

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO  
AMBIENTE

**BIODIVERSIDADE E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS E  
FUNGOS LEVEDURIFORMES ASSOCIADOS AO FILOPLANO DE  
BROMÉLIAS DO PARQUE DE ITAPUÃ-VIAMÃO/RS.**

Melissa Fontes Landell  
Bióloga – ULBRA

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em  
Microbiologia Agrícola e do Ambiente

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil  
março, 2006

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Patrícia Valente, pela confiança e pelo apoio, transmitindo-me a força necessária para seguir em frente, orientando-me na busca do conhecimento e do sucesso.

Ao colega de laboratório e amigo Alexandre Fuentefria, pela ajuda no desenvolvimento da dissertação e acima de tudo pela sua amizade.

Aos colegas Inélia Franskoviaki, Juliana Mautone, Luisa Mercado, Marcelo Sebolt, Rodolfo Ribas, Márcia Toniolo e aos demais colegas de laboratório e de mestrado por toda e qualquer ajuda e apoio direto ou indireto que tenham me dado e que junto comigo sorriram, sofreram e tiveram sempre nos lábios uma palavra de coragem.

Ao colega do Departamento de Botânica Emerson Luis Musskopf pelo auxílio na identificação das espécies de bromélias.

À minha família pelo apoio incondicional e constante e principalmente ao meu querido pai, que sempre me apoiou e que me incentivou mesmo às custas de ausências e sacrifícios, obrigado pela compreensão, pelo carinho e companheirismo.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

# BIODIVERSIDADE E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS E FUNGOS LEVEDURIFORMES ASSOCIADOS AO FILOPLANO DE BROMÉLIAS DO PARQUE DE ITAPUÃ-VIAMÃO/RS.

Autor: Melissa Fontes Landell

Orientador: Prof. Dr. Patrícia Valente

## <sup>1</sup>RESUMO

As bromélias abrigam uma grande diversidade de organismos. O objetivo do presente trabalho foi analisar a biodiversidade de leveduras e fungos leveduriformes presentes no filoplano de bromélias e avaliar seu potencial biotecnológico. Foram coletadas 50 amostras de folhas de bromélias no Parque Estadual de Itapuã/RS (Praia da Pedreira e Praia de Fora). Fragmentos das folhas foram submetidos a lavagens sucessivas com 0,5% Tween 20. Diluições decimais seriadas da última lavagem, amostras de água dos tanques de bromélias e de flores foram inoculadas em meio YM modificado e incubadas a 25°C por 5-7 dias. Representantes dos diferentes morfotipos foram purificados e identificados pela metodologia convencional. A análise da biodiversidade foi realizada através do índice de Shannon-Weaver. Dos 191 isolados obtidos, 182 foram identificados, sendo 11% leveduras de afinidade ascomicética, 67,6% de afinidade basidiomicética, 19,8% de fungos leveduriformes e 1,6% de algas. Doze isolados de leveduras tiveram as regiões ITS e D1/D2 do 26SrDNA sequenciadas e pertencem a uma espécie ainda não descrita do gênero *Rhodotorula*. A diversidade e a riqueza de leveduras foram maiores na Praia da Pedreira (H=3,225 e S=34) que na Praia de Fora (H=2,820 e S=26). Cento e noventa e um isolados tiveram sua capacidade para produzir enzimas testada. Desses, 40,2% foram positivos para amilase, 49,2% para caseinase, 14,8% para gelatinase, 58,0% para celobiase, 36,0% para lactase e 61,3% para esterase. O filoplano das bromélias apresentou uma grande biodiversidade de leveduras e fungos leveduriformes, demonstrando ser um bom substrato para o isolamento de leveduras produtoras de enzimas de interesse industrial.

---

<sup>1</sup> Dissertação de mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (136p). Março, 2006.

## BIODIVERSITY AND BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF YEAST AND YEAST-LIKE FUNGI ASSOCIATED WITH THE PHYLLOPLANE OF BROMELIADS IN ITAPUÃ PARK, VIAMÃO/RS.

Author: Melissa Fontes Landell

Advisor: Dr. Patrícia Valente

### <sup>2</sup>ABSTRACT

Bromeliads sustain a great diversity of organisms. The objective of the present study was to analyze the biodiversity of yeasts and yeast-like fungi associated to the phylloplane of bromeliads, and to evaluate their biotechnological potential. Fifty samples of bromeliad leaves were collected in Parque Estadual de Itapuã/RS (Pedreira Beach and Fora Beach). Leaf pieces were submitted to successive washings with 0.5% Tween 20. Decimal serial dilutions from the last washing, samples of tank water, and flowers were inoculated in modified YM medium, and incubated at 25 °C for 5-7 days. Representatives of the different morphotypes were purified and identified by the conventional methodology. The analysis of biodiversity was done by means of the Shannon-Weaver index. Of the 191 isolates obtained, 182 were identified, 11% of them with ascomycetic affinity, 67.6% with basidiomycetic affinity, 19.8% of yeast-like fungi, and 1.6% of algae. Twelve isolates had their ITS and 26SrDNA D1/D2 regions sequenced, and belong to a yet undescribed species of the genus *Rhodotorula*. Yeast diversity and richness were higher at Praia da Pedreira (H=3,225 and S=34) than Praia de Fora (H=2,820 and S=26). One hundred and one isolates had their enzyme producing capability tested. Of these, 40.2% were positive for amylase, 49.2% for caseinase, 14.8% for gelatinase, 58.0% for cellobiase, 36.0% for lactase, and 61.3% for esterase. The bromeliad phylloplane had a great biodiversity of yeasts and yeast-like fungi, demonstrating to be a good substrate for the isolation of yeasts capable of producing industrially interesting enzymes.

---

<sup>2</sup> Master of Science dissertation in Agricultural and Environmental Microbiology, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (136p). March, 2006.

## SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	v
RELAÇÃO DE TABELAS.....	vii
RELAÇÃO DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	03
2.1 Mata Atlântica: modelo de diversidade.....	03
2.2 Bromélias: modelo de planta tropical.....	05
2.3 Leveduras e fungos leveduriformes.....	07
2.4 O filoplano com reservatório de leveduras e fungos leveduriformes .....	08
2.5 Taxonomia convencional de leveduras.....	10
2.6 Taxonomia molecular de leveduras.....	10
2.7. Potencial biotecnológico de leveduras e fungos leveduriformes.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Coleta, isolamento e conservação dos isolados de bromélias.....	13
3.1.1 A partir do filoplano ou de tanques de bromélias.....	13
3.1.2 A partir da parte interna das folhas (leveduras endofíticas).....	15
3.2 Caracterização convencional de leveduras e fungos leveduriformes.....	16
3.2.1 Características macromorfológicas.....	16
3.2.1.1 Morfologia colonial.....	16
3.2.2 Características micromorfológicas.....	17
3.2.2.1 Morfologia celular.....	17
3.2.2.2 Formação de ascosporos.....	17
3.2.2.3 Microcultivo em lâmina.....	18
3.2.3 Testes bioquímicos/fisiológicos.....	18
3.2.3.1 Testes de fermentação.....	18
3.2.3.2 Assimilação de fontes de carbono.....	19
3.2.3.3 Assimilação de fontes de nitrogênio.....	20
3.2.3.4 Teste de Urease e Diazonium Blue B (DBB).....	21
3.2.3.5 Crescimento em diferentes temperaturas.....	22
3.2.3.6 Teste de tolerância ao NaCl 10% e 16%.....	22
3.2.3.7 Teste de tolerância à glicose 50%.....	23
3.2.3.8 Produção de compostos amilóides.....	23
3.3 Caracterização molecular.....	24
3.3.1 Seqüenciamento do rDNA.....	24
3.4 Avaliação do potencial biotecnológico.....	24
3.4.1 Avaliação semiquantitativa do perfil enzimático.....	24
3.4.1.1 Produção de esterase.....	25
3.4.1.2 Produção de celobiase e $\beta$ -galactosidase (lactase).....	26
3.4.1.3 Produção de amilase.....	26
3.4.1.4 Produção de caseinase.....	26
3.4.1.5 Produção de gelatinase.....	27
3.5 Análise estatística e cálculo de diversidade.....	27
3.6 Listagem dos meios de cultura utilizados.....	28

3.7 Listagem de equipamentos.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Isolamento e purificação dos isolados de bromélias.....	29
4.2 Identificação fenotípica dos isolados de bromélias.....	31
4.2.1 Testes morfológicos.....	46
4.2.2 Testes bioquímicos e fisiológicos.....	47
4.3 Taxonomia molecular de leveduras.....	47
4.3.1 Seqüenciamento da região D1/D2 do 26S, ITS e 5.8S do rDNA .....	47
4.4 Potencial Biotecnológico.....	54
4.4.1 Avaliação semiquantitativa do perfil enzimático.....	54
4.5 Biodiversidade de leveduras.....	70
5. CONCLUSÕES.....	75
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
7. ANEXOS.....	84
8. VITA.....	124

**RELAÇÃO DE TABELAS**

Tabela 1:	Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.....	32
Tabela 2:	Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia da Pedreira..	55
Tabela 3:	Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia de Fora.....	60
Tabela 4:	Comparação do perfil enzimático das leveduras e fungos leveduriformes isolados dos dois pontos amostrados no Parque de Itapuã com leveduras isoladas de folhas de <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> .....	68
Tabela 5:	Freqüência dos isolados obtidos de cada ponto de coleta amostrado (Praia da Pedreira e Praia de Fora).....	72

**RELAÇÃO DE FIGURAS**

Figura 1:	Seqüência completa do rDNA do isolado BI120 ( <i>Rhodotorula</i> sp. nov.).....	48
Figura 2A:	Alinhamento da seqüência da região D1/D2 do 26S rDNA do isolado BI120 ( <i>Rh.</i> sp. nov.) com a espécie mais próxima <i>Rh. taiwaniana</i> .....	49
Figura 2B:	Alinhamento da seqüência da região D1/D2 do 26S rDNA do isolado BI120 ( <i>Rh.</i> sp. nov.) com a espécie <i>Rh. acheniorum</i> .....	50
Figura 2C:	Alinhamento da seqüência da região ITS do isolado BI120 ( <i>Rh.</i> sp. nov.) com a espécie <i>Rh. taiwaniana</i> .....	51
Figura 3:	Árvore filogenética mostrando relações entre o isolado BI120 e algumas espécies de leveduras filogeneticamente próximas.....	53
Figura 4:	Porcentagem absoluta do perfil enzimático avaliado nos isolados de bromélias.....	64



## LISTA DE ABREVIATURAS

**cm:** Centímetro

**DNA:** Ácido desoxirribonucléico

**DBB:** diazonium blue B

**Min:** minuto

**μL:** Microlitro

**μm:** Micrômetro

**mL:** Mililitro

**pH:** Logaritmo decimal do inverso da atividade de íons hidrogênio numa solução

**rpm:** Rotações por minuto

**RNA:** Ácido ribonucléico

**S:** Sevdberg, unidade de sedimentação

**s:** segundo (segundos)

**Tris:** Tris (hidroximetil) aminometano

**UFRGS:** Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**ULBRA:** Universidade Luterana do Brasil

## **1. INTRODUÇÃO**

A Mata Atlântica é uma das florestas mais ricas em termos de biodiversidade e, ao mesmo tempo, uma das mais ameaçadas, existindo inúmeras espécies, tanto no macroambiente como também em microambientes que nunca foram catalogadas. O Brasil, embora tenha uma grande biodiversidade, possui poucas espécies novas de leveduras descritas.

O Parque de Itapuã é um dos poucos locais onde a Mata Atlântica ainda é preservada na região metropolitana de Porto Alegre. Há uma grande diversidade de espécies de bromélias e estas por sua vez, acumulam água em seus tanques e em suas folhas. Elas são plantas endêmicas de Mata Atlântica e suas folhas e reservatórios de água (tanques) são ricos em nutrientes, tendo demonstrado portar uma larga diversidade de organismos graças à sua complexa estrutura trófica. Microrganismos podem ser encontrados em associação com diferentes partes das plantas, incluindo filoplano e tanques, por exemplo.

Sabe-se que leveduras e outros microrganismos têm interações saprofiticas com as plantas por estas apresentarem um grande número de nutrientes disponíveis, sejam oriundos da própria folha ou de outras fontes, que acumulam-se na superfície pela ação do vento, chuva, insetos, etc. Apesar da presença de leveduras associadas ao filoplano, pouco se sabe a respeito de sua interação com bromélias e seu potencial biotecnológico, fazendo-se necessário maiores estudos.

Baseado nos parâmetros expostos acima, este trabalho teve como objetivos:

- Comparar a diversidade de leveduras em dois pontos do Parque de Itapuã: Praia da Pedreira e Praia de Fora;
- Verificar a produção de enzimas extracelulares (protease, esterase, celobiase, lactase e amilase) pelas leveduras isoladas e selecionar cepas com boa produção;

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Mata Atlântica: modelo de diversidade**

A Mata Atlântica está presente tanto na região de planaltos e serras do interior como na região litorânea, que vai do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul. Ao longo de toda a costa do nosso país, a sua largura varia muito, atingindo em média 200 km de largura (Fundação SOS Mata Atlântica, 2006).

A busca por uma definição para a Mata Atlântica ocorreu em 1999. Esta definição foi baseada em critérios botânicos e fitofisionômicos, juntamente com a natureza geológica e geográfica e, ainda considerando, as questões relativas à conservação ambiental. Esta definição foi posteriormente aprimorada e submetida ao Conselho Nacional do Meio Ambiente - Conama, que a aprovou em 1992, estabelecendo o conceito de Domínio da Mata Atlântica. Desta forma, passaram a ter a denominação genérica de Mata Atlântica as áreas primitivamente ocupadas pelas formações vegetais constantes no Mapa de Vegetação do Brasil (IBGE, 1990). Sua região de ocorrência original abrangia

integralmente ou parcialmente, dezessete estados do Brasil que vai do Ceará ao Rio Grande do Sul (Fundação SOS Mata Atlântica, 2006).

A destruição da Mata Atlântica começou com a chegada dos portugueses no ano de 1500. Embora anteriormente ocupada por grupos indígenas numerosos, como por exemplo os Tupinambás, que já praticavam a agricultura, os relatos da época não registram qualquer sinal de destruição da cobertura florestal. Segundo Holanda (1995), as descrições são de uma floresta intocada, de enorme riqueza natural.

A ignorância para com a importância dos benefícios proporcionados pela cobertura florestal nativa e a valorização exclusiva da madeira em detrimento de produtos não madeireiros levou à eliminação de enormes áreas para expansão de lavoura, assentamentos urbanos e à adoção de práticas de exploração seletiva e exaustiva de espécies importantes (Dean, 1996).

Segundo Dean (1996), antes mesmo da exploração do ouro e das pedras preciosas, a existência de grandes quantidades de pau-brasil fez com que os arrendatários das terras assumissem a exploração enviando navios às costas brasileiras e mantendo assim uma fortaleza, tudo isso sem prejuízo dos direitos a serem pagos à Coroa. Este monopólio de exploração do pau-brasil só terminou em 1859. Contabilizaram-se mais de três séculos de extração predatória.

No entanto, sabe-se que essa exploração predatória não se limitou apenas à árvore do pau-brasil. Diversas madeiras de alto valor para a fabricação de móveis, construção naval, edificações e outras de uso nobre como canela, canjarana, jacarandá, araribá, pequi, peroba e urucurana, foram

intensamente exploradas. A maioria das matas consideradas "primárias" e hoje colocadas sob a proteção das unidades de conservação, foram destruídas já há dois séculos. (Dean, 1996).

A Mata Atlântica sobreviveu em apenas cerca de 8% do território que antes ocupava (1 milhão de km<sup>2</sup>). Seus principais remanescentes localizam-se nos estados das regiões Sudeste e Sul, cobrindo parte da Serra do Mar e da Serra da Mantiqueira (Silva & Gomes, 2003; Simões & Lino, 2003).

Considerada como um dos mais ricos conjuntos de ecossistemas em termos de diversidade biológica do Planeta, a Mata Atlântica é composta de uma série de paisagens bastante diversificadas, o que proporcionou uma biodiversificação ambiental muito significativa.

Em um país onde a biodiversidade é considerada a maior do planeta, há espécies que podem ter sido extintas antes mesmo de serem catalogadas e outras que, ao serem descobertas acabam entrando rapidamente para a lista das ameaçadas de extinção. Esta diversidade está relacionada à grande extensão territorial, juntamente com a diversidade geomorfológica e climática. O estudo e a identificação de espécies relacionadas, juntamente com a proteção, são as maiores garantias para estas áreas, evitando assim o que já ocorreu onde a floresta já foi eliminada (Giullietti, 1992).

## **2.2 Bromélias: modelo de planta tropical**

As bromélias são plantas tipicamente tropicais e abundantes em ambientes de Mata Atlântica, que é considerada um dos centros de maior diversidade desta família, estimando-se 40% das espécies e 73% dos gêneros

descritos. Elas sustentam um grande número de seres vivos que vão desde microrganismos até mamíferos, como mico-leão dourado e anfíbios, como algumas espécies de pererecas. As bromélias são uma família de monocotiledôneas que consistem de mais de 56 gêneros e cerca de 3,5 mil espécies (Nunes, 2003). Existem representantes terrestres, saxícolas (raízes presas às rochas) ou epífitas. As raízes servem, geralmente, no caso das epífitas, apenas para fixação, e além da fixação, nas terrestres, atuam na absorção de água e nutrientes. As folhas são espiraladas com bainhas amplas e flexíveis, que freqüentemente formam um recipiente no qual se acumulam água e detritos orgânicos, que podem ser ricos em microrganismos (Leme, 1984). Nos três tipos, sempre em maior ou menor quantidade, há a absorção de nutrientes pelos tricomas foliares, característica da família. Atualmente esta família está dividida em quatro subfamílias: Navioideae, Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae. A escolha dessa planta vem de acordo com o fato de serem encontradas em grande número e de serem típicas de habitats de Mata Atlântica.

As coletas foram realizadas no Parque de Itapuã, localizado no município de Viamão, Rio Grande do Sul. O parque foi criado em 1973 e foi reaberto para visitação de alguns pontos recentemente, após mais de 10 anos fechado para que pudesse haver a recuperação da área, pois era uma região onde ocorria extração de granito e ocupação urbana desordenada. Abriga um número significativo de bromeliáceas e possui 5.333ha (Rio Grande do Sul, 1997).

A presença de leveduras em água de tanques de bromélias já foi descrita (Araújo *et al.*, 1998; Hagler *et al.*, 1993), sendo predominantes as leveduras com afinidade ascomicética. Já Valente (2000) estudando leveduras isoladas a partir do filoplano de bromélias, verificou a predominância de leveduras basidiomicéticas. Embora estudos de leveduras em águas de tanques dessa planta já sejam desenvolvidos há uma década, pesquisas que envolvam a biodiversidade de leveduras associadas ao filoplano e a aplicação biotecnológica desses isolados ainda são uma novidade.

### **2.3 Leveduras e fungos leveduriformes**

Leveduras são microrganismos pertencentes ao reino *Fungi*, possuindo características típicas dos fungos como presença de parede celular rígida, núcleo organizado com membrana nuclear (célula eucariótica), aclorofilados, nutrição heterotrófica através de absorção dos nutrientes, reprodução sexuada através de células especializadas denominadas esporos, e ausência de motilidade. Elas se diferenciam dos demais fungos por possuírem um talo que é predominantemente unicelular, realizarem a reprodução assexuada por brotamento ou fissão e não formarem corpos de frutificação (Kurtzman & Fell, 1998). Os microrganismos considerados como leveduras são encontrados nos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* e entre os fungos mitospóricos (antigos Deuteromycetes, que são aqueles cuja reprodução sexuada não é conhecida), constituindo um grupamento artificial (Hawksworth *et al.*, 1995). Geralmente são encontrados em folhas, frutos, grãos de cereais e outros substratos contendo açúcares. Mas também podem ser isolados do ar, do solo, de águas



de lagos, rios e mares; da pele e do intestino de animais, incluindo associações com insetos (Do Carmo-Souza, 1969; Takashima & Nakase, 2001; Lachance *et al.*, 2003; Rosa *et al.*, 2003; Pimentel *et al.*, 2005).

#### **2.4 O filoplano como reservatório de leveduras e fungos leveduriformes**

As folhas, flores, frutos e caules das plantas constituem um dos substratos mais abundantes e importantes para o desenvolvimento de fungos, em especial, as leveduras. Os nutrientes que estão disponíveis no filoplano, servindo de base ao desenvolvimento das populações de leveduras que ali colonizam, podem resultar de secreções das próprias folhas, naturais ou provenientes de feridas na cutícula (Tukey, 1971), ou de deposições através do vento ou carreamento por insetos e outros organismos (Andrews & Harris, 2000). A espécie da planta e todo o ambiente físico/químico que a envolve condicionam as qualidades deste substrato e, assim, a biodiversidade das populações que aí se desenvolvem. Este tipo de interação, em que leveduras vivem saprofiticamente na superfície foliar (filoplano) das plantas, apesar de sua importância, talvez seja a menos estudada. A maioria das espécies encontradas associadas ao filoplano das plantas pertence a leveduras de afinidade basidiomicética e os chamados fungos leveduriformes (“Yeast-like fungi”). Silva (2003), estudando a ocorrência de leveduras no filoplano de diversas plantas, observou uma predominância de leveduras basidiomicéticas. Entretanto, Fuentesfria (2004) estudou o filoplano de *Hibiscus rosa-sinensis*,

encontrando uma variedade de espécies, com predominância de leveduras ascomicéticas.

Parte das espécies de leveduras com afinidade basidiomicética possui um potencial assimilativo amplo com relação às fontes de carbono quando comparada com as leveduras com afinidade ascomicética, que se restringem a poucas fontes de carbono (Kurtzman & Fell, 1998). Estas são freqüentemente encontradas em substratos ou fontes ricas em açúcares simples, como frutos, enquanto que as leveduras basidiomicéticas são ricamente encontradas em substratos que possuam componentes mais complexos, como folhas e solo (Santos *et al.*, 1997).

As leveduras basidiomicéticas possuem algumas características que favorecem a permanência na superfície de folhas, tais como produção de clamidosporos resistentes à dessecação e de balistosporos (esporos que são lançados à distância e que podem ser dispersados pelo vento). Entre os gêneros de leveduras basidiomicéticas comumente encontrados associados ao filoplano das plantas pode-se destacar: *Bensingtonia*, *Bullera*, *Cryptococcus*, *Kockovaella*, *Rhodotorula* e *Sporobolomyces* (*Sporidiobolus*). Trabalhos recentes focalizando a descrição de espécies novas estão cada vez mais difundidos fora do nosso país (Fungsin *et al.*, 2001; Fungsin *et al.*, 2002; Inácio *et al.*, 2002; Bai *et al.*, 2003; Zhao *et al.*, 2003; Inácio & Fonseca, 2004; Wang & Bai, 2004; Wang *et al.*, 2004). Trabalhos no Brasil com esse enfoque são recentes e foram principalmente desenvolvidos a partir década de 90 (Morais *et al.*, 1992; Morais *et al.*, 1996; Prada & Pagnocca, 1997; Abranches *et al.*, 1998, Rosa *et al.*, 1999, Abranches *et al.*, 2000; Buzzini & Martini, 2000, Pimenta,

2001; Carreiro *et al.*, 2004), todos realizados em regiões de Mata Atlântica do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo, sendo que em outras regiões são inexistentes.

## **2.5 Taxonomia convencional de leveduras**

A taxonomia convencional de leveduras é baseada em cerca de 100 testes morfológicos e bioquímicos/fisiológicos, incluindo fermentação de diferentes açúcares, assimilação de diversas fontes de carbono e de nitrogênio, crescimento em diferentes temperaturas, urease e reação ao corante *diazonium blue B* (DBB), entre outros (Barnett *et al.*, 2000). Entretanto, a taxonomia convencional de leveduras nem sempre alcança uma identificação correta.

## **2.6 Taxonomia molecular de leveduras**

Testes moleculares vêm sendo cada vez mais usados como uma importante ferramenta auxiliar na identificação de leveduras, principalmente de espécies com difícil visualização de características micromorfológicas essenciais para identificação, como esporos. Além disso, é uma ferramenta indispensável na análise filogenética de leveduras (Kurtzman & Robnett, 1998). A taxonomia molecular de leveduras possui uma grande variedade de abordagens, que vão desde a quimiotaxonomia, exemplificada pelos estudos de tipo de coenzima Q presentes na cadeia respiratória (Yamada *et al.*, 1977) e pelo espectro de ressonância magnética das mananas da parede celular (Gorin & Spencer, 1970), passando por métodos que utilizam proteínas e RNA, até os

que possuem o próprio DNA como alvo. Esses últimos têm sido cada vez mais utilizados.

O rDNA é muito empregado em estudos taxonômicos devido à presença de regiões codificantes e não-codificantes, que evoluem em diferentes taxas, e também pelo fato dos ribossomos estarem presentes em todos os organismos, a partir de uma origem evolutiva comum (Valente *et al.*, 1999). A região gênica do rDNA possui as seguintes estruturas na disposição 5'-3': a região espaçadora externa (ETS), o gene 18S, a região espaçadora interna (ITS1), o gene 5.8S, uma segunda região espaçadora interna (ITS2) e o gene 26S. Este último gene apresenta as seqüências menos conservadas, em relação aos genes 18S, 5.8S e 5S, sendo a região de escolha para estudos de filogenia de espécies e grupos taxonômicos mais relacionados (Hamamoto *et al.* 2002). A região D1/D2 do 26S rDNA de grande parte das leveduras conhecidas encontra-se seqüenciada e observou-se que essa região é capaz de diferenciar quase todas as espécies de leveduras testadas, visando estudos de taxonomia (Fell *et al.*, 2000, Kurtzman & Robnett, 1998).

## **2.7 Potencial biotecnológico de leveduras e fungos leveduriformes**

Recentemente, o uso de microrganismos como fonte biotecnológica de enzimas extracelulares de interesse industrial tem sido estimulado. Eles representam uma excelente fonte de enzimas devido a sua grande diversidade bioquímica e facilidade de manipulação genética. A triagem de microrganismos com potencial para uso biotecnológico se inicia com a seleção do microrganismo que possui a característica desejada (Steele & Stowers, 1991).

Essa seleção pode ser realizada a partir de coleções de culturas ou a partir de substratos naturais presentes no meio ambiente. A estratégia utilizada para a seleção pode variar. Caso o objetivo seja isolar microrganismos que possuam diferentes capacidades para uso biotecnológico, como, por exemplo, capacidade de produzir diferentes enzimas, uma estratégia indireta de isolamento é normalmente adotada. Nesta estratégia, procede-se ao isolamento geral de microrganismos da amostra, que depois são testados com relação à capacidade de gerar os produtos ou as atividades desejadas. Desta forma, possibilita-se a criação de coleções de cultura de microrganismos que possam, posteriormente, ser testadas para a verificação de outras características de interesse industrial. Após esta primeira etapa de seleção do microrganismo, é realizada a otimização do processo de produção para posterior utilização em larga escala.

O uso de microrganismos, em especial fungos e leveduras, como recurso biotecnológico para produção de enzimas relevantes industrialmente tem estimulado o interesse na exploração da atividade enzimática destes. Estes produtos oriundos de microrganismos que ocorrem naturalmente apresentam a vantagem de serem mais facilmente aceitos e aprovados para comercialização que os produzidos por microrganismos manipulados geneticamente (Steele & Stowers, 1991).

Estudos focalizados na capacidade enzimática de leveduras do ambiente são pouco freqüentes, mas têm demonstrado que leveduras isoladas de ambientes tropicais representam uma fonte de várias enzimas com potencial para uso industrial.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Coleta, isolamento e conservação dos isolados de bromélias**

##### **3.1.1 A partir do filoplano ou de tanques de bromélias**

As amostras de bromélias foram coletadas durante o período de 05 de abril de 2004 a 19 de janeiro de 2005, perfazendo um total de cinco coletas no Parque de Itapuã, localizado no município de Viamão, Rio Grande do Sul. Folhas maduras das bromélias *Aechmea recurvata*, *Bilbergia nutans*, *Dyckia* sp., *Vriesea friburgensis*, *Vriesea gigantea*, *Vriesea procera*, *Tillandsia stricta*, *Tillandsia crocata*, *Tillandsia gardneri*, *Tillandsia geminiflora*, *Bromelia antiacantha* e uma não-Bromeliaceae (identificada apenas como "Gravatá"), totalizando 50 amostras (25 amostras em cada ponto coletado), foram assepticamente coletadas em sacos plásticos estéreis, transportadas para o laboratório e processadas em até cinco horas. Quando presentes, flores e águas dos tanques também foram coletadas. As folhas foram lavadas com água destilada estéril previamente ao processamento, para retirada da poeira acumulada e outros artefatos eventualmente presentes. Após, foram cortados

aspticamente pedaços de 1-3 mm e colocados em frascos Erlenmeyers com 50mL de água destilada estéril e mantidos em agitador mecânico (“shaker”) por 10 minutos a 180 rpm. Esta água foi descartada e 30mL de uma solução de 0,5% Tween 20 foi acrescida ao frasco, mantidos em agitador mecânico novamente por mais 30 min também a 180 rpm. Para a dissociação das leveduras ainda remanescentes da superfície foliar, este procedimento foi repetido por mais duas vezes na primeira coleta e por uma vez nas coletas seguintes. Feita a última lavagem, foram realizadas diluições decimais seriadas até  $10^{-2}$  e estas foram semeadas em duplicata pela técnica de espalhamento de superfície em meio YM acrescido de 0,04% cloranfenicol pH 4,0 ou meio MYP e incubadas a 22-25°C por 5-7 dias (ver tabela 1). As flores foram coletadas aspticamente em sacos plásticos individuais e processadas como as folhas ou em alguns casos, foram maceradas, com auxílio de pistilo, em frascos acrescidos de água destilada estéril, plaqueadas em meio YM acrescido de 0,04% cloranfenicol (pH 4,0) e incubadas a 22-25°C por 5-7 dias. As águas de tanques das bromélias foram coletadas aspticamente em tubos estéreis, com o auxílio de pipetas de vidro estéreis e diluídas até  $10^{-2}$ , sendo posteriormente semeadas da mesma forma e no mesmo meio utilizado para o processamento das folhas e flores. Após o período de incubação, colônias de leveduras e fungos leveduriformes (“yeast-like fungi”) de cada tipo morfológico foram selecionadas e purificadas duas vezes consecutivas pela técnica do esgotamento em Ágar YEPG, conservadas em tubos de ensaio contendo Ágar GYMP, cobertos por uma camada de vaselina estéril e mantidos em geladeira. Foram escolhidas para isolamento colônias com características morfológicas

distintas e que se apresentassem fisicamente distantes na placa. O isolamento de leveduras balistosporogênicas foi realizado mantendo as folhas suspensas por meio de uma gaze estéril em uma placa de Petri contendo o mesmo meio de isolamento, mas sem contato direto com este (Valente, 2000). As placas foram incubadas a 22-25°C por 7 dias e as colônias formadas a partir dos balistosporos lançados contra o meio foram isoladas e purificadas de acordo com o método descrito acima.

### **3.1.2 A partir da parte interna das folhas (Leveduras endofíticas)**

As folhas foram coletadas assepticamente em sacos plásticos estéreis e transportadas para o laboratório para o processamento. Elas foram previamente lavadas com água destilada estéril, para retirada da poeira acumulada e outros artefatos eventualmente presentes. Após, foram cortadas em pedaços de aproximadamente 10cm<sup>2</sup>, secas em fluxo laminar, pesadas e lavadas em etanol 70% por um minuto, hipoclorito de sódio 2% por três minutos, novamente com etanol 70% por um minuto e, para finalizar as lavagens, em água destilada estéril por duas vezes consecutivas, sendo que a última lavagem foi mantida em agitador mecânico por 30 min. Depois do procedimento de lavagem, as folhas foram maceradas em frascos tipo cadinho e as diluições 10<sup>-1</sup> e 10<sup>-2</sup> foram semeadas em duplicata pela técnica de espalhamento de superfície em meio YM acrescido de 0,04% cloranfenicol (pH 4,0), sendo incubadas a 22-25°C por 5-7 dias. Após este período de incubação, colônias de leveduras que cresceram nas placas foram isoladas e realizado o mesmo procedimento descrito no item 3.1.1 (Sobral, 2003).



## **3.2 Caracterização convencional de leveduras e fungos leveduriformes**

As leveduras foram caracterizadas fenotipicamente seguindo características morfológicas e fisiológicas (Yarrow, 1998). A identificação das leveduras foi realizada de acordo com Barnett *et al.* (2000) e o software YEASTCOMPARE (Ciriello & Lachance, 2001), que compara as características fisiológicas das leveduras com as de espécies conhecidas. A classificação dos fungos leveduriformes (“yeast-like fungi”) foi feita na sua maioria baseada em fatores macro e micromorfológicos tais como cor e textura da colônia, e em alguns casos, através da morfologia da hifa. Em algumas vezes, características fisiológicas também foram avaliadas, tais como crescimento em diferentes temperaturas e testes de assimilação de fontes de carbono como celobiose e tween 20. Estes testes foram analisados de acordo com os métodos empregados para a identificação convencional de leveduras (Yarrow, 1998; Barnett *et al.*, 2000).

### **3.2.1 Características macromorfológicas**

#### **3.2.1.1 Morfologia colonial**

Foram observadas as características coloniais como cor (branca, creme, amarelada, laranja, rosa, vermelha, marrom, preta), brilho (brilhante, opaca), forma (circular, oval ou fusiforme), margem (regular, irregular, lobada ou com raízes), superfície (lisa ou rugosa), elevação (plana, convexa, umbonada ou

vulcão) e consistência (cremosa, mucóide, butirosa, membranosa, esfarelada, dura, seca), segundo Yarrow (1998).

### **3.2.2 Características micromorfológicas**

#### **3.2.2.1 Morfologia celular**

Foram realizadas lâminas a fresco a partir do crescimento de culturas em Agar YEPG com no máximo uma semana de incubação a 22-25°C e a observação foi feita em microscopia óptica com aumento de 400 a 1000X. As características celulares observados foram: forma e tamanho da célula, presença de pseudomicélio, tipo de reprodução assexuada (brotamento e/ou fissão) e, caso seja por brotamento, tipo de brotamento (multipolar, bipolar, unipolar), presença de ascosporos e de balistosporos, segundo Barnett *et al.* (2000) e Kurtzman & Fell (1998).

#### **3.2.2.2 Formação de ascosporos**

A verificação da produção de ascosporos pelas leveduras com afinidade ascomicética foi realizada utilizando como meio para induzir a sua produção Agar acetato (ver tabela 1- Anexos) e incubação a 22-25°C por até um mês. A pequena quantidade de carboidratos nesse meio de indução restringe o crescimento vegetativo e aumenta a produção de ascosporos. Em microscopia óptica, foram observadas a presença ou ausência de conjugação, forma e número de ascósporos por asca e liberação ou não de esporos logo após a sua formação.

### **3.2.2.3 Microcultivo em lâmina**

O microcultivo (cultivo em lâmina) foi a técnica escolhida para observação de pseudohifa ou de hifa verdadeira, utilizando o meio de cultura Agar Fubá (ver tabela 1). Dentro de uma placa de Petri colocou-se um chumaço de algodão, dois palitos, uma lâmina de microscopia (sobre os palitos) e uma lamínula. Após esterilização (por autoclavação) do material, colocou-se assepticamente 1-2 ml de meio de cultura sobre a lâmina de microscopia dentro da placa de Petri até solidificar. Em seguida inoculou-se o meio com os isolados de leveduras e fungos leveduriformes por estriamento da alça sobre o meio de cultivo e colocou-se a lamínula sobre o mesmo. Depois de semeado o meio, adicionou-se água destilada estéril sobre o algodão e incubou-se a placa por 7 dias a 22-25°C (Barnett *et al.*, 2000), sendo realizada a observação em microscópio óptico nos aumentos 200x e 400x.

### **3.2.3 Testes bioquímicos/fisiológicos**

#### **3.2.3.1 Testes de fermentação**

A fermentação alcoólica pode ser considerada como a oxidação anaeróbica de um carboidrato com a produção final de álcool etílico e anidrido carbônico, além de outros produtos secundários. Se um carboidrato for fermentado, ele será assimilado, porém o contrário não é necessariamente correto. Se a fermentação ocorre, a glicose será sempre fermentada (Neufeld, 1999; Barnett *et al.*, 2000).

Verificou-se, portanto, a capacidade de cada levedura fermentar a glicose e, em alguns casos, a galactose e a maltose e dos fungos leveduriformes de fermentarem glicose. Antes de realizar cada teste, as culturas foram crescidas em Agar YEPG para obtenção de células metabolicamente ativas. Estas culturas foram, posteriormente, inoculadas em tubos de ensaios com meio para fermentação contendo tubos de Durham invertidos no seu interior. Os tubos de fermentação foram lidos regularmente em 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14 e 21 dias após a inoculação. A produção de gás foi confirmada pelo seu acúmulo nos tubos de Durham. A leitura foi considerada negativa quando não houve acúmulo de gás ou quando apenas foram observadas algumas bolhas de gás no tubo de Durham, +1 quando apenas 1/3 do tubo de Durham estava ocupado por gás, +2 quando o gás estiver presente em 2/3 do tubo e +3 quando o tubo de Durham encontrou-se cheio de gás. As cepas cujas leituras registraram-se +2 ou +3 foram consideradas fermentadoras. As culturas que tiveram resultado positivo para fermentação de glicose foram testadas para fermentação de galactose e de maltose (Yarrow, 1998; Neufeld, 1999; Barnett *et al.*, 2000).

### **3.2.3.2 Assimilação de fontes de carbono**

A capacidade de assimilação de diferentes fontes carbonadas pelas leveduras foi verificada, tendo sido utilizadas as seguintes fontes: glicose, galactose, ribose, xilose, L-arabinose, D-arabinose, ramnose, maltose, trealose, celobiose, salicina, lactose, rafinose, sacarose, inulina, amido solúvel, glicerol, eritritol, ribitol, glucitol, manitol, inositol, N-acetil-glicosamina, citrato, lactato,

tween 20 e melibiose. Esta habilidade de assimilar ou não diferentes fontes de carbono permite a distinção das espécies de acordo com o seu padrão assimilativo. O método de réplica em placas (Barnett *et al.*, 2000) foi o nosso método escolhido neste trabalho. As cepas metabolicamente ativas foram inoculadas em tubos contendo 2 mL de água destilada estéril por 24-48h, até uma densidade de grau 0,5 medida pelo cartão de Wickerham, para que as leveduras esgotassem suas fontes energéticas. Após esse período, uma alíquota de 400 $\mu$ L de cada levedura foi adicionada em cada um dos poços da base do aparelho utilizado para esta técnica (replicador de Steer), permitindo que vinte e cinco leveduras fossem testadas por vez. Placas contendo as fontes de carbono descritas acima, adicionadas de Yeast Nitrogen Base (YNB), foram “carimbadas” com as leveduras a serem testadas e incubadas por 21 dias a 22-25°C (Yarrow, 1998; Barnett *et al.*, 2000). Como controle positivo foi usada a placa com meio YNB e glicose, e como controle negativo uma placa apenas com YNB e agar (ver tabela 1- Anexos).

### **3.2.3.3 Assimilação de fontes de nitrogênio**

As leveduras têm a capacidade de utilizar diferentes fontes de nitrogênio. Porém, determinados compostos nitrogenados como nitrato de potássio, nitrito de sódio, lisina, creatina, creatinina, aminas alifáticas e alguns aminoácidos são seletivamente utilizados por diferentes leveduras (Neufeld, 1999; Barnett *et al.*, 2000). Sendo assim, este teste é uma ferramenta importante na identificação de leveduras.

Para a assimilação de fontes de nitrogenadas foram utilizados nitrato de sódio, nitrito, lisina, etilamina, creatina e creatinina, como únicas fontes de nitrogênio, utilizando a mesma técnica do teste de assimilação de fontes de carbono. As cepas foram inoculadas, a partir de culturas recentes em Agar YEPG, em tubos contendo 2mL de água destilada estéril, por dois dias, para que as leveduras esgotassem suas fontes energéticas. A densidade do inóculo nos tubos com água estéril foi medida pelo cartão de Wickerham (grau 0,5). Ao mesmo tempo, foi preparado meio contendo YCB 1,17% com 2% de agar e as fontes de nitrogênio testadas a uma concentração de 0,078% para nitrato, 0,064% para etilamina, 0,056% para lisina, 0,078% para creatina e creatinina e 0,026% para nitrito.

#### **3.2.3.4 Teste de produção de urease e DBB (*Diazonium blue B*)**

As linhagens foram inoculadas a partir de culturas recentes e metabolicamente ativas em Ágar YEPG em tubos contendo o meio Ágar Uréia. Inicialmente autoclavou-se todos os constituintes (ver tabela 1) nos tubos com 2,25mL cada, com exceção da uréia que foi esterilizada por filtros de celulose de 0,45 $\mu$ m. Após autoclavação, adicionou-se 0,25 mL de uréia filtrada (estoque 10%), homogeneizou-se e inclinou-se os tubos, deixando solidificar. Os tubos de ensaio foram inoculados e incubados a temperatura ambiente por 3 dias, sendo as leituras realizadas diariamente. A atividade da enzima urease, quando presente na cepa, provoca uma cor branca (Neufeld, 1999; Barnett *et al.*, 2000).

Após a leitura da urease, as culturas foram incubadas a 60<sup>0</sup>C por cerca de 18 horas, sendo posteriormente adicionadas sobre o inóculo cerca de 1mL de uma solução (ver tabela 1) contendo o corante “*Diazonium Blue B*” (DBB) tamponado com Tris-HCL 1M para um pH 7.0. As culturas que adquiriram uma coloração avermelhada após o contato com o reagente DBB foram consideradas DBB positivas e de afinidade basidiomicética. Os isolados que não desenvolveram cor avermelhada foram consideradas negativas e relacionadas aos ascomicetos (Hagler & Ahearn, 1981).

#### **3.2.3.5 Crescimento em diferentes temperaturas**

As leveduras podem crescer numa ampla faixa de variação térmica (de 0-47°C), por isso o teste de crescimento em diferentes temperaturas pode contribuir para sua identificação. Para isso, este teste avalia a capacidade de crescimento das leveduras e fungos leveduriformes nas temperaturas de 37°C, 40°C e 42°C, sendo a temperatura ótima de crescimento para a maioria das espécies de 20°C a 30°C. As espécies patogênicas crescem otimamente entre 30°C e 37°C, sendo o crescimento a 37°C bem característico. O teste de crescimento em diferentes temperaturas foi realizado com a utilização do meio caldo YEPG. Após a inoculação, os tubos foram incubados em banho-maria nas respectivas temperaturas testadas por até quatro dias, sendo a leitura realizada diariamente pelo grau de turvação, de acordo com a escala de Wickerham (Yarrow, 1998; Barnett *et al.*,2000).

#### **3.2.3.6 Teste de tolerância ao NaCl 10% e 16%**

As espécies de leveduras podem diferir na capacidade de crescerem em soluções hipertônicas, tornando essa característica mais uma ferramenta no conjunto de provas fenotípicas para a identificação desses microrganismos. Sendo assim, avaliou-se a capacidade de crescimento das leveduras, durante 21 dias, em duas concentrações de soluções salinas hipertônicas; NaCl 10% e 16%. O meio utilizado foi o caldo YEPG modificado (acrescido de NaCl). Para controle positivo utilizou-se o meio sem NaCl, incubação a 22-25 °C por 21 dias, sendo a leitura realizada de sete em sete dias pelo grau de turvação, de acordo com a escala de Wickerham (Barnett *et al.*, 2000).

#### **3.2.3.7 Teste de tolerância à glicose 50%**

Seguindo o teste de tolerância a soluções hipertônicas, foi testada a capacidade da levedura de crescer em meio com alta concentração de glicose (solução glicosilada hipertônica). O meio utilizado foi o caldo YEPG modificado (acrescido de glicose 50%). Para controle positivo utilizou-se o meio com glicose 2%, incubação a 22-25 °C por 21 dias, sendo a leitura realizada de sete em sete dias pelo grau de turvação, de acordo com a escala de Wickerham (Barnett *et al.*, 2000).

#### **3.2.3.8 Produção de compostos amilóides**

Este teste tem como objetivo auxiliar na identificação de determinadas espécies, como por exemplo aquelas dos gêneros *Bullera* e *Cryptococcus* (Barnett *et al.*, 2000). Para avaliar esta característica, adicionou-se uma solução de lugol (solução de iodo com iodeto de potássio 1:5) à placa com



crescimento positivo da amostra em meio sólido contendo YNB com glicose. O resultado positivo foi evidenciado pela formação de um complexo esverdeado a azulado na colônia, devido à reação do composto amilóide com a solução de iodo.

### **3.3 Caracterização molecular**

#### **3.3.1 Seqüenciamento do rDNA**

Quatro isolados representativos (BI63, BI77, BI120 e BI235) tiveram seu gene 26S do rDNA concentrado e clonado em coluna Qiaquick PCR (Qiagen, Chatsworth, CA, USA) e sequenciado em ABI sequenciador no John P. Roberts Research Institute, London, ON, Canada. Todo este procedimento foi realizado pelo Dr. Marc-André Lachance (Department of Biology, University of Western Ontario, London, ON, Canada). O alinhamento das seqüências e a construção da árvore filogenética foram realizados no programa Mega 3.1 (Kumar, *et al.* 2004), utilizando o método Neighbour Joining com bootstrap de 1000 vezes.

### **3.4 Verificação do potencial biotecnológico**

#### **3.4.1 Avaliação semiquantitativa do perfil enzimático**

Todos os isolados testados foram previamente cultivados em Agar YEPG por 24h para verificação da pureza das culturas e obtenção de células metabolicamente ativas. Placas ou tubos de ensaio com os substratos enzimáticos correspondentes foram avaliados semiquantitativamente para a

presença ou ausência de atividade enzimática e seus resultados classificados como negativo (-), fraco (W), positivo (+) ou forte atividade (++), de acordo com o halo de atividade enzimática em meio sólido ou através de turbidez, medida através do cartão de Wickerham, nos meios líquidos. No meio sólido, as escalas em centímetros dos diâmetros de difusão das enzimas foram classificadas como: fraca atividade (w), quando menor ou igual a 1,5cm, atividade positiva (+) entre 1,5cm a 3cm, e forte atividade (++) acima de 3cm para o teste de amilase e as demais enzimas classificadas como fraca atividade, quando menor ou igual a 0,5cm, atividade positiva quando for maior que 0,5cm, e forte atividade quando for maior ou igual a 1cm com a finalidade de selecionar as cepas que foram melhores produtoras das respectivas enzimas. Estes limites foram padronizados empiricamente, utilizando cepas previamente reconhecidas como boas produtoras, fracas produtoras e não produtoras de cada enzima analisada.

#### **3.4.1.1 Produção de esterase**

A atividade de esterase das leveduras foi testada em tubos de ensaio contendo o meio Yeast Nitrogen Base (YNB) acrescido de Tween 20 como fonte de carbono (Von Tigerstrom & Stelmaschuk, 1989; Plou *et al.*, 1998) ou em meio sólido contendo os mesmos componentes. As linhagens, previamente inoculadas em água destilada durante 24 horas para exaurir suas reservas endógenas, foram incubadas a 25°C por 7 dias e sua atividade enzimática foi mensurada através do cartão de Wickerham. A turvação do meio de cultura

devido ao crescimento celular foi considerada como resultado positivo, ou no caso do meio sólido através do crescimento colonial.

#### **3.4.1.2 Produção de celobiase e $\beta$ -galactosidase (lactase)**

A capacidade de degradar celobiose e lactose foi verificada em conjunto com os testes bioquímicos para a identificação de leveduras (Barnett *et al.*, 2000; Yarrow, 1998). As linhagens foram previamente inoculadas em água destilada por 24 horas para exaurir suas reservas energéticas endógenas, conforme descrito no item 3.3.1.3.2. Crescimento celular nas placas dentro de um período de 7 dias a 22-25°C indica a atividade enzimática sobre a celobiose ou a lactose. O resultado foi obtido através da intensidade deste crescimento no meio sólido.

#### **3.4.1.3 Produção de amilase**

A atividade amilolítica dos isolados foi verificada através da degradação do amido solúvel (Buzzini & Martini, 2002; Strauss *et al.*, 2001). Após 7 dias de incubação adicionou-se uma solução de lugol à placa de agar amido (ver tabela 1), observando-se, após um período de 30 minutos, um nítido halo amarelado ao redor do crescimento das cepas consideradas positivas. O restante do meio torna-se corado de violeta. A reação se deve pela captura do iodo pelas duas moléculas polissacarídeas (amilose e amilopectina) constituintes da estrutura básica do amido, formando um composto escuro (MacFaddin, 2000).

#### **3.4.1.4 Produção de caseinase**

A atividade caseinolítica foi testada em placas de Petri contendo o meio agar caseína, ajustado para pH 7,0 com KOH 5N (Braga *et al.*, 1998; Strauss *et al.*, 2001; Trindade *et al.*, 2002). A revelação foi realizada após sete dias de incubação a 22-25°C, com a adição de HCl 1N na superfície do meio deixando reagir com a caseína por um período de 1 hora. O resultado positivo foi considerado quando ao redor do inóculo surgiu um halo transparente devido à hidrólise da caseína, circundado por um fundo com coloração esbranquiçada correspondendo à área onde a caseína não tinha sido hidrolisada, sendo, portanto, desnaturada por ação do ácido clorídrico.

#### **3.4.1.5 Produção de gelatinase**

A atividade de protease também foi verificada através da hidrólise de gelatina, utilizando o meio malte-gelatina em tubos de ensaio (Yarrow, 1998; Abranches *et al.*, 1997; Trindade *et al.*, 2002). As leveduras, após crescidas em agar YEPG por 48h a 25°C, foram inoculadas na superfície do meio (em tubos) e incubadas durante 21 dias a 22-25°C. Após esse período, deixou-se os tubos cerca 2 horas a 4°C e, em seguida, foi avaliada a atividade enzimática através do grau de hidrólise do meio. Considera-se produtores de gelatinase aqueles isolados que liquefizeram parcial ou completamente o meio de cultura após a retirada dos tubos da refrigeração.

### **3.5 Análise estatística e cálculo de diversidade**

A análise estatística utilizada para comparação entre o perfil enzimático encontrado nos dois pontos de coleta do Parque de Itapuã foi o Teste Não-paramétrico Kruskal-Wallis.

A análise dos resultados de diversidade de espécies encontradas nos dois pontos do Parque de Itapuã foi feita através do cálculo do índice de Shannon-Weaver, que relata o número de espécies e a importância relativa individual das espécies (Shannon & Weaver, 1963).

### **3.6 Listagem de meios de cultura utilizados**

Os meios de cultura utilizados estão listados na tabela 1 (Anexo).

### **3.7 Listagem dos equipamentos**

Os equipamentos utilizados nos experimentos estão listados na tabela 2 (Anexo).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Isolamento e purificação dos isolados de bromélias**

Através da técnica para isolamento de leveduras a partir do filoplano, foram obtidos 174 isolados. Cabe ressaltar que na primeira coleta, por se tratar de uma coleta “piloto” foram, realizadas três lavagens com a solução de Tween 20 antes da realização do procedimento de isolamento das leveduras. Como não houve diferença na diversidade dos isolados obtidos na segunda e na terceira lavagem, foram utilizadas nas coletas seguintes apenas duas lavagens. Já através da técnica para o isolamento de leveduras produtoras de balistosporos, foi somente possível isolar 4 leveduras, devido ao demasiado crescimento de fungos filamentosos e também porque as folhas de bromélias são muito grossas e pesadas, não deixando assim que a gaze ficasse suspensa. Este teste foi realizado em 10 amostras de bromélias da primeira coleta pelos motivos citados acima. Com a técnica para isolamento de leveduras endofíticas, foram obtidas 4 leveduras a partir de 5 folhas de bromélias utilizadas para esta técnica. Este teste também foi realizado somente

em uma coleta (coleta número 4) pelo fato de não ter sido isolado um número significativo de leveduras. Este resultado está de acordo com o encontrado por Pirttilä *et al.* (2003), que estudando fungos endofíticos em diferentes tecidos de *Pinus sylvestris* apenas encontraram uma espécie de levedura (*Rhodotorula minuta*).

Na terceira coleta, além do meio YM para isolamento, foi testado o meio MYP. Houve crescimento excessivo de fungos filamentosos, o que era esperado, já que estes microrganismos são favorecidos em meios pobres nutricionalmente, e de bactérias. O crescimento bacteriano excessivo foi, provavelmente, devido à ausência de cloranfenicol na composição do meio. Como os resultados encontrados com o meio MYP não foram muito promissores, apenas o meio YM foi utilizado nas demais coletas.

Na segunda coleta, foi coletada uma folha de uma planta que posteriormente, durante o processo de identificação das espécies de bromélias, foi constatado que não era bromélia, e sim uma planta muito semelhante, conhecida popularmente como "gravatá". Esse nome se dá também a algumas espécies do gênero *Dyckia*, por isso o motivo do engano na hora da coleta. Optou-se por continuar trabalhando com os isolados obtidos a partir dessa planta por serem um número representativo e pela diversidade de espécies obtidas.

A contagem de leveduras na primeira coleta ficou entre 3,4 UFC/cm<sup>2</sup> e 19.900 UFC/cm<sup>2</sup>, na segunda entre 5,0 UFC/cm<sup>2</sup> e 830 UFC/cm<sup>2</sup>, na terceira entre 3,7 UFC/cm<sup>2</sup> e 2.000 UFC/cm<sup>2</sup>, na quarta entre 1,9 UFC/cm<sup>2</sup> e 750 UFC/cm<sup>2</sup> e na quinta entre 3,8 UFC/cm<sup>2</sup> e 2.250 UFC/cm<sup>2</sup>. A primeira, a

segunda e metade da quinta coleta foram realizadas na Praia da Pedreira e a terceira, quarta e outra metade da quinta coleta foram realizadas na Praia de Fora.

Foram, portanto, obtidos um total de 182 isolados de leveduras (174 provenientes das lavagens de folhas, 4 da técnica de isolamento de leveduras balistosporogênicas e 4 endofíticas), que foram identificadas e tiveram seu potencial biotecnológico testado.

#### **4.2 Identificação fenotípica dos isolados de bromélias.**

Dos 182 isolados, 143 representam leveduras verdadeiras, 36 fungos leveduriformes e 3 representam algas do gênero *Prototheca*. As 143 linhagens de leveduras isoladas pertencem a 58 espécies, sendo 17 de afinidade ascomicética e 41 de afinidade basidiomicética. A listagem com a identificação presuntiva das linhagens de leveduras e fungos leveduriformes, assim como a espécie de bromélia de onde foram isoladas, pode ser vista na tabela 1. Os fungos leveduriformes foram classificados, segundo suas características macro, micromorfológicas e em alguns casos, características bioquímicas/fisiológicas em dezoito grupos diferentes.

Os isolados identificados com o nome da espécie seguido pelo sufixo “similar” significam que são muito semelhantes a uma determinada espécie, entretanto diferem da descrição da cepa tipo desta espécie. Alguns isolados foram identificados apenas em nível de gênero seguido pelo sufixo “sp.”,



**TABELA 1:** Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

<b>Ascomicetos</b>	cepa	am Nº-	<b>Basidiomicetos</b>	cepa	am Nº-	<b>Fungos leveduriformes</b> ("Yeast-like")	cepa	am Nº-
<i>Candida diddensiae</i>	BI146	Água <i>Vriesea gigantea</i>	<i>Bullera</i> sp.01	BI123	<i>Vriesea friburgensis</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	BI17	<i>Tillandsia geminiflora</i>
<i>Candida etchellsii-similar</i>	BI145	<i>Aechmea recurvata</i>	<i>Bullera</i> sp.02	BI130	"Gravatá"	"	BI47	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Candida glabrata</i>	BI127	"Gravatá"	<i>Bullera</i> sp.03	BI183	<i>Bromelia antiacantha</i>	"	BI93	Flor <i>Tillandsia gardneri</i>
<i>Candida</i> sp. 01	BI21	<i>Vriesea procera</i>	<i>Bulleromyces albus</i>	BI04	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"	BI97	Flor <i>Tillandsia gardneri</i>
<i>Candida</i> sp. 02	BI122	<i>Vriesea friburgensis</i>	"	BI226	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"	BI136	<i>Tillandsia gardneri</i>
<i>Candida</i> sp.03	BI233	<i>Vriesea friburgensis</i>	"	BI244	<i>Bromelia antiacantha</i>	"	BI143	<i>Tillandsia crocata</i>
<i>Candida</i> sp. 04	BI242	<i>Bromelia antiacantha</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>	BI14	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"	BI87	Flor <i>Tillandsia crocata</i>
<i>Candida</i> sp. 05	BI251	<i>Tillandsia gardneri</i>	"	BI80	<i>Tillandsia gardneri</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i> ?	BI105	<i>Bromelia antiacantha</i>
<i>Candida</i> sp. 06	EI05	<i>Tillandsia gardneri</i>	"	BI94	<i>Tillandsia gardneri</i>	"	BI121	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Debaryomyces hansenii</i>	BI153	Flor <i>Aechmea recurvata</i>	"	BI102	<i>Bromelia antiacantha</i>	"	BI92	Flor <i>Tillandsia crocata</i>
"	EI01	<i>Vriesea procera</i>	"	BI118	<i>Vriesea gigantea</i>	<i>Itersonilia perplexans</i>	BI53	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI95	Flor <i>Tillandsia gardneri</i>	"	BI134	<i>Tillandsia gardneri</i>	<i>Pseudozyma</i> sp.	BI45	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI259	<i>Bilbergia nutans</i>	"	BI173	<i>Bromelia antiacantha</i>	"Yeast-like" 01	BI49	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Debaryomyces vanrijiae</i>	BI72	<i>Tillandsia gardneri</i>	"	BI210	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"Yeast-like" 01	BI40	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Dipodascus albidus</i>	BI151	Flor <i>Aechmea recurvata</i>	"	BI215	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"Yeast-like" 01	BI51	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Metschnikowia fructicola</i>	BI06	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"	BI220	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"Yeast-like" 02	BI39	<i>Vriesea friburgensis</i>

**TABELA 1:** Continuação - Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	BI132	<i>Tillandsia gardneri</i>	"	BI254	<i>Vriesea fibrurgensis</i>	"Yeast-like" 02	BI61	<i>Bromelia antiacantha</i>
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	BI128	"Gravatá"	"	BI257	<i>Aechmea recurvata</i>	"Yeast-like" 03	BI05	<i>Tillandsia geminiflora</i>
<i>Pichia castillae-similar</i>	BI81	<i>Tillandsia gardneri</i>	"	E104	<i>Tillandsia gardneri</i>	"Yeast-like" 04	BI46	<i>Vriesea fibrurgensis</i>
<i>Zygosaccharomyces bailli</i>	BI78	<i>Tillandsia gardneri</i>	<i>Cryptococcus albidus</i> ?	BI262	<i>Bilbergia nutans</i>	"Yeast-like" 05	BI42	<i>Vriesea fibrurgensis</i>
			<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>aerius</i>	BI169	<i>Bromelia antiacantha</i>	"Yeast-like" 06	BI60	<i>Bromelia antiacantha</i>
			<i>Cryptococcus amylolentus</i> ?	BI172	<i>Bromelia antiacantha</i>	"Yeast-like" 07	BI31	<i>Aechmea recurvata</i>
			<i>Cryptococcus flavus-similar</i>	BI111	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"Yeast-like" 08	BI57	<i>Bromelia antiacantha</i>
			<i>Cryptococcus humicolus</i>	BI23	<i>Vriesea fibrurgensis</i>	"Yeast-like" 09	BI48	<i>Bromelia antiacantha</i>
			<i>Cryptococcus hungaricus</i>	BI50	<i>Vriesea fibrurgensis</i>	"Yeast-like" 10	BI32	<i>Aechmea recurvata</i>
			<i>Cryptococcus laurentii</i>	BI91	Flor <i>Tillandsia crocata</i>	"Yeast-like" 10	BI90	Flor <i>Tillandsia crocata</i>
			"	BI139	<i>Tillandsia crocata</i>	"Yeast-like" 11	BI35	<i>Vriesea fibrurgensis</i>
			"	BI142	Flor <i>Tillandsia crocata</i>	"Yeast-like" 12	BI38	<i>Vriesea fibrurgensis</i>
			"	BI144	<i>Tillandsia geminiflora</i>	"Yeast-like" 13	BI41	<i>Vriesea fibrurgensis</i>
			"	BI200	<i>Vriesea procera</i>	"Yeast-like" 14	BI64	<i>Vriesea procera</i>
			"	BI202	<i>Tillandsia gardneri</i>	<i>Tilletiopsis albescens</i>	BI266	<i>Tillandsia geminiflora</i>
			"	BI207	<i>Tillandsia gardneri</i>	"	BI268	<i>Tillandsia stricta</i>
			"	BI223	<i>Tillandsia geminiflora</i>	<i>Tilletiopsis</i> sp. 01	BI250	<i>Vriesea procera</i>

**TABELA 1:** Continuação - Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

"	BI225	<i>Tillandsia geminiflora</i>	<i>Tilletiopsis</i> sp. 02	BI255	<i>Vriesea fibrurgensis</i>
"	BI231	<i>Vriesea friburgensis</i>	<i>Tilletiopsis</i> sp. 03	BI261	<i>Bilbergia nutans</i>
"	BI236	<i>Vriesea friburgensis</i>	<i>Trichosporon</i> sp.	BI249	<i>Bilbergia nutans</i>
"	BI237	<i>Vriesea friburgensis</i>			
"	BI243	<i>Bromelia antiacantha</i>			
"	BI246	<i>Vriesea gigantea</i>			
"	BI253	<i>Tillandsia gardneri</i>			
<i>Cryptococcus luteolus</i>	BI96	Flor <i>Tillandsia gardneri</i>			
"	BI119	<i>Vriesea gigantea</i>			
"	BI264	<i>Tillandsia geminiflora</i>			
<i>Cryptococcus</i> sp. 01	BI02	<i>Tillandsia geminiflora</i>			
<i>Cryptococcus</i> sp. 02	BI10	<i>Tillandsia geminiflora</i>			
<i>Cryptococcus</i> sp. 03	BI195	Água <i>Vriesea gigantea</i>			
<i>Cryptococcus</i> sp. 04	BI196	<i>Vriesea procera</i>			
<i>Cryptococcus</i> sp. 05	BI203	<i>Tillandsia gardneri</i>			
<i>Cryptococcus</i> sp. 06	BI204	<i>Tillandsia gardneri</i>			
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	BI198	<i>Vriesea procera</i>			

**TABELA 1** Continuação - Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

<i>Fellomyces polyborus</i>	B1182	<i>Dickia</i> sp
<i>Fellomyces</i> sp.	B101	<i>Tillandsia geminiflora</i>
<i>Kockovaella</i> sp.01	B120	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Kockovaella</i> sp.02	B168	<i>Vriesea procera</i>
<i>Kockovaella</i> sp.03	B179	<i>Tillandsia gardneri</i>
<i>Kockovaella</i> sp.04	B1133	<i>Tillandsia gardneri</i>
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	B109	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	B125	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	B143	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	B165	<i>Vriesea procera</i>
"	B1116	<i>Vriesea gigantea</i>
"	B1157	<i>Aechmea recurvata</i>
"	B1217	<i>Tillandsia geminiflora</i>
<i>Rhodotorula aurantiaca</i> -similar	B1228	<i>Tillandsia geminiflora</i>
<i>Rhodotorula bacarum</i>	B1138	<i>Tillandsia crocata</i>
<i>Rhodotorula glutinis</i>	B1140	Flor <i>Tillandsia crocata</i>
"	E103	<i>Vriesea procera</i>

**TABELA 1:** Continuação - Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

<i>Rhodotorula lactosa</i>	BI211	<i>Tillandsia geminiflora</i>
<i>Rhodotorula lactosa</i> -similar	BI141	<i>Tillandsia crocata</i>
<i>Rhodotorula lignophila</i> -similar	BI124	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Rhodotorula minuta</i>	BI34	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI107	<i>Vriesea gigantea</i>
"	BI114	<i>Vriesea gigantea</i>
"	BI129	"Gravatá"
"	BI206	<i>Tillandsia gardneri</i>
<i>Rhodotorula sonckii</i>	BI24	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Rhodotorula</i> sp. nov.	BI52	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI63	<i>Vriesea procera</i>
"	BI77	<i>Tillandsia gardneri</i>
"	BI109	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI120	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI154	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI181	<i>Dickia</i> sp.
"	BI224	<i>Tillandsia geminiflora</i>

**TABELA 1:** Continuação - Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

"	BI229	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI232	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI235	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI238	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	BI44	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI85	<i>Bromelia antiacantha</i>
"	BI89	Flor <i>Tillandsia crocata</i>
"	BI167	<i>Bromelia antiacantha</i>
"	BI267	<i>Tillandsia geminiflora</i>
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> -similar	BI234	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI256	<i>Vriesea friburgensis</i>
<i>Sporobolomyces roseus</i>	BI83	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI84	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI115	<i>Vriesea gigantea</i>
"	BI149	Flor <i>Aechmea recurvata</i>
"	BI158	<i>Aechmea recurvata</i>
"	BI179	Flor <i>Tillandsia geminiflora</i>

**TABELA 1:** Continuação - Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

"	BI205	<i>Tillandsia gardneri</i>
"	BI208	<i>Tillandsia gardneri</i>
"	BI212	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI216	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI219	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI222	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI245	<i>Bromelia antiacantha</i>
"	BI247	<i>Vriesea gigantea</i>
"	BI252	<i>Tillandsia gardneri</i>
"	BI258	<i>Tillandsia stricta</i>
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	BI18	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI26	<i>Vriesea friburgensis</i>
"	BI56	<i>Bromelia antiacantha</i>
"	BI100	<i>Bromelia antiacantha</i>
"	BI108	<i>Vriesea gigantea</i>
"	BI113	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI117	<i>Tillandsia geminiflora</i>

**TABELA 1:** Continuação - Listagem com a identificação presuntiva das culturas de leveduras e fungos leveduriformes isolados de bromélias e as espécies de bromélias de onde foram isoladas.

"	BI131	"Gravatá"
"	BI218	<i>Tillandsia geminiflora</i>
"	BI239	<i>Bromelia antiacantha</i>
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> -similar	BI240	<i>Bromelia antiacantha</i>
<i>Tremella indecorata</i>	BI135	<i>Tillandsia gardneri</i>



significando que a identificação pelos métodos convencionais não foi possível. Esses isolados podem representar possíveis biotipos ou espécies novas.

O gênero *Candida* é bastante heterogêneo, possuindo uma definição muito abrangente, e praticamente qualquer levedura ascomicética de reprodução assexuada que não preencha os critérios para ser classificada em outros gêneros é definida como *Candida* (Meyer *et al.*, 1998). Os isolados BI21, BI122, BI233, BI242, BI251 e EI05 foram identificados como *Candida* sp., pelos motivos descritos acima.

Os isolados identificados como *Debaryomyces hansenii* (BI153, BI95, BI259), *Debaryomyces vanriijae* (BI72), *Candida glabrata* (BI127), *Dipodascus albidus* (BI151), *Metschnikowia hawaiiensis* (BI132) e *Metschnikowia reukaufii* (BI128) diferiram das suas respectivas cepas tipo no teste de urease e no teste para indução da produção de ascósporos característicos. Eles apresentaram resultado positivo para o teste de urease, uma vez que deveriam ser negativos, e o contrário para a produção de ascósporos. O isolado identificado como *Candida glabrata* (BI127) ainda diferiu da cepa tipo no teste de assimilação de rafinose, já o isolado identificado como *Dipodascus albidus* (BI151) diferiu ainda na assimilação de lactato, o que não é esperado para esta espécie. A levedura identificada como *Metschnikowia hawaiiensis* (BI132), ainda diferiu da cepa tipo em mais três testes: assimilação de glicerol, citrato e nitrato, sendo que os dois primeiros testes deveriam ser positivos e o último negativo.

O isolado identificado como *Candida etchellsii*-similar (BI145) recebeu esta denominação por ser muito semelhante à cepa tipo, porém diferiu nos testes de assimilação de nitrato, L-lisina e crescimento em NaCl 16%. Todos

estes testes tiveram como resultado negativo, quando deveriam ser positivos, desta forma consideramos a possibilidade de que estes resultados possam ser falso-negativos, já que os testes não foram repetidos.

O isolado BI244, identificado como *Bulleromyces albus*, não foi capaz de produzir compostos amilóides. A levedura BI202 foi identificada como *Cryptococcus laurentii*, diferindo da descrição padrão desta espécie na assimilação da inulina assim como os isolados BI262, BI23, BI212, BI65, BI228 e BI141, identificados respectivamente como *Cryptococcus albidus* ?, *Cryptococcus humicolus*, *Sporobolomyces roseus*, *Rhodotorula aurantiaca*, *Rhodotorula aurantiaca*-similar e *Rhodotorula lactosa*-similar.

As cepas BI02, BI10, BI195, BI196, BI203 e BI204 foram identificadas como *Cryptococcus* sp. 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. Optou-se por essa denominação porque não chegamos a nenhuma identificação plausível nem mesmo ao nível de gênero. A afinidade basidiomicética dos isolados foi comprovada pelos testes de produção de urease e reação ao DBB positivos. Semelhante ao que ocorre com leveduras ascomicéticas que são identificadas como *Candida* sp. por causa da heterogeneidade do gênero, no grupo de leveduras com afinidade basidiomicética, os isolados que não conseguem ser classificados em outros gêneros são identificados como *Cryptococcus*.

O isolado que foi identificado como *Cryptococcus albidus* ? (BI262), além da inulina, ainda diferiu na assimilação da celobiose e do nitrito. A levedura BI257 (*Cryptococcus albidus*) e a identificada como *Cryptococcus albidus* var. *aerius* (BI169) também diferiram na assimilação de nitrito. Já o isolado EI04,

que recebeu a mesma identificação do isolado BI257, diferiu apenas na assimilação da celobiose.

Dentro do grupo de leveduras identificadas como *Cryptococcus laurentii*, podemos destacar os isolados BI142, que apresentou diferença no teste de assimilação de celobiose e o isolado BI237, que diferiu na assimilação de maltose e melibiose. Ainda dentro do gênero *Cryptococcus*, o isolado identificado como *Cryptococcus flavus*-similar (BI111) diferiu da cepa tipo na assimilação de lactato e citrato. A levedura identificada como *Tremella indecorata* (BI135) apesar de pertencer a outro gênero está citada aqui pelo mesmo motivo do BI111, apresentou o teste de assimilação de citrato negativo, e segundo a chave de Barnett *et al.*, 2000, deveria ser positivo. Estes dois testes foram realizados no início do desenvolvimento desta dissertação e muitos resultados discrepantes relacionados a estas duas fontes carbonadas foram encontrados neste período. Em alguns casos estes testes foram repetidos, por essa razão não foram citados outros dados discrepantes.

A cepa BI240 recebeu a denominação de *Sporobolomyces salmonicolor*-similar porque foi capaz de assimilar melibiose. Nesse mesmo caso encontram-se os isolados identificados como *Sporidiobolus pararoseus*-similar (BI234 e BI256). Isto diferiu não só da espécie tipo, como também da grande maioria das espécies dos gêneros *Sporobolomyces* e *Sporidiobolus*, segundo a chave de identificação de Barnett *et al.*(2000), indicando assim que este teste é muito importante na diferenciação entre estes e outros gêneros.

Leveduras do gênero *Sporobolomyces* são em grande parte incapazes de assimilar inositol (Barnett *et al.*, 2000). Porém o isolado BI158, identificado

como *Sporobolomyces roseus* apresentou resultado positivo. Como esse teste não foi refeito, considera-se que possa se tratar de um resultado falso-positivo, pois segundo a chave de Barnett *et al.* (2000), somente uma espécie, a *Sporobolomyces inositophilus* é capaz dessa assimilação e esta espécie diferia do nosso isolado em boa parte dos testes bioquímicos/fisiológicos, além de morfologia celular.

Ainda abordando características relacionadas a esses dois gêneros citados nos dois parágrafos anteriores, temos o isolado identificado como *Sporobolomyces roseus* (BI222) que diferiu da cepa tipo da espécie na assimilação da lactose e o isolado BI267 (*Sporidiobolus pararoseus*) que não foi capaz de utilizar a trealose como fonte de carbono.

Leveduras dos gêneros *Sporobolomyces/Sporidiobolus*, *Bullera*, *Bulleromyces* e *Tilletiopsis* são capazes de formar balistosporos. Porém somente em alguns de nossos isolados identificados nesses gêneros, foi possível observar essa característica (BI04, BI83, BI84, BI117, BI123, BI130, BI131, BI133, BI149, BI167, BI183, BI212, BI226, BI234, BI244 e BI267). Essa produção foi observada através de microscopia óptica ou através da alta produção que algumas tiveram, permitindo que fosse observada sua imagem especular (por causa da ação da gravidade nos balistosporos) nas tampas das placas de Petri quando incubadas.

Dentro das leveduras identificadas como *Rhodotorula aurantiaca* (BI65 e BI228), somente o isolado BI228 assumiu a denominação similar porque difere da cepa tipo da espécie em três testes: L-ramnose e inulina (citada anteriormente) com resultado positivo e manitol apresentando resultado

negativo. O isolado BI65, como dito anteriormente, diferiu apenas na assimilação da inulina.

Com identificação de *Rhodotorula minuta* obteve-se cinco isolados porém somente o isolado BI34 diferiu da cepa tipo da espécie no teste de L-ramnose. Isto indica que, apesar do pequeno número de isolados nesse grupo, a identificação foi feita satisfatoriamente. A levedura identificada como *Rhodotorula sonckii* apresentou apenas uma discrepância com relação à cepa tipo da espécie, o substrato de isolamento. Segundo Barnett *et al.* (2000), esta levedura tinha sido encontrada somente associada ao homem e não a superfície foliar. O isolado BI124 foi identificado como *Rhodotorula lignophila* similar porque apresentou diferença em dois testes, lactose e citrato. Ela apresentou resultado negativo, quando na cepa tipo da espécie é positivo. Já a levedura identificada como *Rhodotorula lactosa* (BI211) diferiram da cepa tipo da espécie na assimilação de nitrato.

As culturas BI52, BI63, BI77, BI109, BI120, BI154, BI181, BI224, BI229, BI232, BI235 e BI238 não foram satisfatoriamente identificadas utilizando tanto a chave de Barnett *et al.* (2000) quanto o programa de identificação de leveduras (Ciriello & Lachance, 2001) e não apresentaram um perfil bioquímico/fisiológico semelhante a qualquer espécie já descrita. Em alguns casos os testes foram repetidos por mais de uma vez. Através das características apresentadas pelos isolados, concluímos apenas que pertenciam ao gênero *Rhodotorula*. Como o número de isolados era muito grande, foram escolhidos quatro isolados representativos (BI63, BI77, BI120 e

BI235) que foram posteriormente seqüenciados e que confirmaram se tratar de uma espécie nova (*Rhodotorula* sp. nov.).

O isolado identificado como *Tilletiopsis* sp. 01 (BI250), apesar de se encaixar tanto bioquimicamente quanto morfológicamente no gênero, diferiu no teste de reação com o corante DBB. Por se tratar de fungo leveduriforme com afinidade basidiomicética, esperava-se que adquirisse a coloração característica para esse grupo (vermelha).

Apesar de na maioria dos casos não terem sido realizados testes bioquímicos com as cepas de fungos leveduriformes, as cepas identificadas como *Aureobasidium pullulans* (BI17, BI87, BI97, BI136, BI143) foram capazes de assimilar uréia no teste de urease, o que diferiu da descrição da espécie. Já os que tiveram como identificação *Aureobasidium pullulans* ? (BI92 e BI121) além da assimilação de uréia, ainda foram capazes de se corar com o reagente DBB. O isolado BI105, que recebeu a mesma denominação, foi urease negativa, mas também se corou com DBB. A espécie é um ascomiceto, sendo assim, não deveria produzir urease, nem tão pouco se corar pelo DBB, porém foram identificadas como tais, por causa de características coloniais e celulares, que são normalmente usadas para identificar este grupo de fungos.

As cepas identificadas como fungos leveduriformes foram classificadas em quatorze grupos, de acordo com características de morfologia coloniais, microscópicas e de reação ao teste de urease/DBB. Os grupos denominados com “yeast-like” 01, “yeast-like” 03, “yeast-like” 05, “yeast-like” 07, “yeast-like” 10, “yeast-like” 12 e “yeast-like” 14, apesar de apresentarem reação negativa ao teste de DBB, foram separados por causa das suas diferentes

características macro e microscópicas. Os isolados que foram agrupados como “yeast-like” 02, “yeast-like” 04, “yeast-like” 06, “yeast-like” 08, “yeast-like” 09, “yeast-like” 11 e “yeast-like” 13 apresentaram teste de urease/DBB positivos.

Entre os isolados de algas, a cepa BI126 foi identificada como *Prototheca zopfii* e as cepas BI168 e BI241 como *Prototheca wickerhamii* através de testes bioquímicos/fisiológicos e macro/micromorfológicos. São conhecidas cinco espécies dentro deste gênero, porém somente essas duas espécies até hoje são consideradas patógenos oportunistas do homem (Pore, 1998). Apesar de serem microrganismos saprofiticos de resíduos e detritos orgânicos, já foi relatada sua associação com habitats aquáticos, alimentos e outros habitats como porcos, óleo, plantas e solos (Pore *et al.*, 1983; Pore, 1986). Pore (1985b) estudou a associação entre espécies de *Prototheca* e diferentes plantas. Entre elas podemos destacar a banana (*Musa sapientum*), *Heliconia* sp. e bromélia. Ele encontrou a espécie *Prototheca zopfii* em associação com a bromélia estudada. Embora o isolamento deste tipo de microrganismo não estivesse dentro dos nossos objetivos, isso ocorreu devido ao fato de colônias das algas desse gênero serem semelhantes às colônias de leveduras e também por serem identificadas através de assimilação de alguns carboidratos (Pore, 1985a).

#### **4.2.1 Testes morfológicos**

A avaliação de morfologia colonial e celular dos isolados de leveduras, fungos leveduriformes e algas podem ser visualizados na tabela 3 (Anexos).

#### **4.2.2 Testes bioquímicos e fisiológicos**

Os resultados dos testes bioquímicos e fisiológicos necessários para a identificação dos isolados podem ser vistos nas tabelas 4 e 5 (Anexos).

#### **4.3 Taxonomia molecular de leveduras**

##### **4.3.1 Sequenciamento da região D1/D2 do 26S, ITS e 5.8S do rDNA.**

Os isolados BI63, BI77, BI120 e BI235 foram seqüenciados e analisados por Dr. Marc-André Lachance (Department of Biology, University of Western Ontario, London, ON, Canadá). A seqüência completa do isolado BI120, o alinhamento e a árvore filogenética com as espécies relacionadas podem ser vistos nas figuras 1, 2A, 2B, 2C e 3, respectivamente. Esses isolados pertencem a uma nova espécie de levedura (*Rhodotorula* sp. nov.), próxima filogeneticamente à *Rhodotorula taiwaniana*, *Rh. acheniorum* e uma nova espécie de *Rhodotorula* isolada em Portugal.



5' TAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATCACTGATTCTTTAACCTGGCAAAGTGGC  
GCAAGCTGCTTTGCCGCCAAGGTGTGGCTCCGCACCTTGTTCAACTAAACTGGGCTACC  
ATTTTACACACGGTTGCATCTGTCTGGGGCTTCGGCGCCGACAAATCTTTTTTACACACGC  
TGATCTGTAGTATTTGTATGGATAATGACTGGTAATGCGGTCGTATAATCAAAAAACAA  
CTTTTGGCAACGGATCTCTTGGTTCTCCCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATAG  
GTAATGTGAATTGCAGAATGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCTCCTG  
GACTTACATCCGGAGAGCATGCCTGTCTGAGGGCCGCGAATTTCTTCGAGCGCCAGCTT  
TTTTCAATCTGAAAGAAGTTGACGGATCGGTTCTGAGGGCTGCCATTTGCACTGGCTCC  
CTCGAAATACATCAGCTGGACTGCACATGCTAGAGGAAGGATATACGTCCCTCTCCCTC  
CGGATTTTGATAATTATCAAAGAACGGACGTGATGGAAACTTCTTATCTCGAATATGGT  
GGCTGGCTTTAACCCGCCCCACGGCGTCATATGCCGAGGGGATTTTTTAATTCAAACGGC  
CTCAGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAA  
ACTAACAAGGATTCCCCTAGTAACGGCGAGTGAAGAGGGAAAAGCCCAAGATTGAAAGC  
TGGCGTCTTCGGCGTCCGCATTGTAATCTCAAGAAGCATTTTCCGCTTCGGACCAAGCC  
TAAGTCCCTTGAAAAGGGCATCGTAGAGGGTGAGAATCCCGTACATGGCTTGGAGCGC  
CCGAGGCTTTGTGATATGCATTCTAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAATG  
GGTGGTAAATGCCATCTAAGGCTAAATATTGGGGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCG  
TGAGGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGCCAAA  
AGGGAAGGGTAGGAGGTCAGAGATGCGGCGTGGGATTCAGCCTTGCTTTTGCTTGGTGT  
TTTTCCCTCATTGCAGGCCAACGTCGGTTTTTGGGCACTGGAGAAGGGTGAGAGGAATGT  
GGCACTCTTCGGGGTGTGTTATAGCCTCTCACTGGATACAGCGACCGGGACCGAGGAAC  
GCAGCGTACTCGAAAGAGCGGGCCTTCGGGCACCTTTACGCTTAGGGCGTTGGCATAAT  
GGCCCTCTACCACCCGTCTTGAAACACGGACC 3'

**Figura 1: Sequência completa do rDNA do isolado BI120 (*Rhodotorula* sp. nov.)**

```

Query: 44  gcatatcaataagcggaggaaaagaaactaacaaggattcccctagtaacggcgagtgaa 103
          |||
Sbjct: 1   gcatatcaataagcggaggaaaagaacctaccaaggattcccctagtaacggcgagtgaa 60

Query: 104 gagggaaaagcccaagattgaaagctggcgtcttcggcgtccgcattgtaatctcaagaa 163
          |||
Sbjct: 61  gaggaaagagcccaagattgaaagctggcgtcttcggcgtccgcattgtaatctcaagaa 120

Query: 164  gcattttccgcttcggaccaagcctaagtccttggaaaagggcatcgtagagggtgaga 223
          |||
Sbjct: 121 gcattttccgcttcggaccaagcctaagtccttggaaaagggcatcgtagagggtgaga 180

Query: 224  atcccgtacatggcttggagcgcgccgaggcttggatgatgcattctaagagtcgagttg 283
          |||
Sbjct: 181  atcccgtacatggcttggagcgcgccgaggcttggatgatgcattctaagagtcgagttg 240

Query: 284  tttgggaatgcagctcaaaatgggtggtaaatgccatctaaggctaaatattggggagag 343
          |||
Sbjct: 241  tttgggaatgcagctcaaaatgggtggtaaatgccatctaaggctaaatattggggagag 300

Query: 344  accgatagcgaacaagtaccgtgagggaaagatgaaaagaactttgaaaagagagttaaa 403
          |||
Sbjct: 301  accgatagcgaacaagtaccgtgagggaaagatgaaaagaactttgaaaagagagttaaa 360

Query: 404  cagtacgtgaaattgccaaaagggagggttaggaggtcagagatgcggcgtgggattcag 463
          |||
Sbjct: 361  cagtacgtgaaattgccaaaagggagggttaggaggtcagagatgcggcgtgggattcag 420

Query: 464  ccttgcttttgcttgggtgttttccctcattgcaggccaacgtcggttttgggactgga 523
          |||
Sbjct: 421  ccttgcttttgcttgggtgttttccctcattgcaggccaacgtcggttttgggactgga 480

Query: 524  gaaggggtgagaggaatgtggcactcttcgggggtgtgttatagcctctcactggatacagc 583
          |||
Sbjct: 481  gaatgggtgagaggaatgtggcacccttcgggggtgtgttatagcctctcactggatacagc 540

Query: 584  gaccgggaccgaggaacgcagcgtactcgaaagagcgggccttcgggcacctttacgctt 643
          |||
Sbjct: 541  gaccgggaccgaggaacgcagcgtactcgaaagagcgggccttcgggcacctttacgctt 600

Query: 644  agggcgttggcataatggccctctaccacccttcttgaacacg 687
          |||
Sbjct: 601  agggcgttggcataatggccctctaccacccttcttgaacacg 644

```

D1/D2

BI 120 x Rh. taiwaniana

Score = 1204 bits (626), Expect = 0.0

Identities = 638/644 (99%)

Strand = Plus / Plus

**Figura 2A: Alinhamento das regiões D1/D2 do isolado BI120 (*Rhodotorula* sp. nov.) com a espécie mais próxima *Rhodotorula taiwaniana*.**

```

Query: 53 taagcggaggaaaagaaactaacaaggattcccctagtaacggcgagtgaagagggaaaa 112
          |||
Sbjct: 1 taagcggaggaaaagaaactaacaaggattcccctagtaacggcgagtgaagagggaaga 60

Query: 113 gcccaagattgaaagctggcgctcttcggcgctccgcattgtaatctcaagaagcattttcc 172
          |||
Sbjct: 61 gcccaagattgaaagctggcgctcttcggcgctccgcattgtaatctcaagaagcattttcc 120

Query: 173 gcttcggaccaagcctaagtccttggaaaagggcatcgtagagggtgagaatcccgtac 232
          |||
Sbjct: 121 gcttcggaccaagcctaagtccttggaaaagggcatcgtagagggtgagaatcccgtac 180

Query: 233 atggcttggagcgcccaggccttctgtgatatgcattctaagagtcgagttgtttgggaat 292
          |||
Sbjct: 181 atggcttggagcgcccaggccttctgtgatatgcattctaagagtcgagttgtttgggaat 240

Query: 293 gcagctcaaaatgggtggtaaatgccatctaaggctaaatattggggagagaccgatagc 352
          |||
Sbjct: 241 gcagctcaaaatgggtggtaaatgccatctaaggctaaatattggggagagaccgatagc 300

Query: 353 gaacaagtaccgtgagggaaagatgaaaagaactttgaaaagagagttaaacagtacgtg 412
          |||
Sbjct: 301 gaacaagtaccgtgagggaaagatgaaaagaactttgaaaagagagttaaacagtacgtg 360

Query: 413 aaattgccccaaaaggggaagggtaggaggtcagagatgcggcgctgggattcagccttgcttt 472
          |||
Sbjct: 361 aaattgccccaaaaggggaagggtaggaggtcagagatgcggcgctgggattcagccttgcttt 420

Query: 473 tgcttgggtgtttttccctcattgcaggccaacgtcggttttgggactggagaaggggtga 532
          |||
Sbjct: 421 tgcttgggtgtttttcccattttgcaggccaacgtcggttttgggactggagaatgggtgg 480

Query: 533 gaggaatgtggcactcttcgggggtgtgttatagcctctcactggatacagcgaccgggac 592
          |||
Sbjct: 481 gaggaatgtggcactcttcgggggtgtgttatagcctctcactggatacagcgaccgggac 540

Query: 593 cgaggaacgcagcgtactcgaaagagcgggccttcgggcacctttacgcttagggcgttg 652
          |||
Sbjct: 541 cgaggaacgcagcgtactcgaaagagcgggccttcgggcacctttacgcttagggcgttg 600

Query: 653 gcataatggccctctaccaccctcttgaacacg 687
          |||
Sbjct: 601 gcataatgaccctctaccaccctcttgaacacg 635

```

D1/D2

BI 120 x Rh. acheniorum

Score = 1158 bits (602), Expect = 0.0

Identities = 624/635 (98%)

Strand = Plus / Plus

**Figura 2B: Alinhamento das regiões D1/D2 do isolado BI120 (*Rhodotorula* sp. nov.) com a espécie *Rhodotorula acheniorum*.**

```

Query: 397 ctttgccgccaaggtgtggctccgcaccttgttcaactaaact-gggctaccatttt-ac 454
          |||||  |||||||  |||||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct: 80  ctttgccgc-aaggtgtggctccgcaccttttcaactaaaattgggctaccatttttac 138

Query: 455 acacggttgcatctgtcggggcttcggcgccgacaaatctttttacacacgctgatctgt 514
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct: 139 acacggttgcatctgtcggggcttcggcgccgacg----tttacacacacggttgatctat 194

Query: 515 agta-tttgtatggataatgactggtaatgcggctcgtataatcaaaaacaacttttgg 573
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||
Sbjct: 195 agtaatttgtatggataatgactggtaatgcggctcgtataatcaaaa-aacaacttttgg 253

Query: 574 caacggatctcttggttctcccatcgatgaagaacgcagcgaacgcgataggtaatgtg 633
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||
Sbjct: 254 caacggatctcttggttctcccatcgatgaagaacgcagcgaacgcgataggtaatgtg 313

Query: 634 aattgcagaatgtgaatcatcgaatcttgaacgcaccttgcgctctcctggacttacat 693
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||
Sbjct: 314 aattgcagaatgtgaatcatcgaatcttgaacgcaccttgcgctctcctggacttacat 373

Query: 694 ccggagagcatgcctgtctgagggccgcgaatttctsttcgagcgcagcttttttcaat 753
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct: 374 ccggagagcatgcctgtctgagggccgcgaatttc--ttcgagcgcagctttttttttt 431

Query: 754 ctgaaagaagttgacggatcgggttctgaggg---ctgccatttgcaactggctccctcgaa 810
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct: 432 ctgaaa-agcttgacggatcgggtactgagggtttttgccatttgcaactggctccctctaa 490

Query: 811 atacatcagctggactgcacatgctagaggaaggatatacgtccctctccctccggattt 870
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||
Sbjct: 491 atacatcagctggactgcacatgctagaggaaggatatacgtccctctccctccggattt 550

Query: 871 tgataattatc-aaagaacggacgtgatggaaacttcttctcgaataggtggctggc 929
          |||||  |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct: 551 tgataattatcaaaagtacggacgtgatggaaacttcttgtctcgaccatgggtggctggc 610

Query: 930 tttaaccgcgcc 942
          |||||  |||||
Sbjct: 611 ttaaccacccc 623

```

BI 120 X Rh. taiwaniana ITS

Score = 749 bits (389), Expect = 0.0  
Identities = 515/553 (93%), Gaps = 16/553 (2%)  
Strand = Plus / Plus

```

Query: 32  ctttgccgccaaggtgtggctccgcaccttgttcaactaaact-gggctaccatttt-ac 89
          |||||  |||||||  |||||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct: 80  ctttgccgc-aaggtgtggctccgcaccttttcaactaaaattgggctaccatttttac 138

Query: 90  acacggttgcatctgtcggggcttcggcgccgacaaatctttttacacacgctgatctgt 149
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct: 139 acacggttgcatctgtcggggcttcggcgccgacg----tttacacacacggttgatctat 194

Query: 150 agta-tttgtatggataatgactggtaatgcggctcgtataatcaaaaacaacttttgg 208
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||
Sbjct: 195 agtaatttgtatggataatgactggtaatgcggctcgtataatcaaaa-aacaacttttgg 253

Query: 209 caacggatctcttggttctcccatcgatgaagaacgcagcgaacgcgataggtaatgtg 268
          |||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||
Sbjct: 254 caacggatctcttggttctcccatcgatgaagaacgcagcgaacgcgataggtaatgtg 313

```

## Continuação:

```
Query: 269 aattgcagaatgtgaatcatcgaatctttgaacgcaccttgcgctctcctggacttacat 328
          |||
Sbjct: 314 aattgcagaatgtgaatcatcgaatctttgaacgcaccttgcgctctcctggacttacat 373

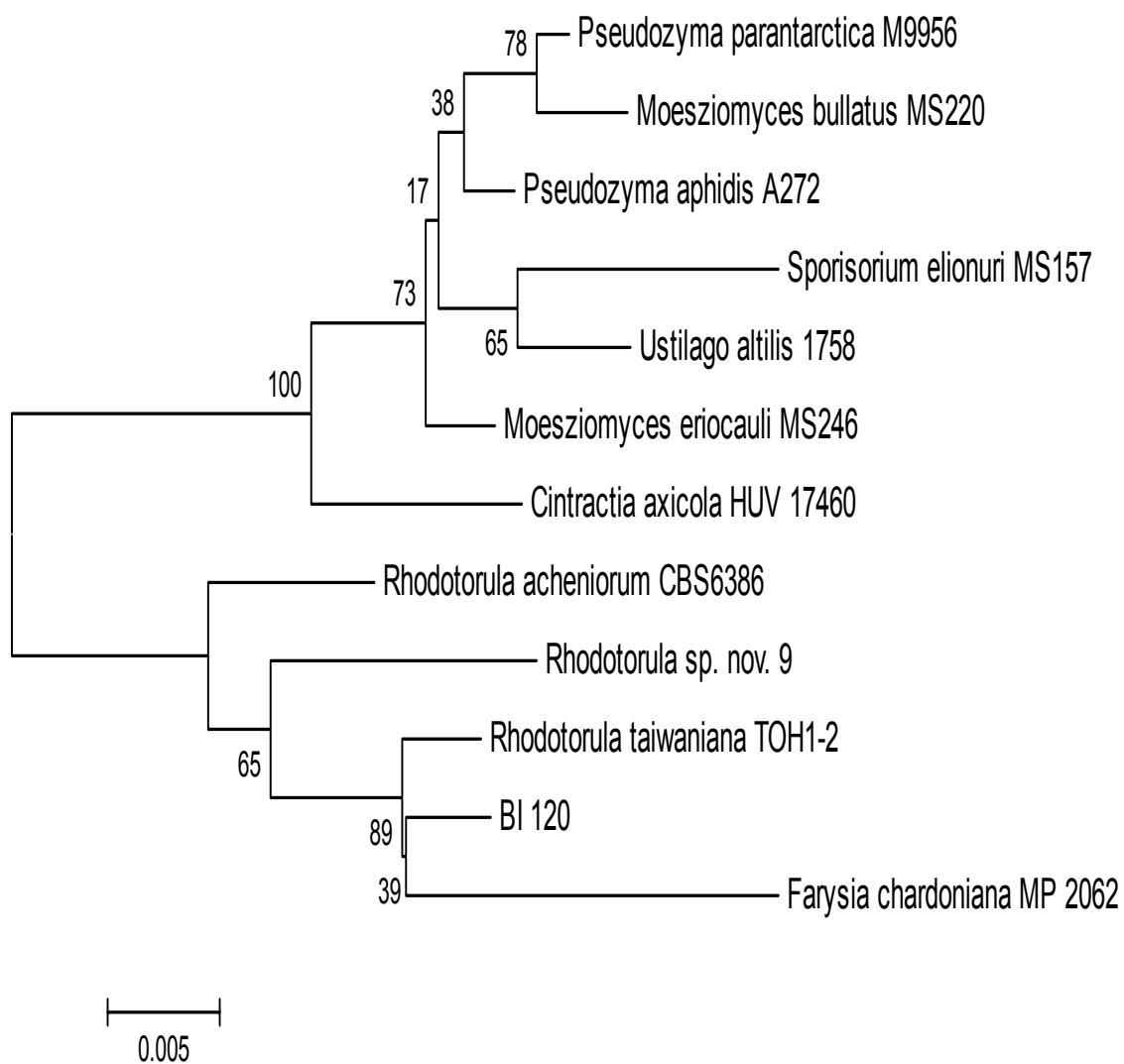
Query: 329 ccggagagcatgcctgtctgagggccgcgaatttct 364
          |||
Sbjct: 374 ccggagagcatgcctgtctgagggccgcgaatttct 409
```

Score = 486 bits (252), Expect = e-134

Identities = 318/336 (94%), Gaps = 9/336 (2%)

Strand = Plus / Plus

**Figura 2C: Alinhamento da região ITS do isolado BI120 (*Rhodotorula* sp. nov.) com a espécie *Rhodotorula taiwaniana*.**



**Figura 3: Árvore filogenética mostrando relações entre o isolado BI120 (*Rhodotorula* sp. nov.) e algumas espécies de leveduras filogeneticamente próximas.**

## 4.4 Potencial Biotecnológico

### 4.4.1 Avaliação semiquantitativa do perfil enzimático

O perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias está apresentado nas tabelas 2 e 3 e na figura 4. Não foi possível concluir a identificação de alguns isolados, pois estas não cresceram para a identificação. Sendo assim, estas são chamadas de “isolado não identificado”. Cerca de 36% dos isolados foi capaz de produzir a enzima  $\beta$ -galactosidase (lactase), sendo que os ascomicetos, *Prototheca* e os fungos leveduriformes pouco produziram. Aproximadamente 42% das leveduras basidiomicéticas foram capazes de assimilar lactose, sendo que 28,8% apresentaram resultado positivo (+) ou alta produção (++). Estes resultados foram similares aos de Fuentefria & Valente (2005) com isolados obtidos a partir do filoplano de *Hibiscus rosa-sinensis*, provenientes do Parque Farroupilha, Porto Alegre, RS.

A enzima celobiase foi confirmada em 58% do total de isolados. Os ascomicetos apresentaram-se como melhores produtores com 63,3% de positividade, sendo que 42,2% apresentaram boa (+) ou alta produção (++). Seguindo, os basidiomicetos apresentaram 61,1% de isolados positivos, com 29,8% bons produtores (+) ou com alta produção (++). Aproximadamente 46% dos fungos leveduriformes tiveram resultado positivo, com 22,8% apresentando boa (+) ou alta produção (++). Dos três isolados identificados como *Prototheca*, apenas um foi capaz de produzir celobiase, com boa produção (+).

**TABELA 2:** Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia da Pedreira.

Isolados	Nº- isolado	Celobiase	Lactase	Amilase	Caseinase	Gelatinase	Esterase
<b>Ascomicetos</b>							
<i>Candida glabrata</i>	BI127	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> sp. 01	BI21	w	-	++	w	+	-
<i>Candida</i> sp. 02	BI122	-	-	+	w	-	w
<i>Debaryomyces hansenii</i>	BI95	++	-	-	-	+	-
<i>Debaryomyces vanriijiae</i>	BI72	++	-	-	-	-	-
<i>Metschnikowia fructicola</i>	BI06	-	-	-	w	-	-
<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	BI132	++	-	-	-	-	-
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	BI128	++	-	-	-	-	w
<i>Pichia castillae</i> -similar	BI81	+	-	-	+	-	++
<i>Zygosacharomyces bailli</i>	BI78	-	-	-	++	-	-
Isolado não identificado	BI16	-	-	-	-	-	-
<b>Basidiomicetos</b>							
<i>Bullera</i> sp. 01	BI123	-	-	w	-	-	W
<i>Bullera</i> sp. 02	BI130	w	-	w	-	-	+
<i>Bulleromyces albus</i>	BI04	+	-	-	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	BI14	w	-	w	-	-	-
"	BI80	w	w	+	w	-	-
"	BI94	+	++	w	w	-	-
"	BI102	w	w	w	w	-	-
"	BI118	-	-	w	w	-	-
"	BI134	w	++	w	++	-	w



**TABELA 2:** Continuação - Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia da Pedreira.

"	BI254	w	-	-	-	-	-
"	BI257	++	-	+	++	-	-
<i>Cryptococcus flavus</i> -similar	BI111	w	-	+	++	-	w
<i>Cryptococcus humicolus</i>	BI23	w	-	++	w	-	-
<i>Cryptococcus hungaricus</i>	BI50	w	-	-	-	-	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	BI91	++	++	w	++	-	w
"	BI139	w	w	+	w	-	-
"	BI142	-	++	-	-	-	-
<i>Cryptococcus luteolus</i>	BI96	w	-	-	-	-	-
"	BI119	w	-	w	++	-	-
<i>Cryptococcus</i> sp. 1	BI02	-	-	-	-	-	-
<i>Cryptococcus</i> sp. 2	BI10	+	w	-	-	-	-
<i>Fellomyces</i> sp.	BI01	w	w	++	-	-	-
<i>Kockovaella</i> sp. 01	BI20	++	+	+	+	-	++
<i>Kockovaella</i> sp. 02	BI68	-	w	-	++	-	-
<i>Kockovaella</i> sp. 03	BI79	++	+	+	+	-	++
<i>Kockovaella</i> sp. 04	BI133	++	++	+	++	-	-
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	BI09	w	-	-	-	-	-
"	BI25	-	-	-	-	-	w
"	BI43	-	-	-	-	+	-
"	BI65	w	-	+	-	+	-
"	BI116	w	-	-	-	-	w
<i>Rhodotorula bacarum</i>	BI138	-	-	-	+	-	w
<i>Rhodotorula glutinis</i>	BI140	-	-	w	-	-	-
<i>Rhodotorula lactosa</i> -similar	BI141	++	+	w	-	++	-
<i>Rhodotorula lignophila</i> -similar	BI124	w	-	-	-	-	w
<i>Rhodotorula minuta</i>	BI34	-	-	-	-	-	-

**TABELA 2:** Continuação - Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia da Pedreira.

"	BI107	w	w	-	-	-	w
"	BI114	+	-	+	-	-	w
"	BI129	-	-	-	-	-	w
<i>Rhodotorula sonckii</i>	BI24	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodotorula</i> sp. nov.	BI52	w	++	-	++	-	w
"	BI63	w	+	-	w	-	-
"	BI77	-	++	-	++	-	-
"	BI109	-	w	-	++	-	w
"	BI120	-	++	-	++	+	+
<i>Sporobolomyces pararoseus</i>	BI44	w	-	-	-	-	w
"	BI85	w	w	+	++	+	w
"	BI89	-	w	+	++	-	w
<i>Sporobolomyces pararoseus</i> -similar	BI256	+	-	-	-	-	++
<i>Sporobolomyces roseus</i>	BI83	w	-	-	-	-	+
"	BI84	w	-	+	++	-	-
"	BI115	++	-	-	-	-	+
"	BI258	-	-	-	-	-	-
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	BI18	-	-	-	-	-	-
"	BI26	-	-	-	-	-	-
"	BI56	-	-	-	++	+	w
"	BI100	-	-	w	-	-	w
"	BI108	-	-	-	-	-	++
"	BI113	-	-	-	-	-	w
"	BI117	+	-	-	-	-	w
"	BI131	-	-	-	-	-	-
<i>Tremella indecorata</i>	BI135	+	++	w	-	-	+
Isolado não identificado	BI71	-	NR	-	-	-	NR

**TABELA 2:** Continuação - Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia da Pedreira.

Isolado não identificado	BI73	-	NR	-	-	++	NR
Isolado não identificado	BI101	++	NR	w	-	-	NR
Isolado não identificado	BI104	-	-	-	-	-	NR
Isolado não identificado	BI110	+	NR	-	-	-	NR
Isolado não identificado	BI125	-	NR	-	-	-	NR
Isolado não identificado	BI137	++	NR	-	-	++	NR
<b>Fungos leveduriformes</b>							
<i>Aureobasidium pullulans</i>	BI17	++	NR	w	++	-	w
"	BI47	NR	NR	+	-	-	NR
"	BI87	w	NR	+	++	-	w
"	BI93	w	NR	+	++	-	w
"	BI97	w	NR	w	++	-	-
"	BI136	+	NR	-	++	+	-
"	BI143	+	NR	+	++	-	w
<i>Aureobasidium pullulans</i> ?	BI92	w	NR	+	++	-	w
<i>Aureobasidium pullulans</i> ?	BI105	-	NR	w	w	-	-
<i>Aureobasidium pullulans</i> ?	BI121	-	NR	+	++	-	w
<i>Itersonilia perplexans</i>	BI53	++	-	+	++	w	-
<i>Pseudozyma</i> sp.	BI45	-	NR	-	++	++	NR
<i>Tilletiopsis</i> sp.	BI255	-	W	+	++	-	-
"Yeast-like" 01	BI49	-	NR	+	++	-	NR
"Yeast-like" 01	BI40	w	NR	w	-	-	NR
"Yeast-like" 01	BI51	w	NR	w	++	-	NR
"Yeast-like" 02	BI39	-	NR	-	++	++	NR
"Yeast-like" 02	BI61	-	NR	-	++	-	w
"Yeast-like" 03	BI05	w	NR	-	++	++	NR
"Yeast-like" 04	BI46	-	NR	+	++	-	w

**TABELA 2:** Continuação - Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia da Pedreira.

"Yeast-like" 05	BI42	-	NR	-	++	-	w
"Yeast-like" 06	BI60	-	NR	-	++	++	w
"Yeast-like" 07	BI31	+	NR	w	++	++	NR
"Yeast-like" 08	BI57	-	NR	-	+	-	-
"Yeast-like" 09	BI48	-	NR	w	++	-	NR
"Yeast-like" 10	BI32	-	NR	-	++	-	w
"Yeast-like" 10	BI90	-	NR	++	++	-	w
"Yeast-like" 11	BI35	-	NR	w	++	-	-
"Yeast-like" 12	BI38	-	NR	-	+	++	NR
"Yeast-like" 13	BI41	-	NR	w	-	-	NR
"Yeast-like" 14	BI64	-	NR	w	++	++	NR

#### **Algas**

---

<i>Prototheca zopfii</i>	BI126	-	-	-	-	+	-
--------------------------	-------	---	---	---	---	---	---

++, forte atividade; +, atividade positiva; W, fraca atividade; -, negativa atividade ; NR, não realizado.

**TABELA 3:** Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia de Fora.

Isolados	Nº- isolado	Celobiase	Lactase	Amilase	Caseinase	Gelatinase	Esterase
<b>Ascomicetos</b>							
<i>Candida diddensiae</i>	BI146	+	-	-	++	-	w
<i>Candida etchellsii</i> -similar	BI145	-	-	-	w	-	w
<i>Candida</i> sp. 03	BI233	w	-	+	w	-	-
<i>Candida</i> sp. 04	BI242	-	-	-	-	-	+
<i>Candida</i> sp. 05	BI251	w	-	+	++	w	-
<i>Candida</i> sp. 06	EI05	+	-	-	-	-	+
<i>Debaryomyces hansenii</i>	BI153	w	-	-	-	-	w
"	BI259	+	-	-	-	-	+
"	EI01	-	-	-	w	-	+
<i>Dipodascus albidus</i>	BI151	-	-	-	w	-	++
<b>Basidiomicetos</b>							
<i>Bullera</i> sp. 03	BI183	-	-	-	-	-	-
"	BI241	+	-	-	-	-	w
<i>Bulleromyces albus</i>	BI226	-	+	w	-	-	-
<i>Bulleromyces albus</i>	BI244	+	++	w	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	BI173	++	+	-	-	-	+
"	BI210	++	+	-	w	-	+
"	BI215	w	-	-	-	-	+
"	BI220	+	+	-	-	-	++
"	EI04	-	-	-	-	-	+
<i>Cryptococcus albidus</i> ?	BI262	-	-	-	++	-	-

**TABELA 3:** Continuação - Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia de Fora.

<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>aerius</i>	BI169	w	w	-	-	-	-
<i>Cryptococcus amylolentus</i>	BI172	w	-	w	++	-	+
<i>Cryptococcus laurentii</i>	BI144	-	-	w	++	-	NR
"	BI200	++	+	-	++	-	+
"	BI202	w	w	-	-	-	-
"	BI207	++	++	w	++	-	+
"	BI223	+	+	-	-	-	-
"	BI225	++	+	w	++	-	+
"	BI231	++	+	w	++	-	+
"	BI236	-	++	w	-	-	+
"	BI237	++	++	-	-	-	+
"	BI243	++	w	-	-	-	+
"	BI246	w	w	-	-	-	+
"	BI253	++	++	-	-	-	-
<i>Cryptococcus luteolus</i>	BI264	-	-	w	w	-	++
<i>Cryptococcus</i> sp. 3	BI195	++	++	-	-	-	-
<i>Cryptococcus</i> sp. 4	BI196	w	-	-	-	-	+
<i>Cryptococcus</i> sp. 5	BI203	w	-	w	-	-	+
<i>Cryptococcus</i> sp. 6	BI204	++	++	-	++	-	w
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	BI198	+	-	-	-	-	+
<i>Fellomyces polyborus</i>	BI182	++	++	w	++	++	+
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	BI157	w	-	-	w	++	+
"	BI217	w	-	-	-	-	-
<i>Rhodotorula aurantiaca</i> -similar	BI228	w	-	-	-	-	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	EI03	-	-	-	w	-	+
<i>Rhodotorula lactosa</i>	BI211	w	-	w	-	-	w

**TABELA 3:** Continuação - Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia de Fora.

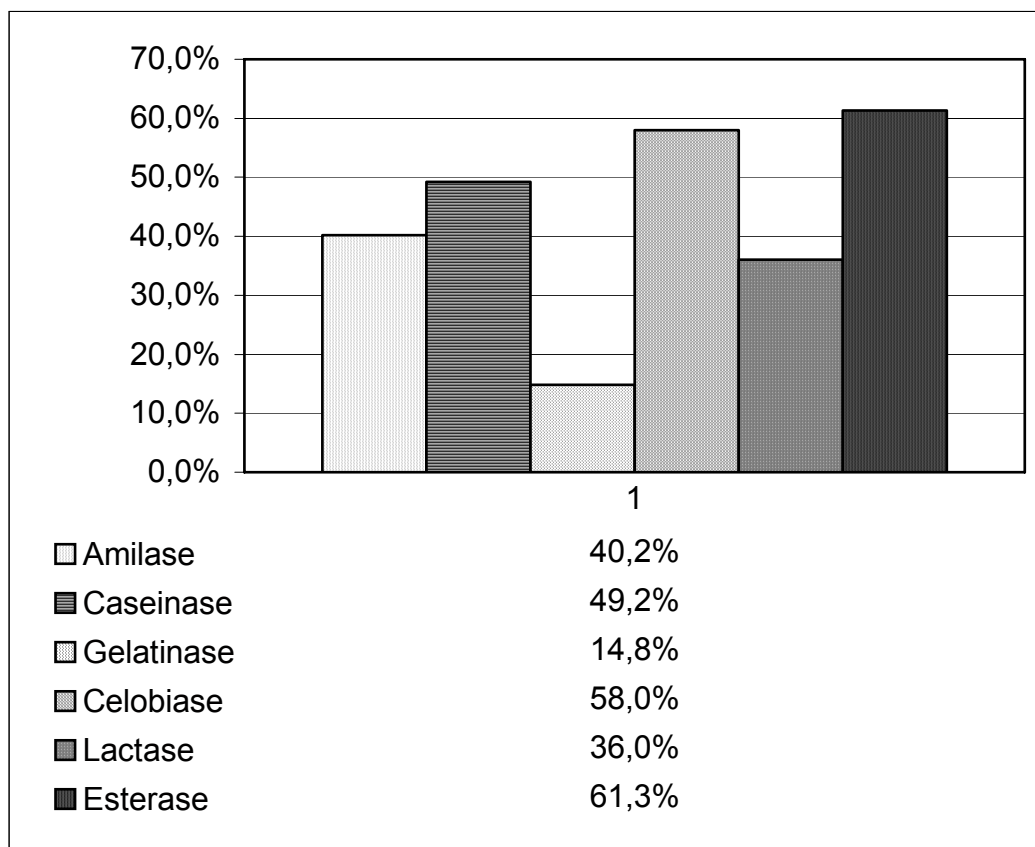
<i>Rhodotorula minuta</i>	BI206	+	-	-	-	-	w
<i>Rhodotorula</i> sp. nov.	BI154	-	+	-	++	-	++
"	BI181	-	++	-	++	-	+
"	BI224	-	+	-	++	-	+
"	BI229	-	+	-	++	-	+
"	BI232	w	++	-	++	-	+
"	BI235	-	+	-	++	-	+
"	BI238	-	+	-	++	-	+
<i>Sporobolomyces pararoseus</i>	BI167	+	-	++	-	-	w
"	BI267	w	-	-	-	-	w
<i>Sporobolomyces pararoseus</i> -similar	BI234	+	-	++	++	-	+
<i>Sporobolomyces roseus</i>	BI149	-	-	+	++	-	++
"	BI158	+	-	-	+	++	+
"	BI180	-	-	w	-	-	+
<i>Sporobolomyces roseus</i>	BI205	+	-	-	-	-	-
"	BI208	-	-	-	-	-	++
"	BI212	+	-	++	++	-	+
"	BI216	-	w	-	-	-	w
"	BI219	w	-	-	-	-	+
"	BI222	w	-	-	-	-	+
"	BI245	-	-	-	-	-	++
"	BI247	-	-	+	-	-	+
"	BI252	w	-	-	-	-	-
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	BI218	+	-	-	-	-	+
"	BI239	-	-	-	-	-	w
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> -similar	BI240	w	-	-	-	-	++

**TABELA 3:** Continuação - Perfil enzimático das leveduras, fungos leveduriformes e algas isoladas de bromélias coletadas na Praia de Fora.

Isolado não identificado	BI263	-	w	w	++	++	NR
<b>Fungos leveduriformes</b>							
<i>Tilletiopsis albescens</i>	BI266	+	++	w	++	++	-
"	BI268	-	+	w	++	w	w
<i>Tilletiopsis</i> sp. 01	BI261	+	++	w	++	++	+
<i>Tilletiopsis</i> sp. 02	BI250	w	-	+	++	-	-
<i>Trichosporon</i> sp.	BI249	+	+	-	-	-	++
<b>Algas</b>							
<i>Prototheca wicherhamii</i>	BI168	-	-	-	-	-	w
"	BI241	+	-	-	-	-	w

++, forte atividade; +, atividade positiva; W, fraca atividade; -, negativa atividade ; NR, não realizado.





**Figura 4:** Percentagem absoluta do perfil enzimático avaliado nos isolados de bromélias.

Aproximadamente 81% dos isolados obtidos por Fuentefria & Valente (2005) foram produtores de celobiase. Apesar da diferença de percentual, aparentemente a produção de celobiase é comum em isolados de filoplano, o que era esperado, já que a celobiose é um componente da parede celular de plantas (Lynd *et al.*, 2002).

A atividade amilolítica foi encontrada em 40,2% dos isolados. Quase 70% dos isolados de fungos leveduriformes apresentaram resultado positivo, com 33,3% bons (+) ou fortes produtores (++). Aproximadamente trinta e seis por cento (35,9%) das leveduras com afinidade basidiomicética apresentaram-se positivas para a produção de amilase, sendo que 14,5% foram boas produtoras (+) ou tiveram uma ótima produção (++). Apenas 21,1% das leveduras com afinidade ascomicética apresentaram-se positivas (+ ou ++) e todos os isolados de *Prototheca* foram negativos. A produção de amilase por leveduras isoladas de diferentes substratos de Mata Atlântica foi testada por Buzzini & Martini (2002), que obtiveram um baixo percentual de leveduras amilolíticas utilizando uma metodologia similar. Fuentefria & Valente (2005), analisando leveduras de filoplano, obtiveram apenas 22% de produtores de amilase. Porém, outros autores encontraram alto percentual de leveduras capazes de degradar amido isoladas de diferentes substratos (Straus *et al.*, 2001). Isso provavelmente reflete a diversidade dos habitats de onde as leveduras avaliadas foram isoladas.

A atividade proteolítica foi verificada através da produção de caseinase e gelatinase. Esses dois substratos são amplamente utilizados em estudos de avaliação de atividade proteolítica em leveduras, sendo que a capacidade de

degradação de ambos ou de apenas um dos substratos pode refletir a presença de proteases com diferentes especificidades (Foda & El-Din, 1979). Os isolados obtidos de bromélias foram melhores produtores de caseinase (49,2%) do que de gelatinase (14,8%), sendo que este perfil foi mantido dentro de cada grupo analisado. Mais de 80% dos fungos semelhantes a leveduras foram altamente produtores de caseinase (++), enquanto apenas 25% degradaram fortemente a gelatina (++). Aproximadamente 58% das leveduras ascomicéticas foi capaz de hidrolisar a caseína, sendo 36,8% de forma fraca, enquanto apenas 15,8% foram capazes de hidrolisar a gelatina. Em relação aos basidiomicetos, 38,2% foram caseinolíticos, enquanto 9,2% foram gelatinolíticos. Apenas um isolado de *Prototheca* foi gelatinolítico (+), mas nenhum degradou a caseína.

Buzzini & Martini (2002) obtiveram 31% de basidiomicetos caseinolíticos, 3,6% de ascomicetos e 15,2% de fungos leveduriformes, porém estes autores não reportaram os resultados referentes à hidrólise de gelatina, apesar de relatarem que metade dos basidiomicetos tiveram essa capacidade. Trindade *et al.* (2002) avaliaram a produção de enzimas por leveduras isoladas de polpa de frutas tropicais em três condições: caseinase pH 5,0, caseinase pH 7,0 e gelatinase. Foi observada uma variação da produção de caseinase em diferentes pH, sendo que o pH ótimo variou com a fruta de onde as leveduras tinham sido isoladas. Em todas as frutas analisadas, a produção de gelatinase foi menor que a de caseinase, o que está de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho. Braga *et al.* (1998) testaram a produção de caseinase por leveduras isoladas da fruta amazônica amapa (*Parahancornia amapa*) e de

moscas *Drosophila* associadas. Aproximadamente 26% dos isolados analisados foram capazes de hidrolisar a caseína. Alguns isolados fortemente proteolíticos tiveram a produção de caseinase testada em diferentes pH. As maiores atividades foram encontradas em pH 3,0 a 5,0. Nosso teste para produção de caseinase foi em pH 7,0, o que sugere a possibilidade de obtenção de mais isolados proteolíticos se diferentes pH forem testados. Abranches *et al.* (1997), estudando a comunidade de leveduras associadas a diferentes habitats tropicais, observaram que as leveduras basidiomicéticas foram mais freqüentemente proteolíticas do que as ascomicéticas e que a produção de proteases extracelulares pode ser importante para as leveduras terem acesso a mais fontes de nitrogênio, obtendo um equilíbrio nutricional com as fontes de carbono disponíveis.

A enzima esterase foi produzida por 61,3% dos isolados obtidos, sendo que os isolados da Praia de Fora foram muito melhores produtores (77,6% das cepas) do que os da Praia da Pedreira (47,8%). Esse resultado foi devido à maior produção de esterase pelos basidiomicetos da Praia de Fora. Algumas das cepas já foram encaminhadas para estudos de otimização da produção enzimática (cepas BI81, BI84, BI89, BI200, BI234, BI238, BI240, BI249, BI261, EI01, EI04).

A comparação do perfil enzimático das leveduras isoladas dos dois pontos amostrados no Parque de Itapuã (Praia da Pedreira e Praia de Fora) com leveduras isoladas de folhas de *Hibiscus rosa-sinensis* coletadas no Parque Farroupilha, Porto Alegre (Fuentefria & Valente, 2005) pode ser vista na Tabela 9.

**TABELA 4:** Comparação do perfil enzimático das leveduras e fungos leveduriformes isolados nos dois pontos amostrados no Parque de Itapuã com leveduras isoladas de folhas de *Hibiscus rosa-sinensis*.

	Níveis de produção	Grupos					
		Bromélias Praia da Pedreira		Bromélias Praia de Fora		<i>Hibiscus</i> *	
		n	%	n	%	n	%
Celobiase	0	52	46,0	32	38,1	16	19,0
	1	34	30,1	22	26,2	25	29,8
	2	12	10,6	18	21,4	35	41,7
	3	15	13,3	12	14,3	8	9,5
	Total	113	100,0	84	100,0	84	100,0
	Rank médio	123.43 <sup>b</sup>		139.74 <sup>b</sup>		165.89 <sup>a</sup>	
Lactase	0	51	66,2	49	58,3	52	61,9
	1	13	16,9	7	8,3	4	4,8
	2	4	5,2	14	16,7	15	17,9
	3	9	11,7	14	16,7	13	15,5
	Total	77	100,0	84	100,0	84	100,0
	Rank médio	115.06 <sup>a</sup>		128.42 <sup>a</sup>		124.86 <sup>a</sup>	
Amilase	0	61	54,0	59	70,2	66	78,6
	1	24	21,2	17	20,2	0	0,0
	2	25	22,1	5	6,0	14	16,7
	3	3	2,7	3	3,6	4	4,8
	Total	113	100,0	84	100,0	84	100,0
	Rank médio	156.98 <sup>a</sup>		132.29 <sup>b</sup>		128.21 <sup>b</sup>	
Caseinase	0	53	46,9	49	58,3	58	69,0
	1	12	10,6	8	9,5	0	0,0
	2	6	5,3	1	1,2	0	0,0
	3	42	37,2	26	31,0	26	31,0
	Total	113	100,0	84	100,0	84	100,0
	Rank médio	152.79 <sup>a</sup>		137.97 <sup>a</sup>		128.17 <sup>a</sup>	
Gelatinase	0	93	82,3	76	90,5	54	64,3
	1	1	0,9	2	2,4	0	0,0
	2	8	7,1	0	0,0	0	0,0
	3	11	9,7	6	7,1	30	35,7
	Total	113	100,0	84	100,0	84	100,0
	Rank médio	135.60 <sup>b</sup>		125.12 <sup>b</sup>		164.14 <sup>a</sup>	

Ranks médios seguidos de letras distintas diferem significativamente através do Teste Não-paramétrico Kruskal-Wallis complementado pelo seu Teste de Comparações Múltiplas, ao nível de significância de 5%

\* Estes dados referem-se ao trabalho de Fuentesfria (2004).

Os níveis de produção enzimática foram transformados em números, correspondendo o 0 a negativo, o 1 a fraco, o 2 a positivo e o 3 a positivo forte. Letras distintas significam que os pontos diferem significativamente.

A produção de celobiase e gelatinase diferiu entre os dois pontos do Parque de Itapuã (Praia da Pedreira e Praia de Fora) e *H. rosa-sinensis*. Essa variação pode ser tentativamente explicada pela própria diferença entre os locais amostrados, sendo o Parque de Itapuã uma reserva biológica e, portanto, mais preservado ambientalmente que o Parque Farroupilha, que sofre uma influência antrópica bastante acentuada. Outro fator que deve ser levado em consideração é a diferença da metodologia de coleta utilizada nos dois trabalhos. Fuentefria & Valente (2005), ao contrário do presente trabalho, isolaram as leveduras usando a técnica de *imprinting*, na qual as folhas são colocadas em contato com o meio de cultura em placas de Petri por um determinado tempo, sendo retiradas e as placas incubadas até o aparecimento de colônias. Essa diferença metodológica resultou em maior isolamento de fungos leveduriformes do que no presente trabalho. Como esses fungos possuem uma maior capacidade de produção de enzimas extracelulares que as leveduras verdadeiras, a diferença observada entre os pontos já era esperada.

A produção das enzimas lactase e caseinase não diferiu entre os três pontos analisados, portanto, a diversidade do local e dos microrganismos isolados não influenciou o resultado. É possível que os resultados sejam característicos de microrganismos isolados de filoplano de uma maneira geral, não importando, portanto, o local de isolamento e o tipo de microrganismo.

A comparação entre a atividade proteolítica no presente trabalho e em Fuentefria & Valente (2005) produziu resultados interessantes. Enquanto a produção de caseinase e de gelatinase foi semelhante nos isolados de *H. rosa-*

*sinensis*, com aproximadamente 31 e 35% do total de cepas, respectivamente, foram obtidos mais isolados de bromélias produtores de caseinase (49,2%) do que de gelatinase (14,8%). Como a metodologia de produção enzimática utilizada foi a mesma, isso pode estar refletindo diferenças nos nutrientes disponíveis para a utilização por microrganismos na superfície foliar das duas plantas. Outra explicação pode ser o isolamento de diferentes tipos de microrganismos devido às técnicas de isolamento de leveduras utilizadas, conforme explicado anteriormente.

Um resultado mais difícil de explicar é o de amilase, no qual os isolados da Praia da Pedreira diferiram dos da Praia de Fora / *H. rosa-sinensis*. Foram isolados mais fungos leveduriformes da Praia da Pedreira do que da Praia de Fora. Além disso, a Praia da Pedreira sofreu maior impacto antrópico que a Praia de Fora. Portanto, o esperado seria que a Praia da Pedreira fosse mais semelhante ao *H. rosa-sinensis*, porém não foi isso o que aconteceu. Aproximadamente 46% dos isolados da Praia da Pedreira foram amilolíticos, enquanto 32% da Praia de Fora e 22% de *H. rosa-sinensis* produziram essa enzima.

#### **4.5 Biodiversidade de leveduras**

As leveduras apresentam uma grande biodiversidade, muitas vezes desempenhando funções cruciais na natureza, como por exemplo na manutenção de ecossistemas. Apesar de sua importância, poucos microrganismos são caracterizados e descritos. Vale ressaltar que boa parte da

biotecnologia atual é derivada de estudos com enfoque na diversidade, fisiologia e genética de microrganismos, entre outros.

Os índices de diversidade de espécies relatam o número de espécies e a importância relativa individual das mesmas. Quando se compara os valores do índice de biodiversidade de Shannon-Weaver (H), estes são superiores na Praia da Pedreira ( $H=3,225$ ) em relação à Praia de Fora ( $H=2,820$ ). Da mesma forma ocorre com a riqueza de espécies (S), onde a Praia da Pedreira apresentou maior riqueza ( $S=34$ ) em relação à Praia de Fora ( $S=26$ ). Era esperado que na Praia de Fora houvesse uma maior diversidade, já que se trata de um local onde não há ação antrópica, pois é uma praia que não está aberta ao público. Na Praia da Pedreira, além de ser um local mais explorado pelo homem ainda recebe diversos visitantes em suas trilhas. Essa discrepância nos resultados encontrados pode ser devida ao fato de diferença nos períodos de coleta (Praia da Pedreira: duas coletas no outono e uma no verão e Praia de Fora: uma coleta no inverno, uma na primavera e uma no verão). A composição de espécies de bromélias amostradas nos dois pontos de coleta foi similar, como não houve diferença na composição, esse fato não poderá justificar a diferença de diversidade nos dois pontos.

A tabela 5 apresenta a frequência dos isolados obtidos de cada espécie de levedura em cada ponto de coleta amostrado.



**Tabela 5:** Frequência dos isolados obtidos de cada ponto de coleta amostrado (Praia da Pedreira e Praia de Fora).

Leveduras	N° total de isolados	Praia da Pedreira	Praia de Fora
<b>Ascomicetos</b>			
<i>Candida diddensiae</i>	1	0	1
<i>Candida etchellsii</i> -similar	1	0	1
<i>Candida glabrata</i>	1	1	0
<i>Candida</i> spp.	6	2	4
<i>Debaryomyces hansenii</i>	4	1	3
<i>Debaryomyces vanriijiae</i>	1	1	0
<i>Dipodascus albidus</i>	1	0	1
<i>Metschnikowia fructicola</i>	1	1	0
<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	1	1	0
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	1	1	0
<i>Pichia castillae</i> -similar	1	1	0
<i>Zygosacharomyces bailli</i>	1	1	0
<b>Basidiomicetos</b>			
<i>Bullera</i> spp.	3	2	1
<i>Bulleromyces albus</i>	3	1	2
<i>Cryptococcus albidus</i>	13	8	5
<i>Cryptococcus albidus</i> ?	1	0	1
<i>Cryptococcus amyloletus</i> ?	1	0	1
<i>Cryptococcus flavus</i> -similar	1	1	0
<i>Cryptococcus humicolus</i>	1	1	0
<i>Cryptococcus hungaricus</i>	1	1	0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	15	4	11
<i>Cryptococcus luteolus</i>	3	2	1

**Tabela 5:** Continuação - Frequência dos isolados obtidos de cada ponto de coleta amostrado (Praia da Pedreira e Praia de Fora).

<i>Cryptococcus</i> spp.	6	2	4
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	1	0	1
<i>Fellomyces polyborus</i>	1	0	1
<i>Fellomyces</i> sp.	1	1	0
<i>Kockovaella</i> spp.	4	4	0
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	7	5	2
<i>Rhodotorula aurantiaca</i> -similar	1	0	1
<i>Rhodotorula bacarum</i>	1	1	0
<i>Rhodotorula glutinis</i>	2	1	1
<i>Rhodotorula lactosa</i>	1	0	1
<i>Rhodotorula lactosa</i> -similar	1	1	0
<i>Rhodotorula lignophila</i> -similar	1	1	0
<i>Rhodotorula minuta</i>	5	4	1
<i>Rhodotorula sonckii</i>	1	1	0
<i>Rhodotorula</i> sp. nov.	12	5	7
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	5	2	3
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> -similar	2	1	1
<i>Sporobolomyces roseus</i>	16	4	12
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	10	8	2
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> -similar	1	0	1
<i>Tremella indecorata</i>	1	1	0
<b>Fungos leveduriformes</b>			
<i>Aureobasidium pullulans</i>	7	7	0
<i>Aureobasidium pullulans</i> ?	3	3	0
<i>Itersonilia perplexans</i>	1	1	0
<i>Pseudozyma</i> sp.	1	1	0
"Yeast-like" 01	3	3	0
"Yeast-like" 02	2	2	0

**Tabela 5:** Continuação - Frequência dos isolados obtidos de cada ponto de coleta amostrado (Praia da Pedreira e Praia de Fora).

"Yeast-like" 03	1	1	0
"Yeast-like" 04	1	1	0
"Yeast-like" 05	1	1	0
"Yeast-like" 06	1	1	0
"Yeast-like" 07	1	1	0
"Yeast-like" 08	1	1	0
"Yeast-like" 09	1	1	0
"Yeast-like" 10	2	2	0
"Yeast-like" 11	1	1	0
"Yeast-like" 12	1	1	0
"Yeast-like" 13	1	1	0
"Yeast-like" 14	1	1	0
<i>Tilletiopsis albescens</i>	2	0	2
<i>Tilletiopsis</i> spp.	3	0	3
<i>Trichosporon</i> sp.	1	0	1
<b>Algas</b>			
<i>Prototheca zopfii</i>	1	1	0
<i>Prototheca wicherhamii</i>	2	0	2

## 5. CONCLUSÕES

Os isolados de leveduras obtidos de filoplano de bromélias no Parque de Itapuã foram identificados fenotipicamente pela metodologia convencional. As linhagens denominadas como *Candida* sp., *Bullera* sp., *Cryptococcus* sp., *Pseudozyma* sp., *Tilletiopsis* sp. apenas puderam ser identificadas ao nível de gênero com a metodologia utilizada. Doze isolados de leveduras não se enquadraram em nenhuma espécie descrita, apenas sendo classificados fenotipicamente no gênero *Rhodotorula*. Estes isolados foram seqüenciados e tratam se de uma provável nova espécie.

Comparando-se a biodiversidade de leveduras nos dois pontos do Parque de Itapuã estudados, a Praia da Pedreira apresentou maior diversidade e riqueza de leveduras em relação à Praia de Fora.

Analisando-se o potencial biotecnológico dos 191 isolados obtidos de bromélias, verificou-se que 40,2% apresentaram resultado positivo para a enzima amilase, 49,2% para caseinase, 14,8% para gelatinase, 58% celobiase, 36% lactase, 61,3% esterase. Oito isolados foram encaminhados para processo de purificação e otimização da produção da enzima esterase. Os

estudos de atividade enzimática de leveduras provenientes de habitats tropicais ainda estão se iniciando, sendo que a maioria é focalizada na produção de enzimas proteolíticas. Mais estudos são necessários para suprir a falta de conhecimento sobre a produção de outras enzimas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANCHES, J. *et al.*. The incidence of killer activity and extracellular proteases in tropical yeast communities. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.43, p.328-336, 1997.

ABRANCHES J. *et al.* Yeast diversity and killer activity dispersed in fecal pellets from marsupials and rodents in a Brazilian tropical habitat mosaic. **FEMS Microbiology Ecology**. Amsterdam, v. 26, p. 27-33, 1998.

ABRANCHES J. *et al.* The yeast community and mycocin producers of guava fruit in Rio de Janeiro, Brazil. **Mycologia**, Philadelphia, v. 92, p. 16-22, 2000.

ANDREWS J. H.; HARRIS R. F. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 38, p. 145-180, 2000.

ARAÚJO, F. V. *et al.* A preliminary note on yeast communities of bromeliad-tank waters of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo. v. 29, p. 118-121, 1998.

BAI, F.Y. *et al.* *Bullera anomala* sp. nov. and *Bullera pseudovariabilis* sp. nov., two new ballistoconidium-forming yeast species from Yunnan, China. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v.83, p.257-263, 2003.

BARNETT J.A.; *et al.* **yeasts, Characteristics and Identification**, 4<sup>rd</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 811p.

BRAGA, A.A., *et al.* Screening of yeasts from Brazilian Amazon rain forest for extracellular proteinases production. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 21, p. 353-359, 1998.

BUZZINI, P.; MARTINI, A. Biodiversity of killer activity in yeasts isolated from Brazilian rain Forest. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.46, p.607-611, 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, p.1020-1025, 2002.

CARREIRO, S.C. *et al.* *Sympodiomyces attinorum* sp. nov., a yeast species associated with nests of the leaf-cutting ant *Atta sexdens*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 54, p. 1891-1894, 2004.

CIRIELO, C.J. ; LACHANCE, M.A. **Yeastcompare**. London : University of Western Ontario, 2001. Software.

DEAN, W. **A ferro e Fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira**. São Paulo: Companhia das Letras, 1996.

DO CARMO-SOUZA, L. Distribution of yeasts in nature. In: A.H. Rose; J.S Harrison (Eds.). **The yeasts**. London: London Academic Press, 1969, p. 79-105.

FELL, J.W. *et al.* Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 50, p. 1351-1371, 2000.

FODA, M.S. and EL-DIN, S.M. Distribution of extracellular proteolytic activities among various yeasts. **Zentralbl Bakteriol Naturwiss.** [s.l.], v. 134, p. 89-93, 1979.

FUENTEFRÍA, A.M. **Identificação e avaliação do potencial biotecnológico de leveduras e fungos semelhantes a leveduras isolados de filoplano do Hibiscus rosa-sinensis**. 2004. 122f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004.

FUENTEFRÍA, A.M.; VALENTE, P. Screening of enzyme-producing yeast and yeast-like fungi from the phylloplane of *Hibiscus rosa-sinensis* in Brazil. **Revista Tecno-Lógica**, Santa Cruz do Sul, v. 9, n. 1, p. 9-24, 2005.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **[Informações]**. Disponível em: <http://www.sosmatatlantica.org.br>> Acesso em: 12 janeiro 2006.

FUNGSIN, B. *et al.* *Bensingtonia thailandica* sp. nov., a novel basidiomycetous yeast species isolated from plant leaves in Thailand. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 51, p. 1209-1213, 2001.

FUNGSIN, B., *et al.* *Kockovaella barringtoniae* sp. nov., a new basidiomycetous yeast species isolated from a plant leaf collected in a tropical rain forest in Thailand. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 52, p. 281-284, 2002.

GIULIETTI, M. Biodiversidade da Região Sudeste. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo : Instituto Florestal : Secretaria do Meio Ambiente, 1992. v. 1, p. 125-129.

GORIN, P.A.J. ; SPENCER, J.F.T. Proton magnetic resonance spectroscopy – an aid in identification and chemotaxonomy of yeasts. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 13, p. 25-89, 1970.

HAGLER, A. N.; AHEARN, D.G. Rapid Diazonium Blue B test to detect basidiomycetes yeasts. **International Journal of Systematic Bacteriology**, London, v.31, p.204-208, 1981.

HAGLER, A. N. *et al.* Yeasts and coliform bacteria of water accumulated in bromeliads of mangrove and sand dune ecosystems of southeast Brazil. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 39, p. 973-977, 1993.

HAMAMOTO, M. *et al.* Systematic study of basidiomycetous yeasts - evaluation of the ITS regions of rDNA to delimit species of the genus *Rhodospiridium*. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 2, p. 409-413, 2002.

HAWKSWORTH, D.L. *et al.* **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi**. 8. ed. London: CAB International, 1995. 616p.

HOLANDA, S. B. **Raízes do Brasil**. 26. ed. São Paulo : Companhia das Letras, 1995.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cadastro de Áreas Especiais**. Rio de Janeiro, 1990.

INÁCIO, J.; FONSECA, A. Reinstatement of *Rhodotorula colostri* (Castelli) Lodder and *Rhodotorula crocea* Shifrine & Phaff, former synonyms of *Rhodotorula aurantiaca* (Saito) Lodder. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 4, p. 557-561, 2004.

INÁCIO, J. *et al.* Estimation and diversity of phylloplane mycobiota on selected plants in a mediterranean-type ecosystem in Portugal. **Microbial Ecology**, New York, v. 44, p. 344-353, 2002.

KUMAR, K., *et al.* Mega 3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. **Briefings in Bioinformatics**. v. 5, p. 150-163. 2004.

KURTZMAN, C.P.; J.W. FELL. **The Yeasts, a taxonomic study**. 4. ed. Amsterdam : Elsevier Science Publishers, 1998. 1088 p.

KURTZMAN, C.P.; ROBNETT, C.J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeast from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v.73, p.331-371, 1998.



LACHANCE, M.A. *et al.*. *Metschnikowia santaceciliae*, *Candida hawaiiiana*, and *Candida kipukae*, three new yeast species associated with insects of tropical morning glory. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 3, p. 97-103, 2003.

LEME, E.M.C. Bromélias. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.3, p. 66-72, 1984.

LYND, L.R. *et al.* Microbial cellulose utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 66, p. 506-577, 2002.

MACFADDIN, J.P.; LIPPINCOTT, P. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: Williams & Wilkins, 2000. 912p.

MEYER, S.A. *et al.* *Candida Berkhout*. In: KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. (Eds) **The Yeasts, a taxonomic study**. Amsterdam: Elsevier Science, 1998. p. 454-573.

MORAIS P.B, *et al.* Yeast associated with *Drosophila* in tropical forests of Rio de Janeiro, Brazil. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 38, p. 1150-1155, 1992.

MORAIS P.B, *et al.* Yeasts vectored by *Drosophila quadrum* (*calloptera* group) in tropical rain forests. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 27, p. 87-91, 1996.

NEUFELD, P.M. **Manual de micologia médica: técnicas básicas de diagnóstico**. Rio de Janeiro: Programa Nacional de Controle de Qualidade, 1999. 240p.

NUNES, J.V.C. Bromélias. In: SIMÕES, L.L.; LINO, C.F. (eds) **Sustentável Mata Atlântica**. São Paulo: Senac São Paulo, 2003. p. 117-130.

PIMENTA, R. S. **Levantamento de leveduras em dois fragmentos de Mata Atlântica no estado de Minas Gerais**. 2001. 70f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

PIMENTEL, M. R. C. *et al.* *Candida riodecensis* and *Candida cellae*, two new yeast species from the *Starmerella* clade associated with solitary bees in the Atlantic rain forest of Brazil. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 5, p. 875-879, 2005.

PIRTTILÄ, A.M. *et al.* Two endophytic fungi in different tissues of scots pine buds (*Pinus sylvestris* L.). **Microbial Ecology**, New York, v. 45, p.53-62, 2003.

PLOU, F.J. *et al.*. Analysis of tween 80 as an esterase / lipase substrate for lipolytic activity assay. **Biotechnology Techniques**, Kew, v.12, p.183-186, 1998.

PORE, R.S. *et al.* Prototheca ecology. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 81, p. 49-62, 1983.

PORE, R.S. *Prototheca* taxonomy. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 90, p. 129-139, 1985a.

PORE, R.S. *Prototheca* associated with banana. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 90, p. 187-189, 1985b.

PORE, R.S. The association of *Prototheca* spp. with slime flux in *Ulmus Americana* and other trees. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 90, p. 67-73, 1986.

PORE, R.S. *Prototheca*. In: Kurtzman, C.P. and Fell, J.W. (eds) **The Yeasts, a taxonomic study**. Amsterdam: Elsevier Science, 1998. p. 883-887.

PRADA GMM; PAGNOCCA, F.C. Ascomycetous yeasts associated with naturally occurring fruits in a tropical rain forest. **Folia Microbiology**, [s.l.], v. 42, p. 39-46, 1997.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura e Abastecimento. **Plano de Manejo Parque Estadual de Itapuã**. Porto Alegre : Departamento de Recursos Renováveis, 1997. 158p.

ROSA, C.A. *et al.* *Kodamaea nitidulidarum*, *Candida restingae* and *Kodamaea anthophila*, three new related yeast species from ephemeral flowers. **International Journal of Systematic Bacteriology**, London, v. 49, p. 309-318, 1999.

ROSA, C.A. *et al.* Yeast communities associated with stingless bees. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 4, p. 271-275, 2003.

SANTOS, M.G.G.R. *et al.* Yeast in Biotechnology. In: PROGRESS in Microbial Ecology. Rio de Janeiro : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1997. p. 571-576.

SILVA, J.J.I. **Ocorrência e diversidade de leveduras no filoplano de plantas selecionadas do Parque Natural da Serra da Arrábida**. 2003. 324f. Tese (Doutorado - Microbiologia) - Programa de Pós-Graduação em Biologia, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2003. 324p.

SILVA, N.N.F and GOMES, J.M.L. Bromeliaceae do Sítio Morro do Céu, Serra (ES). **Natureza on line**, Santa Teresa, v. 2, p.1-10, 2003 [on line] <http://www.naturezaonline.com.br>.

SIMÕES, L.L.; LINO, C.F. **Sustentável Mata Atlântica**. São Paulo : Senac São Paulo, 2003. 213p.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. **The Mathematical Theory of Communication**. Urbana , IL : University of Illinois Press, 1963.

SOBRAL, J.K. **A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endofíticos-planta**. 2003. 174f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade Federal de São Paulo, Piracicaba, SP, 2003.

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

STRAUSS, M.L.A. *et al.* Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-*Saccharomyces* wine yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, p.182-190, 2001.

TAKASHIMA, M.; NAKASE, T. *Tilletiopsis derxii*, *Tilletiopsis oryzicola* and *Tilletiopsis penniseti*, three new species of the ustilaginomycetous anamorphic genus *Tilletiopsis* isolated from leaves in Thailand. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v.80, p.43-56, 2001.

TRINDADE R.C. *et al.* Yeast associated with fresh and frozen pulps of Brazilian tropical fruits. **Systematic and Applied Microbiology**, London, v.25, p.294-300, 2002.

TUKEY, H.B.Jr. Leaching of substances from plants. In: PREECE, T.F.; DICKINSON, C.H. (eds). **Ecology of Leaf Surface Microorganisms**. London: Academic Press, 1971.

VALENTE, P. *et al.* Sequencing as a tool in yeast molecular taxonomy. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 45, p. 949-958, 1999.

VALENTE, P. **Identificação convencional e molecular de leveduras isoladas de filoplano de bromélias**. 2000. 92f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000. 92p.

VON TIGERSTROM, R.G.; STELMASCHUK, S. The use of tween 20 in a sensitive turbidimetric assay of lipolytic enzymes. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.35, p. 511-514, 1989.

WANG, Q.M.;BAI, F.Y. Four new yeast species of genus *Sporobolomyces* from plant leaves. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v. 4, p. 579-586, 2004.

WANG, Q.M *et al.* *Bullera cylindrica* sp. nov., *Bullera hubeiensis* sp. nov. and *Bullera nakasei* sp. nov., ballistoconidium-forming yeast species from plant leaves. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 54, p. 1877-1882, 2004.

YAMADA, Y. *et al.* Coenzyme Q system in the classification of the some ascosporogenous yeast genera in the families Saccharomycetaceae and

Spermophthoraceae. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 43, p. 65-71, 1977.

YARROW, D. Methods for the isolation, maintenance, and identification of yeasts. In: KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. (eds) **The Yeasts, a taxonomic study**. Amsterdam: Elsevier Science, 1998. p. 77-100.

ZHAO, J.H. *et al.* *Sporobolomyces bannaensis*, a novel ballistoconidium-forming yeast species in the *Sporidiobolus* lineage. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 53, p. 2091-2093, 2003.

## 7. ANEXOS

**TABELA 1:** Listagem dos meios de culturas utilizados.

Agar YEPG	2% glicose; 1% de peptona; 0,5% de extrato de levedura; 2% Agar
Caldo YEPG	2% glicose; 1% de peptona; 0,5% de extrato de levedura
Agar GYMP	2% glicose; 2% de extrato de malte; 0,5% de extrato de levedura; 0,2% de fosfato de sódio monobásico; 2% Agar
Agar MYP	0,7% extrato de malte; 0,05% extrato de levedura; 0,25% peptona de farinha de soja (Soytone); 1,5% agar
Agar YM	0,3% extrato de levedura; 0,3% extrato de malte; 0,5% peptona; 1% glicose; 2% Agar;
Corn Meal Agar (Agar Fubá)	1,7% Corn Meal Agar; 0,5% Agar; 0,04% cloranfenicol; ajustar pH para 4,0
Meio básico para fermentação de açúcares	0,75% peptona; 0,45% de extrato de levedura; 2% (glicose / lactose / galactose / maltose)
Meio para a assimilação de fontes de carbono	0,67% Yeast Nitrogen Base (YNB); 2% Agar Difco; 0,5% fonte de carbono (1% rafinose)
Meio para a assimilação de fontes de nitrogênio	1,17% de Yeast Carbon Base (YCB); 2% Agar difco; fonte nitrogenada nas diferentes concentrações
Agar Acetato (meio para a observação de ascósporos)	0,4% acetato de sódio anidro; 2% Agar
Teste Urease	1,17% YCB ; 2% agar ; 1% uréia; fuccina ácida
Teste de resistência a NaCl 10 e 15%	2% glicose; 1% de peptona; 0,5% extrato de levedura; 10 ou 16% de NaCl
Teste de resistência a 50% de glicose	2% glicose; 1% de peptona; 0,5% extrato de levedura; 50% de glicose
Agar Amido (teste para produção de amilase)	0,67% YNB; 0,2% amido; 2% agar
Agar Caseína (teste para produção de caseinase)	0,67% YNB; 0,5% glicose; 0,5% caseína; 2% agar; ajustar pH para 7,0 com KOH
Meio malte-gelatina (teste para produção de gelatinase)	10% extrato de malte e 12% gelatina

**TABELA 2:** Listagem dos equipamentos utilizados.

Equipamento	Marca	Modelo
Câmara de fluxo laminar	VECO	VLFS-12
Autoclave vertical	PHOENIX	AV30
Geladeira	CONSUL	PRATICE 230
Freezer vertical	ELETROLUX	F210
Estufas incubadoras	BIOPAR	TI06
Destilador de água	BIOPAR	PILSEN
Banho-maria	NOVA TÉCNICA	GEFRAN 500
Microscópio	OLYMPUS	CX40
Balança analítica	MARTE	AL200C
Estufa de secagem	BIOMATIC	Sem identificação
Forno de Pasteur	BIOMATIC	Sem identificação
Filtro de esterilização	SARTORIUS	0.45 $\mu$ m

**TABELA 3:** Características morfológicas dos isolados de bromélias.

Isolados	Nº-	Coloração da colônia	Brilho da colônia	Superfície da colônia	Consistência da colônia	Forma da célula	Tamanho da célula	Esporos sexuais	Formação de micélio
<b>Ascomicetos</b>									
<i>Candida diddensiae</i>	BI146	branca	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Candida etchellsii</i> -similar	BI145	branca	brilhosa	rugosa	butirosa	alongada	média	ausente	pseudohifas
<i>Candida glabrata</i>	BI127	branca	brilhosa	rugosa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Candida</i> sp. 01	BI21	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Candida</i> sp. 02	BI122	creme	brilhosa	lisa	mucóide	oval	média	ausente	ausente
<i>Candida</i> sp. 03	BI233	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Candida</i> sp. 04	BI242	branca	brilhosa	lisa	butirosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Candida</i> sp. 05	BI251	creme	brilhosa	lisa	butirosa	circular	média	ausente	ausente
<i>Candida</i> sp. 06	EI05	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	média	presente	ausente

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

<i>Debaryomyces hansenii</i>	BI153	branca	opaca	lisa	butirosa	oval	média	ausente	ausente
"	EI01	branca	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	presente	ausente
"	BI95	branca	brilhosa	lisa	butirosa	circular	média	ausente	ausente
"	BI259	branca	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Debaryomyces vanrijiae</i>	BI72	creme	brilhosa	lisa	mucóide	circular	média	presente	ausente
<i>Dipodascus albidus</i>	BI151	branca	brilhosa	rugosa	butirosa	variada	média	ausente	pseudohifas
<i>Metschnikowia fructicola</i>	BI06	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variado	presente	ausente
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	BI128	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	variado	ausente	ausente
<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	BI132	branca	brilhosa	lisa	butirosa	oval	variado	ausente	ausente
<i>Pichia castillae-similar</i>	BI81	branca	brilhosa	lisa	butirosa	circular	variado	ausente	ausente
<i>Zygosaccharomyces bailli</i>	BI78	creme	brilhosa	lisa	mucóide	circular	variado	ausente	ausente
<b>Basidiomicetos</b>									
<i>Bullera</i> sp.01	BI123	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	balistosporos	ausente
<i>Bullera</i> sp.02	BI130	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	grande	balistosporos	ausente
<i>Bullera</i> sp.03	BI183	laranja	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	balistosporos	ausente
<i>Bulleromyces albus</i>	BI04	creme	brilhosa	lisa	mucóide	circular	grande	balistosporos	ausente
"	BI226	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	balistosporos	ausente



**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

"	BI244	branca	opaca	lisa	cremosa	circular	variada	balistosporos	ausente
<i>Cryptococcus albidus</i>	BI14	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI80	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI94	creme	brilhosa	lisa	butirosa	circular	variada	ausente	ausente
"	BI102	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI118	branca	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente
"	BI134	creme	brilhosa	lisa	mucóide	variada	grande	ausente	ausente
"	BI173	branca	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente
"	BI210	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI215	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI220	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI254	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	ausente	ausente
"	BI257	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	grande	ausente	ausente
"	EI04	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	pequena	ausente	ausente
<i>Cryptococcus albidus</i> ?	BI262	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente
<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>aerius</i>	BI169	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	variada	ausente	ausente
<i>Cryptococcus amylolentus</i> ?	BI172	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	média	ausente	pseudohifas

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

<i>Cryptococcus humicolus</i>	BI23	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Cryptococcus hungaricus</i>	BI50	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	pseudohifas
<i>Cryptococcus laurentii</i>	BI91	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI139	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI142	creme	brilhosa	lisa	mucóide	oval	média	ausente	ausente
"	BI144	creme	brilhosa	lisa	cremosa	circular	média	ausente	ausente
"	BI200	creme	brilhosa	lisa	cremosa	circular	variada	ausente	ausente
"	BI202	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente
"	BI207	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI223	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	ausente	ausente
"	BI225	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI231	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI236	creme	brilhosa	lisa	butirosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI237	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	ausente	ausente
"	BI243	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI246	creme	brilhosa	lisa	mucóide	variada	variada	ausente	ausente
"	BI253	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

<i>Cryptococcus luteolus</i>	BI96	creme	brilhosa	lisa	mucóide	variada	média	ausente	ausente
"	BI119	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente
"	BI264	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	média	ausente	ausente
<i>Cryptococcus</i> sp. 01	BI02	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Cryptococcus</i> sp. 02	BI10	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	média	ausente	ausente
<i>Cryptococcus</i> sp. 03	BI195	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	variada	ausente	ausente
<i>Cryptococcus</i> sp. 04	BI196	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	grande	ausente	ausente
<i>Cryptococcus</i> sp. 05	BI203	creme	brilhosa	lisa	mucóide	variada	pequena	ausente	ausente
<i>Cryptococcus</i> sp. 06	BI204	branca	brilhosa	lisa	cremosa	variada	grande	ausente	ausente
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	BI198	branca	brilhosa	lisa	cremosa	oval	médio	ausente	ausente
<i>Fellomyces polyborus</i>	BI182	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Fellomyces</i> sp.	BI01	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Kockovaella</i> sp.01	BI20	laranja	brilhosa	lisa	mucóide	circular	médio	ausente	ausente
<i>Kockovaella</i> sp.02	BI68	laranja	brilhosa	lisa	mucóide	circular	variada	ausente	ausente
<i>Kockovaella</i> sp.03	BI79	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	circular	média	ausente	ausente
<i>Kockovaella</i> sp.04	BI133	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	circular	grande	balistosporos	ausente
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	BI09	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	variada	ausente	ausente

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

"	BI25	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI43	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI65	laranja	brilhosa	lisa	butirosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI116	branca	brilhosa	lisa	butirosa	oval	grande	ausente	ausente
"	BI157	branca	brilhosa	lisa	butirosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI217	vermelha	brilhosa	lisa	butirosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI228	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Rhodotorula aurantiaca</i> -similar	BI138	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Rhodotorula bacarum</i>	BI140	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Rhodotorula glutinis</i>	EI03	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Rhodotorula lactosa</i>	BI211	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	circular	grande	ausente	ausente
<i>Rhodotorula lactosa</i> -similar	BI141	rosa	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente
<i>Rhodotorula lignophila</i> -similar	BI124	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	média	ausente	ausente
<i>Rhodotorula minuta</i>	BI34	vermelha	brilhosa	lisa	butirosa	oval	variada	ausente	ausente
"	BI107	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI114	laranja	brilhosa	lisa	butirosa	variada	variada	ausente	ausente
"	BI129	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

"	BI206	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	variada	pequena	ausente	ausente
<i>Rhodotorula sonckii</i>	BI24	creme	brilhosa	lisa	mucóide	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Rhodotorula</i> sp. nov.	BI52	creme	brilhosa	lisa	butirosa	variada	variada	ausente	ausente
"	BI63	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	ausente	ausente
"	BI77	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	pequena	ausente	ausente
"	BI109	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	ausente	ausente
"	BI120	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI154	creme	brilhosa	rugosa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI181	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI224	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI229	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI232	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI235	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
"	BI238	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	pequena	ausente	ausente
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	BI44	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI85	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI89	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	ausente	ausente

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

"	BI167	laranja	brilhosa	rugosa	cremosa	variada	variada	balistosporos	ausente
"	BI267	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	balistosporos	ausente
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> -similar	BI234	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	balistosporos	ausente
"	BI256	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	grande	ausente	ausente
<i>Sporobolomyces roseus</i>	BI83	laranja	brilhosa	lisa	butirosa	variada	média	balistosporos	ausente
"	BI84	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	oval	variada	balistosporos	ausente
"	BI115	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	médio	ausente	ausente
"	BI149	laranja	brilhosa	rugosa	butirosa	oval	variada	balistosporos	ausente
"	BI158	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI179	creme	brilhosa	lisa	butirosa	variada	média	ausente	ausente
"	BI205	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI208	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	pseudohifas
"	BI212	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	balistosporos	ausente
"	BI216	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	média	ausente	ausente
"	BI219	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente
"	BI222	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	média	ausente	ausente
"	BI245	creme	brilhosa	lisa	butirosa	variada	variada	ausente	ausente

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

"	BI247	laranja	brilhosa	lisa	butirosa	variada	média	ausente	ausente	
"	BI252	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	pequena	ausente	ausente	
"	BI258	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	variada	ausente	ausente	
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	BI18	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente	
"	BI26	vermelha	brilhosa	lisa	butirosa	oval	média	ausente	ausente	
"	BI56	creme	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente	
"	BI100	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	pseudohifas	
"	BI108	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	pequena	ausente	ausente	
"	BI113	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	variada	variada	ausente	ausente	
"	BI117	creme	brilhosa	lisa	butirosa	variada	variada	balistosporos	ausente	
"	BI131	laranja	brilhosa	lisa	cremosa	oval	grande	balistosporos	ausente	
"	BI218	vermelha	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente	
"	BI239	creme	brilhosa	lisa	butirosa	variada	pequena	ausente	ausente	
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> -similar	BI240	branca	brilhosa	lisa	butirosa	alongada	média	ausente	ausente	
<i>Tremella indecorata</i>	BI135	creme	brilhosa	lisa	butirosa	variada	variada	ausente	ausente	
<b>Fungos leveduriformes</b>										
<i>Aureobasidium pullulans</i>	BI17	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	grande	ausente	ausente	

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

"	BI47	creme	brilhosa	rugosa	cremosa	oval	grande	ausente	pseudohifas
"	BI87	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	grande	ausente	ausente
"	BI93	creme	brilhosa	rugosa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI97	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	grande	ausente	ausente
"	BI136	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	média	ausente	ausente
"	BI143	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	grande	ausente	ausente
<i>Aureobasidium pullulans?</i>	BI105	creme	brilhosa	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
<i>Aureobasidium pullulans?</i>	BI121	creme	brilhosa	lisa	seca	alongada	média	ausente	ausente
<i>Aureobasidium pullulans?</i>	BI92	creme	brilhosa	lisa	butirosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Itersonilia perplexans</i>	BI53	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
<i>Pseudozyma</i> sp.	BI45	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 01	BI49	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 01	BI40	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 01	BI51	creme	brilhosa	lisa	cremosa	alongada	pequena	ausente	ausente
"Yeast-like" 02	BI39	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 02	BI61	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 03	BI05	creme	brilhosa	rugosa	cremosa	alongada	média	ausente	ausente



**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

"Yeast-like" 04	BI46	creme	opaca	rugosa	esfarelada	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 05	BI42	branca	opaca	rugosa	seca	alongada	media	ausente	ausente
"Yeast-like" 06	BI60	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	media	ausente	ausente
"Yeast-like" 07	BI31	creme	brilhosa	lisa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 08	BI57	branca	opaca	rugosa	esfarelada	alongada	media	ausente	ausente
"Yeast-like" 09	BI48	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 10	BI32	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 10	BI90	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 11	BI35	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 12	BI38	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
"Yeast-like" 13	BI41	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	pequena	ausente	ausente
"Yeast-like" 14	BI64	creme	opaca	rugosa	seca	alongada	média	ausente	ausente
<i>Tilletiopsis albescens</i>	BI266	branca	opaca	rugosa	esfarelada	alongada	média	ausente	ausente
<i>Tilletiopsis albescens</i>	BI268	branca	opaca	rugosa	esfarelada	alongada	média	ausente	ausente
<i>Tilletiopsis</i> sp. 01	BI250	creme	opaca	rugosa	cremosa	oval	média	ausente	ausente
<i>Tilletiopsis</i> sp. 02	BI255	creme	opaca	rugosa	esfarelada	alongada	média	ausente	ausente
<i>Tilletiopsis</i> sp. 03	BI261	branca	opaca	rugosa	esfarelada	alongada	média	ausente	ausente

**TABELA 3:** Continuação - Características morfológicas dos isolados de bromélias.

<i>Trichosporon</i> sp.	BI249	creme	brilhosa	rugosa	seca	variada	média	ausente	ausente
<b>Algas</b>									
<i>Prototheca zopfii</i>	BI126	branca	brilhosa	rugosa	cremosa	circular	grande	endosporos	ausente
<i>Prototheca wicherhamii</i>	BI168	branca	brilhosa	lisa	butirosa	circular	grande	endosporos	ausente
	BI241	branca	brilhosa	lisa	butirosa	circular	grande	endosporos	ausente

TABELA 4: Perfil bioquímico dos isolados de bromélias.

Isolados	Nº-	Fermentação D-glicose	Fermentação D-galactose	Fermentação maltose	D-glicose	D-galactose	D-ribose	D-xilose	L-arabinose	D-arabinose	L-ramnose	Sacarose	Maltose	Trealose	inulina	Amido	Glicerol	Meso-eritritol	Ribitol	D-glucitol	D-manitol	Celobiose	Salicina	Melibiose	Lactose	Rafinose	M-inositol	Lactato	Citrato	N-acetilglicosamina	Tween 20	
<b>Ascomycetos</b>																																
<i>Candida diddensiae</i>	descr	v	v	v	+	+	v	+	v	v	v	+	+	v	-	v	+	+	+	+	+	+	v	-	-	-	-	-	-	v	?	?
<i>Candida diddensiae</i>	BI146	+	?	?	+	+	-	+	+	-	+	?	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	W	-	-	+	+	+	
<i>Candida etchellsii</i>	descr	v	v	v	+	v	v	-	-	-	-	-	v	-	-	-	v	-	-	v	v	-	-	-	-	-	-	-	v	v	?	?
<i>Candida etchellsii</i> -similar	BI145	-	?	?	+	+	-	-	-	-	-	?	-	-	-	-	w	-	?	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Candida glabrata</i>	descr	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	v	-	-	v	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	v	-	?	?
<i>Candida glabrata</i>	BI127	+	?	?	+	-	-	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	-	?	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Candida sp. 01</i>	BI21	-	?	?	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	?	w	w	?	w	+	+	-	+	w	+	w	-	-	+	-	
<i>Candida sp. 02</i>	BI122	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	?	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Candida sp. 03</i>	BI233	-	-	-	+	+	+	+	+	w	-	?	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	w	-	+	+	-	-	-	-	+
<i>Candida sp. 04</i>	BI242	+	?	?	+	+	+	+	+	w	-	?	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

**TABELA 4:** Continuação - Perfil bioquímico dos isolados de bromélias.

<i>Candida</i> sp. 05	BI251	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+		
<i>Candida</i> sp. 06	EI05	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	?	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	descr	v	-	v	+	+	v	v	v	v	v	+	+	+	v	v	v	v	+	+	+	v	v	v	v	+	-	v	v	?	?	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	BI153	+	?	?	+	+	+	+	+	w	+	?	+	+	-	-	+	+	?	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	
"	EI01	+	?	?	+	+	-	+	+	w	-	?	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	
"	BI95	+	?	?	+	+	+	+	-	w	w	?	+	+	w	+	+	-	?	+	+	+	+	-	-	+	-	w	-	w	-	
"	BI259	+	?	?	+	+	+	+	+	-	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	
<i>Debaryomyces vanrijae</i>	descr	v	-	-	+	+	v	v	v	v	v	+	+	v	v	v	v	v	v	+	+	v	v	v	-	+	-	v	v	?	?	
<i>Debaryomyces vanrijae</i>	BI72	+	?	?	+	+	-	+	-	-	-	?	+	+	+	w	+	-	?	+	+	+	+	-	-	+	-	w	w	+	w	
<i>Dipodascus albidus</i>	descr	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	?	?
<i>Dipodascus albidus</i>	BI151	-	?	?	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
<i>Metschnikowia fructicola</i>	BI06	+	-	-	+	+	w	+	+	w	-	?	+	+	+	?	+	-	?	+	+	w	+	-	w	w	-	-	-	+	-	
<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	descr	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	v	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	?	?	
<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	BI132	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	?	+	+	-	-	-	-	?	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	descr	v	-	-	+	v	v	v	-	-	-	+	+	v	-	-	+	-	v	+	+	+	+	-	-	-	-	-	v	?	?	
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	BI128	+	-	-	+	w	-	+	-	-	-	?	+	+	-	-	?	-	?	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	
<i>Pichia castillae</i>	descr	-	-	-	+	+	+	+	+	v	-	-	v	+	-	D	+	+	+	+	+	+	v	v	v	-	D	-	-	+	?	?
<i>Pichia castillae</i> -similar	BI81	-	-	-	+	+	+	+	w	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+



**TABELA 4:** Continuação - Perfil bioquímico dos isolados de bromélias.

"	BI173	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	w	-	+	
"	BI210	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	
"	BI215	-	-	-	+	+	w	+	+	+	-	?	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
"	BI220	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	w	+	+	+	+	+	w	-	+	+	+	-	+	-	+		
"	BI254	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	?	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	
"	BI257	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	?	-	w	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	?	w	+	
"	EI04	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	
<i>Cryptococcus albidus</i> ?	BI262	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	w	w	w		
<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>aerius</i>	BI169	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	+	w	-	?	w	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+		
<i>Cryptococcus amylolentus</i>	descr	-	-	-	+	+	+	+	v	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	v	-	+	+	v	+	?	?		
<i>Cryptococcus amylolentus</i> ?	BI172	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	w	+	-	+	+	-	+	+	+		
<i>Cryptococcus flavus</i>	descr	-	-	-	+	+	+	+	v	+	+	+	+	+	-	+	v	+	v	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	v	+	?	?
<i>Cryptococcus flavus</i> -similar	BI111	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	+	?	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	w	
<i>Cryptococcus humicolus</i>	descr	-	-	-	+	v	v	+	v	v	v	+	v	v	-	v	v	v	v	v	v	+	v	v	v	v	v	+	v	v	?	?	
<i>Cryptococcus humicolus</i>	BI23	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	?	w	w	?	+	+	+	-	+	+	+	+	w	-	+	-		
<i>Cryptococcus hungaricus</i>	descr	-	-	-	+	+	v	v	+	v	v	+	+	+	-	v	v	v	v	+	+	+	v	v	v	+	v	v	v	?	?		
<i>Cryptococcus hungaricus</i>	BI50	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	?	+	+	-	?	+	-	?	+	+	+	w	-	w	+	-	-	-	-	-		
<i>Cryptococcus laurentii</i>	descr	-	-	-	+	+	v	+	v	v	v	+	+	v	v	v	v	v	v	v	v	+	v	+	+	v	v	v	v	?	?		



**TABELA 4:** Continuação - Perfil bioquímico dos isolados de bromélias.

"	BI264	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+	-	-	+	+		
<i>Cryptococcus</i> sp. 01	BI02	-	-	-	+	+	+	w	-	+	-	?	+	+	-	?	+	+	?	+	w	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-		
<i>Cryptococcus</i> sp. 02	BI10	-	-	-	+	+	-	w	w	w	-	?	-	+	w	?	+	-	?	+	+	+	+	-	+	w	-	-	-	+	-		
<i>Cryptococcus</i> sp. 03	BI195	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	w	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+	+	-	w	+	+		
<i>Cryptococcus</i> sp. 04	BI196	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	w	+	-	+	+	w	+	+	+		
<i>Cryptococcus</i> sp. 05	BI203	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+	w	+	-	+	+	-	+	+	+		
<i>Cryptococcus</i> sp. 06	BI204	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+	
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	descr	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	v	+	-	v	-	v	v	+	+	+	-	D	D	+	D	+	v	?	?		
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	BI198	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+		
<i>Fellomyces polyborus</i>	descr	-	-	-	+	+	+	+	+	v	+	+	+	+	-	+	v	+	+	+	+	+	v	v	+	v	v	v	v	?	?		
<i>Fellomyces polyborus</i>	BI182	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>Fellomyces</i> sp.	BI01	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	+	+	+	+	w	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	
<i>Kockovaella</i> sp.01	BI20	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	?	-	-	?	-	-	+	w	+	+	+	+	-	-	+	-		
<i>Kockovaella</i> sp.02	BI68	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	?	+	-	-	?	-	-	?	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-		
<i>Kockovaella</i> sp.03	BI79	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	-	+	-	w	w	+	+	+	+	+	+	w	-	-	+	+		
<i>Kockovaella</i> sp.04	BI133	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+		
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	descr	-	-	-	+	v	v	v	v	v	-	v	v	v	-	-	v	-	v	v	+	v	v	-	v	v	-	v	v	?	?		
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	BI09	-	-	-	+	w	-	+	-	w	-	?	+	+	-	?	+	-	?	-	+	+	+	-	w	-	-	-	-	-	-	-	







**TABELA 4:** Continuação - Perfil bioquímico dos isolados de bromélias.

"	BI238	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	?	+	+	+	+	+	+	+	w	-	w	+	+	+	-	-	-	+	+	
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	descr	-	-	-	+	v	v	v	v	v	-	+	+	+	v	v	v	-	v	v	v	+	v	-	-	v	-	v	v	?	?
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	BI44	-	-	-	+	+	w	+	+	+	-	?	+	+	-	+	+	-	?	w	+	+	-	-	-	+	-	w	-	-	+
"	BI85	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	?	+	+	w	+	+	-	?	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
"	BI89	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	?	+	+	-	+	+	-	?	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
"	BI167	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	?	+	+	+	+	+	-	?	+	+	+	w	-	-	+	-	-	-	-	+
"	BI267	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	?	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> - similar	BI234	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	?	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
"	BI256	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	?	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
<i>Sporobolomyces roseus</i>	descr	-	-	-	+	v	v	v	v	v	v	+	v	v	-	v	v	-	v	v	v	v	v	-	-	v	-	v	v	?	?
<i>Sporobolomyces roseus</i>	BI83	-	-	-	+	w	+	+	+	+	-	?	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
"	BI84	-	-	-	+	w	+	+	-	+	-	?	+	+	-	+	+	-	?	-	w	+	+	-	-	+	-	w	-	-	w
"	BI115	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
"	BI149	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	?	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+
"	BI158	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	?	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
"	BI179	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	?	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
"	BI205	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	?	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
"	BI208	-	-	-	+	w	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	w	w	-	-	w	-	-	+	+	+







**TABELA 4:** Continuação - Perfil bioquímico dos isolados de bromélias.

<i>Tilletiopsis albescens</i>	BI268	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
<i>Tilletiopsis</i> sp. 01	BI250	-	-	-	+	+	+	-	-	w	-	+	+	+	+	+	+	w	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	
<i>Tilletiopsis</i> sp. 02	BI255	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	
<i>Tilletiopsis</i> sp. 03	BI261	-	-	-	+	+	+	+	+	w	-	?	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>Trichosporon</i> sp.	BI249	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	?	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	w	-	+	+	+	+	
<b>Algas</b>																															
<i>Prototheca zopfii</i>	BI126	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	w	-	+	-	?	-	-	-	w	-	-	w	-	+	-	-	-
<i>Prototheca wicherhamii</i>	BI168	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	?	-	-	-	-	-	-	-	-	w	-	-	+
"	BI241	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

+, assimilação do carboidrato; w, fraca assimilação; D, positivo lento; ?, não realizado; v, variável; - negativa assimilação.

**TABELA 5:** Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

Isolados	Nº-	Crescimento a 25°C	Crescimento a 30°C	Crescimento a 37°C	Crescimento a 40°C	Crescimento a 42°C	Assimilação de Nitrato	Assimilação de Nitrito	Assimilação de L-lisina	Assimilação de etilamina	Assimilação de Creatina	Assimilação de Creatinina	Produção de Urease	Diazonium Blue B (DBB)	Crescimento em NaCl 10%	Crescimento em NaCl 16%	Crescimento em Glicose 50%	Produção de compostos amilóides
<b>Ascomicetos</b>																		
<i>Candida diddensiae</i>	descr	+	+	v	v	v	-	-	+	v	-	-	-	-	+	v	v	-
<i>Candida diddensiae</i>	BI146	?	?	+	-	-	-	?	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Candida etchellsii</i>	descr	+	v	-	-	-	+	+	+	v	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>Candida etchellsii</i> -similar	BI145	?	?	-	-	-	-	?	-	?	?	?	-	-	+	-	+	-
<i>Candida glabrata</i>	descr	+	+	+	+	+	-	-	v	-	-	-	-	-	+	-	v	-
<i>Candida glabrata</i>	BI127	?	?	+	+	?	-	-	+	?	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>Candida</i> sp. 01	BI21	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> sp. 02	BI122	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> sp. 03	BI233	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-



**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

<i>Candida</i> sp. 04	BI242	?	?	+	+	?	-	?	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Candida</i> sp. 05	BI251	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> sp. 06	EI05	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Debaryomyces hansenii</i>	descr	+	v	v	v	-	-	v	v	v	v	v	-	-	+	v	v	-
<i>Debaryomyces hansenii</i>	BI153	?	?	-	-	-	-	?	+	?	?	?	+	-	+	-	+	-
"	EI01	?	?	+	+	?	-	?	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-
"	BI95	?	?	-	-	-	-	?	+	?	?	?	+	-	+	+	+	-
"	BI259	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Debaryomyces vanrijae</i>	descr	+	+	v	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	v	+	-
<i>Debaryomyces vanrijae</i>	BI72	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	-	+	-	+	-
<i>Dipodascus albidus</i>	descr	+	?	-	-	-	-	?	?	-	?	?	-	-	?	?	?	-
<i>Dipodascus albidus</i>	BI151	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	?	+	-	+	-	+	-
<i>Metschnikowia fructicola</i>	BI06	?	?	+	+	?	?	?	?	?	?	?	-	-	+	+	-	-
<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	descr	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	D	-
<i>Metschnikowia hawaiiensis</i>	BI132	?	?	-	-	-	+	-	-	?	-	-	+	-	+	+	+	-
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	descr	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	v	+	-
<i>Metschnikowia reukaufii</i>	BI128	?	?	-	-	-	-	-	+	?	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>Pichia castillae</i>	descr	+	+	+	?	-	-	-	+	+	-	-	-	-	?	?	-	-

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

<i>Pichia castillae</i> -similar	BI81	?	?	-	-	-	-	?	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces bailli</i>	descr	+	v	v	-	-	-	-	v	+	-	-	-	-	v	v	v	-
<i>Zygosaccharomyces bailli</i>	BI78	?	?	+	-	-	+	-	+	?	-	-	-	-	+	-	+	-
<b>Basidiomicetos</b>																		
<i>Bullera sp. 01</i>	BI123	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Bullera sp. 02</i>	BI130	?	?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>Bullera sp. 03</i>	BI183	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Bulleromyces albus</i>	descr	+	v	-	-	-	-	v	v	v	-	-	+	+	-	-	v	+
<i>Bulleromyces albus</i>	BI04	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	+
"	BI226	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
"	BI244	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	descr	+	v	-	-	-	v	+	v	v	-	-	v	+	v	-	v	v
<i>Cryptococcus albidus</i>	BI14	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	+
"	BI80	?	?	-	-	-	w	?	+	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI94	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	+
"	BI102	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI118	?	?	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	?	+

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

"	BI134	?	?	-	-	-	+	+	+	?	-	-	+	+	+	-	-	+
"	BI173	?	?	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
"	BI210	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
"	BI215	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI220	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	+
"	BI254	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	+	-	?	+
"	BI257	?	?	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-
"	EI04	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i> ?	BI262	?	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	?	-
<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>aerius</i>	BI169	?	?	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	?	-
<i>Cryptococcus amylolentus</i>	descr	+	v	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
<i>Cryptococcus amylolentus</i> ?	BI172	?	?	-	-	-	-	?	+	?	-	-	+	+	+	-	?	-
<i>Cryptococcus flavus</i>	descr	+	+	-	-	-	-	-	v	-	-	-	+	+	v	-	-	-
<i>Cryptococcus flavus</i> -similar	BI111	?	?	-	-	-	-	-	-	?	-	-	+	+	+	-	?	-
<i>Cryptococcus humicolus</i>	descr	+	v	v	-	-	-	v	v	+	v	v	+	+	v	-	-	v
<i>Cryptococcus humicolus</i>	BI23	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Cryptococcus hungaricus</i>	descr	v	-	-	-	-	-	v	v	v	-	v	+	+	-	-	v	+
<i>Cryptococcus hungaricus</i>	BI50	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	+

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

<i>Cryptococcus laurentii</i>	descr	+	v	v	-	-	-	v	v	v	v	v	+	+	v	-	v	v
<i>Cryptococcus laurentii</i>	BI91	?	?	-	-	-	-	-	?	?	?	?	+	+	+	-	?	+
"	BI139	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI142	?	?	-	-	-	-	?	?	?	?	?	+	+	-	-	?	+
"	BI144	?	?	-	-	-	-	?	?	?	?	?	+	+	+	-	?	+
"	BI200	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	+
"	BI202	?	?	?	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	+	-	-	+
"	BI207	?	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	?	+
"	BI223	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
"	BI225	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	-	-	-	+
"	BI231	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	+	-	-	+
"	BI236	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-
"	BI237	?	?	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-
"	BI243	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	-	-	?	?
"	BI246	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	+	-	?	+
"	BI253	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	+	-	?	+
<i>Cryptococcus luteolus</i>	descr	+	v	-	-	-	-	v	+	+	-	v	+	+	+	-	+	v
<i>Cryptococcus luteolus</i>	BI96	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	+	-	-	+

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

"	BI119	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	+	-	?	-
"	BI264	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	+	-	?	+
<i>Cryptococcus</i> sp. 01	BI02	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Cryptococcus</i> sp. 02	BI10	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Cryptococcus</i> sp. 03	BI195	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	+	-	?	+
<i>Cryptococcus</i> sp. 04	BI196	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	+	-	?	+
<i>Cryptococcus</i> sp. 05	BI203	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	+	-	?	+
<i>Cryptococcus</i> sp. 06	BI204	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	?	+
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	descr	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	v	-	-	+
<i>Fellomyces fuzhouensis</i>	BI198	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>Fellomyces polyborus</i>	descr	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	v
<i>Fellomyces polyborus</i>	BI182	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>Fellomyces</i> sp.	BI01	?	?	-	-	-	-	?	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Kockovaella</i> sp.01	BI20	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Kockovaella</i> sp.02	BI68	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	+
<i>Kockovaella</i> sp.03	BI79	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Kockovaella</i> sp.04	BI133	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	descr	+	v	-	-	-	v	v	v	v	-	-	+	+	v	-	v	-

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	BI09	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI25	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	?	+	+	-	-	-	-
"	BI43	?	-	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI65	?	+	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI116	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	?	-
"	BI157	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	+	-	?	-
"	BI217	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula aurantiaca</i> -similar	BI228	?	?	-	-	-	+	?	+	?	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula bacarum</i>	descr	+	v	-	-	-	v	v	-	-	-	-	+	+	w	-	v	-
<i>Rhodotorula bacarum</i>	BI138	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	descr	+	v	v	-	-	v	+	v	v	-	-	+	+	v	v	v	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	BI140	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	EI03	?	?	+	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	+	-	?	-
<i>Rhodotorula lactosa</i>	descr	+	+	-	-	-	+	+	+	v	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula lactosa</i>	BI211	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-
<i>Rhodotorula lactosa</i> -similar	BI141	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula lignophila</i>	descr	w	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	D	-
<i>Rhodotorula lignophila</i> -similar	BI124	?	?	+	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

<i>Rhodotorula minuta</i>	descr	+	v	v	-	-	-	-	v	v	-	-	v	+	v	-	v	-
<i>Rhodotorula minuta</i>	BI34	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI107	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI114	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-
"	BI129	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI206	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula sonckii</i>	descr	v	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	v	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula sonckii</i>	BI24	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
<i>Rhodotorula sp. nov.</i>	BI52	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI63	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI77	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI109	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI120	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI154	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	+	-	?	-
"	BI181	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	+	-	?	-
"	BI224	?	?	-	-	-	+	?	+	?	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI229	?	?	-	-	-	+	?	+	?	-	-	+	+	-	-	?	-

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias..

"	BI232	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI235	?	?	-	-	-	+	?	+	?	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI238	?	?	-	-	-	+	?	+	?	-	-	+	+	-	-	?	-
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	descr	+	v	-	-	-	-	v	v	v	v	-	+	+	v	-	v	-
<i>Sporidiobolus pararoseus</i>	BI44	?	?	-	-	-	-	?	+	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI85	?	?	-	-	-	-	?	+	?	?	?	+	+	-	-	?	-
"	BI89	?	?	-	-	-	-	?	+	?	?	?	+	+	-	-	?	-
"	BI167	?	?	-	-	-	-	?	+	?	?	?	+	+	-	-	?	-
"	BI267	?	?	-	-	-	-	?	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Sporidiobolus pararoseus</i> -similar	BI234	?	?	-	-	-	-	?	+	?	-	-	+	+	+	-	?	-
"	BI256	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Sporobolomyces roseus</i>	descr	+	v	-	-	-	v	v	v	v	-	-	+	+	v	-	v	-
<i>Sporobolomyces roseus</i>	BI83	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI84	?	?	-	-	-	+	?	+	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI115	?	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	?	-
"	BI149	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	+	-	?	-
"	BI158	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	+	-	?	-



**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

"	BI179	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI205	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI208	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-
"	BI212	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	+	-	?	-
"	BI216	?	?	-	-	-	-	?	-	?	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI219	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI222	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-
"	BI245	?	?	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI247	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
"	BI252	?	?	-	-	-	-	?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI258	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	-	-	?	-
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	descr	+	+	v	-	-	v	v	v	v	-	v	+	+	v	-	v	-
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	BI18	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI26	?	?	-	-	-	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"	BI56	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
"	BI100	?	?	-	-	-	+	?	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
"	BI108	?	?	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

"	BI113	?	?	-	-	-	+	?	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
"	BI117	?	?	-	-	-	+	?	w	+	-	-	+	+	-	-	?	-	
"	BI131	?	?	-	-	-	+	-	?	?	-	+	+	+	-	-	-	-	
"	BI218	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
"	BI239	?	?	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> -similar	BI240	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	
<i>Tremella indecorata</i>	descr	+	v	-	-	-	-	-	v	v	-	-	+	+	v	-	-	+	
<i>Tremella indecorata</i>	BI135	?	?	-	-	-	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	+	
<b>Fungos leveduriformes</b>																			
<i>Aureobasidium pullulans</i>	BI17	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	+	-	+	-
"	BI47	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	-	-	-	-	-	-
"	BI87	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	-	-	-	-	-	-
"	BI93	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	+	w	+	-
"	BI97	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	-	-	+	-
"	BI136	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	-	-	-	-
"	BI143	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	w	-	-	-	-	-
<i>Aureobasidium pullulans?</i>	BI105	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	-	+	-	-	-	-
<i>Aureobasidium pullulans?</i>	BI121	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	w	+	+	-	-	-

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

<i>Aureobasidium pullulans?</i>	BI92	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	+	w	+	-
<i>Itersonilia perplexans</i>	BI53	?	?	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	w	-	-
<i>Pseudozyma</i> sp.	BI45	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"Yeast-like" 01	BI49	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	-	-	-	-
"Yeast-like" 01	BI51	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	-	-	-	-	-	-
"Yeast-like" 02	BI39	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"Yeast-like" 02	BI61	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"Yeast-like" 03	BI05	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	-	-	-	-	-	-
"Yeast-like" 04	BI46	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	+	-	-	-
"Yeast-like" 05	BI42	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	-	-	-	-
"Yeast-like" 06	BI60	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"Yeast-like" 07	BI31	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	-	-	-	-
"Yeast-like" 08	BI57	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"Yeast-like" 09	BI48	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	+	-	-	-
"Yeast-like" 10	BI32	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	-	-	+	-	-	-
"Yeast-like" 10	BI90	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	-	+	-	+	-
"Yeast-like" 11	BI35	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	-	-	-	-
"Yeast-like" 12	BI38	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	-	-	+	-	-	-

**TABELA 5:** Continuação - Perfil bioquímico/fisiológico dos isolados de bromélias.

"Yeast-like" 13	BI41	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	+	+	+	w	-	-	
"Yeast-like" 14	BI64	?	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	-	-	+	-	-	-	
<i>Tilletiopsis albescens</i>	BI266	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	-	-	?	-	
<i>Tilletiopsis albescens</i>	BI268	?	?	-	-	-	+	?	+	+	+	+	+	+	-	-	?	-	
<i>Tilletiopsis</i> sp. 01	BI250	?	?	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	
<i>Tilletiopsis</i> sp. 02	BI255	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	-	+	+	+	-	?	-	
<i>Tilletiopsis</i> sp. 03	BI261	?	?	-	-	-	+	?	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
<i>Trichosporon</i> sp.	BI249	?	?	+	+	?	-	?	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	
<b>Algas</b>																			
<i>Prototheca zopfii</i>	BI126	?	?	+	+	?	+	?	+	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Prototheca wicherhamii</i>	BI168	?	?	+	?	?	-	?	+	?	?	?	-	-	+	-	-	-	-
"	BI241	?	?	+	?	?	-	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+, positivo; W, fraco; D, positivo lento; ?, não realizado; v, variável; -, negativo.

## 8. VITA

### 8.1 DADOS PESSOAIS

Nome: Melissa Fontes Landell

Nascimento: 03/05/1980, Porto Alegre/RS - Brasil

Filiação: William Crouzeilles Landell Junior e Angela Maria Ferreira Fontes

Endereço residencial: Rua Surupá, 75 – Ap. 203 Jardim Botânico, Porto Alegre, RS – Brasil – CEP: 90690-290

Telefone: (51) 33.36.37.92 / (51) 98.23.39.67

E-mail: [melissa.landell@gmail.com](mailto:melissa.landell@gmail.com) / [mellandell@hotmail.com](mailto:mellandell@hotmail.com)

### 8.2 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2004-2006 - Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, RS, Brasil.

1998-2003 - Graduação em Biologia.

Universidade Luterana do Brasil, ULBRA, RS, Brasil.

1995-1997 - Ensino Médio (2º grau).

Escola Estadual Florinda Tubino Sampaio, RS, Brasil.

1987-1994 - Ensino Fundamental (1º grau).

Escola Estadual de 1º e 2º Graus Profº Otávio de Souza, RS, Brasil.

### 8.3 PRODUÇÃO CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E ARTÍSTICA/CULTURAL

#### 8.3.1 Resumos em anais de eventos

**LANDELL, Melissa Fontes;** MAUTONE, Juliana; RIBAS, Rodolfo; FRANCO, Márcia; SEBOLT, Marcelo; VALENTE, Patricia. Potencial Biotecnológico de leveduras isoladas da superfície foliar de bromélias do Parque de Itapuã, Viamão/RS. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2005, Santos/SP. 2005.

**LANDELL, Melissa Fontes;** MAUTONE, Juliana; FRANCO, Márcia; RIBAS, Rodolfo; SEBOLT, Marcelo; VALENTE, Patricia. Diversidade de leveduras associadas a bromélias do Parque de Itapuã, Viamão/RS. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2005, Santos/SP. 2005.

FUENTEFRIA, Alexandre M; SEBOLT, Marcelo B; SPANAMBERG, Andréia; HARTFELDER, Claudia Cecilia; **LANDELL, Melissa Fontes**; SCHRANK, Augusto; VAINSTEIN, Marilene H; VALENTE, Patricia. Freqüência e caracterização genética do fenômeno killer em leveduras associadas a produtos lácteos. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2005, Santos/SP. 2005.

RIBAS, Rodolfo Kruger da Camara; **LANDELL, Melissa Fontes**; MAUTONE, Juliana Nunes; SILVA, Patricia Valente da. Identificação e análise do potencial biotecnológico de leveduras balistosporogênicas associadas à vegetação de Mata Atlântica no Rio Grande do Sul. In: XVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E XIV FEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS., 2005, Porto Alegre/RS. 2005.

MAUTONE, Juliana; RIBAS, Rodolfo; **LANDELL, Melissa Fontes**; VALENTE, Patricia. Perfil fisiológico e enzimático de leveduras associadas à vegetação de Mata Atlântica no Rio Grande do Sul. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2005, Santos/SP. 2005.

FRANCO, Marcia Toniolo; STOPIGLIA, Cheila D; **LANDELL, Melissa Fontes**; SOUZA, Thaís F; DORNELES, Andréia Spanamberg; SCROFERNEKER, Maria Lúcia; VALENTE, Patrícia. Inibição de dermatófitos por leveduras killer. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2005, Santos/SP. 2005.

FRANCO, Márcia Toniolo; **LANDELL, Melissa Fontes**; FUENTEFRIA, Alexandre Meneghello; VALENTE, Patricia. Inibição de leveduras patogênicas humanas por leveduras killer isoladas de diferentes substratos. In: XVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E XIV FEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS., 2005, Porto Alegre/RS. 2005.

HARTFELDER, Claudia Cecilia; **LANDELL, Melissa Fontes**; SILVA, Patricia Valente da. Isolamento e caracterização de leveduras provenientes de queijo artesanal no Rio Grande do Sul. In: XVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E XIV FEIRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS., 2005, Porto Alegre/RS. 2005.

HARTFELDER, Claudia Cecilia; **LANDELL, Melissa Fontes**; SILVA, Patricia Valente da. Caracterização de leveduras isoladas do queijo tipo frescal no Rio Grande do Sul. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2005, Santos/SP. 2005.

LOCK, Luiza Lux; **LANDELL, Melissa Fontes**; CORBELLINI, Valeriano Antônio; SILVA, Patricia Valente da. Seleção de leveduras produtoras de lipase isoladas do filoplano de bromélias do Parque de Itapuã, RS. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2005, Santos/SP. 2005.

**LANDELL, Melissa Fontes**; MAUTONE, Juliana; FUENTEFRIA, Alexandre Meneguello; VALENTE, Patrícia. Caracterização fenotípica de leveduras isoladas de filoplano de bromélias na Praia da Pedreira, Parque de Itapuã-RS. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA, 2004, Ouro Preto. Anais do IV Congresso Brasileiro de Micologia. 2004.

SCROFERNEKER, Maria Lúcia; VALENTE, Patrícia; **LANDELL, Melissa Fontes**; NOBLEGA, H B; BERGAMASCHI, C; CORBELLINI, Valeriano A. Detecção de atividade azorredutase in situ com 2-(2'-hidroxi-5'-fenilazofenil) benzoxazol em leveduras. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA, 2004, Ouro Preto. Anais do IV Congresso Brasileiro de Micologia. 2004.

SCROFERNEKER, Maria Lúcia; VALENTE, Patrícia; **LANDELL, Melissa Fontes**; HOFFMAN, S B; NOBLEGA, H G; CORBELLINI, Valeriano A. Detecção de atividade nitrorredutase in situ com 2-(2'-hidroxi-5'-nitrosofenil) benzoxazol em leveduras. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA, 2004, Ouro Preto. Anais do IV Congresso Brasileiro de Micologia. 2004.

SCROFERNEKER, Maria Lúcia; VALENTE, Patricia; **LANDELL, Melissa Fontes**; NOBLEGA, H G; CORBELLINI, Valeriano A. Detecção de atividade nitrorredutase in situ com 6-nitrocumarina em leveduras. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA, 2004, Ouro Preto. Anais do IV Congresso Brasileiro de Micologia. 2004.

MAUTONE, Juliana Nunes; **LANDELL, Melissa Fontes**; VALENTE, Patrícia. Isolamento de leveduras de filoplano de bromélias do Parque de Itapuã-RS com atividade antagonista contra o fungo fitopatogênico *Bipolaris sorokiniana*. In: 5ª MOSTRA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA DA ESCOLA TÉCNICA DA UFRGS., 2004, Porto Alegre. 2004.

BERGAMASCHI, C; NOBLEGA, H G; **LANDELL, Melissa Fontes**; SCROFERNEKER, Maria Lúcia; VALENTE, Patricia; CORBELLINI, Valeriano A. Síntese e avaliação de 2-(2'-hidroxi-5'-fenilazofenil) benzoxazol como substrato fluorogênico para detecção de azorredutases em leveduras. In: XII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2004, Guarapuava. Anais do XII Encontro de Química da Região Sul. 2004.

HOFFMAN, S B; NOBLEGA, H G; **LANDELL, Melissa Fontes**; SCROFERNEKER, Maria Lúcia; VALENTE, Patricia; CORBELLINI, Valeriano A. Síntese e avaliação de 2-(2'-hidroxi-5'-nitrosofenil)-benzoxazol como substrato fluorogênico para detecção de nitrorredutases em leveduras. In: XII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2004, Guarapuava. Anais do XII Encontro de Química da Região Sul. 2004.

#### **8.4 Artigos completos publicados em periódicos**

**LANDELL, Melissa Fontes**; HARTFELDER, Claudia; VALENTE, Patricia. Identification and enzymatic profile of yeasts isolated from artisanal

cheese in Southern Brazil. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre/RS, v. 34, n. 1, 2006.

**LANDELL, Melissa Fontes**; MAUTONE, Juliana Nunes; VALENTE, Patricia. Perfil enzimático de leveduras e fungos semelhantes a leveduras associados a bromélias da Praia da Pedreira, Parque de Itapuã-RS. *Tecno Lógica*, Santa Cruz do Sul/RS, v. Aceito, 2005.

BEHEREGARAY, Wanessa Kruger; PÖPPL, Alan Gomes; HARTFELDER, Claudia Cecilia; **LANDELL, Melissa Fontes**; VALENTE, Patricia; OLIVEIRA, Izamara; FERREIRO, Laerte; OLIVEIRA, Rosemari Terezinha; MACHADO, Mauro; PIGATTO, João Tadeu; FERREIRA, Rafael Rodrigues; MELLO, Fabíola Peixoto da Silva. Criptococose em um cão com envolvimento de linfonodos, pele, olhos, e glândula mandibular. *Revista da Universidade Rural - Série Ciências da Vida*, Rio de Janeiro/RJ, v. 25, n. Seropédica, p. 252-253, 2005.