realizados com a utilização de enzimas, seja a partir do crescimento espontâneo de microrganismos ou por meio de preparações de enzimas obtidas do rúmen de bezerros ou de frutas como o mamão (BEG *et al.*, 2001; KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002). O estudo das características de funcionamento das comunidades naturais, o desenvolvimento de processos ligados à produção biotecnológica ou a busca da compreensão de muitos processos patológicos têm nas enzimas um dos seus focos principais (PORTER; BARTLETT; THORNTON, 2004).

A atual indústria de enzimas reflete o resultado de uma rápida evolução da biotecnologia, ocorrida nas últimas décadas. O desenvolvimento dos processos de fermentação durante a última parte do século XX propiciou a produção de enzimas, através do uso de cepas de microrganismos selecionadas, e tornou possível a obtenção de enzimas purificadas e bem caracterizadas, mesmo em escala industrial. Novas tecnologias como a recombinação gênica, a engenharia de proteínas e a evolução dirigida propiciaram a obtenção de enzimas com

características (atividade, estabilidade, seletividade, especificidade) novas e mais dirigidas a substratos e condições de aplicações de interesse industrial, promovendo uma significativa expansão da aplicação de enzimas nos processos de produção industrial. Entre as maiores empresas produtoras de enzimas estão a Amano Pharmaceuticals (Japão), Novozyme (Dinamarca), Genencor International (USA), Unilever (Holanda), Biocatalysts (Inglaterra) e Meito Sankyo (Japão). No Brasil, a Bioenzima é uma das poucas empresas nacionais dedicadas à produção de enzimas comerciais e fabrica celulasas destinadas à indústria têxtil, onde são usadas para dar o efeito de envelhecimento em jeans, e no tratamento de águas residuárias. Embora já possua patente relacionada ao processo de hidrólise enzimática da celulose depositada no Brasil, recentemente fez parceria com duas empresas multinacionais para o desenvolvimento do processo de hidrólise da celulose (SCHMID *et al.*, 2002; SIMÕES, 2007).

Os processos enzimáticos estão sendo utilizados em parceria com processos químicos ou substituindo os processos químicos tradicionais. As indústrias químicas e farmacêuticas que adotaram enzimas em suas linhas de produção estão concentradas principalmente na Europa e no Japão. Entre as européias estão a Ciba, Lonza, Baxeden, Avecia, Biochimie, BASF, Novartis e Roche (SCHMID *et al.*, 2002). Entre as japonesas destacam-se a Ajinomoto, Mitsubishi Chemical, Shin Mitsui Sugar, Tosoh Corporation, Nissin Sugar, Toho Rayon e The Nissin Oil Mills (OGAWA; SHIMIZU, 2002). Muitas destas empresas são multinacionais com atuação no Brasil.

Algumas propriedades inerentes às enzimas tornaram-nas particularmente interessantes para aplicação em processos biotecnológicos, como capacidade de catalisar um grande número de reações em meios não convencionais, tais como solventes orgânicos; alta eficiência de conversão; seletividade; catálise sem geração de produtos tóxicos ou poluentes, além da economia de água e energia (KULKARNI; SHENDYE; RAO, 1999; KLIBANOV, 2001).

Ogawa e Shimizu (2002) relataram os resultados altamente satisfatórios, dos pontos de vista econômico e ambiental, conseguidos pela Daiichi Fine Chemicals, com a adoção de um processo enzimático industrial de resolução da pantolactona racêmica: uma economia de 49% de água, redução de 30% na emissão de dióxido de carbono e com uma demanda biológica de oxigênio reduzida a 62%, quando comparada com o método de resolução utilizando processos puramente químicos. A pantolactona é uma mistura racêmica de ácido D-pantóico e L-pantolactona cuja separação é realizada na produção comercial, visando a obtenção do

enantiômero D, intermediário na síntese da vitamina B-5 ou ácido D-pantotênico. Outras vantagens do uso de catalisadores enzimáticos nos processos biotecnológicos estão relacionadas à habilidade no reconhecimento de uma grande variedade de substratos, atividade catalítica assimétrica enantiosseletiva e regioseletiva, diminuição de reações laterais e catálise efetiva em condições energéticas brandas (KRIEGER *et al.*, 2004). A estereosseletividade ou enantiosseletividade se refere à capacidade da enzima em discriminar entre os enantiômeros de uma mistura racêmica, enquanto a regioseletividade é decorrente da orientação imposta pelas dimensões e estrutura do centro ativo à ligação do substrato (CASTRO; MENDES; SANTOS, 2004).

As enzimas são extensivamente usadas como biocatalisadores na produção industrial de bebidas; têxtil, de papel e polpa de celulose (KULKARNI; SHENDYE; RAO, 1999); de materiais químicos, intermediários farmacêuticos e agroquímicos, de princípios ativos farmacêuticos e ingredientes alimentares, com mais de 300 processos já implementados na indústria, segundo Adamczak e Krishna (2004). O emprego de enzimas em setores biotecnológicos de tamanha magnitude tem estimulado um crescente interesse no isolamento de enzimas com atividades catalíticas singulares e de linhagens de microrganismos aptas a serem utilizadas em uma gama de processos industriais de bioconversão (RUIZ; PASTOR; DIAZ, 2005). Entre estas enzimas as amilases, celulasas, proteases, lipases e esterases desempenham importante papel em muitos processos biotecnológicos.

1.1.1 Amilases

As amilases estão entre as mais importantes enzimas utilizadas nos processos biotecnológicos atuais, devido à crescente importância do amido e açúcares, entre outros derivados, na era da moderna biotecnologia. A quantidade de enzimas empregadas na hidrólise industrial de amido está estimada em 10-15% do mercado mundial de enzimas, sendo o segundo maior consumidor. As enzimas amilolíticas têm amplo uso na indústria de panificação, na produção de ração animal, xaropes de glicose, adoçantes, bebidas fermentáveis, etanol; nas indústrias de papel e têxteis. Na indústria de alimentos o amido é empregado como espessante, aglutinante, estabilizante, emulsificante, geleificante e como agente de liga; além de constituir em fonte primária de xaropes de glicose, os quais são a base para produtos das indústrias

farmacêuticas e de confeitaria (ADAMS, 1994; BIGNELL; BRUCE; EVANS, 2000; SATYANARAYANA *et al.*, 2004; PRAKASHAM *et al.*, 2007).

O amido é um polissacarídeo heterogêneo, composto de dois componentes de alto peso molecular: a amilose, um polímero linear formado por resíduos D-glicose unidos entre si por ligações (α -1,4) e amilopectina, um polímero ramificado contendo resíduos D-glicose unidos por ligações (α -1,6), além de resíduos D-glicose unidos por ligações (α -1,4). O conteúdo relativo de ambas as frações (amilose e amilopectina) varia conforme a origem do amido, polímero que constitui uma das fontes de energia para os organismos vivos, a mais abundante e rapidamente renovável (HOSTINOVÁ, 2002; PRAKASHAM *et al.*, 2007). A molécula do amido é degradada predominantemente pelas chamadas enzimas amilolíticas, as quais estão presentes em uma ampla variedade de organismos, entre eles plantas animais e microrganismos. Dentre os muitos microrganismos que produzem estas enzimas estão incluídos bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Entre as leveduras a capacidade de assimilar amido é reconhecida em mais de 150 espécies, mas somente poucas secretam uma combinação de enzimas capazes de clivar ligações α -(1,4) e α -(1,6) de complexas moléculas de amido. Esta capacidade foi identificada em *Saccharomycopsis fibuligera*, *Shizosaccharomyces pombe*, *Cryptococcus neoformans*, *Schwanniomyces occidentalis*, *Arxula adenivorans*, *Lipomyces*, *Candida japonica* e *Filobasidium capsuligenum* (RAMACHANDRAN; PRETORIUS; OTERO, 2005; LI *et al.*, 2007).

Amilases são divididas em duas categorias endoamilases e exoamilases. As endoamilases catalisam a hidrólise de maneira randômica no interior da molécula de amido, gerando oligossacarídeos de variados tamanhos. As exoamilases hidrolisam a partir da extremidade da cadeia, resultando em produtos finais sucessivamente menores. Atualmente é conhecido um grande número de enzimas que hidrolisam moléculas de amido a diferentes produtos, sendo as α -amilases uma das mais populares e importantes do ponto de vista industrial, com largo emprego nas indústrias que têm o amido como base de seus produtos. Na indústria de detergentes as α -amilases tem sido usadas desde 1975 e a demanda por estas enzimas neste setor é crescente (GUPTA *et al.*, 2003). Embora as α -amilases disponíveis no mercado sejam derivadas de uma variedade de fungos filamentosos, leveduras, bactérias e actinomicetos, as enzimas produzidas por fungos filamentosos e bactérias dominam as aplicações industriais. As amilases

fúngicas mais utilizadas são produzidas por espécies do gênero *Aspergillus*: *A. niger*, *A. awamori* e *A. oryzae* (ADAMS, 1994; HOSTINOVÁ, 2002).

A hidrólise completa do amido requer a ação combinada de um conjunto de enzimas, isto é, α -amilases, β -amilases e glicoamilases. A habilidade das amilases em hidrolisar o amido *in natura* é uma propriedade tecnologicamente interessante, uma vez que tais enzimas podem ser usadas no processamento de amido para produção de energia limpa, principalmente a partir de resíduos agrícolas com conteúdo amiláceo. A produção de enzimas capazes de degradar amido *in natura* foi relatada para *S. fibuligera* (HOSTINOVÁ, 2002), *Lipomyces kononenkoae* L. *starkeyi* e *Cryptococcus* sp. Nas duas espécies do gênero *Lipomyces*, verificou-se tratar de um conjunto de enzimas em vez de somente uma (RAMACHANDRAN; PRETORIUS; OTERO, 2005; LI *et al.*, 2007).

1.1.2 Celulases

As plantas têm como principal componente estrutural a celulose. Nas plantas lenhosas este polissacarídeo constitui mais de 50% do peso seco. É um homopolímero linear composto de unidades de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas (β -1,4) e encontrado na natureza normalmente em associação com outros polissacarídeos hemicelulósicos e lignina. Este polímero ocorre em diferentes graus de cristalinidade, variando de 40% a 90%, dependendo da origem, sendo o restante constituído da fração denominada celulose amorfa (HILDÉN; JOHANSSON, 2004).

A biomassa lignocelulósica, proveniente de plantas cultivadas ou, alternativamente, de resíduos agroindustriais, tem sido o foco de numerosas pesquisas científicas e pesados investimentos de muitos setores industriais nas últimas décadas. A intensificação dos esforços de pesquisa e magnitude de investimentos é plenamente justificada pela importância desse recurso natural, que é considerado o único com ciclo de reposição suficientemente rápido para sustentar o crescimento na demanda por aplicações tradicionais (fabricação de papel, biomassa-combustível, compostagem, ração animal entre outros), além da crescente demanda mundial por biocombustíveis e outras *commodities* químicas, que representam novos mercados para a lignocelulose. Entre eles o mais proeminente é a sua conversão em carreadores de energia, como etanol combustível, acetona e butanol. Enfim, os materiais lignocelulósicos têm sido

considerados fonte promissora de insumo para produção de etanol, em especial, devido a sua incrível abundância e baixo custo (KIM; KANG; LEE, 1997; LYND *et al.*, 2002; MALHERBE; CLOETE, 2002; HOWARD *et al.*, 2003).

Efetivamente, é a celulose contida na biomassa vegetal que constitui o substrato orgânico mais abundante na natureza disponível para produção de glicose, um dos principais insumos utilizados em muitos segmentos industriais, inclusive na indústria alimentícia. A conversão da celulose a glicose é decorrente do processo de sacarificação gradual do polímero pela ação de celulasas. Estas são o-glicosil hidrolases (GHs) que clivam ligações glicosídicas (β -1,4) presentes na celulose. São enzimas encontradas em todos os reinos, mas predominantemente em organismos procariontes e fungos. As celulasas tem sido tradicionalmente classificadas em exoglicanases (1,4- β -D-glicano-celobiohidrolases, EC 3.2.1.91) cuja ação na cadeia de celulose resulta na liberação seqüencial de unidades de açúcar e endoglicanases [1,4-(1,3;1,4)- β -D-glicano-4-glicanohidrolases, EC 3.2.1.4] que também atuam pelo ataque a cadeia de celulose em posições internas. Esta classificação tem se mostrado inadequada, uma vez que outras enzimas, como xilanases e β -glicosidases, também podem atacar a celulose, o que inviabiliza a distinção entre elas. De fato, as celulasas constituem um complexo de enzimas hidrolíticas com especificidades diferentes para clivar ligações glicosídicas (β -1,4). A nova nomenclatura para as glicosil-hidrolases, baseada no perfil da seqüência de aminoácidos, as divide em 97 famílias, que agrupam 14 clans e cuja lista está disponível na base de dados Carbohydrate-active-enzymes (CARBOHYDRATE-ACTIVE-ENZYMES, 2007). Esta nomenclatura, embora seja considerada superior a antiga por trazer muitas informações a respeito das relações evolutivas, não provê informações funcionais (HILDÉN; JOHANSSON, 2004), o que levou os autores a sugerir a adição de uma letra menor após o nome da glicosil-hidrolase, para designar o modo de ação dominante.

A completa degradação da celulose geralmente requer a atuação sinérgica de um conjunto de enzimas, que compreende endoglicosidases (celulasas-carboximetilcelulose), exoglicanases (celobiohidrolases) e β -glicosidases. De acordo com Teunissen e Camp (1993) e Lynd *et al.* (2002), as endoglicanases clivam randomicamente as ligações glicosídicas (β -1,4) gerando oligômeros de variados tamanhos e novas cadeias terminais. A subsequente ação das exoglicanases gera glicose e celobiose como os principais produtos. A ação das β -glicosidases

constitui a etapa final da degradação da celulose e envolve a hidrólise de dímeros e celoligosacarídeos resultando na produção final de glicose.

Muitos microrganismos são capazes de utilizar a celulose como fonte de energia, embora poucos microrganismos possam ser considerados celulolíticos verdadeiros, isto é, capazes de sintetizar o sistema de enzimas requerido para hidrolisar a celulose encontrada na natureza em estado cristalino. Contudo, a degradação da celulose nos ambientes naturais, via atividade microbiana, representa a maior fonte de carbono para o solo. Em geral, os microrganismos que decompõem materiais celulósicos são encontrados no solo, colonizando vegetais ou em resíduos lignocelulósicos, desempenhando uma importante função na ciclagem de nutrientes no ambiente. A degradação microbiana da celulose nos ambientes naturais é total e específica. Características desejáveis em muitos processos industriais e que tem estimulado a utilização de microrganismos celulolíticos e/ou suas enzimas na conversão da celulose a glicose e outros açúcares (BAYER *et al.*, 2004; RUEGGER; TAUKE-TORNISIELO, 2004).

O número de pesquisas visando o melhoramento dos processos industriais de bioconversão e a obtenção de biocatalisadores mais eficientes, através de métodos tradicionais de seleção de microrganismos celulolíticos nativos ou por via da engenharia genética tem aumentado progressivamente nas últimas décadas (KIM; KANG; LEE, 1997; LYND *et al.*, 2002; MALHERBE; CLOETE, 2002; LYND *et al.*, 2005). Adicionalmente, a grande quantidade de resíduos lignocelulósicos gerados pelas atividades agrícolas, agroindustriais e pela indústria de papel é, usualmente, descartada no meio ambiente, provocando sérios problemas de degradação ambiental. Estes resíduos podem potencialmente ser convertidos, via processos de bioconversão, em uma gama de produtos de alto valor agregado, incluindo compostos químicos, aditivos para ração animal, produtos alimentares e etanol, que é, de longe, o mercado mais significativo, pois além de ser amplamente utilizado como biocombustível, também é matéria-prima na indústria química para produção de uma variedade de outros compostos (HOWARD *et al.*, 2003).

Enzimas celulolíticas em associação com xilanolíticas são usadas na remoção de paredes de células vegetais, visando a liberação do seu conteúdo para produção de substâncias flavorizantes, polissacarídeos, proteínas de sementes e folhas e para obtenção de protoplastos de plantas superiores, de amplo uso em pesquisas genéticas. Esta combinação de enzimas é ainda utilizada na clarificação de sucos de frutas e vinhos; no processamento de óleos vegetais, para melhorar a extração a frio do óleo de sementes; no processo de reidratação de vegetais secos, na

indústria alimentícia. Outra aplicação do consórcio de enzimas envolve a suplementação de dieta alimentar para monogástricos, uma vez que, além de melhorar a digestibilidade da ração, pela liberação de açúcares mais facilmente metabolizáveis, aumenta o valor nutricional do alimento, devido à produção de biomassa microbiana (TEUNISSEN; CAMP, 1993; KULKARNI; SHENDYE; RAO, 1999; REIS *et al.*, 2001).

A bioconversão da celulose a etanol envolve a hidrólise inicial do polímero presente em materiais lignocelulósicos, com sua redução a açúcares fermentáveis, seguida da fermentação destes açúcares a etanol. A hidrólise é usualmente catalisada por enzimas celulolíticas e a subsequente fermentação realizada por leveduras e bactérias. Entretanto, outros processos utilizam configurações envolvendo a sacarificação e fermentação simultânea (PRASAD; SINGH; JOSHI, 2007).

De um modo geral, microrganismos degradadores de lignocelulose e suas enzimas têm tido aplicações e um enorme potencial biotecnológico para uma variedade de indústrias, tais como químicas, de combustíveis, de alimentos processados, de bebidas e vinhos, de ração animal, têxtil, de papel e celulose, entre outras. Ademais, muitos processos mediados por enzimas lignocelulolíticas (celulases, xilanases, ligninases) têm sido utilizados como alternativa a tratamentos químicos já estabelecidos ou como adjuvantes na eficácia dos mesmos. Fato que contribuiu significativamente para a expansão da demanda por enzimas lignocelulolíticas e, conseqüentemente, para a intensificação de pesquisas cuja finalidade é a obtenção de microrganismos lignocelulolíticos que produzam estas enzimas em quantidade e o desenvolvimento de processos de fermentação mais eficientes para produção de enzimas (LOPEZ *et al.*, 2007).

Uma grande diversidade de microrganismos lignocelulolíticos, especialmente fungos filamentosos e bactérias, têm sido isolados, embora poucos tenham tido amplo emprego na produção industrial de hemicelulases e celulases; a maioria deles pertence à espécie *Trichoderma reesei* e mutantes deste fungo (HOWARD *et al.*, 2003). Poucas espécies de leveduras foram reportadas como produtoras de celulases (STRAUSS *et al.*, 2001; FUENTEFRÍA, 2004).

1.1.3 Lipases e esterases

Esterases (EC 3.1.1.1) e lipases (EC 3.1.1.3) são enzimas encontradas em uma grande diversidade de organismos, incluindo animais, vegetais e microrganismos. As lipases são definidas como carboxilesterases que hidrolisam pontes de triacilgliceróis de cadeia longa, ou seja, cadeia acila contendo no mínimo 10 átomos de carbono, na interface entre um substrato insolúvel e água enquanto as esterases são carboxilesterases que atuam somente em substratos solúveis em água, como os ésteres de ácidos graxos de cadeia curta, isto é, acilgliceróis de cadeias com menos de 10 átomos de carbono. Este aspecto é o que distingue lipases de esterases, embora as lipases também mostrem atividade em ésteres solúveis em água. A atividade hidrolítica das lipases aumenta significativamente na interface lipídeo-água, um fenômeno conhecido como ativação interfacial. Uma reação reversível em meios não-aquosos, devido ao domínio hidrofóbico que cobre o sítio ativo das lipases. A estrutura tridimensional de esterases e lipases mostra dobras características, conhecidas como α/β hidrolases, composta de α -hélices e folhas β , também encontradas em haloperoxidases e epoxi-hidrolases (JAEGER; DIJKSTRA; REETZ, 1999; SOLIMAN *et al.*, 2007). Estas enzimas possuem um sítio ativo formado pela tríade serina-ácido aspártico-histidina (com ácido glutâmico substituindo ácido aspártico para algumas lipases), sendo usualmente também encontrada uma sequência consenso (Gly-x-Ser-x-Gly) ao redor da serina do sítio ativo. O mecanismo de hidrólise ou síntese, composto de quatro etapas, é essencialmente o mesmo para ambas. No primeiro momento o substrato é limitado pela serina ativa, produzindo um intermediário estabilizado pelos resíduos catalíticos histidina e ácido aspártico. A seguir, o álcool é liberado e um complexo enzima-acila é formado. O ataque nucleofílico (água na hidrólise e álcool ou éster na esterificação e na transesterificação) forma novamente um intermediário tetraédrico que após a resolução produz um ácido ou éster e enzima livre (BORNSCHEUER, 2002).

Lipases e esterases catalisam a hidrólise de uma ampla variedade de ésteres naturais e não naturais, freqüentemente com alta enantio e regiosseletividade. Em ambientes aquo-restritos catalisam reações tais como esterificação e transesterificação. Estas enzimas, principalmente as de origem microbiana, têm recebido uma considerável atenção, devido as potenciais aplicações na resolução de misturas racêmicas, com a finalidade de obter compostos intermediários para a síntese de produtos de química fina; na indústria farmacêutica; na síntese flavorizantes para a indústria de processamento de alimentos; na modificação de propriedades físico-químicas de triacilglicerídeos para a indústria de óleos e gorduras; na produção de surfactantes e detergentes;

no processamento de papel e em formulações para uso diagnóstico. O interesse nestas enzimas também reside no fato de não requererem co-fatores, serem usualmente estáveis e ativas em solventes orgânicos (KADEMI *et al.*, 1999; BORNSCHEUER, 2002; MOLINARI *et al.*, 2005).

As esterases desempenham importante papel na degradação de materiais hemicelulósicos e são particularmente interessantes na produção de compostos enantiomericamente puros, perfumes e antioxidantes; na degradação de compostos químicos tóxicos, como ésteres de ftalato, que são gerados como descarte pelas indústrias de papel e plásticos. Nas indústrias de bebida, alimentos e perfume os ácidos cumáricos, caféicos, sinápicos e ferúlicos encontram amplo emprego como precursores de *flavour* ou como compostos de fragrâncias. Os ácidos ferúlicos possuem grande potencial para aplicações comerciais como antioxidante natural, agente de preservação de alimentos, antiinflamatório e de fotoproteção. Estes ácidos e precursores daqueles ésteres são encontrados em materiais hemicelulósicos em cuja degradação as esterases promovem a hidrólise de ligações ésteres que unem a xilana aos grupos substituintes, pectinas ou ácidos fenólicos. Esterases como as feruloil-esterases e cinamoil-esterases são usadas em associação com xilanases, celulasas e pectinases para liberar ácidos cinâmicos hidroxil de farelo de trigo; de casca de arroz; de bagaço de cana-de-açúcar, de bambu e polpa de beterraba-de-açúcar, entre outros (CHOI; MIGUEZ; LEE, 2004; PANDA; GOWRISHANKAR, 2005; MUKHERJEE *et al.*, 2007).

A capacidade catalítica das lipases e esterases tem sido explorada em vários campos de atividade. A indústria de papel e celulose, por exemplo, utiliza lipases e esterases de origem microbiana, inclusive de leveduras (*Candida rugosa*) para remoção do *pitch*. Termo usado para descrever todo tipo de material hidrofóbico da madeira, como triacilgliceróis e ceras, que são indesejáveis na manufatura de papel. Na indústria oleoquímica, lipases e esterases são utilizadas na hidrólise de óleos e gorduras e na síntese de biosurfactantes. Na indústria de processamento de alimentos estas enzimas têm sido utilizadas em conjunto com proteases no desenvolvimento de aromas em queijos e derivados, bebidas alcoólicas, achocolatados e sobremesas, sendo responsáveis pela hidrólise seletiva de triacilgliceróis e liberação de ácidos graxos, que atuam como flavorizantes ou como precursores destes (JAEGER; REETZ, 1998; KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002; PANDA; GOWRISHANKAR, 2005).

As lipases são enzimas essenciais no processamento de óleos e gorduras. A posição e o grau de instauração, além do tamanho da cadeia influenciam não somente as propriedades físico-

químicas de um triglicerídeo, mas também seu valor nutricional e sensorial. Lipases têm sido utilizadas para hidrólise seletiva de ácidos graxos, seguida da síntese de novas ligações éster, resultando em triacilgliceróis com características distintas das originais e de interesse para um determinado alimento, permitindo a transformação de lipídeos relativamente baratos e pouco desejáveis em gorduras de maior valor agregado. Esta tecnologia é usada para modificação de óleos vegetais com obtenção de uma gordura similar a do leite humano, que é usada na formulação de alimentos infantis (CASTRO; MENDES; SANTOS, 2004).

Apesar da maior aplicação industrial de lipases ocorrer na produção de detergentes estas enzimas vêm ganhando cada vez mais importância em outros setores. Azim *et al.* (2001) relataram a importância do uso de lipases na síntese de compostos enantiopuros, principalmente de uso farmacêutico. O emprego de enzimas, e em especial de lipases, nas indústrias químicas e farmacêuticas tem sido crescente nos últimos anos. Além de hidrólise regioseletiva, acilação e transesterificação, uma crescente variedade de processos enantiosseletivos tem sido relatada. As lipases catalisam reações sobre substratos proquirais e resolução cinética de misturas racêmicas, atuando sobre diferentes grupos funcionais, como álcoois e ésteres carboxílicos quirais ou proquirais, cianonidrinas, cloridrinas, dióis, α e β -hidroxi ácidos, aminas, diaminas e amino-álcoois (JAEGER; DIJKSTRA; REETZ, 1999; JAEGER; EGGERT, 2002). Essas reações incluem a síntese de peptídeos; de álcoois terciários, como ésteres de α -terpineol, um agente flavorizante amplamente utilizado nas indústrias de bebidas alcoólicas e não alcoólicas; panificação e confeitaria; na fabricação de goma de mascar; em alimentos enlatados e produtos frios lácteos, entre outras substâncias químicas (DUCRET; TRANI; LORTIE, 1998; RAO; DIVAKAR, 2001).

Lipases têm sido utilizadas com sucesso no tratamento de efluentes oriundos, principalmente, das indústrias de laticínios, de papel e polpa de celulose e de processamento de couros, entre outras indústrias fortemente poluidoras; na remoção de óleo presente nas águas residuárias de restaurantes e residências (VITOLO; PETARCA; BRESCI, 1999; CAMMAROTA; TEIXEIRA; FREIRE, 2001; SHARMA; CHISTI; BANERJEE, 2001, MENDES *et al.*, 2005).

A despeito da ampla variedade de organismos produtores de lipases, as mais utilizadas industrialmente são de origem microbiana, devido a relativa facilidade de produção, alta seletividade de substrato e abundância de microrganismos capazes de sintetizá-las. Além disso, a

maioria é produzida extracelularmente, favorecendo os processos de extração e purificação. As lipases fúngicas são preferencialmente utilizadas em relação às bacterianas em função da grande maioria não apresentar riscos à saúde humana, isto é, em função do seu status GRAS (*Generally Regarded as Safe*), de acordo com Carvalho *et al.* (2003).

A produção de lipases tem sido relatada para uma grande diversidade de microrganismos, incluindo espécies de leveduras dos gêneros *Candida*, *Rhodotorula*, *Picchia*, *Saccharomyces*, *Yarrowia* e *Torulospora*, além de um grande número de espécies de bactérias. Os relatos sobre lipases fúngicas são numerosos, sendo *Geotrichum candidum*, *A. niger*, *A. oryzae*, *R. delemar* e *Penicillium cyclopium* os mais extensivamente estudados (CARVALHO *et al.*, 2005). Fungos de diversos gêneros têm demonstrado ser bons produtores de lipases com características interessantes do ponto de vista comercial. Atualmente, lipases de *A. niger*, *A. oryzae*, *Mucor javanicus*, *R. niveus*, *R. oryzae*, *P. camembertii*, *P. roqueforti* e da levedura *C. rugosa*, estão sendo comercializadas para aplicação no processamento de óleos, gorduras e queijos; para fins diagnósticos na determinação de triglicerídeos; para uso como aditivo em preparações digestivas e para síntese quiral, isto é, resolução de racematos (AMANO ENZYME, 2007).

1.1.4 Proteases

As proteases são constituintes essenciais em todas as formas de vida, incluindo bactérias, fungos, plantas e animais, e estão envolvidas em uma grande variedade de funções fisiológicas complexas como catabolismo de proteínas; coagulação sangüínea; crescimento e migração celular; arranjo de tecidos; morfogênese; ativação de precursores de enzimas e liberação de hormônios. Têm papel importante em processos patológicos inflamatórios, crescimento tumoral e metástase. A liberação de peptídeos precursores de proteínas e transporte de proteínas secretadas através das membranas também são eventos que requerem a participação de proteases. As enzimas proteolíticas são classificadas em variados grupos. Dependendo do pH ótimo de atividade elas são definidas como alcalinas, neutras ou ácidas; com base nas características do sítio ativo, em metaloproteases (EC 3.4.24), cisteínas ou sulfidril proteases (EC 3.4.22), aspartil-proteases (EC.3.4.23) ou serino-proteases (EC.3.4.21), segundo Rao e colaboradores (1998).

A diversidade aliada a ação hidrolítica altamente específica e a capacidade de síntese das proteases encontradas na natureza têm estimulado, cada vez mais, a procura por enzimas proteolíticas para aplicações biotecnológicas. Nesse sentido, as proteases microbianas têm sido alvo de estudos desde o início do século XX, quando da sua introdução como aditivo de detergentes. Desde então, o campo de aplicação de enzimas proteolíticas tem crescido substancialmente e conta com aproximadamente 60% do mercado de enzimas (BANERJEE *et al.*, 1999; JOO; CHANG, 2006).

Atualmente as proteases de origem microbiana encontram ampla aplicação em importantes processos industriais, desde a fabricação de detergentes, passando pela produção de alimentos processados, processamento de couros, síntese de compostos farmacêuticos até no tratamento de resíduos de diversos tipos de indústrias, entre outros. A indústria de detergentes é o maior consumidor industrial de enzimas proteolíticas, as quais figuram como constituintes essenciais na formulação de seus produtos. Na indústria de panificação as peptidases de *A. oryze* são usadas na proteólise parcial do glúten, o que facilita a manipulação da massa e proporciona o aumento do volume do produto final. Na indústria de laticínios a principal aplicação de proteases se relaciona à produção de queijos. A utilização de proteases que possuem diferentes formas de clivagem da caseína permite a manufatura de diferentes queijos com uma variedade de propriedades reológicas e organolépticas (AGEITOS *et al.*, 2007).

Enzimas proteolíticas são empregadas na obtenção de hidrolisados protéicos. A proteólise enzimática é um valioso bioprocessamento que melhora as propriedades funcionais da proteína original sem prejuízo do seu valor nutricional (CHABANON *et al.*, 2007). Os hidrolisados consistem de preparações contendo pequenos peptídeos, especialmente di e tripeptídeos, obtidos a partir da hidrólise parcial de proteínas, cuja absorção é completa e mais rápida que uma mistura equivalente de aminoácidos livres. Estes preparados têm uma ampla variedade de aplicações, que abrange o uso na formulação de alimentos especiais para diversos grupos, como recém-nascidos prematuros, crianças com diarreia; indivíduos com outros distúrbios da saúde como gastroenterite, má-absorção de nutrientes, fenilcetonúria e alergia a determinadas proteínas até a fabricação de bebidas para praticantes de esportes. Os hidrolisados comerciais são usualmente produzidos a partir de caseína, de soro de leite e de proteína de soja (GUPTA; BEG; LORENZ, 2002; CARREIRA *et al.*, 2003, SINHA *et al.*, 2007), contudo, outras promissoras fontes, como peixes (DINIZ; MARTIN, 1997; WASSWA *et al.*, 2007;

THIANSILAKUL; BENJAKUL; SHAHIDI, 2007; BHASKAR; MAHENDRAKAR, 2007) e germen de trigo (KONG; ZHOU; QIAN, 2007), têm sido exploradas na produção de hidrolisados, especialmente utilizando proteases de origem microbiana.

Diversidade e especificidade de ação são propriedades que conferem vantagens adicionais às enzimas proteolíticas no desenvolvimento de agentes terapêuticos efetivos e as tornam insumos importantes na indústria farmacêutica (RAO *et al.*, 1998). Proteases com capacidade de degradar queratina ou microrganismos queratinofílicos possuem um importante papel biotecnológico. Estas enzimas encontram aplicações na indústria de processamento de couros e peles, especificamente proteases alcalinas com atividades queratinolítica e elastolítica, cujo processamento envolve encharcamento, remoção de pêlos e amaciamento. O uso de enzimas proteolíticas em todas estas etapas do processamento de couros em substituição ao método tradicional, baseado no emprego de compostos químicos altamente poluentes, como o sulfeto de hidrogênio, além de melhorar a qualidade do couro, reduz os custos ambientais e econômicos pela geração de menor descarte de resíduos (GUPTA; BEG; LORENZ, 2002).

O emprego de enzimas queratinolíticas em processos biotecnológicos tem se tornado uma alternativa bastante atrativa, especialmente visando o aproveitamento de resíduos agroindustriais ou materiais contendo penas ou queratina, via conversão destes em produtos de alto valor agregado, incluindo a produção de aminoácidos raros (serina, cisteína e prolina), peptídeos e outros produtos de uso médico e cosmético; assim como na produção de fertilizantes e ração animal obtidos a partir de resíduos queratinosos (FRIEDRICH; ANTRANIKIAN, 1996; DE AZEREDO *et al.*, 2006).

A produção de proteases é amplamente distribuída dentre os microrganismos, incluindo bactérias, fungos filamentosos e leveduras, mas, aquelas produzidas por fungos filamentosos e bactérias têm sido estudadas mais extensivamente, para aplicações biotecnológicas, que as oriundas de leveduras. Consequentemente, a quantidade de dados disponíveis sobre o assunto é muito maior para os dois primeiros grupos. A importância das leveduras como produtoras de enzimas proteolíticas de interesse industrial foi negligenciada por muito tempo, quando o foco principal das pesquisas neste campo recaía sobre *S. cerevisiae*, uma espécie que produz pouca ou nenhuma protease extracelular. Muitas leveduras, no entanto, produzem proteases extracelulares em quantidades significantes (RAY *et al.*, 1992; ZARZOSO *et al.*, 1998; SILVA NEVES; PORTO; TEIXEIRA, 2006; BRIZZIO *et al.*, 2007).

Os fungos filamentosos produzem uma maior variedade de enzimas comparativamente as produzida por bactérias. *A. oryzae*, por exemplo, produz proteases ácidas, neutras e alcalinas. As proteases alcalinas fúngicas são ativas em uma ampla faixa de pH entre 4 e 11 e exibem uma alta especificidade de substrato. Por outro lado, proteases alcalinas de origem bacteriana são caracterizadas por apresentar alta atividade a pH 10, ampla especificidade de substrato e temperatura ótima ao redor de 60°C, além de possuir uma maior taxa de reação e maior termotolerância comparadas as fúngicas. Tais propriedades as tornam mais adequadas para uso na indústria de detergentes (RAO *et al.*, 1998). Atualmente proteases de *A. niger*, *A. oryzae*, *A. melleus*, *Rhizopus oryzae*, *R. niveus*, *Bacillus subtilis*, *B. stearothermophilus* e *Bacillus* sp. estão sendo comercializadas para aplicação no processamento de couro e peles, recuperação de resíduos de prata na indústria de filmes, no processamento de alimentos, em suplementos dietéticos e em síntese quiral (AMANO ENZYMES, 2007).

1.2 ASPECTOS ECOLÓGICO E BIOTECNOLÓGICO DAS LEVEDURAS

As leveduras possuem características comuns a todos os organismos que pertencem ao reino *Fungi*, isto é, parede celular rígida e núcleo organizado no interior de uma membrana nuclear, nutrição heterotrófica por meio de absorção dos nutrientes e ausência de motilidade, reprodução sexuada através de esporos entre outras. Mas algumas características as diferenciam dos demais fungos: são predominantemente unicelulares, realizam a reprodução vegetativa por brotamento ou fissão, e não formam corpo de frutificação. As leveduras podem ser classificadas em dois grupos filogeneticamente distintos. O grupo que compreende as leveduras ascomicéticas e o que abriga as leveduras basidiomicéticas, ambos comportando formas teleomórficas e anamórficas. Mais de 800 espécies são atualmente conhecidas, as quais estão distribuídas entre as Classes *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* e *Deuteromycetes* (KUTZMAN; FELL, 1998; BARNETT; PAYNE; YARROW, 2000).

Os fungos, de um modo geral, exibem uma ampla diversidade de habitat. São organismos ubíquos, apesar de alguns sobreviverem apenas em faixas ecológicas restritas, por terem desenvolvido ao longo da evolução uma alta especificidade de substrato. As leveduras podem ser encontradas nos mais diferentes habitats, incluindo o ar, águas marinhas e continentais; folhas, flores e frutos de plantas; grãos de cereais, exsudatos de plantas e animais;

pele e trato intestinal de animais, incluindo insetos, participando de variados tipos de associações simbióticas; assim como matéria orgânica em decomposição e solos com ampla variedade de estrutura física, composição química, umidade, pH, e cobertura vegetal. Outros habitats incluem ambientes tecnológicos associados a produção de vinho, cervejas, queijos, iogurtes e etanol (PHAFF; STARMER, 1987; MARTINI, 1992; HAGLER *et al.*, 1994; ZARZOSO *et al.*, 1998; VITAL *et al.*, 2002).

Na natureza as leveduras catalisam transformações indispensáveis nos ciclos biogeoquímicos; produzem importantes componentes da atmosfera terrestre e representam uma porção apreciável da diversidade genética entre os organismos (PACE, 1997; BARNETT; PAYNE; YARROW, 2000).

Há milênios, a diversidade microbiana, tem sido responsável por importantes produtos biológicos úteis ao homem e as leveduras foram os microrganismos pioneiros. A utilização de leveduras em processos fermentativos para produção de bebidas e pão remonta a mais de 8.000 anos. Há registros anteriores a 7000 a.C da produção de cerveja na Suméria; de vinho na Assíria, a 3.500 a.C; e de pães pelos antigos romanos em 100 a.C. Hoje aqueles processos de fermentação têm larga utilização em muitos processos industriais, tais como produção de bebidas alcoólicas, alimentos fermentados, etanol, CO₂, proteínas, vitaminas, pigmentos e flavorizantes (QUEROL *et al.*, 2003).

Na produção de vinhos tanto a diversidade como a composição da população de leveduras contribui significativamente para as características organolépticas do produto. Da mesma forma que os microrganismos, incluindo leveduras, envolvidos no processamento de queijos produzem muitos compostos voláteis que contribuem para a grande variedade destes produtos (MARTIN *et al.*, 2001; ROMANO *et al.*, 2003). A produção de suplementos a base de biomassa de leveduras, que é obtida a partir de soro de leite, e usada na suplementação de ração animal e na dieta alimentar humana é outro campo que tem despertado a atenção de pesquisadores e investidores (RÉVILLION; BRANDELLI; AYUB, 2000).

Na biotecnologia ambiental, muitas leveduras têm especial importância. Diversas espécies dos gêneros *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Yarrowia* e *Trichosporon* são aplicadas para remediação de solos poluídos, visando o recultivo; biorremediação de solos contaminados com metal pesado; tratamento de efluentes industriais e como sensores microbiológicos (SPENCER; SPENCER; LALUCE, 2002; KASZYCKI *et al.*, 2006).

Recentemente, diversas espécies de leveduras têm demonstrado amplo potencial tecnológico para aplicações, em larga escala, em diversos segmentos industriais, incluindo as indústrias têxteis; farmacêutica; química; de processamento de alimentos e de ração animal; de processamento de couros; e de papel e celulose. Além disso, a atual tendência de uso de biocombustíveis tem estimulado a pesquisa e o aumento na produção de etanol combustível e *biodiesel*, em nível mundial. A produção de etanol envolve a hidrólise enzimática para obtenção de açúcares simples a partir de materiais lignocelulósicos, seguida da fermentação dos açúcares resultantes ou a fermentação de açúcares provenientes de plantas que contém alto teor de açúcares fermentáveis, como cana-de-açúcar e beterraba de açúcar. A produção de *biodiesel*, por sua vez, implica na transesterificação de ésteres presentes em óleos de origem vegetal e gorduras animais, que pode ser mediada por enzimas lipolíticas. Alguns destes processos utilizam microrganismos inteiros ou enzimas, algumas delas obtidas de espécies de leveduras (CARDONA; SÁNCHEZ, 2007; HA *et al.*, 2007).

As leveduras também têm demonstrado ser excelentes veículos para produção de proteínas heterólogas. Esta tecnologia é empregada com a finalidade de otimizar muitos processos industriais e implica no isolamento de seqüência gênica ou gene de interesse a partir de determinado organismo, com subsequente inserção em um organismo distinto, denominado hospedeiro heterólogo. Uma grande variedade de genes têm sido clonados e seus produtos, inclusive proteínas, expressos em algumas espécies de leveduras, entre elas *P. pastoris*, *P. methanolica* (*P. pinus*) e *P. angusta* (*Hansenula polymorpha*), de acordo com Bornscheuer (2002) e Spencer, Spencer e Lalue (2002).

Diversos autores têm enfatizado o valor incalculável da biodiversidade como recurso para inovações biotecnológicas (BULL; GOODFELLOW; SLATER, 1992; BULL; WARD; GOODFELLOW, 2000; OGAWA; SHIMIZU, 2002). E mais recentemente, a tecnologia enzimática, um dos nichos biotecnológicos de maior peso econômico, foi reconhecida pela Organização Internacional para o Desenvolvimento e Cooperação Econômica (OECD) como um componente importante do desenvolvimento industrial sustentável (VAN BEILEN; LI, 2002).

A Convenção sobre Diversidade Biológica realizada pela ONU (Organização das Nações Unidas) no Rio de Janeiro, em 1992, reconhece o valor econômico da biodiversidade, admite que os bens e serviços essenciais de nosso planeta dependem da variedade e variabilidade dos genes, espécies, populações e ecossistemas e recomenda aos países signatários a adoção de

instrumentos políticos para conservação e uso racional destes recursos como estratégias para se alcançar o desenvolvimento sustentável. Em decorrência de acordo multilateral, o Brasil tem criado várias Unidades de Conservação Ambiental, principalmente na Região Amazônica.

Os inúmeros processos biotecnológicos nos quais os microrganismos e suas enzimas estão envolvidos ilustram a importância econômica da diversidade microbiana. De um modo mais amplo, a exploração da biodiversidade, sem dúvida, tem sido um fator chave da sobrevivência humana e, do desenvolvimento econômico nas sociedades civilizadas. Entretanto, o modelo tradicional de apropriação do espaço e a exploração econômica dos recursos naturais claramente têm levado a níveis preocupantes o desequilíbrio ambiental que, muitas vezes, além de outros efeitos deletérios, redundam na aceleração da perda de biodiversidade e representam séria ameaça ao desenvolvimento humano.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a capacidade de leveduras de solo em produzir e secretar enzimas de interesse biotecnológico, através de testes de triagem *in vitro*, com vistas a contribuir para a formação de um banco de germoplasma microbiano na UFRR, além de prestar uma contribuição à Biotecnologia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar leveduras de amostras de solo provenientes do PARNA do Viruá (Parque Nacional do Viruá);
- Revitalizar cepas de leveduras de solo mantidas em coleção;
- Testar a capacidade das leveduras isoladas de amostras de solo do PARNA do Viruá e das cepas revitalizadas em produzir e secretar, a diferentes temperaturas, amilases, celulasas, esterases, lipases e proteases.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os termos cepa e isolado são frequentemente usados em estudos microbiológicos como sinônimos (STRAUSS *et al.*, 2001; BUZZINI; MARTINI 2002; FUENTEFRIA, 2004). E, de um modo geral, adotados como termos equivalentes para se referir ao que Prescott, Harley e Klein (1999) definem como cepa. Para estes autores, cepa designa uma população de organismos que descendem de um único organismo ou de um isolado de cultura pura, enquanto isolado designa uma cultura pura derivada de uma população selvagem heterogênea de microrganismos. Neste trabalho os dois termos foram adotados de acordo com estas definições.

3.1 ORIGEM DAS LEVEDURAS

Neste estudo foram utilizadas leveduras isoladas de amostras de solos provenientes de áreas de conservação da biodiversidade no estado de Roraima, quais sejam: o Parque Nacional do Viruá (PARNA do Viruá) e a Estação Ecológica de Maracá (ESEC de Maracá). As leveduras oriundas do PARNA do Viruá foram isoladas como objetivo desta pesquisa, enquanto as da ESEC de Maracá foram obtidas da Coleção de Culturas do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Roraima (UFRR), a partir de linhagens previamente isoladas, que foram submetidas a procedimentos de reativação de culturas.

3.1.1 Parque Nacional do Viruá

O Parque Nacional do Viruá faz parte de um complexo de Unidades de Conservação situado na região central do estado de Roraima, que abrange uma área de 1.227.660 hectares e inclui o Parque Nacional da Serra da Mocidade, a Estação Ecológica do Niquiá e a Estação Ecológica de Caracará. O Parque possui área de 227.011 hectares e situa-se entre os rios Branco e Anauá. O clima da região é quente e úmido, e caracteriza-se por uma marcante sazonalidade, definida por um período de seca compreendido entre os meses de outubro e abril, e um período de chuvas, de maio a setembro. A topografia da região, predominantemente plana, está associada a solos arenosos, pobres e mal drenados. Condições favoráveis a formação de inúmeras lagoas,

áreas encharcadas e inundáveis, estimadas em cerca de 70% do parque no período chuvoso. As formações vegetais do Parque compõem uma paisagem extremamente diversa: campinas, na maioria das vezes, associadas a áreas alagadiças, brejos e buritizais não linearizados, formam mosaicos com imensas áreas de campinarana, floresta ombrófila densa de terras baixas; mata de várzea e mata de igapó em ambientes aluviais; floresta submontana; floresta ombrófila aberta, entremeada por mata de cipós e mata mista com palmeiras (IBAMA, 2004).

3.1.2 Estação Ecológica de Maracá

A ESEC de Maracá abrange uma área de 101.312 hectares e é composta pela ilha de Maracá; por algumas ilhas e ilhotas situadas no rio Uraricoera e pelos furos de Santa Rosa e Maracá e está localizada a 130 Km da Capital do Estado de Roraima. A região onde está inserida esta unidade de conservação apresenta temperatura média anual de 26°C e índices pluviométricos anuais entre 1.750 e 2.250 mm, com duas estações distintas: período chuvoso de maio a agosto e um período seco de novembro a março. Os principais componentes da sua rica fitofisionomia são floresta de terra firme, floresta de terras baixas, floresta decídua, floresta inundada, buritizal, várzea e savana. Na área é encontrada a grande diversidade de solos característica das regiões tropicais, desde os extremamente distróficos a extremamente eutróficos; e desde extremamente arenosos até extremamente argilosos. A ESEC de Maracá é a área natural mais extensivamente estudada na região (ROBISON; NORTCLIFF, 1991; IBAMA, 1995; VITAL, 2001). A figura 1 mostra a localização das Unidades de Conservação Federais no Estado de Roraima, incluindo o PARNA do Viruá e da ESEC de Maracá.

3.2 AMOSTRAGEM

A presente pesquisa aproveitou o desenho amostral do PPBio - Programa Brasileiro de Pesquisa da Biodiversidade, localizado no sítio de pesquisa do PARNA do Viruá, o qual compreende um *grid* constituído de 30 parcelas, com 250 m de extensão cada uma, dispostas sobre as 6 trilhas L (figura 2). As amostras de solo foram obtidas em duas coletas (março e maio de 2007) em 6 pontos, nas cinco parcelas da trilha L1 e em uma parcela da L2 entre as trilhas N5

e N6, compondo um total de 12 amostras, cada uma formada por 10 subamostras. O solo foi extraído a uma profundidade de 0-15 cm com o auxílio de um trado; as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas ao laboratório, sendo processadas em menos de 30 h após a coleta (VAN ELSAS; SMALLA, 1997; VITAL, 2001).

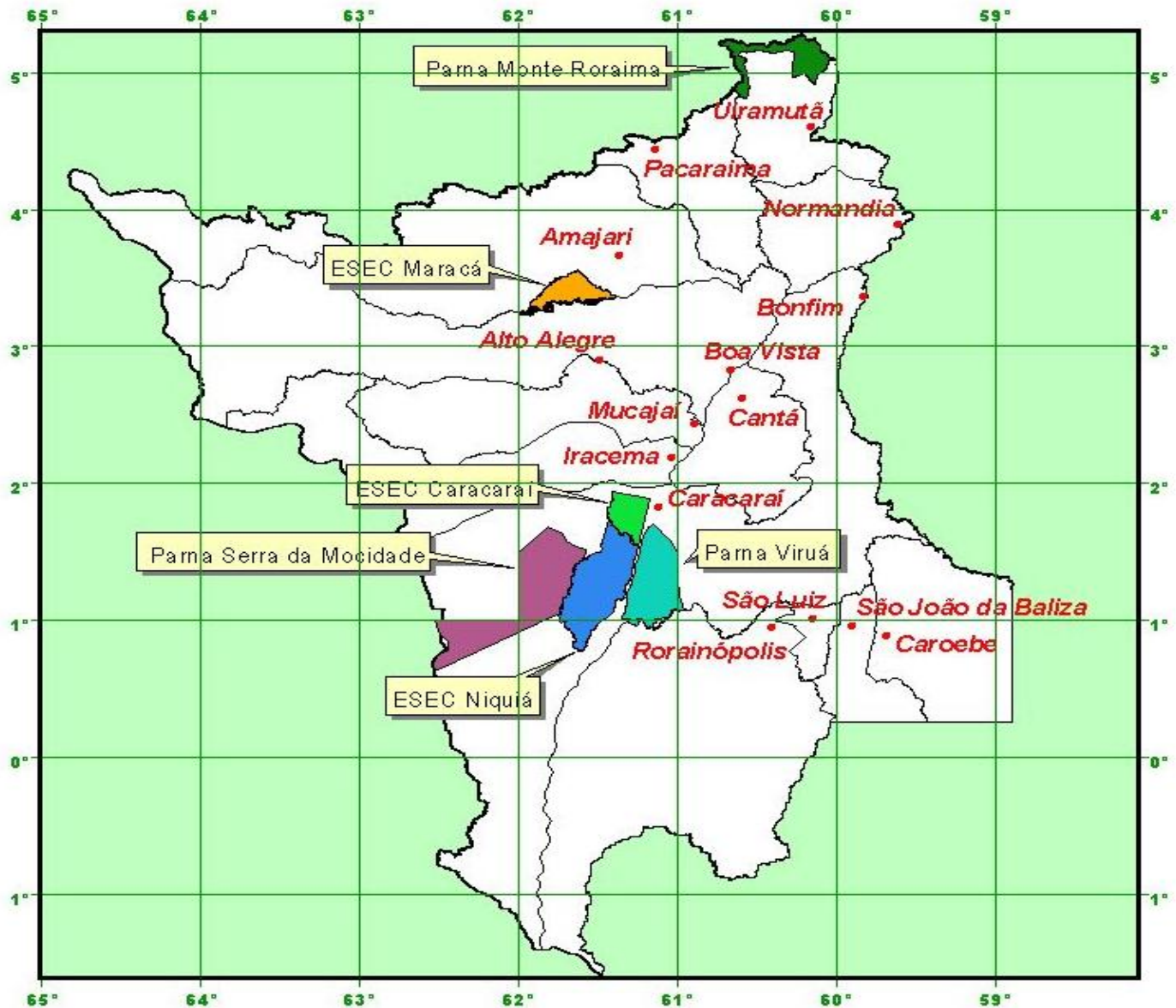


Figura 1 – Mapa de localização das Unidades de Conservação Federais no Estado de Roraima, incluindo PARNA do Viruá e ESEC de Maracá.

Fonte: IBAMA (2004).

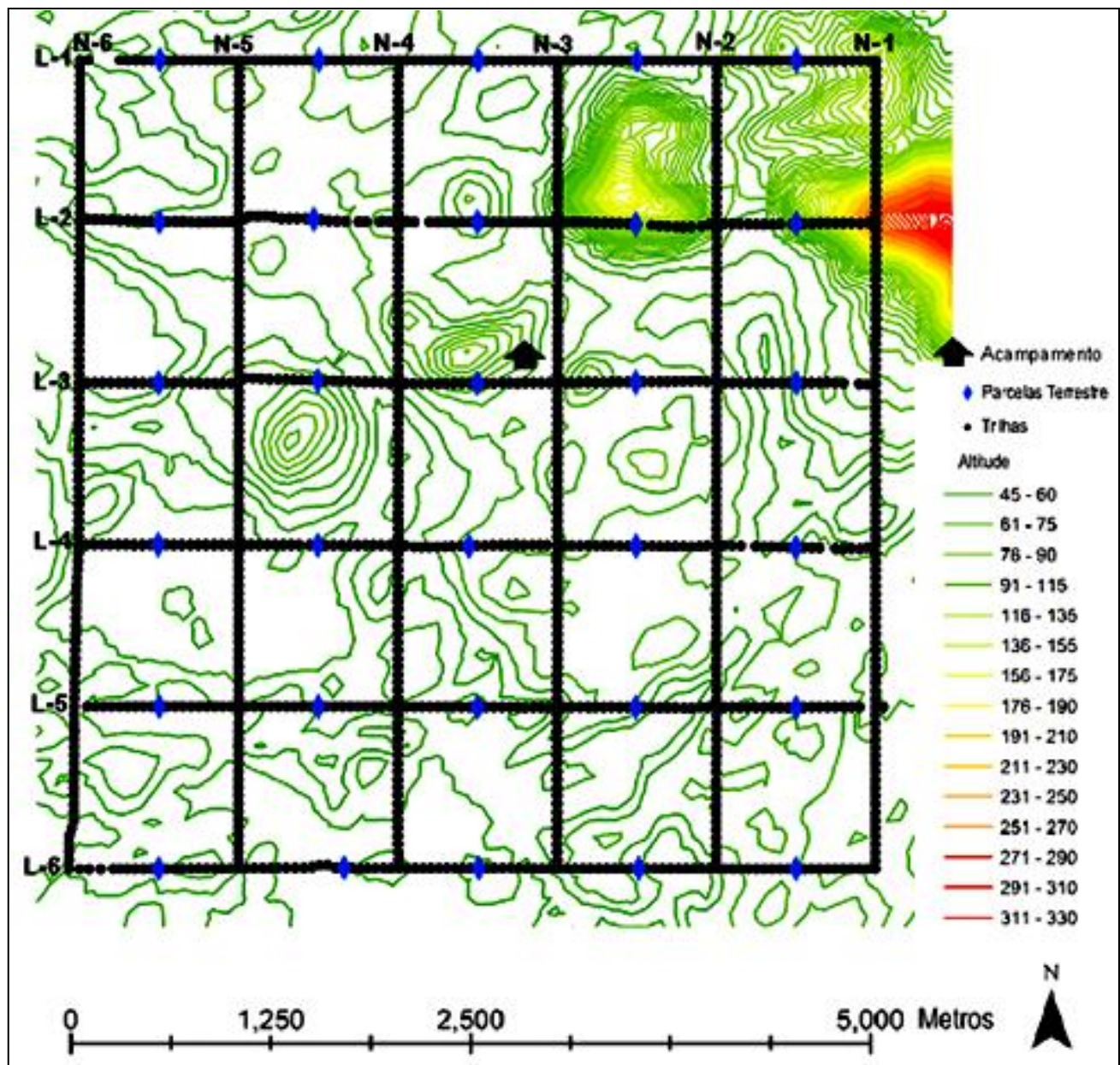


Figura 2 – Desenho Amostral do PPBio no sítio de pesquisa do PARNA do Viruá – grid completo.

Fonte: PPBio (2007).

3.3 ISOLAMENTO E RECUPERAÇÃO DE LEVEDURAS

Para o isolamento de leveduras, cada amostra de solo foi peneirada em malha de 1,44 mm de diâmetro e homogeneizada; 10g de solo de cada amostra foram ressuspensas em 90 mL de solução de pirofosfato de sódio a 0,1% e submetidas a vigorosa agitação por 30 segundos. A suspensão foi diluída a uma concentração de 10^3 células/mL, em solução de cloreto de sódio (NaCl) a 0,85%, e alíquotas de 1 mL plaqueadas, em meio YM ágar (0,3% extrato de malte, 0,3% extrato de levedura, 0,5% peptona, 1,0% glicose, 2,0% ágar) com adição de 200 mg/L de cloranfenicol, em triplicata. As placas foram, então, incubadas por 24 a 72 horas a 23 °C.

Após o período de incubação, morfotipos coloniais foram selecionados, através da observação do crescimento microbiano com lente binocular (microscópio estereoscópico). Foram obtidas culturas puras de cada morfotipo, em meio YM agar, utilizando-se a técnica de esgotamento em placas. Cada cultura pura obtida representou um isolado, o qual recebeu a denominação VR (com referência a origem – PARNA do Viruá), seguida de uma numeração sequencial. A figura 3 mostra as etapas de processamento das amostras de solo. As cepas, previamente isoladas de solos da ESEC de Maracá (cepas RR), cedidas pelo Laboratório de Microbiologia da UFRR foram submetidas ao mesmo procedimento de obtenção de culturas puras, visando sua recuperação.

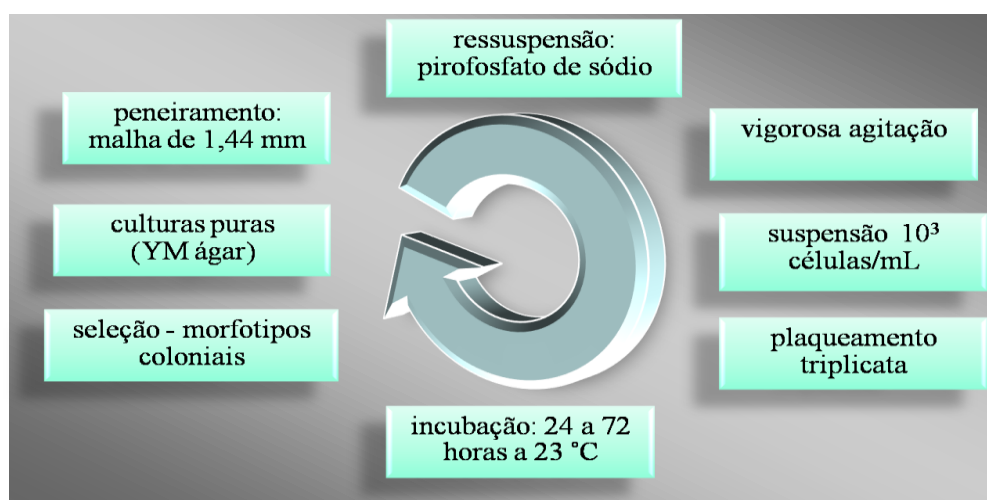


Figura 3 – Fluxograma do processamento das amostras de solo para isolamento das cepas de leveduras.

3.4 AVALIAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR LEVEDURAS ISOLADAS DE SOLO

Neste estudo foram avaliadas, em média, 397 cepas de leveduras isoladas de solos quanto à capacidade de produzir amilases, celulasas, esterases, lipases e proteases extracelulares. Nos ensaios, realizados em triplicata, foram utilizadas cepas previamente cultivadas em meio YM ágar, a 25°C por 24 a 48h, com a finalidade de obter células metabolicamente ativas. A avaliação do perfil enzimático das leveduras foi realizada por meio do método de réplica em placas (figura 4), em meio de cultivo contendo o substrato específico para as diferentes atividades enzimáticas.

Um multi-inoculador (figura 4), constituído de duas placas encaixáveis, uma dotada de 25 poços com capacidade de 1mL e a outra de pinos inoculadores de aço, em quantidade correspondente à de poços, foi usado para a inoculação, a qual foi realizada com uma suspensão de células, preparada, para cada cepa individualmente, em água destilada estéril, a uma concentração de aproximadamente 10^6 células/mL, de acordo com a escala de McFarland grau 0,5. Como controle 1 mL de água destilada estéril foi utilizado em um dos 25 poços, na inoculação, em substituição à suspensão de células.

Os resultados foram avaliados para a produção das enzimas pela presença (+) ou ausência (-) de atividade a partir de halos formados no meio de cultivo, ao redor da colônia. Além disso, foi mensurado o nível de degradação do substrato específico considerando, em milímetros, o diâmetro dos halos de degradação, sendo os resultados expressos através de índice enzimático (ie) que, por sua vez, expressa a relação entre o diâmetro médio do halo de atividade e o diâmetro médio da colônia correspondente (STAMFORD; ARAÚJO; STAMFORD, 1998; RUEGGER; TAUKE-TORNISIELO, 2004).

Os índices enzimáticos médios expressam a habilidade das cepas de leveduras em produzir e secretar as enzimas de interesse e compõem uma escala arbitrária, que agrupa as leveduras, segundo seu nível de habilidade, em três grupos: cepas com ie entre 0 e 1, exclusive; cepas com ie maior ou igual a 1 e menor que 2 e, cepas com ie igual ou superior a 2. Uma cepa foi considerada com fraca, moderada ou forte habilidade de produção enzimática quando apresentou índice enzimático médio dentro do primeiro, segundo ou do terceiro agrupamento respectivamente, ou seja, com $0 < ie < 1$; $1 \leq ie < 2$ ou $ie \geq 2$.

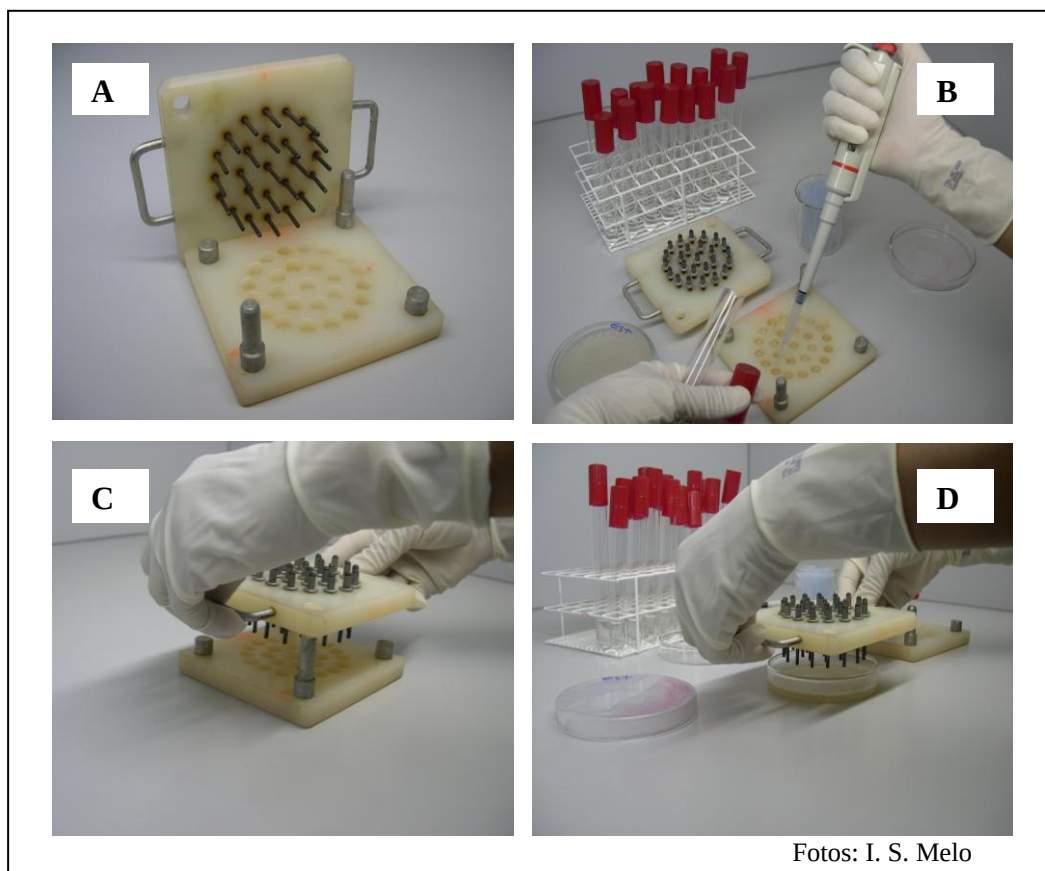


Figura 4 - Multi-inoculador usado no *screening* de atividade enzimática: (A) vista geral do inoculador; (B,C e D) ilustração do procedimento de inoculação.

3.4.1 Produção de amilases

Para a determinação da atividade amilolítica adotou-se a metodologia descrita por Gopinath, Anbu e Hilda (2005) com uma modificação. Utilizou-se meio YM ágar em substituição ao meio ágar nutriente, mantendo-se a adição de 0,2% de amido solúvel ao meio.

Os ensaios foram realizados em triplicata. Após incubação a 25 °C, 37°C e 45°C por 5 dias, a revelação da atividade enzimática foi realizada com solução aquosa de iodo a 0,1N por 5 minutos. As cepas produtoras de enzimas amilolíticas foram identificadas pela presença de uma zona amarelada ao redor da colônia, 30 minutos após o descarte da solução de iodo (algumas vezes após 96 horas), evidenciando a degradação do amido.

3.4.2 Produção de celulasas

A produção de celulasas foi determinada de acordo com metodologia descrita por Strauss *et al.* (2001) e Buzzini e Martini (2002), com uma modificação, suprimiu-se o etanol na composição do meio. Portanto, a atividade foi testada em meio YP-CMC-glicerol (extrato de leveduras 1%, peptona 2%, carboximetilcelulose 0,4%, glicerol 3% e ágar 2%). A atividade foi ensaiada em triplicata a 25°C, 37°C e 45°C. Após incubação por 5 dias 10 mL de solução aquosa de corante vermelho congo a 0,03% foram adicionados à placa inoculada, o excesso foi retirado após 30 minutos, adicionando-se a seguir 5 mL de solução de cloreto de sódio a 1M, que foi descartada após 15 minutos.

As linhagens produtoras de enzimas celulolíticas foram identificadas pela presença de uma zona pálido-avermelhada em volta da colônia, em contraste com a coloração vermelho mais intenso do restante do meio.

3.4.3 Produção de lipases

A produção de lipases foi testada de acordo com Kouker e Jaeger (1987). Utilizou-se meio Gorodkova (glicose 0,1%, peptona 1%, NaCl 0,4%, ágar 1,5%) suplementado com 2% (v/v) de óleo de oliva extra virgem (esterilizado a 180°C por 60 minutos sob calor seco), o qual foi adicionado ao meio (autoclavado e arrefecido a cerca de 60 °C) juntamente com 1% (v/v) de solução de corante rodamina B (previamente esterilizada por filtração) à concentração de 1mg.mL⁻¹. A mistura foi submetida, sob a mesma temperatura do meio, à intensa agitação visando sua completa emulsificação. Para tanto, foi utilizada agitação por placa aquecida com agitador magnético, auxiliada por agitação manual.

O teste para produção de lipases foi realizado em triplicata. As placas contendo o meio sólido inoculado foram incubadas a 25°C, 37°C e 45°C por 5 a 7 dias. E a produção de lipase evidenciada pela formação de um halo alaranjado fosforescente ao redor das colônias produtoras da enzima, quando as placas foram irradiadas com luz ultravioleta de 366 nm, ou ainda pela formação de uma zona idêntica, de mesma dimensão ou menor que a colônia, quando irradiado o

fundo da placa. O corante rodamina B é usado normalmente como revelador de atividade de lipases.

3.4.4 Produção de esterases

A produção de esterases foi testada em meio sólido contendo peptona 1%, NaCl (cloreto de sódio) 0,5%, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (cloreto de cálcio dihidratado) 0,01%, ágar 2% e Tween 80 (polioxietileno de monooleato de sorbitan) 1% (SLIFKIN, 2000; BUZZINI; MARTINI, 2002). O Tween 80 foi incorporado ao meio após serem ambos autoclavados separadamente e arrefecidos a cerca de 50°C.

As placas com o meio sólido foram inoculadas em triplicata e incubadas a 25°C, 37°C e 45°C por 5 dias. Após o período de incubação, a atividade foi detectada pela presença de um halo opaco, devido à formação de um precipitado ao redor da colônia.

3.4.5 Produção de proteases

A capacidade das leveduras em produzir enzimas proteolíticas foi avaliada utilizando-se meio YM, suplementado com 5% (v/v) de uma solução aquosa de gelatina a 8%, autoclavada separadamente (GOPINATH; ANBU; HILDA, 2005).

Os ensaios foram realizados em triplicata. Após incubação a 25°C, 37°C e 45°C por 5 dias, a revelação da atividade enzimática foi realizada pela inundação da placa inoculada com uma solução aquosa de iodo a 0,1N por 5 minutos, que foi descartada a seguir. As cepas positivas foram identificadas pela presença de uma zona amarelada ao redor da colônia, cerca de 30 minutos, algumas vezes 96 horas, depois de descartada a solução de iodo. Uma coloração azulada desenvolveu-se no restante do meio onde não houve hidrólise da gelatina.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ISOLAMENTO DE LEVEDURAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE SOLO E REVITALIZAÇÃO DE CEPAS MANTIDAS EM COLEÇÃO

A partir das 12 amostras de solos coletadas no Parque Nacional do Viruá, em Roraima, foram obtidos 519 isolados de leveduras, os quais receberam o código VR, seguido de numeração sequencial (VR1 a VR519). Das 96 cepas obtidas da coleção do Laboratório de Microbiologia, oriundas da ESEC de Maracá, 88 foram recuperadas. As cepas de leveduras resultantes dos isolados obtidos neste estudo foram cedidas ao Laboratório de Microbiologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Roraima, onde são mantidas em meio sólido (GYMP) sob uma camada de óleo mineral, a 4°C.

4.2. AVALIAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR LEVEDURAS ISOLADAS DE SOLO

Diversos autores enfatizam que, embora os avanços nos campos da genética, fisiologia microbiana e instrumentação tenham provocado grande impacto na produção de enzimas, programas de *screening* visando à seleção de microrganismos com habilidade para produzir moléculas bioativas continuam a ser um importante aspecto da biotecnologia. E, portanto, a implementação de programas sistemáticos de *screening* de linhagens microbianas, orientados por alvos industriais bem definidos, possibilitaria novas oportunidades comerciais (STEELE; STOWERS, 1991; BULL; GOODFELLOW; SLATER 1992; BUZZINI; MARTINI 2002, OGAWA; SHIMIZU, 2002; RUIZ; PASTOR; DIAZ, 2005).

Os resultados referentes a aptidão das cepas de leveduras isoladas de solos oriundos do PARNA do Viruá e da ESEC de Maracá submetidas aos testes para produção e secreção de amilases, celulasas, esterases proteases e lipases; bem como os resultados expressos através de um índice de produção encontram-se nos apêndices A e B, respectivamente. Na avaliação dos resultados as cepas não submetidas ao teste para esta ou aquela atividade enzimática ou temperatura de ensaio, assim como as envolvidas em episódios de sobrecrecimento, com

comprometimento da correta individualização das colônias, foram consideradas, para o caso específico, como cepas-não-testadas (nt) e, excluídas para efeito de totalização, permanecendo, contudo, nos registros pertinentes contidos nos apêndices. A tabela 1 mostra a síntese dos resultados obtidos neste estudo.

Tabela 1 – Produção de enzimas extracelulares por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá, Roraima, nos ensaios realizados a 25°C, 37°C e 45°C.

Temperatura	Caráter das cepas	Número de cepas					μ_{geral}
		Amilase	Celulase	Esterase	Protease	Lipase	
25°C	sc	1	2	6	1	4	
	-	216	537	241	215	448	
	+	14	15	305	15	102	
Σ		231	554	552	231	554	
37°C	sc	261	234	250	264	252	
	-	121	116	105	116	100	
	+	2	34	29	4	32	
Σ		384	384	384	384	384	
45°C	sc	378	375	373	378	379	
	-	3	5	8	4	3	
	+	3	3	3	2	2	
Σ		384	383	384	384	384	
μ_{parcial}		333	440	440	333	441	397
$\Sigma (+)$		17 ^a	50 ^a	310 ^b	21	119 ^c	
% (+)		5,11	11,36	70,45	6,31	26,98	
$\Sigma_{\text{geral}} (+)$		353					
% _{geral} (+)		88,92					

(sc), (-) e (+) indicam, respectivamente, ausência de crescimento à temperatura de teste, resultado negativo e positivo para a atividade testada.

Somatórios de cepas positivas ($\Sigma (+)$) acompanhados de letras indicam: ^a 2 cepas exibiram atividade enzimática a duas temperaturas distintas; ^b 23 cepas a duas temperaturas e 2, a três e, ^c 15 cepas apresentaram atividade a duas temperaturas e 1 a três.

Os dados mostrados na tabela 1, sintetizados na figura 5, revelam o potencial de leveduras isoladas de solos em produzir e secretar enzimas hidrolíticas. Aproximadamente 90% das cepas avaliadas foram positivas para a produção das enzimas ensaiadas.

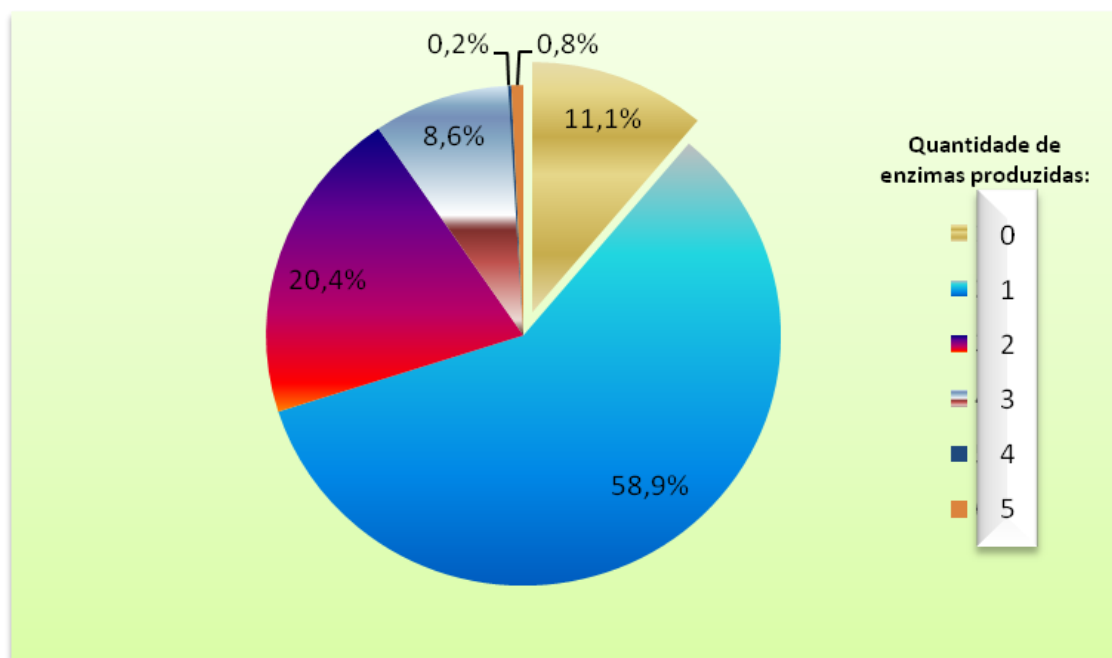


Figura 5 – Potencial (%) das cepas de leveduras na produção e secreção de enzimas.

Cerca de 30% das leveduras testadas exibiram dois ou mais tipos de atividade enzimática, enquanto os quase 90% produziram pelo menos um tipo.

Pouco mais de 11% das leveduras analisadas foram negativas para as atividades ensaiadas (figura 5). Esse percentual inclui as cepas que não apresentaram habilidade para produzir e secretar alguma das enzimas testadas e, aquelas não mostraram capacidade de crescimento à temperatura de teste. A ausência de crescimento, observada mais frequentemente nos testes realizados a 45°C, poderia ser atribuída, na maioria dos casos, ao caráter mesofílico esperado para a maioria das cepas testadas, que são adaptadas às condições de temperatura dos solos do interior das florestas nativas densas, os quais são protegidos pela densa cobertura vegetal e serapilheira e, não atingem essa temperatura adotada. Os microrganismos mesófilos têm como temperatura máxima de crescimento 43°C. Provavelmente, outros fatores estão envolvidos nesses

episódios, de sorte que, para a total compreensão desse fenômeno análises mais específicas tornam-se necessárias.

A habilidade em produzir e secretar enzimas hidrolíticas foi expressiva entre as leveduras oriundas do PARNA do Viruá. Mais de 98% delas exibiram pelo menos uma das atividades avaliadas e 33,96%, no mínimo duas. Por outro lado, 51,9% das cepas isoladas de solos da ESEC de Maracá exibiram mais de uma atividade e cerca de 13%, duas ou três. Os resultados obtidos no presente estudo, quando comparados aos obtidos por outros autores, mostram discrepâncias (figura 6), que podem ser, em parte, atribuídas às diferenças e à complexidade dos substratos de origem das cepas avaliadas.

Substratos de origem / Autor	Enzima				
	<i>Amilase</i>	<i>Celulase</i>	<i>Esterase</i>	<i>Lipase</i>	<i>Protease</i>
Solos / Farias (resultados deste estudo)	5,11%	11,36%	70,45%	26,98%	6,31%
Filoplano / Fuentesfria (2004)	22,0%	24,0%	43,0%*	40,0%*	31,15%
Habitats florestais / Buzzini e Martini (2002)	5,4%	0%*	43,33%*	40,3%*	15,62%*
Vinícolas / Strauss <i>et al.</i> (2001)	3,7%	4,5%	-	-	4,1%
Substratos diversos / Silva Neves, Porto e Teixeira (2006)	-	-	-	-	98,0%

* Atividade testada em leveduras e fungos semelhantes a leveduras

Figura 6 – Comparativo dos resultados obtidos por diversos autores na avaliação do potencial de leveduras e fungos semelhantes a leveduras para produção de enzimas.

4.2.1 Produção de amilases

As enzimas são biocatalisadores atraentes para propósitos industriais, especialmente porque são eficientes e seletivas nas reações por elas mediadas (JAEGER; DIJKSTRA; REETZ, 1999). As enzimas amilolíticas estão entre as mais importantes enzimas industriais. A demanda

mundial por novas amilases é crescente e seu espectro de aplicação teve notável expansão em muitos setores industriais. A magnitude da demanda está intimamente relacionada com a substituição quase que total da hidrólise química por amilases microbianas no processamento do amido pelas indústrias (GUPTA *et al.*, 2003).

A habilidade em produzir enzimas amilolíticas foi demonstrada por cerca de 5% das 333 cepas avaliadas, para esta atividade, nesta pesquisa (tabela 1). A maioria dos resultados reportados na literatura, como mostra a figura 6, sugere que a capacidade de degradar amido ocorre com pouca frequência entre as leveduras. Buzzini e Martini (2002) investigando o perfil de atividade enzimática extracelular de leveduras e fungos semelhantes a leveduras, isolados de diferentes habitats de florestas tropicais brasileiras, observaram o fenótipo amilolítico em 5,4% entre as leveduras verdadeiras, sendo o fenótipo mais comum entre os fungos semelhantes a leveduras (*Aureobasidium pullulans*) com 26,1% das linhagens positivas. Strauss *et al.* (2001) avaliaram 245 linhagens de leveduras isoladas em vinícolas, 3,7% das quais mostraram atividade amilolítica. Os resultados encontrados nesta pesquisa estão em concordância com os obtidos por Strauss *et al.* (2001) e Buzzini e Martini (2002), mas diferem sensivelmente das observações de Fuentefria (2004) que avaliou esta atividade em 61 linhagens de leveduras de filoplano e encontrou 22% dos isolados capazes de degradar amido.

Os resultados obtidos neste estudo parecem confirmar a tendência de que a capacidade de utilizar amido como fonte de carbono é pouco frequente entre as leveduras, entretanto dificuldades apresentadas na revelação da atividade amilolítica poderiam fornecer uma outra explicação para a rara observação desta habilidade nas cepas avaliadas, uma vez que na maioria dos casos os halos de degradação do amido somente puderam ser observados 96 horas após a revelação. A concentração de 2% de ágar em um meio contendo amido pode resultar em falsos negativos devido a maior dificuldade de difusão da enzima amilolítica no meio (MACFADDIN; LIPPINCOTT apud FUENTEFRÍA, 2004).

A habilidade das leveduras em produzir enzimas amilolíticas extracelulares está evidenciada nos resultados mostrados na tabela 2, que é expressa através de uma escala arbitrária composta pelos índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas cepas nos testes. Conforme a escala, $0 < ie < 1$; $1 \leq ie < 2$ ou $ie \geq 2$ representam, respectivamente, cepas com fraca, moderada ou forte habilidade na produção da enzima.

Tabela 2 – Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de amilases, a 25°C, 37°C e 45°C.

Cepas	Amilases (índice enzimático médio - ie)			Cepas	Amilases (índice enzimático médio - ie)		
	25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C
VR16	2,20			VR464	2,86		
VR240	1,31			VR474	2,74		
VR343	2,62			VR475	1,61		
VR357	1,31			VR484	1,48		
VR367	2,90			VR494	0,98		
VR380	2,39			RR66			1,00
VR407	3,40			RR174		1,00	1,00
VR430	2,45			RR240		0,84	1,00
VR435	1,58						

0 < ie < 1; 1 ≤ ie < 2 ou ie ≥ 2 indicam, respectivamente, fraca, moderada ou forte habilidade em produzir amilases.

Microrganismos capazes de produzir amilase com propriedades adequadas e em quantidades aceitáveis para aplicações biotecnológicas continuam a ser foco importante de muitas pesquisas. Cerca de 47% das cepas positivas nos testes para produção de amilase exibiram forte habilidade, com índices enzimáticos superiores a 2 (tabela 2). Os resultados mais expressivos na produção de amilases foram observados para as cepas VR407, VR367, VR464, VR474, VR343, VR430, VR380 e VR16, as quais podem ser consideradas boas candidatas para estudos mais detalhados, visando futuras aplicações industriais.

As cepas RR174 (*C. famata*) e RR240 (*Debariomyces occidentalis*) exibiram capacidade de produzir amilase a 37°C e 45°C e RR66 (*D. hansenii*) a 45°C, o que representa um comportamento interessante para futuras aplicações em processos industriais.

A abordagem clássica no isolamento de novas linhagens de microrganismos e enzimas continua a ser um importante passo para o desenvolvimento de novos processos e produtos biotecnológicos. Além disso, a subsequente caracterização destes microrganismos sob condições de fermentação para otimizar as propriedades de produção da enzima é vital na avaliação do seu significado econômico (OGAWA; SHIMIZU, 2002; PRAKASHAM *et al.*, 2007).

4.2.2 Produção de celulases

A utilização da celulose por microrganismos, como fonte de carbono, envolve uma série de fenômenos fundamentais além daqueles associados à hidrólise enzimática do polissacarídeo; muitos permanecem incompletamente compreendidos. Por outro lado, a hidrólise enzimática da celulose envolve a ação sinérgica de um sistema de enzimas celulolíticas capazes de atuar distintamente no material celulósico para liberar diferentes oligômeros e finalmente monômeros de glicose (LYND *et al.*, 2002; LYND *et al.*, 2005). Em condições laboratoriais papel de filtro e carboximetilcelulose, entre outros substratos afins são usados como indutores para avaliar a atividade celulolítica em microrganismos.

Nesta pesquisa, a habilidade das leveduras em degradar celulose foi avaliada com a utilização de carboximetilcelulose como substrato. Uma zona de coloração mais clara, correspondente ao halo de degradação da CMC, foi observada em cerca de 11,36% das 440 leveduras avaliadas para a atividade celulolítica (tabela1). Estes resultados contrastam com os relatados em outros estudos. Fuentesfria (2004) em um estudo envolvendo fungos isolados de filoplano de *Hibiscus rosa-sinensis*, encontrou 24% de leveduras produtoras de celulases. Entretanto, Strauss *et al.* (2001) estudaram 245 cepas de leveduras de vinícolas, e apenas 4,5% apresentaram atividade celulolítica. Buzzini e Martini (2002), por sua vez, avaliaram 397 cepas de leveduras e fungos semelhantes a leveduras oriundas de diversos habitats tropicais e não obtiveram nenhuma cepa positiva para o caráter celulolítico.

A discrepância entre os resultados obtidos neste estudo e aqueles reportados por Fuentesfria (2004) poderia ser explicada pela origem distinta dos isolados avaliados. Nesta pesquisa a produção de celulases foi avaliada em leveduras isoladas de solos sob diferentes coberturas vegetais, *habitats* que sugerem diversidade de fontes nutricionais, e que certamente comporta um ambiente também diversificado em microrganismos hábeis para assimilar a matéria orgânica disponível, uma fonte especificamente ou várias. Portanto, a discrepância entre os resultados obtidos neste estudo e aqueles reportados por Fuentesfria (2004) poderia ser explicada pela diversidade de fontes nutricionais disponíveis às leveduras isoladas.

A busca por microrganismos com habilidade celulolítica tem-se intensificado em função do valor biotecnológico dos derivados da hidrólise de celulose. O uso de microrganismos produtores de enzimas lignocelulolíticas tem-se tornado uma importante alternativa aos métodos

químicos convencionais de obtenção de celulases a partir de madeira pré-processada (LYND *et al.*, 2002). Os dados da tabela 3 mostram o nível de habilidade das cepas avaliadas em produzir e secretar enzimas celulolíticas.

Tabela 3 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de celulases, a 25°C, 37°C e 45°C.

Cepas	Celulases (índice enzimático médio - ie)			Cepas	Celulases (índice enzimático médio - ie)		
	25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C
VR2	1,08			VR270		0,93	
VR4		1,00		VR271		1,45	
VR18		1,00		VR277		1,28	
VR21		1,28		VR289	1,33		
VR58	1,14			VR344	2,18		
VR74		1,25		VR346		0,62	
VR75		1,84		VR411		1,41	
VR76		1,12		VR414		1,28	
VR79		1,12		VR417		1,20	
VR80		1,00		VR421		1,53	
VR85		1,20		VR449		1,03	
VR94		1,37		VR453		1,95	
VR151		1,45		VR458		1,15	
VR155		0,56		VR460	1,00		
VR156	1,00			VR466	1,03	1,30	
VR162	1,40			VR467	1,14	1,19	
VR163	4,62			VR475		1,79	
VR180	1,50			VR481		2,50	
VR183	1,56			VR483		2,55	
VR194	1,38			VR484		2,17	
VR195	1,00			VR502		1,24	
VR200	4,25			VR504		1,16	
VR240		1,44		RR69			1,00
VR252		1,50		RR174			1,00
VR265		1,64		RR240			1,00

0 < ie < 1; 1 ≤ ie < 2 ou ie ≥ 2 indicam, respectivamente, fraca, moderada ou forte habilidade em produzir celulases.

Índices enzimáticos de moderado a forte foram os mais comumente observados nos testes para produção de celulasas (tabela 3). Mais de 90% das cepas positivas apresentaram índices iguais ou superiores a 1 (um). Seis cepas tiveram destaque na produção de celulase. As cepas VR163, VR200 e VR344 mostraram maior produção à temperatura de 25°C, com ie de 4,62; 4,25 e 2,18, respectivamente, enquanto as cepas VR483, VR481 e VR484 tiveram os maiores índices enzimáticos a 37°C, com 2,55; 2,50 e 2,17, respectivamente.

A temperatura, de fato, está entre os mais importantes fatores que influenciam o crescimento e sobrevivência dos organismos. E constitui um parâmetro crítico, também, na produção de enzimas, sendo variável de organismo para organismo (CHALOUPKA apud SILVA NEVES; PORTO; TEIXEIRA, 2006). No presente estudo, 34 cepas (8,8%), das 384 testadas, produziram halo de degradação da CMC nos ensaios a 37°C (tabela 1), destacando-se como fortes produtoras as cepas VR481, VR483 e VR484 (tabela 3); enquanto somente 15 cepas 2,7% das 554 avaliadas a 25°C para a produção de celulasas extracelulares, exibiram atividade (tabela 1). A 45°C foi detectado halo de atividade nas cepas RR69 (*C. valida*), RR174 (*C. famata*) e RR240 (*D. occidentalis*), com índices enzimáticos iguais à unidade. Curiosamente, estas cepas não se mostraram capazes de produzir e secretar enzimas celulolíticas a 25°C e 37°C.

A adição do corante vermelho congo no meio usado para detectar produção de celulasas é um artifício para facilitar a visualização dos halos de atividade enzimática, devido à capacidade de interação do corante com uma ampla variedade de polissacarídeos. Contudo, a interferência dos produtos de hidrólise ou o diâmetro da colônia, que ocasionalmente coincide com o diâmetro do halo, podem limitar o uso do método (SMITH, 1977; TEATHER; WOOD, 1992; CORREIA *et al.*, 1998). Em 21 cepas de leveduras foi detectada ou produção de halos de atividade celulolítica em pontos de inoculação onde não houve crescimento microbiano visível ou a presença de halos típicos de degradação da CMC apenas quando houve desprendimento das colônias. Não sendo possível, no entanto, aventar explicações plausíveis para o primeiro caso. A detecção de atividade em algumas cepas, quando houve remoção da colônia, sugere que o caráter celulolítico poderia ser detectado em um número maior de leveduras.

Os resultados do *screening* para produção de celulasas sugerem a necessidade de mais estudos sobre a capacidade das cepas positivas em utilizar outros substratos celulósicos para a caracterização da atividade celulolítica, sobretudo das cepas que apresentaram maior

produtividade, para posterior encaminhamento a processos de otimização de atividade enzimática.

4.2.3 Produção de lipases

Há sempre um renovado interesse industrial por lipases, devido, principalmente, ao seu enorme potencial biotecnológico (JAEGER; DIJKSTRA; REETZ, 1999; HÁ *et al.*, 2007). Lipases produzidas por bactérias e fungos são aditivos importantes em formulações de detergentes, e seu espectro de aplicações vem ampliando a cada dia com diversos processos se estabelecendo nas indústrias farmacêuticas, agroquímicas, oleoquímicas, de biocombustíveis, entre outras. A exploração da biodiversidade é a principal estratégia adotada para expandir as fontes e o número de novas lipases (BORNSCHEUER *et al.*, 2002), através de extensivo e persistente *screening* para novos microrganismos lipolíticos, que cria novas oportunidades para estabelecimento de rotas únicas de processos sintéticos e consequentemente novos meios para resolver muitos problemas ambientais (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006).

A produção de lipase foi ensaiada utilizando óleo de oliva extra virgem como substrato indutor. Das 441 cepas de leveduras, em média, testadas 26,98% mostraram habilidade para produzir lipases (tabela 1). Um percentual pequeno, se comparado aos resultados reportados na literatura. Fuentesfria (2004), utilizando Tween 20, detectou a atividade em 40% das 84 cepas de leveduras e fungos semelhantes a leveduras avaliadas. Buzzini e Martini (2002) obtiveram resultados similares aos de Fuentesfria na avaliação de 397 linhagens dos mesmos grupos de microrganismos, 40,3% das cepas investigadas apresentaram habilidade para produzir enzimas com atividade sobre trioleína, substrato padrão para lipases (JAEGER; EGGERT, 2002) e tributirina.

A produção de lipase foi observada com maior frequência a 25°C. Das 554 leveduras avaliadas 102 (18,41%) mostraram ter essa habilidade (tabela 1); 34 casos positivos foram observados a 37°C, 8,33% das 384 leveduras avaliadas. Somente as cepas VR75 e RR64 foram capazes de produzir lipase a 45°C.

A capacidade de produzir enzimas a temperaturas que variam entre moderadas a elevadas é uma característica de certas cepas de microrganismos e desejável em muitos processos industriais. A importância de lipases termoestáveis para diferentes aplicações tem apresentado

um rápido crescimento. Alguns processos produtivos industriais demandam a utilização de lipases com atividade em temperaturas mais elevadas, tornando-se valiosa a descoberta de cepas hábeis em produzir e secretar lipases com tal característica. Apesar de microrganismos termófilos constituírem fontes óbvias de enzimas termoestáveis, elas podem ser obtidas a partir de microrganismos mesófilos e até de psicrófilos. Em geral, microrganismos mesófilos exibem máxima produção sob fermentação submersa ou fermentação em estado sólido em uma faixa de temperatura que varia entre 25°C e 40°C. Entretanto, muitas lipases produzidas por mesófilos são estáveis a temperaturas elevadas (RAMACHANDRAN; PRETORIUS; OTERO, 2005; HASAN; SHAH; HAMEED, 2006).

A produção de lipases requer, entre outros parâmetros cruciais, o controle da temperatura e a sua disponibilidade para aplicações biotecnológicas, demanda ainda o emprego de técnicas para determinar outros aspectos da sua atividade, como seletividade de substrato e estereosseletividade, apesar de não existir um método universal que permita a simultânea determinação destas propriedades (JAEGER; EGGERT, 2002). Estudos adicionais sobre as propriedades de atuação da enzima, relacionados a tolerância à variação de temperatura e pH e atividade em meio orgânico, são fundamentais para sua aplicação em um determinado processo biotecnológico.

Lipases isoladas de diferentes fontes apresentam uma ampla variação de propriedades, que ocorre, inclusive, entre lipases isoladas de cepas que possuem íntima relação taxonômica (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006). Sendo assim, a procura por cepas de microrganismos com excelência na produção desse tipo de enzima utilizando como etapa inicial o *screening* primário mostra constituir-se em uma estratégia útil. Na tabela 4 são mostrados os resultados da habilidade das leveduras avaliadas a três temperaturas distintas para produção de lipases.

Tabela 4 – Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de lipases a 25°C, 37°C e 45°C.

Cepa	Lipases (índice enzimático médio - ie)			Cepa	Lipases (índice enzimático médio - ie)		
	25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C
VR2	1,00			VR20	1,04		
VR6	1,14			VR21	0,73		
VR9	0,68			VR24	0,65		

Tabela 4 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de lipases a 25°C, 37°C e 45°C - (continuação).

VR31	1,23			VR236	1,00	
VR36	4,50			VR237	1,00	
VR37	0,87			VR240	1,00	0,87
VR40	1,18			VR245	1,00	
VR51	1,06			VR247	1,00	
VR56	1,29			VR250	1,17	
VR57	0,59			VR264	1,21	
VR61	1,07			VR265		1,04
VR62	1,07			VR277	0,50	0,54
VR63	1,12			VR298		2,42
VR65	1,32			VR305	1,23	
VR67	1,18			VR306	1,17	
VR68	1,14			VR333	1,00	
VR70	1,12			VR337	1,85	
VR72	1,13			VR345		1,26
VR74	1,20			VR346		2,23
VR75		1,16	1,00	VR348	1,69	2,40
VR90	1,15			VR357		2,08
VR97		1,10		VR376	1,00	
VR98	1,40			VR393		2,18
VR116	1,08			VR408	1,22	2,94
VR118	1,18			VR411		1,09
VR121	0,73			VR414	1,06	0,92
VR156	2,00			VR415	1,06	
VR165	1,31			VR416	1,07	
VR172	2,80			VR417		1,10
VR176	1,00			VR419	1,04	
VR177	1,09			VR420	1,04	
VR178	1,45			VR421		1,05
VR179		1,91		VR422	1,28	
VR180	1,38			VR424	1,32	
VR181	2,30			VR425	1,11	
VR190	1,20			VR431	1,00	
VR194	1,54			VR432	1,02	
VR195	1,44			VR433	1,25	
VR197	1,20			VR442	1,00	
VR204	0,92			VR453	1,00	1,78
VR217	1,05			VR454		2,00
VR232	1,00			VR458	1,10	
VR233	1,00			VR459	1,00	

Tabela 4 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de lipases a 25°C, 37°C e 45°C - (continuação).

VR460	1,70		VR498	1,07		
VR463	1,04		VR502		1,00	
VR466	1,26	1,74	VR504	1,06	1,00	
VR467	0,68	1,71	VR508	1,00		
VR475		2,64	VR510	1,00		
VR477	1,00	2,03	VR511	1,03		
VR478	1,00	2,15	RR4	1,02		
VR479	1,00	2,12	RR16	1,00		
VR481		3,00	RR23	1,00		
VR484	0,53	1,62	RR64	1,00	1,00	1,00
VR490	1,06		RR66		1,00	
VR491	1,00		RR70	1,00		
VR492	1,00		RR117	1,00		
VR493	1,00		RR170	1,00		
VR495	1,36		RR262	1,00		
VR496	1,00	1,13	RR269	1,00		
VR497	1,05					

0 < ie < 1; 1 ≤ ie < 2 ou ie ≥ 2 indicam, respectivamente, fraca, moderada ou forte habilidade em produzir lipases.

Das 119 cepas que exibiram a capacidade de produzir lipase 91,57% apresentaram moderada a forte habilidade. Índices de produção que variaram entre 2 e 4,5 foram verificados, em 16 cepas, 13,44% das leveduras positivas (tabela 4), as quais demonstraram ser as melhores candidatas a estudos que visem a caracterização da atividade enzimática e otimização da produção. A maioria das cepas com forte habilidade na produção de lipase mostrou essa característica a 37°C, 75% delas. A relação dos maiores índices observados inclui as cepas VR36, VR481, VR408, VR172, VR475, VR298 e VR348, respectivamente, 4,5; 3; 2,94; 2,8; 2,64; 2,42 e 2,4. Somente o primeiro e o quarto maiores índices de produção ocorreram a 25°C. As duas cepas positivas a 45°C, VR75 e RR64, exibiram, ambas, índices enzimáticos iguais a 1, mostrando bom desempenho também a 37°C.

4.2.4 Produção de esterases

Os dados da tabela 1 demonstram a ampla ocorrência de atividade esterásica entre as 440 leveduras testadas, em média. Mais de 70% demonstrou possuir habilidade para produzir esterases, enquanto estudos recentes mostram sensíveis discrepâncias com estes resultados. Fuentesfria (2004) observou a produção de esterases extracelulares em 43% de 84 linhagens de leveduras e fungos semelhantes a leveduras isolados de filoplano, enquanto Buzzini e Martini (2002) detectaram a capacidade em pouco mais de 43% das linhagens avaliando 397 isolados dos mesmos grupos de microrganismos. Em ambos, o fenótipo esteve mais associado às leveduras basidiomicéticas e aos fungos semelhantes a leveduras, com um percentual bastante expressivo exibindo a capacidade de degradar Tween 80, substrato usualmente adotado para *screening* de esterases.

A notável presença de cepas leveduras com habilidade para produzir esterases encontrada neste estudo sugere a participação destes microrganismos nos estágios iniciais de degradação da biomassa vegetal nos seus *habitats* de origem. Do ponto de vista do mercado, um considerável interesse tem sido devotado à descoberta de novas fontes microbianas de esterases, que é justificado principalmente pelo uso potencial destas enzimas em reações que requerem quimio ou regioseletividade. Leveduras produtoras de esterases são especialmente interessantes também para as indústrias de vinhos, de queijos e outros produtos lácteos (ZARZOSO *et al.*, 1998; CHOI; MIGUEZ; LEE, 2004), uma vez que a atuação de enzimas lipolíticas é crucial na liberação de compostos aromáticos e flavorizantes durante o processo de fabricação daqueles produtos.

O *Screening* primário de cepas de microrganismos para produção de enzimas é realizado, em geral, adotando-se uma única temperatura (STRAUSS *et al.*, 2001; BUZZINI; MARTINI, 2002; FUENTEFRÍA, 2004). No presente estudo, os testes para produção de esterases extracelulares foram realizados a 25°C, 37°C e 45°C. A ocorrência de atividade enzimática, assim como a capacidade de crescimento das cepas, apresentou forte variação entre as temperaturas de ensaio (tabela 1). A capacidade de produzir e secretar esterases foi detectada com maior frequência a 25°C. Das 552 cepas avaliadas para a atividade esterásica, a 25°C, 55,2% foram positivas. Em 7,55% das 384 cepas testadas a 37°C foram detectados halos indicativos de atividade da enzima, nos ensaios realizados a 45°C, em 0,78%.

Um bom desempenho na avaliação de atividade enzimática é um indicador importante do potencial econômico de uma cepa. Mas, a determinação de outros aspectos concernentes ao tipo de enzima produzido - ou aos tipos, caso a cepa produza mais de um tipo -, o comportamento quanto à variação de pH, à termoestabilidade, à seletividade de substrato, à regio e estereosseletividade, entre outros é fundamental para definir o seu real potencial e, pode indicar em que processo biotecnológico a enzima poderá ter aplicação. A tabela 5 mostra os índices de atividade enzimática das leveduras testadas para produção de esterases.

Tabela 5 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de esterases, a 25°C, 37°C e 45°C.

Cepas	Esterases			Cepas	Esterases		
	(índice enzimático médio - ie)				(índice enzimático médio - ie)		
	25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C
VR2	1,92			VR56	1,21		
VR3	2,80			VR61	1,38		
VR5	1,71			VR62	1,70		
VR6	1,52			VR63	1,57		
VR9	1,53			VR65	1,38		
VR13	2,60			VR66	2,27		
VR16	3,08			VR67	1,27		
VR20	1,71			VR68	1,25		
VR21	1,31			VR70	1,48		
VR23	3,00			VR72	1,46		
VR24	1,59			VR74	1,30		
VR26	3,45			VR75	3,20	1,29	2,12
VR27	2,05			VR77	3,64		
VR30	4,73			VR78	3,73		
VR31	2,00			VR81	3,20		
VR32	4,54			VR82	3,30		
VR33	1,60			VR83	3,42		
VR35	2,92			VR84	3,38		
VR36	3,30			VR89	5,40		
VR37	1,70			VR90	1,68		
VR40	1,24			VR96	1,60		
VR42	5,25			VR98	1,60		
VR43	2,75			VR101	4,78		

Tabela 5 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de esterases, a 25°C, 37°C e 45°C - (continuação).

VR44	2,89	VR103	2,50	
VR45	5,20	VR111	2,17	
VR47	4,50	VR112	2,90	
VR51	1,26	VR114	4,30	
VR116	2,70	VR197	1,50	
VR117	4,00	VR198	4,20	
VR118	1,40	VR200	4,00	
VR121	1,90	VR202	4,25	
VR123	2,62	VR203	4,75	
VR125	1,54	VR204	1,47	
VR129	1,40	VR214	3,67	
VR132	2,64	VR215	3,25	
VR134	4,00	VR216	2,00	
VR137	2,54	VR221	3,38	
VR139	2,00	VR222	2,89	
VR140	2,80	VR224	3,60	
VR143	1,64	VR225	4,78	
VR144	1,85	VR226	4,88	
VR146	1,37	VR227	4,62	
VR147	2,00	VR228	3,73	
VR148	1,40	VR229	2,62	
VR154	4,17	VR231	4,00	
VR156	2,10	VR232	1,46	
VR159	1,73	VR233	3,08	
VR162	3,27	VR236	2,57	
VR163	1,36	VR237	2,62	
VR164	1,50	VR238	2,78	
VR165	2,67	VR239	2,73	
VR166	1,67	VR240	0,76	1,85
VR170	1,64	VR243	1,78	
VR172	3,20	VR245	2,67	
VR175	2,18	VR247	3,42	
VR176	3,78	VR248	1,00	
VR177	2,80	VR249	1,00	
VR178	2,50	VR250	1,48	
VR180	1,90	VR252	2,86	
VR181	1,67	VR255	3,60	

Tabela 5 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de esterases, a 25°C, 37°C e 45°C - (continuação).

VR182	1,70		VR257	3,20	
VR190	1,59		VR258	3,90	
VR194	1,52		VR259	3,30	
VR195	1,67		VR260	2,70	
VR261	2,50		VR345	2,50	
VR262	3,56		VR348	4,17	2,89
VR263	2,12		VR349	1,40	
VR265	1,77	1,62	VR351	4,62	
VR266	3,10		VR355	2,62	
VR267	2,89		VR357		3,17
VR277	1,31		VR363	3,80	
VR278	2,23		VR364	3,18	
VR280	3,82		VR365	4,18	
VR282	2,83		VR367	3,64	
VR287	2,62		VR369	4,67	
VR294	4,10		VR370	1,40	
VR298		3,17	VR372	4,09	
VR301	3,90		VR373	3,23	
VR303	3,36		VR374	3,56	
VR305	1,44		VR375	3,55	
VR306	1,25		VR377	3,91	
VR309	0,8		VR378	3,70	
VR310	1,83		VR379	3,31	
VR311	1,32		VR380	3,00	
VR319	1,00		VR385	2,90	
VR322	1,75		VR386	3,40	
VR323	1,56		VR388	4,62	
VR324	3,55		VR389	3,67	
VR325	4,40		VR390	3,88	
VR329	3,91		VR391	4,10	
VR330	2,93		VR392	4,11	
VR331	3,25		VR394	4,67	
VR332	0,80		VR395	3,27	
VR333	4,70		VR396	2,21	
VR335	3,17		VR397	1,91	
VR336	1,85	4,51	VR398	0,91	
VR337	1,88		VR399	3,00	

Tabela 5 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de esterases, a 25°C, 37°C e 45°C - (continuação).

VR338	3,85		VR400	2,58	
VR340	0,86		VR403	3,80	
VR343	2,00		VR404	2,43	
VR344	3,30		VR405	3,69	
VR406	3,18		VR473	3,09	
VR407	3,33		VR474	4,38	
VR408	2,17		VR475	3,36	3,04
VR410	4,00		VR476	2,83	
VR411	2,91	1,77	VR477	1,16	2,50
VR412	3,77		VR478	1,17	2,50
VR413	3,00		VR479	1,15	2,61
VR414	0,49	1,51	VR480	1,00	
VR416	0,72		VR481		1,00
VR417	1,38	1,88	VR483	1,28	
VR419	0,89		VR484	1,10	2,75
VR421	1,43	2,03	VR485	2,46	
VR427	5,10		VR486	3,00	
VR428	2,45		VR487	3,18	
VR430	1,75		VR488	3,78	
VR433	1,56		VR489	2,82	
VR434	1,21		VR490	0,96	
VR439	3,18		VR491	0,87	
VR440	3,67		VR492	0,88	
VR441	3,67		VR493	0,90	
VR442	0,97		VR494		1,31
VR443	1,00		VR495	1,18	
VR444	0,83		VR496	0,83	
VR453	1,30	2,69	VR498	0,84	
VR458	1,37		VR500	4,10	
VR459	1,12		VR501	2,54	
VR460	1,73		VR502	2,64	1,38
VR461	4,00		VR504	1,29	1,70
VR463	1,31		VR505	4,12	
VR464	3,90		VR506	2,38	
VR465	3,75		VR507	1,27	
VR466	0,82	1,85	VR512	1,26	
VR467	0,86	2,08	VR513	2,46	

Tabela 5 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de esterases, a 25°C, 37°C e 45°C - (continuação).

VR468	1,91		VR517	2,00		
VR470	4,50		VR518	2,80		
VR471	4,67		VR519	1,92		
VR472	3,78		RR3	1,00		
RR4	0,61		RR77	1,00		
RR16	1,00	1,00	RR80	3,15		
RR19	2,73		RR88	2,40		
RR20	1,83		RR100	1,85		
RR24		0,59	RR105	0,67		
RR28	1,73		RR110	1,44		
RR38	0,88		RR117	1,08	1,00	
RR48	2,20		RR118	1,33		
RR51	1,69		RR137	1,75		
RR53	1,71		RR144	1,46		
RR55	0,92		RR146	1,00		
RR56	1,57		RR159	1,57		
RR57	1,42		RR170	1,16	1,00	
RR62	2,00		RR217	1,92		
RR69	1,76		RR222	1,00		
RR71	1,00	1,00	RR262	1,00	1,00	1,00
RR76	1,31		RR269	1,06	1,00	

0 < ie < 1; 1 ≤ ie > 2 ou ie ≥ 2 indicam, respectivamente, fraca, moderada ou forte habilidade em produzir esterases.

Neste estudo, cerca 58% das 310 cepas que se mostraram capazes de degradar Tween 80 apresentaram índices de atividade bastante expressivos, variando entre 2 e 5,4, demonstrando forte habilidade na produção de esterases. Mais de 38% das cepas positivas exibiram índices de produção moderados. Os índices de produção fortes ocorreram mais amplamente a 25°C. Em cerca de 55% das leveduras positivas; a 37°C, 3,86% cepas apresentaram resultados similares; enquanto a 45°C, essa habilidade foi detectada somente na cepa VR75.

Algumas cepas exibiram índices de produção excepcionalmente altos. Esse fenômeno foi verificado em 13% das cepas positivas para atividade esterásica, dentre as quais: VR89, VR42, VR45, VR427, VR226, VR225, VR101, VR203, VR30 e VR369, VR394 e VR471, com índices que variam entre 4,67 e 5,4.

Um grande número de leveduras capazes de produzir esterases extracelulares, com níveis excelentes de produção, foi obtido neste *screening*. Esses resultados promissores confirmam o solo como importante fonte de leveduras produtoras de esterases.

4.2.5 Produção de proteases

A produção de proteases por leveduras tem sido bem estudada, principalmente, devido às implicações na produção de vinhos e cervejas (STRAUSS *et al.*, 2001; BREY *et al.*, 2003; TIAN; ZHANG, 2005), e também pela sua importância médica, por representar um fator de patogenicidade microbiana e, portanto, alvo chave nos estudos para desenvolvimento de antimicrobianos efetivos (RODRIGUES; ALVIANO; TRAVASSOS, 1999; POZA *et al.*, 2001).

Recentes estudos sobre o perfil proteolítico de leveduras têm sido caracterizados por resultados contrastantes. Enquanto Buzzini e Martini (2002) encontraram, entre as 351 cepas de leveduras e 46 de fungos semelhantes a leveduras testadas, 15,62% positivas para a atividade proteolítica, sendo pouco mais de 3% entre as leveduras ascomicéticas, enquanto entre as basidiomicéticas, 48 foram positivas, metade mostrou habilidade para hidrolisar gelatina. Strauss *et al.* (2001) investigaram 245 leveduras isoladas de indústrias de vinho, 4,1% foram hábeis para degradar caseína. Dentre as 61 cepas de leveduras avaliadas por Fuentesfria (2004) mais de 31% foram positivos em malte-gelatina e apenas 13,12% em caseína. Dentre os 23 fungos semelhantes a levedura testados 47,83% foram capazes de hidrolisar gelatina e 78,26% caseína.

Praticamente todas as leveduras avaliadas por Silva Neves, Porto e Teixeira (2006) demonstraram atividade proteolítica. Das 50 linhagens de leveduras, isoladas a partir de diversos substratos da Região Amazônica e avaliadas pelas autoras, 98% foram positivas para a atividade proteolítica sobre agar-gelatina-leite e malte-gelatina sob fermentação submersa, a temperatura de 30 °C. Na presente pesquisa, em média, 333 cepas de leveduras foram avaliadas para atividade proteolítica em meio contendo gelatina, 6,31% foram positivas nas diferentes temperaturas de ensaio. Das 231 cepas testadas a 25°C, 6,49% demonstraram habilidade proteolítica. A produção de proteases também foi pesquisada a 37°C e 45°C em 384 cepas, sendo tal capacidade revelada pelas cepas RR23 (*C. oleophila*), VR240, VR242 e VR271 a 37°C e por RR66 (*Debariomyces hansenii*) e RR240 (*D. occidentalis*) a 45°C.

As diferenças nas metodologias empregadas para detecção da atividade proteolítica dificultam uma comparação mais acurada entre os resultados desta pesquisa e os obtidos por outros autores. As concentrações de substrato e de ágar entre outros são fatores que influenciam a produção e a detecção de atividade enzimática em meio sólido. Portanto, uma comparação com os achados de Fuentesfria (2004) torna-se difícil, devido as diferenças quanto a concentração de substrato, consistência do meio, tempo de incubação e, conseqüentemente, nas técnicas de revelação. Ademais, o baixo percentual de leveduras proteolíticas nesta pesquisa pode estar associado a interferências da concentração de ágar (2%), devido as dificuldades de difusão da enzima no meio sólido, a exemplo do que ocorreu na avaliação da atividade amilolítica, ou seja, os halos de degradação, na maioria das vezes, somente puderam ser observados 96 horas após a revelação.

O valor de uma cepa microbiana para o mercado de enzimas abrange além o seu bom desempenho na produção e comportamento nas condições de trabalho outros requisitos que incluem características específicas da enzima. Conseqüentemente, estudos sobre a viabilidade de purificação, bem como a estabilidade frente a variações de pH e temperatura são indispensáveis para identificar a adequabilidade de aplicação de uma protease em um determinado processo biotecnológico (GUPTA; BEG; LORENZ, 2002). A tabela 6 mostra os níveis de habilidade das leveduras avaliadas na produção de proteases.

Tabela 6 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de proteases a 25°C, 37°C e 45°C.

Cepas	Proteases (índice enzimático médio - ie)			Cepas	Proteases (índice enzimático médio - ie)		
	25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C
VR16	3,09			VR435	1,58		
VR240		1,51		VR453	1,95		
VR242		2,43		VR464	2,77		
VR271		2,23		VR474	2,86		
VR298	1,91			VR475	2,15		
VR343	2,71			VR484	2,14		
VR349	2,16			VR494	1,73		
VR367	3,14			RR23		1,00	

Tabela 6 - Índices enzimáticos médios exibidos por leveduras isoladas de solos da ESEC de Maracá e do PARNA do Viruá na produção de proteases a 25°C, 37°C e 45°C - (continuação).

VR380	2,94	RR66	0,69
VR407	3,21	RR240	1,37
VR430	3,18		

0 < ie < 1; 1 ≤ ie < 2 ou ie ≥ 2 indicam, respectivamente, fraca, moderada ou forte habilidade em produzir proteases.

No *screening* para produção de proteases, 61,9% das linhagens positivas exibiram índices enzimáticos entre 2,14 e 3,21. Cerca de 84% dos casos a 25°C. As cepas VR407, VR430, VR367, VR16, VR380, VR474, VR464 e VR343 exibiram os resultados mais expressivos, indicando serem fontes importantes de enzimas proteolíticas para propósitos industriais. Novos estudos focando o comportamento destas cepas frente a outros substratos protéicos e à caracterização das proteases produzidas, bem como a otimização da produção das enzimas ajudarão a delinear o quadro das potenciais aplicações das enzimas produzidas por estas cepas e o seu valor biotecnológico.

4.2.6 Produção de multienzimas

Certos microrganismos possuem sistemas multienzimáticos, conferindo a eles vantagem competitiva no acesso a fontes nutricionais. Do ponto de vista biotecnológico, microrganismos produtores de várias enzimas, de interesse industrial, e em grandes quantidades são mais valiosos que produtores restritos de uma enzima em particular, pois apresentam uma versatilidade de aplicações industriais, além de serem economicamente mais rentáveis (VAN BEILEN; LI, 2002; PANKE; WUBBOLTS, 2002). Um total de 34 cepas mostraram-se positivas para três das cinco atividades enzimáticas testadas, entre elas RR66 (*Debayomyces hansenii*) e RR240 (*D. occidentalis*), que exibiram habilidade para produzir amilase, celulasas e proteases. Contudo, as cepas VR240, VR475, VR484 e VR453 demonstraram possuir sistemas multienzimáticos mais completos. As três primeiras foram positivas para a produção de amilase, celulase, esterase, protease e lipase. A cepa VR453 mostrou habilidade para produziu as mesmas enzimas, exceto amilase.

Farias (2004) avaliou 39 cepas de leveduras oriundas da ESEC de Maracá para atividade micocinogênica, 29 cepas foram positivas para a atividade. Das 39 cepas, 33 foram utilizadas para os ensaios de atividade enzimática nesta pesquisa, sendo que 15 delas produziram pelo menos uma das enzimas hidrolíticas extracelulares ensaiadas: *Williopsis saturnus* similar (RR19), *Rhodotorula glutinis* (RR20), *Candida oleophila* (RR23), *C. oleophila* (RR24), *D. hansenii* (RR48), *R. mucilaginosa* (RR51), *R. mucilaginosa?* (RR57), *D. hansenii* (RR66), *C. valida* (RR69), *Trichosporon asteroides?* (RR71), *D. Vanriijiae* (RR76), *R. mucilaginosa* (RR77), *R. mucilaginosa* (RR118), *R. glutinis* (RR144) e *R. minuta* (RR146).

Três dentre as cepas positivas mostraram ser mais versáteis. RR23 exibiu habilidade para secretar proteases e lipases; RR69, esterases e celulasas e, RR66, foi capaz de produzir amilases além de lipases e proteases.

A tecnologia enzimática representa uma abordagem de grande valor econômico com desdobramentos importantes sob o enfoque da sustentabilidade ambiental. Por estas razões, o mercado de enzimas de uso industrial cresce exponencialmente (OGAWA; SHIMIZU, 2002; VAN BEILEN; LI, 2002). E o *screening* para uma determinada atividade enzimática é um passo essencial na busca de um produto ou processo biotecnológico, sendo os resultados preliminares sugestivos da necessidade de novos estudos a fim de definir o real valor biotecnológico do achado.

Os resultados obtidos nesta pesquisa confirmam a importância das leveduras isoladas de solo como fonte importante de atividades enzimáticas biotecnologicamente interessantes e habilitam as cepas que exibiram bom desempenho nos testes como excelentes candidatas a estudos mais detalhados para viabilizar sua aplicação em processos industriais.

5 CONCLUSÕES

O perfil de atividade exibido pelas cepas avaliadas nos ensaios enzimáticos, realizados a diferentes temperaturas, mostrou o potencial biotecnológico de leveduras isoladas de solos do PARNA do Viruá, bem como das cepas preservadas no Laboratório de Microbiologia da UFRR, oriundas da ESEC de Maracá.

Das 397 cepas, em média, avaliadas para produção de amilases, celulasas, esterases, lipases e proteases, aproximadamente 90% demonstraram pelo menos uma atividade enzimática e 30%, duas ou mais atividades. Mais de 98% das leveduras oriundas do PARNA do Viruá exibiram pelo menos uma das atividades avaliadas e 33,96%, no mínimo duas. Dentre as cepas oriundas da ESEC de Maracá, 51,9% exibiram mais de uma atividade e 13,9%, duas ou três.

A produção de esterases foi a habilidade com maior amplitude de ocorrência entre as leveduras. Mais de 70% das cepas demonstraram possuí-la, sendo que aproximadamente 60% destas (181 cepas) mostraram forte atividade; a produção de lipases foi detectada em 26,98% das cepas avaliadas, enquanto que a atividade proteolítica, em 6,31%. A atividade celulolítica, por sua vez, foi observada em cerca de 11% das leveduras e a amilolítica, em cerca de 5,0% delas.

As cepas VR16, VR343, VR367, VR380, VR407, VR430, VR464 e VR474 mostraram expressiva atividade amilolítica, destacando-se também na produção de proteases.

A atividade celulolítica foi observada em diferentes temperaturas de ensaio. As cepas VR163, VR200 e VR344 foram positivas, apresentando fortes índices de produção a 25°C; enquanto para as cepas VR481, VR483 e VR484 esse comportamento foi observado a 37°C.

Os melhores índices de produção de lipases foram exibidos pelas cepas VR36 e VR172, a 25°C e VR481, VR408 e VR475, a 37°C. Na produção de esterases observaram-se índices bastante expressivos, entre 4,67 e 5,4, para as cepas VR89, VR42, VR45, VR427, VR226, VR225, VR101, VR203, VR30 e VR369, VR394 e VR471.

A produção de proteases foi detectada a 37°C na espécie *C. oleophila* (RR23) e a 45°C nas espécies *Debariomyces hansenii* (RR66) e *D. occidentalis* (RR240).

As cepas VR240, VR475 e VR484 exibiram capacidade para produzir amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases e, a cepa VR453 foi positiva para quatro dessas enzimas, excetuando-se as amilases. Demonstrando serem de grande versatilidade de aplicações e valor do ponto de vista econômico.

A temperatura influenciou similarmente a produção de esterases, lipases, amilases e proteases, com o maior número de cepas positivas a 25°C; a produção de celulasas foi mais frequentemente detectada a 37°C.

Neste *screening* para a produção de enzimas hidrolíticas foi obtida uma coleção de cepas de leveduras com grande potencial biotecnológico. As perspectivas para futuros estudos, no que diz respeito as enzimas produzidas pelas cepas avaliadas na presente investigação, incluem:

- identificação de todas as cepas de leveduras isoladas nesta pesquisa;
- avaliação da atividade das cepas positivas em substratos similares, o que pode ampliar o potencial de uso da enzima;
- quantificação da atividade enzimática das cepas que apresentaram os melhores resultados.
- otimização dos parâmetros críticos na produção de enzimas via fermentação submersa, quais sejam: pH, temperatura, fontes de carbono e nitrogênio;
- purificação e caracterização da enzima produzida pelas cepas mais promissoras;
- avaliação da produção de enzimas em substratos alternativos via fermentação em estado sólido;
- realização de *screening* secundário para aplicação em um processo biotecnológico alvo.

REFERÊNCIAS

ADAMCZAK, M.; KRISHNA, S. H. Strategies for improving Enzymes for Efficient Biocatalysis. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 42, n. 4, p.251–264, oct./dec. 2004.

ADAMS, P. R. Extracellular amylase activities of *Rhizomucor pusillus* and *Humicola lanuginosa* at initial stages of growth. **Mycopathologia**, Berlin, v. 128, n. 3, p.139-141, dec. 1994.

AGEITOS, J. M.; VALLEJO, J. A.; SESTELO, A. B. F.; POZA, M.; VILLA, T. G. Purification and characterization of a milk-clotting protease from *Bacillus licheniformis* strain USC13. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 103, n. 6, p. 2205-2213, dec. 2007.

AMANO ENZYME. **Product lineup**. Disponível em: <<http://www.amano-enzyme.co.jp/>>. Acesso em: 14 nov. 2007.

AZIM, A.; SHARMA, S. K.; OLSEN, C. E.; PARMAR, V. S. Lipase catalysed synthesis of optically enriched α -haloamides. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, London, v. 9, n.10, p. 1345-1348, may 2001.

BANERJEE, U. C.; SANI, R. K.; AZMI, W.; SONI, R. Thermostable alkaline protease from *Bacillus brevis* and its characterization as a laundry detergent additive. **Process Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, n.1/2, p. 213-219, oct. 1999.

BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts, characteristics and identification**, 3. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.

BAYER, E. A.; BELAICH, J. P.; SHOHAM, Y.; LAMED, R. The cellulosomes: multienzyme machines for degradation of plant cell wall polysaccharides. **Annual Reviews of Microbiology**, Palo Alto, v. 58, p. 521-554, oct. 2004.

BEG, Q. K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOODAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 56, n. 3/4 p. 326-338, june 2001.

BHASKAR, N.; MAHENDRAKAR, N. S. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease.

Bioresource Technology, 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=690348166&_sort=d&view=c&_acct=C000037880&_version=1&_urlVersion=0&_userid=955769&md5=70004c493092d0f48d54430b7e69060>
7. Acesso em: 15 fev. 2008.

BIGNELL, G. R.; BRUCE, I. J.; EVANS, I. H. Amylolytic enzymes of *Lipomyces starkeyi*: purification and size-determination. **Biotechnology Letters**, Netherlands, v. 22, n. 21, p. 1713-1718, 2000.

BORNSCHEUER, U. T. Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 73-81, mar. 2002.

BORNSCHEUER, U. T.; BESSLER, C.; SRINIVAS, R.; KRISHNA, S. H. Optimizing lipases and related enzymes for efficient application. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 20, n. 10, p. 433-437, oct. 2002.

BREY, S. E.; DE COSTA, S.; ROGERS, P. J.; BRYCE, J. H.; MORRIS, P. C.; MITCHELL, W. J.; STEWART, G. G. The effect of proteinase A on foam-active polypeptides during high and low gravity fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 109, n. 3, p. 194-202, 2003.

BRIZZIO, S.; TURCHETTI, B.; GARCÍA, V. de.; LIBKIND, D.; BUZZINI, P. VAN BROOCK, M. Extracellular enzymatic activities of basidiomycetous yeasts isolated from glacial and subglacial waters of northwest Patagonia (Argentina). **Canadian Journal of Microbiology**, Saskatoon, v. 53, n. 4, p. 519-525, apr. 2007.

BULL, A.T., GOODFELLOW, M.; SLATER, J. H. Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. **Annual Reviews of Microbiology**, Palo Alto, v. 46, p. 219-246, oct. 1992.

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

BUZZINI, P.; MARTINI, A. Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast like strains isolated from tropical environments. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 93, n. 6, p.1020-1025, nov. 2002.

CAMMAROTA, M.C.; TEIXEIRA, G. A.; FREIRE, D. M. G. Enzymatic prehydrolysis and

anaerobic degradation of wastewaters with fat contents. **Biotechnology Letters**, Netherlands, v. 23, n. 19, p. 1591-1595, 2001.

CARBOHYDRATES-ACTIVE-ENZYME. **Families**. Disponível em: <<http://afmb.cnrs-mrs.fr/CAZY>>. Acesso em: 14 nov. 2007.

CARDONA, C. A.; SÁNCHEZ, Ó. J. Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 98, n. 12, p. 2415-2457, sept. 2007.

CARREIRA, R. L.; SILVA, V. D. M.; MORAIS, H. A.; MOTTA, S. da; JUNQUEIRA, R. G.; SILVESTRE, M. P. C. Otimização da hidrólise da caseína para elevar o teor de pequenos peptídeos: emprego da pepsina. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 3, p.625-634, maio/jun. 2003.

CARVALHO, P. O.; CALAFATTI, S. A.; MARASSI, M.; SILVA, D. M. da; CONTESINI, F. J.; BIZACO, R. Potencial de biocatálise enantiosseletiva de lipases microbianas. **Química Nova** São Paulo, v. 28, n. 4, p. 614-621, jul./ago. 2005.

CARVALHO, P. O.; CAMPOS, P. R. B.; NOFFS, M. D.; OLIVEIRA, J. G.; SHIMIZU, M. T.; SILVA, D. M. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 75-80, jan./fev. 2003.

CASTRO, H. F. de; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C. dos. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n.1, p. 146-156, jan./fev. 2004.

CHABANON, G.; CHEVALOT, I.; FRAMBOISIER, X.; CHENU, S.; MARC, I. Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. **Process Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, n. 10, p. 1419-1428, oct. 2007.

CHOI, Y. J.; MIGUEZ, C. B.; LEE, B. H. Characterization and heterologous gene expression of a novel esterase from *Lactobacillus casei* CL96. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 6, p. 3213-3221, june 2004.

CORREIA, M. J.; PEREIRA JUNIOR, J. A. S.; SANTOS, J. C.; CAVALCANTI, M. A. Q. Use of remazol blue dyed avicel for determination of cellulolytic activity in basidiomycetes. **Revista de Microbiologia**, v. 29, n. 4, 1998. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37141998000400010&Ing=en&rm=iso. Acesso em: 15 fev. 2008.

DE AZEREDO, L. A. I.; DE LIMA, M. B., COELHO, R. R. R.; FREIRE, D. M. G. Thermophilic protease production by *Streptomyces* sp. 594 in submerged and solid-state fermentations using feather meal. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 100, n. 4, p. 641-647, feb. 2006.

DINIZ, F. M.; MARTIN, A. M. Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Amsterdam, v. 30, n. 3, p. 266-272, may 1997.

DUCRET, A.; TRANI, M.; LORTIE, R. Lipase catalysed enantioselective esterification of ibuprofen in organic solvent under controlled water activity. **Enzyme Microbiology and Technology**, New York, v. 22, n. 4, p. 212-216, mar. 1998.

FARIAS, M. V. **Produção de toxinas “killer” por leveduras isoladas de solos de savana de Roraima, Brasil**. Boa Vista, 2004. 36f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Roraima.

FRIEDRICH, A. B.; ANTRANIKIAN, G. Keratin degradation by *Fervidobacterium pennavorans*, a novel thermophilic anaerobic species of the order *Thermotogales*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 8, p. 2875-2882, aug. 1996.

FUENTEFRIA, A. M. **Identificação e avaliação do potencial biotecnológico de leveduras isoladas de filoplano do *Hibiscus rosa-sinensis***. Porto Alegre, 2004.122f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GOPINATH. S. C. B.; ANBU, P.; HILDA, A. Extracellular enzymatic activity profiles in fungi isolated from oil-rich Environments. **Mycoscience**, Tokyo, v. 46, n. 2, p. 119-126, 2005.

GUPTA, R.; BEG, Q. K.; LORENZ, P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 59, n. 1, p.15-32, apr. 2002.

GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V. K.; CHAUHAN, B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, Amsterdam, v. 38, n. 11, p. 1599-1616, june 2003.

HA, S. H.; LAN, M. N.; LEE, S. H.; HWANG, S. M.; KOO, Y. M. Lipase-catalyzed biodiesel

production from soybean oil in ionic liquids. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 41, n. 4, p. 480-483, sept. 2007.

HAGLER A. N.; MENDONÇA-HAGLER, L. C.; ROSA, C. A.; MORAIS, P. B. Yeasts as an example of microbial diversity in Brazilian ecosystems. In: ESTEVES, F. A. (eds.). **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 5, p. 225-244, 1995.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 39, n. 2, p. 235-251, june 2006.

HELD, M.; SCHMID, A.; VAN BEILEN, J.B.; WITHOLT, B. Biocatalysis. Biological systems for the production of chemicals. **Pure and Applied Chemistry**, Research Triangle Park, v. 72, n. 7, p. 1337-1343, 2000.

HILDÉN, L.; JOHANSSON, G. Recent developments on cellulases and carbohydrate binding modules with cellulose affinity. **Biotechnology Letters**, Netherlands, v. 26, n. 22, p. 1683-1693, 2004.

HOSTINOVÁ, E. Amylolytic enzymes produced by the yeast *Saccharomycopsis fibuligera*. **Biologia, Bratislava**, Amsterdam, v. 57, p. 247-251, 2002. Supplement 11.

HOWARD, R.L.; ABOTSI, E.; E. L. J. VAN RENSBURG.; HOWARD, S. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 2, n. 12, p. 602-619, dec. 2003.

IBAMA. Plano de ação Emergencial para a Estação Ecológica da Ilha de Maracá-RR. PNMA/MMA. **Relatório**. Boa Vista-RR, 1995.

IBAMA. Parque Nacional do Viruá-RR. SCA/MMA. **Relatório**. Boa Vista-RR, 2004.

JAEGER, K. E.; DIJKSTRA, B. W.; REETZ, M. T. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. **Annual Reviews of Microbiology**, Palo Alto, v. 53, p. 315-351, oct. 1999.

JAEGER, K. E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 390-397, aug. 2002.

JAEGER, K. E.; REETZ, M. T. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 16, n. 9, p. 396-403, sept. 1998.

JOO, H. S.; CHANG, C. S. Production of an oxidant and SDS-stable alkaline protease from an alkaloophilic *Bacillus clausii* I-52 by submerged fermentation: Feasibility as a laundry detergent additive. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 38, n. 1/2, p. 176-183, jan. 2006.

KADEMI, A.; AÏT-ABDELKADER, N.; FAKHREDDINE, L.; BARATTI, J. C. A thermostable esterase activity from newly isolated moderate thermophilic bacterial strains. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 24, n. 5/6, p.332-338, apr. 1999.

KASZYCKI, P.; CZECHOWSKA, K.; PETRYSZAK, P.; MIĘDZOBRODZKI, J.; PAWLIK, B.; KOLOCZEK, H. Methylophilic extremophilic yeast *Trichosporon* sp.: a soil-derived isolate with potential applications in environmental biotechnology. **Acta Biochimica Polonica**, Warszawa, v. 53, n. 3, 463-473, oct. 2006.

KIM, S. W.; KANG, S. W.; LEE, J. S. Cellulase and xylanase production by *Aspergillus niger* KKS in various bioreactors. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 63-67, jan. 1997.

KIRK, O.; BORCHERT, T. V.; FUGLSANG, C. C. Industrial enzyme applications. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 345-351, aug. 2002.

KLIBANOV, A. M. Improving enzymes by using them in organic solvents. **Nature**, London, v. 409, n. 6817, p. 241-246, jan. 2001.

KONG, X.; ZHOU, H.; QIAN, H. Enzymatic preparation and functional properties of wheat gluten hydrolysates. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 101, n. 2, p. 615-620, 2007.

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

KRIEGER, N.; BHATNAGAR, T.; BARATTI, J. C.; BARON, A. M.; LIMA, V. M. de.; MITCHELL, D. Non-aqueous biocatalysis in heterogeneous solvent systems. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 42, n. 4, p. 279-286, oct./dec. 2004.

KULKARNI, N.; SHENDYE, A.; RAO, M. Molecular and biotechnological aspects of

xylanases. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 23, n. 4, p. 411-456, jul. 1999.

KUTZMAN, C. P.; FELL, J. W. **The Yeasts**, a taxonomic study. 4. ed. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1998.

LI, H.; CHI, Z.; WANG, X.; DUAN X., ; MA, L.; GAO, L. Purification and characterization of extracellular amylase from the marine yeast *Aureobasidium pullulans* N13d and its raw potato starch digestion. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 40, n. 5, p. 1006-1012, apr. 2007.

LOPEZ, M. J.; VARGAS-GARCÍA, M. C.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; NICHOLS, N. N.; DIEN, B. S.; MORENO, J. Lignocellulose-degrading enzymes produced by the ascomycete *Coniochaeta ligniaria* and related species: Application for a lignocellulosic substrate treatment. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 40, n. 4, p. 794-800, mar. 2007.

LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; VAN ZYL, W. H.; PRETORIUS, I. S. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 66, n. 3, p. 506-577, sept. 2002.

LYND, L. R.; VAN ZYL, W. H.; MCBRIDE, J. E.; LASER, M. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 16, n.5, p. 577-583, oct. 2005.

MALHERBE, S.; CLOETE, T. E. Lignocellulose degradation: fundamentals and applications. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, Berlin, v.1, n. 2, p. 105-114, june 2002.

MARTIN, N.; BERGER, C.; DU, C. L.; SPINNLER, H. E. Aroma compound production in cheese curd by coculturing with selected yeast and bacteria. **Journal of Dairy Sciences**, Champaign, v. 84, n. 10, p. 2125-2135, oct. 2001.

MARTINI, A. Biodiversity and conservation of yeasts. **Biodiversity and Conservation**, Berlin, v. 1, n. 4, p. 324-333, dec. 1992.

MENDES, A. A.; CASTRO H. F. de; PEREIRA, E. B.; FURIGO JÚNIOR, A. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 296-305, fev. 2005.

MOLINARI, F.; ROMANO, D.; GANDOLFI, R.; KROPPESTEDT, R. M.; MARINELLI, F.

Newly isolated *Streptomyces* spp. as enantioselective biocatalysts: hydrolysis of 1,2-O-isopropylidene glycerol racemic esters. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 99, n. 4, p. 960-967, oct. 2005.

MUKHERJEE, G.; SINGH, R. K.; MITRA, A.; SEN, S. K. Ferulic acid esterase production by *Streptomyces* sp. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 98, n. 1, p. 211-213, jan. 2007.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Savier, 2006.

OGAWA, J.; SHIMIZU, S. Industrial microbial enzymes: their discovery by screening and use in large-scale production of useful chemicals in Japan. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 367-375, aug. 2002.

PACE, N. R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, Washington, v. 276, n. 5313, p. 734-740, may 1997.

PANDA, T.; GOWRISHANKAR, B. S. Production and applications of esterases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 67, n. 2, p.160-169, jan. 2005.

PANKE, S.; WUBBOLTS, M. G. Enzyme technology and bioprocess engineering. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 13, n. 2, p. 111-116, apr. 2002.

PHAFF, H. J.; STARMER, W. T. Yeast associated with plants, insects and soils. In: ROSE, A. H.; HARRINSON, J. S. **The Yeasts**. 2. ed., London: Academic Press, 1987. v.1, p. 123-180.

PORTER, C. T.; BARTLETT, G. J.; THORNTON, J. M. The Catalytic site atlas: a resource of catalytic sites and residues identified in enzymes using structural data. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 32, p. 129-133, jan. 2004. Supplement 1.

POZA, M.; DE MIGUEL, T.; SIERO, C.; VILLA, T. G. Characterization of a broad pH range protease of *Candida caseinolytica*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, n. 5, p. 916-921, nov. 2001.

PPBIO. Grade completa do Parque nacional do Viruá. Disponível: <http://--ppbio_inpa_gov_br-inventarios-nrr-sitiosrr.htm>. Acesso em: 20 dez. 2007.

PRAKASHAM, R. S.; RAO, C. S.; RAO, R. S.; SARMA, P. N. Enhancement of acid amylase production by an isolated *Aspergillus awamori*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 102, n. 1, p. 204-211, jan. 2007.

PRASAD, S.; SINGH, A.; JOSHI, H.C. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, v. 50, n. 1, p. 1-39, mar. 2007.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 4. ed. São Paulo: WCB/McGraw-Hill, 1999.

QUEROL, A.; BELLOCH, C.; FERNÁNDEZ-ESPINAR, M. T.; BARRIO, E. Molecular evolution in yeast of biotechnological interest. **International Microbiology**, Berlin, v. 6, n. 3, p. 201-205, sept. 2003.

RAMACHANDRAN, N.; PRETORIUS; OTERO, I. S.; R. R. C. Amylolytic enzymes from the yeast *Lipomyces kononenkoae*. **Biologia, Bratislava**, Amsterdam, v. 60, p.103-110, 2005. Supplement 16.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S; DESHPANDE, V. V. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 62, n. 3, p. 597-635, sept. 1998.

RAO, P.; DIVAKAR, S. Lipase catalyzed esterification of α -terpineol with various organic acids: application of the Plackett-Burman design. **Process Biochemistry**, Amsterdam, v. 36, n. 11, p. 1125-1128, may 2001.

RAY, M. K. K. DEVI, U.; KUMAR, G. S.; SHIVAJI, S. Extracellular Protease from the Antarctic Yeast *Candida humicola*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 58, n. 6, p.1918-1923, june 1992.

REIS, T. A. F. C.; DIAS, F. M. V.; FONTES, C. M. G. A; SOARES, M. C.; FERREIRA L. M. A. Avaliação do potencial biotecnológico de xilanases do *Clostridium thermocellum* e *Cellvibrio mixtus*: sua utilização na suplementação de dietas à base de trigo para frangos de carne. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 96, n. 539, p. 125-134, jul./set. 2001.

RÉVILLION, J. P.; BRANDELLI, A; AYUB, M. A. Z. Produção de extratos de leveduras de uso alimentar a partir do soro de queijo: abordagem de elementos técnicos e mercadológicos

relevantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, 2000. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S0101-20612000000200020&Ing=pt&nrm=iso. Acesso em: 15 fev. 2008.

ROBISON, D. M.; NORTCLIFF, S. Os solos da Reserva Ecológica de Maracá, Roraima: segunda aproximação. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 21, n. 4/24, p. 409-424, jan./dez. 1991.

RODRIGUES, M. L.; ALVIANO, C. S.; TRAVASSOS, L. R. Pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*: virulence factors and immunological mechanisms. **Microbes and infection**, Amsterdam, v.1, n. 4, p. 293-301, apr. 1999.

ROMANO, P.; FIORE, C.; PARAGGIO, M.; CARUSO, M.; CAPECE, A. Function of yeast species and strains in wine flavour. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 86, n. 1/2, p. 169-180, sept. 2003.

RUEGGER, M. J. S.; TAUKE-TORNISIELO, S. M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p.205-211, abr./jun. 2004.

RUIZ, C.; PASTOR, F. I. J.; DIAZ, P. Isolation of lipid-and polysaccharide-degrading micro-organisms from subtropical forest soil, and analysis of lipolytic strain *Bacillus* sp. CR-179. **Letters in Applied Microbiology**, Malden, v. 40, n. 3, p. 218-227, mar. 2005.

SATYANARAYANA, T.; NOORWEZ, S. M.; KUMAR, S.; RAO, J. L. U. M.; EZHILVANNAN, M.; KAUR, P. Development of an ideal starch saccharification process using amylolytic enzymes from thermophiles. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 32, part 2, p. 276-278, apr. 2004.

SCHMID, A.; HOLLMANN, F.; PARK J. B.; BÜHLER, B. The use of enzymes in the chemical industry in Europe. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v.13, n. 4, p. 359-366, aug. 2002.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization, and applications of lipases, research review paper. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v. 19, n. 8, p. 627-662, dec. 2001.

SILVA NEVES, K. C.; PORTO, A. L. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Seleção de leveduras da Região

Amazônica para produção de protease extracelular. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 36, n. 3, p. 299-306, jul./set. 2006.

SIMÕES, J. Pesquisa e Desenvolvimento em etanol II. Produção de etanol celulósico no País depende de investimento privado; só Dedini e Petrobrás têm plantas-piloto em operação. **Inovação Unicamp**, São Paulo, 7 dez. 2007. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/report/noticias/>>. Acesso em: 3 jan. 2008.

SINHA, R.; RADHA, C.; PRAKASH, J.; KAUL, P. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 101, n. 4, p.1484-1491, 2007.

SLIFKIN, M. Tween 80 opacity test responses of various *Candida* species. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v. 38, n. 12, p. 4626-4628, dec. 2000.

SMITH, R. E. Rapid tube test for detecting fungal cellulase production. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 33, n. 3, p. 980-981, apr. 1977.

SOLIMAN, N. A.; KNOLL, M.; ABDEL-FATTAH, Y. R.; SCHMID, R. D.; LANGE, S. Molecular cloning and characterization of thermostable esterase and lipase from *Geobacillus thermoleovorans* YN isolated from desert soil in Egypt. **Process Biochemistry**, Amsterdam, v. 42, n. 7, p.1090-1100, july 2007.

SPENCER, J. F. T.; SPENCER, A. L. de; LALUCE, C. Non-conventional yeasts **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 58, n. 2 p.147-156, jan. 2002.

STAMFORD, T. L. M.; ARAÚJO, J. M.; STAMFORD, N. P. Atividade enzimática de microrganismos isolados de jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 382-385, out./dez. 1998.

STEELE, D. B.; STOWERS, M. D. Techniques for selection of industrially important microorganisms. **Annual Reviews of Microbiology**, Palo Alto, v. 45, p. 89-106, oct. 1991.

STRAUSS, M. L. A.; JOLLY, N. P.; LAMBRECHTS, M. G.; VAN RENSBURG, P. Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-Saccharomyces wine yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, n. 1, p. 182-190, july 2001.

TEATHER, R. M.; WOOD, P. J. Use of congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 43, n. 4, p. 777-780, apr. 1982.

TEUNISSEN, M. J.; CAMP Op den, H. J. M. Anaerobic fungi and their cellulolytic and xylanolytic enzymes. **Antonie van Leeuwenhoek**, Netherlands, v. 63, n. 1, p. 63-76, jan. 1993.

THIANSILAKUL, Y.; BENJAKUL, S.; SHAHIDI, F. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 103, n. 4, p. 1385-1394, 2007.

TIAN, Y. P.; ZHANG, K. C. Purification and characterization of a novel proteinase A inhibitor from *Ganoderma lucidum* by submerged fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 36, n. 2/3, p. 357-361, feb. 2005.

VAN BEILEN, J. B.; LI, Z. Enzyme technology: an overview. **Current Opinion in Biotechnology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 338-344, aug. 2002.

VAN ELSAS, J. D.; SMALLA, K. Methods for sampling soil microbes. In: HURST, C. J. ; KNUDSEN, G. R.; MCINERNEY, M. J.; STETZENBACH, L. D. WALTER, M. V. (eds.). **Manual of Environmental Microbiology**. Washington: ASM Press, 1997. p. 5-13.

VITAL, M. J. S. **Diversidade e potencial micocinogênico de leveduras isoladas de solos amazônicos (Ilha de Maracá - RR)**. Rio de Janeiro, 2001.171f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

VITAL, M. J. S.; ABRANCHES, J.; HAGLER, A. N.; MENDONÇA-HAGLER, L. C. Mycocinogenic yeasts isolated from Amazon soils of the Maracá Ecological Station, Roraima, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 230-235, july/sept. 2002.

VITOLO, S.; PETARCA, L.; BRESCI, B. Treatment of olive oil industry wastes. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 67, n. 2, p. 129-137, feb. 1999.

WALSH, C. Enabling the chemistry of life. **Nature**. London, v. 409, n. 6839, p. 226-231, jan. 2001.

WASSWA, J.; TANG, J.; GU, X. H.; YUAN, X. Q. Influence of the extent of enzymatic

hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.104, n. 4, p. 1698-1704, 2007.

ZARZOSO, B.; MANZANARES, P.; RAMÓN, D. QUEROL, A. The role of non-Saccharomyces yeasts in industrial winemaking. **International Microbiology**, Barcelona, v. 1, n. 2, p. 143-148, june 1998.

APÊNDICES

- Apêndice A** - Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima.
- Apêndice B** - Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases.

Apêndice A – Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima.

Cepas de leveduras	Amilases				Celulases				Esterases				Proteases				Lipases		
	25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C		25°C	37°C	45°C
VR1	nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR2	nt	sc	sc		+	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		+	sc	sc
VR3	-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR4	-	-	sc		-	+	sc		-	-	sc		-	sc	sc		-	-	sc
VR5	nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR6	nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR7	nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR8	-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR9	nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR10	-	sc	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR11	nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		-	-	sc
VR12	nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		-	-	sc
VR13	-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR14	nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		-	-	sc
VR16	+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc
VR17	nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR18	-	-	sc		-	+	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR19	-	-	sc		-	sc	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR20	-	-	sc		-	sc	sc		+	-	sc		-	-	sc		+	-	sc
VR21	-	-	sc		-	+	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		+	-	sc
VR22	nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR23	-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR24	nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR26	-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
- (continuação).

VR27		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR28		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR29		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR30		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR31		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR32		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR33		nt	sc	sc		-	-	sc		+	-	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR34		nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		-	-	sc
VR35		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR36		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR37		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc
VR38		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR40		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR41		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR42		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR43		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR44		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR45		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR47		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR50		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR51		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR52		nt	sc	sc		-	-	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR53		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR54		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR55		nt	sc	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR56		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR57		nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		+	-	sc

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR58		nt	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR60		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR61		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR62		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc
VR63		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR64		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR65		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc
VR66		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR67		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR68		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR70		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR71		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR72		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR73		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR74		-	-	sc		-	+	sc		+	-	sc		-	-	sc		+	-	sc
VR75		-	-	-		-	+	-		+	+	+		-	-	-		-	+	+
VR76		-	-	sc		-	+	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR77		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR78		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR79		-	-	sc		-	+	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR80		-	-	sc		-	+	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR81		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR82		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR83		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR84		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR85		-	-	sc		-	+	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR86		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR89		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR90		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR91		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR92		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR93		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR94		-	-	SC		-	+	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
VR96		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR97		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	-	SC		-	+	SC
VR98		nt	-	SC		-	-	SC		+	-	SC		nt	-	SC		+	-	SC
VR99		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR100		nt	nt	nt		-	nt	nt		SC	nt	nt		nt	nt	nt		SC	nt	nt
VR101		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR102		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR103		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR104		SC	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		SC	SC	SC		-	SC	SC
VR105		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR106		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR107		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR109		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR111		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR112		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR113		nt	SC	SC		-	SC	SC		SC	SC	SC		nt	-	SC		SC	-	SC
VR114		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR115		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR116		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR117		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR118		nt	-	SC		-	-	SC		+	-	SC		nt	-	SC		+	-	SC
VR119		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
VR120		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR121		nt	-	SC		-	-	SC		+	-	SC		nt	-	SC		+	-	SC
VR122		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR123		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR124		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR125		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR126		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR127		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR129		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR130		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR131		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		nt	-	SC
VR132		nt	SC	SC		-	-	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR133		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR134		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR136		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR137		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR138		-	-	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR139		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR140		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR142		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR143		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR144		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR145		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR146		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR147		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR148		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR149		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR151		nt	-	SC		-	+	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR152		nt	nt	nt		-	nt	nt		sc	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR153		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR154		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR155		-	sc	sc		nt	+	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc		nt	-	sc
VR156		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR158		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR159		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR160		nt	sc	sc		-	-	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR161		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR162		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR163		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR164		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR165		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	-	sc		nt	sc	sc		+	sc	sc
VR166		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR167		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR168		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR169		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR170		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR171		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR172		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR175		nt	sc	sc		-	-	sc		+	-	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR176		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc
VR177		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR178		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR179		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	+	sc
VR180		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR181		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR182		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR183		-	-	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR184		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR185		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR186		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR187		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR188		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR189		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR190		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR191		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR192		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR193		-	SC	SC		-	-	SC		-	SC	SC		-	-	SC		-	SC	SC
VR194		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR195		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR196		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR197		nt	-	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		+	-	SC
VR198		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR200		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR202		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR203		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR204		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR208		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR209		nt	nt	nt		-	nt	nt		SC	nt	nt		nt	nt	nt		SC	nt	nt
VR210		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
VR211		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR213		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR214		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR215		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR216		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR217		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR218		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR220		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR221		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR222		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR223		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR224		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR225		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR226		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	-	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR227		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	-	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR228		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR229		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR231		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR232		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR233		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR236		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR237		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR238		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR239		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR240		+	-	SC		-	+	SC		+	+	SC		-	+	SC		+	+	SC
VR241		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR242		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	+	SC		-	-	SC
VR243		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR245		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR246		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR247	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC
VR248	nt	SC	SC	-	-	SC	+	SC	SC	nt	-	SC	-	SC	SC
VR249	nt	-	SC	-	-	SC	+	SC	SC	nt	-	SC	-	SC	SC
VR250	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	+	nt	nt
VR252	nt	SC	SC	-	+	SC	+	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR253	nt	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	nt	-	SC	-	-	SC
VR254	nt	SC	SC	-	-	SC	-	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR255	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR256	nt	-	SC	-	SC	SC	-	-	SC	nt	-	SC	-	SC	SC
VR257	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR258	nt	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR259	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR260	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR261	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR262	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR263	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR264	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC
VR265	-	-	SC	-	+	SC	+	+	SC	-	-	SC	-	+	SC
VR266	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR267	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR269	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR270	-	-	SC	-	+	SC	-	SC	SC	-	-	SC	-	-	SC
VR271	-	-	SC	-	+	SC	-	-	SC	-	+	SC	-	-	SC
VR272	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR273	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR274	nt	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR275	nt	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR276	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR277		-	-	SC		-	+	SC		+	-	SC		-	-	SC		+	+	SC
VR278		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR280		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR282		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR283		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR286		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR287		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR288		nt	nt	nt		SC	nt	nt		SC	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR289		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR290		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	-	SC
VR292		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR293		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR294		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR296		-	-	SC		-	-	SC		-	SC	SC		-	-	SC		-	-	SC
VR297		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR298		-	-	SC		-	-	SC		-	+	SC		+	-	SC		-	+	SC
VR299		-	-	SC		-	-	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	-	SC
VR300		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR301		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR302		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR303		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR304		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR305		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR306		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR307		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR308		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
VR309		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR310		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR311		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR312		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR313		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR314		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR315		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR317		nt	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR318		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR319		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR320		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR321		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR322		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR323		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR324		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR325		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR329		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR330		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR331		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR332		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR333		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		+	sc	sc
VR334		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR335		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR336		-	-	sc		-	-	sc		+	+	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR337		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR338		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR339		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR340		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR342		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR343		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc
VR344		nt	nt	nt		+	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR345		-	-	sc		-	-	sc		+	sc	sc		-	-	sc		-	+	sc
VR346		-	sc	sc		-	+	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	+	sc
VR347		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR348		-	-	sc		-	-	sc		+	+	sc		-	-	sc		+	+	sc
VR349		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc
VR350		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR351		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR352		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR353		-	sc	sc		sc	sc	sc		sc	-	sc		-	sc	sc		sc	sc	sc
VR354		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR355		nt	sc	sc		-	-	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR356		nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		-	-	sc
VR357		+	-	sc		-	-	sc		-	+	sc		-	sc	sc		-	+	sc
VR358		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR359		nt	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR360		-	sc	sc		-	-	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	-	sc
VR361		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR362		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR363		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR364		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR365		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR366		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR367		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc
VR369		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR370		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR371		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR372		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR373		-	-	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR374		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR375		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR376		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc
VR377		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR378		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR379		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR380		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc
VR381		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR382		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR383		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR384		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR385		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR386		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR387		nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		-	-	sc
VR388		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR389		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR390		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR391		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR392		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR393		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	+	Sc
VR394		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR395		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR396		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR397		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR398		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR399		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR400		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR402		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR403		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR404		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR405		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR406		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR407		+	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc
VR408		-	sc	sc		-	-	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		+	+	sc
VR409		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR410		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR411		-	-	sc		-	+	sc		+	+	sc		-	-	sc		-	+	sc
VR412		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR413		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR414		nt	-	sc		-	+	sc		+	+	sc		nt	-	sc		+	+	sc
VR415		nt	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		+	sc	sc
VR416		nt	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		nt	sc	sc		+	sc	sc
VR417		nt	-	sc		-	+	sc		+	+	sc		nt	-	sc		-	+	sc
VR418		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR419		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc		-	-	sc		+	sc	sc
VR420		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc
VR421		-	-	sc		-	+	sc		+	+	sc		-	-	sc		-	+	sc
VR422		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
VR423		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR424		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc
VR425		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		+	sc	sc

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR426	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	-	SC
VR427	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR428	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR429	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR430	+	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC
VR431	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC
VR432	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC
VR433	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	+	nt	nt
VR434	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR435	+	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	-	SC	SC
VR436	-	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR437	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR438	-	SC	SC	-	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	-	SC
VR439	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR440	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR441	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR442	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	+	nt	nt
VR443	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR444	nt	nt	nt	-	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR445	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR446	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR447	-	SC	SC	-	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR449	-	-	SC	-	+	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
VR450	nt	-	SC	-	-	SC	nt	SC	SC	nt	-	SC	-	-	SC
VR451	nt	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	nt	-	SC	-	-	SC
VR452	nt	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR453	-	-	SC	-	+	SC	+	+	SC	+	-	SC	+	+	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR454		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	+	SC
VR456		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR457		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR458		-	-	SC		-	+	SC		+	-	SC		-	-	SC		+	-	SC
VR459		nt	SC	SC		-	-	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		+	SC	SC
VR460		nt	SC	SC		+	-	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		+	SC	SC
VR461		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR463		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR464		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC
VR465		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR466		-	-	SC		+	+	SC		+	+	SC		-	SC	SC		+	+	SC
VR467		-	-	SC		+	+	SC		+	+	SC		-	SC	SC		+	+	SC
VR468		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR469		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR470		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR471		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR472		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR473		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR474		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC
VR475		+	-	SC		-	+	SC		+	+	SC		+	-	SC		-	+	SC
VR476		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR477		-	-	SC		-	-	SC		+	+	SC		-	-	SC		+	+	SC
VR478		-	-	SC		-	-	SC		+	+	SC		-	-	SC		+	+	SC
VR479		-	-	SC		-	-	SC		+	+	SC		-	-	SC		+	+	SC
VR480		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR481		-	SC	SC		-	+	SC		-	+	SC		-	SC	SC		-	+	SC
VR482		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR483		-	SC	SC		-	+	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR484		+	-	SC		-	+	SC		+	+	SC		+	-	SC		+	+	SC
VR485		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR486		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR487		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR488		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR489		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR490		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR491		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR492		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR493		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR494		+	SC	SC		-	-	SC		-	+	SC		+	SC	SC		-	SC	SC
VR495		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR496		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		+	+	SC
VR497		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR498		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		+	SC	SC
VR499		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR500		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR501		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR502		nt	-	SC		-	+	SC		+	+	SC		nt	-	SC		-	+	SC
VR503		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR504		nt	-	SC		-	+	SC		+	+	SC		nt	-	SC		+	+	SC
VR505		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR506		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR507		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR508		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		+	SC	SC
VR510		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC
VR511		-	SC	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	SC	SC		+	SC	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

VR512		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR513		-	SC	SC		-	-	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR514		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
VR515		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR517		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR518		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
VR519		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
RR1		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR3		-	SC	SC		-	SC	SC		+	-	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
RR4		nt	nt	nt		-	nt	nt		+	nt	nt		nt	nt	nt		+	nt	nt
RR6		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR10		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR12		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR13		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR15		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	-	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR16		-	-	SC		-	-	-		+	+	-		-	-	SC		+	-	-
RR19		-	-	SC		-	-	SC		+	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR20		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR21		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR22		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR23		-	-	-		-	-	-		-	-	-		-	+	-		+	-	-
RR24		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	+		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR25		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
RR26		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR27		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR28		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

RR30	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR38	nt	-	SC	-	-	SC	+	-	SC	nt	-	SC	-	-	SC
RR40	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR44	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR46	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR47	nt	-	SC	-	-	SC	-	SC	SC	nt	-	SC	-	-	SC
RR48	-	-	SC	-	-	SC	+	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR49	-	SC	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
RR50	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR51	nt	SC	SC	-	-	SC	+	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
RR52	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
RR53	nt	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
RR54	-	SC	SC	-	SC	SC	-	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
RR55	-	-	SC	-	-	SC	+	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR56	-	SC	SC	-	SC	SC	+	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
RR57	-	SC	SC	-	-	SC	+	-	SC	-	-	SC	-	SC	SC
RR61	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR62	-	-	SC	-	-	SC	+	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR64	nt	-	-	-	-	nt	-	-	-	nt	-	-	+	+	+
RR66	-	-	+	-	-	SC	-	-	SC	-	-	+	-	+	SC
RR69	-	-	SC	-	-	+	+	-	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR70	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	+	nt	nt
RR71	-	-	SC	-	-	SC	+	+	SC	-	-	SC	-	-	SC
RR74	-	SC	SC	-	SC	SC	-	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
RR76	-	SC	SC	-	SC	SC	+	-	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
RR77	nt	SC	SC	-	SC	SC	+	-	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
RR80	nt	SC	SC	-	SC	SC	+	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

RR81		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
RR84		-	-	SC		-	-	SC		-	-	-		-	-	SC		-	-	SC
RR87		-	SC	SC		-	SC	SC		-	-	-		-	SC	SC		-	SC	SC
RR88		-	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
RR90		nt	SC	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR100		nt	SC	SC		-	-	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR103		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
RR105		nt	SC	SC		-	-	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR108		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR110		nt	SC	SC		-	-	SC		+	SC	SC		nt	-	SC		-	SC	SC
RR111		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR114		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR116		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR117		-	-	SC		-	-	SC		+	+	SC		-	-	SC		+	-	SC
RR118		nt	-	SC		-	-	SC		+	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR120		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR132		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR137		nt	SC	SC		-	SC	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR142		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR144		nt	SC	SC		-	-	SC		+	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR146		nt	-	SC		-	-	SC		+	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR148		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR159		-	SC	SC		-	-	SC		+	-	SC		-	SC	SC		-	SC	SC
RR170		nt	-	SC		-	-	-		+	+	SC		nt	-	SC		+	-	SC
RR174		-	+	+		-	-	+		-	-	-		-	-	-		-	-	-
RR179		nt	SC	SC		-	SC	SC		-	SC	SC		nt	SC	SC		-	SC	SC
RR183		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC

Perfil de atividade enzimática de leveduras isoladas da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima
– (continuação).

RR200		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR206		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR217		nt	-	SC		-	-	SC		+	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR222		-	SC	SC		-	-	SC		+	-	-		-	SC	SC		-	SC	SC
RR229		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR230		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR233		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR240		-	+	+		-	-	+		-	-	-		-	-	+		-	-	SC
RR244		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR262		nt	-	SC		-	-	-		+	+	+		nt	-	SC		+	-	SC
RR267		nt	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		nt	-	SC		-	-	SC
RR269		nt	-	SC		-	-	SC		+	+	SC		nt	-	SC		+	-	SC
RR270		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR276		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC
RR278		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC		-	-	SC

(+): atividade enzimática positiva, (-): atividade enzimática negativa, (sc): sem crescimento, (nt): não testada.

Apêndice B - Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases.

Cepas de leveduras	Amilases			Celulasas			Esterases			Proteases			Lipases		
	25°C	37°C	45°C	25°C	37°C	45°C	25°C	37°C	45°C	25°C	37°C	45°C	25°C	37°C	45°C
VR2	nt	sc	sc	1,08	sc	sc	1,92	sc	sc	nt	sc	sc	1	sc	sc
VR3	-	sc	sc	-	sc	sc	2,8	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR4	-	-	sc	-	1	sc	-	-	sc	-	sc	sc	-	-	sc
VR5	nt	sc	sc	-	sc	sc	1,71	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR6	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,52	nt	nt	nt	nt	nt	1,14	nt	nt
VR9	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,53	nt	nt	nt	nt	nt	0,68	nt	nt
VR13	-	sc	sc	-	sc	sc	2,6	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR16	2,2	sc	sc	-	sc	sc	3,08	sc	sc	3,09	sc	sc	-	sc	sc
VR18	-	-	sc	-	1	sc	-	-	sc	-	-	sc	-	-	sc
VR20	-	-	sc	-	sc	sc	1,71	-	sc	-	-	sc	1,04	-	sc
VR21	-	-	sc	-	1,28	sc	1,31	sc	sc	-	sc	sc	0,73	-	sc
VR23	-	sc	sc	-	sc	sc	3	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR24	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,59	nt	nt	nt	nt	nt	0,65	nt	nt
VR26	-	sc	sc	-	sc	sc	3,45	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR27	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,05	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR30	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,73	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR31	nt	nt	nt	-	nt	nt	2	nt	nt	nt	nt	nt	1,23	nt	nt
VR32	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,54	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR33	nt	sc	sc	-	-	sc	1,6	-	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR35	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,92	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR36	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,3	nt	nt	nt	nt	nt	4,5	nt	nt
VR37	-	sc	sc	-	sc	sc	1,7	sc	sc	-	sc	sc	0,87	sc	sc
VR40	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,24	nt	nt	nt	nt	nt	1,18	nt	nt
VR42	nt	nt	nt	-	nt	nt	5,25	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR43		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,75	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR44		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,89	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR45		nt	nt	nt		-	nt	nt		5,2	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR47		-	sc	sc		-	sc	sc		4,5	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR51		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,26	nt	nt		nt	nt	nt		1,06	nt	nt
VR56		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,21	nt	nt		nt	nt	nt		1,29	nt	nt
VR57		nt	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		nt	-	sc		0,59	-	sc
VR58		nt	sc	sc		1,14	sc	sc		-	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR61		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,38	nt	nt		nt	nt	nt		1,07	nt	nt
VR62		-	sc	sc		-	sc	sc		1,7	sc	sc		-	sc	sc		1,07	sc	sc
VR63		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,57	nt	nt		nt	nt	nt		1,12	nt	nt
VR65		-	sc	sc		-	sc	sc		1,38	sc	sc		-	sc	sc		1,32	sc	sc
VR66		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,27	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR67		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,27	nt	nt		nt	nt	nt		1,18	nt	nt
VR68		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,25	nt	nt		nt	nt	nt		1,14	nt	nt
VR70		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,48	nt	nt		nt	nt	nt		1,12	nt	nt
VR72		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,46	nt	nt		nt	nt	nt		1,13	nt	nt
VR74		-	-	sc		-	1,25	sc		1,3	-	sc		-	-	sc		1,2	-	sc
VR75		-	-	-		-	1,84	-		3,2	1,29	2,12		-	-	-		-	1,16	1
VR76		-	-	sc		-	1,12	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR77		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,64	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR78		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,73	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR79		-	-	sc		-	1,12	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR80		-	-	sc		-	1	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR81		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,2	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR82		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,3	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR83		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,42	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR84		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,38	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR85		-	-	sc		-	1,2	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR89		nt	nt	nt		-	nt	nt		5,4	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR90		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,68	nt	nt		nt	nt	nt		1,15	nt	nt
VR94		-	-	sc		-	1,37	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR96		-	sc	sc		-	sc	sc		1,6	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR97		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	-	sc		-	1,1	sc
VR98		nt	-	sc		-	-	sc		1,6	-	sc		nt	-	sc		1,4	-	sc
VR101		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,78	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR103		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,5	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR111		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,17	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR112		-	sc	sc		-	sc	sc		2,9	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR114		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,3	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR116		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,7	nt	nt		nt	nt	nt		1,08	nt	nt
VR117		nt	nt	nt		-	nt	nt		4	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR118		nt	-	sc		-	-	sc		1,4	-	sc		nt	-	sc		1,18	-	sc
VR121		nt	-	sc		-	-	sc		1,9	-	sc		nt	-	sc		0,73	-	sc
VR123		-	sc	sc		-	sc	sc		2,62	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR125		-	sc	sc		-	sc	sc		1,54	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR129		-	sc	sc		-	sc	sc		1,4	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR132		nt	sc	sc		-	-	sc		2,64	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR134		nt	nt	nt		-	nt	nt		4	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR137		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,54	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR139		nt	nt	nt		-	nt	nt		2	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR140		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,8	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR143		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,64	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR144		nt	sc	sc		-	sc	sc		1,85	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR146	-	sc	sc	-	sc	sc	1,37	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR147	nt	sc	sc	-	sc	sc	2	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR148	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,4	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR151	nt	-	sc	-	1,45	sc	-	-	sc	nt	-	sc	-	-	sc
VR154	nt	sc	sc	-	sc	sc	4,17	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR155	-	sc	sc	nt	0,56	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc	nt	-	sc
VR156	nt	nt	nt	1	nt	nt	2,1	nt	nt	nt	nt	nt	2	nt	nt
VR159	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,73	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR162	nt	nt	nt	1,4	nt	nt	3,27	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR163	nt	nt	nt	4,62	nt	nt	1,36	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR164	nt	sc	sc	-	sc	sc	1,5	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR165	nt	sc	sc	-	sc	sc	2,67	-	sc	nt	sc	sc	1,31	sc	sc
VR166	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,67	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR170	-	sc	sc	-	sc	sc	1,64	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR172	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,2	nt	nt	nt	nt	nt	2,8	nt	nt
VR175	nt	sc	sc	-	-	sc	2,18	-	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR176	-	sc	sc	-	sc	sc	3,78	sc	sc	-	sc	sc	1	sc	sc
VR177	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,8	nt	nt	nt	nt	nt	1,09	nt	nt
VR178	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,5	nt	nt	nt	nt	nt	1,45	nt	nt
VR179	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	1,91	sc
VR180	nt	nt	nt	1,5	nt	nt	1,9	nt	nt	nt	nt	nt	1,38	nt	nt
VR181	-	sc	sc	-	sc	sc	1,67	sc	sc	-	sc	sc	2,3	sc	sc
VR182	nt	sc	sc	-	sc	sc	1,7	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR183	-	-	sc	1,56	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR190	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,59	nt	nt	nt	nt	nt	1,2	nt	nt
VR194	nt	nt	nt	1,38	nt	nt	1,52	nt	nt	nt	nt	nt	1,54	nt	nt
VR195	nt	nt	nt	1	nt	nt	1,67	nt	nt	nt	nt	nt	1,44	nt	nt

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR197		nt	-	sc		-	sc	sc		1,5	sc	sc		nt	sc	sc		1,2	-	sc
VR198		nt	nt	nt		-	nt	nt		4,2	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR200		nt	nt	nt		4,25	nt	nt		4	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR202		nt	nt	nt		-	nt	nt		4,25	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR203		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,75	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR204		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,47	nt	nt		nt	nt	nt		0,92	nt	nt
VR214		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,67	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR215		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,25	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR216		nt	nt	nt		-	nt	nt		2	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR217		nt	nt	nt		-	nt	nt		-	nt	nt		nt	nt	nt		1,05	nt	nt
VR221		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,38	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR222		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,89	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR224		-	sc	sc		-	sc	sc		3,6	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR225		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,78	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR226		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,88	-	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR227		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,62	-	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR228		nt	sc	sc		-	sc	sc		3,73	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR229		-	sc	sc		-	sc	sc		2,62	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR231		nt	nt	nt		-	nt	nt		4	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR232		-	sc	sc		-	sc	sc		1,46	sc	sc		-	sc	sc		1	sc	sc
VR233		-	sc	sc		-	sc	sc		3,08	sc	sc		-	sc	sc		1	sc	sc
VR236		-	sc	sc		-	sc	sc		2,57	sc	sc		-	sc	sc		1	sc	sc
VR237		-	sc	sc		-	sc	sc		2,62	sc	sc		-	sc	sc		1	sc	sc
VR238		-	sc	sc		-	sc	sc		2,78	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR239		-	sc	sc		-	sc	sc		2,73	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR240		1,31	-	sc		-	1,44	sc		0,76	1,85	sc		-	1,51	sc		1	0,87	sc
VR242		-	-	sc		-	-	sc		-	-	sc		-	2,43	sc		-	-	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR243		nt	sc	sc		-	sc	sc		1,78	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR245		-	sc	sc		-	sc	sc		2,67	sc	sc		-	sc	sc		1	sc	sc
VR247		-	sc	sc		-	sc	sc		3,42	sc	sc		-	sc	sc		1	sc	sc
VR248		nt	sc	sc		-	-	sc		1	sc	sc		nt	-	sc		-	sc	sc
VR249		nt	-	sc		-	-	sc		1	sc	sc		nt	-	sc		-	sc	sc
VR250		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,48	nt	nt		nt	nt	nt		1,17	nt	nt
VR252		nt	sc	sc		-	1,5	sc		2,86	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR255		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,6	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR257		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,2	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR258		nt	sc	sc		-	sc	sc		3,9	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR259		-	sc	sc		-	sc	sc		3,3	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR260		-	sc	sc		-	sc	sc		2,7	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR261		-	sc	sc		-	sc	sc		2,5	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR262		-	sc	sc		-	sc	sc		3,56	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR263		-	sc	sc		-	sc	sc		2,12	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR264		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		1,21	sc	sc
VR265		-	-	sc		-	1,64	sc		1,77	1,62	sc		-	-	sc		-	1,04	sc
VR266		-	sc	sc		-	sc	sc		3,1	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR267		nt	nt	nt		-	nt	nt		2,89	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR270		-	-	sc		-	0,93	sc		-	sc	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR271		-	-	sc		-	1,45	sc		-	-	sc		-	2,23	sc		-	-	sc
VR277		-	-	sc		-	1,28	sc		1,31	-	sc		-	-	sc		0,5	0,54	sc
VR278		nt	sc	sc		-	sc	sc		2,23	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR280		nt	sc	sc		-	sc	sc		3,82	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR282		nt	sc	sc		-	sc	sc		2,83	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR287		nt	sc	sc		-	sc	sc		2,62	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR289		-	sc	sc		1,33	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR294		-	sc	sc		-	sc	sc		4,1	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR298		-	-	sc		-	-	sc		-	3,17	sc		1,91	-	sc		-	2,42	sc
VR301		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,9	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR303		-	sc	sc		-	sc	sc		3,36	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR305		-	sc	sc		-	sc	sc		1,44	sc	sc		-	sc	sc		1,23	sc	sc
VR306		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,25	nt	nt		nt	nt	nt		1,17	nt	nt
VR309		-	sc	sc		-	sc	sc		0,8	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR310		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,83	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR311		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,32	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR319		-	sc	sc		-	sc	sc		1	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR322		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,75	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR323		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,56	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR324		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,55	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR325		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,4	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR329		nt	sc	sc		-	sc	sc		3,91	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR330		nt	sc	sc		-	sc	sc		2,93	sc	sc		nt	sc	sc		-	sc	sc
VR331		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,25	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR332		nt	nt	nt		-	nt	nt		0,8	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR333		nt	sc	sc		-	sc	sc		4,7	sc	sc		nt	sc	sc		1	sc	sc
VR335		nt	nt	nt		-	nt	nt		3,17	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR336		-	-	sc		-	-	sc		1,85	4,51	sc		-	-	sc		-	-	sc
VR337		nt	nt	nt		-	nt	nt		1,88	nt	nt		nt	nt	nt		1,85	nt	nt
VR338		-	sc	sc		-	sc	sc		3,85	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR340		-	sc	sc		-	sc	sc		0,86	sc	sc		-	sc	sc		-	sc	sc
VR343		2,62	sc	sc		-	sc	sc		2	sc	sc		2,71	sc	sc		-	sc	sc
VR344		nt	nt	nt		2,18	nt	nt		3,3	nt	nt		nt	nt	nt		-	nt	nt
VR345		-	-	sc		-	-	sc		2,5	sc	sc		-	-	sc		-	1,26	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR346	-	sc	sc	-	0,62	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	2,23	sc
VR348	-	-	sc	-	-	sc	4,17	2,89	sc	-	-	sc	1,69	2,4	sc
VR349	-	sc	sc	-	sc	sc	1,4	sc	sc	2,16	sc	sc	-	sc	sc
VR351	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,62	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR355	nt	sc	sc	-	-	sc	2,62	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR357	1,31	-	sc	-	-	sc	-	3,17	sc	-	sc	sc	-	2,08	sc
VR363	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,8	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR364	-	sc	sc	-	sc	sc	3,18	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR365	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,18	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR367	2,9	sc	sc	-	sc	sc	3,64	sc	sc	3,14	sc	sc	-	sc	sc
VR369	-	sc	sc	-	sc	sc	4,67	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR370	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,4	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR372	-	sc	sc	-	sc	sc	4,09	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR373	-	-	sc	-	sc	sc	3,23	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR374	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,56	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR375	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,55	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR376	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1	sc	sc
VR377	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,91	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR378	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,7	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR379	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,31	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR380	2,39	sc	sc	-	sc	sc	3	sc	sc	2,94	sc	sc	-	sc	sc
VR385	nt	sc	sc	-	sc	sc	2,9	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR386	nt	sc	sc	-	sc	sc	3,4	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR388	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,62	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR389	-	sc	sc	-	sc	sc	3,67	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR390	-	sc	sc	-	sc	sc	3,88	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR391	-	sc	sc	-	sc	sc	4,1	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR392	-	SC	SC	-	SC	SC	4,11	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR393	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	2,18	SC
VR394	-	SC	SC	-	SC	SC	4,67	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR395	-	SC	SC	-	SC	SC	3,27	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR396	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,21	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR397	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,91	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR398	nt	SC	SC	-	SC	SC	0,91	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR399	nt	SC	SC	-	SC	SC	3	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR400	-	SC	SC	-	SC	SC	2,58	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR403	-	SC	SC	-	SC	SC	3,8	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR404	-	SC	SC	-	SC	SC	2,43	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR405	-	SC	SC	-	SC	SC	3,69	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR406	nt	SC	SC	-	SC	SC	3,18	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR407	3,4	SC	SC	-	SC	SC	3,33	SC	SC	3,21	SC	SC	-	SC	SC
VR408	-	SC	SC	-	-	SC	2,17	SC	SC	-	SC	SC	1,22	2,94	SC
VR410	nt	nt	nt	-	nt	nt	4	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR411	-	-	SC	-	1,41	SC	2,91	1,77	SC	-	-	SC	-	1,09	SC
VR412	-	SC	SC	-	SC	SC	3,77	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC
VR413	nt	SC	SC	-	SC	SC	3	SC	SC	nt	SC	SC	-	SC	SC
VR414	nt	-	SC	-	1,28	SC	0,49	1,51	SC	nt	-	SC	1,06	0,92	SC
VR415	nt	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	nt	SC	SC	1,06	SC	SC
VR416	nt	SC	SC	-	SC	SC	0,72	SC	SC	nt	SC	SC	1,07	SC	SC
VR417	nt	-	SC	-	1,2	SC	1,38	1,88	SC	nt	-	SC	-	1,1	SC
VR419	-	SC	SC	-	SC	SC	0,89	SC	SC	-	-	SC	1,04	SC	SC
VR420	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	-	SC	SC	1,04	SC	SC
VR421	-	-	SC	-	1,53	SC	1,43	2,03	SC	-	-	SC	-	1,05	SC
VR422	nt	nt	nt	-	nt	nt	-	nt	nt	nt	nt	nt	1,28	nt	nt

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR424	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1,32	sc	sc
VR425	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1,11	sc	sc
VR427	nt	nt	nt	-	nt	nt	5,1	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR428	-	sc	sc	-	sc	sc	2,45	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR430	2,45	sc	sc	-	sc	sc	1,75	sc	sc	3,18	sc	sc	-	sc	sc
VR431	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1	sc	sc
VR432	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1,02	sc	sc
VR433	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,56	nt	nt	nt	nt	nt	1,25	nt	nt
VR434	-	sc	sc	-	sc	sc	1,21	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR435	1,58	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1,58	sc	sc	-	sc	sc
VR439	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,18	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR440	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,67	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR441	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,67	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR442	nt	nt	nt	-	nt	nt	0,97	nt	nt	nt	nt	nt	1	nt	nt
VR443	nt	nt	nt	-	nt	nt	1	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR444	nt	nt	nt	-	nt	nt	0,83	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR449	-	-	sc	-	1,03	sc	-	-	sc	-	-	sc	-	-	sc
VR453	-	-	sc	-	1,95	sc	1,3	2,69	sc	1,95	-	sc	1	1,78	sc
VR454	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	2	sc
VR458	-	-	sc	-	1,15	sc	1,37	-	sc	-	-	sc	1,1	-	sc
VR459	nt	sc	sc	-	-	sc	1,12	sc	sc	nt	sc	sc	1	sc	sc
VR460	nt	sc	sc	1	-	sc	1,73	sc	sc	nt	sc	sc	1,7	sc	sc
VR461	-	sc	sc	-	sc	sc	4	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR463	-	sc	sc	-	sc	sc	1,31	sc	sc	-	sc	sc	1,04	sc	sc
VR464	2,86	sc	sc	-	sc	sc	3,9	sc	sc	2,77	sc	sc	-	sc	sc
VR465	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,75	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR466	-	-	sc	1,03	1,3	sc	0,82	1,85	sc	-	sc	sc	1,26	1,74	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR467	-	-	sc	1,14	1,19	sc	0,86	2,08	sc	-	sc	sc	0,68	1,71	sc
VR468	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,91	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR470	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,5	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR471	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,67	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR472	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,78	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR473	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,09	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR474	2,74	sc	sc	-	sc	sc	4,38	sc	sc	2,86	sc	sc	-	sc	sc
VR475	1,61	-	sc	-	1,79	sc	3,36	3,04	sc	2,15	-	sc	-	2,64	sc
VR476	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,83	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR477	-	-	sc	-	-	sc	1,16	2,5	sc	-	-	sc	1	2,03	sc
VR478	-	-	sc	-	-	sc	1,17	2,5	sc	-	-	sc	1	2,15	sc
VR479	-	-	sc	-	-	sc	1,15	2,61	sc	-	-	sc	1	2,12	sc
VR480	nt	nt	nt	-	nt	nt	1	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR481	-	sc	sc	-	2,5	sc	-	1	sc	-	sc	sc	-	3	sc
VR483	-	sc	sc	-	2,55	sc	1,28	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR484	1,48	-	sc	-	2,17	sc	1,1	2,75	sc	2,14	-	sc	0,53	1,62	sc
VR485	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,46	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR486	nt	nt	nt	-	nt	nt	3	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR487	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,18	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR488	nt	nt	nt	-	nt	nt	3,78	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR489	nt	nt	nt	-	nt	nt	2,82	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR490	-	sc	sc	-	sc	sc	0,96	sc	sc	-	sc	sc	1,06	sc	sc
VR491	-	sc	sc	-	sc	sc	0,87	sc	sc	-	sc	sc	1	sc	sc
VR492	-	sc	sc	-	sc	sc	0,88	sc	sc	-	sc	sc	1	sc	sc
VR493	-	sc	sc	-	sc	sc	0,9	sc	sc	-	sc	sc	1	sc	sc
VR494	0,98	sc	sc	-	-	sc	-	1,31	sc	1,73	sc	sc	-	sc	sc
VR495	-	sc	sc	-	sc	sc	1,18	sc	sc	-	sc	sc	1,36	sc	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

VR496	-	sc	sc	-	sc	sc	0,83	sc	sc	-	sc	sc	1	1,13	sc
VR497	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1,05	sc	sc
VR498	nt	sc	sc	-	sc	sc	0,84	sc	sc	nt	sc	sc	1,07	sc	sc
VR500	nt	nt	nt	-	nt	nt	4,1	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
VR501	nt	sc	sc	-	sc	sc	2,54	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR502	nt	-	sc	-	1,24	sc	2,64	1,38	sc	nt	-	sc	-	1	sc
VR504	nt	-	sc	-	1,16	sc	1,29	1,7	sc	nt	-	sc	1,06	1	sc
VR505	nt	sc	sc	-	sc	sc	4,12	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR506	nt	sc	sc	-	sc	sc	2,38	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR507	-	sc	sc	-	sc	sc	1,27	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR508	nt	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	nt	sc	sc	1	sc	sc
VR510	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc	1	sc	sc
VR511	-	sc	sc	-	-	sc	-	-	sc	-	sc	sc	1,03	sc	sc
VR512	-	sc	sc	-	sc	sc	1,26	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR513	-	sc	sc	-	-	sc	2,46	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
VR517	nt	sc	sc	-	sc	sc	2	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR518	nt	sc	sc	-	sc	sc	2,8	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
VR519	nt	nt	nt	-	nt	nt	1,92	nt	nt	nt	nt	nt	-	nt	nt
RR3	-	sc	sc	-	sc	sc	1	-	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
RR4	nt	nt	nt	-	nt	nt	0,61	nt	nt	nt	nt	nt	1,02	nt	nt
RR16	-	-	sc	-	-	-	1	1	-	-	-	sc	1	-	-
RR19	-	-	sc	-	-	sc	2,73	-	sc	-	-	sc	-	-	sc
RR20	nt	sc	sc	-	sc	sc	1,83	sc	sc	nt	sc	sc	-	sc	sc
RR23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-
RR24	nt	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	0,59	nt	sc	sc	-	sc	sc
RR28	-	sc	sc	-	sc	sc	1,73	sc	sc	-	sc	sc	-	sc	sc
RR38	nt	-	sc	-	-	sc	0,88	-	sc	nt	-	sc	-	-	sc

Índices enzimáticos médios (ie) exibidos pelas leveduras isoladas de solos da Estação Ecológica de Maracá e do Parque Nacional do Viruá, Roraima, na produção de amilases, celulasas, esterases, proteases e lipases – (continuação)

RR217		nt	-	sc		-	-	sc		1,92	-	sc		nt	-	sc		-	-	sc
RR222		-	sc	sc		-	-	sc		1	-	-		-	sc	sc		-	-	sc
RR240		-	0,84	1		-	-	1		-	-	-		-	-	1,37		-	-	sc
RR262		nt	-	sc		-	-	-		1	1	1		nt	-	sc		1	-	sc
RR269		nt	-	sc		-	-	sc		1,06	1	sc		nt	-	sc		1	-	sc

(-), (sc), (nt) indicam, respectivamente, que: a cepa não exibiu a atividade enzimática, não apresentou crescimento ou não foi testada para a atividade específica.

Os índices enzimáticos médios (ie) expressam a razão entre o diâmetro médio do halo de atividade e o da colônia correspondente.

