

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos**  
**Trópicos**

**CIRO RAMON FÉLIX DOS SANTOS SILVA**

**DIVERSIDADE, TAXONOMIA E ECOLOGIA DE LEVEDURAS ASSOCIADAS A  
BROMÉLIAS DA CAATINGA NO ESTADO DE ALAGOAS/BRASIL**

**MACEIÓ-ALAGOAS**

**Março/2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos**  
**Trópicos**

**CIRO RAMON FÉLIX DOS SANTOS SILVA**

**DIVERSIDADE, TAXONOMIA E ECOLOGIA DE LEVEDURAS ASSOCIADAS A  
BROMÉLIAS DA CAATINGA NO ESTADO DE ALAGOAS/BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, na área de Biodiversidade.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Melissa Fontes Landell**

**MACEIÓ-ALAGOAS**

**Março/2019**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S586d Silva, Ciro Ramon Félix dos Santos.  
Diversidade, taxonomia e ecologia de leveduras associadas a bromélias da caatinga no Estado de Alagoas / Ciro Ramon Félix dos Santos Silva. – 2019.  
99 f. : il. ; figs. ; tabs. color.

Orientadora: Melissa Fontes Landell.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos. Maceió, 2020.

Inclui bibliografias.  
Anexos: f. 92-99.

1.Leveduras.2. Bromélias. 3. Caatinga – Alagoas. I. Título.

CDU: 582.564: 581.5 (813.5)

## **Agradecimentos**

Primeiramente quero agradecer ao meu bem mais precioso, minha família, onde eu sempre encontro forças e também um afago muito sincero.

Agradeço ao meu pai, Cícero, por ter sido um exemplo de pai e ser humano. Mesmo estando cheio de questões muito mais importantes para resolver, nunca deixou, nem por um segundo, de pensar nos outros, sobretudo nos seus filhos. Infelizmente ele nos deixou antes de que eu concluísse essa etapa da minha vida. Meu pai nunca fez questão de esconder o orgulho que tinha dos filhos, nem em particular, nem em público (deixando alguém tímido como eu frequentemente envergonhado). Dizer que eu o amava é bem óbvio, mas sim, eu o amava, na verdade, ainda amo. Felizmente nunca me privei de dizer abertamente isso para ele. Sinto orgulho do meu pai, tive muita sorte de tê-lo sempre presente. Se pensarmos bem, o trabalho do cientista envolve muitas pessoas nos bastidores, de forma direta ou indireta. Os colegas da academia que estão ali colaborando no trabalho e debatendo são peças chave para qualquer avanço, mas um pai, uma mãe, marido ou esposa são tão fundamentais quanto. Então vou agradecer ao meu pai por ser também um co-autor de todos os meus trabalhos até o final da minha breve existência nesse planetinha azul.

Agradeço a minha mãe, Luzia, por ser a melhor mãe do mundo e a mulher mais forte, paciente, bondosa, corajosa (menos com aranhas) e carinhosa que eu já conheci.

Agradeço aos meus irmãos, Luany (Lua) e Eraldo (Netinho), por frequentemente me lembrarem como irmãos são chatos e como eles tornam nossas vidas mais felizes e divertidas.

Agradeço a minha avó, Maria (Dona Zezinha), por fazer com que eu me sinta sempre especial e amado.

Agradeço a Gabriela, por tudo que me ensinou e viveu comigo em todos esses anos, pelos cuidados, o carinho, o apoio e por ser uma das pessoas mais íntegras e bondosas que já tive o prazer de conhecer.

Agradeço a minha prima Vanessa por ajudar meus pais em momentos tão importantes e por ajudar meus irmãos na minha ausência.

Agradeço a minha orientadora, Melissa Landell, que além de ser minha mestre e mentora, é também minha amiga. Agradeço pelos seus ensinamentos, pelas brincadeiras e pelas broncas. E agradeço por ter sido tão paciente no momento da minha vida em que mais precisei, muito obrigado.

Agradeço aos meus irmãos de coração Stephannie, João e Gustavo por toda a amizade.

Agradeço a meus amigos Maurício, 'Sibelinha' e 'James boy' que compartilharam vários momentos comigo e tanto me ajudaram.

Agradeço a Dayse, minha amiga e companheira de trabalho, que foi fundamental para que este trabalho fosse concretizado.

Agradeço ao meu amigo Ivan, por sempre ser uma boa companhia e uma das pessoas mais empáticas que eu conheço.

Agradeço a todos meus colegas de turma e do PPG-DIBICT.

Agradeço a todos os professores do DIBICT e da graduação pelos ensinamentos que me trouxeram até aqui.

Ao Sr. Alberto Nepomuceno Agra Jr. e ao seu finado pai Alberto Nepomuceno Agra pela gentileza de autorizar as coletas na RPPN Tocaia.

Ao CNPq, FAPEAL e Capes pela concessão da bolsa e financiamento que permitiu o andamento deste trabalho.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para que esse trabalho fosse desenvolvido.

Agradeço pela vida do meu pai e pela sorte que tive, porque mesmo sem ter feito nada para merecer isso, pude viver ao lado desse homem espetacular.

*“Se vi mais longe foi por estar sobre os ombros de gigantes”*

Isaac Newton

## RESUMO

A Caatinga é uma Floresta Tropical Sazonalmente Seca que ocupa 10% do território brasileiro e grande parte da região Nordeste. Suas principais características são seus baixos e irregulares índices de chuva que provocam longos períodos de seca. Atualmente, a Caatinga está sofrendo a seca mais intensa do último século e processos como as mudanças climáticas podem intensificar essa situação. Leveduras são colonizadores recorrentes do filoplano e, neste ambiente, estão sujeitas a flutuações de nutrientes, temperatura e disponibilidade de água. O conhecimento sobre a diversidade e dinâmica da comunidade de leveduras epífitas ainda é insipiente, especialmente em ambientes semiáridos, como a Caatinga. Em vista disso, nosso objetivo foi verificar a dinâmica temporal e espacial da comunidade de leveduras epífitas associadas a bromélias na Caatinga, identificar a possível influência das chuvas e descrever possíveis espécies não-descritas de leveduras. Para isso, folhas, flores e frutos de bromélias adultas e saudáveis foram coletados, lavados e o produto final semeado em ágar YM modificado e incubado por 5-7 dias. Para a identificação molecular dos isolados, a região D1/D2 LSU rDNA foram amplificadas e sequenciadas. As espécies suspeitas de ser não-descritas estão em processo de descrição, para isso foi sequenciado adicionalmente a região do Espaço Interno Transcrito (ITS) rDNA e os isolados foram submetidos ao método de taxonomia polifásica. Um total de 209 isolados e 85 espécies de leveduras foram obtidos (82 em folhas, 9 em frutos e 6 em flores), dos quais, mais de um terço ( $n = 29$ ) são possíveis espécies não-descritas. Se todas as possíveis espécies novas de leveduras encontradas apenas nesse estudo fossem descritas isso aumentaria a riqueza de leveduras descritas em cerca de 2%. Entre as espécies não-descritas, destaca-se a *Vishniacozyma* sp., que ocorreu em cerca de 20% das amostras de folhas coletadas e está em processo adiantado de descrição. Além disso, verificamos que a composição da comunidade de leveduras tende a variar na dimensão temporal e espacial e que as chuvas tiveram uma relação positiva com a diversidade e negativa com a abundância das leveduras. Estes resultados indicam que o filoplano de bromélias na Caatinga é rico em espécies de leveduras, incluindo muitas espécies não-descritas, e que essa comunidade é extremamente dinâmica e pode ter relação com o regime pluviométrico.

**Palavras chave:** Bromélia, levedura, Caatinga e semiárido.

## ABSTRACT

The Caatinga is a Seasonally Dry Tropical Forest that occupies 10% of the Brazilian territory and great part of the Northeast region. Its main characteristics are its low and irregular rains that cause long periods of drought. The Caatinga is currently experiencing the most severe drought of the last century and processes such as climate change can intensify this situation. Yeasts are recurrent colonizers of the phylloplane and, in this environment, are subject to nutrient fluctuations, temperature and water availability. Knowledge about the diversity and dynamics of the epiphytic yeast community is still insipient, especially in semi-arid environments such as the Caatinga. Therefore, our aim was to verify the temporal and spatial dynamics of the community of epiphytic yeasts associated with bromeliads in the Caatinga, to identify the possible influence of the rains and to describe possible new species of yeasts. For this, leaves, flowers and fruits of adult and healthy bromeliads were collected, washed and the final product sown on modified YM agar and incubated for 5-7 days. For the molecular identification of the isolates, the D1/D2 LSU rDNA region were amplified and sequenced. Species suspected of being undescribed are in the process of being described, for this the Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA region was further sequenced and the isolates were subjected to the polyphasic taxonomy method. A total of 209 isolates and 85 yeast species were obtained (82 in leaves, 9 in fruits and 6 in flowers), of which more than one third ( $n = 29$ ) are possible undescribed species. If all possible new yeast species found only in this study were described this would increase the yeast richness described by about 2%. Among the undescribed species, it is worth mentioning *Vishniacozyma* sp., Which occurred in about 20% of collected leaf samples and is in an advanced process of description. In addition, we verified that the composition of the yeast community tends to vary in the temporal and spatial dimension and that the rains had a positive relation with the diversity and negative with the abundance of the yeasts. These results indicate that the bromeliad phylloplane in the Caatinga is rich in yeast species, including many species not described, and that this community is extremely dynamic and may be related to the rainfall regime.

**Key words:** Bromeliad, yeast, Caatinga and semi-arid.



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. Objetivo geral.....	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1. O semiárido nordestino (Caatinga).....	12
3.2. Microbiologia do filoplano.....	15
3.3. Bromélias.....	19
3.4. Leveduras associadas a bromélias.....	22
4. METODOLOGIA.....	25
4.1. Área de estudo.....	25
4.2. Processamento das amostras, obtenção e conservação dos isolados.....	25
4.3. PCR, sequenciamento e identificação dos isolados.....	26
4.4. Caracterização dos possíveis taxa não descritos.....	27
4.5. Análise estatística.....	29
5. MANUSCRITO 1.....	30
<i>Vishniacozyma alagoana</i> sp. nov. a tremellomycetes yeast associated with plants from Dry and Rainfall Tropical Forests in Brazil.....	30
Proposal of Novel Species.....	66
Description of <i>Vishniacozyma alagoana</i> sp. nov. Félix, Andrade, Almeida, Navarro, Fell and Landell.....	66
Reference.....	68
6. MANUSCRITO 2.....	66
Yeasts from Brazilian semiarid bromeliads: A great source for undescribed species and extracellular enzymes.....	66
Introduction.....	68
Material and methods.....	69
<i>Description of the area</i> .....	69
<i>Bromeliad sampled and yeasts isolation</i> .....	70
<i>Bromeliad identification</i> .....	71
<i>Molecular identification of the yeasts</i> .....	71
<i>Extracellular enzymes activity</i> .....	72
Results.....	73
Discussion.....	66
References.....	71

<b>7. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	66
<b>7.1. Riqueza e diversidade de leveduras</b> .....	66
<b>7.2. Variação espacial da comunidade de leveduras</b> .....	71
<b>7.3. Variação temporal da comunidade de leveduras</b> .....	72
<b>7.4. A influência da chuva da comunidade de leveduras epifíticas na Caatinga</b> .....	76
<b>7.5. Possíveis espécies não-descritas</b> .....	78
<b>7.6. Flores e Frutos</b> .....	79
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	80
<b>9. REFERÊNCIAS</b> .....	81
<b>10. ANEXOS</b> .....	92

## 1. INTRODUÇÃO

A Caatinga é um ambiente semiárido que se enquadra na categoria de Floresta Tropical Sazonalmente Seca (FTSS). É formada por um mosaico de vegetação arbustivo-espinhosa decídua e manchas de floresta seca e caracterizada, principalmente, por apresentar baixos índices pluviométricos (entre 240 e 1500mm por ano). Entretanto, em metade de sua área a precipitação anual média é inferior a 750mm, chegando a ser inferior a 500mm em algumas localidades. Nesse ambiente, o período chuvoso concentra-se em três meses consecutivos durante o ano, que podem variar ano-a-ano. Essa irregularidade no regime de chuvas provoca longos períodos de seca. Ainda assim, esse ecossistema apresenta altos índices de diversidade e principalmente de endemismo (LEAL et al., 2005; SANTOS et al., 2011). Mesmo ocupando um décimo do território do Brasil, a maior parte da região semiárida nordestina e a metade do território do estado de Alagoas, a Caatinga é proporcionalmente o ecossistema brasileiro menos estudado (LEAL et al., 2005; SANTOS et al., 2011).

A Caatinga é considerada um ambiente susceptível a processos danosos como a aridificação e desertificação. As mudanças climáticas tendem a intensificar e acelerar esses processos. Modelos climatológicos vêm indicando que até o ano 2100 a temperatura média irá aumentar entre 2-4 graus e as chuvas podem diminuir em até 20% (MARENGO et al., 2011, 2016; TORRES et al., 2017). A seca do ano de 2012 na Caatinga já era a pior das últimas décadas. Essa seca se intensificou até 2015 e atualmente alguns especialistas consideram que estamos vivendo a maior seca dos últimos 100 anos na Caatinga (MARENGO et al., 2016).

Entre os grupos de plantas presentes na Caatinga, destaca-se a família Bromeliaceae. São plantas neotropicais compostas por oito subfamílias e mais de 3300 espécies. O Brasil abriga mais de 1307 espécies de bromélias, das quais cerca de 1030 são endêmicas. Bromélias são ecologicamente diversas e possuem grande amplitude de habitat, sendo encontradas desde o nível do mar até altitudes de 4.000 metros, e de florestas húmidas a ambientes semiáridos (BENZING, 2000; BASÍLIO et al., 2015). Plantas são importantes habitats para micro-organismos e o filoplano (superfície das folhas) se destaca por ser um dos maiores habitats do planeta (~1 bilhão de Km<sup>2</sup>) (VORHOLT, 2012).

Os estudos sobre a microbiota associada a plantas oferecem um 'leque' de conhecimentos a respeito das interrelações ecológicas entre plantas e micro-organismos. Além disso, trabalhos recentes indicam que diferentes partes das plantas, com destaque para o filoplano (superfície das folhas), constituem um substrato rico em novas espécies de micro-organismos, muitos dos quais possuem potencial biotecnológico (LANDELL et al., 2006; GOMES et al., 2015; PAGANI et al., 2016; PIĄTEK et al., 2017). Trabalhos sobre a comunidade de leveduras associadas a bromélias são escassos, na Caatinga esses estudos são inexistentes. Resultados preliminares indicam uma alta diversidade de leveduras em bromélias da Caatinga e um número significativo de espécies não descritas. Diante disso o objetivo deste estudo foi avaliar a comunidade de leveduras associadas a bromélias da Caatinga alagoana, bem como descrever possíveis novas taxa.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

- Verificar a diversidade e a dinâmica composicional da comunidade de leveduras associadas a bromélias da Caatinga alagoana.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar a comunidade de leveduras cultiváveis associadas ao filoplano de diferentes espécies de bromélias em dois fragmentos da Caatinga no estado de Alagoas/Brasil;
- Verificar a possível influência da chuva na comunidade de leveduras;
- Descrever as possíveis novas espécies de leveduras.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. O semiárido nordestino (Caatinga)

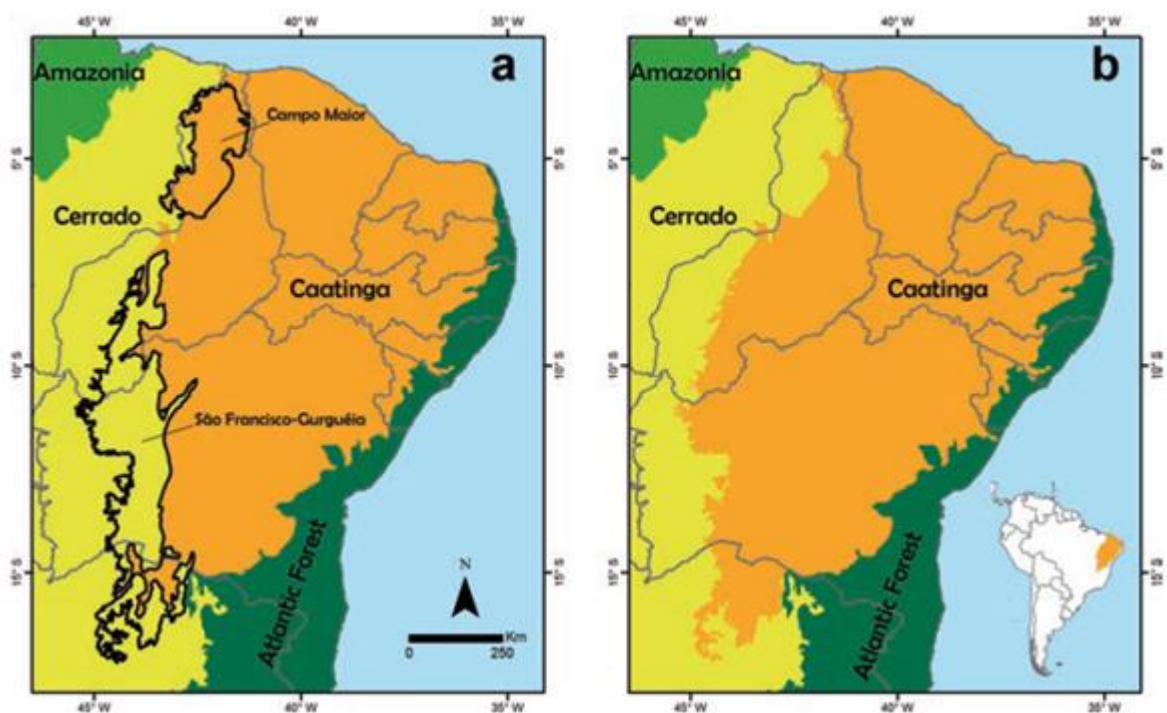
A Caatinga é um ambiente semiárido, o único domínio fitogeográfico exclusivamente brasileiro e o quarto maior do Brasil. Com uma área de quase 1 milhão de Km<sup>2</sup>, ocupa cerca de 50% da região Nordeste e 10% do território do país (MACHADO; LOPES, 2004; SANTOS et al., 2011; MORO et al., 2016; SILVA, J. M. C. et al., 2017). A Caatinga ocupa grande parte dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e a parte nordeste de Minas Gerais (Figura 1) (LEAL et al., 2005). Em Alagoas especificamente, ocupa cerca de metade da área do estado. Este ecossistema é uma Floresta Tropical Sazonalmente Seca (FTSS), formada por um mosaico de vegetação arbustivo-espinhosa decídua com manchas de floresta seca (LEAL et al., 2005; SANTOS et al., 2011). Cerca de 28 milhões de pessoas vivem na Caatinga e juntamente com sua grande área e biodiversidade tornam essa região uma das mais populosas e biodiversas regiões semiáridas do mundo (MENEZES et al., 2012; SANTOS et al., 2014; SILVA, J. M. C. et al., 2017; SILVA, P. F. et al., 2017). Silva, J. M. C. et al. (2017) redefiniram os limites da Caatinga, excluindo a área do Campo Maior, atribuindo-a ao Cerrado e incorporaram algumas outras áreas a Caatinga, como a floresta tropical sazonalmente seca do São Francisco (Figura 1).

Uma das características marcantes da Caatinga são os seus baixos índices pluviométricos que variam de 240 a 1500 mm de chuva por ano. Porém, cerca de metade da área da Caatinga possui uma precipitação anual média inferior a 750 mm e em algumas áreas a precipitação chega a ser menor que 500 mm por ano (LEAL et al., 2005; SANTOS et al., 2011; MORO et al., 2016). Além disso, as chuvas na Caatinga, geralmente, se concentram em três meses consecutivos durante o ano que podem variar bastante. Os períodos anuais de seca variam entre 7 e 11 meses. Estes fatores, somados a variação supra-anual do período chuvoso, geram longos períodos de seca (MACHADO; LOPES, 2004; LEAL et al., 2005). Em alguns pontos da Caatinga 60% da precipitação anual ocorre em um único mês (MENEZES et al., 2012).

Por suas características como plantas caducas durante grande parte do ano e longos períodos sem chuvas, a Caatinga foi durante muito tempo negligenciada pela política e ciência, sendo considerado um ambiente pobre em biodiversidade (LEAL et al., 2005). Nos últimos anos os esforços para desconstruir a imagem da

Caatinga como um ambiente pobre vêm dando frutos. Santos et al. (2011) citam os registros de 1000 espécies de plantas vasculares, 240 espécies de peixes, 516 espécies de pássaros, 148 de mamíferos entre vários outros grupos animais; com destaque para as taxas de endemismo de aves e peixes, com 9 e 57% respectivamente.

**Figura 1.** Mapa do Nordeste do Brasil, em destaque o bioma Caatinga. Em **(a)** vemos o mapa dos limites da Caatinga proposto pelo IBGE (2004) que considera cerca de 850 Km<sup>2</sup> de área. Em **(b)** podemos observar o mapa proposto por Silva, J. M. C. et al. (2017) que considera uma área de quase 1 milhão de Km<sup>2</sup>.



Fonte: (SILVA, J. M. C. et al., 2017).

Mesmo ocupando 1/10 do território do país, a Caatinga é, entre os seis grandes ecossistemas brasileiros (Mata Atlântica, Amazônia, Cerrado, Pantanal, Campos Sulinos e Caatinga), proporcionalmente o menos estudado e com um número insuficiente de área protegidas (<1%) (LEAL et al., 2005; SANTOS et al., 2011). Outros ecossistemas brasileiros como Mata Atlântica e o Cerrado estão na lista dos *hotspots* de biodiversidade prioritários para conservação (HANSON et al., 2009). Essa lista agrupa áreas do planeta com alto grau de diversidade e endemismo e que estão criticamente ameaçadas. A Caatinga mesmo sendo um ambiente biodiverso e

endêmico não está nesta lista pelo critério de perda de área. Segundo a *Conservation International*, a instituição que hoje é responsável por divulgar a lista dos *hotspots*, para ser considerada uma área prioritária além dos critérios de diversidade e endemismo, a área em questão precisa ter perdido mais de 70% da cobertura original. No ano de 2009, a Caatinga tinha uma perda de área que superava 45% e o aumento do desmatamento entre 2008-2009 foi de 0,23%, indicando que a velocidade do desmatamento também está aumentando, sendo que a agropecuária é umas das principais responsáveis (MMA, 2011). Desde a última divulgação oficial da perda de habitat na Caatinga passou-se uma década e é plausível que este problema tenha se agravado. A conclusão de que a situação na Caatinga piorou vem primeiramente da tendência que era apresentada nos anos anteriores, onde o desmatamento estava acelerando, mas também da intensificação de outros problemas como a desertificação e as mudanças climáticas.

Historicamente, a região semiárida nordestina é afetada por grandes cheias e secas. Estatisticamente as secas ocorrem durante 18-20 anos a cada século e frequentemente estão associadas ao fenômeno *El Niño*. O *El Niño* é um fenômeno global caracterizado por alterações dos padrões normais da temperatura da superfície do mar e dos ventos alísios na região do Pacífico Equatorial, afetando os regimes de chuva em regiões tropicais e de latitudes médias (MARENGO et al., 2011). Porém, quando analisados 29 anos de ocorrência do *El Niño*, no período de 1849-1985, apenas 12 estiveram associados a secas na região nordeste do Brasil (KANE, 1989). Os períodos chuvosos, regulados entre outros fatores pelo fenômeno ‘contrário’ ao *El Niño*, o *La ninã*, estão ficando mais escassos e espaçados enquanto as secas estão se tornando mais longas e severas (MARENGO et al., 2011, 2016). O Bioma Caatinga é considerado um ambiente susceptível à aridificação e desertificação (cerca de 94% do semiárido nordestino é susceptível a desertificação). As mudanças climáticas tendem a incrementar esses processos considerando que alguns modelos indicam que até o ano 2100 a temperatura aumente de 2-4 graus e as chuvas diminuam em até 20% (MARENGO et al., 2011, 2016; TORRES et al., 2017). A seca do ano de 2012 na Caatinga já era a pior das últimas décadas. Essa seca se intensificou até 2015 e atualmente alguns consideram que estamos vivendo a maior seca dos últimos 100 anos na Caatinga (MARENGO et al., 2016).

Mesmo com o aumento das emissões de CO<sub>2</sub> para a atmosfera que vem ocorrendo nas últimas décadas, os níveis de CO<sub>2</sub> atmosférico continuam os mesmos desde 1959 (44%). Esse efeito se deve provavelmente ao aumento proporcional da capacidade dos sumidouros de CO<sub>2</sub> como os oceanos e florestas (POULTER et al., 2014). Os ambientes tropicais semiáridos, principalmente do Hemisfério Sul, têm se mostrado importantes para a manutenção do balanço interanual de CO<sub>2</sub> atmosféricos sequestrando grande parte do CO<sub>2</sub> excedente da atmosfera (POULTER et al., 2014). Desta forma, perder ambientes semiáridos como a Caatinga pode significar um efeito retroalimentativo que aumentaria as quantidades de CO<sub>2</sub> atmosférico e, por sua vez, intensificaria o efeito estufa, aumentando o aquecimento global e, em última instância, aceleraria as mudanças climáticas.

### **3.2. Microbiologia do filoplano**

Plantas possuem associação com micro-organismos tanto em suas estruturas aéreas quanto nas subterrâneas (VORHOLT, 2012). A parte aérea das plantas, que compreende todas as estruturas da interface atmosfera-planta, é conhecida como filosfera (LINDOW; BRANDL, 2003; VORHOLT, 2012). A filosfera pode ser subdividida em diferentes partições, as principais são a caulosfera (caule), carposfera (frutos), antosfera (flores) e filoplano (superfície das folhas) (BRINGEL; COUÉE, 2015). Cada um destes diferentes compartimentos das plantas pode apresentar, e em geral apresentam, comunidades microbianas distintas, um exemplo desse fenômeno é o trabalho de Coleman-Derr et al. (2016) que verificou a existência de comunidades microbianas distintas em diferentes compartimentos nos mesmos indivíduos em plantas do gênero *Agave*.

Dependendo de onde os micro-organismos se estabeleçam no tecido das plantas eles podem ser considerados epifíticos (habitam a superfície externa do tecido) ou endofíticos (habitam o interior do tecido) (VORHOLT, 2012). Além disso, os micro-organismos associados a plantas podem ser agrupados artificialmente em transientes (micro-organismos efêmeros, que estão temporariamente associados) e permanentes (micro-organismos residentes, fortemente associados) (FONSECA; INÁCIO, 2006). Diversos grupos taxonômicos de micro-organismos são encontrados associados a plantas (e.g. bactérias, leveduras, fungos filamentosos, microalgas,



nematoides, protozoários, vírus e arqueias) (LINDOW; BRANDL, 2003; GOFFREDI et al., 2015)

Muitos dos micro-organismos epi e endofíticos participam de importantes papéis na manutenção da saúde da planta, tal como supressão e antagonismo a patógenos, principalmente os micro-organismos que são saprofíticos permanentes (FONSECA; INÁCIO, 2006; ANDREOTE et al., 2014), além da disponibilização de nutrientes minerais e produção de hormônios vegetais que estimulam o crescimento vegetal (BRINGEL; COUÉE, 2015). Em seu estudo, Buck (2002) realizou testes *in vitro* e demonstrou que várias leveduras do filoplano possuem ação antagônica ao fungo fitopatogênico *Botrytis cinerea*. Segundo Rodriguez et al. (2009) a associação entre plantas e micro-organismos geram efeitos importantes na adaptabilidade, ecologia e conseqüentemente na evolução das plantas.

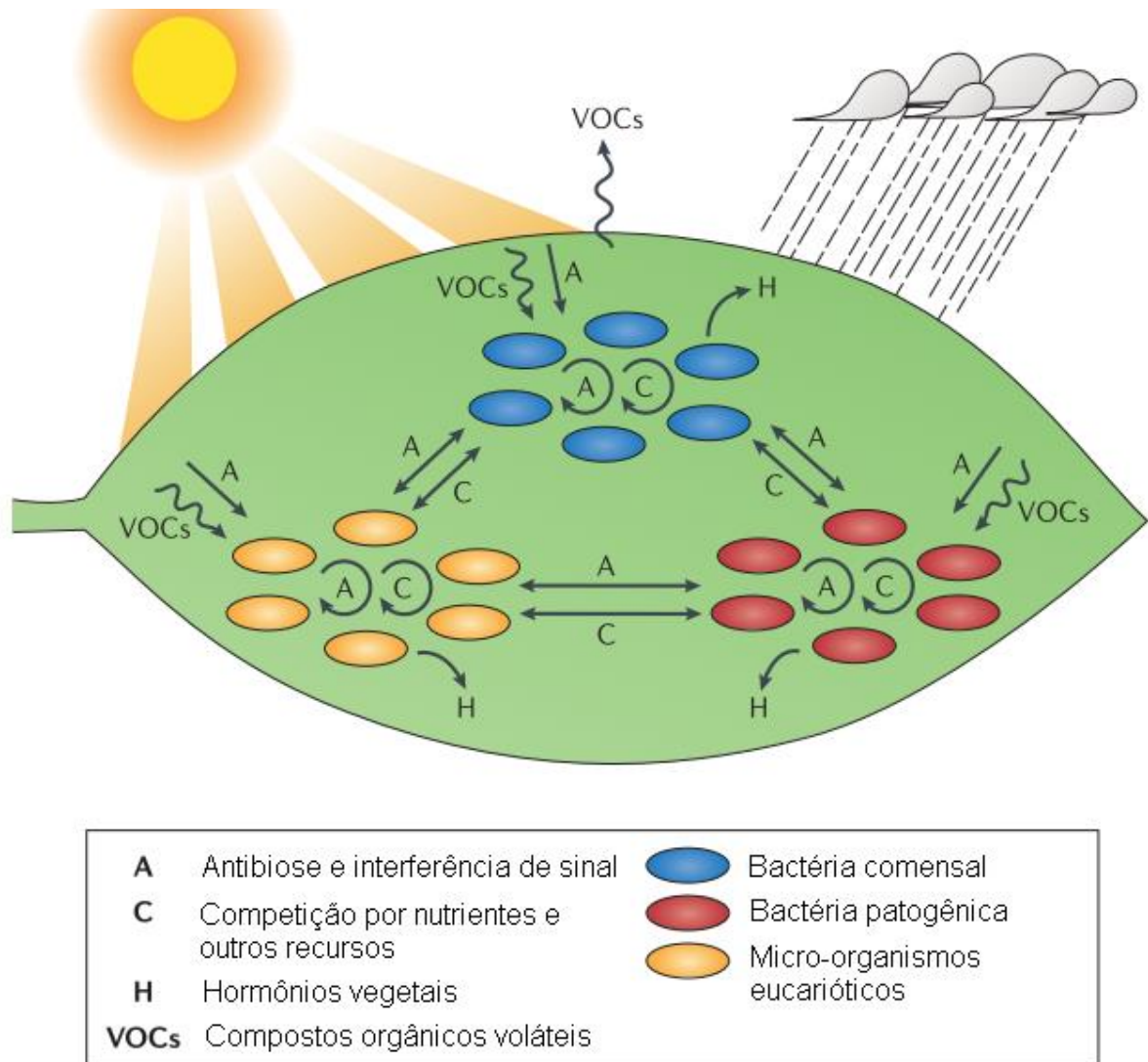
Dentre todos os micro-habitas da filosfera, o filoplano é provavelmente o maior e talvez um dos maiores do mundo (FONSECA; INÁCIO, 2006). É estimado que a superfície das folhas do mundo totalizem uma área de aproximadamente 500 milhões de Km<sup>2</sup>. Portanto, se for considerada também a superfície inferior da folha, a área total chega a cerca de 1 bilhão de Km<sup>2</sup>, o que é aproximadamente o dobro da área da superfície terrestre (BRINGEL; COUÉE, 2015).

Micro-organismos epifíticos são expostos a diversas pressões como flutuações nos níveis de radiação solar, dessecação, estresses oxidativos e temperatura e chuva (VORHOLT, 2012; BRINGEL; COUÉE, 2015). Além das intemperes sofridas pela microbiota do filoplano, uma complexa rede de interações ocorre tanto entre os micro-organismos epifíticos, quanto entre planta e micro-organismos, como exemplificado na Figura 2. Micro-organismos competem entre si por recursos e espaço, tanto dentro da mesma população quanto entre as populações distintas (VORHOLT, 2012).

Folhas são recobertas por uma camada lipídica (cutina) formada por ácidos graxos de cadeia longa que pode chegar a representar mais de 15% do peso seco das folhas (BRINGEL; COUÉE, 2015). A camada lipídica diminui a evaporação e a lixiviação dos metabólitos, além de limitar a disponibilidade de nutrientes (VORHOLT, 2012). Essa camada é uma proteção para a planta e tem a capacidade modelar a microbiota epifítica da folha (REISBERG et al., 2013). Além disso, a anatomia da folha

pode interferir na composição e abundância da comunidade epifítica (VACHER et al., 2016). Colonizar esse ambiente extremo e oligotrófico demanda aos micro-organismos transpor uma série de barreiras ecológicas e fisiológicas.

**Figura 2.** Esquema ilustrando as interações e interpelações que ocorrem na microbiota do filo plano.



Fonte: Traduzido de (VACHER et al., 2016).

A comunidade epifítica associada das plantas é afetada por diversos fatores, entre eles a sazonalidade e a ontogênese da planta (FONSECA; INÁCIO, 2006). Como exemplo, pode-se citar os trabalhos de Glushakova e Chernov (2004, 2010) que observaram que a comunidade de leveduras epifíticas em diferentes

plantas varia tanto em composição, quanto em abundância durante as épocas do ano. Por exemplo, Sampaio et al. (2007) encontraram uma grande riqueza de leveduras ascomicéticas em folhas em decomposição, porém, em folhas vivas e maduras a prevalência é de leveduras basidiomicéticas (FONSECA; INÁCIO, 2006).

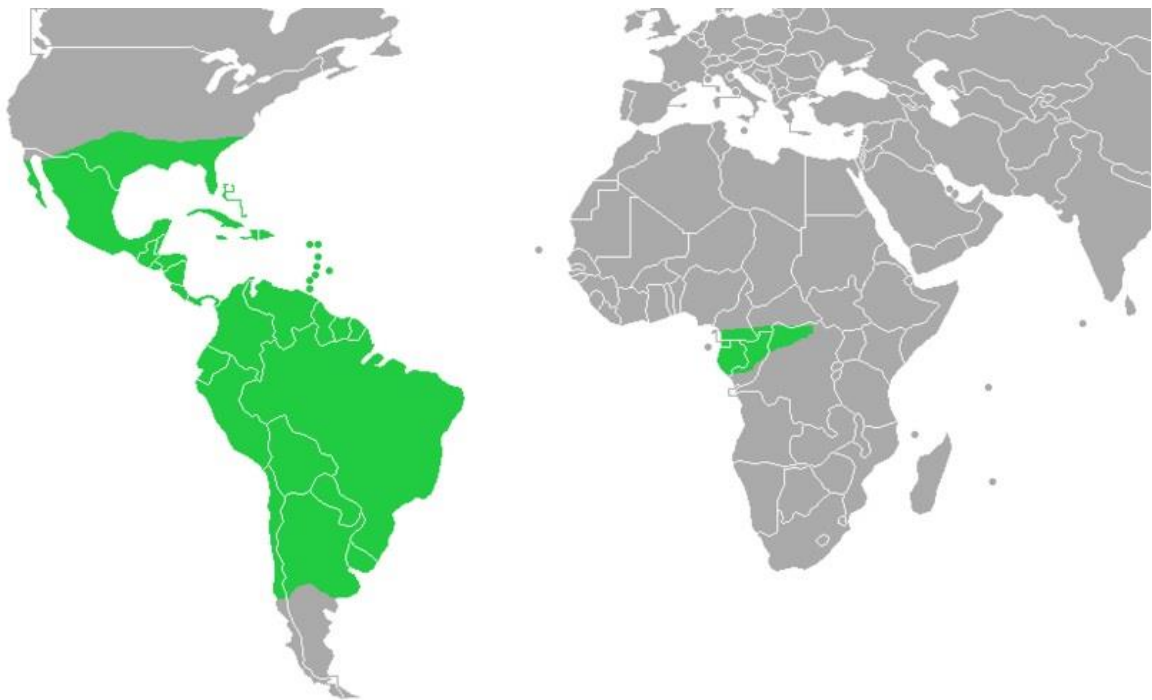
A principal fonte de nutrientes orgânicos para os micro-organismos do filoplano são os exsudados disponibilizados pelas plantas, enquanto os nutrientes inorgânicos são geralmente obtidos do meio externo (FONSECA; INÁCIO, 2006; KEMLER et al., 2017). Por outro lado, a disponibilidade de água é um fator limitante para vida em diversas escalas, a comunidade microbiana epifítica convive frequentemente com a limitação desse recurso e é afetada por ela. O efeito da chuva em comunidades epifíticas ainda não está claramente elucidado. Alguns estudos sugerem que a chuva incrementa a abundância, enquanto outros, que decresce. Porém, o que se espera é que possivelmente exista uma relação tanto com a frequência quanto a intensidade das chuvas (KINKEL, 1997). A chuva pode ser importante na dispersão dos micro-organismos das folhas, pois promove a lavagem das mesmas, tanto lixiviando os micro-organismos das folhas, quanto trazendo outros do ar (MORRIS, 2001). A cerosidade da folha também irá influenciar essa relação com a água. Folhas muito cerosas possuem pouca molhabilidade e mesmo se houver água disponível através da umidade ou da chuva, dificilmente se formará um filme de água envolta pois a folha será muito hidrofóbica. A formação desse filme de água na folha altera rapidamente o pH e a disponibilidade de nutriente do filoplano (MORRIS, 2001).

A comunidade epifítica é regulada por quatro processos populacionais; i) imigração, ii) emigração, iii) crescimento (geração) e iv) morte (KINKEL, 1997). Andrews et al. (1987), encontraram experimentalmente evidências que apoiam que a comunidade epifítica segue alguns princípios da Teoria da Biogeografia de Ilhas, onde a comunidade variou em composição, porém, o número de espécies manteve-se relativamente equilibrado. Diversos autores afirmam que a comunidade epifítica é altamente dinâmica e não-uniforme, tanto no tempo quanto espaço, e a causa dessa 'instabilidade' está relacionada ao grande número de variáveis que têm influência na comunidade e suas constantes e intensas flutuações (KINKEL, 1997; JAGER et al., 2001; LINDOW; BRANDL, 2003; FONSECA; INÁCIO, 2006).

### 3.3. Bromélias

Bromeliaceae é uma família de plantas tropicais composta por oito subfamílias, 52 gêneros e 3320 espécies (BASÍLIO et al., 2015). Bromélias possuem distribuição predominantemente neotropical e se distribuem por diversos países Sul e Centro-americanos, chegando a ocorrer até o Sudeste da América do Norte. Apenas uma espécie é encontrada fora das américas, a espécie *Pitcarnia feliciana*, que ocorre na Costa Oeste da África (Figura 3) (MANETTI et al., 2009). O Brasil abriga 44 gêneros e 1307 espécies de bromélias (BASÍLIO et al., 2015), das quais, cerca de 1030 são endêmicas (KRAHL et al., 2013). A maior diversidade específica da família Bromeliaceae é encontrada na Mata Atlântica brasileira (MANETTI et al., 2009), onde Bromeliaceae representa a quarta maior família de plantas da Mata Atlântica, somando um total de 30 gêneros e 896 espécies (BASÍLIO et al., 2015).

**Figura 3.** Distribuição geográfica da família Bromeliaceae.



Fonte: Wikipedia (2018).

Bromeliaceae é a segunda maior família de plantas epífitas do ambiente tropical perdendo apenas para a família Orchidaceae (MANETTI et al., 2009; BASÍLIO et al., 2015). A espécie de bromélia mais conhecida é *Ananas comosus* (abacaxi) que é a única espécie da família cultivada extensivamente para alimentação (MANETTI et

al., 2009). Looby e Eaton (2014) pesquisaram o potencial antifúngico da espécie *Bromelia pinguin* e confirmaram que essa bromélia terrestre é capaz de alterar a composição de fungos do solo secretando substâncias antifúngicas e, conseqüentemente, alterando a dinâmica da decomposição local.

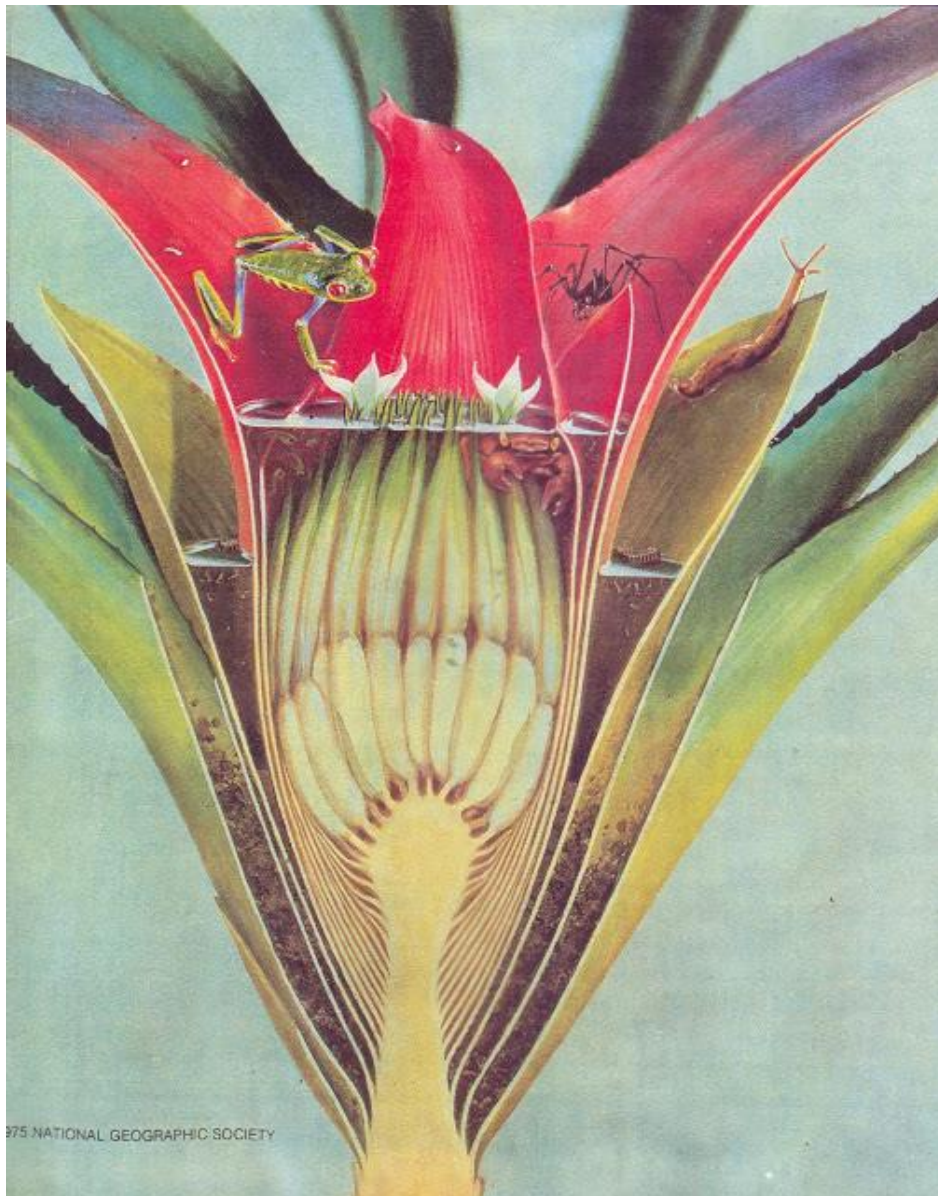
As inflorescências de bromélias constituem um habitat complexo constituído por vários compartimentos como sépalas, pétalas e brácteas florais, que são folhas modificadas. Essas estruturas variam muito em toda a família em formas e cores, além do néctar que varia em composição e concentração de açúcar (BENZING, 2000; KROMER et al., 2008). A família Bromeliaceae possui um amplo espectro de polinizadores, desde insetos, aves, morcegos e até roedores, mas é em grande parte polinizada por beija-flores (BENZING, 2000; SIQUEIRA FILHO; LEME, 2006). Algumas bromélias têm inflorescências discretas, mas a grande maioria tem flores coloridas, grandes e vistosas, além de produzir grandes quantidades de néctar, uma característica incomum em angiospermas e que explica sua associação predominante com polinizadores vertebrados (BERNARDELLO, 1992; BENZING, 2000; WOLOWSKI; FREITAS, 2015).

Bromélias possuem um desenho tridimensional que permite muitas das espécies acumular água da chuva numa estrutura chamada fitotelma, essa água por sua vez é rica em nutrientes como é ilustrado na Figura 4 (HAGLER et al., 1993; GOMES et al., 2015). Além de serem extremamente biodiversas e com altos níveis de endemismo, bromélias atraem o interesse científico devido às suas associações ecológicas com vários grupos de macro e micro-organismos, que variam de invertebrados e anfíbios a vírus, bactérias e leveduras (GOFFREDI et al., 2015; LANDELL et al., 2015; FELIX et al., 2017; LEROY et al., 2017; PIĄTEK et al., 2017).

Bromélias possuem um amplo espectro ambiental; quanto ao hábito podendo ser epífitas, terrestres ou saxícolas (rupícolas). Possuem uma grande amplitude de habitat sendo encontradas desde o nível do mar até altitudes de 4.000 metros, e de ambientes semiáridos como a Caatinga até florestas úmidas como a Mata Atlântica (MANETTI et al., 2009). As espécies epífitas possuem adaptações fisiológicas e morfológicas que permitem sobreviver sem contato com o solo, podem ser epífitas obrigatórios ou facultativas (BASÍLIO et al., 2015). Nestas espécies, com destaque para as do gênero *Tillandsia*, as raízes perdem total ou parcialmente a

função de absorção e passam a ter função de fixação ao substrato. Outra adaptação das epífitas são os tricomas modificados em escamas que permitem a absorção de água e nutrientes da atmosfera diretamente pelas folhas. Por essas características, bromélias do gênero *Tillandsia* foram propostas como ferramenta para monitoramento ambiental. Se o ar estiver contaminado ou poluído, esses poluentes, por sua vez, vão se acumular nos tecidos da planta tornando-a um bioindicador de qualidade do ar (MANETTI et al., 2009).

**Figura 4.** Ilustração de um corte em uma bromélia formadora de fitotelma (tanque). Podemos observar a complexa compartimentalização, os diversos táxons associados e o grande número de micro-habitats distintos.



Fonte: (BOND, 1975).

### 3.4. Leveduras associadas a bromélias

Leveduras constituem um grupo artificial de fungos amplamente distribuídos ao redor do planeta, e estão presentes em múltiplos habitats e nichos (STARMER; LACHANCE, 2011). Segundo Leroy et al. (2017), a decomposição de detritos é a segunda função ecossistêmica mais importante para a manutenção da vida no planeta Terra, perdendo apenas para a produção primária. Leveduras são importantes decompositores nos ecossistemas e, frequentemente, um dos primeiros grupos a colonizar substratos ricos em nutrientes (STARMER; LACHANCE, 2011). São capazes de formar biofilme e contribuem consideravelmente para a biomassa microbiana no solo. Muitas leveduras são capazes de produzir fatores que estimulam o crescimento das plantas (BOTHÁ, 2011; BRINGEL; COUÉE, 2015).

A ocorrência de leveduras associadas a plantas é bem conhecida e vem sendo frequentemente estudada. A habilidade das leveduras de utilizar diversos compostos, muitos deles produzidos e secretados pelas plantas, permite que habitem vários nichos presentes nas plantas (FONSECA; INÁCIO, 2006). Já é conhecido que em néctar, flores, frutos e material vegetal em decomposição há uma prevalência de leveduras do filo Ascomycota e sua dispersão é intimamente associada a vetores como insetos e pássaros (FONSECA; INÁCIO, 2006). Porém, no filoplano a prevalência é de leveduras do filo Basidiomycota (FONSECA; INÁCIO, 2006; LANDELL et al., 2006). Estruturas como balistosporos, são adaptações que oferecem vantagem na dispersão de uma planta para outra neste grupo (FONSECA; INÁCIO, 2006; COBBAN et al., 2016).

Leveduras podem estar associadas ao filoplano como comensais, saprófitos ou mutualistas inibindo agentes fitopatogênicos (STARMER; LACHANCE, 2011). As leveduras epifíticas são consideradas uma barreira natural contra infecções causadas por fitopatógenos (ALLEN et al., 2004). Filogeneticamente, leveduras são agrupadas em dois filios do reino Fungi: Ascomycota e Basidiomycota (KURTZMAN, 2011). O filo Ascomycota possui três subfilos: Pezizomycotina, Taphrinomycotina e Saccharomycotina (KURTZMAN, 2011). A sinapomorfia que une o filo dos ascomicetos é a formação em esporos meióticos em forma de ascus, conhecidos como ascósporos (SCHOCH et al., 2009). O filo Basidiomycota também possui três subfilos, são eles: Pucciniomycotina, Agaricomycotina e Ustilaginomycotina (BOEKHOUT et al., 2011).

Há aproximadamente 1600 espécies de leveduras descritas atualmente (VU et al., 2016). Nos últimos anos várias espécies têm sido descritas em associação com bromélias, e esse substrato tem se mostrado rico em espécies descritas e não-descritas de leveduras (LANDELL et al., 2006; GOMES et al., 2015). Há uma grande lacuna em relação a riqueza de fungos no mundo, uma estimativa recente é que exista entre 2,2 e 3,8 milhões de espécies de fungos, porém o número de espécies corretamente nomeadas e descritas gira entorno de apenas 120.000 (de 3,15 a 5,45% do total estimado) (HAWKSWORTH et al., 2017). Um dos maiores reservatórios de novas espécies de fungos são as plantas vasculares e estudos mostram que a América do Sul é um *hotspot* de diversidade para novas espécies de fungos (HAWKSWORTH; ROSSMAN, 1997; HAWKSWORTH et al., 2017).

Uma grande riqueza de espécies de leveduras associadas a bromélias tem sido reportada nos últimos anos. Os gêneros de leveduras do filo Ascomycota mais frequentemente isolados de bromélias são *Candida*, *Aureobasidium* e *Debaryomyces* e do filo Basidiomycota são *Cryptococcus*, *Rhodotorula* e *Sporobolomyces* (FONSECA; INÁCIO, 2006). Muitas espécies de leveduras isoladas de bromélias têm sido descritas, tanto no filo Ascomycota (e.g. RUIVO et al., 2005; MAUTONE et al., 2010; ARAUJO et al., 2012; SAFAR et al., 2013), quanto no filo Basidiomycota (e.g. LANDELL et al., 2009, 2014, 2015; GOMES et al., 2015; PAGANI et al., 2016; FELIX et al., 2017; PIĄTEK et al., 2017).

Entre 2005 e 2019, 20 espécies de leveduras foram descritas em associação com bromélias (Tabela 1). Isso demonstra que bromélias são um bom substrato para buscar espécies novas de leveduras. Das 20 espécies descritas, 8 foram encontradas apenas no filoplano, 8 apenas no fitotelma, 3 em ambos os substratos e 1 foi obtida conjuntamente do filoplano e antosfera. A maioria das espécies descritas são de leveduras basidiomicéticas (n=14). O gênero de bromélia que apresentou a maior frequência de associação com as espécies descritas foi *Vriesea* (12 espécies das 20).



**Tabela 1.** Espécies de leveduras descritas associadas a bromélias entre 2005 e 2019.

<b>Espécie da levedura</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>Substrato</b>	<b>Referência</b>
<i>Candida aechmeae</i>	<i>Aechmea recurvata</i> e <i>Billbergia nutans</i>	Filoplano	(LANDELL et al., 2010)
<i>Candida bromeliacearum</i>	<i>Canistropis seidelii</i>	Fitotelma	(RUIVO et al., 2005)
<i>Candida ubatubensis</i>	<i>Canistropis seidelii</i>	Fitotelma	(RUIVO et al., 2005)
<i>Candida vrieseae</i>	<i>Vriesea gigantea</i>	Fitotelma	(LANDELL et al., 2010)
<i>Carlosrosaea aechmeae</i>	<i>Aechmea constantinii</i>	Filoplano	(FELIX et al., 2017)
<i>Carlosrosaea hohenbergiae</i>	<i>Hohenbergia ramageana</i> , <i>Tillandsia</i> sp., <i>Portea leptantha</i> , <i>Canistrum alagoanum</i> e <i>Aechmea fulgens</i>	Filoplano e antosfera	(FELIX et al., 2017)
<i>Carlosrosaea vrieseae</i>	<i>Vriesea minarum</i> , <i>Vriesea friburgensis</i> e <i>Tillandsia gardneri</i>	Filoplano e fitotelma	(LANDELL et al., 2015)
<i>Farysizyma itapuensis</i>	<i>Vriesea friburgensis</i> , <i>Vriesea procera</i> , <i>Tillandsia gardneri</i> , <i>Tillandsia geminiflor</i> e <i>Dyckia</i> sp.	Filoplano	(INÁCIO et al., 2008)
<i>Genolevuria bromeliarum</i>	<i>Vriesea procera</i> , <i>Vriesea friburgensis</i> e <i>Tillandsia gardneri</i>	Filoplano	(LANDELL et al., 2009)
<i>Hagleromyces aurorensis</i>	<i>Bromelia karatas</i>	Fitotelma	(SOUSA et al., 2014)
<i>Hannaella pagnoccae</i>	<i>Vriesea gigantea</i> , <i>Tillandsia geminiflora</i> , <i>Vriesea minarum</i> , <i>Encholirium</i> sp. e <i>Bromelia karatas</i>	Filoplano e fitotelma	(LANDELL et al., 2014)
<i>Kazachstania bromeliacearum</i>	<i>Quesnelia quesneliana</i> , <i>Nidularium procerum</i> , <i>Neoregelia cruenta</i> , <i>Aechmea nudicaulis</i> e <i>Vriesia procera</i>	Fitotelma	(ARAUJO et al., 2012)
<i>Kazachstania rupicola</i>	<i>Vriesea minarum</i>	Fitotelma	(SAFAR et al., 2013)
<i>Kockovaella libkindii</i>	<i>Vriesea minarum</i>	Fitotelma	(GOMES et al., 2016)
<i>Occultifur brasiliensis</i>	<i>Vriesea minarum</i>	Fitotelma	(GOMES et al., 2015)
<i>Occultifur plantarum</i>	Bromeliaceae sp.	Filoplano	(KHUNNAMWONG et al., 2017)
<i>Papiliotrema leoncinii</i>	<i>Tillandsia crocata</i> , <i>Bromelia antiacantha</i> , <i>Tillandsia gardneri</i> , <i>Vriesea gigantea</i> , <i>Aechmea recurvata</i> , <i>Vriesea friburgensis</i> , <i>Canistrum alagoanum</i> , <i>Aechmea fulgens</i> , <i>Canistrum aurantiacum</i> , <i>Portea leptantha</i> e <i>Bromelia</i> sp.	Filoplano	(PAGANI et al., 2016)
<i>Pattersoniomyces tillandsiae</i>	<i>Canistrum improcerum</i> e <i>Vriesea minarum</i>	Filoplano e fitotelma	(PIĄTEK et al., 2017)
<i>Queiroziella brasiliensis</i>	<i>Portea leptantha</i> , <i>Tillandsia geminiflora</i> e <i>Vriesea gigantea</i>	Filoplano	(CROUS et al., 2018)
<i>Rhynchogastrema complexa</i>	<i>Neoregelia cruenta</i>	Filoplano	(VALENTE et al., 2012)

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Área de estudo

As amostras de folhas de bromélias foram coletadas em dois pontos do Nordeste do Brasil dentro da área que corresponde ao ecossistema Caatinga (Figura 1): i) na Reserva do Patrimônio Natural Tocaia (Tocaia) e ii) na Serra da Caiçara (Caiçara), ambas no estado de Alagoas e distantes aproximadamente 17 km uma da outra em linha reta. O ponto Tocaia ( $9^{\circ}23'08.9''\text{S}$  e  $37^{\circ}15'22.8''\text{W}$ ) é uma Reserva Particular do Patrimônio Natural localizada no município de Santana do Ipanema com uma área de aproximadamente 20 hectares e altitude máxima de aproximadamente 400 metros, composta principalmente de uma fisionomia arbórea. O ponto Caiçara, localizado no município de Maravilha ( $9^{\circ}14'16''\text{S}$  e  $37^{\circ}19'36''\text{W}$ ), tem cerca de 800 metros de altitude, uma área de 1950 hectares e é composta, em boa parte, por vegetação arbustiva, cenário resultante principalmente de ações antrópicas. A precipitação média varia entre 500-700mm por ano em ambos os pontos. As coletas do ponto Tocaia ocorreram em setembro de 2013, agosto de 2016 e setembro de 2017 e as coletas do ponto Caiçara ocorreram no mês de abril dos anos 2014, 2016 e 2017, totalizando 6 coletas (3 em cada ponto) perfazendo um total de 60 amostras de folhas.

### 4.2. Processamento das amostras, obtenção e conservação dos isolados

O processamento, isolamento, manutenção e conservação dos isolados de leveduras foram realizados utilizando metodologia descrita, e.g. Landell et al., 2006 e Mautone et al., 2010. As amostras de folhas de bromélias foram coletadas, armazenadas em sacos plásticos estéreis e levadas para processamento no Laboratório de Diversidade Molecular da UFAL em no máximo 24 horas após a coleta. No momento da coleta as plantas amostradas foram fotografadas para posterior identificação e parâmetros como altitude, latitude e longitude foram aferidos com o auxílio de um aparelho de Global Position System (GPS) Discovery channel.

Para o processamento, primeiramente as amostras foram lavadas com água destilada esterelizada para remoção dos detritos grosseiros como poeira e afins. Em seguida, foram cortadas em fragmentos que somavam uma área total de  $10\text{ cm}^2$ , depositadas em frascos tipo *Erlenmeyer* contendo 50 ml de água destilada estéril e

mantidos em agitador mecânico (*shaker*) a 180 rotações por minutos (rpm) por dez minutos. Após esta etapa, a água destilada foi descartada do frasco *Erlenmeyer* sem que os fragmentos das amostras fossem perdidos e substituída por 30 ml de solução de Tween 20 0.5% esterelizado. O frasco foi mantido em agitação a 180 rpm durante 30 minutos. Após esse período, a solução de Tween 20 0.5% foi descartada e a etapa repetida. Um volume de 100 µL do produto da última lavagem ( $10^0$ ) e da diluição decimal  $10^{-1}$  foi semeado, em duplicata, no meio de cultura Ágar YM modificado (0,3% de extrato de levedura, 0,3% de extrato de malte, 0,5% de peptona bacteriológica, 1% de glicose, 2% de ágar, 0,04% de cloranfenicol, pH 4.0). As amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a uma temperatura de 22-25 °C durante 5-7 dias. Após o período de incubação, o crescimento nas placas de *Petri* foi verificado e as colônias suspeitas de serem de leveduras foram isoladas em meio YPD sólido (2% de glicose, 2% de ágar, 1% de peptona bacteriológica e 0.5% de extrato de levedura), buscando recuperar morfotipos distintos. Através de microscopia óptica de campo claro (aumentos de 40 e 100x) confirmou-se que as colônias obtidas eram realmente de leveduras.

Os isolados de leveduras foram estocados e conservados utilizando três diferentes métodos: Estoque 1 - em criotubos contendo o meio caldo YPD modificado (1% de glicose, 0.5% de peptona bacteriológica e 0.25% de extrato de levedura). Estoque 2 - em tubos de ensaio com tampa rosca contendo o meio Ágar GYMP inclinado (2% de glicose, 2% de extrato de malte, 0,5% de extrato de levedura, 0,2% de fosfato de sódio monobásico e 2% de ágar). Estoque 3 - em criotubos contendo meio caldo YPD, após o crescimento, foi adicionado glicerol para uma concentração final de 30%. Em seguida esses tubos foram homogeneizados e armazenados a -20°C.

#### **4.3. PCR, sequenciamento e identificação dos isolados**

Para a identificação molecular dos isolados de leveduras, o DNA genômico foi extraído e o *barcode* D1/D2 do gene 26S do rDNA (~600pb) amplificado pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) (KURTZMAN; ROBNETT, 1998; FELL et al., 2000). Para amplificar foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores NL-1 (5'- GCA TATC AAT AAG CGG AGG AAA AG -3') e NL-4 (5'- GG TCC GTG TTT

CAA GAC GG -3') (KURTZMAN; ROBNETT, 1998). A região do *Internal Transcrit Spacer* (ITS) do rDNA foi amplificada e sequenciada quando o isolado apresentou a possibilidade de ser uma espécie não descrita. A região ITS foi amplificado utilizando os oligonucleotídeos iniciadores ITS-1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') e ITS-4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (FELL et al. 2000; SCHOCH et al., 2012). Para a reação de PCR com volume final de 25µl foi utilizado 20 pmol/µl de cada um dos oligonucleotídeos iniciadores, 0.5 unidade (1 U/ µl) de Taq polimerase, tampão 10x, 2 mM de dNTPs e 50 mM de MgCl<sub>2</sub>.

A PCR foi realizado em 36 ciclos térmicos em termociclador *BioRad* modelo *T100 Thermal Cycler*. Para a desnaturação inicial, foi utilizado temperatura de 95°C por 5 minutos, em seguida 95°C de desnaturação por 45 segundos, 56°C de anelamento por 30 segundos, 72°C de extensão durante 1 minuto. Por último a extensão final foi realizada em 72°C durante 5 minutos. Os produtos de amplificação foram visualizados em gel contendo 1% de agarose tamponada com TAE 1X, diluído a partir da solução estoque concentrada 50X (242g Tris, 57.1 ml de ácido acético, 100 ml de EDTA 0.5M pH 8, completado água destilada até 1L) (COBBAN et al., 2016).

Os produtos foram purificados utilizando isopropanol e posteriormente sequenciados através do protocolo do Laboratório de Genética Molecular Humana da Universidade Federal de Pernambuco em um sistema de sequenciamento automatizado ABI 3130 *Genetic Analyzer* utilizando o polímero *BigDye* v3.1 e POP7 (*Life Technologies*). Os consensos das sequências foram gerados no *software Staden Package* (STADEN et al., 2000). Em seguida, os consensos das sequências obtidas foram confrontados com o banco de dados do *GenBank* no site do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) utilizando a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) e o algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al., 1997).

#### **4.4. Caracterização dos possíveis taxa não descritos**

As leveduras identificadas como possíveis espécies novas passaram pelo método de taxonomia polifásica descrito em Kurtzman et al. (2011), que se baseia nas análises moleculares e em uma série de testes bioquímicos e fisiológicos como: fermentação de vários carboidratos, crescimento em diferentes temperaturas e concentrações osmóticas, resistência a antifúngicos, capacidade de assimilar

diferentes fontes de carbono e nitrogênio, a produção de urease e de compostos amiloides, reação com Diazônio Azul B e formação de diferentes estruturas celulares.

Para se caracterizar os isolados morfológicamente, foram verificadas as estruturas colonial e celular. Foi utilizada microscopia óptica de campo claro nos aumentos de 40 e 100X para aferir a morfologia celular. As células foram caracterizadas segundo sua forma, tamanho, tipo de divisão e número de brotamentos (KURTZMAN et al., 2011).

A capacidade dos isolados de leveduras de fermentarem glicose foi avaliada utilizando tubos de ensaio com meio básico para fermentação de glicose (0,75% de peptona bacteriológica, 0,45% de extrato de levedura e 2% glicose) (KURTZMAN et al., 2011). Dentro do tubo contendo o meio para fermentação foi posicionado um tubo de *Duham* invertido de forma que quando o isolado fosse capaz de fermentar produziria dióxido de carbono. O gás produzido por sua vez fica armazenado no tubo de *Duham*. A leitura do teste foi realizada após 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14 e 21 dias após o inóculo do isolado. Os isolados que não apresentaram produção de gás dentro do tubo de *Duham* foram considerados negativos para o teste.

O teste de assimilação de fontes de carbono determina a capacidade das leveduras crescerem em meios com diferentes fontes de carbono e foram realizados com os isolados identificados como possíveis espécies não descritas. Em cada meio de cultura do teste foi adicionado apenas uma fonte de carbono por vez, o crescimento da levedura foi verificado para aferir se a mesma seria capaz de assimilar a fonte de carbono que foi oferecida no meio. As fontes de carbono utilizadas foram glicose, ácido galacturônico, ácido succínico, amido, celobiose, citrato, D-arabinose, L-arabinose, dulcitol, eritritol, galactose, glicerol, gluconato, inositol, inulina, lactato, lactose, L-arabinitol, N-acetilglicosamina (NAG), maltose, manitol, melezitose, melibiose, rafinose, ramnose, ribitol, ribose, sacarose, salicina, sorbitol, trealose, tween 20, tween 80 e xilose. Da mesma forma, as fontes de nitrogênio foram disponibilizadas separadamente para avaliar a capacidade das leveduras de assimilá-las (KURTZMAN et al., 2011). As fontes de nitrogênio utilizadas no teste foram peptona, cadaverina, creatina, creatinina, etilamina, lisina, nitrato e nitrito. Para o teste foi usado a técnica de *replica-plating*.

Para testar a capacidade de formar compostos amilóides extracelulares, os isolados foram incubados em meio contendo 0,67% de YNB, 2% de ágar e 0,5% glicose durante três semanas. Após esse período, uma solução de lugol (1g de iodo, 2g de iodeto de potássio em 300 ml de água deionizada) foi adicionada sobre as colônias e os isolados que produziram compostos amiloides adquiriram colônias com coloração azul e verde (KURTZMAN et al., 2011).

#### **4.5. Análise estatística**

Os dados mensais de precipitação foram obtidos do banco de dados da Secretaria de Estado do Meio Ambiente e dos Recursos Hídricos (Semarh, 2018) do estado de Alagoas. Os índices de Shannon ( $H'$ ), Dominância de Simpson ( $D$ ) e dissimilaridade de Bray-Curtis foram gerados utilizando dados de abundância e riqueza na versão 3 do software PAST: *Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis* (HAMMER, 2016).

A diferença no regime de chuvas entre os pontos foi verificada com o teste de Mann-Whitney Wilcoxon. O teste de correlação de Pearson foi realizado entre a distância temporal (em meses) e os valores de dissimilaridade de Bray-Curtis entre as coletas em cada ponto de amostragem. A influência da chuva foi testada com o uso de regressões lineares simples realizadas em relação variáveis como riqueza total estimada, Shannon ( $H'$ ), Dominância de Simpson ( $D$ ) e abundância total por amostra (em CFU). A estimativa da riqueza total foi obtida com o estimador de espécies Chao1 e a curva do coletor através do método de rarefação com 1000 permutações utilizando o pacote Vegan (OKSANEN et al., 2013). Todos esses testes foram gerados e analisados na plataforma da linguagem R (R TEAM, 2016).

## 5. MANUSCRITO 1

***Vishniacozyma alagoana* sp. nov. a tremellomycetes yeast associated with plants from Dry and Rainfall Tropical Forests in Brazil**

Ciro Ramon Félix<sup>1,2</sup>, Dayse Alessandra Andrade<sup>1</sup>, James Henrique Almeida<sup>1</sup>, Hector Mauricio Casanova Navarro<sup>1,2</sup>, Gloria Scorzetti<sup>3</sup>, Jack W. Fell<sup>3</sup>, Melissa Fontes Landell<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alagoas, Maceió – AL, Brazil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, Universidade Federal de Alagoas, Campus A. C. Simões, Av. Lourival Melo Mota, s/n, CEP: 57072-900, Maceió – AL, Brazil.

<sup>3</sup>Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, University of Miami, Key Biscayne, FL, 33149, USA.

\*Correspondence: Melissa Fontes Landell, Setor de Genética - ICBS, Universidade Federal de Alagoas, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro dos Martins, CEP: 57072-900, Maceió - AL, Brasil, Tel. (+55) 82-32141995

(e-mail: melissa.landell@gmail.com)

**Running title:** *Vishniacozyma alagoana* sp. nov

The GenBank accession numbers for the sequences of the D1/D2 domain of the LSU rDNA gene and ITS region of the type strain *Vishniacozyma alagoana* CBS 15966 are MH909005 and MH885328 respectively.

---

28 Plants are important reservoirs of described and undescribed yeast species. During a  
29 study of yeasts associated with bromeliads from Northeast region of Brazil (yrs 2013-  
30 2017), analysis of the D1/D2 domain of the LSU rRNA and internal transcribed spacer  
31 (ITS) region identified eleven strains of yeasts as an unknown species of  
32 *Vishniacozyma*. The species may have a diverse habitat in Brazil as a strain was  
33 collected from a flowering plant (Acanthaceae) in 1994. As a consequence, we  
34 propose *Vishniacozyma alagoanum* sp. nov. as a member of tremellomycetes yeasts  
35 (Agaricomycotina, Basidiomycota). *Vishniacozyma alagoanum* sp. nov. was found in  
36 Atlantic Forest (a tropical rainforest) and the Caatinga (a seasonally dry tropical forest)  
37 associated with bromeliads in northeast and southeastern Brazil. The proposed new  
38 species is related to *Vishniacozyma taibaiensis* and distinguished by eight nucleotide  
39 substitutions on D1/D2 domain and seventeen nts on ITS region. In addition,  
40 *Vishniacozyma alagoana* sp. nov. differs from *V. taibaiensis* by the ability to assimilate  
41 ribitol. The type strain is CBS 15966<sup>T</sup>= BRT179<sup>T</sup> = UFMG-CM-Y6448<sup>T</sup>.

42



43

44 The many studies of yeast diversity in plants report undescribed yeast  
45 species (e.g. 1–4), which demonstrates the importance of this substrate for yeast  
46 taxonomic prospecting. In recent years, several yeasts were described associated with  
47 bromeliads, for example *Genolevuria bromeliarum* [5], *Candida bromeliacearum* [6],  
48 *Papiliotrema leoncinii* [7], moreover some groups of yeasts are endemic with  
49 Bromeliaceae, such as *Carlosrosaea* spp. [8,9] and *Pattersoniomyces tillandsiae* [10].

50

51 In the reclassification elaborated by Liu *et al.* [11] based on the multigenic  
52 analyses of seven regions: ITS rDNA, D1/D2 domain, the small subunit (SSU) rDNA,  
53 the two subunits of RNA polymerase II (RPB1 and RPB2), translation elongation factor  
54 1- $\alpha$  (TEF1) and cytochrome b (CYTB), the genus *Vishniacozyma* was proposed to  
55 encompass eleven species previously classified in the genera *Cryptococcus* and  
56 *Bullera* [12]. Currently, the genus *Vishniacozyma* contains the species *V. carnescens*,  
57 *V. dimennae*, *V. ellesmerensis*, *V. foliicola*, *V. globispora*, *V. heimaeyensis*, *V.*  
58 *nebularis*, *V. penaeus*, *V. peneaus*, *V. psychrotolerans*, *V. taibaiensis*, *V. tephrens*  
59 *is* and *V. victoriae*. [11,12]. The phylogenetic transfer of *Trimorphomyces nebularis* to  
60 *Vishniacozyma* was based on the D1/D2 domain sequence as there is no other genetic  
61 data deposited in databases (*vide* 11,13). All species are morphologically  
62 indistinguishable [11], except *V. nebularis* which, unlike the rest of the group, has a  
63 teleomorphic state [13].

63

64 In our study of yeasts associated to bromeliads from Northeast region of  
65 Brazil, eleven yeast strains found found to be members of the genus *Vishniacozyma*.  
66 The sequences of the D1/D2 domain of the LSU rRNA gene and the internal  
67 transcribed spacer (ITS) region, showed that these strains are genetically distinct from  
68 all currently accepted basidiomycetous yeasts. The first reported strain (CBS 8355) of  
69 *this undescribed species* was collected in 1994 by G. Capriotti (Univ of Perugia, Italy)  
70 from a flower of Acanthaceae in Angra dos Reis, Brazil. In agreement with the data  
71 presented above, Scorzetti *et al.* [14] depicted (based on D1/D2 sequence and ITS  
72 analysis) the close relationship of CBS 8355 to *C. victoriae* and a sister clade including  
73 *C. dimennae*. Based on our molecular sequence analyses, the 11 strains were  
74 identified as an undescribed

74 yeast species strongly related to *V. taibaiensis*. Therefore, we propose the species  
75 *Vishniacozyma alagoana* sp. nov. as a member of tremellomycetes yeasts.

76

---

77 Eleven yeast strains were isolated from bromeliads (Table 1) from the  
78 Brazilian Northeast region, all plants were adult and apparently healthy. The bromeliad  
79 leaf samples were aseptically collected, stored in sterile plastic bags and sent to the  
80 Molecular Diversity Laboratory of the Federal University of Alagoas, where they were  
81 processed within 24 hours after collection. The process followed the protocol proposed  
82 by Landell *et al.* [15], where an area of 10 cm<sup>2</sup> of each sample were put in 50mL  
83 Erlenmeyer flasks in sterile distilled water and shaken for 10 minutes. The water was  
84 replaced by 30 ml of Tween 20 0.5%, and vigorously shaken for 30 minutes twice.  
85 Decimal dilutions 10<sup>0</sup> and 10<sup>-1</sup> from the last leaf wash were spread on modified YM  
86 medium (1% glucose, 0.3% malt extract, 0.3% yeast extract, 0.5% peptone, 2% agar)  
87 acidified to pH 4.0 with hydrochloric acid, containing chloramphenicol 400 mgL<sup>-1</sup> and  
88 incubated at 22-25 °C for 5-7 days.

89 The strain CBS 8355 was isolated from a flower of Acanthaceae, collected  
90 in Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brazil by G. Capriotti (Univ of Perugia, Italy). The  
91 strains were isolated on Potato Dextrose Agar (PDA). The plates were incubated at  
92 22–25 °C for up to 7 days.

93 The yeast strains were purified by repeated streaking on YM agar plates  
94 and preserved at - 20°C or in GYMP agar slants for later identification. The yeast  
95 characterization followed standard methods [16]. The carbon and nitrogen assimilation  
96 assays were carried out in solid plates during 21 days of incubation. For the molecular  
97 identification, we amplified the D1/D2 domain of LSU rDNA with the primers NL-1 and  
98 NL-4 [16] and the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of rDNA using the primers  
99 ITS-1 and ITS-4 [17]. The PCR was performed as described by Lachance *et al.* [18].  
100 The molecular sequencing of the strains were performed with protocol facilities from  
101 Human Molecular Genetics Laboratory – Federal University of Pernambuco in an ABI  
102 3130 Genetic Analyzer automated sequencing system with BigDye v3.1 and POP7  
103 polymer (Life Technologies). DNA extraction, amplification and sequencing of the CBS  
104 strain were performed according to Fell *et al.* [16] and Scorzetti *et al.* [14].

105                Sequences were curated with the STADEN Package [19] and compared to  
106 sequences deposited in the GenBank database with the BLAST Nucleotide (blastn)  
107 tool [20]. To estimate phylogenetic relationships, concatenated neighbor-joining ITS  
108 and D1/D2 domain tree was generated with the Kimura two-parameter model to correct  
109 for genetic distances [21] with the MEGA software, version 7 [22]. Gaps were excluded  
110 from the analysis. The robustness of trees was calculated with 1000 bootstrap  
111 pseudoreplicates [23]. All sequences generated in the present study were deposited  
112 at GenBank and accessions numbers are shown in Table 1.

113 **Table 1-** List of strains, localities, substrates of isolation, dates of collection and DNA sequences used in this study.

114

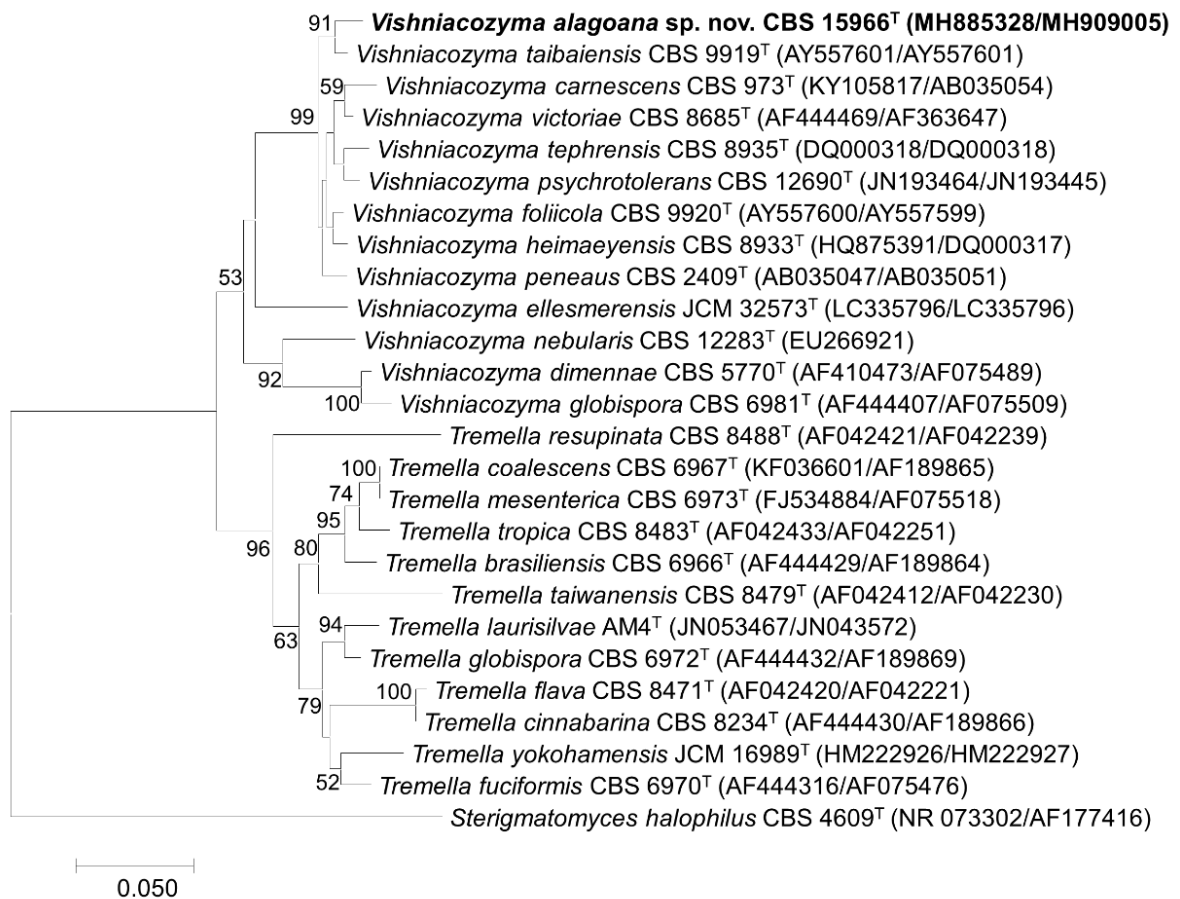
Strain	GenBank access number D1D2/ITS	Other designation	Source, locality and biome	Date
CBS 8355	AF444696/AF444385	ML 3663 = DBVPG 4507	Flower of Acanthaceae, Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brazil, Atlantic Forest Biome	1994
BRT38			Leaf of <i>Hohenbergia</i> sp. (Bromeliaceae), Private Reserve of Natural Patrimony Tocaia, Santana do Ipanema, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	September 2013
BMA44		CBS 15949	Leaf of unidentified Bromeliaceae, Serra da Caiçara, Maravilha, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	April 2014
BMA113	MH908980	CBS 15956= UFMG-CM-Y6458	Leaf of unidentified Bromeliaceae, Serra da Caiçara, Maravilha, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	April 2016
BMA150	MH908985	CBS 15959= UFMG-CM-Y6469	Leaf of unidentified Bromeliaceae, Serra da Caiçara, Maravilha, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	April 2016
BRT179 <sup>T</sup>	MH909005/MH885328	CBS 15966 <sup>T</sup> = UFMG-CM-Y6448 <sup>T</sup>	Leaf of unidentified Bromeliaceae, Private Reserve of Natural Patrimony Tocaia, Santana do Ipanema, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	August 2016
BRT187	MH909007	CBS 15968= UFMG-CM-Y6449	Leaf of <i>Bromelia antiacantha</i> (Bromeliaceae), Private Reserve of Natural Patrimony Tocaia, Santana do Ipanema, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	August 2016
BMA231	MH908988	CBS 15971= UFMG-CM-Y6441	Leaf of unidentified Bromeliaceae, Serra da Caiçara, Maravilha, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	April 2017
BMA261	MH908991	CBS 15974= UFMG-CM-Y6438	Leaf of unidentified Bromeliaceae, Serra da Caiçara, Maravilha, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	April 2017
BMA268	MH908992	CBS 15975	Leaf of unidentified Bromeliaceae, Serra da Caiçara, Maravilha, Alagoas, Northeast Brazil, Caatinga biome	April 2017
BSB291	MH909036	UFMG-CM-Y6289	Leaf of <i>Hohenbergia stellata</i> (Bromeliaceae), Serra da Barriga, União dos Palmares, Alagoas, Northeast Brazil, Atlantic Forest Biome	July 2016
BSB309	MH909037	CBS 15986= UFMG-CM-Y6291	Leaf of <i>Aechmea froesii</i> (Bromeliaceae), Serra da Barriga, União dos Palmares, Alagoas, Northeast Brazil, Atlantic Forest Biome	July 2016

115

116

117 **Proposal of Novel Species**  
118

119           Sequence comparisons of the ITS region and the D1/D2 domain of the  
120 large-subunit rDNA gene indicated that all strains belong to a novel yeast species  
121 within the genus *Vishniacozyma* with affinity to *V. taibaiensis* (Fig. 1), which was  
122 isolated from leaf in China [24]. However *V. alagoana* sp. nov. and *V. taibaiensis*, were  
123 distinguished by eight nucleotide substitutions on D1/D2 and seventeen on ITS region.  
124 In addition, *V. alagoana* sp. nov. differs from *V. taibaiensis* by the ability to assimilate  
125 ribitol. Soluble starch and glycerol are variable for *V. alagoana* and negative for *V.*  
126 *taibaiensis* (Table 2). Among the strains of *V. alagoana* sp. nov. there was no variation  
127 in the D1/D2 nucleotide sequence and the ITS ranged from 0-1 substitution.



128

129 **Fig. 1-** Phylogenetic placement of *Vishniacozyma alagoana* sp. nov. by neighbour-  
130 joining (Kimura's two-parameter distance method) of the ITS and D1/D2 region.  
131 Bootstrap values of  $\geq 50\%$  are shown (1000 replicates). Bar, 0.05 substitutions per  
132 nucleotide position.

133 *Vishniacozyma alagoana* sp. nov. was isolated from Northeast and  
134 Southeast Brazil (Alagoas state and Rio de Janeiro state, respectively) in the Atlantic  
135 Forest and Caatinga Biomes. The Atlantic Forest (a tropical rainforest) receives large  
136 amounts of rain throughout the year, depending on the region, between 1000-4000  
137 mm of rainfall per year [25]. The Caatinga (a seasonally dry tropical forest) has  
138 irregular rains in low amounts throughout the year, between 240-900 mm of rainfall  
139 and 7-11 months of drought per year [26]. Similarly, *V. taibaiensis* and *V. foliicola* were  
140 isolated from environments with extreme and opposite rain regimes (rainy and dry)  
141 [24]. In addition, *V. alagoana* sp. nov. was frequently isolated from bromeliads from  
142 Caatinga (dry forest) in northeastern Brazil, although in low abundance (0.3 to 9.0  
143  $\times 10^2$ CFU/cm<sup>2</sup>). This species was found from different species of bromeliads and years  
144 of collection.

145 The species described in the principal group of *Vishniacozyma* (*victoriae*)  
146 were found in several substrates, as soil, invertebrates and some from marine  
147 environments (*vide* 27–29), however, most species of this group are commonly or  
148 mainly isolated from the phyllosphere or flowers, as the case of *V. alagoana* sp. nov.,  
149 that was found on both substrates, from Acanthaceae flower and bromeliad leaves.  
150 The exceptions to this habitat behavior are *V. tephrensensis*, which is usually found on  
151 soil, but has a record from rhizosphere [27,28]. The *V. peneaus*, *V. psychrotolerans*  
152 and *V. ellesmerensis* are the only in the group not registered from plant material  
153 [12,27,30].

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165 **Table 2-** Physiological and biochemical tests capable of differentiating *Vishniacozyma*  
 166 *alagoana* sp. nov. from the *Vishniacozyma* species.

Characteristic	<i>V. victoriae</i> <sup>(27)</sup>	<i>V. tephrensis</i> <sup>(27)</sup>	<i>V. heimaeyensis</i> <sup>(27)</sup>	<i>V. psychrotolerans</i> <sup>(30)</sup>	<i>V. globispora</i> <sup>(31)</sup>	<i>V. peneaus</i> <sup>(27)</sup>	<i>V. carnescens</i> <sup>(27)</sup>	<i>V. dimennae</i> <sup>(27)</sup>	<i>V. ellesmerensis</i> <sup>(12)</sup>	<i>V. foliicola</i> <sup>(24)</sup>	<i>V. taibaiensis</i> <sup>(24)</sup>	<i>V. alagoana</i>
Inulin	-	-	-	+	-	-	-	-	n	+/w	+	+
Melibiose	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	v
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	v
Lactose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+,w	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	v
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+,l	+/D
Melezitose	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+,w	+
Soluble starch	+	+	+	-	v	v	+	-	+	-	-	v
Salicin	+	+/s	s	+	v	+	+	+	+	+/l	+,w	v
L-Rhamnose	v	+/s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	v
D-Ribose	+/s	+	+	-	+	+	l	+	+	+	+	+
Glycerol	+/s	-/s	s	-	+	l	l	v	-	-	-	v
Erythritol	+/s	+	+	+	-	+	l	-	-	+	+	+
Ribitol	+/s	+	+	-	+	+	+	+	+/w	+	-	+
DL-Lactate	-	-/w	-	+,w	+	-	l/w	w	+	-	-	v
Citrate	+/s	+	+	-	+	l	l	w	-	-	-	v
N-Acetyl-D-glucosamine	-	+	n	n	n	+	w	-	-	n	n	+
Growth 10% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n	n	+
Growth on 50 % glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	w	v
Starch formation	+/w	+/w	w	n	+	+	+	+	n	+	+	+
Cadaverine	-	-	-	n	n	+	+	n	n	+	+	+
Ethylamine	-	-	-	n	n	+	+	n	n	+	+	+/D
L-Lysine	l	-	-	+	n	+	+	n	n	+	+	+/D
Nitrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sodium nitrite	-	-	-	+	n	+	+	n	n	+	+	v

167 +, positive; l, latent (rapid development of a positive reaction after a lag period); D, delayed; s,  
 168 positive but slow; w, weak; v, variable; -, negative and n, data not found. The symbol 'l' is equivalent to  
 169 'or'.

170 **Description of *Vishniacozyma alagoana* sp. nov. Félix, Andrade, Almeida,**  
171 **Navarro, Fell and Landell**

172 *Vishniacozyma alagoana* sp. nov. (based on the addition of the suffix “ana”, that means  
173 belonging to a certain place, alagoana from Alagoas, most of the strains, including the  
174 type strain, were isolated from the State of Alagoas in Brazil). The Mycobank number  
175 is MB 833601.

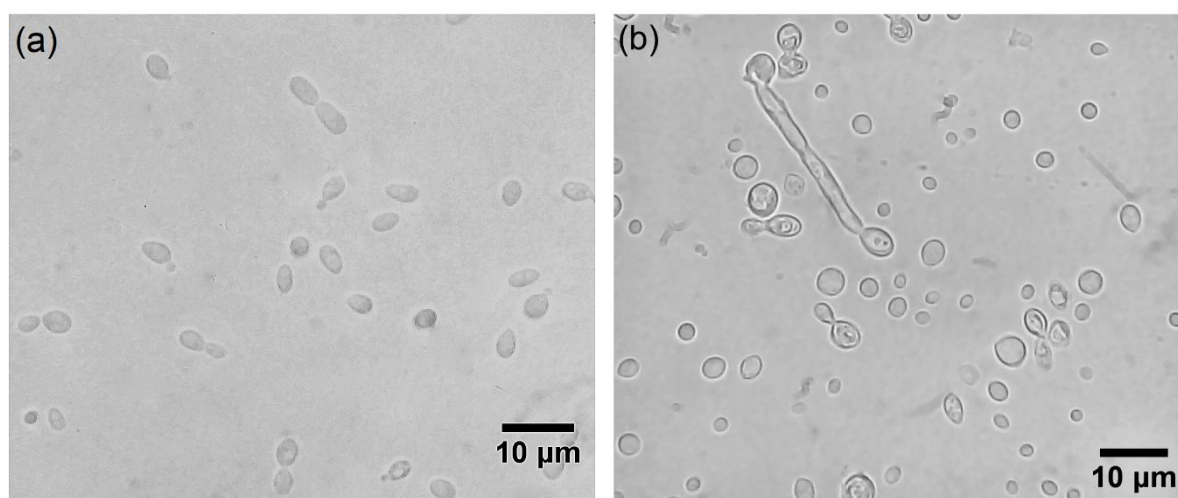
176 In YEPD broth after 2 days at 22-25 °C, yeast cells are globose to ovoid and occur  
177 singly or with multipolar buds (1.45–3.29 x 2.94–5.58 µm) (Fig. 2a). The colonies are  
178 smooth, butyrous to mucous, glistening and cream color.

179 The pseudohyphae formation was observed by cultivation up to 1, 2 and 3 weeks in  
180 Dalmau plate culture on cornmeal agar (Fig. 2b). True hyphae and sexual reproduction  
181 were not observed on Dalmau plate culture. Ballistoconidia not formed, and  
182 fermentation of glucose absent. The following carbon compounds are assimilated:  
183 glucose, inulin, sucrose, raffinose, melibiose (variable), galactose (variable), lactose,  
184 trehalose (variable), maltose, melezitose, soluble starch (variable), cellobiose, salicin  
185 (variable), L-rhamnose (variable), D-xylose, L-arabinose, D-arabinose (slow), D-  
186 ribose, glycerol (variable), tween 20 (variable), L-arabitol (weak), erythritol, ribitol, D-  
187 mannitol, D-glucitol, myo-inositol, xylitol (weak), DL-lactate (variable), succinate,  
188 sodium citrate (variable), D-gluconate and N-Acetyl-D-glucosamine. Tween 80 are not  
189 assimilated. Nitrogen compounds are assimilated: cadaverine, sodium nitrite  
190 (variable), L-lysine (slow) and ethylamine (slow). The sources nitrate, creatine and  
191 creatinine are not assimilated. Growth at 25 °C present and at 30 °C variable. No  
192 growth at 35 °C. Growth was observed in YEPD with 10% sodium chloride, but not in  
193 medium with 1% acetic acid. The growth in medium containing 50% glucose and the  
194 production of starch-like compounds are variable. Urease activity and Diazonium blue  
195 B reactions are positive. Growth on medium containing 0.01% cycloheximide, but no  
196 growth at 0.1% of cycloheximide.

197 The holotype CBS 15966<sup>T</sup> is preserved in a metabolically inactive state in the collection  
198 of the Yeast Division of the CBS collection of the Westerdijk Fungal Biodiversity  
199 Institute, Utrecht, Netherlands, as a lyophilized culture. The ex-type strain BRT179<sup>T</sup>  
200 (CBS 15966<sup>T</sup>= UFMG-CM-Y6448<sup>T</sup>) was isolated from leaf of Bromeliaceae sp. in  
201 Private Reserve of Natural Patrimony Tocaia, Santana do Ipanema, Alagoas,



202 Northeast Brazil, Caatinga Biome. The informations about the additional strains  
203 examined are on Table 1.



204  
205 **Fig. 2-** Cells of *Vishniacozyma alagoana* sp. nov. **(a)** on YEPD after 2 days at 22-25 °C and  
206 **(b)** on Dalmau plate culture on cornmeal agar after 21 days at 22-25 °C.

207

#### 208 **Funding Information**

209 This research was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico  
210 e Tecnológico (CNPq, process numbers 475378/2013-0, 408718/2013-7 and  
211 311553/2018-4), Fundação de Amparo à pesquisa de Alagoas (FAPEAL) and  
212 Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for  
213 Fellowships.

#### 214 **Acknowledgements**

215 The authors thank the Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio),  
216 Memorial Parque Zumbi dos Palmares, Usina Caeté – Grupo Carlos Lyra, G. Capriotti  
217 and Mr. Alberto Nepomuceno Agra Jr. for kindness during the collections.

#### 218 **Conflicts of interest**

219 The authors declare that they have no known competing financial interests or personal  
220 relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

221 **Reference**

- 222 1. **Hagler AN, Rosa A, Morais B, Mendonca-hagler LC, Franco MO, Araujo V,**  
223 **et al.** Yeasts and coliform bacteria of water accumulated in bromeliads of  
224 mangrove and sand dune ecosystems of southeast Brazil. *Can J Microbiol.*  
225 1993;39:973–7.
- 226 2. **Rosa CA, Morais PB, Santos SR, Peres Neto PR, Mendonça-Hagler LC,**  
227 **Hagler AN.** Yeast communities associated with different plant resources In  
228 sandy coastal plains of southeastern Brazil. *Mycol Res.* 1995;99:1047–54.
- 229 3. **Landell MF, Mautone JN, Valente P.** Biodiversity of Yeasts Associated To  
230 Bromeliads in Itapuã Park , Viamão / RS. *Biociencias.* 2006;14:144–9.
- 231 4. **Gomes FCO, Safar SVB, Marques AR, Medeiros AO, Santos AR, Carvalho O,**  
232 **Carvalho C, et al.** The diversity and extracellular enzymatic activities of yeasts  
233 isolated from water tanks of *Vriesea minarum*, an endangered bromeliad  
234 species in Brazil, and the description of *Occultifur brasiliensis* f.a., sp. nov.  
235 *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2015;107:597–611.
- 236 5. **Landell MF, Inácio J, Fonseca Á, Vainstein MH, Valente P.** *Cryptococcus*  
237 *bromeliarum* sp. nov., an orange-coloured basidiomycetous yeast isolated from  
238 bromeliads in Brazil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009;59:910–3.
- 239 6. **Ruivo CCC, Lachance MA, Rosa CA, Bacci M, Pagnocca FC.** *Candida*  
240 *bromeliacearum* sp. nov. and *Candida ubatubensis* sp. nov., two yeast species  
241 isolated from the water tanks of *Canistropsis seidelii* (Bromeliaceae). *Int J Syst*  
242 *Evol Microbiol.* 2005;55:2213–7.
- 243 7. **Pagani DM, Brandão LR, Santos ARO, Felix CR, Ramos JP, Broetto L, et**  
244 **al.** *Papiliotrema leoncinii* sp. nov. and *Papiliotrema miconiae* sp. nov., two  
245 tremellaceous yeast species from Brazil. *Int J Syst Evol Microbiol.*  
246 2016;66:1799–806.
- 247 8. **Landell MF, Santos ARO, Vainstein MH, Broetto L, Safar SVB, Mott T, et**  
248 **al.** *Bullera vrieseae* sp. nov., a tremellaceous yeast species isolated from  
249 bromeliads. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015;65:2466–71.
- 250 9. **Felix CR, Navarro HMC, Paulino GVB, Broetto L, Landell MF, Casanova**  
251 **Navarro HM, et al.** *Carlosrosaea hohenbergiae* sp. nov. and *Carlosrosaea*

- 252 *aechmeae* sp. nov., two tremellaceous yeasts isolated from bromeliads in  
 253 north-eastern Brazil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2017;67:1–6.
- 254 10. **Piątek M, Lutz M, Sousa FMP, Santos ARO, Félix CR, Landell MF, et al.**  
 255 *Pattersoniomyces tillandsiae* gen. et comb. nov.: linking sexual and asexual  
 256 morphs of the only known smut fungus associated with Bromeliaceae. *Org*  
 257 *Divers Evol.* 2017; 17:531-43.
- 258 11. **Liu XZ, Wang QM, Göker M, Groenewald M, Kachalkin A V., Lumbsch HT,**  
 259 **et al.** Towards an integrated phylogenetic classification of the  
 260 Tremellomycetes. *Stud Mycol.* 2015;81:85–147.
- 261 12. **Tsuji M, Tanabe Y, Vincent WF, Uchida M.** *Vishniacozyma ellesmerensis* sp.  
 262 nov., a psychrophilic yeast isolated from a retreating glacier in the Canadian  
 263 High Arctic. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2019;69:696–700.
- 264 13. **Kirschner R, Chen C.** A new species of *Trimorphomyces* (Basidiomycota,  
 265 Tremellales) from Taiwan. *Nov Hedwigia.* 2008;87:445–55.
- 266 14. **Scorzetti G, Fell JW, Fonseca A, Statzell-tallman A.** Systematics of  
 267 basidiomycetous yeasts : a comparison of large subunit D1 / D2 and internal  
 268 transcribed spacer rDNA regions. *FEMS Yeast Res.* 2002;1497:495–517.
- 269 15. **Landell MF, Billodre R, Ramos JP, Leoncini O, Vainstein MH, Valente P.**  
 270 *Candida aechmeae* sp. nov. and *Candida vrieseae* sp. nov., novel yeast  
 271 species isolated from the phylloplane of bromeliads in Southern Brazil. *Int J*  
 272 *Syst Evol Microbiol.* 2010;60:244–8.
- 273 16. **Fell JW, Boekhout T, Fonseca A, Scorzetti G, Statzell-tallman A.**  
 274 Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by  
 275 large-subunit rDNA D1 / D2 domain sequence analysis. *Int J Syst Evol*  
 276 *Microbiol.* 2000;50:1351–71.
- 277 17. **Schoch CL, Seifert K a., Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque C a.,**  
 278 **et al.** Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal  
 279 DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109:1–6.
- 280 18. **Lachance M, Bowles JM, Starmer WT, Barker JSF.** *Kodamaea kakaduensis*  
 281 and *Candida tolerans* , two new ascomycetous yeast species from Australian  
 282 Hibiscus flowers. *Can J Microbiol.* 1999; 45:172–7.

- 283 19. **Staden R, Beal KF, Bonfield JK.** The staden package. *Bioinforma Methods*  
284 *Protoc.* 2000:115–30.
- 285 20. **Ramsay L, Macaulay M, Degli Ivanissevich S, MacLean K, Cardle L, Fuller**  
286 **J, et al.** A simple sequence repeat-based linkage map of Barley. *Genetics.*  
287 2000;156:1997–2005.
- 288 21. **Kimura M.** A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base  
289 Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *J Mol*  
290 *Evol.* 1980;16:111–20.
- 291 22. **Kumar S, Stecher G, Tamura K.** MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics  
292 Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol.* 2016;33:1870–4.
- 293 23. **Felsenstein J.** Confidence limits on phylogenies: an approach using the  
294 bootstrap. *Evolution (N Y).* 1985;39:783–91.
- 295 24. **Wang Q, Boekhout T, Bai F.** *Cryptococcus foliicola* sp. nov. and *Cryptococcus*  
296 *taibaiensis* sp. nov., novel basidiomycetous yeast species from plant leaves. *J*  
297 *Gen Appl Microbiol.* 2011;57:285–91.
- 298 25. **Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM.** The  
299 Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest  
300 distributed? Implications for conservation. *Biol Conserv.* 2009;142:1141–53.
- 301 26. **Santos JC, Leal IR, Almeida- JS, Fernandes GW, Tabarelli M.** Caatinga : the  
302 scientific negligence experienced by a dry tropical forest. *Trop Conserv Sci.*  
303 2011;4:276–86.
- 304 27. **Fonseca Á, Boekhout T, Fell JW.** *Cryptococcus vuillemin* (1901). The Yeasts,  
305 *Elsevier*, 2011, p. 1661–737.
- 306 28. **Vishniac HS.** *Cryptococcus tephrensis*, sp. nov., and *Cryptococcus*  
307 *heimaeyensis*, sp. nov.; new anamorphic basidiomycetous yeast species from  
308 Iceland. *Can J Microbiol.* 2002;48:463–7.
- 309 29. **Thomas-hall S, Watson K, Scorzetti G.** *Cryptococcus statzelliae* sp. nov. and  
310 three novel strains of *Cryptococcus victoriae*, yeasts isolated from Antarctic  
311 soils. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2002;, 52:2303–8.
- 312 30. **Garcia V De, Zalar P, Brizzio S, Gunde-cimerman N.** *Cryptococcus* species  
313 (Tremellales) from glacial biomes in the southern (Patagonia) and northern

- 314 (Svalbard) hemispheres. *FEMS Microbiol Ecol.* 2012;82:523–39.
- 315 31. **Boekhout T, Bai FY, Nakase T.** "Bullera Derx (1930). The Yeasts. *Elsevier,*
- 316 2011, p. 1623-59.

## 6. MANUSCRITO 2

### **Yeasts from Brazilian semiarid bromeliads: A great source for undescribed species and extracellular enzymes**

Ciro Ramon Félix (ORCID 0000-0001-5087-8872)<sup>1</sup>, Dayse Alessandra Andrade<sup>1</sup>,  
Melissa Fontes Landell<sup>1</sup> (ORCID 0000-0001-6848-0803)\*

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Maceió – AL, Brazil.

\*Setor de Genética - ICBS, Universidade Federal de Alagoas, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro dos Martins, CEP: 57072-900, Maceió - AL, Brasil, Tel. (+55) 82-32141995

(e-mail: [melissa.landell@gmail.com](mailto:melissa.landell@gmail.com))

**Abstract**

Caatinga is a semi-arid environment with more than 1 million km<sup>2</sup> and marked by long periods of drought. Even though it is the largest dry forest in South America, in several compositions of knowledge it has incipience in its data. For microorganisms that is no difference because there are no studies that contemplate microbial groups. The present study aims to analyze the community of epiphytic yeasts associated with bromeliads in the Caatinga in Brazil northeastern and to verify the production of extracellular enzymes. The results obtained indicate that the richness that we report in the Caatinga (80 species of yeasts) is upper to most similar studies to this date. In addition, about a third of the listed species are possible undescribed species. More than 80% of the tested isolates demonstrated some enzymatic activity. Among the enzymes, the one with the highest proportional number of producers was esterase (63%), followed by amylase (37%) and cellulase (32%). This exposure that phylloplane of bromeliads in Caatinga is a precious source of species, both described and undescribed, of yeasts and with biotechnological potential.

**Keywords:** New species, Caatinga, Fungi, phylloplane, enzymes, Dry Forest.

## Introduction

Caatinga is a Seasonally Dry Tropical Forest, it has an area of approximately 1 million km<sup>2</sup> and occupies about 10% of Brazilian territory (Silva et al. 2017). Caatinga is formed by a mosaic of deciduous shrub-prickly vegetation and dry forest patches. In this environment, the rainfall is low (between 240 and 1500mm per year) and the rainy season are concentrated on three consecutive months during the year, but this period can vary between the years (Machado and Lopes 2004). These factors added to the interannual variation of rainfall causes prolonged periods of drought (Santos et al. 2011). About 28 million people live in Caatinga, along with its large area and biodiversity, this region is considered one of the most populous and biodiverse semi-arid regions in the world (Silva et al. 2017). The Caatinga has long been considered a poor biodiversity environment. Researches initiatives in the last two decades have demystified this distortion. However, while studies of macroorganisms are growing rapidly, studies addressing the diversity of microorganisms are still scarce.

Microorganisms are important agents in maintenance the environmental health. For example, in association with plants, microorganisms can be antagonists to phytopathogens, produce important metabolites such as vitamins, enzymes and plant hormones (Limtong and Koowadjanakul 2012). These microorganisms are subject to variables fluctuation such amount of organic and inorganic compounds, temperature, UV radiation and water availability (Fonseca and Inácio 2006; Vacher et al. 2016; Kemler et al. 2017).

Bacteria are generally predominate between the phyllosphere microorganisms (Vacher et al. 2016), however filamentous fungi and yeasts can be more tolerant to dissection (Treseder et al. 2018), and in a semi-arid environment such as Caatinga, they are fundamental parts of microorganisms/plant interaction. Evidence points to the contribution of in the cycling of C and N in fungi that increases in periods of drought in semi-arid environments, it is expected that by better tolerate low water availability, they will be dominant in these roles (Treseder et al. 2018) . The model composed by (Manzoni et al. 2014) indicates that in response to drought, microorganisms can invest in the production of extracellular enzymes and as a consequence, increase the soluble C pool contributing to the maintenance of the cycle. In addition, several extracellular enzymes produced by microorganisms have been gaining space in industrial processes because they are an efficient and clean



alternative from an environmental aspect (Buzzini and Martini 2002; Mautone et al. 2010).

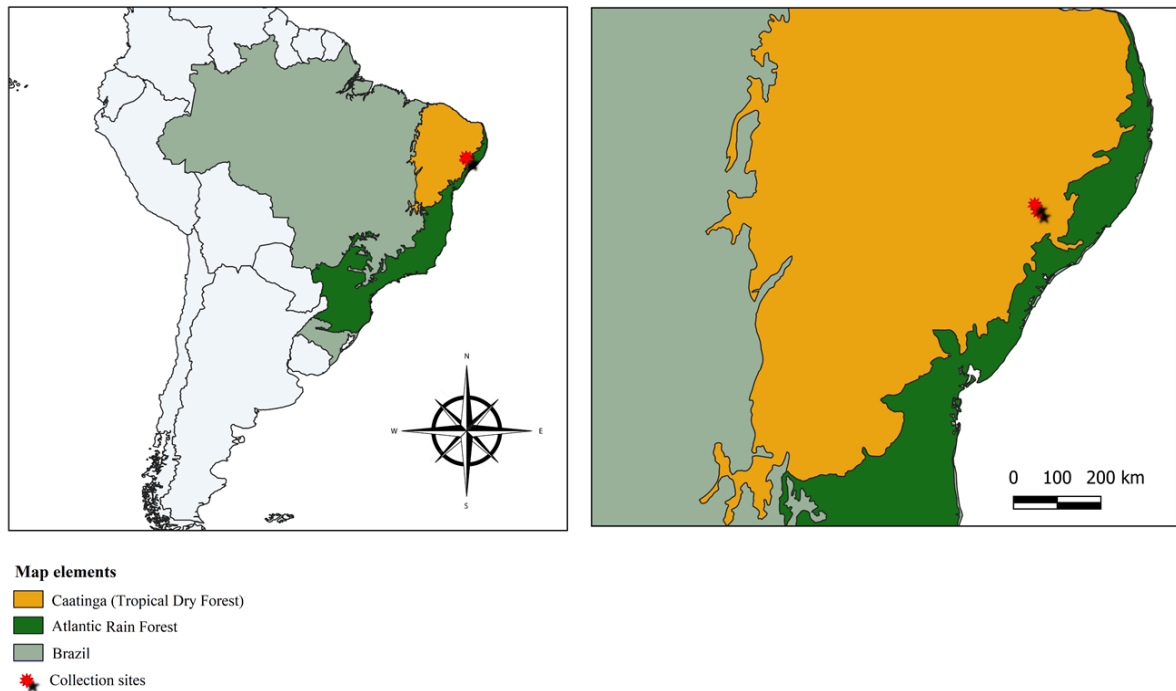
Yeasts are an artificial group of unicellular fungi widely distributed around the planet, present in multiple habitats and niches. These organisms are important decomposers in ecosystems and one of the first groups to colonize nutrient-rich substrates (Starmer and Lachance 2011). In the year of 2016, there were approximately 1600 yeast species described (Vu et al. 2016). There is a large gap in the world's fungal richness, a recent estimate demonstrate that there are among 2.2 and 3.8 million fungal species, but the number of correctly named and described species is only 120,000 (3.15 to 5.45% of the estimated total) (Hawksworth and Lücking 2017).

Tropical dry forests are still underexplored and may be important sources for taxonomic and biotechnological prospecting of microorganisms. Therefore, the aim of this study was to verify the diversity and production of extracellular enzymes from the epiphytic community of yeasts associated with bromeliads of the Dry Tropical Forest of Brazil Northeast (Caatinga ecosystem).

## **Material and methods**

### ***Description of the area***

Bromeliad leaf samples were collected at two points in the Northeast of Brazil within the corresponding area of the Caatinga ecosystem (Figure 1): i) Tocaia Natural Patrimony Reserve (Tocaia) and ii) in the Caiçara Mountain Range (Serra da Caiçara), both in the state of Alagoas and distant approximately 17 km from each other in a straight line. The Tocaia site (9° 23'08.9 "S and 37° 15'22.8" W) is a Private Conservation Unit located in the municipality of Santana do Ipanema, with an area of approximately 20 hectares and a maximum altitude of approximately 400 meters, composed mainly by an arboreal physiognomy. The Caiçara site, located in the municipality of Maravilha (9°14'16 "S and 37°19'36"W), is about 800 meters high, with an area of 1,950 hectares, where large part is constituted by shrub vegetation, a resulting scenery mainly due to anthropogenic actions. The average precipitation ranges between 500-700mm per year at both points.



**Fig. 1** Sampled points explored in this study.

### ***Bromeliad sampled and yeasts isolation***

The collections in Tocaia site occurred in September 2013, August 2016 and September 2017, while collections at Caiçara site occurred in April 2014, 2016 and 2017, totaling 6 collections (3 at each point). At each sampling, 10 bromeliad leaves were collected from healthy adult subjects, stored and transported in sterile plastic bags to the laboratory, where were processed after a maximum of 24 hours. The data processing, isolation, maintenance and conservation of yeast isolates were performed utilizing a previously described method (Landell et al. 2006).

Initially, samples were rinsed with sterile distilled water to remove coarse debris such as dust, among others. The leaves were then sectioned into fragments totaling an area of 10 cm<sup>2</sup>, deposited in Erlenmeyer flasks containing 50 ml of sterile distilled water and maintained under stirring at 180 RPM for ten minutes. After this step, the distilled water was discarded and replaced with 30 ml of 0.5% sterile Tween 20 solution and agitated at 180 RPM for 30 minutes. After this period, the 0.5% Tween 20 solution was discarded and the step was repeated once more. A volume of 100µl of the last wash product (10<sup>0</sup>) and a 10<sup>-1</sup> decimal dilution were seeded in duplicate in modified YM Agar medium (0.3% yeast extract, 0.3% malt extract, 0.5% bacteriological peptone, 1% glucose, 2% agar, 0.04% chloramphenicol, pH 4.0), incubated at 22-25 °C

for 5-7 days. Then, the growth of the plates was checked and suspicious yeast colonies were isolated in solid YEPD medium (2% glucose, 2% agar, 1% bacteriological peptone and 0.5% yeast extract), looking to recover distinct morphotypes. To confirm if the isolated colonies were actually of the yeasts, it was performed light microscopy with a 100x increase. The number of Colony-Forming Units (CFU) was verified and standardized in maximum 100 colonies per plate to estimate the abundance of the isolates in relation to the leaf area utilized (10cm<sup>2</sup>).

### ***Bromeliad identification***

Bromeliads were identified based on leaf morphological characters, flowers and inflorescences (when present), living habit (terrestrial, epiphyte and saxicolous) and geographical distribution with the help of specialized literature (e.g. Siqueira Filho and Leme, 2006).

### ***Molecular identification of the yeasts***

Extraction of the genomic DNA was performed following the protocol for small-scale preparation of modified yeast DNA originally proposed by Sambrook and Russel (2001). For the molecular identification of the isolates, the D1/D2 region of the rDNA 26S gene was amplified utilizing the NL-1 and NL-4 primer oligonucleotides (Fell et al. 2000; Scorzetti et al. 2002). The PCR was performed on a BioRad model T100 Thermal Cycler thermocycler. For initial denaturation, a temperature of 95° C was used for 5 minutes, then 95° C denaturation for 45 seconds, 56° C annealing for 30 seconds, 72° C extension for 1 minute that were repeated 35 times and finally the final extension was performed at 72° C for 5 minutes.

The products were purified utilizing isopropanol and sequenced according to the Human Molecular Genetics Laboratory - Federal University of Pernambuco protocol in an automated ABI 3130 Genetic Analyzer sequencing system using BigDye v3.1 and POP7 polymer (Life Technologies). Sequences were generated and visualized in the Staden software (Staden et al. 2000) (Staden et al., 2000). Then, the consensus were compared with sequences deposited in GenBank (NCBI) using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) and the BLASTn algorithm (Altschul et al. 1997).

### ***Extracellular enzymes activity***

The evaluation of enzymatic activity was determined by the method of Hankin and Anagnostakis, utilizing the enzyme index (EI), which is given by the ratio of the hydrolysis halo diameter in the substrate (h) and the colony diameter (c), being, [  $EI = hc$ ] (Hankin and Anagnostakis 1975).

The results were categorized according to Mautone *et al.* (2010) negative (-), weak (w), positive (+) or strong (++) . For the amylase enzyme, the isolate with a halo <1.5 cm is weak,  $1.5 \text{ cm} \leq \text{halo} \leq 3.0 \text{ cm}$  positive and a halo > 3.0 cm strong (++) . For the other enzymes, halo  $\leq 0.5 \text{ cm}$  is weak (w),  $0.5 \text{ cm} < \text{halo} < 1.0 \text{ cm}$  is positive (+) and halo > 1.0 cm is strong (++) . Isolates that not shown a halo was categorized as negative (-).

The inoculum was standardized on grade 1 of the Wickerham scale ( $\sim 10^5$  cells/ml). Then, 3 $\mu$ l of the inoculum were applied as a dot in the solid culture medium with specific substrate for each enzyme, the Petri dishes were analyzed after a period of 7-10 days of incubation at a temperature of 22-25 ° C.

#### ***Amylolytic activity***

Amylase activity was evaluated by the modified Starch agar medium (0.5% soluble starch, 0.5% bacteriological peptone, 0.5% yeast extract, 0.05% magnesium sulfate, 0.001% iron sulfate, 0.001% sodium chloride, 1.5% agar). After the incubation period, lugol solution 1% was applied over the medium to reveal the hydrolysis halo, the isolate with amylolytic activity demonstrate a halo that is not colored by the lugol and remains clear (Mautone *et al.* 2010; Gomes *et al.* 2015).

#### ***Cellulolytic activity***

The evaluation of cellulase activity was conducted by the modified CMC agar medium (0.5% carboxymethyl cellulose (CMC), 0.1% sodium nitrate, 0.1% monobasic potassium phosphate, 0.1 potassium chloride, 0.05% magnesium sulfate), 0.05% yeast extract, 0.1% glucose and 1.7% agar). To reveal the result, was added to the plates Congo Red solution 0.1% and after 40 minutes the plates were washed with NaCl solution 1 M. The isolates capable of hydrolyzing CMC demonstrated an orange halo (Buzzini and Martini 2002; Gomes *et al.* 2015).

### *Esterases activity*

The esterase activity was evaluated by modified Tween 80 agar medium (2.5% tween 80, 0.1% glucose, 1% bacteriological peptone, 0.5% sodium chloride, 0.1% calcium chloride and 2% agar). After the incubation period, the isolates that hydrolyzed the substrate presented a halo formed by a white precipitate (Buzzini and Martini 2002).

### **Statistical analysis**

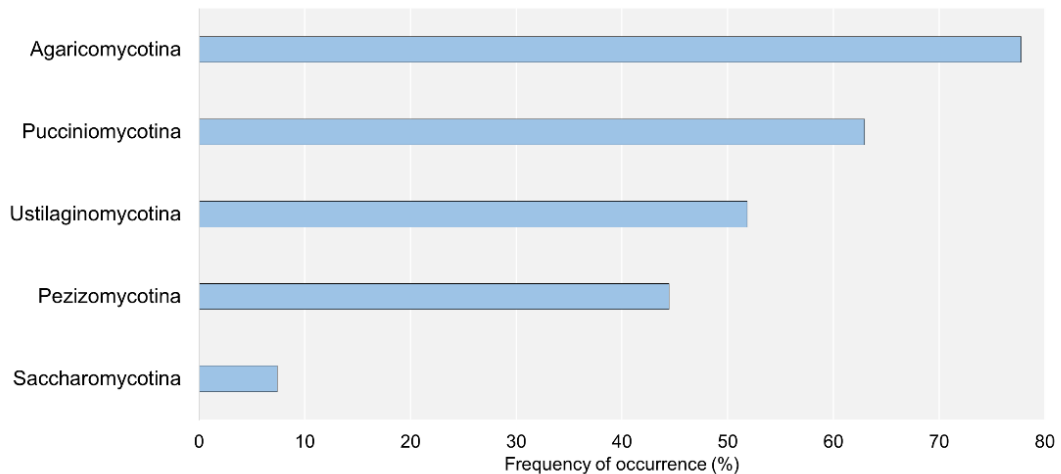
The possible difference between phyla abundance was verified through the Kruskal-Wallis test. The collector's curve with the rarefaction method (1000 permutations) was employed to verify the efficiency of the sample effort and the Chao1 was applied to estimate richness total. All the analysis were employed in R software.

## **Results**

### **Yeast diversity**

Yeasts and yeast-like fungi were isolated from 56 (90%) of the 60 leaf bromeliad samples collected. A total of 187 (19% Ascomycota and 81% Basidiomycota) yeast isolates (Supplementary Table 1) were obtained belonging to 43 genera and 80 species. The collector curve did not reach the plateau, indicating that richness in these areas is even greater than that explored (Supplementary Figure 1). The total richness estimated using Chao1 is around 140-220 species.

The most frequent genera were respectively *Aureobasidium*, *Papiliotrema*, *Symmetrospora*, *Hannaella* and *Vishniacozyma*. Even representing only 12% of genera obtained, at least one representative was found in eight of ten samples collected. The genus *Papiliotrema* also highlighted for being the richest with 11 species registered, three of them are undescribed species. From 13 orders identified, Tremellales highlighted with a frequency of occurrence of 76%, followed to Dothideales (41%), Ustilaginales (28%), Cystobasidiales (28%) and Exobasidiales (18%); all other orders presented occurrence values below 15%. The yeasts were grouped in nine classes, the most frequent were Tremellomycetes (75%), Cystobasidiomycetes (52%) and Dothideomycetes (39%). The most frequently found subphylum was Agaricomycotina, followed by Pucciniomycotina, Ustilaginomycotina, Pezizomycotina and Saccharomycotina respectively (Figure 2).

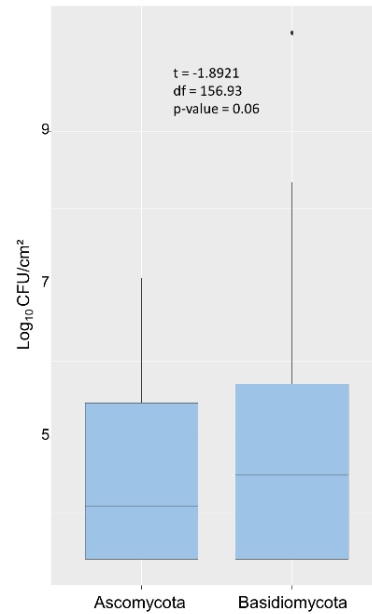


**Fig. 2** Frequency of occurrence of yeast sub phyla.

The species with the highest frequency of occurrence were, respectively *Vishniacozyma alagoana*, *Symmetrospora marina*, *Aureobasidium thailandense* and *Aureobasidium melanogenum*, yielding between 29 and 20% of frequency (Table 1). Considering these data, every two plants sampled, in one at least, was found one of the species mentioned, additionally, considering the species *Pseudozyma hubeiensis* and *Papiliotrema mangalensis*, at least one of these six species was obtained in seven of ten samples. However, most of the species had a low frequency of occurrence, for example, 62% (n=50) of the species had only one record and 92% (n=74) occurred in less than 1/10 of samples.

More than 90% of the yeast species demonstrated an average abundance of less than  $10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>. Considering only species with at least three occurrences registered for the analysis, *P. hubeiensis* and *Cystobasidium minutum* were the species with the highest average abundance,  $3.7 \times 10^3$  and  $10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>, respectively. There was no significant difference ( $p > 0.05$ ) in abundance between ascomycetes and basidiomycetes (Figure 3).

In addition, more than a third (n=32) of the total richness are possible undescribed species (Table 2). Of these, 27 are basidiomycetes and five ascomycetes. We found possible new species in all five subphyla that were recorded (Table 2): Agaricomycotina (n=17), Pucciniomycotina (n=7), Ustilaginomycotina (n=3), Pezizomycotina (n=3) and Saccharomycotina (n=2).



**Fig. 3** Boxplot comparing the abundances between the phylum Ascomycota and Basidiomycota.

Table 1- Frequency of occurrence of the most found species in the research.

Phylum	Subphylum	Species	Occurrence (%)	
<b>Ascomycota</b>	Pezizomycotina	<i>Aureobasidium thailandense</i>	23	
		<i>Aureobasidium melanogenum</i>	20	
		<i>Aureobasidium pullulans</i>	4	
		<i>Aureobasidium namibiae</i>	4	
	Saccharomycotina	<i>Candida</i> sp. nov.	2	
		<i>Candida orthopsilosis</i>	2	
		<i>Clavispora</i> sp. nov.	2	
		<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	2	
	<b>Basidiomycota</b>	Agaricomycotina	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	29
			<i>Papiliotrema mangalensis</i>	11
<i>Hannaella sinensis</i>			9	
<i>Papiliotrema laurentii</i>			9	
Pucciniomycotina		<i>Symmetrospora marina</i>	27	
		<i>Rhodospordiobolus poonsookiae</i>	7	
		<i>Cystobasidium keelungensis</i>	7	
		<i>Symmetrospora suhii</i>	7	
Ustilaginomycotina		<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	11	
		<i>Meira miltonrushii</i>	9	
		<i>Meira argovae</i>	5	
		<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i>	5	

Table 2- Frequency of occurrence of undescribed species associated with bromeliads.

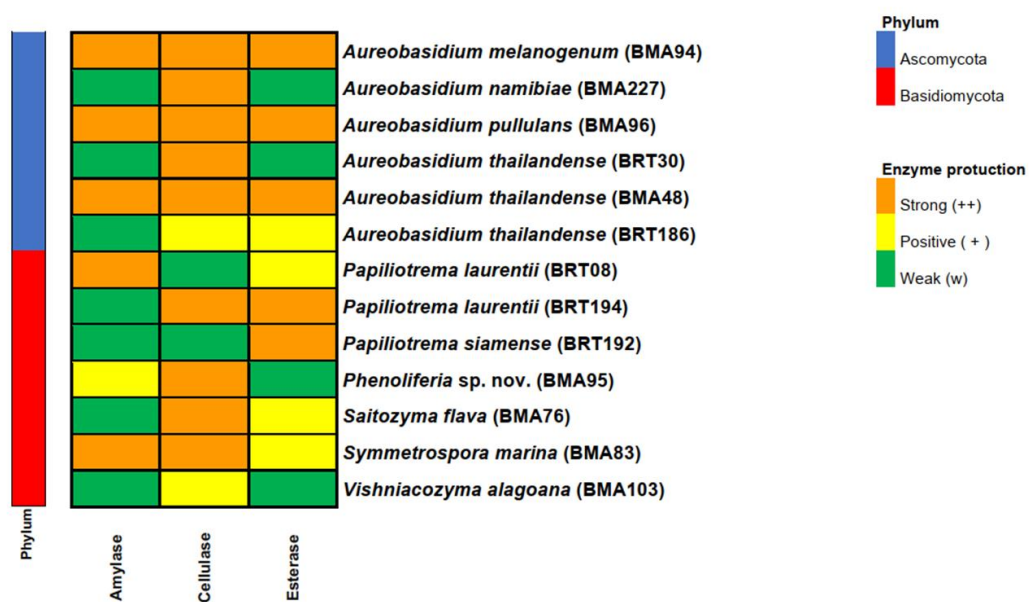
Phylum	Subphylum	Undescribed species	Occurrence (%)
<b>Ascomycota</b>	<b>Pezizomycotina</b>	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 1	2
		<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 2	2
		<i>Hormonema</i> sp. nov.	2
	<b>Saccharomycotina</b>	<i>Candida</i> sp. nov.	2
		<i>Clavispora</i> sp. nov.	2
<b>Basidiomycota</b>	<b>Agaricomycotina</b>	<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 1	2
		<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 2	2
		<i>Dioszegia</i> sp. nov.	2
		<i>Filobasidium</i> sp. nov.	2
		<i>Goffeauzyma</i> sp. nov.	2
		<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	5
		<i>Hannaella</i> sp. nov. 2	2
		<i>Hannaella</i> sp. nov. 3	4
		<i>Naematelia</i> sp. nov.	2
		<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 1	2
		<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 2	2
		<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 3	2
		<i>Tremella</i> sp. nov. 1	2
		<i>Tremella</i> sp. nov. 2	2
		<i>Tremella</i> sp. nov. 3	2
		<i>Tremella</i> sp. nov. 4	2
		<b>Pucciniomycotina</b>	<i>Cystobasidium</i> sp. nov.
	<i>Erythrobasidium</i> sp. nov.		4
	<i>Hasegawazyma</i> sp. nov.		2
	<i>Occultifur</i> sp. nov.		2
	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.		4
	<i>Rhodotorula</i> sp. nov.		2
	<i>Sporobolomyces</i> sp. nov.		2
	<b>Ustilaginomycotina</b>		<i>Kordyana</i> sp. nov.
		<i>Meira</i> sp. nov.	2
		<i>Microstroma</i> sp. nov.	2



### Extracellular enzyme production

Of the 187 isolates obtained, 83% (n=156) were tested for the production of one extracellular enzyme (amylase, cellulase or esterase) at least, the other isolates did not resist the storage procedures or did not grow in the enzymatic test media. For amylase production were tested 76% (n=142) of isolates, 72% (n=136) for cellulase and 76% (n=143) for esterase (Table 3). More than 80% (n=127) of the isolates tested were able to produce at least one of the evaluated enzymes, 31% (n=49) at least two and 8% (n=12) produced the three enzymes. Among the enzymes, the one with the highest proportional number of producers was esterase (63%), followed by amylase (37%) and cellulase (32%). However, 47% of the isolates tested for esterase production were categorized as positive (+) or strong (++) producers, cellulase had 28% and amylase only 17% of producers that frame into these categories.

The genera *Aureobasidium*, *Papiliotrema* and *Symmetrospora*, besides being remarkable for presenting a considerable number of isolates obtained, were also the main groups related to the production of the extracellular enzymes tested. As previously mentioned, 13 isolates were capable of producing the three enzymes tested (Figure 4), six of them belonging to the phylum Ascomycota, all *Aureobasidium* spp. and seven pertaining to the phylum Basidiomycota (5 pertaining to the subphylum Agaricomycotina and 2 to Pucciniomycotina).



**Fig. 4** Heatmap of the isolates obtained that were able to produce the three enzymes.

Table 3- Enzyme activity in relation to genera, subphyla and phyla.

Phylum	Subphylum	Genera	Amylase		Cellulase		Esterase	
			Total tested	Producers	Total tested	Producers	Total tested	Producers
<b>Ascomycota</b>								
	<b>Pezizomycotina</b>							
		<i>Aureobasidium</i>	21	12	19	14	20	11
		<i>Chaetosphaeria</i>	2	1	2	1	2	1
		<i>Exophiala</i>	1	0	1	0	1	0
		<i>Hormonema</i>	1	0	1	1	1	0
	<b>Saccharomycotina</b>							
		<i>Candida</i>	2	1	1	0	2	0
		<i>Clavispora</i>	1	0	1	0	1	0
		<i>Meyerozyma</i>	1	0	1	0	1	0
<b>Basidiomycota</b>								
	<b>Agaricomycotina</b>							
		<i>Carcinomyces</i>	1	0	1	0	1	0
		<i>Carlosrosaea</i>	0	0	0	0	0	0
		<i>Dioszegia</i>	0	0	0	0	0	0
		<i>Fellomyces</i>	1	1	1	0	1	0
		<i>Filobasidium</i>	1	0	1	1	1	1
		<i>Goffeauzyma</i>	1	0	1	0	1	0
		<i>Hannaella</i>	10	3	10	0	11	10
		<i>Kwoniella</i>	0	0	0	0	0	0
		<i>Naematelia</i>	1	0	1	0	1	1
		<i>Papiliotrema</i>	16	10	15	5	18	15
		<i>Piskurozyma</i>	1	1	1	0	1	0
		<i>Saitozyma</i>	1	1	1	1	1	1
		<i>Tremella</i>	3	0	4	0	3	2
		<i>Trimorphomyces</i>	1	1	1	1	1	0
		<i>Vishniacozyma</i>	16	5	16	3	14	11
	<b>Pucciniomycotina</b>							
		<i>Curvibasidium</i>	1	1	1	0	1	1
		<i>Cystobasidium</i>	8	0	8	0	8	4
		<i>Erythrobasidium</i>	3	1	3	2	2	1
		<i>Hasegawazyma</i>	1	0	1	0	1	0
		<i>Microsporomyces</i>	0	0	0	0	0	0
		<i>Occultifur</i>	5	0	4	0	5	3
		<i>Phenoliferia</i>	1	1	1	1	1	1
		<i>Rhodospordiobolus</i>	4	2	4	1	4	2
		<i>Rhodotorula</i>	1	0	1	0	1	0
		<i>Sporobolomyces</i>	1	0	1	1	1	0
		<i>Symmetrospora</i>	11	3	12	10	13	7
	<b>Ustilaginomycotina</b>							
		<i>Anthracocystis</i>	2	0	2	1	2	1
		<i>Kalmanozyma</i>	1	1	0	0	1	1
		<i>Kordyana</i>	1	1	1	0	1	0
		<i>Meira</i>	8	4	7	0	8	6
		<i>Microstroma</i>	1	1	1	0	1	1
		<i>Moesziomyces</i>	2	1	1	0	2	2
		<i>Pseudozyma</i>	7	0	7	0	7	6
		<i>Sterigmatomyces</i>	1	0	1	0	1	0
		<i>Sympodiomyopsis</i>	0	0	0	0	0	0
		<i>Zymoseptoria</i>	1	0	1	0	1	1
		<b>Total isolates</b>	<b>142</b>	<b>52</b>	<b>136</b>	<b>43</b>	<b>143</b>	<b>90</b>

## Discussion

### ***Yeast diversity***

We found a high biodiversity, surpassing in terms of richness several studies with epiphytic yeasts at higher latitudes (e.g. Azeredo et al., 1998 (n=41 species); Inácio et al., 2002 (n=46); Landell, Mautone and Valente, 2006 (n=40); Limtong and Koowadjanakul, 2012 (n=36); Limtong and Kaewwichian, 2014 (n=36); Wang, Sipilä and Overmyer, 2016 (n=23); Srisuk *et al.*, 2019 (n=30)), including some utilizing culture-independent approaches, which are generally more robust to biodiversity survey (e.g. Nasanit et al., 2015, 2016 (n=45 and 77 OTUs, respectively)). The tropical environment is traditionally the region of the planet with the highest biodiversity and this pattern commonly observed in macro-organisms has become increasingly associated with microbial communities (Tedersoo et al. 2014; Canto et al. 2017). For example, the diversity of fungi from soil is higher in tropical environments, which decreases as distance from the tropics (Tedersoo et al. 2014). Evidence of a similar pattern has also arisen for nectar yeasts (Canto et al. 2017) and phyllosphere fungi (Vorholt 2012; Meiser et al. 2014). This gradient of latitudinal diversity may be one of the possible explanations for the greater diversity of yeasts found.

According to Fonseca and Inácio (2006), *Aureobasidium*, *Pseudozyma*, *Bullera*, *Sporobolomyces* and *Cryptococcus* (currently reclassified into various genera by Liu et al. (2015) including *Papilliotrema*, *Piskurozyma*, *Vishniacozyma* and *Saitozyma*), are genera frequently isolated from the phylloplane. The genus *Aureobasidium* is cosmopolitan, but has been predominant in the phylloplane in several studies (e.g. Jager, Wehner and Korsten, 2001; Inácio et al., 2002; Sláviková, Vadkertiová and Vránová, 2007; Sperandio, Martins do Vale and Moreira, 2015). *A. pullulans* is the best known of this genus, being proposed as a model for studies of plasticity due to its ability to alter the phenotype in responses to environmental changes, besides being considered an important model of phyllosphere microorganisms (Vorholt 2012). In addition, yeast-like fungi of the genus *Aureobasidium*, which are in the group of black-yeasts, can produce melanin. The genus *Symmetrospora*, the second most frequent obtained, it was recently proposed to group several species of orange and red pigmented anamorphic yeasts that were previously distributed in the genera *Sporobolomyces* and *Rhodotorula* (Wang et al. 2016b) which are common phylloplane genera (Fonseca and Inácio 2006).

*V. alagoana*, the most frequently species cataloged from our study, it was recently described for Félix et al. (2020) from plants (mostly bromeliads) and this is the one literature record. The *S. marina* was the second most frequent species, however it is not commonly associated to the frequent groups of the phylloplane, although it has already been recorded at low frequency on maize leaves utilizing an independent cultivation approach (Nasanit et al. 2016). Before the report on maize leaves, it was obtained from surface washing of a shrimp and marine water, from Gulf of Mexico and Taiwan respectively (Sampaio 2011). In the only previous published research paper about yeast biodiversity in the bromeliads phylloplane, the most frequent species were *Sporobolomyces roseus*, *P. laurentii* and *Naganishia albidus* (Landell et al. 2006). Among these, only *P. laurentii* was registered for us, however, with a relatively low frequency (9%). The study by Landell, Mautone and Valente (2006) was conducted in the Atlantic Forest of Brazil Southern, a rainforest with high rainfall. Differently of Landell's research, our area of study is the Caatinga, a seasonally dry tropical forest in Brazil northeastern marked by long periods of drought. The type of environment was vastly different between the studies and this may be a possible explanation for this variation observed. In addition, the study conducted by Landell, Mautone and Valente (2006) utilized classical methodologies for the identification of isolates that may have underestimated the diversity, generating a noise mainly in relation to cryptic species.

Epiphytic yeasts are subject to various abiotic stresses, and to tolerate them, they generally exhibit traits that confer adaptive advantage. Although they are not vital, polysaccharide capsule production and pigments are common traits in phylloplane yeasts and confer benefits (Kemler et al. 2017). Solar radiation is one of the main stresses experienced by the epiphytic community and generates strong selection pressure in the phylloplane (Kemler et al. 2017). The species *S. marina* and *C. minutum*, are respectively, the second more frequent and the more abundant in our study, belongs to groups widely recorded as producers of carotenoid pigments. Some species of genus *Vishniacozyma* have been shown to be also capable of producing pigments such as torulene and beta-carotene (Kemler et al. 2017). Besides these, we registered other groups of yeasts capable of producing pigments, such as *Erythrobasidium*, *Occultifur*, *Rhodotorula* and *Sporobolomyce* (carotenoid pigments) and *Exophiala* and *Hormonema* (melanin pigment), which reinforces the importance of this trait to the phylloplane yeasts, especially in an environment with high levels of insolation as the Caatinga ecosystem.

More than 60% of the species were singletons (species with a single occurrence record) and corroborates with the data of the Glushakova and Chernov (2010). The epiphytic community is regulated by four population processes; i) immigration, ii) emigration, iii) growth (generation), and iv) death (Kinkel 1997). It is possible that as Caatinga is an extreme environment and is subject to abrupt changes (such as rainfall or absence of rainfall), extinction and colonization rates follow a fast pace and this would explain the constant and intense variation, high diversity and low frequencies of occurrence of the epiphytic yeasts.

The low yeast abundances (generally  $<10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>) are in accordance with the data found in the literature, the maximum value of epiphytic yeast abundances reaches  $10^4$  CFU/cm<sup>2</sup> (Inácio et al. 2002). Phylloplane yeasts, are usually associated with an oligotrophy-type nutritional strategy, which has an affinity for environments with low concentrations of available carbon sources. This may be an explanation for low microorganisms abundance with this type of nutritional strategy and tends to have a slower growth (Kimura et al. 1998; Cray et al. 2013; Lachance 2014).

Actually, there are approximately 1,600 yeast species currently described (Vu et al. 2016), and considering this, only with the possible undescribed species found in our study, there would be an increase of almost 2% in all existing knowledge about yeast richness. Moreover, one of the largest reservoirs of new fungal species are vascular plants and studies demonstrated that South America is a diversity hotspot for new fungal species (Hawksworth and Lücking 2017). In recent years, several species of yeasts have been described in association with bromeliads, and this substrate has been shown to be rich in both described and not described yeast species. (e.g. Ruivo et al., 2005; Landell, Mautone and Valente, 2006; Safar et al., 2013; Gomes et al., 2015).

### ***Extracellular enzyme production***

The results obtained demonstrate a large number of esterase producers, corroborating to the research of Buzzini and Martini (2002), which measured the production of hydrolytic enzymes from yeasts isolated from the tropical environment, and found the prevalence of lipase and esterase production. Also in the work by (Pereira et al. 2014) with phylloplane yeasts, lipase was one of the most produced enzymes by the isolates. Also, with the work of Mautone et al. (2010), where a

prevalence of protease and esterase producers was found associated with the phylloplane of bromeliads.

There is a speculation that esterases produced by yeasts from the phyllosphere may be able to degrade bioplastic (Kitamoto et al. 2011), in addition, have an application in the industry as detergents (Buzzini and Martini, 2002). In the work of Ueda et al. (2015) it was demonstrated that *in vitro*, esterases produced by the epiphytic yeast species *Pseudozyma antarctica* are able to influence the water dynamics in plants. We know that esterases, as well as other hydrolases such as cellulase produced by fungi, are important in the flow of carbon in environments (Treseder et al., 2018). However, there is still a lot to understand about the functions of esterases in the natural environment.

Amylases produced by microorganisms can be used in several processes in the food and beverage industry (Jegannathan and Nielsen 2013). In addition, it is important for the decomposition of plant material and the C cycle (Treseder et al., 2018). We found 28% of amylolytic yeasts, a similar value to that was found by Gomes et al. (2015) who found 28.6% of amylase-producing yeasts in bromeliads p

hythelma. However, Buzzini and Martini (2002) found only 7.7% of amylase-producing basidiomycetes, while about 26% of ascomycetes presented this phenotype.

The genus *Aureobasidium* highlighted for the production of the most evaluated enzymes. According to Fonseca and Inácio (2006), which allows yeasts to occupy different niches, is, mainly, the ability to access different substrates. *Aureobasidium* is known to be a cosmopolitan yeast-like and a strong competitor for space and nutrients, one of the reasons is its ability to produce several different extracellular enzymes and, therefore, to access a range of different substrates (Sperandio et al. 2015).

Our results indicated that the bromeliads of Brazilian semiarid (Caatinga) are one of the environments with the greatest yeast richness ever cataloged in the world (for both, described and undescribed species). Furthermore, it is a potential source of enzyme producers with biotechnological value. In addition, this work increased the knowledge that is currently almost inexistent, about yeasts from the Caatinga and can serve as a basis for understanding the microbial community in semiarid environments.

**Acknowledgements**

This research was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, number of grants 311553/2018-4), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa de Alagoas (FAPEAL number 60030 000424/2017). We would like to thank too the Mr. Alberto Nepomuceno Agra Jr. for collection authorization and Msc Andressa Letícia Lopes for English edition.

## References

- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 25:3389–3402 .  
<https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>
- Azeredo LAI, Gomes EAT, Mendonca-Hagler LC, Hagler AN (1998) Yeast communities associated with sugarcane in Campos, Rio de Janeiro, Brazil. *Int Microbiol* 1:205–208
- Buzzini P, Martini A (2002) Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. *J Appl Microbiol* 93:1020–1025 . <https://doi.org/10.1007/s10267-004-0221-9>
- Canto A, Herrera CM, Rodriguez R (2017) Nectar-living yeasts of a tropical host plant community : diversity and effects on community-wide floral nectar traits. *PeerJ* 1–22 . <https://doi.org/10.7717/peerj.3517>
- Cray JA, Bell ANW, Mswaka AY, Timson DJ, Hallsworth JE (2013) The biology of habitat dominance ; can microbes behave as weeds ? *Microb Biotechnol* 6:453–492 . <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12027>
- Félix CR, Andrade DA, Almeida JH, Navarro HMC, Fell JW, Landell MF (2020) *Vishniacozyma alagoana* sp. Nov. a tremellomycetes yeast associated with plants from dry and rainfall tropical forests. *Int J Syst Evol Microbiol* 70:3449–3454 . <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004193>
- Fell JW, Boekhout T, Fonseca A, Scorzetti G, Statzell-Tallman A (2000) Biodiversity and systematic of basidiomycetous yeast as determined by large submit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:1351–1371
- Fonseca Á, Inácio J (2006) Phylloplane Yeasts. In: *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. pp 263–301
- Gomes FCO, Safar SVB, Marques AR, Medeiros AO, Santos AR, Carvalho C, Lachance MA, Sampaio JP, Rosa CA (2015) The diversity and extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from water tanks of *Vriesea minarum*, an endangered bromeliad species in Brazil, and the description of *Occultifur brasiliensis* f.a., sp. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek* 107:597–611
- Hankin L, Anagnostakis SL (1975) The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia* 67:597–607
- Hawksworth DL, Lücking R (2017) Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million



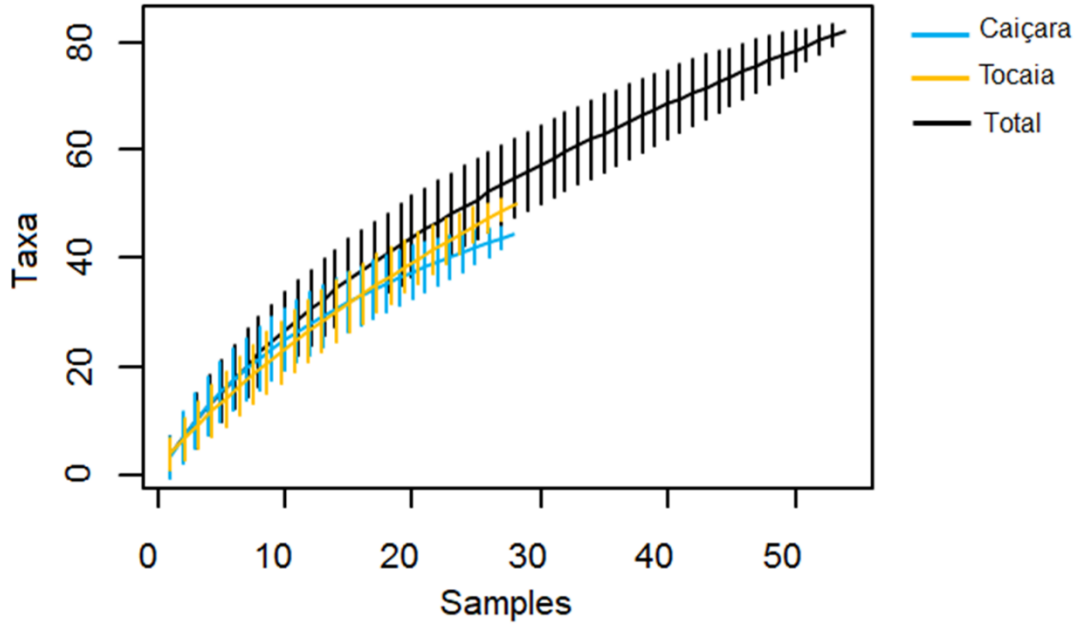
- species. The fungal kingdom 79–95
- Inácio J, Pereira P, De Carvalho M, Fonseca Á, Amaral-Collaço MT, Spencer-Martins I (2002) Estimation and diversity of phylloplane mycobiota on selected plants in a Mediterranean-type ecosystem in Portugal. *Microb Ecol* 44:344–353 .  
<https://doi.org/10.1007/s00248-002-2022-z>
- Jager ES, Wehner FC, Korsten L (2001) Microbial Ecology of the Mango Phylloplane. *Microb Ecol* 42:201–207 . <https://doi.org/10.1007/s002480000106>
- Jegannathan KR, Nielsen PH (2013) Environmental assessment of enzyme use in industrial production e a literature review. *J Clean Prod* 42:228–240 .  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.11.005>
- Kemler M, Witfeld F, Begerow D, Yurkov A (2017) Phylloplane Yeasts in Temperate Climates. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-62683-3>
- Kimura Y, Nakano Y, Fujita K, Miyabe S, Ishikawa Y, Sato M (1998) Isolation and Characteristics of Yeasts able to Grow at Low Concentrations of Nutrients. *Yeast* 14:233–238
- Kinkel LL (1997) Microbial Population Dynamics on Leaves. *Annu Rev Phytopathol* 35:327–347
- Kitamoto HK, Shinozaki Y, Cao X, Morita T, Konishi M, Tago K, Kajiwara H, Koitabashi M, Yoshida S, Watanabe T, others (2011) Phyllosphere yeasts rapidly break down biodegradable plastics. *AMB express* 1:44
- Lachance M-A (2014) The Biodiversity, Ecology, and Biogeography of Ascomycetous Yeasts. In: *The Ecological Genomics of Fungi*. pp 355–370
- Landell MF, Mautone JN, Valente P (2006) Biodiversity of Yeasts Associated To Bromeliads in Itapuã Park , Viamão / Rs. *Biociencias* 14:144–149
- Limtong S, Kaewwichian R (2014) The diversity of culturable yeasts in the phylloplane of rice in Thailand. *Ann Microbiol* 65:667–675
- Limtong S, Koowadjanakul N (2012) Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. *World J Microbiol Biotechnol* 28:3323–3335 .  
<https://doi.org/10.1007/s11274-012-1144-9>
- Liu XZ, Wang QM, Göker M, Groenewald M, Kachalkin A V., Lumbsch HT, Millanes AM, Wedin M, Yurkov AM, Boekhout T, Bai FY (2015) Towards an integrated phylogenetic classification of the Tremellomycetes. *Stud Mycol* 81:85–147 .  
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.12.001>
- Machado IC, Lopes AV (2004) Floral Traits and Pollination Systems in the Caatinga ,

- a Brazilian Tropical Dry Forest. *Ann Bot* 94:365–376 .  
<https://doi.org/10.1093/aob/mch152>
- Manzoni S, Schaeffer SM, Katul G, Porporato A, Schimel JP (2014) A theoretical analysis of microbial eco-physiological and diffusion limitations to carbon cycling in drying soils. *Soil Biol Biochem* 73:69–83 .  
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.02.008>
- Mautone JN, Landell MF, Fuentefria AM, Valente P (2010) Phylloplane yeasts as a source of industrially interesting enzymes. *Brazilian J Biosci* 8:169–173
- Meiser A, Bálint M, Schmitt I (2014) Meta-analysis of deep-sequenced fungal communities indicates limited taxon sharing between studies and the presence of biogeographic patterns. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/nph.12532>
- Nasanit R, Jaibangyang S, Tantirungkij M, Limtong S (2016) Yeast diversity and novel yeast D1/D2 sequences from corn phylloplane obtained by a culture-independent approach. *Antonie Van Leeuwenhoek.*  
<https://doi.org/10.1007/s10482-016-0762-x>
- Nasanit R, Tangwong-o-thai A, Tantirungkij M, Limtong S (2015) Assessment of epiphytic yeast diversity in rice (*Oryza sativa*) phyllosphere in Thailand by a culture-independent approach. *Antonie Van Leeuwenhoek* 119:1145–1157 .  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.08.021>
- Pereira GDA, Gomes G, Rozolem A, de Nóbrega G, Barcellos F, Rodrigues E (2014) Isolation, identification and screening of hydrolytic enzymes producing phylloplane yeasts. *BMC Proc* 8:261 . <https://doi.org/10.1186/1753-6561-8-S4-P261>
- Ruivo CCC, Lachance MA, Rosa CA, Bacci M, Pagnocca FC (2005) *Candida bromeliacearum* sp. nov. and *Candida ubatubensis* sp. nov., two yeast species isolated from the water tanks of *Canistropsis seidelii* (Bromeliaceae). *Int J Syst Evol Microbiol* 55:2213–2217 . <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63698-0>
- Safar SVB, Gomes FCO, Marques AR, Lachance MA, Rosa CA (2013) *Kazachstania rupicola* sp. nov., a yeast species isolated from water tanks of a bromeliad in Brazil. *Int J Syst Evol Microbiol* 63:1165–1168 .  
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.048462-0>
- Sambrook JR, Russel DW (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*
- Sampaio JP (2011) *Rhodotorula Harrison* (1928). In: *The Yeasts*. Elsevier, pp 1873–1927

- Santos JC, Leal IR, Almeida- JS, Fernandes GW, Tabarelli M (2011) Caatinga : the scientific negligence experienced by a dry tropical forest. *Trop Conserv Sci* 4:276–286
- Scorzetti G, Fell JW, Fonseca A, Statzell-tallman A (2002) Systematics of basidiomycetous yeasts : a comparison of large subunit D1 / D2 and internal transcribed spacer rDNA regions. *FEMS Yeast Res* 1497:495–517 .  
<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2002.tb00117.x>
- Silva JMC, Barbosa LCF, Leal IR, Tabarelli M (2017) The Caatinga: Understanding the Challenges. In: *Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America*. Springer, pp 3–19
- Siqueira Filho JA, Leme EMC (2006) Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste: biodiversidade, conservação e suas bromélias
- Sláviková E, Vadkertiová R, Vránová D (2007) Yeasts colonizing the leaf surfaces. *J Basic Microbiol*. <https://doi.org/10.1002/jobm.200710310>
- Sperandio EM, Martins do Vale HM, Moreira GAM (2015) Yeasts from native Brazilian Cerrado plants: Occurrence, diversity and use in the biocontrol of citrus green mould. *Fungal Biol* 119:984–993 .  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.06.011>
- Srisuk N, Nutaratat P, Surussawadee J, Limtong S (2019) Yeast Communities in Sugarcane Phylloplane. 88:353–369 .  
<https://doi.org/10.1134/S0026261719030135>
- Staden R, Beal KF, Bonfield JK (2000) The staden package. *Bioinforma methods* Protoc 115–130
- Starmer WT, Lachance MA (2011) Yeast ecology. In: *The Yeasts*. pp 65–83
- Tedersoo L, Bahram M, Polme S, Koljalg U, Yorou S, Wardle DA, Lindahl BD (2014) Global diversity and geography of soil fungi. *Science* (80- ) 346:1052–1053 .  
<https://doi.org/10.1126/science.aaa1185>
- Treseder KK, Berlemont R, Allison SD, Martiny AC (2018) Drought increases the frequencies of fungal functional genes related to carbon and nitrogen acquisition. *PLoS One* 13:1–17 . <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206441>
- Ueda H, Mitsuhashi I, Tabata J, Kugimiya S, Watanabe T, Suzuki K, Yoshida S, Kitamoto H (2015) Extracellular esterases of phylloplane yeast *Pseudozyma antarctica* induce defect on cuticle layer structure and water-holding ability of plant leaves. *Appl Microbiol Biotechnol* 99:6405–6415 .

- <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6523-3>
- Vacher C, Hampe A, Porté AJ, Sauer U, Compant S, Morris CE (2016) The Phyllosphere: Microbial Jungle at the Plant–Climate Interface. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-121415-032238>
- Vorholt JA (2012) Microbial life in the phyllosphere. *Nat Rev Microbiol* 10:828–840 . <https://doi.org/10.1038/nrmicro2910>
- Vu D, Groenewald M, Szöke S, Cardinali G, Eberhardt U, Stielow B, de Vries M, Verkleij GJM, Crous PW, Boekhout T, others (2016) DNA barcoding analysis of more than 9 000 yeast isolates contributes to quantitative thresholds for yeast species and genera delimitation. *Stud Mycol* 85:91–105
- Wang K, Sipilä TP, Overmyer K (2016a) The isolation and characterization of resident yeasts from the phylloplane of *Arabidopsis thaliana*. <https://doi.org/10.1038/srep39403>
- Wang Q, Yurkov AM, Göker M, Lumbsch HT, Leavitt SD, Groenewald M, Theelen B, Liu X, Boekhout T, Bai F (2016b) Phylogenetic classification of yeasts and related taxa within Pucciniomycotina. *Stud Mycol* 81:149–189 . <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.12.002>

Supplementary material



## Supplementary material

Isolate ID	Yeast identification	Sample ID	Host	Host habit	Collection date	Collection site	Amylase	Cellulase	Esterase	Abundance (CFU/cm <sup>2</sup> )	GenBank number D1D2 LSU rRNA
BRT01	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	11-set-13	Reserva Tocaia	+	-	++	30	MT756524
BRT02	<i>Occultifur</i> sp. nov.	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	30	MH908993
BRT03	<i>Rhodospordiobolus poonsookiae</i>	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	11-set-13	Reserva Tocaia	w	-	-	30	MT756525
BRT04	<i>Papiliotrema leoncinii</i>	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	++	120	KT318485
BRT05	<i>Fellomyces penicillatus</i>	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	11-set-13	Reserva Tocaia	++	-	-	30	MT756526
BRT06	<i>Papiliotrema flavescens</i>	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	+	90	KM043879
BRT08	<i>Papiliotrema laurentii</i>	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	++	w	+	60	KM043880
BRT09	<i>Papiliotrema leoncinii</i>	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	120	KT318486
BRT10	<i>Papiliotrema laurentii</i>	BRT.1 04	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	+	++	-	30	MT756527
BRT11	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	BRT.1 04	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	30	MT756528
BRT12	<i>Tremella</i> sp. nov. 1	BRT.1 04	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	300	MT756529
BRT13	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 1	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	w	++	-	30	MH908995
BRT14	<i>Sporobolomyces</i> sp. nov.	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	++	-	30	KM043881
BRT16	<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	++	-	+	30	MT756530
BRT17	<i>Hasegawazyma</i> sp. nov.	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	30	MT756531
BRT18	<i>Exophiala spinifera</i>	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	900	MT756532
BRT21	<i>Trimorphomyces sakaeratica</i>	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	++	++	-	300	MT756533
BRT22	<i>Kordyana</i> sp. nov.	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	++	-	-	3000	MH908997
BRT23	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	BRT.1 08	<i>Bromelia laciniosa</i>	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	++	30000	MT756534
BRT24	<i>Pseudozyma tsukubaensis</i>	BRT.1 09	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	300	MT756535
BRT25	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BRT.1 09	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	+	-	w	600	MT756536
BRT29	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	++	-	300	MT756537
BRT30	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	w	++	w	30	MT756538
BRT32	<i>Meira</i> sp. nov.	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	+	-	-	300	KM043882
BRT33	<i>Symmetrospora suhii</i>	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	++	-	300	MH908998
BRT34	<i>Symmetrospora marina</i>	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	++	+	900	MT756539
BRT35	<i>Erythrobasidium</i> sp. nov.	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	w	4200	MT756540
BRT36	<i>Goffeazyma</i> sp. nov.	BRT.1 12	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	-	-	-	30000	KM043883
BRT38	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BRT.1 12	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxicolous	11-set-13	Reserva Tocaia	w	-	++	900	MT010321
BMA39	<i>Rhodospordiobolus poonsookiae</i>	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	+	w	600	MT756541
BMA40	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	+	-	++	1200	MT756542
BMA42	<i>Meira miltonrushii</i>	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	-	600	MT756543
BMA43	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	++	+	900	MT756544
BMA44	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	++	300	MT010297
BMA46	<i>Piskurozyma taiwanensis</i>	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	++	-	-	30	MT756545
BMA48	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	++	++	++	30	MT756546
BMA50	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.1 02	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	23-abr-14	Serra da Caiçara	n	n	n	30	MT756547

BMA54	<i>Rhodosporidiobolus poonsookiae</i>	BMA.1 02	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	-	300	MT756548
BMA56	<i>Rhodosporidiobolus poonsookiae</i>	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	++	-	+	60	MT756549
BMA57	<i>Moesziomyces haphidis</i>	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	w	-	++	30	MT756550
BMA58	<i>Occultifur externus</i>	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	n	w	30	MT756551
BMA59	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	-	90	MH908973
BMA60	<i>Hannaella luteola</i>	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MT756552
BMA61	<i>Cystobasidium minutum</i>	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	w	210	MT756553
BMA64	<i>Meira miltonrushii</i>	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	++	-	+	30	MT756554
BMA65	<i>Cystobasidium minutum</i>	BMA.1 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	w	3000	MT756555
BMA66	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	BMA.1 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	-	240	MH908974
BMA69	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	BMA.1 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	++	600	MT756556
BMA72	<i>Hannaella siamensis</i>	BMA.1 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MT756557
BMA74	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	BMA.1 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	+	3000	MT756558
BMA76	<i>Saitozyma flava</i>	BMA.1 06	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	w	++	+	150	MT756559
BMA77	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	BMA.1 06	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MT756560
BMA78	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	BMA.1 06	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	w	30	MH908975
BMA83	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	++	++	+	600	MT756472
BMA85	<i>Microstroma</i> sp. nov.	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	w	-	+	300	MH908976
BMA86	<i>Curvibasidium pallidicorallinum</i>	BMA.1 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	w	-	+	30	MT756474
BMA87	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	BMA.1 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	+	60	MT756475
BMA88	<i>Cystobasidium</i> sp. nov.	BMA.1 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	-	-	-	300	MH908977
BMA91	<i>Meira argovae</i>	BMA.1 08	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	w	-	+	300	MT756476
BMA94	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	++	++	++	30	MT756477
BMA95	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	+	++	w	30	MH908978
BMA96	<i>Aureobasidium pullulans</i>	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	23-abr-14	Serra da Caiçara	++	++	++	30	MT756478
BMA97	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.2 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	+	-	+	210	MT756479
BMA98	<i>Meira argovae</i>	BMA.2 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	n	+	60	MT756480
BMA103	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.2 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	w	+	w	60	MT756481
BMA106	<i>Meira argovae</i>	BMA.2 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	+	90	MT756482
BMA107	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	BMA.2 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	w	n	++	300	MT756483
BMA108	<i>Moesziomyces aphidis</i>	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	n	++	30	MT756484
BMA112	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	n	n	n	30	MH908979
BMA113	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	w	150	MH908980
BMA114	<i>Hannaella pagnoccae</i>	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	n	n	300	MT756485
BMA115	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	n	++	30	MT756486
BMA116	<i>Kalmanozyma brasiliensis</i>	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	w	n	++	30	MT756487
BMA119	<i>Aureobasidium namibiae</i>	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	w	n	++	30	MT756488
BMA131	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	+	++	n	30	MH908981
BMA132	<i>Meira miltonrushii</i>	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	n	n	n	120	MT756489
BMA133	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MT756490
BMA134	<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 1	BMA.2 11	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MH908982
BMA135	<i>Candida orthopsilosis</i>	BMA.2 11	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	-	30	MT756491
BMA138	<i>Aureobasidium pullulans</i>	BMA.2 11	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	+	-	n	30	MT756492

BMA139	<i>Papiliotrema rajasthanensis</i>	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	w	-	++	60	MT756493
BMA140	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MT756494
BMA141	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	w	-	n	300	MT756495
BMA142	<i>Occultifur plantarum</i>	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	-	90	MH908983
BMA143	<i>Meira miltonrushii</i>	BMA.2 02	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	w	-	w	60	MT756496
BMA145	<i>Symmetrospora suhii</i>	BMA.2 01	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	++	-	420	MH908984
BMA148	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MT756497
BMA150	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.2 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	+	900	MH908985
BMA151	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	n	n	n	30	MT756498
BMA153	<i>Hannaella kunmingensis</i>	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	++	150	MT756499
BMA154	<i>Occultifur plantarum</i>	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	14-abr-16	Serra da Caiçara	-	-	w	30	MT756500
BRT155	<i>Hannaella</i> sp. nov. 2	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	-	-	120	MT756501
BRT156	<i>Kwoniella dejecticola</i>	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	180	MT756502
BRT157	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	+	-	n	30	MT756503
BRT158	<i>Hannaella</i> sp. nov. 3	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	270	MT756504
BRT160	<i>Kwoniella dejecticola</i>	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	60	MT756505
BRT168	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	-	60	MH909001
BRT169	<i>Anthracozytis elionuri</i>	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	-	30	MT756506
BRT170	<i>Erythrobasidium</i> sp. nov.	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	w	-	180	MH909002
BRT171	<i>Hannaella sinensis</i>	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	60	MT756507
BRT172	<i>Naematelia</i> sp. nov.	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	w	60	MH909003
BRT174	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MT756508
BRT175	<i>Papiliotrema laurentii</i>	BRT.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	31-ago-16	Reserva Tocaia	w	-	++	150	MT756509
BRT176	<i>Hannaella sinensis</i>	BRT.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	++	30	MT756510
BRT178	<i>Tremella</i> sp. nov. 2	BRT.2 05	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	w	30	MT756511
BRT179	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BRT.2 05	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	n	30	MH909005
BRT180	<i>Symmetrospora marina</i>	BRT.2 05	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MT756512
BRT181	<i>Filobasidium</i> sp. nov.	BRT.2 06	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	w	w	30	MT756513
BRT182	<i>Clavispora</i> sp. nov.	BRT.2 06	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	-	30	MH909006
BRT183	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.2 07	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	w	-	-	30	MT756514
BRT184	<i>Anthracozytis elionuri</i>	BRT.2 07	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	+	w	120	MT756515
BRT185	<i>Hannaella siamensis</i>	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	60	MT756516
BRT186	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	w	+	+	180	MT756517
BRT187	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	-	60	MH909007
BRT188	<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	w	++	n	2400	MT756518
BRT192	<i>Papiliotrema siamense</i>	BRT.2 10	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	31-ago-16	Reserva Tocaia	w	w	++	30	MT756519
BRT194	<i>Papiliotrema laurentii</i>	BRT.2 11	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	w	++	++	60	MT756520
BRT195	<i>Dioszegia</i> sp. nov.	BRT.2 11	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MH909009
BRT197	<i>Hannaella sinensis</i>	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	++	120	MT756521
BRT198	<i>Symmetrospora marina</i>	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	60	MT756522
BRT199	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	-	90	MT756523
BRT200	<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 2	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	31-ago-16	Reserva Tocaia	w	-	+	90	MH909010
BRT202	<i>Meira miltonrushii</i>	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	31-ago-16	Reserva Tocaia	-	-	++	30	MT756562



BRT203	<i>Cystobasidium minutum</i>	BRT.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	31-ago-16	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MT756563
BMA205	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.3 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	++	-	480	MT756564
BMA206	<i>Hannaella kunmingensis</i>	BMA.3 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrestrial	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	90	MT756565
BMA208	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	+	-	60	MT756566
BMA210	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	++	-	150	MT756567
BMA211	<i>Hannaella pagnoccae</i>	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	++	60	MT756568
BMA212	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	++	-	600	MH908987
BMA220	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	+	-	150	MT756569
BMA223	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	+	-	600	MT756570
BMA224	<i>Papiliotrema nemorosus</i>	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	++	w	300	MT756571
BMA226	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	-	900	MT756572
BMA227	<i>Aureobasidium namibiae</i>	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	w	++	w	300	MT756573
BMA228	<i>Papiliotrema hoabinhensis</i>	BMA.3 06	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	w	-	-	30	MT756574
BMA229	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	++	-	30	MT756575
BMA231	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	+	360	MH908988
BMA232	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	w	300	MT756576
BMA233	<i>Occultifur plantarum</i>	BMA.3 08	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	w	60	MH908989
BMA235	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.3 08	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	90	MT756577
BMA236	<i>Hannaella sinensis</i>	BMA.3 08	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	++	150	MT756578
BMA238	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.3 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	+	60	MT756579
BMA240	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.3 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	+	1260	MT756580
BMA241	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	BMA.3 09	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	++	30	MT756581
BMA242	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	++	30	MT756582
BMA244	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	++	1200	MT756583
BMA245	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	+	30	MT756587
BMA246	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	60	MT756584
BMA248	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	BMA.3 12	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	30	MT756585
BMA249	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.3 12	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	w	++	-	210	MT756586
BMA254	<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i>	BMA.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	30	MT756587
BMA255	<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i>	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	1200	MT756588
BMA261	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	++	300	MH908991
BMA265	<i>Symmetrospora suhii</i>	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	++	-	600	MT756589
BMA266	<i>Hormonema</i> sp. nov.	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	+	-	30	MT756590
BMA267	<i>Symmetrospora marina</i>	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epiphyte	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	+	30	MT756591
BMA268	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	BMA.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	+	30	MH908992
BMA269	<i>Hannaella</i> sp. nov. 3	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	30	MT756592
BMA270	<i>Zymoseptoria tritici</i>	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	-	++	300	MT756593
BMA271	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BMA.3 06	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	-	w	w	30	MT756594
BMA273	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	300	MT756595
BMA274	<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i>	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	20-abr-17	Serra da Caiçara	n	n	n	300	MT756596
BRT276	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	BRT.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	-	-	-	30	MT756597
BRT277	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 2	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	-	-	++	60	MT756598
BRT278	<i>Tremella</i> sp. nov. 3	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	-	n	60	MH909011

BRT279	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.3 02	<i>Bromelia karatas</i>	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MT756599
BRT280	<i>Tremella</i> sp. nov. 4	BRT.3 02	<i>Bromelia karatas</i>	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	-	-	w	90	MT756600
BRT281	<i>Candida</i> sp. nov.	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	++	n	-	60	MT756601
BRT282	<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	w	-	++	30	MH909012
BRT283	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MT756602
BRT289	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.3 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	-	++	-	300	MT756603
BRT290	<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	BRT.3 07	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	w	-	+	1200	MH909014
BRT291	<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 3	BRT.3 07	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	600	MH909015
BRT292	<i>Papiliotrema laurentii</i>	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	60	MT756604
BRT293	<i>Hannaella sinensis</i>	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MT452416
BRT294	<i>Aureobasidium thailandense</i>	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	w	++	-	30	MT756605
BRT296	<i>Papiliotrema flavescens</i>	BRT.3 10	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	510	MT756606
BRT297	<i>Rhodotorula</i> sp. nov.	BRT.3 10	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MT756607
BRT298	<i>Papiliotrema flavescens</i>	BRT.3 11	Bromeliaceae sp.	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	330	MT756608
BRT300	<i>Symmetrospora suhii</i>	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	++	n	300	MH909016
BRT303	<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 1	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	60	MH909017
BRT305	<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 2	BRT.3 02	<i>Bromelia karatas</i>	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	30	MH909019
BRT309	<i>Microsporomyces</i> sp. nov.	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	300	MT756609
BRT310	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	-	-	-	1200	MT756610
BRT313	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	BRT.3 10	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Terrestrial	21-set-17	Reserva Tocaia	n	n	n	600	MT756611
BRT317	<i>Carcinomyces nordestinensis</i>	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxicolous	21-set-17	Reserva Tocaia	-	-	-	600	MH909022

- (-) negative  
(w) weak  
(+) positive  
(++) strong  
(n) no data

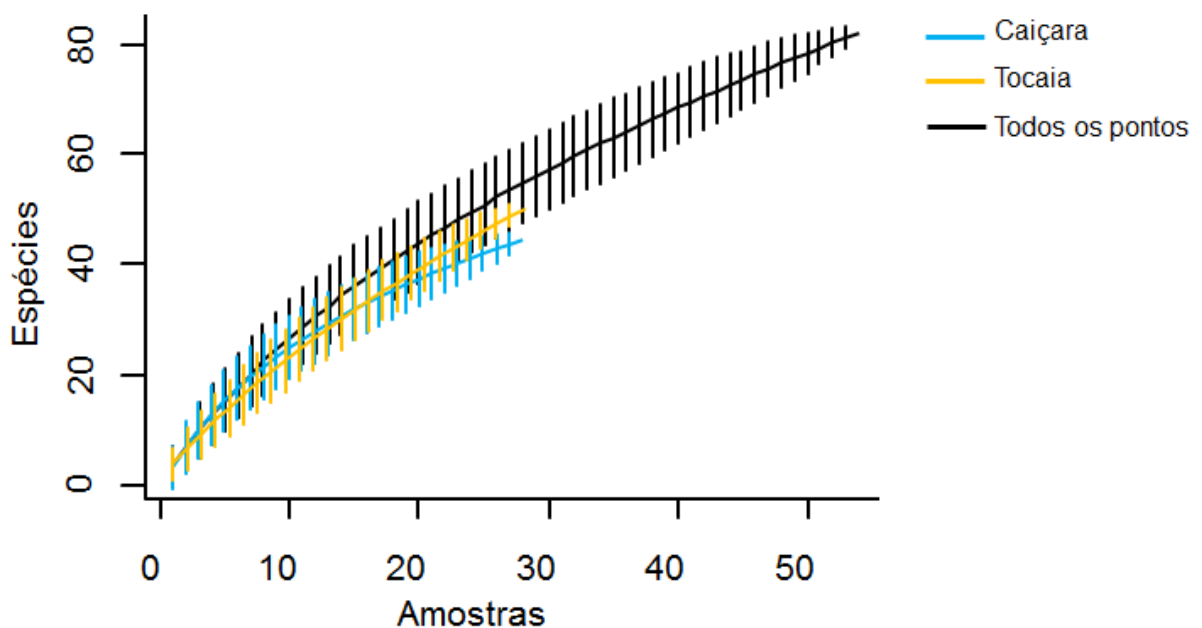
## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1. Riqueza e diversidade de leveduras

Foram coletadas 60 amostras de folhas de bromélias, e destas, foi possível isolar leveduras de  $n= 56$  (90%). Também foram coletados frutos e flores (4 amostras de cada substrato). No total, foram obtidos 222 isolados de leveduras e fungos leveduriformes (198 de folhas, 14 de frutos e 10 de flores) e uma riqueza de 84 espécies (80 em folhas, 8 em frutos e 5 em flores), apenas 5 isolados ainda não possuem identificação.

A partir daqui, considerando-se apenas os isolados obtidos de folhas. No ponto Tocaia foram recuperados 89 isolados e no ponto Caiçara 109 isolados, totalizando um total de 198 isolados e 80 espécies (13% Ascomycota e 87% Basidiomycota), distribuídas em 41 gêneros. A riqueza máxima encontrada em uma única amostra foi de oito espécies. A curva do coletor não atingiu o platô indicando que a riqueza nos locais é ainda maior do que a que foi encontrada (Figura 5). A riqueza total estimada utilizando Chao1 ficou entre 140 e 220 espécies.

**Figura 5.** Curva do coletor elabora pelo método de rarefação.



Fonte: Elaborado pelo autor

O resultado demonstrou uma alta diversidade, superando em termos de riqueza diversos estudos com leveduras epifíticas em latitudes mais altas (Tabela 2), inclusive alguns que utilizaram abordagens independentes de cultivo, que geralmente são mais robustas para o levantamento da biodiversidade e também de trabalhos com esforço amostral bem maior que o nosso. O ambiente tropical é tradicionalmente a região do planeta com maior biodiversidade e esse padrão comumente encontrado em macro-organismos tem se tornado cada vez mais frequentemente associado a comunidades microbianas. Por exemplo, no solo a diversidade de fungos é maior no ambiente tropical e diminui à medida que se distancia dos trópicos (TEDERSOO et al., 2014). Também em néctar, evidências de um padrão semelhante têm surgido em relação a diversidade de leveduras (CANTO et al., 2017) e o mesmo vale para fungos na filosfera (VORHOLT, 2012; MEISER et al., 2014). Esse gradiente de diversidade latitudinal pode ser uma das possíveis explicações para a grande diversidade de leveduras encontrada.

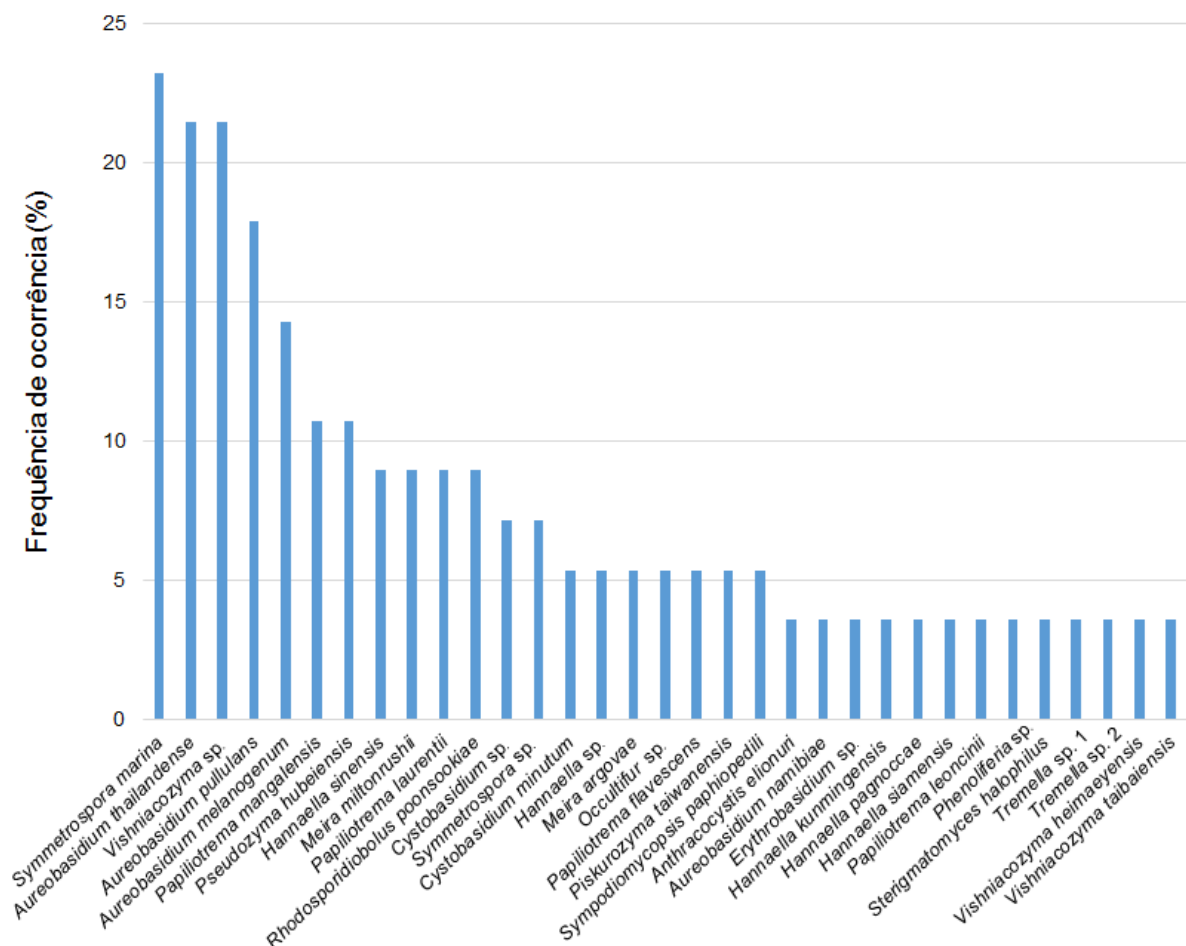
As espécies com maior frequência de ocorrência foram respectivamente *A. pullulans*, *A. thailandense*, *Sy. marina*, *Vishniacozyma* sp. nov.. A frequência de ocorrência dessas espécies variou entre 18 e 23% no total de amostras, de onde se obteve ao menos um único isolado (Figura 6). Entretanto, das 82 espécies encontradas, 51 (60%) apresentaram apenas um registro de ocorrência e 76 (92%) ocorreram em menos de 1/10 do total de amostras. Mantendo um padrão muito semelhante ao das espécies mais frequentes, os gêneros mais frequentes foram *Aureobasidium*, *Papiliotrema*, *Symmetrospora* e *Vishniacozyma*. O gênero *Papiliotrema* se destacou também por ser o mais rico (11 espécies), e destas, 3 são possíveis espécies ainda não descritas. De um total de 13 ordens de leveduras identificadas, Tremellales foi a que mais se destacou, apresentando uma frequência de ocorrência de 76%, seguida por Dothideales (41%), Ustilaginales (28%), Cystobasidiales (28%) e Exobasidiales (18%), todas as demais ordens apresentaram valores de ocorrência abaixo de 15%.

A espécie *Sy. marina* foi a mais encontrada em nosso estudo, porém não é comumente associada aos grupos frequentes do filoplano (Tabela 1), ainda que já tenha sido registrada, mesmo que em baixa frequência, em folhas de milho por meio de abordagem independente de cultivo (NASANIT et al., 2016). Segundo Sampaio (2011), *Sy. marina* (= *Rhodotorula marina*) possuía apenas dois isolados que

provavelmente eram de origem marinha. Esse fato não chega a ser uma surpresa já que em outros estudos sobre leveduras do filoalano, outras espécies até então não-convencionais para este habitat foram encontradas em alta concentração (e.g. *Microstroma bacarum* e *Erythrobasidium hasegawianum*) (INÁCIO et al., 2002).

No único estudo anterior que trata da diversidade de leveduras no filoalano de bromélias, as espécies mais frequentes foram *Sporobolomyces roseus*, *P. laurentii* e *Naganishia albidus* (LANDELL et al., 2006). Dentre estas espécies, apenas *P. laurentii* foi encontrada em nosso estudo, porém, com uma frequência relativamente baixa (9%).

**Figura 6.** Frequência de ocorrência (%) das espécies com mais de um registro de ocorrência no estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Espécie com maior frequência de ocorrência	Riqueza (espécies/OTUs)	Hospedeiro (Família)	Técnica	Referência
<i>Aureobasidium pullulans</i>	17	10 espécies	Dependente de cultivo	(SLÁVIKOVÁ et al., 2007)
<i>Aureobasidium pullulans</i> e <i>Cryptococcus</i> spp.	47	<i>Quercus faginea</i> (Fagaceae), <i>Pistacia lentiscus</i> (Anacardiaceae), <i>Cistus albidus</i> (Cistaceae), <i>Acer monspessulanum</i> (Sapindaceae), <i>Osyris quadripartita</i> (Santalaceae)	Dependente de cultivo	(INÁCIO et al., 2002)
<i>Candida tropicalis</i>	36	45 espécies	Dependente de cultivo	(LIMTONG; KOOWADJANAKUL, 2012)
<i>Filobasidium magnus</i>	31	<i>Ochradenus baccatus</i> (Resedaceae), <i>Capparis spinosa</i> (Capparidaceae), <i>Ziziphus spina-christi</i> (Rhamnaceae) e <i>Atriplex halimus</i> (Chenopodiaceae)	Dependente de cultivo	(ABU-GHOSH et al., 2014)
<i>Meyerozyma caribbica</i>	24	<i>Saccharum officinarum</i> (Poaceae)	Dependente de cultivo	(LIMTONG et al., 2014)
<i>Moesziomyces antarcticus</i> e <i>Ps. hubeiensis</i>	45	<i>Oryza sativa</i> (Poaceae)	Independente de cultivo	(NASANIT et al., 2015)
<i>Moesziomyces aphidis</i>	77	<i>Zea mays</i> (Poaceae)	Independente de cultivo	(NASANIT et al., 2016)
<i>Naganishia albidus</i>	41	<i>Saccharum officinarum</i> (Poaceae)	Dependente de cultivo	(AZEREDO et al., 1998)
<i>Rhodotorula taiwanensis</i>	34	<i>Oryza sativa</i> (Poaceae)	Dependente de cultivo	(LIMTONG; KAEWWICHIAN, 2014)
<i>Sporobolomyces roseus</i>	40	11 espécies (Bromeliaceae)	Dependente de cultivo	(LANDELL et al., 2006)
<i>Vishniacozyma victoriae</i>	23	<i>Arabidopsis thaliana</i> (Brassicaceae)	Dependente de cultivo	(WANG et al., 2016)

**Tabela 2.** Revisão de dados e resultados encontrados em alguns estudos de leveduras do filoplano.

Em relação à abundância, mais de 90% das espécies encontradas apresentaram abundância média inferior a  $10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>. Considerando para análise apenas espécies com ao menos 3 ocorrências no estudo, *Pseudozyma hubeiensis* e *Cystobasidium minutum* foram as espécies com maior abundância média,  $5.62 \times 10^3$  e  $1 \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>, respectivamente. O gênero *Pseudozyma* é comumente encontrado no filoplano de diversas espécies de plantas (INÁCIO et al., 2002; ABU-GHOSH et al., 2014) e *Ps. hubeiensis* foi registrada em outros estudos como uma das espécies mais comumente encontradas no filoplano (e.g. NASANIT et al., 2015; SPERANDIO et al., 2015).

Leveduras epifíticas estão sujeitas a diversos estresses abióticos, e para tolera-los, geralmente apresentam traços que conferem vantagens adaptativas. Apesar de não serem vitais, a produção de cápsula polissacarídica e pigmentos são traços comuns em leveduras do filoplano e conferem benefícios as leveduras que os possuem (GLUSHAKOVA; CHERNOV, 2004; KEMLER et al., 2017). A radiação solar é um dos principais estresses sofridos pela comunidade epifítica e gera uma forte pressão de seleção no filoplano (KEMLER et al., 2017). As espécies *Sy. marina* e *Cy. minutum*, respectivamente frequente e abundante em nosso estudo, são de grupos amplamente registrados como produtores de pigmentos carotenoides. Espécies do gênero *Vishniacozyma* vêm demonstrando que também são capazes de produzir pigmentos como toruleno e beta-caroteno (KEMLER et al., 2017). Também, fungos leveduriformes do gênero *Aureobasidium*, que estão no grupo das *black-yeasts*, são capazes de produzir melanina. Além desses, outros grupos de leveduras capazes de produzir pigmentos foram encontrados, tais como *Erythrobasidium*, *Occultifur*, *Rhodotorula* e *Sporobolomyces*, o que reforça a importância desse traço para as leveduras do filoplano sobretudo em um ambiente com altos níveis de insolação como a Caatinga.

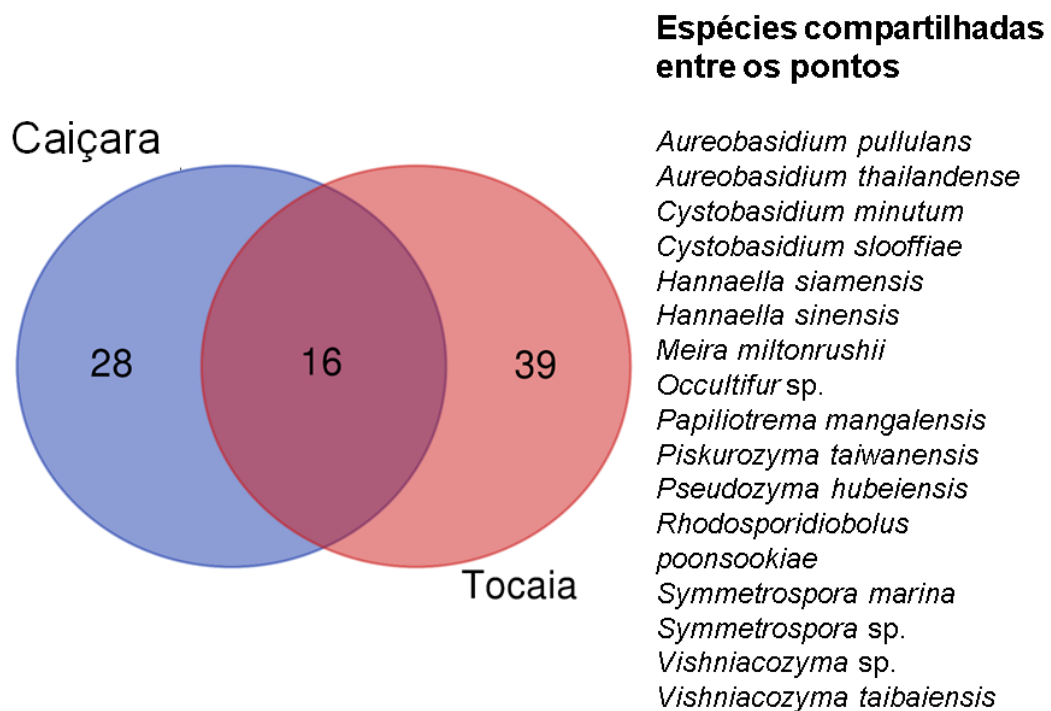
Segundo Fonseca e Inácio (2006), *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, *Pseudozyma*, *Bullera* e *Sporobolomyces* são gêneros frequentemente isolados do filoplano. O gênero *Aureobasidium* é cosmopolita, porém tem sido predominante no filoplano em diversos estudos (e.g. Jager et al. 2001; Sperandio et al. 2015; Inácio et al. 2002; Sláviková et al. 2007). A espécie *A. pullulans* é a mais conhecida deste gênero, sendo proposta como modelo para estudos de plasticidade por sua capacidade de alterar o fenótipo em respostas a mudanças ambientais, além de ser

considerada um modelo importante de micro-organismo da filosfera (SLEPECKY; STARMER, 2009; VORHOLT, 2012). Por ser um forte competidor por espaço e nutriente também é considerado um importante antagonista contra fitopatógenos.

## 7.2. Variação espacial da comunidade de leveduras

O ponto de coleta Tocaia apresentou uma riqueza de espécies maior em relação a Caiçara (55 e 43, respectivamente). Avaliando os índices de diversidade de Shannon ( $H'$ ) e o de Dominância ( $D$ ), verificou-se que o ponto Caiçara, mesmo com uma riqueza menor, foi mais diverso e com menor dominância ( $H'=2,934$ ;  $D=0,073$ ) em comparação com Tocaia ( $H'=1,995$ ;  $D=0,256$ ), ainda que no geral os locais apresentaram baixos níveis de dominância. Além da diversidade e riqueza, a composição de espécies de leveduras variou entre os pontos de amostragem, apresentando dissimilaridade de Bray-Curtis maior que 84%. Esse fato fica evidente quando observamos a Figura 7, onde apenas 16 espécies das 82 foram compartilhadas entre os pontos de coleta.

**Figura 7.** Diagrama de Venn com o número e a lista de espécies de leveduras compartilhadas entre os dois pontos de amostragem ( $n=16$ ) e o número de espécies que ocorreram exclusivamente em um dos pontos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

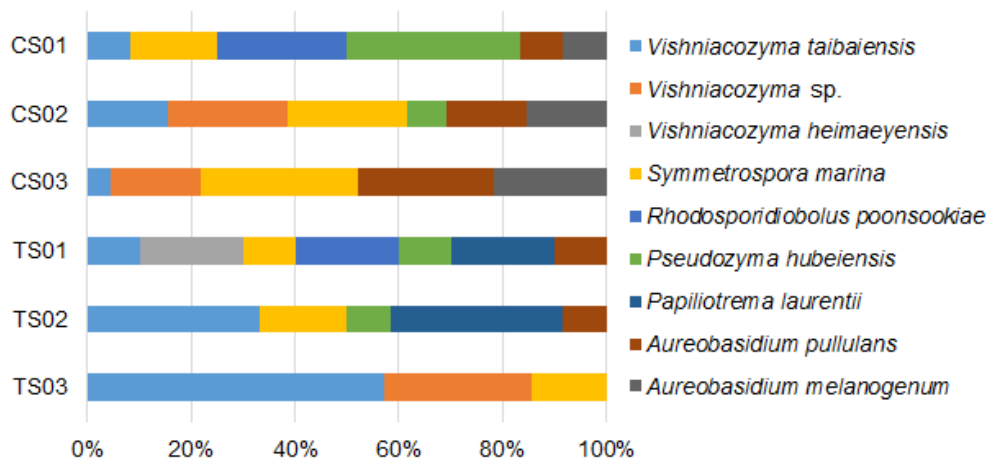


No ponto Tocaia, *A. thailandense* foi a espécie mais frequentemente encontrada, ocorrendo em 31% das amostras deste local, enquanto que no ponto Caiçara, *Sy. marina* foi a mais encontrada, ocorrendo em quase 40% das amostras. No ponto Caiçara, *Cy. minutum* e *Ps. hubeiensis* foram as espécies com maior abundância média, enquanto que no ponto Tocaia foram *Ps. hubeiensis* e *V. taibaiensis*. Vale ressaltar que os pontos de amostragem possuem arquitetura ambiental distinta, por exemplo, o ponto Tocaia possui altitude máxima de ~400 metros e vegetação mais arbórea, o que pode em algum nível servir de proteção, enquanto Caiçara chega a quase 800 metros de altitude e possui vegetação majoritariamente arbustiva, o que deixa as bromélias mais expostas a chuva, vento e níveis altos de insolação.

### **7.3. Variação temporal da comunidade de leveduras**

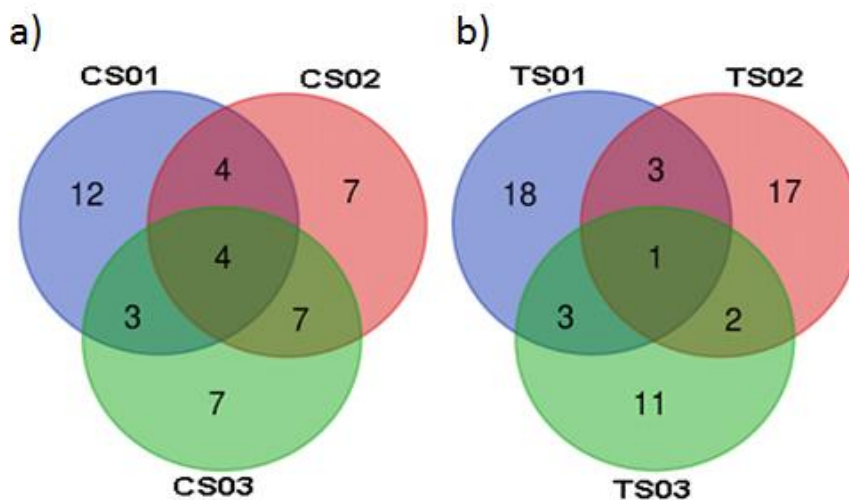
No total foram realizadas seis coletas, três no ponto Caiçara e três no Tocaia em anos diferentes. Para avaliar qual foi o comportamento da comunidade, nós selecionamos as espécies mais frequentes em cada uma das coletas e verificamos a frequência de ocorrências destas espécies nos dois pontos e nas seis coletas. Como podemos observar na Figura 8, as espécies com maior frequência variaram tanto entre os pontos de coleta quanto de forma temporal (entre as coletas realizadas em um mesmo ponto em anos diferentes). A dissimilaridade da composição entre as coletas de um mesmo ponto de amostragem foi alta nos dois locais. No ponto Tocaia a dissimilaridade entre as três coletas variou entre 90 e 92%. Entre as amostragens do ponto Caiçara a comunidade variou entre 65 e 82%. Poucas espécies foram compartilhadas durante os diferentes anos de coleta, praticamente a cada ano de coleta uma comunidade diferente de leveduras era observada (Figura 9) e se considerarmos as seis coletas, nenhuma espécie de leveduras ocorreu em todas. A dissimilaridade taxonômica não demonstrou correlação com a distância temporal ( $p > 0,05$ ), ou seja, coletas temporalmente mais distantes não foram necessariamente mais distantes taxonomicamente.

**Figura 8.** Comparação entre as ocorrências das espécies mais frequentes em cada uma das coletas. Ponto de coleta Caiçara (as três coletas realizadas, cronologicamente CS01, CS02 e CS03); ponto de coleta Tocaia (as três coletas realizadas, cronologicamente TS01, TS02 e TS03).



Fonte: Elaborado pelo autor.

**Figura 9.** Diagramas de Venn mostrando o número de espécies de leveduras compartilhadas entre os diferentes anos de coleta nos pontos amostrados, a) as três coletas do ponto Caiçara (cronologicamente CS01, CS02 e CS03) e b) as três coletas do ponto Tocaia (cronologicamente TS01, TS02 e TS03).



Fonte: Elaborado pelo autor.

A composição das leveduras foi analisada em diferentes níveis taxonômicos e foi possível observar que em níveis mais altos, os grupos de maior frequência não variaram no ponto Tocaia, porém, no ponto Caiçara mesmo níveis taxonômicos mais altos tenderam a mudar ao longo dos anos (Tabela 3 e Figura 10).

Como já citamos, o ponto Caiçara possui uma configuração mais desprotegida por ter maior altitude e vegetação mais arbustiva, além disso o volume de chuva foi maior nesse ponto, o que pode ser responsável pela comunidade epifítica altamente dinâmica encontrada.

**Tabela 3.** Táxon ou taxa com maior frequência de ocorrência nos diferentes pontos de amostragem e nos diferentes anos amostrados.

Local	Coleta	Subfilo	Classe	Ordem	Gênero
Caiçara	CS01	Pucciniomycotina	Cystobasidiomycetes	Cystobasidiales	<i>Cystobasidium</i>
	CS02	Agaricomycotina	Tremellomycetes	Tremellales	<i>Aureobasidium</i> e <i>Vishniacozyma</i>
	CS03	Pezizomycotina	Dothideomycetes	Dothideales	<i>Aureobasidium</i>
Tocaia	TS01	Agaricomycotina	Tremellomycetes	Tremellales	<i>Papiliotrema</i>
	TS02	Agaricomycotina	Tremellomycetes	Tremellales	<i>Hannaella</i> e <i>Papiliotrema</i>
	TS03	Agaricomycotina	Tremellomycetes	Tremellales	<i>Aureobasidium</i> e <i>Papiliotrema</i>

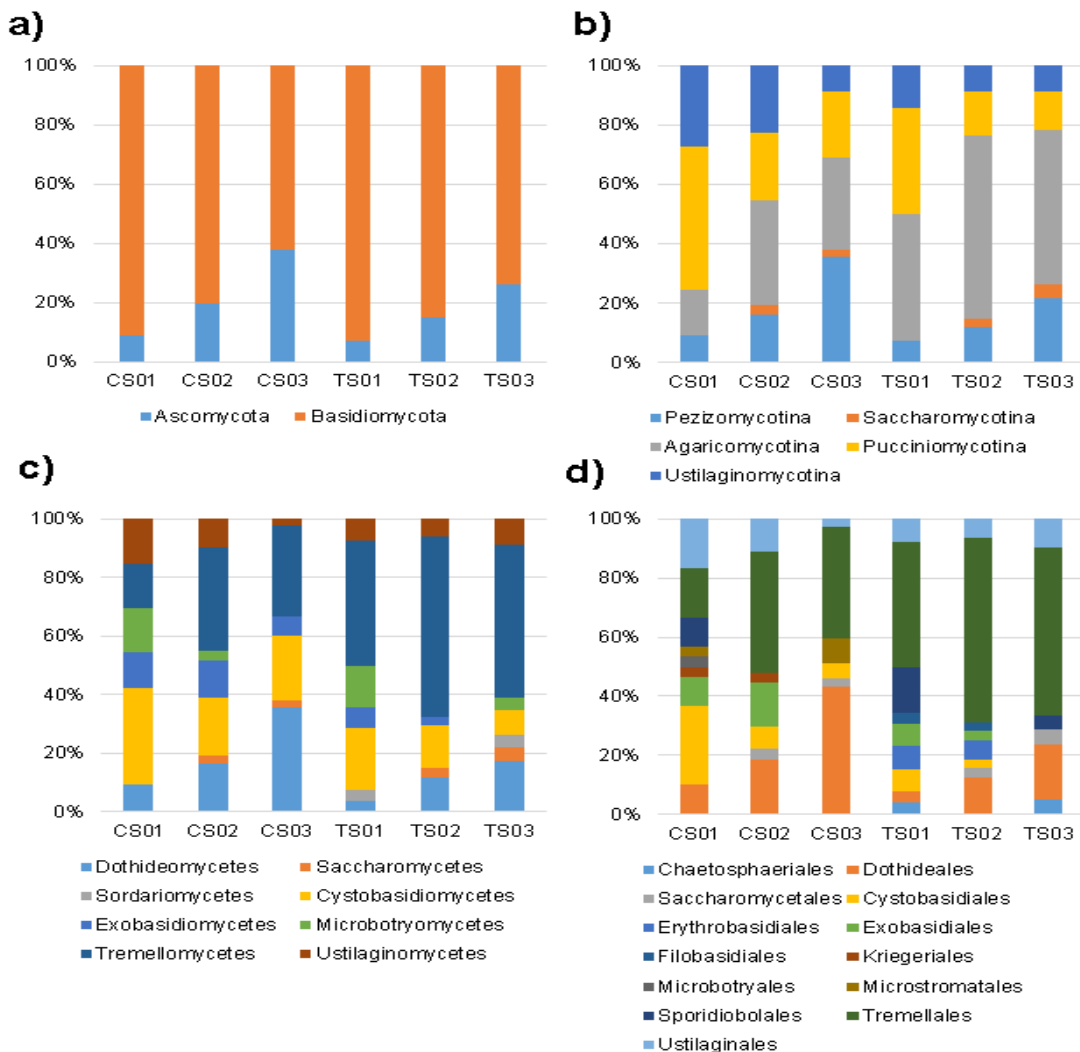
Fonte: Elaborado pelo autor.

A comunidade epifítica é regulada por quatro processos populacionais; i) imigração, ii) emigração, iii) crescimento (geração) e iv) morte (KINKEL, 1997). Diversos autores afirmam que a comunidade epifítica é altamente dinâmica e não-uniforme, tanto no tempo quanto espaço, e a causa dessa variação está relacionada ao grande número de variáveis que têm influência na comunidade e suas constantes e intensas flutuações (KINKEL, 1997; JAGER et al., 2001; LINDOW; BRANDL, 2003; FONSECA; INÁCIO, 2006). Nosso resultado confirma isso, a comunidade de leveduras em bromélias variou intensamente tanto entre os pontos de amostragem quanto entre os diferentes anos de coleta. Esse *turnover* da comunidade foi registrado em trabalhos anteriores como citado, porém a intensidade da variação na comunidade de leveduras em bromélias da Caatinga superou o esperado.

O fato de mais da metade das espécies encontradas apresentarem apenas um registro de ocorrência corrobora com o dado encontrado por (GLUSHAKOVA; CHERNOV, 2010) e reforça a hipótese da configuração dinâmica das leveduras do filoplano. No estudo de Louca et al. (2016), bactérias em tanques de bromélias apresentaram *turnover* taxonômico, porém os grupos funcionais foram estáveis.

Outros trabalhos, principalmente com leveduras do néctar, indicam que a ordem de colonização pode influenciar na configuração final da comunidade através do efeito prioritário (PEAY et al., 2011). É possível que como a Caatinga é um ambiente extremo e sujeito a mudança bruscas (como as chuvas), as taxas de extinção e colonização sigam um ritmo acelerado e isso explicaria a variação constante e intensa da comunidade epifíticas de leveduras. Porém, os dados existentes na literatura indicam que vários eventos ambientais e populacionais são capazes de gerar variação na comunidade de micro-organismos epifíticas, tanto em composição quanto em diversidade e abundância, tornando difícil de se encontrar um padrão claro na dinâmica das comunidades.

**Figura 10.** Frequência de ocorrência em diferentes níveis taxonômicos das leveduras ao longo das seis coletas. Em a) filo, b) subfilo, c) classe e d) ordem. As três coletas do ponto Caiçara (cronologicamente CS01, CS02 e CS03) e as três coletas do ponto Tocaia (cronologicamente TS01, TS02 e TS03).

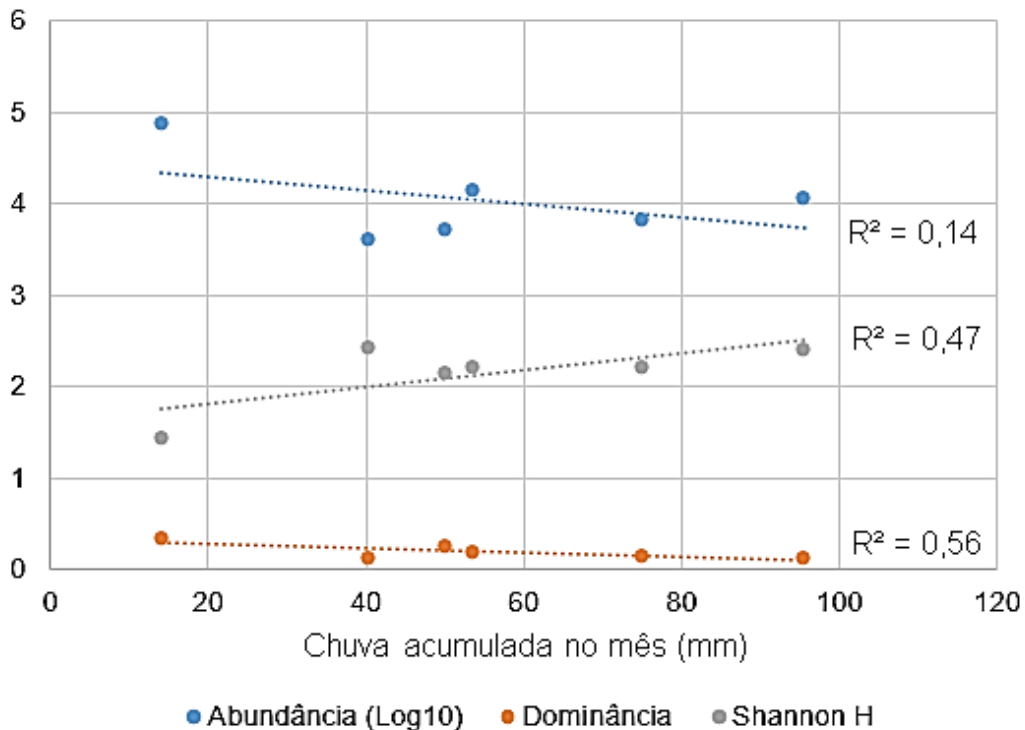


Fonte: Elaborado pelo autor.

#### 7.4. A influência da chuva da comunidade de leveduras epifíticas na Caatinga

Verificamos se o regime de chuvas do mês de cada coleta era explicativo para as seguintes variáveis: diversidade (Shannon  $H'$ ), riqueza total (estimada com Chao1), dominância e abundância total por coleta (CFU). A riqueza estimada com Chao1 não mostrou relação significativa com a chuva nas diferentes coletas ( $p=0.36$ ), porém a diversidade ( $p>0.0001$ ), dominância ( $p>0.0001$ ) e abundância ( $p=0.003$ ) das leveduras foram significativamente relacionadas com o regime pluviométrico. Percebemos que houve uma relação entre o aumento da chuva, a queda da abundância total e da dominância e o aumento da diversidade (Figura 11).

**Figura 11.** Distribuição dos valores de abundância total por coleta em CFU/cm<sup>2</sup> ( $\log_{10}$ ) Dominância de Simpson (D) e diversidade de Shannon ( $H'$ ), ambos no eixo y em relação ao regime de chuvas do mês de cada uma das coletas (mm), eixo x. A linha tracejada representa a tendência de cada variável em relação a chuva. Também está disponível o valor explicativo ( $R^2$  ajustado) da variável chuva em relação as demais variáveis resposta.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A chuva gera incremento na produção de metabólitos nas plantas em ambientes semiáridos como a Caatinga (NOY-MEIR, 1973; REYNOLDS et al., 2004; MONTEIRO et al., 2006). Em ambientes áridos e semiáridos, as chuvas ocorrem de forma irregular e duram pouco tempo, ou seja, ocorrem em 'pulsos'. O modelo de pulsos-reservas, foi proposto por Mark Westoby e Ken Bridges (dados não publicados) e trata da resposta das plantas em ambientes áridos e semiáridos à chuva (NOY-MEIR, 1973). O modelo de pulsos-reservas pressupõe que a chuva é um fator limitante em ambientes áridos e semiáridos pois nesse tipo de ambiente chuvas são escassas, variáveis e muito imprevisíveis. Segundo Noy-Meir (1973) citando os pressupostos do modelo de pulsos-reservas, a produção primária responderia a esses 'pulsos' de chuva em um rápido 'pulso' de crescimento, através do aumento metabólico e estoque de reservas. O modelo de pulsos-reservas é um paradigma para o estudo de ecologia de ambientes áridos e semiáridos, porém, sofreu críticas por conter uma série de generalizações. Reynolds et al. (2004) atualizaram e propuseram uma série de mudanças no modelo para torna-lo mais refinado, ainda assim assumindo a grande importância da chuva na resposta metabólica das plantas.

Os nutrientes orgânicos utilizados pela comunidade de leveduras epifíticas são disponibilizados majoritariamente de forma espontânea ou não pelas próprias plantas, enquanto nutrientes inorgânicos geralmente vêm de fontes externas (FONSECA; INÁCIO, 2006; KEMLER et al., 2017). O incremento de nutrientes gerado pelo aumento da produtividade primária, por exemplo, pela maturidade das folhas possui implicações na comunidade epifítica (JAGER et al., 2001; PEÑUELAS et al., 2012). A maior disponibilidade de nutrientes é uma explicação plausível para o aumento da diversidade registrado nos períodos com mais chuva. A disponibilidade de água e nutriente são fatores importantes e limitantes para leveduras epifíticas (FONSECA; INÁCIO, 2006; GLUSHAKOVA; CHERNOV, 2010) e esses fatores são ainda mais importante em um ambiente semiárido pela própria configuração do regime hidrometeorológico nesses locais.

Segundo Glushakova & Chernov (2007), a abundância de leveduras epifíticas depende da quantidade e composição dos exsudados disponibilizados pelo hospedeiro e do balanço de condições hidrotermais. De maneira experimental, Peñuelas et al. (2012) verificaram que em condições de seca moderada, a riqueza e diversidade de micro-organismos epifíticos aumenta enquanto a dominância cai, e

uma explicação seria que nessas condições haveria uma maior emissão de compostos orgânicos voláteis e, conseqüentemente, maior diversidade de fontes de carbono disponíveis. Nas condições encontradas na Caatinga, como já citado, espera-se uma maior disponibilidade de fontes orgânicas de nutrientes em épocas mais chuvosas, já que as plantas desse ambiente possuem frequentemente traços xerófilos e responderiam rapidamente às chuvas (NOY-MEIR, 1973; REYNOLDS et al., 2004; MONTEIRO et al., 2006).

A abundância encontrada nas coletas diminuiu em resposta às chuvas, isso é justamente o contrário do que esperaríamos já que acreditamos que a quantidade de nutrientes disponível tenha aumentado e, portanto, o tamanho das populações deveria acompanhar essa tendência. A queda da abundância total em resposta a chuvas mais intensas pode estar relacionada a lavagem das folhas que, por sua vez, retiraria parte da população das espécies de leveduras e afetaria mais drasticamente populações maiores, ao mesmo tempo diminuindo a dominância na comunidade. Porém, como isso não foi analisado aqui, é prematuro afirmar algo mais sólido. Além disso, o poder explicativo da chuva em relação a abundância de leveduras foi baixo ( $R^2=0,14$ ) indicando que outros fatores também influenciaram a abundância, sendo assim, essa hipótese pode ser considerada para avaliação em estudos posteriores. O efeito da chuva em comunidades epifíticas ainda não está claramente elucidado e os resultados diferem entre estudos, alguns sugerem que a chuva incrementa a abundância outros que decresce, porém o que se espera é que haja uma relação tanto com a frequência, quanto a intensidade das chuvas (KINKEL, 1997).

### **7.5. Possíveis espécies não-descritas**

Mais de um terço das espécies encontradas (n=29) são possíveis espécies não-descritas. Esse número de espécies representa mais espécies do que já foram descritas em bromélias nos últimos 14 anos (*vide* Tabela 1). Destas 29 espécies, 26 são basidiomicetos e apenas 3 ascomicetos, pertencentes a 21 gêneros distintos. A possível espécie não-descrita mais frequentemente encontrada foi *Vishniacozyma* sp. que ocorreu em cerca de 20% das amostras neste estudo (espécies em processo de descrição), enquanto *Papiliotrema* foi o gênero mais rico, com três possíveis espécies novas. Encontramos possíveis espécies novas em todos os cinco subfilos que foram

registrados no estudo: Agaricomycotina (n=14), Pucciniomycotina (n=8), Ustilaginomycotina (n=3), Pezizomycotina (n=2) e Saccharomycotina (n=1).

Nos últimos anos várias espécies de leveduras têm sido descritas em associação com bromélias, e esse substrato tem se mostrado rico em espécies descritas e não-descritas de leveduras (LANDELL et al., 2006; GOMES et al., 2015). Há uma grande lacuna em relação a riqueza de fungos no mundo, uma estimativa recente é que exista entre 2,2 e 3,8 milhões de espécies de fungos, porém o número de espécies corretamente nomeadas e descritas gira entorno de apenas 120.000 (HAWKSWORTH et al., 2017). Um dos maiores reservatórios de novas espécies de fungos são as plantas vasculares e estudos mostram que a América do Sul é um *hotspot* de diversidade para novas espécies de fungos (HAWKSWORTH; ROSSMAN, 1997; HAWKSWORTH et al., 2017). Nosso estudo corrobora com estas afirmações.

Um recente estudo cita que há aproximadamente 1.600 espécies de leveduras descritas atualmente (VU et al., 2016). Considerando isso, apenas com as possíveis espécies não-descritas encontradas em nosso estudo haveria um incremento de quase 2% em todo o conhecimento existente sobre riqueza de leveduras. Além disso, se considerarmos que as curvas de rarefação ainda não entraram no platô, que a cada 3 espécies encontradas, uma é não-descrita e que Chao1 estimou a riqueza total entre 140-220 espécies, a riqueza provável de espécies novas nesse ambiente está entre 50 e 77 espécies.

## 7.6. Flores e Frutos

No total foram encontradas 11 espécies de leveduras em flores e frutos de bromélias (5 em flores e 8 em frutos). Como já citado, 4 amostras de cada um dos substratos foram coletadas. As espécies de leveduras mais frequentes foram *Meyerozyma guilliermondii* e *V. alagoana*, encontradas nos dois substratos. Além disso, essas foram as únicas espécies compartilhadas entre flores e frutos. Observou-se uma prevalência de ascomicetos em flores, 4 das 5 espécies encontradas, enquanto em frutos 6 das oito espécies foram basidiomicetos (Tabela 4).



**Tabela 4-** Registro de das espécies de leveduras encontradas em flores e frutos de bromélias.

Filo	Subfilo	Identificação	Flor	Fruto
<b>Ascomycota</b>				
	<b>Pezizomycotina</b>			
		<i>Aureobasidium melanogenum</i>	1	
		<i>Aureobasidium namibiae</i>	1	
		<i>Aureobasidium thailandense</i>	1	
	<b>Saccharomycotina</b>			
		<i>Clavispora</i> sp. nov.		2
		<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	3	2
<b>Basidiomycota</b>				
	<b>Agaricomycotina</b>			
		<i>Kwoniella dejecticola</i>		1
		<i>Vishniacozyma alagoana</i>	2	2
	<b>Pucciniomycotina</b>			
		<i>Colacogloea</i> sp. nov. 1		1
		<i>Colacogloea</i> sp. nov. 2		1
		<i>Symmetrospora suhii</i>		1
	<b>Ustilaginomycotina</b>			
		<i>Ustilago spermophora</i>		1

Fonte: Elaborado pelo autor.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados indicaram que o filoplano de bromélias do semiárido (Caatinga) é um ambiente com uma alta riqueza e diversidade de leveduras descritas e não-descritas, superando diversos estudos com leveduras do filoplano mesmo os que utilizaram técnicas independentes de cultivo. Foi observado uma grande variação taxonômica tanto espacial quanto temporalmente, o que indica como a comunidade de leveduras deste ambiente é dinâmica e muda constantemente. Além disso, as chuvas tiveram uma possível associação com a comunidade de leveduras, sendo explicativas para a diversidade, dominância e abundância das leveduras. Porém, não foi relacionada com a riqueza estimada. Esse trabalho trouxe um aporte importante de dados e colaborou para a melhor compreensão da dinâmica da comunidade microbiana epifítica de ambientes semiáridos e tropicais, além de abrir uma porta para futuros estudos ecológicos e taxonômicos.

## 9. REFERÊNCIAS

- ABU-GHOSH, S.; DROBY, S.; KORINE, C. Seasonal and plant-dependent variations in diversity, abundance and stress tolerance of epiphytic yeasts in desert habitats. **Environmental Microbiology Reports**, v. 6, n. 4, p. 373–382, 2014.
- ALLEN, T. W.; QUAYYUM, H. A.; BURPEE, L. L.; BUCK, J. W. Effect of foliar disease on the epiphytic yeast communities of creeping bentgrass and tall fescue. **Canadian journal of microbiology**, v. 50, p. 853–860, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15644900>>. .
- ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T. L.; SCHÄFFER, A. A.; et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 17, p. 3389–3402, 1997.
- ANDREOTE, F. D.; GUMIERE, T.; DURRER, A. Exploring interactions of plant microbiomes. **Scientia agricola**, v. 71, n. 6, p. 528–539, 2014.
- ANDREWS, J. H.; KINKEL, L. L.; BERBEE, F. M.; NORDHEIM, E. V. Fungi , Leaves , and the Theory of Island Biogeography. **Microbial ecology**, v. 14, n. 3, p. 277–290, 1987.
- ARAUJO, F. V.; ROSA, C. A.; FREITAS, L. F. D.; et al. *Kazachstania bromeliacearum* sp. nov., a yeast species from water tanks of bromeliads. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, p. 1002–1006, 2012.
- AZEREDO, L. A. I.; GOMES, E. A. T.; MENDONCA-HAGLER, L. C.; HAGLER, A. N. Yeast communities associated with sugarcane in Campos, Rio de Janeiro, Brazil. **International Microbiology**, v. 1, n. 3, p. 205–208, 1998.
- BASÍLIO, G. A.; ELIAS, D.; BARBOSA, F.; et al. Community ecology of epiphytic Bromeliaceae in a remnant of Atlantic Forest in Zona da Mata, Minas Gerais State, Brazil. **Hoehnea**, v. 42, n. 1, p. 21–31, 2015.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation**. New York, 2000.
- BERNARDELLO, L. M. Extrafloral nectaries that attract ants in Bromeliaceae : structure and nectar composition. , 1992.

- BOEKHOUT, T.; FONSECA, Á.; SAMPAIO, J. P.; BANDONI, R. J.; KWON-CHUNG, J. F. AND K. J. Discussion of Teleomorphic and Anamorphic Basidiomycetous Yeasts. **The Yeasts**, v. cap. 100, p. 293–307, 2011.
- BOND, W. H. **National Geographic**. v. 147, n. 3, p.393.
- BOTHA, A. The importance and ecology of yeasts in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 1, p. 1–8, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.10.001>>. .
- BRINGEL, F.; COUÉE, I. Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1–14, 2015.
- BUCK, J. W. In vitro antagonism of *Botrytis cinerea* by phylloplane yeasts. **Canadian Journal of Botany**, v. 80, p. 885–891, 2002.
- CANTO, A.; HERRERA, C. M.; RODRIGUEZ, R. Nectar-living yeasts of a tropical host plant community : diversity and effects on community-wide floral nectar traits. **PeerJ**, p. 1–22, 2017.
- COBBAN, A.; EDGCOMB, V. P.; BURGAUD, G.; REPETA, D.; LEADBETTER, E. R. Revisiting the pink-red pigmented basidiomycete mirror yeast of the phyllosphere. **MicrobiologyOpen**, p. 1–10, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/mbo3.374>>. .
- COLEMAN-DERR, D.; DESGARENNES, D.; FONSECA-GARCIA, C.; et al. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. **New Phytologist**, v. 209, p. 798–811, 2016.
- CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; BURGESS, T. I.; et al. Fungal Planet description sheets : 716–784. **Persoonia**, v. 40, p. 240–393, 2018.
- FELIX, C. R. C. R.; NAVARRO, H. M. C.; PAULINO, G. V. B.; et al. *Carlosrosaea hohenbergiae* sp. nov. and *Carlosrosaea aechmeae* sp. nov., two tremellaceous yeasts isolated from bromeliads in north-eastern Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, n. 6, p. 1–6, 2017.
- FELL, J. W.; BOEKHOUT, T.; FONSECA, A.; SCORZETTI, G.; STATZELL-TALLMAN, A. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined

by large-subunit rDNA D1 / D2 domain sequence analysis. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 1351–1371, 2000.

FONSECA, Á.; INÁCIO, J. Phylloplane Yeasts. **Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts**. p.263–301, 2006.

GLUSHAKOVA, A. M.; CHERNOV, I. Y. Seasonal dynamics in a yeast population on leaves of the common wood sorrel *Oxalis acetosella* L. **Microbiology**, v. 73, n. 2, p. 184–188, 2004.

GLUSHAKOVA, A. M.; CHERNOV, I. Y. Seasonal Dynamic of the Numbers of Epiphytic Yeasts. **Microbiology**, v. 76, n. 5, p. 590–595, 2007.

GLUSHAKOVA, A. M.; CHERNOV, I. Y. Seasonal dynamics of the structure of epiphytic yeast communities. **Microbiology**, v. 79, n. 6, p. 830–839, 2010.

Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1134/S0026261710060160>>. .

GOFFREDI, S. K.; JANG, G. E.; HAROON, M. F. Transcriptomics in the tropics: Total RNA-based profiling of Costa Rican bromeliad-associated communities.

**Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 13, p. 18–23, 2015. The Authors.

GOMES, F. C. O.; SAFAR, S. V. B.; MARQUES, A. R.; et al. The diversity and extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from water tanks of *Vriesea minarum*, an endangered bromeliad species in Brazil, and the description of *Occultifur brasiliensis* f.a., sp. nov. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 107, n. 2, p. 597–611, 2015.

GOMES, F. C. O.; SAFAR, S. V. B.; SANTOS, A. R. O.; ROSA, C. A.; ROSA, C. A. *Kockovaella libkindii* sp. nov., a yeast species isolated from water tanks of bromeliad. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, p. 5066–5069, 2016.

HAGLER, A. N.; ROSA, A.; MORAIS, B.; et al. Yeasts and coliform bacteria of water accumulated in bromeliads of mangrove and sand dune ecosystems of southeast Brazil. **Canadian journal of microbiology**, v. 39, n. 10, p. 973–977, 1993.

HAMMER, Ø. PAST: PAleontological STatistics software package, v3. 06. , 2016.

HANSON, T.; BROOKS, T. M.; FONSECA, G. A. B. D. A.; et al. Warfare in

- Biodiversity Hotspots. **Conservation Biology**, v. 23, n. 3, p. 578–587, 2009.
- HAWKSWORTH, D.; GARDENS, R. B.; LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited : 2 . 2 to 3 . 8 Million Species. **Microbiol Spectrum**, v. 5, n. 4, p. 1–17, 2017.
- HAWKSWORTH, D. L.; ROSSMAN, A. Y. Where Are All the Undescribed Fungi ? **Phytopathology**, p. 888–891, 1997.
- IBGE. Mapa de Biomas do Brasil. Escala 1:5.000. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)**, Rio de Janeiro, 2004.
- INÁCIO, J.; LANDELL, M. F.; VALENTE, P.; et al. *Farysizyma* gen. nov., an anamorphic genus in the Ustilaginales to accommodate three novel epiphytic basidiomycetous yeast species from America, Europe and Asia. **FEMS Yeast Research**, v. 8, n. 3, p. 499–508, 2008.
- INÁCIO, J.; PEREIRA, P.; CARVALHO, M. DE; et al. Estimation and diversity of phylloplane mycobiota on selected plants in a Mediterranean-type ecosystem in Portugal. **Microbial Ecology**, v. 44, n. 4, p. 344–353, 2002.
- JAGER, E. S.; WEHNER, F. C.; KORSTEN, L. Microbial Ecology of the Mango Phylloplane. **Microbial ecology**, v. 42, n. 2, p. 201–207, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12024283>>. .
- KANE, R. P. Relationship between the southern oscillation / El Nino and rainfall in some tropical and midlatitude regions. **Proceedings of the Indian Academy of Science**, v. 98, n. 3, p. 223–235, 1989.
- KEMLER, M.; WITFELD, F.; BEGEROW, D.; YURKOV, A. Phylloplane Yeasts in Temperate Climates. , 2017.
- KHUNNAMWONG, P.; RIBEIRO, R. A.; GARCIA, K. M.; et al. *Occultifur plantarum* f . a ., sp . nov ., a novel cystobasidiomycetous yeast species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, p. 2628–2633, 2017.
- KINKEL, L. L. MICROBIAL POPULATION. **Annu. Rev. Phytopathol**, v. 35, p. 327–347, 1997.
- KRAHL, A.; HOLANDA, A.; KRAHL, D.; CORRÊA, M.; VALSKO3, R. L. O. E J. J. Anatomia foliar de *Ananas lucidus* Mill. (Bromeliaceae). **Natureza Online**, v. 11, n. 4,

p. 161–165, 2013.

KROMER, T.; KESSLER, M.; LOHAUS, G.; SCHMIDT-LEBUHN, N. Nectar sugar composition and concentration in relation to pollination syndromes in Bromeliaceae. **Plant Biology**, v. 10, p. 502–511, 2008.

KURTZMAN, C. P. Phylogeny of the ascomycetous yeasts and the renaming of *Pichia anomala* to *Wickerhamomyces anomalus*. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 99, n. 1, p. 13–23, 2011.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T.; ROBERT, V. **Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts**. Elsevier B.V., 2011.

KURTZMAN, C. P.; ROBNETT, C. J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 73, n. 4, p. 331–371, 1998.

LANDELL, M. F.; BILLODRE, R.; RAMOS, J. P.; et al. *Candida aechmeae* sp. nov. and *Candida vrieseae* sp. nov., novel yeast species isolated from the phylloplane of bromeliads in Southern Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, n. 1, p. 244–248, 2010.

LANDELL, M. F.; BRANDÃO, L. R.; BARBOSA, A. C.; et al. *Hannaella pagnoccae* sp. nov., a tremellaceous yeast species isolated from plants and soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, n. PART 6, p. 1970–1977, 2014.

LANDELL, M. F.; INÁCIO, J.; FONSECA, Á.; VAINSTEIN, M. H.; VALENTE, P. *Cryptococcus bromeliarum* sp. nov., an orange-coloured basidiomycetous yeast isolated from bromeliads in Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. 4, p. 910–913, 2009.

LANDELL, M. F. M. F.; BRANDÃO, L. R. L. R.; SAFAR, S. V. B. S. V. B.; et al. *Bullera vrieseae* sp. nov., a tremellaceous yeast species isolated from bromeliads. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 65, n. 8, p. 2466–2471, 2015.

- LANDELL, M. F.; MAUTONE, J. N.; VALENTE, P. Biodiversity of Yeasts Associated To Bromeliads in Itapuã Park , Viamão / Rs. **Biociencias**, v. 14, n. 2, p. 144–149, 2006.
- LEAL, I. R.; SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; LACHER JR., T. E. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 139–146, 2005.
- LEROY, C.; CORBARA, B.; DÉZERALD, O.; et al. What drives detrital decomposition in neotropical tank bromeliads? **Hydrobiologia**, 2017.
- LIMTONG, S.; KAEWWICHIAN, R. The diversity of culturable yeasts in the phylloplane of rice in Thailand. **Annals of Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 667–675, 2014.
- LIMTONG, S.; KAEWWICHIAN, R.; YONGMANITCHAI, W.; KAWASAKI, H. Diversity of culturable yeasts in phylloplane of sugarcane in Thailand and their capability to produce indole-3-acetic acid. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 6, p. 1785–1796, 2014.
- LIMTONG, S.; KOOWADJANAKUL, N. Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 12, p. 3323–3335, 2012.
- LINDOW, S. E.; BRANDL, M. T. Microbiology of the Phyllosphere. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, v. 69, n. 4, p. 1875–1883, 2003.
- LOOBY, C. I.; EATON, W. D. Effects of Bromelia pinguin (Bromeliaceae) on soil ecosystem function and fungal diversity in the lowland forests of Costa Rica. **BMC ecology**, v. 14, n. 1, p. 12, 2014. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4020870&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. .
- LOUCA, S.; JACQUES, S. M. S.; PIRES, A. P. F.; et al. High taxonomic variability despite stable functional structure across microbial communities. **Nature Ecology & Evolution**, 2016.
- MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. Floral Traits and Pollination Systems in the Caatinga , a Brazilian Tropical Dry Forest. **Annals of Botany**, v. 94, n. 3, p. 365–376, 2004.

- MANETTI, L. M.; DEIAPORTE, R. H.; LAVERDE, A. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DA FAMÍLIA BROMELIACEAE. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1885–1897, 2009.
- MARENCO, J. A.; ALVES, L. M.; BESERRA, E. A.; LACERDA, F. F. Cap. 13 Variabilidade e mudanças climáticas no semiárido brasileiro. **Recursos Hídricos em Regiões Semiáridas**. p.384–422, 2011. Instituto Nacional do Semiárido Campina Grande.
- MARENCO, J. A.; TORRES, R. R.; ALVES, L. M. Drought in Northeast Brazil — past , present , and future. **Theor Appl Climatol**, 2016. Theoretical and Applied Climatology.
- MAUTONE, J. N.; LANDELL, M. F.; FUENTEFRIA, A. M.; VALENTE, P. Phylloplane yeasts as a source of industrially interesting enzymes. **Brazilian Journal of Biosciences**, v. 8, n. 9, p. 169–173, 2010.
- MEISER, A.; BÁLINT, M.; SCHMITT, I. Meta-analysis of deep-sequenced fungal communities indicates limited taxon sharing between studies and the presence of biogeographic patterns. **New Phytologist**, 2014.
- MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. S. B.; GIONGO, V.; PÉREZ-MARIN, A. M. Biogeochemical cycling in terrestrial ecosystems of the Caatinga Biome. **Braz. J. Biol.**, v. 72, n. 3, p. 643–653, 2012.
- MMA-IBAMA. Monitoramento do Desmatamento nos Biomas Brasileiros por Satélite. Acordo de Cooperação Técnica MMA/IBAMA: Monitoramento do Bioma Caatinga 2008 a 2009. **Ministério do Meio Ambiente**. Brasília, DF, 2011.
- MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE<sup>1</sup>, U. P.; LINS NETO, E. M. F.; et al. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 3, p. 338–344, 2006.
- MORO, M. F.; LUGHADHA, E. N.; ARAÚJO, F. S. DE; MARTINS, F. R. A Phylogeographical Metaanalysis of the Semiarid Caatinga Domain in Brazil. **The Botanical Review**, 2016. The Botanical Review. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12229-016-9164-z>>. .



- MORRIS, C. E. Phyllosphere. **ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES**, p. 1–8, 2001.
- NASANIT, R.; JAIBANGYANG, S.; TANTIRUNGKIJ, M.; LIMTONG, S. Yeast diversity and novel yeast D1/D2 sequences from corn phylloplane obtained by a culture-independent approach. **Antonie van Leeuwenhoek**, 2016. Springer International Publishing. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10482-016-0762-x>>. .
- NASANIT, R.; TANGWONG-O-THAI, A.; TANTIRUNGKIJ, M.; LIMTONG, S. Assessment of epiphytic yeast diversity in rice (*Oryza sativa*) phyllosphere in Thailand by a culture-independent approach. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 119, n. 12, p. 1145–1157, 2015.
- NOY-MEIR, I. DESERT ECOSYSTEMS: ENVIRONMENT AND PRODUCERS. **Annual review of ecology and systematics**, v. 4, n. 1, p. 25–52, 1973.
- OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; KINDT, R.; et al. Package vegan. **Community ecology package, version**, 2013.
- PAGANI, D. M. D. M.; BRANDÃO, L. R. L. R.; SANTOS, A. R. O. A. R. O.; et al. *Papiliotrema leoncinii* sp. nov. and *Papiliotrema miconiae* sp. nov., two tremellaceous yeast species from Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 4, p. 1799–1806, 2016.
- PEAY, K. G.; BELISLE, M.; FUKAMI, T. Phylogenetic relatedness predicts priority effects in nectar yeast communities. **Proceedings of the Royal Society B**, 2011.
- PEÑUELAS, J.; RICO, L.; OGAYA, R.; JUMP, A. S.; TERRADAS, J. Summer season and long-term drought increase the richness of bacteria and fungi in the foliar phyllosphere of *Quercus ilex* in a mixed Mediterranean forest. **Plant Biology**, p. 1–11, 2012.
- PIĄTEK, M.; LUTZ, M.; SOUSA, F. M. P.; et al. *Pattersoniomyces tillandsiae* gen. et comb. nov.: linking sexual and asexual morphs of the only known smut fungus associated with Bromeliaceae. **Organisms Diversity and Evolution**, 2017.
- POULTER, B.; FRANK, D.; CIAIS, P.; et al. Contribution of semi-arid ecosystems to interannual variability. **Nature**, v. 509, p. 600–603, 2014. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature13376>>. .

- R TEAM. R: A language and environment for statistical computing. , 2016. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- REISBERG, E. E.; HILDEBRANDT, U.; RIEDERER, M.; HENTSCHEL, U. Distinct phyllosphere bacterial communities on Arabidopsis wax mutant leaves. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. 1–12, 2013.
- REYNOLDS, J. F.; KEMP, P. R.; OGLE, K.; FERNÁNDEZ, R. J. Modifying the “pulse–reserve” paradigm for deserts of North America: precipitation pulses, soil water, and plant responses. **Oecologia**, v. 141, p. 194–210, 2004.
- RODRIGUEZ, R. J.; WHITE JR, J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, R. S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New phytologist**, v. 182, n. 2, p. 314–330, 2009.
- RUIVO, C. C. C.; LACHANCE, M. A.; ROSA, C. A.; BACCI, M.; PAGNOCCA, F. C. *Candida bromeliacearum* sp. nov. and *Candida ubatubensis* sp. nov., two yeast species isolated from the water tanks of *Canistropsis seidelii* (Bromeliaceae). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 2213–2217, 2005.
- SAFAR, S. V. B.; GOMES, F. C. O.; MARQUES, A. R.; LACHANCE, M. A.; ROSA, C. A. *Kazachstania rupicola* sp. nov., a yeast species isolated from water tanks of a bromeliad in Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, p. 1165–1168, 2013.
- SAMPAIO, A.; SAMPAIO, J. P.; LEÃO, C. Dynamics of yeast populations recovered from decaying leaves in a nonpolluted stream: A 2-year study on the effects of leaf litter type and decomposition time. **FEMS Yeast Research**, v. 7, n. 4, p. 595–603, 2007.
- SAMPAIO, J. P. *Rhodotorula* Harrison (1928). **The yeasts**. p.1873–1927, 2011. Elsevier.
- SANTOS, J. C.; LEAL, I. R.; ALMEIDA-, J. S.; FERNANDES, G. W.; TABARELLI, M. Caatinga : the scientific negligence experienced by a dry tropical forest. **Tropical Conservation Science**, v. 4, n. 3, p. 276–286, 2011.
- SANTOS, M. G.; OLIVEIRA, M. T.; FIGUEIREDO, K. V; et al. Caatinga , the Brazilian

dry tropical forest : can it tolerate climate changes ? , p. 83–99, 2014.

SCHOCH, C. L.; SUNG, G. H.; LÓPEZ-GIRÁLDEZ, F.; et al. The ascomycota tree of life: A phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. **Systematic Biology**, 2009.

SILVA, J. M. C.; BARBOSA, L. C. F.; LEAL, I. R.; TABARELLI, M. The Caatinga: Understanding the Challenges. **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**. p.3–19, 2017. Springer.

SILVA, P. F.; LIMA, J. R. DE S.; ANTONINO, A. C. D.; et al. Seasonal patterns of carbon dioxide , water and energy fluxes over the Caatinga and grassland in the semi-arid region of Brazil. **Journal of Arid Environments journal**, p. 1–12, 2017.

SIQUEIRA FILHO, J. A.; LEME, E. M. C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste: biodiversidade, conservação e suas bromélias**. 2006.

SLÁVIKOVÁ, E.; VADKERTIOVÁ, R.; VRÁNOVÁ, D. Yeasts colonizing the leaf surfaces. **Journal of Basic Microbiology**, 2007.

SLEPECKY, R. A; STARMER, W. T. Phenotypic plasticity in fungi: a review with observations on *Aureobasidium pullulans*. **Mycologia**, v. 101, n. 6, p. 823–832, 2009.

SOUSA, F. M. P.; MORAIS, P. B.; LACHANCE, M. A.; ROSA, C. A. *Hagleromyces* gen. nov., a yeast genus in the Saccharomycetaceae, and description of *Hagleromyces aurorensis* sp. nov., isolated from water tanks of bromeliads. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, p. 2915–2919, 2014.

SPERANDIO, E. M.; MARTINS DO VALE, H. M.; MOREIRA, G. A. M. Yeasts from native Brazilian Cerrado plants: Occurrence, diversity and use in the biocontrol of citrus green mould. **Fungal Biology**, v. 119, n. 11, p. 984–993, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2015.06.011>>. .

STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD, J. K. The staden package. **Bioinformatics methods and protocols**, 2000. Springer.

STARMER, W. T.; LACHANCE, M. A. Yeast ecology. **The Yeasts**. p.65–83, 2011.

- TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; POLME, S.; et al. Global diversity and geography of soil fungi. **Science**, v. 346, n. 6213, p. 1052–1053, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.aaa1185>>. .
- TORRES, R. R.; LAPOLA, D. M.; GAMARRA, N. L. R. Future Climate Change in the Caatinga. **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**. p.383–410, 2017. Springer.
- VACHER, C.; HAMPE, A.; PORTÉ, A. J.; et al. The Phyllosphere: Microbial Jungle at the Plant–Climate Interface. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 2016.
- VALENTE, P.; BOEKHOUT, T.; LANDELL, M. F.; et al. Bandoniozyma gen. nov., a Genus of Fermentative and Non-Fermentative Tremellaceous Yeast Species. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 2012.
- VORHOLT, J. A. Microbial life in the phyllosphere. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, p. 828–840, 2012.
- VU, D.; GROENEWALD, M.; SZÖKE, S.; et al. DNA barcoding analysis of more than 9 000 yeast isolates contributes to quantitative thresholds for yeast species and genera delimitation. **Studies in mycology**, v. 85, p. 91–105, 2016. Elsevier.
- WANG, K.; SIPILÄ, T. P.; OVERMYER, K. The isolation and characterization of resident yeasts from the phylloplane of *Arabidopsis thaliana*. , 2016. Disponível em: <[www.nature.com/scientificreports](http://www.nature.com/scientificreports)>. .
- WOLOWSKI, M.; FREITAS, L. An overview on pollination of the Neotropical Poales. **Rodriguésia**, v. 66, n. 2, p. 329–336, 2015.

## 10. ANEXOS

Tabela suplementar 1. Dados completo das leveduras isolados nesse estudo.

Filo	Subfilo	ID do isolado	Identificação molecular	Substrato	ID da amostras	Hospedeiro	Hábito do hospedeiro	Data da coleta	Local de coleta
Ascomycota	Pezizomycotina	BRT29	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-13	Tocaia
		BMA40	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
		BMA94	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
		BMA101	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Flor	BMA.2 02	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
		BMA115	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
		BMA118	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
		BMA141	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
		BMA208	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA209	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA220	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA229	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA230	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA235	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 08	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA237	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 08	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA238	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA239	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA248	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 12	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA250	<i>Aureobasidium melanogenum</i>	Folha	BMA.3 12	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA119	<i>Aureobasidium namibiae</i>	Folha	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
		BMA219	<i>Aureobasidium namibiae</i>	Flor	BMA.3 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA227	<i>Aureobasidium namibiae</i>	Folha	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA96	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Folha	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
		BMA138	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Folha	BMA.2 11	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
		BRT30	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-13	Tocaia
		BMA48	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
		BRT174	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
		BRT183	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.2 07	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
		BRT186	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
		BRT199	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epífita	ago-16	Tocaia
		BMA217	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Flor	BMA.3 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA223	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
		BMA271	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BMA.3 06	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara

	BMA273	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
	BRT279	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.3 02	<i>Bromelia karatas</i>	Terrícola	set-17	Tocaia
	BRT283	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
	BRT289	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.3 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Saxícola	set-17	Tocaia
	BRT294	<i>Aureobasidium thailandense</i>	Folha	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
	BRT13	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 1	Folha	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
	BRT277	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 2	Folha	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrícola	set-17	Tocaia
	BRT304	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 2	Folha	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrícola	set-17	Tocaia
	BRT18	<i>Exophiala spinifera</i>	Folha	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	set-13	Tocaia
	BMA266	<i>Hormonema</i> sp. nov.	Folha	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epífita	abr-17	Caiçara
<b>Saccharomycotina</b>								
	BMA135	<i>Candida orthopsilosis</i>	Folha	BMA.2 11	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
	BRT281	<i>Candida</i> sp. nov.	Folha	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
	BRT162	<i>Clavispora</i> sp. nov.	Fruto	BRT.2 02	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
	BRT164	<i>Clavispora</i> sp. nov.	Fruto	BRT.2 02	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
	BRT182	<i>Clavispora</i> sp. nov.	Folha	BRT.2 06	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
	BRT27	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	Flor	BRT.1 10	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
	BMA100	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	Flor	BMA.2 02	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
	BRT189	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	Fruto	BRT.2 09	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
	BRT196	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	Flor	BRT.2 12	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Caiçara
	BMA207	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	Fruto	BMA.3 02	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	abr-17	Caiçara
	BMA226	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	Folha	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
<b>Basidiomycota</b>								
<b>Agaricomycotina</b>								
	BRT317	<i>Carcinomyces nordestinensis</i>	Folha	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
	BRT303	<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 1	Folha	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrícola	set-17	Tocaia
	BRT305	<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 2	Folha	BRT.3 02	<i>Bromelia karatas</i>	Terrícola	set-17	Tocaia
	BRT195	<i>Dioszegia</i> sp. nov.	Folha	BRT.2 11	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
	BRT05	<i>Fellomyces penicillatus</i>	Folha	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	set-13	Tocaia
	BRT181	<i>Filobasidium</i> sp. nov.	Folha	BRT.2 06	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
	BRT36	<i>Goffeauzyma</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 12	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
	BRT37	<i>Goffeauzyma</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 12	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
	BMA153	<i>Hannaella kunmingensis</i>	Folha	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
	BMA206	<i>Hannaella kunmingensis</i>	Folha	BMA.3 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	abr-17	Caiçara
	BMA60	<i>Hannaella luteola</i>	Folha	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
	BMA114	<i>Hannaella pagnoccae</i>	Folha	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
	BMA211	<i>Hannaella pagnoccae</i>	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
	BMA72	<i>Hannaella siamensis</i>	Folha	BMA.1 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
	BRT185	<i>Hannaella siamensis</i>	Folha	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
	BRT171	<i>Hannaella sinensis</i>	Folha	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia

BRT176	<i>Hannaella sinensis</i>	Folha	BRT.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	ago-16	Tocaia
BRT197	<i>Hannaella sinensis</i>	Folha	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epífita	ago-16	Tocaia
BMA236	<i>Hannaella sinensis</i>	Folha	BMA.3 08	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BRT293	<i>Hannaella sinensis</i>	Folha	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
BRT161	<i>Hannaella</i> sp. 1	Folha	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT16	<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	Folha	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
BRT282	<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	Folha	BRT.3 03	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
BRT290	<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	Folha	BRT.3 07	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
BRT155	<i>Hannaella</i> sp. nov. 2	Folha	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT158	<i>Hannaella</i> sp. nov. 3	Folha	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
BMA269	<i>Hannaella</i> sp. nov. 3	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BRT156	<i>Kwoniella dejecticola</i>	Folha	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT160	<i>Kwoniella dejecticola</i>	Folha	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT163	<i>Kwoniella dejecticola</i>	Fruto	BRT.2 02	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT172	<i>Naematelia</i> sp. nov.	Folha	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT06	<i>Papiliotrema flavescens</i>	Folha	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	set-13	Tocaia
BRT296	<i>Papiliotrema flavescens</i>	Folha	BRT.3 10	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Terrícola	set-17	Tocaia
BRT298	<i>Papiliotrema flavescens</i>	Folha	BRT.3 11	Bromeliaceae sp.	Saxícola	set-17	Tocaia
BMA228	<i>Papiliotrema hoabinhensis</i>	Folha	BMA.3 06	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BRT08	<i>Papiliotrema laurentii</i>	Folha	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	set-13	Tocaia
BRT10	<i>Papiliotrema laurentii</i>	Folha	BRT.1 04	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
BRT175	<i>Papiliotrema laurentii</i>	Folha	BRT.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	ago-16	Tocaia
BRT194	<i>Papiliotrema laurentii</i>	Folha	BRT.2 11	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT292	<i>Papiliotrema laurentii</i>	Folha	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
BRT04	<i>Papiliotrema leoncinii</i>	Folha	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	set-13	Tocaia
BRT09	<i>Papiliotrema leoncinii</i>	Folha	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	set-13	Tocaia
BMA107	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	Folha	BMA.2 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA148	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	Folha	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT157	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	Folha	BRT.2 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Tocaia
BMA241	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	Folha	BMA.3 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA244	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	Folha	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA245	<i>Papiliotrema mangalensis</i>	Folha	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epífita	abr-17	Caiçara
BMA224	<i>Papiliotrema nemorosus</i>	Folha	BMA.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA139	<i>Papiliotrema rajasthanensis</i>	Folha	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT192	<i>Papiliotrema siamense</i>	Folha	BRT.2 10	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	ago-16	Tocaia
BMA134	<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 1	Folha	BMA.2 11	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT200	<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 2	Folha	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epífita	ago-16	Tocaia
BRT291	<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 3	Folha	BRT.3 07	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
BMA46	<i>Piskurozyma taiwanensis</i>	Folha	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA76	<i>Saitozyma flava</i>	Folha	BMA.1 06	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara

BRT12	<i>Tremella</i> sp. nov. 1	Folha	BRT.1 04	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Toçaia
BRT178	<i>Tremella</i> sp. nov. 2	Folha	BRT.2 05	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Toçaia
BRT278	<i>Tremella</i> sp. nov. 3	Folha	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrícola	set-17	Toçaia
BRT280	<i>Tremella</i> sp. nov. 4	Folha	BRT.3 02	<i>Bromelia karatas</i>	Terrícola	set-17	Toçaia
BRT21	<i>Trimorphomyces sakaeratica</i>	Folha	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	set-13	Toçaia
BRT01	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	set-13	Toçaia
BRT25	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BRT.1 09	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Toçaia
BRT38	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BRT.1 12	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Toçaia
BMA44	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA99	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Flor	BMA.2 02	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA103	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.2 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA104	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.2 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA113	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA131	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA133	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA150	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.2 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT166	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Fruto	BRT.2 02	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Toçaia
BRT168	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Toçaia
BRT179	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BRT.2 05	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Toçaia
BRT187	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Toçaia
BRT191	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Fruto	BRT.2 09	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Toçaia
BMA212	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA214	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Flor	BMA.3 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA231	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA261	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA268	<i>Vishniacozyma alagoana</i>	Folha	BMA.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrícola	abr-17	Caiçara
<b>Pucciniomycotina</b>							
BRT307	<i>Colacogloea</i> sp. nov. 1	Fruto	BRT.3 04	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Toçaia
BRT308	<i>Colacogloea</i> sp. nov. 2	Fruto	BRT.3 04	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Toçaia
BMA86	<i>Curvibasidium pallidicorallinum</i>	Folha	BMA.1 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BRT11	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	Folha	BRT.1 04	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Toçaia
BMA59	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	Folha	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA66	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	Folha	BMA.1 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA78	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	Folha	BMA.1 06	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA242	<i>Cystobasidium keelungensis</i>	Folha	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA61	<i>Cystobasidium minutum</i>	Folha	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA65	<i>Cystobasidium minutum</i>	Folha	BMA.1 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BRT203	<i>Cystobasidium minutum</i>	Folha	BRT.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	ago-16	Toçaia
BMA88	<i>Cystobasidium</i> sp. nov.	Folha	BMA.1 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BRT188	<i>Erythrobasidium hasegawianum</i>	Folha	BRT.2 08	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Toçaia



BRT35	<i>Erythrobasidium</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-13	Tocaia
BRT170	<i>Erythrobasidium</i> sp. nov.	Folha	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT17	<i>Hasegawazyma</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
BRT309	<i>Microsporomyces</i> sp. nov.	Folha	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
BMA58	<i>Occultifur externus</i>	Folha	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA142	<i>Occultifur plantarum</i>	Folha	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA154	<i>Occultifur plantarum</i>	Folha	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA233	<i>Occultifur plantarum</i>	Folha	BMA.3 08	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BRT02	<i>Occultifur</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	set-13	Tocaia
BMA95	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.	Folha	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA112	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.	Folha	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT03	<i>Rhodosporidiobolus poonsookiae</i>	Folha	BRT.1 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	set-13	Tocaia
BMA39	<i>Rhodosporidiobolus poonsookiae</i>	Folha	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA54	<i>Rhodosporidiobolus poonsookiae</i>	Folha	BMA.1 02	Bromeliaceae sp.	Epífita	abr-14	Caiçara
BMA56	<i>Rhodosporidiobolus poonsookiae</i>	Folha	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BRT276	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Folha	BRT.3 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	set-17	Tocaia
BRT297	<i>Rhodotorula</i> sp. nov.	Folha	BRT.3 10	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Terrícola	set-17	Tocaia
BRT14	<i>Sporobolomyces</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 05	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Tocaia
BRT34	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-13	Tocaia
BMA43	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA50	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.1 02	Bromeliaceae sp.	Epífita	abr-14	Caiçara
BMA83	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA84	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA97	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.2 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA151	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT180	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BRT.2 05	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Tocaia
BRT198	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epífita	ago-16	Tocaia
BMA205	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.3 01	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	abr-17	Caiçara
BMA210	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA232	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.3 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA240	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.3 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA246	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epífita	abr-17	Caiçara
BMA249	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.3 12	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA267	<i>Symmetrospora marina</i>	Folha	BMA.3 11	Bromeliaceae sp.	Epífita	abr-17	Caiçara
BRT33	<i>Symmetrospora suhii</i>	Folha	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-13	Tocaia
BMA145	<i>Symmetrospora suhii</i>	Folha	BMA.2 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA265	<i>Symmetrospora suhii</i>	Folha	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BRT285	<i>Symmetrospora suhii</i>	Fruto	BRT.3 04	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Tocaia
BRT300	<i>Symmetrospora suhii</i>	Folha	BRT.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrícola	set-17	Tocaia

**Ustilaginomycotina**

BRT169	<i>Anthracozystis elionuri</i>	Folha	BRT.2 03	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Toçaia
BRT184	<i>Anthracozystis elionuri</i>	Folha	BRT.2 07	Bromeliaceae sp.	Terrícola	ago-16	Toçaia
BMA116	<i>Kalmanozyma brasiliensis</i>	Folha	BMA.2 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT22	<i>Kordyana</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	set-13	Toçaia
BMA91	<i>Meira argovae</i>	Folha	BMA.1 08	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA98	<i>Meira argovae</i>	Folha	BMA.2 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA106	<i>Meira argovae</i>	Folha	BMA.2 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA42	<i>Meira miltonrushii</i>	Folha	BMA.1 01	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA64	<i>Meira miltonrushii</i>	Folha	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA132	<i>Meira miltonrushii</i>	Folha	BMA.2 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA143	<i>Meira miltonrushii</i>	Folha	BMA.2 02	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT202	<i>Meira miltonrushii</i>	Folha	BRT.2 13	Bromeliaceae sp.	Epífita	ago-16	Toçaia
BRT32	<i>Meira</i> sp. nov.	Folha	BRT.1 11	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-13	Toçaia
BMA85	<i>Microstroma</i> sp. nov.	Folha	BMA.1 07	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA108	<i>Moesziomyces aphidis</i>	Folha	BMA.2 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BMA57	<i>Moesziomyces haphidis</i>	Folha	BMA.1 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BRT23	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	Folha	BRT.1 08	<i>Bromelia laciniosa</i>	Saxícola	set-13	Toçaia
BMA69	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	Folha	BMA.1 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA74	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	Folha	BMA.1 05	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA77	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	Folha	BMA.1 06	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA87	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	Folha	BMA.1 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-14	Caiçara
BMA140	<i>Pseudozyma hubeiensis</i>	Folha	BMA.2 09	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-16	Caiçara
BRT24	<i>Pseudozyma tsukubaensis</i>	Folha	BRT.1 09	<i>Hohenbergia</i> sp. 1	Saxícola	set-13	Toçaia
BRT310	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	Folha	BRT.3 08	<i>Encholirium spectabile</i>	Saxícola	set-17	Toçaia
BRT313	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	Folha	BRT.3 10	<i>Hohenbergia</i> sp. 2	Terrícola	set-17	Toçaia
BMA254	<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i>	Folha	BMA.3 01	Bromeliaceae sp.	Terrícola	abr-17	Caiçara
BMA255	<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i>	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA274	<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i>	Folha	BMA.3 10	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BRT165	<i>Ustilago spermophora</i>	Fruto	BRT.2 02	<i>Bromelia antiacantha</i>	Terrícola	ago-16	Toçaia
BMA270	<i>Zymoseptoria tritici</i>	Folha	BMA.3 03	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara

**Sem identificação**

BMA215	Sem identificação	Flor	BMA.3 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BMA256	Sem identificação	Flor	BMA.3 04	Bromeliaceae sp.	Saxícola	abr-17	Caiçara
BRT286	Sem identificação	Fruto	BRT.3 04	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Toçaia
BRT287	Sem identificação	Fruto	BRT.3 04	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Toçaia
BRT316	Sem identificação	Fruto	BRT.3 04	<i>Bromelia antiacantha</i>	Saxícola	set-17	Toçaia

**Tabela suplementar 2.** Lista dos isolados que são possíveis espécies não descritas, número de depósito no *GenBank* e coleções.

Filo	Subfilo	ID do isolado	Identificação molecular	Código em coleção de cultura		Código no GenBank		
				**CBS	*UFMG	D1D2	ITS	
Ascomycota	Pezizomycotina	BRT13	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 1			MH908995		
		BRT277	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 2		UFMG-CM-Y6465	MT756598		
		BRT304	<i>Chaetosphaeria</i> sp. nov. 2			MH909018		
		BMA266	<i>Hormonema</i> sp. nov.			MT756590		
	Saccharomycotina	BRT281	<i>Candida</i> sp. nov.			MT756601		
		BRT164	<i>Clavispora</i> sp. nov.					
		BRT182	<i>Clavispora</i> sp. nov.	CBS 15967	UFMG-CM-Y6463	MH909006	MH887437	
	Basidiomycota	Agaricomycotina	BRT303	<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 1			MH909017	
			BRT305	<i>Carlosrosaea</i> sp. nov. 2			MH909019	
			BRT195	<i>Dioszegia</i> sp. nov.			MH909009	
BRT181			<i>Filobasidium</i> sp. nov.			MT756513		
BRT36			<i>Goffeauzyma</i> sp. nov.			KM043883	MH887408	
BRT37			<i>Goffeauzyma</i> sp. nov.			MH908999		
BRT161			<i>Hannaella</i> sp. 1					
BRT16			<i>Hannaella</i> sp. nov. 1			MT756530		
BRT282			<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	CBS 15976	UFMG-CM-Y6461	MH909012		
BRT290			<i>Hannaella</i> sp. nov. 1	CBS 15978	UFMG-CM-Y6460	MH909014		
BRT155			<i>Hannaella</i> sp. nov. 2	CBS 15961	UFMG-CM-Y6440	MT756501		
BRT158			<i>Hannaella</i> sp. nov. 3			MT756504		
BMA269			<i>Hannaella</i> sp. nov. 3			MT756592		
BRT172			<i>Naematelia</i> sp. nov.			MH909003		
BMA134			<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 1			MH908982		
BRT200			<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 2	CBS 15969	UFMG-CM-Y6468	MH909010		
BRT291			<i>Papiliotrema</i> sp. nov. 3			MH909015		
BRT12			<i>Tremella</i> sp. nov. 1			MT756529	MH884916	
BRT178			<i>Tremella</i> sp. nov. 2	CBS 15965	UFMG-CM-Y6466	MT756511		
BRT278			<i>Tremella</i> sp. nov. 3			MH909011		
BRT280	<i>Tremella</i> sp. nov. 4			MT756600				

**Pucciniomycotina**

BRT307	<i>Colacogloea</i> sp. nov. 1	CBS 15981		MH909020	
BRT308	<i>Colacogloea</i> sp. nov. 2			MH909021	
BMA88	<i>Cystobasidium</i> sp. nov.	CBS 15954	UFMG-CM-Y6452	MH908977	
BRT35	<i>Erythrobasidium</i> sp. nov.			MT756540	
BRT170	<i>Erythrobasidium</i> sp. nov.	CBS 15964		MH909002	MH885312
BRT17	<i>Hasegawazyma</i> sp. nov.			MT756531	
BRT309	<i>Microsporomyces</i> sp. nov.			MT756609	
BRT02	<i>Occultifur</i> sp. nov.	CBS 14577	UFMG-CM-Y6285	MH908993	
BMA95	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.	CBS 15955	UFMG-CM-Y6454	MH908978	
BMA112	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.			MH908979	
BRT297	<i>Rhodotorula</i> sp. nov.			MT756607	
BRT14	<i>Sporobolomyces</i> sp. nov.	CBS 14565	UFMG-CM-Y6286	KM043881	MH890523

**Ustilaginomycotina**

BRT22	<i>Kordyana</i> sp. nov.			MH908997	
BRT32	<i>Meira</i> sp. nov.		UFMG-CM-Y384	KM043882	MH885044
BMA85	<i>Microstroma</i> sp. nov.	CBS 15953	UFMG-CM-Y6436	MH908976	

\*Coleção de Micro-organismos e Células da Universidade Federal de Minas Gerais - ICB, \*\*CBS Database - Westerdijk Fungal Biodiversity Institute