



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

DAYSE ALESSANDRA ANDRADE DA SILVA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS ASSOCIADAS A FILOSFERA
DE BROMÉLIAS DA CAATINGA**

Maceió,

2020

DAYSE ALESSANDRA ANDRADE DA SILVA

**POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS ASSOCIADAS A FILOSFERA
DE BROMÉLIAS DA CAATINGA**

Trabalho de Conclusão de curso (TCC)
do curso de Ciências Biológicas –
Bacharelado da Universidade Federal de
Alagoas, como requisito para conclusão
do curso. Orientadora: Prof^a. Dr^a
Melissa Fontes Landell.

Maceió,

2020

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

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

S586p Silva, Dayse Alessandra Andrade da.
Potencial biotecnológico de leveduras associadas a filosfera de
bromélias da caatinga / Dayse Alessandra Andrade da Silva. – 2020.
65 f. : il., figs., grafs. e tabs. color.

Orientadora: Melissa Fontes Landell.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências
Biológicas: Bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas.
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 45-56.
Anexos: f. 57-65.

1. Caatinga. 2. Bromélias. 3. Leveduras. 4. Biotecnologia. 5.
Enzimas extracelulares. I. Título.

CDU: 582

AGRADECIMENTOS

A minha família pelo suporte, amor e torcida em toda minha vida.

Agradeço a minha vó Marina (in memoriam) por ser a minha mãe. Por estar à frente de seu tempo, pelo cuidado, amor, histórias e por ter a conhecido nesta vida.

Agradeço a minha mãe, minha heroína nesta vida, a pessoa que me apoio e me dar amor em todos os momentos e pela bondade.

Agradeço aos meus irmãos, David e Davisson, por me apoiarem e me lembrarem do que a vida é feita e por me aguentarem em todos os meus momentos difíceis.

Agradeço a minha Tia Ana, pelo amor, comidas incríveis que me fazem alimentar não só o corpo, mas sim a alma. Agradeço a minha prima Mariana por todos os conselhos, e amizade de irmã.

Agradeço aqueles que mesmo não tendo um laço sanguíneo, são parte da minha família, e que me fazem ser melhor a cada dia.

Agradeço ao João Victor por todo amor, companheirismo e amizade nestes últimos anos e acima de tudo, por acreditar em cada sonho em nossas vidas.

Agradeço a Simone, que temos uma conexão de outro lugar, minha amiga, mãe e um laço que nem conseguimos explicar que se estende desde outras vidas.

Agradeço a família do Laboratório de Diversidade Molecular, pelo acolhimento, ensinamentos, conselhos, apoio e acima de tudo amor e por encontrado pessoas boas e acolhedoras.

Agradeço a minha orientadora, Melissa Landell pelos ensinamentos, por mostrar a importância de cada tarefa que fazemos, seja no laboratório ou na vida. Pelos conselhos e apoio, pela paciência em me orientar, ensinar e cuidar e pelas broncas. E por permitir assistir a suas aulas de Biotecnologia e ir a visitas técnicas.

Agradeço a meu amigo, Maurício Casanova por não desistir de se comunicar comigo, mesmo as vezes eu não o entendendo. Pelos seus ensinamentos e apoio.

Agradeço a meu amigo, Ciro Félix pelo amor fraternal e pelas broncas que não pareciam ser propriamente broncas, mas que me ensinavam muito e pelas aulas (ensinamentos) suas que pude assistir. E pelo cuidado, suporte e ajuda na execução deste trabalho, que foram imprescindíveis.

Agradeço a James Henrique, meu amigo, pelos momentos de parceria no laboratório e na vida. Por me levar ao hospital quando precisei (exceto os memes), e por estar presente em minha vida e cuidar das minhas plantinhas quando viajei.

Agradeço a Gustavo Paulino, pelos ensinamentos, cuidado e apoio durante esta jornada, pelas aulas que pude assistir, por mostrar a simplicidade das coisas e por aceitar avaliar este trabalho.

Agradeço a Sibelle Aldeman, por ser uma amiga, pelo apoio nos momentos que mais precisei, pelo amor, cuidado e atenção. E pelo cuidado com as minhas plantinhas.

Agradeço aos colegas que conheci através dos laboratórios LDM e LAPEVI que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação.

Agradeço aos amigos e colegas de graduação durante esses anos.

Agradeço a minha amiga Alderis (Alberis) pelo amor, por apresentar Júpiter em minha vida e por ser a pessoa otimista com a vida e transmitir alegria quando está por perto.

Agradeço a todos professores, mestres que contribuíram para uma formação crítica e que levo para minha vida.

Agradeço aos professores, Ênio José Bassi, Francisco Javier Tovar por acreditarem no meu potencial.

Agradeço ao Professor Olagide, por conhecer sua história e o poder admirar mais. Por acreditar em uma menina que faz milhões de perguntas. Pelo apoio, incentivo e ensinamentos.

Agradeço a banca de avaliação deste trabalho por aceitarem, Profº. Drº Hugo Juarez Viera Pereira e M.e Gustavo Vasconcelos Bastos Paulino.

Agradeço aos órgãos de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Alagoas – FAPEAL e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico - CNPq.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho, não conseguirei expressar toda a minha gratidão.

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS ASSOCIADAS A FILOSFERA DE BROMÉLIAS DA CAATINGA

Autor: Dayse Alessandra Andrade da Silva

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Melissa Fontes Landell

RESUMO

A Caatinga possui um patrimônio biológico singular, bioma exclusivamente brasileiro e com alto grau de endemismos, sendo, porém, um ambiente cientificamente subexplorado. Dentre a sua vegetação, destaca-se a família Bromeliaceae. As plantas dessa família possuem diversas associações com outros organismos, inclusive com micro-organismos, como por exemplo, as leveduras. As leveduras possuem grande interesse biotecnológico para produção de enzimas extracelulares, por estas serem produzidas em menor tempo de geração celular e possuírem maior estabilidade nos processos industriais do que as enzimas produzidas por plantas e animais. Portanto, as enzimas produzidas por leveduras são uma demanda crescente e vantajosa nos processos industriais. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo testar linhagens de leveduras para a produção de enzimas extracelulares (amilase, caseinase, celulase, esterase, lipase e pectinase) isoladas da filosfera (folhas, frutos e flores) de bromélias de dois locais da Caatinga alagoana: Reserva Particular do Patrimônio Natural-Tocaia no município de Santana de Ipanema e na Serra Caiçara no município de Maravilha, Alagoas. As leveduras fazem parte da micoteca do Laboratório de Diversidade Molecular – LDM da Universidade Federal de Alagoas. Para os testes de produção enzimática, as leveduras foram cultivadas em Ágar YEPD por 48 horas a 22-25 °C. Posteriormente, foram semeadas nos meios de cultura com os respectivos substratos enzimáticos e incubadas por 7 dias a 22-25 °C. Após este período, as atividades enzimáticas foram analisadas semiquantitativamente através de halos de degradação do substrato. Neste estudo, dos isolados de folhas (n = 213), 195 foram testados para a enzima amilase, 166 para caseinase, 186 para celulase, 197 para esterase e 153 para pectinase. Para lipase, testou-se os isolados positivos para esterase (n = 42). Todos os isolados de flores (n = 13) foram testados para a produção de amilase e esterase, 12 para celulase e 7 isolados foram testados para caseinase e pectinase. Todos os isolados de frutos (n = 13) foram testados para amilase, 12 foram avaliados para a produção de celulase e esterase, 8 foram testados para caseinase, e 6 isolados para pectinase. Nenhum isolado de flores e frutos foi testado para lipase. Entre os todos os isolados testados (n = 239), 58,5% (n = 140) apresentaram produção forte (++) para pelo menos uma enzima. As enzimas extracelulares mais produzidas em porcentagem foram: lipase (95,2%) seguida de esterase (57,3%), caseinase (36,4%), amilase (34,3%), celulase (31,9%) e pectinase (9,6%). As linhagens de leveduras melhores produtoras foram *Rhodospiridiobolus poonsookiae* (BMA 56), *Pseudozyma hubeiensis* (BMA 69), *Symmetrospora marina* (BMA 83), não identificada (BMA 90), *Aureobasidium melanogenum* (BMA 94), *Phenoliferia* sp. nov (BMA 95) e *Aureobasidium pullulans* (BMA96). Com isto, pode-se concluir que leveduras associadas a filosfera de bromélias da Caatinga apresentam um grande potencial biotecnológico para produção de enzimas extracelulares interessantes industrialmente, considerando que leveduras adaptadas ao semiárido nordestino, passam por condições variáveis e estressantes e possivelmente apresentam uma alta plasticidade para se estabelecerem no ambiente e possuírem características únicas e úteis para aplicabilidade na biotecnologia branca.

Palavras-chave: Semiárido nordestino. Leveduras. Enzimas extracelulares

BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF YEASTS ASSOCIATED WITH THE PHYLLOSPHERE OF CAATINGA BROMELIADS

Author: Dayse Alessandra Andrade da Silva

Advisor: Prof^a. Dr^a. Melissa Fontes Landell

ABSTRACT

The Caatinga has a diversified biological heritage, an exclusively Brazilian biome with a high degree of endemisms, but it is a scientifically under-explored environment. Among its vegetation, the Bromeliaceae family attract attention. The plants of this family has several associations with other organisms, including microorganisms, such as yeasts. Yeasts are of great biotechnological interest for the production of extracellular enzymes, as they are produced in a shorter time of cell generation and have greater stability in industrial processes than the enzymes produced by plants and animals. Therefore, enzymes produced by yeasts are a growing and advantageous demand in the industrial processes. Therefore, the present work aimed to test yeast strains for the producing of extracellular enzymes (amylase, caseinase, cellulase, esterase, lipase, pectinase) isolated from phyllosphere (leaves, fruits and flowers) of bromeliads from two locations in the Caatinga of Alagoas: Reserva Private Natural Heritage-Tocaia in the municipality of Santana de Ipanema and Serra Caiçara in the municipality of Maravilha, Alagoas. The yeasts are part of library of the Molecular Diversity Laboratory – LDM of the Federal University of Alagoas. For enzymatic production tests, yeasts were grown on YEPD-Agar for 48 hours at 22-25°C. Subsequently, they were sown in the culture media with the respective enzymatic substrates and incubated for 7 days at 22-25 °C. After this period, the enzymatic activities were analyzed semi-quantitatively through halos of substrate degradation. In this study, leaf isolates (n = 213), 195 were tested for the enzyme amylase, 166 for caseinase, 186 for cellulase, 197 for esterase and 153 for pectinase. For lipase, isolates positive for esterase were tested (n = 42). All flower isolates (n = 13) were tested for amylase and esterase production, 12 for cellulase and 7 isolates were tested for caseinase and pectinase. All fruit isolates (n = 13) were tested for amylase, 12 were evaluated for cellulase and esterase production, 8 were tested for caseinase, and 6 for pectinase. No isolates from flowers and fruits have been tested for lipase. Among the all isolates tested (239), 58.5% (n = 140) showed strong production (++) for at least one enzyme. The most produced extracellular enzymes in percentage were: lipase (95.2%) followed by esterase (57.3%), caseinase (36.4%), amylase (34.3%), cellulase (31.9%) and pectinase (9.6%). The best producing yeast strains were *Rhodospiridiobolus poonsookiae* (BMA 56), *Pseudozyma hubeiensis* (BMA 69), *Symmetrospora marina* (BMA 83), unidentified (BMA 90), *Aureobasidium melanogenum* (BMA 94), *Phenoliferia* sp. nov (BMA 95) and *Aureobasidium pullulans* (BMA96). With this, it can be concluded that yeasts associated with the Caatinga bromeliad phyllosphere have a great biotechnological potential for the production of interesting extracellular enzymes industrially, considering that yeasts adapted to the northeastern semiarid, undergo variable and stressful conditions and possibly have a high plasticity for settle in the environment and have unique and useful characteristics for applicability in white biotechnology.

KEYWORDS: Northeastern semiarid. Yeasts. Extracellular enzymes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa mostrando a localização da Caatinga (cinza) que compreende os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe e norte de Minas Gerais	14
Figura 2: Vegetação da Caatinga: A, B e C referem-se à áreas florestais, enquanto D e E referem-se à vegetação arbustiva dominada pelas espécies Cactaceae e Bromeliaceae e F espécie de Euphorbiaceae. Fotos de Inara Leal e Maria de Fátima de Araujo Lucena.....	15
Figura 3: Representação de uma célula de levedura.....	18
Figura 4: Divisão da planta: filosfera (folha, fruto, flor) e rizosfera.....	20
Figura 5: Localização das áreas de coleta: Serra Caiçara e Reserva do Patrimônio Particular Tocaia - Caatinga alagoana.....	32
Figura 6: Visualização da atividade enzimática de leveduras isoladas de bromélias da Caatinga alagoana por meio dos halos de hidrólise. A- Amilase, B- Caseinase, C- Celulase, D- Esterase, E- Lipase, F- Pectinase.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Formas de vida e tipos ecofisiológicos de Bromeliaceae.....	17
Tabela 2: Habitats naturais das leveduras.....	19
Tabela 3: Produtos modificados e suas linhas de leveduras.....	22
Tabela 4: Seguindo o Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (NC-IUBMB) a tabela de classificação internacional das enzimas.....	24
Tabela 5: Aplicações de enzimas oriundas de diferentes fontes.....	27
Tabela 6: Principais diferenças entre esterase e lipase	30
Tabela 7: Linhagens de leveduras que obtiveram produção de 4 ou mais enzimas extracelulares e representam os melhores resultados	39
Tabela 8: Comparação da produção enzimática da Caatinga alagoana com outros estudos....	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Quantidade de isolados que foram capazes de produzir pelo menos 1, 2, 3 ou ≥ 4 enzimas com seus respectivos percentuais.....	37
Gráfico 2: Número de linhagens de leveduras produtoras de cada enzima extracelular analisada.....	37
Gráfico 3: Porcentagem de enzimas extracelulares mais produzidas (%) pelas leveduras obtidas a partir de amostras de bromélias da Caatinga alagoana.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

APA: Área de Proteção Ambiental

BG: β -glicosidases

BLAST: *Basic Local Alignment Search Tool*

BMA: Bromélia Maravilha

BRT: Bromélia Reserva Tocaia

CBH: Celobiohidrolase

CC: Carbono-Carbono

CMCases: Carboximetil celulases

CN: Carbono-Nitrogênio

CO: Carbono-Oxigênio

D1/D2: Região da subunidade grande do rDNA

DNA: Ácido desoxirribonucleico

E.C.: *Enzyme Commission*

EnG: Endoglucanases

ExG: Exoglucanases

GH: Glucano-hidrolase

GRAS: Generally recognized as safe

GP: Graus de polimerização

ICBS: Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

IMA-AL: Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas

ITS: *Internal Transcribed Spacer*

LDM: Laboratório de Diversidade Molecular

NC-IUBMB: Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular

rDNA: Ácido desoxirribonucleico ribossômico

RPPN- T: Reserva Particular do Patrimônio Natural -Tocaia

rpm: rotações por minuto

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

UC: Unidades de Conservação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVO.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1 Caatinga.....	14
3.2 Bromélias.....	16
3.3 Leveduras.....	17
3.3.1 Diversidade de leveduras.....	18
3.3.2 Leveduras associadas a filosfera de plantas.....	19
3.4 Biotecnologia	21
3.5 Enzimas.....	23
3.5.1 Enzimas microbianas.....	24
3.5.2 Amilases.....	28
3.5.3 Celulases.....	28
3.5.4 Esterases e lipases.....	29
3.5.5 Pectinases.....	30
3.5.6 Proteaseses.....	31
4. METODOLOGIA.....	32
4.1 Local de coleta das bromélias.....	32
4.2 Obtenção das leveduras a partir da micoteca do Laboratório de Diversidade Molecular.....	32
4.3 Perfil Enzimático.....	33
4.3.1 Produção de amilase.....	33
4.3.2 Produção de caseinase.....	33
4.3.3 Produção de celulase.....	34
4.3.4 Produção de esterase.....	34
4.3.5 Produção de lipase.....	34
4.3.6 Produção de pectinase.....	34
5. RESULTADOS.....	36
6. DISCUSSÃO.....	40
7. CONCLUSÕES.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
ANEXOS.....	57

1. INTRODUÇÃO

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro (MORO *et al.*, 2016), com um patrimônio biológico diversificado e o celeiro de muitas espécies endêmicas. Este bioma apresenta características peculiares em relação a outros no Brasil. Entre eles, e talvez o mais marcante, está o regime pluviométrico, onde cerca de 70% pode se concentrar em três meses consecutivos ao longo do ano (NIMER, 1972), sendo que em algumas regiões os períodos de seca podem chegar a 11 meses (PRADO, 2003). Essa característica define a região como *sui generis* (NIMER, 1972). Possui também um imenso potencial para a conservação de serviços ambientais, uso sustentável e bioprospecção (MMA, 2018). Sua paisagem é dominada por uma vegetação arbustiva, ramificada e espinhosa, com predominância das famílias Cactaceae, Euphorbiaceae e Bromeliaceae (LEAL *et al.*, 2005).

As bromélias são plantas endêmicas de regiões neotropicais, com exceção de uma espécie localizada no Golfo de Guiné, África. São plantas que apresentam alta plasticidade, podendo ser encontradas desde regiões úmidas até regiões semiáridas como a Caatinga (BENZING, 2000). Apresentam diversas modificações morfológicas, dentre elas a disposição de suas folhas em rosetas que propiciam o acúmulo de água e material orgânico que torna um ambiente adequado para muitas espécies de vertebrados, invertebrados e micro-organismos (BENZING, 2000) o que pode ser importante em um ambiente semiárido, onde há irregularidade de chuvas.

A colonização das plantas por micro-organismos pode ocorrer em diversas estruturas, por exemplo, a filosfera (interface folhas atmosfera) pode ser colonizada por micro-organismos epifíticos (LINDOW; BRANDL, 2003). Sabe-se que a filosfera, possui uma comunidade microbiana diversa, incluindo leveduras (LINDOW; BRANDL, 2003). Leveduras são micro-organismos pertencentes ao reino *Fungi*, que possuem características semelhantes aos fungos filamentosos, entretanto, diferenciam-se destes pela manutenção do fenótipo predominantemente unicelular. Elas são amplamente distribuídas no planeta e estão presentes em múltiplos nichos e ambientes, desde ambientes úmidos até ecossistemas semiáridos como a Caatinga (FÉLIX, 2019; NAVARRO, 2018; SALGADO *et al.*, 2020; TSUJI; KUDOH, 2020).

A exploração do potencial biotecnológico microbiano vem crescendo e tornou-se uma ferramenta importante para nossa sociedade. Produtos microbianos úteis à sociedade (e.g. enzimas) são uma alternativa potencial para solucionar problemas modernos, como questões ambientais (e.g., poluição) através da biorremediação e produção de biodiesel tornando o

processo ecologicamente mais limpo (EMBRAPA, 2020) e produção de detergentes mais eficientes. Assim, a diversidade de micro-organismos mostra-se promissora na resolução destas questões, devido à possibilidade de encontrar micro-organismos com diferentes características e alta plasticidade nos ambientes com condições estressantes e variáveis. Além disso, os produtos provenientes de micro-organismos possuem a vantagem de serem aceitos com maior facilidade, por serem considerados naturais, e os catalisadores biológicos possuem uma especificidade alta pelo substrato e habilidade catalítica, podendo ser chamados de especialistas no seu sítio catalítico (NAM *et al.*, 2012; STEELE; STOWERS, 1991) e por possuírem uma estabilidade maior nos processos industriais em relação aos animais e plantas (ROBINSON, 2015). As enzimas produzidas por leveduras são geralmente reconhecidas como seguras (SINGH; BAJAJ, 2017) e este campo de bioprospecção torna-se cada vez mais relevantes devido à demanda na síntese de produtos voltados para a indústria em diferentes áreas (ALVES *et al.*, 2014). Essas enzimas podem ser secretadas no meio extracelular e, portanto, mais facilmente recuperadas para utilização (ROBINSON, 2015).

Sabe-se que os estudos de associações de leveduras com a filosfera de bromélias têm se tornado fontes importantes de descobertas de novos micro-organismos e um micro-ambiente com alta diversidade (CROUS *et al.*, 2018, 2019; FELIX *et al.*, 2017; LANDELL *et al.*, 2009, 2010, 2015; LANDELL; MAUTONE; VALENTE, 2006; NAVARRO, 2018) porém, os trabalhos na Caatinga ainda são escassos. Segundo Leal *et al.* (2005) p141 “*a Caatinga é uma anomalia climática e funciona como um importante laboratório pra estudos de como plantas, invertebrados e vertebrados se adaptam a um regime de chuva altamente variável e estressante*”. Trabalhos como este de bioprospecção de enzimas extracelulares surge como pioneirismo na região semiárida. Diante disto, faz-se necessário conhecer nosso patrimônio biológico e compreender o grande potencial biotecnológico da região.

2. OBJETIVO

- Verificar o potencial biotecnológico de leveduras associadas a bromélias da Caatinga alagoana por meio da produção das enzimas extracelulares amilase, caseinase, celulase, esterase/lipase e pectinase.

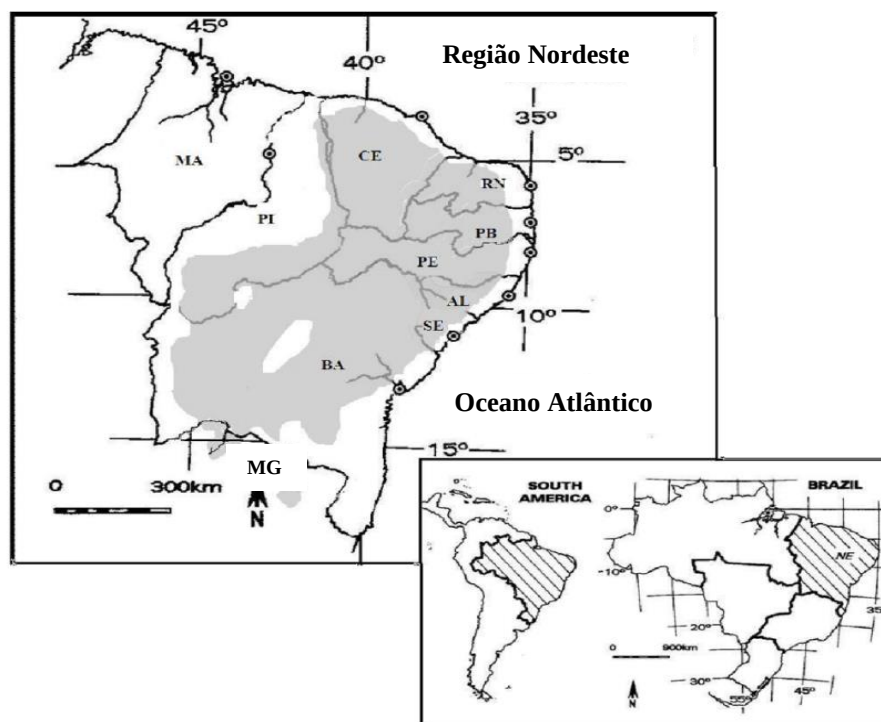
3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Caatinga

O Brasil, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), possui seis biomas em seu território: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal e Caatinga. Dos quais, somente o bioma Caatinga tem seus limites contidos exclusivamente no território brasileiro (MORO *et al.*, 2016).

Dentre, eles o bioma Caatinga designa uma extensa região que corresponde à aproximadamente 844.453 km², equivalentes a 11% do território nacional, abrangendo os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe e o norte de Minas Gerais, (Figura 1) (SILVA; COELHO; SILVA, 2015). O bioma Caatinga no estado de Alagoas compreende uma área de 11.343,4 km², o equivalente a 47,77% (LOPES; FALCÃO; ANDRADE, 2017). A denominação “Caatinga” tem origem no Tupi-Guarani que significa “mata ou floresta branca” termo característico do período seco do bioma, quando a folhagem cai (PRADO, 2003).

Figura 1. Mapa mostrando a localização da Caatinga (cinza) que compreende os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe e norte de Minas Gerais.



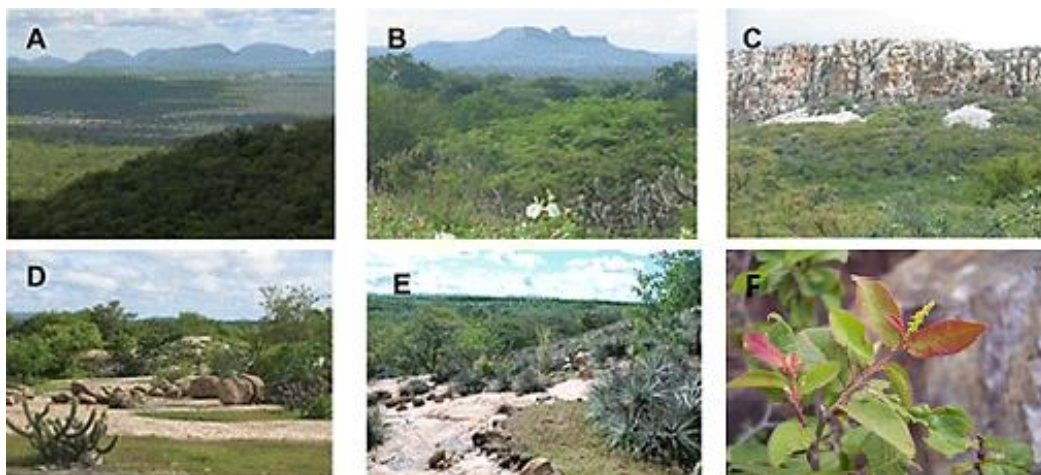
Fonte: Adaptado de (ARAÚJO; CASTRO; ALBUQUERQUE, 2007)

Este bioma é caracterizado por um clima prevalentemente semiárido, no qual existe uma forte escassez hídrica e cuja média do volume pluviométrico varia entre 350 mm a 650 mm anuais. Esses volumes são distribuídos irregularmente, podendo causar inundações no local e evidenciando que na região ocorre intensa oscilação das variáveis ambientais (AB'SABER, 2003). Comparando a Caatinga com outras regiões brasileiras, o clima da região é muito diferente. Apresenta temperaturas muito altas com baixa umidade relativa do ar, altas taxas de radiação solar ao longo do ano, caracterizando um ambiente extremo (LEAL *et al.*, 2005).

A vegetação da Caatinga é representada por uma floresta baixa, com arbustos e árvores de menor porte, com predominância das famílias botânicas Cactaceae, Euphorbiaceae e Bromeliaceae (Figura 2) (LEAL *et al.*, 2005). O local é rico em endemismos e diversidade, (PRADO, 2003) (4.508 espécies de plantas, 107 répteis, 153 mamíferos, 510 de aves), caracterizando-se como o semiárido mais biodiverso do mundo (LOPES; FALCÃO; ANDRADE, 2017). Entretanto, ainda é pouco conhecido e sua biodiversidade ainda é subestimada.

Além de ser pouco estudado, outro problema desta região é a pouca extensão de área protegida, menos de 1%, que sofre intensa degradação (LEAL *et al.*, 2005). Diante disto, é de extrema importância pesquisas voltadas para conhecer o patrimônio biológico, exclusivamente brasileiro, e que medidas de conservação possam ser implementadas e se evite extinção de espécies e processos ecológicos únicos.

Figura 2. Vegetação da Caatinga: A, B e C referem-se à áreas florestais, enquanto D e E referem-se à vegetação arbustiva dominada pelas espécies Cactaceae e Bromeliaceae e F espécie de Euphorbiaceae. Fotos de Inara Leal e Maria de Fátima de Araujo Lucena.



Fonte: Adaptado de (O ECO, 2020 ; SANTOS *et al.*, 2011)

Segundo o Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA-AL), o estado possui 88 Unidades de Conservação (UC). Dentre elas, nove UCs abrangem a região da Caatinga, incluindo a Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia. Atualmente há estudos em andamento para implementação de uma Área de Proteção Ambiental (APA) na Serra Caiçara, que incluirá parte dos municípios localizados na mesorregião do Sertão: Santana de Ipanema, Poço das Trincheiras, Maravilha, Ouro Branco e Canapi (IMA, 2020).

Deve-se ressaltar que a importância da Caatinga está além da alta biodiversidade e endemismos na região (LEAL *et al.*, 2005). Está associada também à adaptação das espécies que habitam a região devido as condições estressantes (alta radiação e um regime de chuvas irregulares). Mostrando-se promissora para estudos de grande relevância no campo biotecnológico para prospecção de enzimas secretadas por leveduras devido à grande possibilidade de se encontrar espécies com alta plasticidade fisiológica e genética, características interessantes industrialmente.

3.2 Bromélias

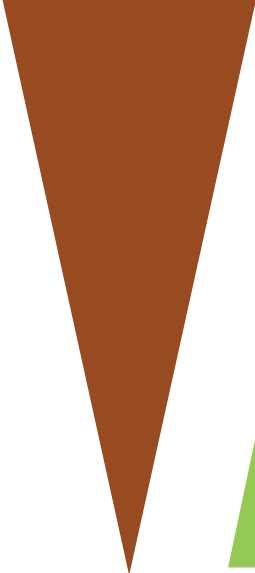
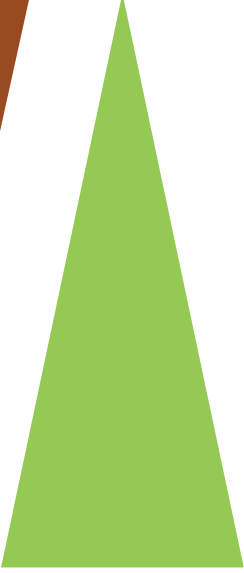
Bromélias são plantas pertencentes à família Bromeliaceae, que possui 58 gêneros e 3408 espécies (LUTHER, 2014), sendo divididas atualmente em oito subfamílias: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae, Puyoideae, Navioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae e Brochinioideae (GIVNISH *et al.*, 2014). São plantas de regiões neotropicais, com exceção da espécie *Pitcairnia feliciana* (Auguste Chevalier) Harms & Mildbraed, cuja ocorrência é no Golfo da Guiné – África. As espécies de bromélias estão predominantemente na América do Sul, cerca de 40%, e destas estima-se que 73% estejam localizadas no Brasil (BENZING, 2000; LEME; MARIGO, 1993).

Esta família apresenta plantas herbáceas terrestres, saxícolas e epífitas, cuja morfologia das folhas apresenta geralmente, modificada em forma de rosetas, que propiciam, na grande maioria das espécies, o acúmulo de água e reserva, principalmente para períodos longos de seca (e.g. Caatinga), e acúmulo de detritos orgânicos, geralmente decorrentes da lixiviação da chuva da copa de árvores ou trazidos pelo vento (MANETTI; DEIAPORTE; LAVERDE, 2009).

Outro aspecto importante das bromélias são as raízes. Nos grupos terrestres, essa estrutura é capaz de absorver nutrientes, no entanto, em epífitas extremas as raízes possuem papel na fixação e sustentação ao hospedeiro, atribuindo assim a absorção de água e dos nutrientes necessários para desenvolvimento (e.g. minerais) às folhas (BENZING, 2000). Na Tabela 1 a forma de vida pode ser associada ao tipo de nutrição encontradas em bromélias. Elas

podem ser encontradas desde o nível do mar a altitudes elevadas de 4000 mil metros, e habitam desde climas úmidos até secos, regiões com baixa ou alta luminosidade, caracterizando plantas com alta plasticidade (LEME; MARIGO, 1993; MEDINA, 1990).

Tabela 1. Formas de vida e tipos ecofisiológicos de Bromeliaceae

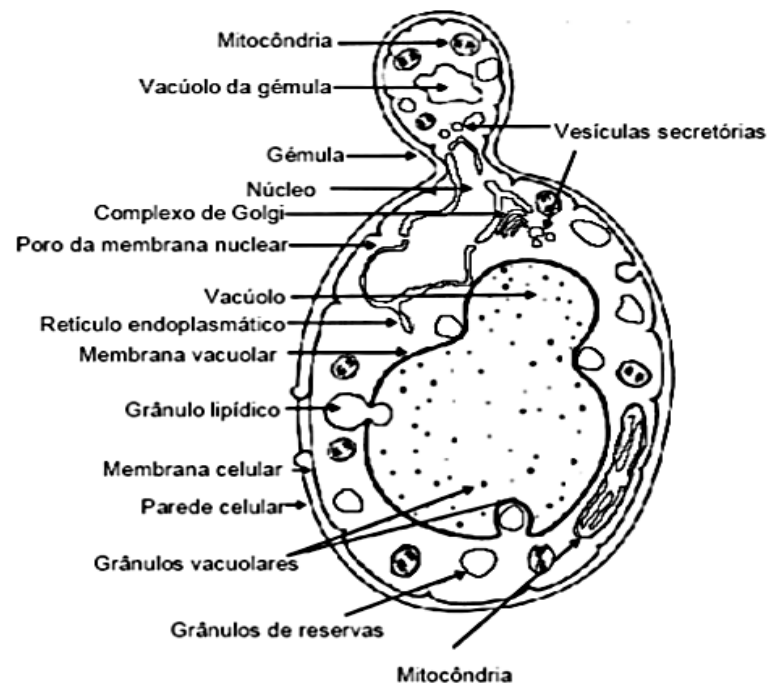
Forma de vida	Características	Aquisição de água e nutrientes pelas raízes	Aquisição de água e nutrientes pelas folhas
1	Bromélias terrestres pertencentes às Pitcairnioideae (CAM e C3) e muitas Bromelioideae (CAM) que usam raízes para adquirir água e nutrientes, sendo os tricomas não absorventes		
2	Bromelioideae (CAM) terrestres com bases foliares que formam um “tanque” rudimentar estanque no qual algumas raízes axilares podem crescer		
3	Bromelioideae terrestres ou epífitas, cujas raízes têm menos importância na aquisição de água e nutrientes com as bases das folhas formando um extenso tanque de retenção de água - vias fotossintéticas predominantemente do metabolismo do ácido crassulaceano (CAM), com tricomas com capacidade de captar água e nutrientes		
4	Epífitas formadoras de tanques pertencentes às Tillandsioideae e algumas Brocchinia - vias fotossintéticas predominantemente C3 e com altas densidades de tricomas nas bases foliares que são altamente eficazes na captação de água e nutrientes, as raízes funcionando principalmente como holdfasts		
5	Via fotossintética da CAM atmosférica Tillandsioideae, epifítica ou litofítica, com pêlos nas folhas absorvendo água diretamente sobre toda a superfície foliar (sem tanque) e possuindo raízes firmes, se houver		

Fonte: Adaptado de (LEROY *et al.*, 2016).

3.3 Leveduras

As leveduras são fungos, e como tal, apresentam características inerentes como núcleo organizado e parede celular rígida (Figura 3). Entretanto, diferentemente dos fungos filamentosos, são predominantemente unicelulares, com reprodução prioritariamente assexual através de brotamento ou fissão. Elas são agrupadas filogeneticamente em dois filos: Ascomycota ou Basidiomycota. A temperatura ótima de crescimento varia entre 20 a 30 °C, porém isto varia dependendo de fatores intrínsecos de cada linhagem (KURTZMAN; FELL, 1998). Elas participam da reciclagem de nutrientes do ecossistema e secretam componentes importantes que estimulam o crescimento das plantas das quais estão associadas (ALCAÍNO; CIFUENTES; BAEZA, 2015; BRINGEL; COUÉE, 2015).

Figura 3. Representação de uma célula de levedura



Fonte: (LOURENÇO, 2009).

3.3.1 Diversidade de leveduras

As leveduras podem ser encontradas em diversos ambientes (aéreos, terrestres e aquáticos) e em associação com diferentes grupos e substratos, incluindo animais, plantas, solo, água, ambientes extremos (e.g. Antártica), a ambientes construídos (antrópicos) (Tabela 2) (WALKER, 1998, 2009). No período de 1820 a 2011 teve-se um aumento importante na diversidade conhecida de leveduras, somente em 2005 cerca de 2.500 foram publicadas (incluindo sinônimos que posteriormente foram reacomodados) (BARRIGA *et al.*, 2011). E atualmente há aproximadamente 1.600 espécies de leveduras descritas na literatura (VU *et al.*, 2016).

Tabela 2. Habitats naturais das leveduras.

Habitat	Descrição	Gêneros
Plantas	O nicho comum de leveduras é a interface entre nutrientes solúveis de plantas (açúcares) e o mundo séptico. Insetos ajudam a espalhar leveduras na filosfera.	<i>Ashbya</i> spp. <i>Nematospora</i> spp. <i>Carcinomyces</i> spp.
Animais	Algumas leveduras podem ser patogênicas para seres humanos e animais, enquanto outras não são patogênicas (podem ser encontradas no trato intestinal e pele de animais. Numerosas leveduras são comensais ao inseto que atuam como vetores para a distribuição natural das leveduras.	<i>Candida</i> spp. <i>Cyniclomyces</i> spp. <i>Pityrosporum</i> spp.
Solo	Considerado como reservatório de leveduras para sobrevivência a longo prazo, em vez de habitat para crescimento livre. Elas podem ser encontradas apenas nas camadas aeróbicas do solo (10–15 cm)	<i>Lipomyces</i> spp. <i>Schwanniomyces</i> spp.
Água	Leveduras podem ser encontradas tanto na água doce quanto na água do mar. As regiões estuarinas costumam ter um número maior de leveduras em comparação à água do mar.	<i>Rhodotorula</i> spp. <i>Debaryomyces</i> spp.
Ambientes construídos	Algumas leveduras podem ser encontradas em papéis de parede úmidos e diferentes superfícies.	<i>Aureobasidium pullulans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Atmosfera	Leveduras são dispersas pelas correntes de ar da camada vegetativa acima das superfícies do solo. Apenas algumas leveduras podem ser esperadas por volume de ar	<i>Cryptococcus</i> spp. <i>Rhodotorula</i> spp. <i>Sporobolomyces</i> spp.
Ambientes extremos	Algumas leveduras halotolerantes podem crescer em solução de salmoura quase saturada, enquanto que leveduras osmofílicas foram descobertas nos horizontes das geleiras	<i>Debaryomyces</i> spp. <i>Zygosaccharomyces</i> spp.

Fonte: Adaptado de (WALKER, 1998, 2009).

Acredita-se que habitats poucos explorados quanto à biodiversidade local, como em muitas regiões da América Latina (Brasil, Equador e Argentina) representem fontes importantes para a descobertas de novas espécies (BARRIGA *et al.*, 2011), já que cerca 99% da biodiversidade de leveduras ainda é desconhecida. A dispersão delas, por exemplo, na porção acima do solo das plantas (filosfera) pode ser auxiliada por insetos, como *Drosophila* spp., e por meio do vento e aves (CHAPPELL; FUKAMI, 2018; MITTELBACH *et al.*, 2015; PHAFF, 1987) e o crescimento pode ser influenciado pela bioquímica, isto é, por compostos orgânicos presentes na superfície e nas áreas em decomposição das plantas (exsudatos, flores, frutos, filosfera, rizosfera e zonas necróticas) (WALKER, 2009).

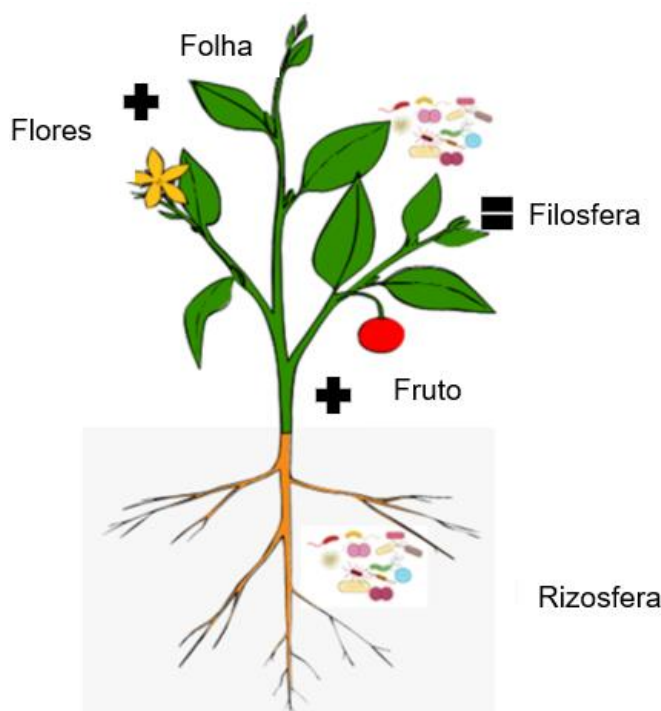
3.3.2 Leveduras associadas a filosfera de plantas

As plantas naturalmente, por meio do processo fotossintético, secretam numerosos compostos ricos em carbono que propiciam uma variedade ampla de nutrientes, influenciando assim a composição de micro-organismos. Leveduras são micro-organismos que habitualmente

se encontram associados com diferentes estruturas das plantas (caule, flores, frutos e folhas) (PHAFF, 1987).

A colonização da filosfera (Figura 4) pode ser realizada por micro-organismos epifíticos (LINDOW; BRANDL, 2003). Nas flores (antosfera), o néctar, especialmente, apresenta um ambiente adequado para as leveduras. A alta concentração e composição de açúcares simples selecionam também leveduras fermentadoras que são comumente isoladas nesse ambiente. A diversidade de açúcares é importante para multiplicação das leveduras, caracterizando assim um ambiente favorável para colonização (CHAPPELL; FUKAMI, 2018). Por outro lado, a alta concentração energética resulta em um ambiente de alta pressão osmótica, o que limita a diversidade de leveduras (POZO; HERRERA; BAZAGA, 2011).

Figura 4. Divisão da planta: filosfera (folha, fruto, flor) e rizosfera.



Fonte: Adaptado https://en.wikipedia.org/wiki/Plant_microbiome#/media/File:Plant_microbiota.png

A diversidade de leveduras no néctar é influenciada pelas suas propriedades (composição de açúcares, concentração e os visitantes das flores) que podem direcionar a predominância de leveduras ascomicéticas ou basidiomicéticas, como relatado em Mittelbach *et al.* (2015). A composição microbiana de flores ornitófilas de leveduras basidiomicéticas foi relativamente alta com predominância de néctar com hexoses (monossacarídeos), enquanto que leveduras ascomicéticas são raras nesse tipo de açúcar, cuja predominância é em açúcares ricos em sacaroses (dissacarídeos).

Enquanto a comunidade de leveduras em flores pode mudar de acordo com as polinizações, a estrutura microbiana dos frutos (carposfera) é caracterizada por ser dinâmica ao longo do tempo. Quando o fruto ainda está verde, a comunidade se assemelha à comunidade da superfície de folhas, caracterizada como um micro-ambiente oligotrófico. Nesse ambiente são frequentemente encontrados os gêneros *Aureobasidium* e *Sporobolomyces*. Durante o processo de amadurecimento, a estrutura da microbiota do fruto muda e pode ocorrer extravasamento de soluções ricas em açúcares e o que pode contribuir para a colonização e protagonismo de outros grupos microbianos como *Hanseniaspora*, *Metschnikowia* e *Pichia*, caracterizando como dinâmica a colonização desta região (BUZZINI; LACHANCE; YURKOV, 2017).

O filoplano (superfície externa das folhas), representa a maior superfície da filosfera (LINDOW; BRANDL, 2003). Este micro-ambiente, caracteriza por ser oligotrófico onde concentram-se micro-organismos cujo crescimento depende majoritariamente de metabólitos vegetais secretados na superfície ou de nutrientes de fontes externas lixiviados para a folha. A disponibilidade de nutrientes presentes neste micro-habitat depende de fatores como idade da folha, espécie botânica e condições de crescimento da planta, fatores que modulam parcialmente as comunidades microbianas, além dos fatores abióticos (clima, flutuação sazonal, poluição e fertilização com nitrogênio) e micro-organismos antagônicos (LIMTONG; NASANIT, 2017).

Além do que, este micro-habitat pode ser uma fonte importante para o isolamento e descrição de novas espécies de leveduras, como nos trabalhos de Landell *et al.*, (2009) (*Genolevuria bromeliarum*), Landell *et al.*, (2015) (*Carlosrosaea vriesiae*), Pagani *et al.*, (2016) (*Papiliotrema leoncinii*), Félix *et al.*, (2017) (*Carlosrosaea hohenbergia*, *Carlosrosaea aechmeae*), Crous *et al.*, (2018) (*Queiroziella braziliensis*), Crous *et al.*, (2019) (*Carcinomyces nordestinensis*, *Aureobasidium tremulum*, *Kazachstania molopsis*), Crous *et al.*, (2020) (*Candida pellucida*), Félix *et al.*, (2020) (*Vishniacozyma alagoana*). Pela Caatinga ser pouco estudada do ponto de vista microbiológico e possuir características únicas, acreditamos ser uma fonte em potencial para buscar micro-organismos com propriedades úteis para biotecnologia.

3.4 Biotecnologia

O termo “biotecnologia” designa aplicações tecnológicas de sistemas biológicos, organismos vivos (como por exemplo, leveduras, bactérias e algas) ou derivados destes, com a finalidade de modificar ou melhorar produtos e serviços (BUCHHOLZ; COLLINS, 2014). A biotecnologia, é uma rede complexa de conhecimentos na qual ciência e tecnologia se

complementam, envolvendo áreas como biologia molecular, microbiologia, biologia celular, genética, e aplicações da ciência como em técnicas imunológicas e bioquímicas, engenharias etc. (MALAJOVICH, 2016).

Desde os sumérios, há cerca de 6000 mil anos o consumo de cerveja já existia, embora o processo fermentativo fosse uma prática empírica, onde não havia conhecimento da ação de micro-organismos, muito menos de leveduras (MALAJOVICH, 2016). Atualmente, a biotecnologia continua fazendo parte do dia a dia, os produtos e processos reduzem ou removem contaminações no ambiente, fabricação de plásticos biodegradáveis, atuando, inclusive no desenvolvendo de produtos como detergentes mais eficientes. Assim, promovendo benefícios em diversas áreas e tornando-se uma importante aliada para a humanidade (MALAJOVICH, 2016).

A aplicabilidade da biotecnologia pode ser evidenciada a partir de produtos que estão presentes no cotidiano das pessoas. Como exemplo, em uma variedades de tipos de laticínios com sabores, aromas, texturas e tipos nutricionais diferenciados, produtos estes relacionados com diferentes linhagens de micro-organismos (Tabela 3) (NANDY; SRIVASTAVA, 2018).

Tabela 3. Produtos modificados e suas linhas de leveduras

Produtos Lácticos	Função	Espécies de leveduras
Camembert (Lessard <i>et al.</i> , 2012)	Maturação e formação de aroma	<i>Kluyveromyces lactis</i> LMA-437 <i>Debaryomyces hansenni</i> LMA-1019
Kefir (de Oliveira Leite <i>et al.</i> , 2013)	Fermentação da lactose em grãos de kefir	<i>Kluyveromyces marxianus</i> / <i>Candida kefir</i> , <i>K. lactis</i> , <i>D. hansenii</i>
Yogurtes (Suriyarachchi & Fleet, 1981)	Capacidade de crescer a baixas temperaturas e fermentação lactose com hidrólise de caseína do leite	<i>Torulopsis candida</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Koumiss (Mua <i>et al.</i> , 2012)	Melhorando o aroma e a textura do produto com adição de nutrientes à saúde humana	<i>Candida pararugosa</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Pichia deserticola</i> , <i>Pichia fermentans</i> , <i>S. cerevisiae</i>

Fonte: Traduzido e adaptado de (NANDY; SRIVASTAVA, 2018).

A biotecnologia pode ser classificada de diversas formas, porém a categorização em sistemas de cores é a mais comumente utilizada. Entretanto, esta classificação ainda é um sistema em construção, o que pode divergir de acordo com diferentes autores. Uma divisão

comum de cores pode ser: verde, azul, vermelha, marrom, roxa, branca dentre outras cores conforme outros autores (KAFARSKI, 2012).

De acordo com este sistema de cores, a biotecnologia verde contribui para práticas menos agressivas ao meio ambiente juntamente com a contribuição de uma produção de alimentos melhores e com um menor custo de produção; a biotecnologia azul trata da bioprospecção de recursos aquáticos para produtos que beneficiam a humanidade, a vermelha está correlacionada a saúde (e.g. criação de vacinas e medicamentos); a biotecnologia classificada em marrom é responsável pela inovação de recursos hídricos em regiões secas, (como modificação de sementes para maior resistência a escassez hídrica) e a biotecnologia roxa envolve o gerenciamento de questões envolvendo patentes e invenções (BARCELOS *et al.*, 2018; KAFARSKI, 2012).

Especificamente, a biotecnologia agrupada na cor branca, conhecida como biotecnologia da indústria, é um ramo relacionado com células (e.g. leveduras, bactérias) e na síntese de produtos voltados para a indústria através de enzimas (COELHO; RIBEIRO, 2016). Além de ter como objetivo ser uma biotecnologia que envolva menos recursos e energia em comparação a outros setores.

A biotecnologia industrial, envolve uma gama de aplicações, é considerada a mais utilizada dentre as classificações da mesma. Estão associados processos como na indústria química, farmacêutica, cosmética, de papel e têxtil. Ela é considerada o maior ramo da biotecnologia e entre as aplicações estão: produção de polímeros biodegradáveis ou específicos, produção de combustível e produção de enzimas e micro-organismos industrialmente relevantes (KAFARSKI, 2012).

3.5 Enzimas

A palavra “enzima” é derivada do grego (en= dentro e zume = levedura), que foi utilizada em 1978 por Wilhelm Kühne, quando descobriu a habilidade de leveduras produzirem álcool a partir de açúcares. As enzimas são catalisadores biológicos que aceleram as reações bioquímicas dos organismos (ROBINSON, 2015).

O Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (NC-IUBMB) define a classificação das enzimas em seis classes (Tabela 4) e atribuem um código E. C. (*Enzyme Commission*). Este código, contém quatro elementos separados por pontos, que significa (i) o primeiro número mostra a classe que a enzima pertence (ii) a segundo

número indica a subclasse, (iii) a terceiro número fornece a sub-subclasse, (iv) a quarto é o número de série da enzima em sua subclasse (ENZYME COMMISSION, 2020).

Tabela 4. Tabela de classificação internacional das enzimas segundo o Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (NC-IUBMB).

nº EC	Classes	Tipo de reação catalisada
1	Oxirredutases	Transferência de elétrons (íon hidreto ou átomo H)
2	Transferases	Reações de transferência de grupos
3	Hidrolases	Reações de hidrólise (transferência de grupos funcionais para a água)
4	Liasas	Adição de grupos em ligações duplas ou formação de ligações duplas pela remoção de grupos
5	Isomerases	Transferência de grupos dentro da mesma molécula para formar isômeros
6	Ligases	Formação de ligações C-C e C-N pelo acoplamento da clivagem do ATP com reações de condensação

Fonte: Adaptado (ENZYME COMMISSION, 2020).

3.5.1 Enzimas microbianas

Os micro-organismos participam de processos importantes nos ecossistemas, dentre eles a mineralização de nutrientes, decomposição e remoção de toxinas naturais, até mesmo aquelas de origem humana. Para tanto, em muitas dessas atividades são dependentes da presença de enzimas extracelulares para clivagem de substratos complexos em produtos que possam ser assimilados para seu metabolismo e crescimento, exceto quando os nutrientes assimiláveis estão presentes em abundância (ALLISON, 2005).

Estudos evidenciam que a síntese enzimática em micro-organismos não ocorre aleatoriamente, ocorre perfazendo estratégias. Algumas podem ser produzidas constitutivamente (produzidas independentemente das condições celulares ou substratos), enquanto que outras são induzidas dependendo das condições do meio (respostas a sinais específicos) e ainda podem ser produzidas inativas e ativadas sob demanda (zimogênios) (KHAN; JAMES, 1998). Por exemplo, a produção celulase é induzida por substratos de celulose, mas reprimida por muitos metabólitos de C simples. Além disso, as enzimas extracelulares comparadas com outras proteínas (citoplasmáticas, periplasmáticas, membrana) ocorrem com menor gasto de energia, isto é a composição de aminoácidos requerem menos gasto de ATP para serem produzidos (ALLISON, 2005; ARNOSTI, 2011; SMITH;

CHAPMAN, 2010). Além de terem agentes estabilizantes, por exemplo, glicosilação (KHAN; JAMES, 1998). Isto demonstra que a dinâmica no ambiente natural pode ser mais complexa (ALLISON, 2005) do que conhecemos. Portanto, os entendimentos de diversos processos ecológicos que ocorrem na natureza, também pode nos ajudar para a aplicabilidade em outros processos, como industriais.

Até meados da década de 70, as enzimas utilizadas nas indústrias eram de origem animal ou vegetal. Porém, a demanda pela utilização de produtos biotecnológicos cresceu substancialmente. Com isso, tecnologias se desenvolveram e o uso de enzimas microbianas foi reconhecido devido as suas amplas vantagens sobre as demais fontes (ROBINSON, 2015).

As enzimas provenientes de micro-organismos podem ser produzidas em menor tempo e instalações menores, em comparação, por exemplo, com a produção de renina (proteína utilizada para a coagulação do leite e fabricação de queijos), que necessita a criação de um bezerro para posteriormente extração da proteína de seu estômago. Eles possuem vantagens em relação a extração das enzimas, pois muitas enzimas são secretadas no meio extracelular e mesmo as enzimas intracelulares necessitam de menos etapas de extração e purificação. Eles são mais facilmente manipulados geneticamente e suas enzimas possuem maior estabilidade nos processos em relação aos animais e plantas (ROBINSON, 2015).

Além, das enzimas produzidas por leveduras, por exemplo, são geralmente reconhecidas como seguras (*GRAS - generally recognized-as-safe*), pois são obtidas a partir de métodos científicos geralmente conhecidos e aceitos por especialistas do determinado uso que comprovam sua segurança (SEWALT *et al.*, 2016; SINGH; BAJAJ, 2017). Portanto, as enzimas provenientes de micro-organismos são uma demanda crescente e vantajosa em diversas aplicações industriais (ROBINSON, 2015).

As enzimas são empregadas como catalisadores industriais, agentes terapêuticos, reagentes analíticos e como ferramentas de modificação do DNA (e.g. engenharia genética), que incluem fontes de animais, plantas e micro-organismos (Tabela 5). Entre as diferentes classes de enzimas, as hidrolases são as que possuem maior destaque no mercado global das indústrias (ROBINSON, 2015). São enzimas que realizam a clivagem hidrolítica de CO, CN, CC e algumas outras ligações, incluindo ligações de anidrido fosfórico (<https://www.enzyme-database.org/rules.php>, 2020). Hidrolases como amilases, caseinases, celulasas, esterases, lipases e pectinases estão sendo utilizadas amplamente na indústria em diferentes setores

(CASTRO; PEREIRA, 2010; MASOUD; JESPERSEN, 2006; RAZZAQ *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2020).

O potencial para produção de enzimas como esterases e lipases pode ser essencial para ultrapassar algumas limitações para sobrevivência em habitats como a Caatinga. Essas enzimas permitem que os micro-organismos obtenham carbono, nitrogênio e outros nutrientes a partir da degradação de macromoléculas para seu crescimento e sua sobrevivência, exceto, em ambientes com alta disponibilidade de alimentos de composição simples, onde os compostos são assimiláveis (ALLISON, 2005). Porém na superfície foliar, por exemplo a disponibilidade de nutrientes para os micro-organismos, além de outros fatores, é controlada pela fotossíntese. Alguns açúcares se difundem entre a cutícula, cobertura hidrofóbica, cuja arquitetura e composição variam conforme as condições ambientais e espécies de plantas, o que pode limitar a lixiviação, dificultando o acesso a água, compostos orgânicos e inorgânicos (ALLISON, 2005).

Tabela 5. Aplicações de enzimas oriundas de diferentes fontes.

Enzima	Reação	Fonte	Aplicação
Catálise industrial			
Proteases ácidas	Digestão de proteínas	<i>Aspergillus niger</i>	Coagulação do leite na produção de queijo
Proteases alcalinas	Digestão de proteínas	<i>Bacillus</i> spp.	Detergentes e pós de lavagem
Aminoacilase	Hidrólise de L-aminoácidos acilados	<i>Aspergillus</i> spp.	Produção de L-aminoácidos
α -Amilase	Hidrólise do amido	<i>Bacillus</i> spp.	Conversão de amido em glicose ou dextranos na indústria de alimentos
Amiloglicosidase	Hidrólise da dextrina	<i>Aspergillus</i> spp.	Produção de glicose
β -Galactosidase	Hidrólise da lactose	<i>Aspergillus</i> spp.	Hidrólise da lactose no leite ou soro de leite
Glicose isomerase	Conversão de glicose em frutose	<i>Streptomyces</i> spp.	Produção de xarope com alto teor de frutose
Penicilina acilase	Clivagem da cadeia lateral da penicilina	<i>Escherichia coli</i>	Formação de 6-APA para produção de penicilinas semissintéticas
Agentes terapêuticos			
L-Asparaginase	Remoção de l-asparagina essencial para o tumor	<i>E. coli</i>	Quimioterapia para câncer, particularmente para leucemia
Uroquinase	Ativação do plasminogênio	Humanos	Remoção de coágulos de fibrina da corrente sanguínea
Reagentes analíticos			
Glicose oxidase	Oxidação da glicose	<i>Aspergillus niger</i>	Deteção de glicose no sangue
Luciferase	Bioluminescência	Bactérias marinhas e vaga-lumes	Ensaio bioluminescentes envolvendo ATP
Peroxidase	Oxidação do corante usando H ₂ O ₂	Rábano-silvestre (planta)	Quantificação de hormônios e anticorpos
Urease	Hidrólise da ureia em CO ₂ e NH ₃	<i>Canavalia ensiformis</i> (Jack bean)	Quantificação de ureia em fluidos corporais
Ferramentas de modificação do DNA			
Nucleases	Hidrólise de ligações fosfodiéster	Várias bactérias	Enzimas de restrição usadas na manipulação genética para cortar DNA
DNA polimerases	Síntese de DNA	<i>Thermus aquaticus</i>	Amplificação de DNA usada na reação em cadeia da polimerase

Fonte: Traduzido e Adaptado de (ROBINSON, 2015).

3.5.2 Amilases

Amilases são enzimas que hidrolisam moléculas de amido, podendo ser classificadas em duas classes: endoamilases e exoaminolases. A α – amilase (E.C.3.2.1.1), é uma endo-hidrolase, isto é, catalisa a lise da ligação glicosídica α (1-4), e sua função catalítica depende da presença do cálcio como cofator, que pode ser isolada de plantas, animais e micro-organismos. Enquanto que a β -amilase (EC 3.2.1.2) é uma enzima exo-hidrolase que cliva a ligação α -1, 4-glucana, nas extremidades não redutoras produzindo unidades sucessivas de maltose (GOPINATH *et al.*, 2017; SUNDARRAM; MURTHY, 2014).

As amilases desempenham um papel importante nas indústrias de alimentos, bebidas e açúcar. A α -amilase, por exemplo, melhora a qualidade de pães, degradando o amido da farinha de trigo em pequenas dextrinas, o que permite que o fermento trabalhe continuamente durante a fermentação de massas e também durante os estágios iniciais do cozimento. Em relação a indústria, está envolvida na clarificação de cervejas, sucos de frutas e no pré-tratamento de ração animal para melhorar a desestabilização da fibra (SINGH; KUMAR, 2019).

3.5.3 Celulases

As enzimas do complexo celulolítico são classificadas, de acordo com *Enzyme Commission* (EC) com a codificação 3.2.1.x, este último valor muda conforme a especificidade da enzima. As celulases degradam a celulose, um polímero de glicose não ramificado composto por β -1,4 unidades de glicose ligadas por uma ligação β -1,4-D-glicosídica. Elas compreendem três grandes grupos fazendo parte do complexo celulolítico, sendo elas endoglucanases (EnG) ou carboximetil celulases (CMCases), que clivam ligações internas na fibra celulósica, exoglucanases (ExG), clivam a região externa e β -glicosidases (BG) que hidrolisam oligossacarídeos solúveis em água (CASTRO; PEREIRA, 2010; ONSORI *et al.*, 2005).

O grupo das exoglucanases é constituído pela celobiohidrolase (CBH, EC 3.2.1.91), cuja função é catálise da hidrólise dos terminais não redutores da fibra celulósica e oligossacarídeos com GP>3 em celobiose. A glucano-hidrolase (GH, EC 3.2.1.74), constitui o grupo das exoglucocanases, que possui importância na hidrólise da fibra celulósica, permitindo a liberação de glicose direto do polímero. Enquanto as β -glicosidases (EC 3.2.2.21) tem propriedades de hidrólise celobiose e oligossacarídeos solúveis (GP<7) em glicose (CASTRO; PEREIRA, 2010).

As endoglucanases possuem a codificação EC 3.2.1.4, e classificação segundo *International Union of Biochemistry and Molecular Biology-IUBMB*, 1,4- β -D-glucana-4-glucano-hidrolase, sendo uma enzima responsável pela liberação de oligossacarídeos de diversos graus de polimerização, e consequentemente, tornando a vista outros terminais para clivagem (CASTRO; PEREIRA, 2010). As carboximetilcelulases (EC 3.2.1.4) são enzimas produzidas principalmente por fungos e bactérias, que catalisam a clivagem de materiais celulósicos promovendo sua hidrólise e de alguns polissacarídeos correlacionados. Elas quebram a celulose em monossacarídeos (e.g., β -glicose) ou polissacarídeos em oligossacarídeos (ONSORI *et al.*, 2005).

Estas enzimas são biocatalisadores de alta especificidade que atuam em sinergia para hidrolisar a molécula de celulose. Os açúcares liberados possuem interesse industrial, principalmente o monômero de glicose para produção de etanol (CASTRO; PEREIRA, 2010). O interesse na clivagem da celulose vem crescendo como fonte alternativa para fontes renováveis de energia, então, em decorrência disto as celulases, tem sido estudadas para produção de bioenergia e biocombustível, além de seus usos nas indústrias de bebidas, papel e têxteis (ALVES *et al.*, 2014).

3.5.4 Esterases e lipases

Esterases (EC 3.1.1.X) abrangem um grupo diverso de hidrolases envolvidas na catálise e a formação de ligações éster. Estas hidrolases são distribuídas em diferentes fontes de origem animal, botânica e fúngica, incluindo leveduras. As esterases apresentam alta especificidade regional e estérica, tornando-se biocatalisadores importantes para produção de compostos opticamente puros na síntese de compostos químicos com alto grau de pureza e alto valor agregado (LOPES *et al.*, 2011).

As “esterases verdadeiras” (EC 3.1.1.1) e as lipases (EC 3.1.1.3) são duas classes de hidrolases com grande atratividade neste grupo. São enzimas que não necessitam de cofatores e geralmente, demonstram atividade estável em solventes orgânicos, notoriamente as lipases são mais ativas nessa condição. As “esterases verdadeiras” catalisam a clivagem de **éster carboxílico**, geralmente apenas de triglicerídeos compostos com ácidos graxos com cadeia carbônica menor que seis carbonos (< C6). Enquanto que as lipases, catalisam triglicerídeos compostos por ácidos graxos de cadeia longa, caracterizando a atividade principalmente em substratos insolúveis em água (BORNSCHEUER, 2002).

As lipases são amplamente aplicadas em indústrias farmacêuticas, química e alimentícia. Elas atuam na hidrólise da gordura do leite, sabor acentuado no queijo e baixa sabor amargo (SINGH; KUMAR, 2019). Elas participam do processo de tratamento de águas residuárias com composição lipídica, que representam em sua maioria são ácidos graxos de cadeia longa, que quando não tratados corretamente acarretam danos ambientais e a utilização de lipases reduz o impacto ambiental impedindo por exemplo a formação de filmes na superfície aquática que impede a difusão de gases como oxigênio (MENDES *et al.*, 2005).

As principais diferenças entre esterases (carboxil esterase) e lipases (lipases de triacilglicerol) são evidenciadas na Tabela 6.

Tabela 6. Principais diferenças entre esterase e lipase.

Propriedade	Lipase	Esterase
Preferência por substrato	Triglicerídeos (cadeia longa) Álcoois secundários	Ésteres simples, Triglicerídeos (cadeia curta)
Ativação / tampa interfacial	Sim	Não
Hidrofobicidade do substrato	Alto	Alto a baixo
Enantioselectividade	Geralmente alta	Alta para baixa a zero
Estabilidade do solvente	Alto	Alto a baixo

Fonte: Adaptado (BORNSCHEUER, 2002).

3.5.5 Pectinase

As substâncias pécticas são um complexo estrutural de heteropolissacarídeos de alto peso molecular que são encontrados principalmente na lamela média e na parede celular primária de plantas (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005). O termo pectina designa substâncias de polissacarídeos estruturais complexos de origem botânica, que possuem uma extensa proporção de subunidade de ácido galacturônico (intercalados com resíduos de L-ramnose, dos quais os resíduos de arabinose e galactose podem ser ligados) com parcial esterificação com metil, ligadas por ligações α -1,4-glicosídicas (SILVA *et al.*, 2005).

As enzimas com habilidade de degradar essas substâncias pécticas são um complexo de enzimas denominados pectinolíticas ou pectinases (BLANCO; SIEIRO; VILLA, 1999), este complexo enzimático agrupa várias classes de enzimas envolvidas na degradação da pectina, dentre elas: liases (EC 4.2.2.10), liases pectadas (EC 4.2.2.2) e poligalacturonases (EC 3.2.1.15 e EC 3.2.1.67) que são capazes de reconhecer a ligação formada por α -1,4-glicosídicas (SILVA *et al.*, 2005). Essas enzimas pectinolíticas estão intimamente envolvidas com diversas aplicações

no ramo de indústrias alimentícias. Dentre as aplicações mais comuns incluem a participação no processamento de frutas. Em uvas vermelhas ocorre a degradação da parede celular da casca da uva para liberação de taninos e antocianinas que melhoram a estabilidade das cores de vinhos tintos (YANG *et al.*, 2020) participam da extração e clarificação de sucos de frutas, maceração de vegetais e extração de óleo (BLANCO; SIEIRO; VILLA, 1999).

3.5.6 Proteases

Proteases (EC 3.4) são capazes de hidrolisar ligações peptídicas em moléculas de proteína, que usualmente são classificadas em endo-peptidases ou exopeptidases. As proteases endo-peptidases clivam ligações peptídicas distantes do terminal do substrato proteico, enquanto as exopeptidases clivam a ligação proximal ao terminal amino ou carboxi do substrato proteico. Elas podem ser classificadas em ácidas, alcalinas e neutras (RAZZAQ *et al.*, 2019; SINGH; KUMAR, 2019; SINGH; BAJAJ, 2017; SKARŻYŃSKA *et al.*, 2020) e correspondem a 60% do mercado de enzimas (KITAMOTO, 2019).

Caseinases formam um grupo de proteases e podem ser provenientes de plantas, animais e micro-organismos (ALVES *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2018). Essas enzimas possuem uma ampla variedade de funções e são extremamente relevantes para aplicações biotecnológicas. Elas podem ser aplicadas na indústria do couro, alimentícia, farmacêutica e biorremediação de processos, indústria fotográfica. Elas possuem um papel importante na produção de queijos e laticínios e atuam amplamente no campo de detergentes para roupa, devido a remoção de manchas de proteínas de roupas. São enzimas mais prevalentes no mercado industrial devido ao seu uso industrial com laticínios e detergentes (NAJAFI; DEOBAGKAR; DEOBAGKAR, 2005; RAZZAQ *et al.*, 2019; SINGH; KUMAR, 2019).

As enzimas extracelulares provenientes de leveduras participam de papéis ecológicos importantes no ambiente, como decomposição e mineralização que disponibilizam produtos intermediários assimiláveis para outros micro-organismos (ROMANÍ *et al.*, 2006). Elas podem estar associadas com a saúde de plantas se contrapondo a possíveis fitopatógenos, leveduras do gênero *Pseudozyma* (KITAMOTO, 2019), e a colonização de micro-organismos como leveduras participam dos processos de reciclagem de matéria orgânica em plantas (GOMES *et al.*, 2015).

4. METODOLOGIA

4.1 Locais de coleta das bromélias

O estudo foi realizado em duas áreas do bioma semiárido da Caatinga alagoana, no nordeste do Brasil: (i) Reserva Particular do Patrimônio Natural – Tocaia (RPPN- T) no município de Santana de Ipanema ($9^{\circ}23'08.9''\text{S}$ e $37^{\circ}15'22.8''\text{O}$) e ponto (ii) Serra Caiçara em Maravilha ($9^{\circ}14'16''\text{S}$ e $37^{\circ}19'36''\text{O}$), (Figura 5). Nestes pontos, foram coletadas amostras de diferentes espécies de bromélias. Seis coletas foram realizadas, três em cada ponto de amostragem, no ponto (i) setembro de 2013, agosto 2016 e setembro 2017, no ponto (ii) em abril nos anos 2014, 2016 e 2017, em altitudes desde 263 m a 763 metros (FÉLIX, 2019).

Figura 5. Localização das áreas de coleta: Serra Caiçara e Reserva do Patrimônio Particular Natural Tocaia - Caatinga alagoana.



Fonte: (FÉLIX. C. R, 2019).

4.2 Obtenção das leveduras a partir da micoteca do Laboratório de Diversidade Molecular

O processamento das amostras ocorreu no Laboratório de Diversidade Molecular - LDM no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS na Universidade Federal de Alagoas, no máximo até 24 horas após a coleta. O processamento das amostras e isolamento das leveduras foi realizado por Félix (2019) utilizando-se protocolos estabelecidos na literatura por (LANDELL; MAUTONE; VALENTE, 2006).

4.3 Perfil Enzimático

Os isolados foram cultivados em meio de cultura ágar YPD – (Yeast extract-Peptide-Dextrose) por 48 horas para obtenção de culturas metabolicamente ativas e em seguida testadas quanto a sua capacidade de produzir as seguintes enzimas extracelulares: amilase, caseinase, celulase, esterase, lipase e pectinase. Após as leveduras semeadas nos substratos enzimáticos correspondentes e incubadas durante 7 dias a temperaturas de 22-25 °C para se verificar a produção enzimática. Das linhagens testadas, 213 foram oriundas a partir do filoplano, treze de flores e treze de frutos.

Os resultados foram classificados pelo tamanho do halo de hidrólise produzido pela enzima com a subtração do crescimento da colônia. As enzimas extracelulares foram classificadas como: fraca atividade (w), atividade positiva (+) e forte atividade (++), (MAUTONE *et al.*, 2010). A padronização foi realizada de acordo com linhagens de leveduras previamente reconhecidas como boas produtoras, fracas produtoras e não produtoras de cada enzima analisada, como já descrito na literatura. De acordo com este critério, a enzima extracelular amilase foi classificada como: fraca atividade (w), quando seu halo foi menor ou igual a 15 mm , atividade positiva (+) quando for maior que 15 mm e menor que 30 mm , e forte atividade (++) quando for maior ou igual a 30 mm e as demais enzimas foram classificadas como: fraca atividade (w), quando menor ou igual a 5 mm , atividade positiva (+) quando for maior que 5 mm e menor que 10 mm , e forte atividade (++) quando for maior ou igual a 10 mm.

4.3.1 Produção de amilase

A atividade da enzima amilase foi testada com o meio: amido solúvel 0,5 %, peptona 0,5 %, extrato de levedura 0,5 %, MgSO₄ 0,05 %, FeSO₄ 0,001%, NaCl 0,001% e ágar 1,5%. Após 7 dias de incubação a 22-25 °C foi adicionada uma solução de lugol 1% à placa. A atividade amilolítica dos isolados foi verificada por meio da degradação do amido solúvel (BUZZINI; MARTINI, 2002; STRAUSS *et al.*, 2001).

4.3.2 Produção de caseinase

A atividade caseinolítica foi testada em placas de petri contendo o meio Ágar caseína (caseína 1%, glicose 0,5% e ágar 2%) ajustado para pH 7,0 com KOH 5M (BRAGA; MORAIS; LINARDI, 1998; STRAUSS *et al.*, 2001). A revelação após sete dias de incubação a 22-25°C. Os isolados produtores apresentam um halo esbranquiçado ao redor da colônia.

4.3.3 Produção de celulase

Para verificar a atividade da enzima celulase o meio de cultura utilizado o meio de cultura contendo carboximetilcelulose – CMC (0,5%, NaNO₃ 0,1%, K₂HPO₄ 0,1%, KCl 0,1%, MgSO₄ 0,05%, extrato de levedura 0,05%, glicose 0,1% e ágar 1,7%) e a revelação foi realizada com uma solução 0,1% de vermelho congo durante 40 min, seguida de lavagem com solução 1M de cloreto de sódio. Os isolados capazes de hidrolisar apresentam um halo alaranjado ao redor da colônia após 7 dias de incubação a 22-25 °C (STRAUSS *et al.*, 2001; TEATHER; WOOD, 1982).

4.3.4 Produção de esterase

Para verificar a produção da enzima esterase, utilizou-se o meio de cultura com tween 80 2,5 %, glicose 0,1 %, peptona 1 %, cloreto de sódio 0,5 %, cloreto de cálcio 0,1 % e ágar 2 % (BUZZINI; MARTINI, 2002; GARCÍA *et al.*, 2007). A atividade dos isolados (hidrólise de triacilgliceróis de cadeia curta) (BORNSCHEUER, 2002) foi verificada por meio da precipitação dos sais de cálcio e aparecimento de um halo opaco ao redor das colônias produtoras após 7 dias de incubação a 22-25 °C.

4.3.5 Produção de lipase

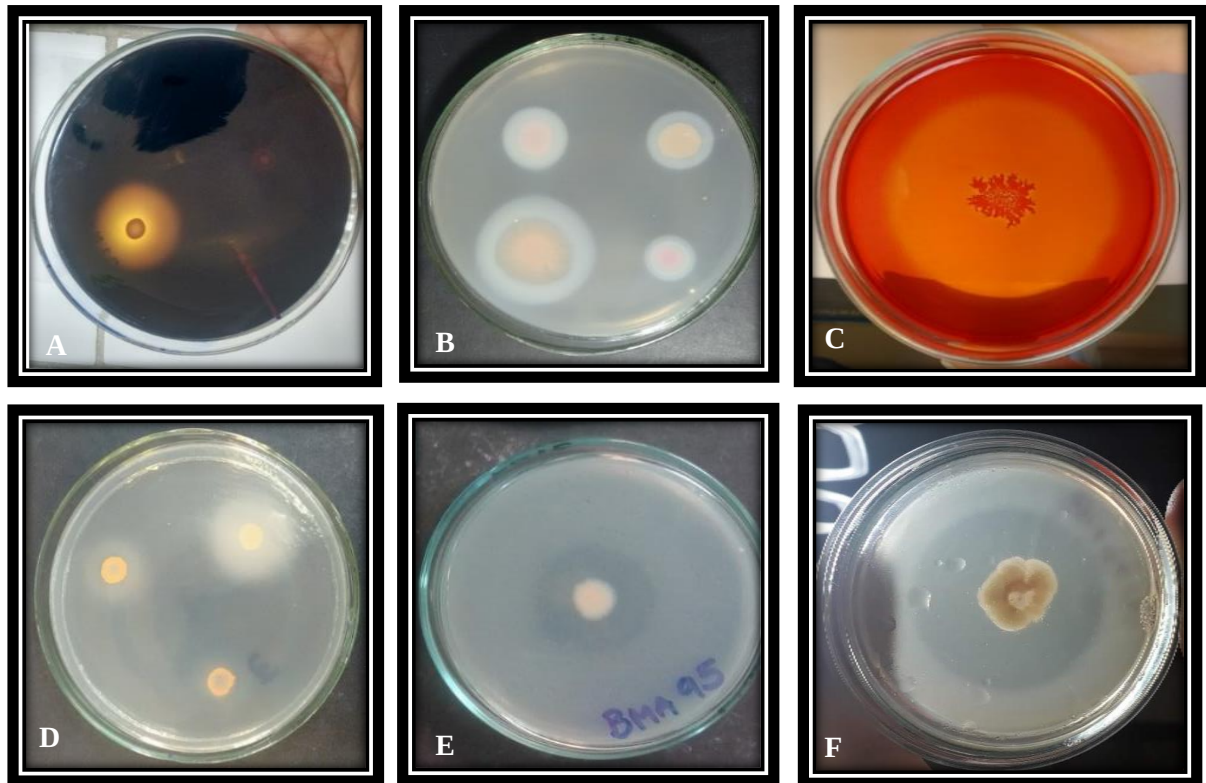
A atividade da enzima lipase (hidrólise de triacilgliceróis de cadeia longa) foi verificada com os isolados que tiveram resultado positivo para esterase em meio contendo tributirina 1%, peptona 0,5%, extrato de levedura 0,3% e ágar 2% (ATLAS, 2010; BORNSCHEUER, 2002; GARCÍA *et al.*, 2007). Após incubação de 7 dias a 22-25 °C a atividade da lipase foi avaliada pelo aparecimento de um halo translúcido.

4.3.6 Produção de pectinase

A atividade da enzima pectinase foi testada em meio contendo *Yeast Nitrogen Base* (YNB) 0,67%, glicose 1%, pectina cítrica 1%, ágar 1,8%, com ajuste de pH para 7 (STRAUSS *et al.*, 2001). Após 7 dias de incubação a 22-25 °C as placas foram reveladas por 30 minutos com uma solução aquosa de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) 1%. A atividade de pectinase foi evidenciada por meio do aparecimento de um halo opaco ao redor da colônia produtora.

Na figura 6, pode-se observar o halo de hidrólise dos substratos, indicando a atividade enzimática de amilase, esterase, caseinase, celulase, lipase e pectinase, após sete dias de incubação.

Figura 6. Visualização da atividade enzimática de leveduras isoladas de bromélias da Caatinga alagoana por meio dos halos de hidrólise. A - Amilase; B – Caseinase; C- Celulase; D- Esterase; E- Lipase e F- Pectinase.



Fonte: Autora

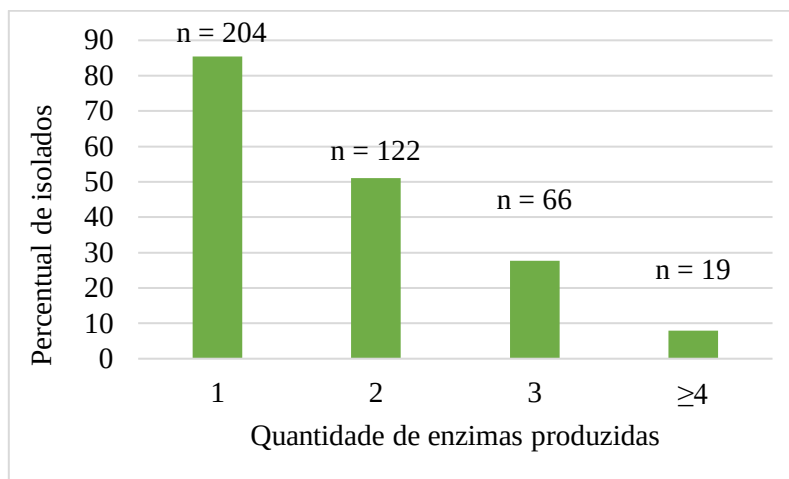
5. RESULTADOS

Foram testadas 239 linhagens de leveduras provenientes da micoteca do LDM e previamente isoladas e identificadas por Félix (2019). Desse total, 213 foram obtidas a partir do filoplano, treze de flores e treze de frutos. Os testes para cada enzima foram realizados com a ativação das linhagens em meio sólido YPD. Não foi possível reativar alguns isolados e os mesmos foram descartados da análise.

Diante disto, para os isolados do filoplano (n = 213), 91% (n = 195) foram testados para a enzima amilase, 77% (n = 166) para caseinase, 87% (n = 186) para celulase, 92% (n = 197) para esterase e 72% (n = 153) para pectinase. Para lipase, testou-se os isolados positivos para esterase (n = 42). Todos os isolados de flores (n = 13) foram testados para a produção de amilase e esterase, 92% (n = 12) para celulase e aproximadamente 54 % (n = 7) foram testados para caseinase e pectinase. Todos os isolados de frutos (n = 13) foram testados para amilase, 92% (n = 12) foram avaliados para a produção de celulase e esterase, 43% (n = 8) foram testados para caseinase, e 46% (n = 6) para pectinase. Nenhum isolado de flores e frutos foi testado para lipase.

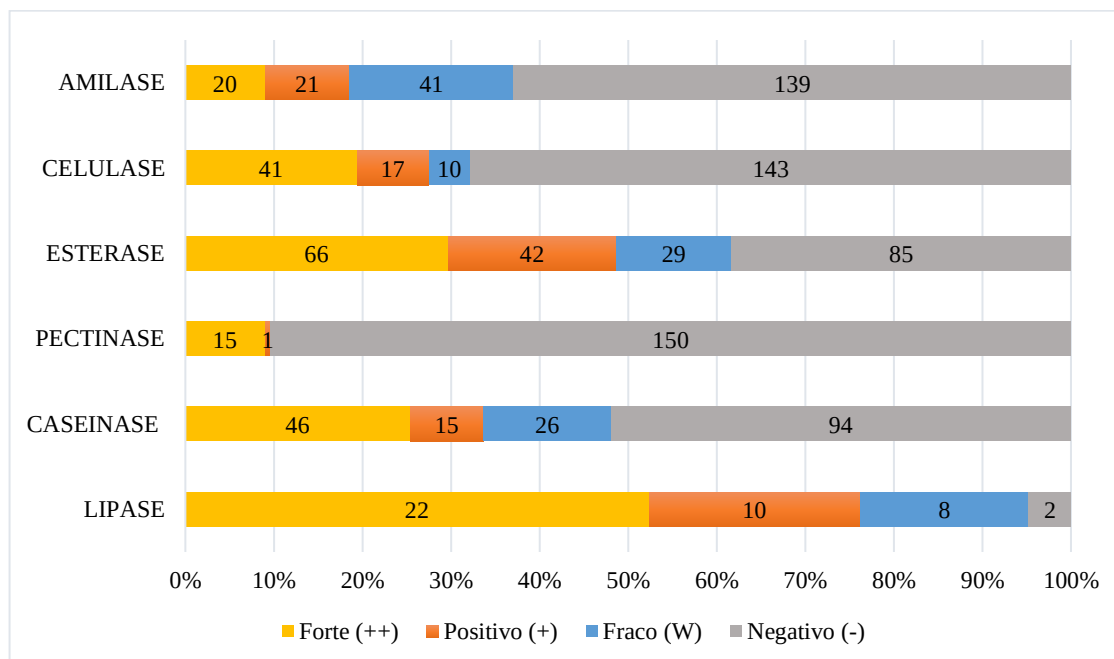
Dos isolados testados, 51% (n = 122) foram capazes de produzir pelo menos duas atividades enzimáticas, 27% (n = 66) pelo menos três atividades enzimáticas, e aproximadamente 8% (n = 19) das linhagens produziram quatro ou atividades enzimáticas, conforme ilustrado no (gráfico 1), incluindo uma linhagem de espécie nova: *Phenoliferia* sp. nov (BMA 95), e somente um isolado foi capaz de produzir as seis atividades enzimáticas extracelulares, BMA 94 (*A. melanogenum*) e teve uma atividade forte para todas enzimas. Nas tabelas suplementares (1-3), pode-se observar o perfil biotecnológico dos isolados de leveduras associadas a filosfera de bromélias da Caatinga, cerca de 85% (n = 204) dos isolados testados) foram capazes de produzir pelo menos uma das enzimas analisadas neste estudo, dos quais 58,5% (n = 140) dos isolados tiveram uma atividade enzimática forte (++)

Gráfico 1. Quantidade de isolados que foram capazes de produzir pelo menos 1, 2, 3 ou ≥ 4 enzimas com seus respectivos percentuais.



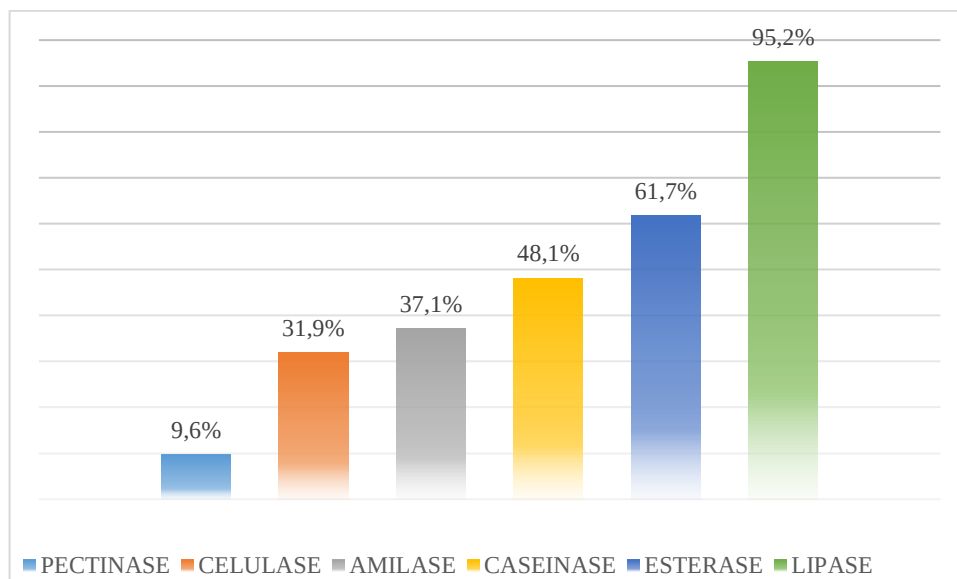
No gráfico 2 é possível identificar o perfil enzimático das leveduras isoladas da filosfera referente cada enzima extracelular testada neste estudo, assim como a classificação da produção enzimática sendo: forte (++), positivo (+), fraco (w), negativo (-). Destacando que as enzimas hidrolíticas extracelulares mais produzidas em número absoluto de isolados: esterase (n = 137), seguida de caseinase (n = 87), amilase (n = 82), celulase (n = 68), lipase (n = 40) e pectinase (n = 16).

Gráfico 2. Número de linhagens de leveduras produtoras de cada enzima extracelular analisada.



Já as enzimas hidrolíticas extracelulares mais produzidas pelas leveduras obtidas a partir de amostras de bromélias da Caatinga alagoana em percentagens foram: lipase (95,2%), esterase (61,7%), caseinase (48,06), celulase (31,9%), amilase (37,1%) e pectinase (9,63%) (gráfico 3).

Gráfico 3. Porcentagem de enzimas extracelulares mais produzidas (%) pelas leveduras obtidas a partir de amostras de bromélias da Caatinga alagoana.



Analisando os locais, a melhor produção de enzimas hidrolíticas foi em Serra Caiçara com 135 isolados produtores de pelo menos uma das enzimas analisadas, aproximadamente 66 % (tabelas suplementares1-3).

Das linhagens de leveduras que obtiveram melhores resultados quanto o número de enzimas extracelulares como positivas (+) e fortemente positivas (++) foram: *R. poonsookiae* (BMA 56), *P. hubeiensis* (BMA 69), *S. marina* (BMA 83), *Não identificada* (BMA 90), *A. melanogenum* (BMA 94), *Phenoliferia* sp. nov. (BMA 95) e *A. pullulans* (BMA96) (Tabela 7).

Tabela 7. Linhagens de leveduras que obtiveram produção de 4 ou mais enzimas extracelulares (positivas (+) e/ou fortemente positivas (++)) e representam os melhores resultados

Linhagem	Identificação	Enzimas					
		Lipase	Celulase	Esterase	Amilase	Pectinase	Protease
BMA 56	<i>R. poonsookiae</i>	+	++	-	+	++	-
BMA 69	<i>P. hubeiensis</i>	+	+	-	++	-	++
BMA 83	<i>S. marina</i>	++	+	++	+	++	-
BMA 90	<i>Não identificada</i>	++	(w)	+	+	++	-
BMA 94	<i>A. melanogenum</i>	++	++	++	++	++	++
BMA 95	<i>Phenoliferia</i> sp. nov.	NR	++	++	(w)	+	++
BMA 96	<i>A. pullulans</i>	-	(w)	++	++	++	++

++ (atividade forte), + (atividade positiva), **w** (fraca atividade), - (sem atividade), **NR** (teste não realizado)

6. DISCUSSÃO

A habilidade dos micro-organismos de conseguirem buscar e explorar diferentes substratos e obterem os nutrientes necessários em ambientes oligotróficos ou estressantes como a folha serve como uma estratégia de evitarem a desnutrição ou morte celular (BURNS *et al.*, 2013) e essa capacidade foi observada nas leveduras isoladas da Caatinga alagoana, demonstrando a capacidade de degradar diferentes substratos.

Os micro-organismos isolados a partir do filoplano da Caatinga convivem com estas questões para colonizarem o microambiente oligotrófico, o que pode ser um fator limitante para se estabelecerem. Além disso, a produção de enzimas depende de aminoácidos, para tanto necessitam de C e N, nutrientes que são necessários para o metabolismo dos micro-organismos, então para que ocorra a sua produção é necessário que o gasto energético valha a pena para obter aquele nutriente específico (ALLISON, 2005; SMITH; CHAPMAN, 2010).

A bioprospecção de leveduras em regiões como a Caatinga podem representar uma alternativa promissora para substituição de processos de alto custo para indústria com menor gasto de energia (e.g. aplicação de lipases para hidrolisar o piche), já que a capacidade dos isolados de leveduras deste estudo, em hidrolisar os substratos, pode representar uma fonte potencial de encontrar micro-organismos com características únicas, que podem ser interessantes industrialmente para aplicabilidade em diversos setores da biotecnologia branca. Além de utilizar recursos mais ecológicos para o meio ambiente e suprir as necessidades de produção de bens de consumo para a humanidade (ALCALDE *et al.*, 2006; JEGANNATHAN; NIELSEN, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Comparando a produção enzimática melhores produtores do presente estudo com a literatura, observa-se que para muitas espécies já há correlação biotecnológica, principalmente para a produção de enzimas extracelulares, como por exemplo: *A. pullulans* linhagens HB64 e S3 (BUSSAMARA *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2019) ; *Rhodotorula mucilaginosa* MTCC 8737 (TREICHEL *et al.*, 2010); *Pseudozyma hubeiensis* HB85A, *Pseudozyma* spp. HB27A (BUSSAMARA *et al.*, 2010); *Papiliotrema laurentii* AM113 (WANG; LIU; LIANG, 2018); *Saitozyma flava* ON6 (KIM *et al.*, 2018) e *Rhodospiridiobolus poonsookiae* Y08RA07 (KANTI *et al.*, 2012).

Espécies como *A. pullulans* e os gêneros *Rhodotorula* e *Phenoliferia* se caracterizam por apresentarem alta plasticidade o que possibilita colonizarem diferentes habitats com características extremas (salinidade e temperatura). *S. marina* e *R. poonsookiae* já foram

isoladas de plantas na filosfera e têm sido importantes nas aplicações de enzimas hidrolíticas como amilase, proteases e lipases para indústria. A espécie *P. hubeiensis* possui também um grande potencial biotecnológico reportado na literatura, porém ainda subexplorado. Linhagens isoladas da Caatinga, que podem representar uma alternativa ecológica para biotecnologia (CARVALHO *et al.*, 2013; CHI *et al.*, 2009; GOSTINČAR *et al.*, 2014; MENEZES *et al.*, 2019; NAVARRO, 2018; WANG; JIA; BAI, 2006).

Quanto ao local de obtenção dos isolados que apresentaram os melhores resultados para a produção das enzimas, a Serra Caiçara, local que se obteve mais linhagens produtoras, é uma área não protegida ao contrário do outro ponto de amostragem. O ponto de amostragem Serra Caiçara é uma região mais arbustiva, que pode ser decorrente de ações antrópicas, e as leveduras existente nessa área podem sofrer mais estresses, portanto podem precisar de maior plasticidade para habitarem a região. Além disso, a medida que os padrões de precipitação são alterados, as atividades enzimáticas no ambiente também podem ser alteradas, já que a produção enzimática é controlada por fatores abióticos e bióticos, gerando consequências em funções do ecossistema, como ciclagem de nutrientes (BURNS *et al.*, 2013).

Outras regiões já foram estudadas quanto à produção enzimática por leveduras (BRANDÃO *et al.*, 2011; CARVALHO *et al.*, 2013; GARCÍA *et al.*, 2007; GOLDBECK; MAUGERI, 2013; MAUTONE *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2015). O estudo de Brandão e colaboradores (2011) reporta a bioprospecção de leveduras de lagos da Patagônia, onde 82% dos isolados foram capazes de produzir pelo menos uma enzima, resultado semelhante a este atual trabalho onde aproximadamente 87% dos isolados tiveram a mesma produção. A enzima esterase foi a mais produzida neste ambiente (aprox. 71%), seguida de celulase (53%), pectinase (42,9%), amilase (26,8%) e protease (22,1%). Contrapondo-se ao presente estudo, no qual somente 9,6% das linhagens foram capazes de produzir pectinase, o trabalho reportou boa produção enzimática em um ambiente considerado oligotrófico. Neste ambiente, com temperaturas baixas, pode-se designar a termolabilidade das enzimas como vantagem em relação às produzidas em temperaturas altas, pois em etapas de inativação seletiva no processo industrial pode ser muito útil (JAVED; QAZI, 2016).

O perfil enzimático das leveduras isoladas da Caatinga alagoana analisadas neste estudo representa um grande potencial biotecnológico para produção de enzimas extracelulares que podem ser interessantes para aplicabilidade industrial e que pode exprimir uma fonte de micro-organismos com características únicas. A comparação com outros estudos pode observada na tabela 8.

Tabela 8. Comparação da produção enzimática da Caatinga alagoana com outros estudos.

Substrato	Produção enzimática %						Referência
	Lipase	Celulase	Esterase	Amilase	Pectinase	Protease	
Filosfera	95,2%	31,9%	61,7%	34,3%	9,6%	36,4%	*
Fruto	43%	NR	NR	0,7%	NR	NR	(OLIVEIRA, 2015)
solo	NR	5,8%	NR	NR	NR	NR	(CARVALHO <i>et al.</i> , 2013)
Flor, fruto, solo	55,7%	NR	NR	NR	NR	NR	(GOLDBECK; MAUGERI, 2013)
Lagos	NR	53%	71%	26,8%	42,9%	22,1%	(BRANDÃO <i>et al.</i> , 2011)
Filoplano	NR	NR	45,3%	15,0%	NR	54%	(MAUTONE <i>et al.</i> , 2010)
Rios	98%	NR	98%	15-20%	15-20%	15-20%	(GARCÍA <i>et al.</i> , 2007)
Folhas, frutos	61,9%	NR	NR	NR	NR	NR	(KUDANGA <i>et al.</i> , 2007)
Águas	16-69%	NR	43-58%	8-17%	4-18%	NR	(GARCÍA <i>et al.</i> , 2007)
Frutos	NR	NR	NR	NR	7,0%	NR	(SILVA <i>et al.</i> , 2005)
Diversos	40,3%	NR	43,3%	7,8%	10,6%	15,6%	(BUZZINI; MARTINI, 2002)
Frutos e inseto	NR	NR	NR	NR	NR	26,4%	(BRAGA; MORAIS; LINARDI, 1998)

* Este estudo; **NR** (teste não realizado)

Mautone e colaboradores (2010), ao avaliarem o potencial biotecnológico de leveduras isoladas a partir de plantas da Mata Atlântica *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae), *Coussapoa microcarpa* (Urticaceae), *Ficus cestripholia*, *Ficus luschnathiana* (Moraceae) e 11 espécies de Bromeliaceae do Parque Itapuã, Viamão, RS, encontraram um número maior de produtores de esterase (45,3%), seguida de amilase (15%), caseinase (38,11%) e gelatinase (16,1%). Comparando, leveduras isoladas deste estudo, foi encontrado um alto percentual de produção enzimática de amilase (37,1%), caseinase (48%) e esterase (61,7%).

As plantas do bioma Caatinga (Floresta Tropical sazonalmente seca), contrapondo-se às da Mata Atlântica (Floresta Tropical úmida), possuem uma camada hidrofóbica maior, que protege contra dessecação e outros estresses (SANTOS *et al.*, 2011; VACHER *et al.*, 2016), o que pode estar relacionado com a melhor potencial para produção de esterase na região seca.

Em um trabalho realizado por Oliveira (2015) no Cerrado, foi testada a capacidade de leveduras isoladas de frutos produzirem enzimas extracelulares (amilase, lipase, pectinase e protease) em temperatura de 35 °C por 21 dias. Ao total foram testados 142 isolados de leveduras, destes 61 foram capazes de produzir lipase (42,9%), 1 amilase e nenhum isolado produziu pectinase ou protease. No estudo atual foi utilizado temperaturas e tempo de incubação diferentes e obteve-se resultados diferentes (amilase 37,1%, pectinase 9,6%, protease 48%).

Goldbeck e Maugeri (2013) isolaram leveduras a partir de solo, flores e frutos de diversos biomas do Brasil (Mata Atlântica (São Paulo), Cerrado (Goiás), Pantanal (Mato Grosso do Sul) e Floresta Amazônica (Amazonas) e avaliaram o potencial biotecnológico de leveduras para produção de lipase. Cerca de 55% dos isolados foram capazes de produzir a enzima, enquanto que a produção de lipase no atual trabalho foi de 92,5%.

Os trabalhos de Oliveira (2015) e Goldbeck e Maugeri (2013), utilizaram metodologias diferentes para a realização dos testes enzimáticos, o que demonstra que a metodologia empregada nos testes enzimáticos pode resultar em resultados únicos, além de que cada linhagem isolada possui características intrínsecas (GOPINATH *et al.*, 2017).

A diversidade biológica do Brasil ainda é pouco estudada, e o conhecimento da Caatinga em relação a outros ecossistemas é menor, e agravando isto, há vários processos de degradação da área (e.g. desflorestamento e mau uso dos recursos) (SILVA; COELHO; SILVA, 2015). No estado de Alagoas também há um déficit no conhecimento da biodiversidade local, o que eleva a importância deste trabalho e a necessidade de mais estudos. Ademais, os resultados encontrados no atual estudo demonstram que a região tem um alto potencial para encontrar micro-organismos produtores de enzimas extracelulares, como as leveduras isoladas de bromélias do semiárido nordestino e com uma grande possibilidade de possuírem características interessantes devido às adaptações ao habitat (tolerância a altas temperaturas médias anuais, radiação solar e baixa nebulosidade (PRADO, 2003), que podem ser aplicadas em diferentes setores industriais como alternativa mais promissora do uso atual nessa área.

7. CONCLUSÕES

Diante do exposto, a bioprospecção de leveduras associadas a filosfera de bromélias do bioma Caatinga de alagoas representou uma boa fonte para obtenção de linhagens de micro-organismos e apresentou um potencial biotecnológico significativo para a produção de diferentes enzimas extracelulares. As mais produzidas foram: lipase, esterase, seguidas de caseinase, amilase, celulase e pectinase, estas enzimas hidrolíticas possuem uma grande importância na biotecnologia branca. A região Serra Caiçara, se destacou como a área mais promissora para obtenção das linhagens produtoras das enzimas, porém ainda não é protegida e pode sofrer com degradações antrópicas, o que se torna necessário a implementação de políticas de proteção para área. Estudos, como este são de extrema importância para o organizar conhecimento da região semiárida para preservação, conservação e uso dos recursos e compreender seu potencial.

Estes resultados obtidos são promissores e a perspectiva que o trabalho tenha continuidade para elucidar as características das enzimas, buscar substratos com menor custo de produção e torna-las mais atrativas para aplicabilidade industrial. Visto que o Brasil, neste campo, importa enzimas, mas com a sua rica diversidade biológica, o país tem o potencial de ser um grande produtor se mais estudos se desenvolverem em regiões pouco exploradas e com características únicas como o bioma Caatinga.

REFERÊNCIAS

- AB'SABER, A. N. Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas. *In*: FILHO-MARTINS, Plínio (org.). 1. ed. São Paulo: Atelie Editorial, 2003. p. 83–100. *E-book*.
- ALCAÍNO, J.; CIFUENTES, V.; BAEZA, M. Physiological adaptations of yeasts living in cold environments and their potential applications. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 31, n. 10, p. 1467–1473, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1900-8>
- ALCALDE, M. *et al.* Environmental biocatalysis: from remediation with enzymes to novel green processes. **Trends in Biotechnology**, [S. l.], v. 24, n. 6, p. 281–287, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.04.002>
- ALLISON, S. D. Cheaters, diffusion and nutrients constrain decomposition by microbial enzymes in spatially structured environments. **Ecology Letters**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. 626–635, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00756.x>
- ALVES, P. D. D. *et al.* Survey of Microbial Enzymes in Soil, Water, and Plant Microenvironments. **The Open Microbiology Journal**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 25–31, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1874285801408010025>
- ARAÚJO, E. L.; CASTRO, C. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Dynamics of Brazilian Caatinga- A Review Concerning the Plants, Environment and People. **Functional Ecosystems and Communities**, [S. l.], 2007.
- ARNOSTI, C. Microbial Extracellular Enzymes and the Marine Carbon Cycle. **The Annual Review of Marine Science**, [S. l.], v. 3, p. 401–425, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142731>
- ATLAS, R. M. **Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition**. 4. ed. London: CRC Press, 2010. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/ebk1439804063>
- BARCELOS, M. C. S. *et al.* The colors of biotechnology: General overview and developments of white, green and blue areas. **FEMS Microbiology Letters**, [S. l.], v. 365, n. 21, p. 1–11, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsle/fny239>
- BARRIGA, E. J. C. *et al.* Yeasts biodiversity and its significance: case studies in natural and

human-related environments, ex situ preservation, application and challenges. In: GRILLO, Oscar; VENORA, Gianfranco (org.). **Changing Diversity in Changing Environment**. [S. l.]: BoD – Books on Demand, 2011. p. 55–86. *E-book*.

BENZING, D. H. BROMELIACEAE: PROFILE OF AN ADAPTIVE RADIATION. In: 1. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. p. 4–4; 187–194. *E-book*.

BLANCO, P.; SIEIRO, C.; VILLA, T. G. Production of pectic enzymes in yeasts. **FEMS Microbiology Letters**, [S. l.], v. 175, n. 1, p. 1–9, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13595.x>

BORNSCHEUER, U. T. Microbial carboxyl esterases: Classification, properties and application in biocatalysis. **FEMS Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 73–81, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(01\)00075-4](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(01)00075-4)

BRAGA, A. A.; MORAIS, P. B.; LINARDI, V. R. Screening of yeasts from Brazilian Amazon rain forest for extracellular proteinases production. **Systematic and Applied Microbiology**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 353–359, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(98\)80044-1](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(98)80044-1)

BRANDÃO, L. R. *et al.* Yeasts from an oligotrophic lake in Patagonia (Argentina): Diversity, distribution and synthesis of photoprotective compounds and extracellular enzymes. **FEMS Microbiology Ecology**, [S. l.], v. 76, n. 1, p. 1–13, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.01030.x>

BRINGEL, F.; COUÉE, I. Pivotal roles of phyllosphere microorganisms at the interface between plant functioning and atmospheric trace gas dynamics. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 6, n. MAY, p. 1–14, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00486>

BUCHHOLZ, K.; COLLINS, J. **Concepts in Biotechnology: History, Science and Business**. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2014. *E-book*.

BURNS, R. G. *et al.* Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. **Soil Biology and Biochemistry**, [S. l.], v. 58, n. December 2018, p. 216–234, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>

BUSSAMARA, R. *et al.* Isolation of a lipase-secreting yeast for enzyme production in a pilot-plant scale batch fermentation. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 101, n. 1, p. 268–275,

2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.063>

BUZZINI, P.; LACHANCE, M.; YURKOV, A. **Yeasts in natural ecosystems: Ecology**. Berlin: Springer, 2017. *E-book*.

BUZZINI, P.; MARTINI, A. Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 93, n. 6, p. 1020–1025, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01783.x>

CARVALHO, F. P. *et al.* Yeasts diversity in Brazilian Cerrado soils: Study of the enzymatic activities. **African Journal of Microbiology Research**, [S. l.], v. 7, n. 32, p. 4176–4190, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/ajmr2013.5752>

CASTRO, A. M.; PEREIRA, N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 181–188, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0100-40422010000100031>

CHAPPELL, C. R.; FUKAMI, T. Nectar yeasts: a natural microcosm for ecology. **Yeast**, [S. l.], v. 35, n. 6, p. 417–423, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/yea.3311>

CHI, Z. *et al.* Bioproducts from *Aureobasidium pullulans*, a biotechnologically important yeast. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 82, n. 5, p. 793–804, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1882-2>

COELHO, M. A.; RIBEIRO, B. D. White Biotechnology for Sustainable Chemistry. In: **RSC Green Chemistry**. [S. l.]: Royal Society of Chemistry, 2016. p. 2–2. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/9781782624080>

CROUS, P. W. *et al.* Fungal Planet description sheets : 716 – 784. **PERSOONIA**, [S. l.], v. 40, p. 240–393, 2018. Disponível em: <https://doi.org/doi.org/10.3767/>

CROUS, P. W. *et al.* Fungal Planet description sheets : 868 – 950. **PERSOONIA**, [S. l.], v. 42, p. 291–473, 2019.

CROUS, P. W. *et al.* Fungal Planet description sheets: 1042–1111. **PERSOONIA**, [S. l.], v. 44, p. 368–369, 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. 2020. - Disponível em ><https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/16390353/enzimas-promovem-677777777producao-mais-limpa-de-biodiesel><Acesso em 19 de agosto de 2020, [s. l.], 2020.

Enzyme Commission, 2020. [s. d.]. - Disponível ><https://www.enzyme-database.org/rules.php>> Acesso em 25 de maio de 2020., [s. l.], [s. d.].

FELIX, C. R. *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**, [S. l.], v. 67, n. 6, p. 1752–1757, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001856>

FÉLIX, C. R. **Diversidade, Taxonomia e Ecologia de leveduras associadas a bromélias da Caatinga no Estado de Alagoas/Brasil.** 2019. - 100f. Dissertação (Mestrado acadêmico) Universidade Federal de Alagoas - Câmpus A.C. Simões - Curso de Pós Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, 2019, [s. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

FÉLIX, C. R. *et al.* Vishniacozyma alagoana sp. nov. a tremellomycetes yeast associated with plants from dry and rainfall tropical forests. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, [S. l.], v. 70, p. 1–6, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004193>

GARCÍA, V. *et al.* Biodiversity of cold-adapted yeasts from glacial meltwater rivers in Patagonia, Argentina. **FEMS Microbiology Ecology**, [S. l.], v. 59, n. 2, p. 331–341, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00239.x>

GIVNISH, T. J. *et al.* Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [S. l.], v. 71, n. 1, p. 55–78, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.10.010>

GOLDBECK, R.; MAUGERI, F. Screening, characterization, and bioGOLDBECK, R.; MAUGERI, F. Screening, characterization, and biocatalytic capacity of lipases producing wild yeasts from Brazil biomes. Food Science and Biotechnology, [S. l.], v. 22, n. SUPPL. 1, p. 79–87, 2013. Disponív. **Food Science and Biotechnology**, [S. l.], v. 22, n. SUPPL. 1, p. 79–87, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0052-6>

GOMES, F. C. O. *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, International Journal of General and Molecular Microbiology**, [S. l.], v. 107, n. 2, p. 597–611, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0356-4>

GOPINATH, S. C. B. *et al.* Biotechnological Processes in Microbial Amylase Production. **BioMed research international**, [S. l.], p. 1–9, 2017.

GOSTINČAR, C. *et al.* Genome sequencing of four *Aureobasidium pullulans* varieties: Biotechnological potential, stress tolerance, and description of new species. **BMC Genomics**, [S. l.], v. 15, n. 1, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-549>

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2020. [s. d.]. - Disponível em ><https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/25798-ibge-lanca-mapa-inedito-de-biomas-e-sistema-costeiro-marinho>> Acesso em 02 julho de 2020., [s. l.], [s. d.].

Instituto do Meio Ambiente -AL, 2020. [s. d.]. - Disponível em: <<https://www.ima.al.gov.br/unidades-de-conservacao-sao-estrategias-de-protecao-do-bioma-caatinga/>> Acesso em 05 de maio de 2020., [s. l.], [s. d.].

JAVED, A.; QAZI, J. I. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences. **American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 103–120, 2016. Disponível em: https://asrjetsjournal.org/index.php/American_Scientific_Journal/article/view/1916

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. **Process Biochemistry**, [S. l.], v. 40, n. 9, p. 2931–2944, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.026>

JEGANNATHAN, K. R.; NIELSEN, P. H. Environmental assessment of enzyme use in industrial production-a literature review. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 42, n. 13, p. 228–240, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.11.005>

KAFARSKI, P. Science Rainbow code of biotechnology. **Chemik**, [S. l.], v. 66, n. 8, p. 811–816, 2012.

KANTI, A. *et al.* Cellulolytic Yeast Isolated From Raja Ampat Indonesia. [S. l.], v. 16, n. 1, p. 27–34, 2012.

KHAN, A. R.; JAMES, M. N. G. Molecular mechanisms for the conversion of zymogens to active proteolytic enzymes. **Protein Science**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 815–836, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pro.5560070401>

KIM, J. Y. *et al.* Cellulose degrading basidiomycetes yeast isolated from the gut of

grasshopper in Korea. **Korean Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 54, n. 4, p. 362–368, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.7845/kjm.2018.8079>

KITAMOTO, H. The phylloplane yeast *Pseudozyma*: A rich potential for biotechnology. **FEMS Yeast Research**, [S. l.], v. 19, n. 5, p. 1–6, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsyr/foz053>

KUDANGA, T. *et al.* Esterases and putative lipases from tropical isolates of *Aureobasidium pullulans*. **Journal of Basic Microbiology**, [S. l.], v. 47, n. 2, p. 138–147, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jobm.200610207>

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. **The yeasts, a taxonomic study**. 4. ed. Amsterdam:: [s. n.], 1998. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1201/9780203734551-3>

LANDELL, M. F. *et al.* *Cryptococcus bromeliarum* sp. nov., an orange-coloured basidiomycetous yeast isolated from bromeliads in Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 59, n. 4, p. 910–913, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.005652-0>

LANDELL, M. F. *et al.* *Candida aechmeae* sp. nov. and *Candida vriesiae* sp. nov., novel yeast species isolated from the phylloplane of bromeliads in Southern Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 60, n. 1, p. 244–248, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.011577-0>

LANDELL, M. F. *et al.* *Bullera vriesiae* sp. Nov., a tremellaceous yeast species isolated from bromeliads. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 65, n. 8, p. 2466–2471, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000285>

LANDELL, M. F.; MAUTONE, J. N.; VALENTE, P. Biodiversity of Yeasts Associated To Bromeliads in Itapuã Park , Viamão / Rs. **Biociencias**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 144–149, 2006.

LEAL, I. R. *et al.* Changing the course of biodiversity conservation in the caatinga of northeastern Brazil. **Conservation Biology**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 701–706, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00703.x>

LEME, E. M. C.; MARIGO, L. C. **Bromélias na natureza**. [S. l.]: Marigo Comunicação Visual, 1993. *E-book*.

LEROY, C. *et al.* The contribution of microorganisms and metazoans to mineral nutrition in bromeliads. **Journal of Plant Ecology**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 241–255, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1093/jpe/rtv052>

LI, Y. *et al.* Screening, purification, and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* isolated from stuffed buns steamers. **Journal of Zhejiang University: Science B**, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 332–342, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1631/jzus.B1800213>

LI, Z. *et al.* Protease activity of enzyme extracts from tamarillo fruit and their specific hydrolysis of bovine caseins. **Food Research International**, [S. l.], v. 109, n. April, p. 380–386, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.039>

LIMTONG, S.; NASANIT, R. Yeasts in natural ecosystems: Diversity. In: BUZZINI, Pietro; LACHANCE, Marc André; YURKOV, Andrey (org.). **Yeasts in Natural Ecosystems: Diversity**. [S. l.: s. n.]. p. 200–201. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-62683-3>

LINDOW, S. E.; BRANDL, M. T. Microbiology of the Phyllosphere MINIREVIEW Microbiology of the Phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 69, n. 4, p. 1875–1883, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875>

LOPES, D. B. *et al.* Lipase and esterase: to what extent can this classification be applied accurately? **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 603–613, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0101-20612011000300009>

LOPES, P. L.; FALCÃO, N. M.; ANDRADE, E. L. Impactos da seca 2010-2016 em Alagoas. [S. l.], v. 22, n. 44, p. 201–2011, 2017.

LOURENÇO, M. V. M. **Seleção de leveduras para bioconversão de D-xilose em xilitol**. 2009. - 2009. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências. Área de concentração: Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- USP, Piracicaba, [s. l.], 2009.

LUTHER, H. E. AN ALPHABETICAL LIST OF BROMELIAD BINOMIALS. **Marie Selby Botanical Gardens and The Bromeliad Society International**, [S. l.], v. 14, n. September, p. 45, 2014. Disponível em: <http://www.bsi.org/new/wp-content/uploads/2015/01/2014-Binomial-XIV.pdf>

MALAJOVICH, M. A. Biotecnologia. In: 2. ed. Rio de Janeiro: 2016, 2016. p. 1–8. *E-book*.

MANETTI, L. M.; DEIAPORTE, R. H.; LAVERDE, A. Metabólitos secundários da família bromeliaceae. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, n. 7, p. 1885–1897, 2009. Disponível em:

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000700035>

MASOUD, W.; JESPERSEN, L. Pectin degrading enzymes in yeasts involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa. **International Journal of Food Microbiology**, [S. l.], v. 110, n. 3, p. 291–296, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.030>

MAUTONE, J. N. *et al.* Phylloplane yeasts as a source of industrially interesting enzymes. **Brazilian Journal of Biosciences**, [S. l.], v. 8, n. 9, p. 169–173, 2010.

MEDINA, E. Eco-fisiologia y evolucion de las Bromeliaceae. In: 59. ed. Cordoba: Boletín de la Academia Nacional de Ciencias, 1990. p. 71–100. *E-book*.

MENDES, A. A. *et al.* Application of lipases for wastewater treatment containing high levels of lipids. **Química Nova**, [S. l.], v. 28, n. 2, p. 296–305, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0100-40422005000200022>

MENEZES, G. C. A. *et al.* Diversity, distribution, and ecology of fungi in the seasonal snow of antarctica. **Microorganisms**, [S. l.], v. 7, n. 10, p. 1–16, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7100445>

Ministério do Meio Ambiente, 2018. [s. d.]. - Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>> Acesso em 21 de março de 2018., [S. l.], [s. d.].

MITTELBAACH, M. *et al.* Nectar sugars and bird visitation define a floral niche for basidiomycetous yeast on the Canary Islands. **BMC Ecology**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–13, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12898-015-0036-x>

MORO, M. F. *et al.* A Phytogeographical Metaanalysis of the Semiarid Caatinga Domain in Brazil. **Botanical Review**, [S. l.], v. 82, n. 2, p. 91–148, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12229-016-9164-z>

NAJAFI, M. F.; DEOBAGKAR, D.; DEOBAGKAR, D. Potential application of protease isolated from *Pseudomonas aeruginosa* PD100. **Electronic Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 197–203, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.2225/vol8-issue2-fulltext-5>

NAM, H. *et al.* Network context and selection in the evolution to enzyme specificity. **Science**, [S. l.], v. 337, n. 6098, p. 1101–1104, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1216861>

NANDY, S. K.; SRIVASTAVA, R. K. A review on sustainable yeast biotechnological processes and applications. **Microbiological Research**, [S. l.], v. 207, n. November 2017, p. 83–90, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.013>

NAVARRO, H. M. C. **Diversidade e taxonomia polifásica de leveduras associadas á família bromeliaceae na mata atlântica setentrional**. 2018. - 2018. 115f. Dissertação (Mestrado acadêmico) Universidade Federal de Alagoas - Câmpus A.C. Simões - Curso de Pós Graduação em Diversidade Biológica e Conservação nos Trópicos, 2018, [s. l.], 2018.

NIMER, E. Climatologia da Região Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira Geografia**, [S. l.], v. 34, n. 2, p. 3–51, 1972.

O Eco, 2020. [s. d.]. - Disponível em: < <https://www.oeco.org.br/noticias/24739-nova-especie-descoberta-na-caatinga/> > Acesso em 20 de agosto de 2020, [s. l.], [s. d.].

OLIVEIRA, D. A. C. *et al.* Utilização De Resíduos Da Agroindústria Para a Produção De Enzimas Lipolíticas Por Fermentação Submersa. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, [S. l.], v. 15, n. 8, p. 19–26, 2013.

OLIVEIRA, T. S. **Seleção De Leveduras De Frutos Do Cerrado Tocantinense Para Produção De Hidrolases E Otimização De Suas Condições De Cultivo**. 2015. - 2015. 79f. Dissertação (Mestrado Acadêmico) Universidade Federal do Tocantins– Câmpus Universitário de Palmas- Curso de Pós Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, [s. l.], 2015. Disponível em: [https://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/286/1/Tássia de Sousa Oliveira - Dissertação.pdf](https://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/286/1/Tássia%20de%20Sousa%20Oliveira%20Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf)

ONSORI, H. *et al.* Identification of over producer strain of endo- β -1,4-glucanase in *Aspergillus* Species: Characterization of crude carboxymethyl cellulase. **African Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 26–30, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3007>

PAGANI, D. M. *et al.* *Papiliotrema leoncinii* sp. nov. and *Papiliotrema miconiae* sp. nov., two tremellaceous yeast species from Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 66, n. 4, p. 1799–1806, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000945>

PHAFF, H. J. Yeasts associated with plants, insects and soil. In: ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. (org.). **The yeasts, biology of yeasts**. [S. l.: s. n.]. v. 1p. 123–180. *E-book*.

POZO, M. I.; HERRERA, C. M.; BAZAGA, P. Species Richness of Yeast Communities in Floral Nectar of Southern Spanish Plants. **Microbial Ecology**, [S. l.], v. 61, n. 1, p. 82–91, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9682-x>

PRADO, D. E. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (org.). **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Recife, Brasil: Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, 2003. v. 1p. 3–73. *E-book*.

RAZZAQ, A. *et al.* Microbial proteases applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [S. l.], v. 7, n. JUN, p. 1–20, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00110>

ROBINSON, P. K. Enzymes: principles and biotechnological applications. **Essays in Biochemistry**, [S. l.], v. 59, p. 1–41, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/BSE0590001>

ROMANÍ, A. M. *et al.* Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: Differential extracellular enzyme activities. **Ecology**, [S. l.], v. 87, n. 10, p. 2559–2569, 2006. Disponível em: [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[2559:IOBAFO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[2559:IOBAFO]2.0.CO;2)

SALGADO, V. *et al.* Isolation and Identification of *Magnusiomyces capitatus* as a Lipase-Producing Yeast from Olive Mill Wastewater. **Waste and Biomass Valorization**, [S. l.], v. 11, n. 7, p. 3207–3221, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00725-7>

SANTOS, J. C. *et al.* Caatinga: The scientific negligence experienced by a dry tropical forest. **Tropical Conservation Science**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 276–286, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/194008291100400306>

SEWALT, V. *et al.* The Generally Recognized as Safe (GRAS) process for industrial microbial enzymes. **Industrial Biotechnology**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. 295–302, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/ind.2016.0011>

SILVA, E. G. *et al.* Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. **FEMS Yeast Research**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 859–865, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.femsyr.2005.02.006>

SILVA, I.; COELHO, L.; SILVA, L. Biotechnological Potential of the Brazilian Caatinga Biome. **Advances in Research**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–17, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.9734/air/2015/17426>

SINGH, P.; KUMAR, S. Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects. In: **Microbial Enzyme in Food Biotechnology**. [S. l.]: Academic Press, 2019. p. 19–28. *E-book*.

SINGH, S.; BAJAJ, B. K. Potential application spectrum of microbial proteases for clean and green industrial production. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 2, n. 6, p. 370–386, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40974-017-0076-5>

SKARŻYŃSKA, E. *et al.* Comparison of protease and aminopeptidase activities in meconium: A pilot study. **Biomedical Reports**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/br.2020.1314>

SMITH, D. R.; CHAPMAN, M. R. Economical Evolution : Microbes Economical Evolution : Microbes Reduce the Synthetic Cost of. **mBIO**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. e00131-10, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mBio.00131-10>. Updated

STEELE, B.; STOWERS, M. Techniques For Selection Of Industrially Important Microorganisms. **Annual Review of Microbiology**, [S. l.], v. 45, n. 1, p. 89–106, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.45.1.89>

STRAUSS, M. L. A. *et al.* Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-Saccharomyces wine yeasts. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 91, n. 1, p. 182–190, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01379.x>

SUNDARRAM, A.; MURTHY, T. P. K. α -Amylase Production and Applications : A Review. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 2, n. 4, p. 166–175, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.12691/jaem-2-4-10>

TEATHER, R. M.; WOOD, P. J. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, [S. l.], v. 43, n. 4, p. 777–780, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.43.4.777-780.1982>

TREICHEL, H. *et al.* A review on microbial lipases production. **Food and Bioprocess Technology**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 182–196, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0202-2>

TSUJI, M.; KUDOH, S. **Soil yeasts in the vicinity of Syowa station, East Antarctica:**

Their diversity and extracellular enzymes, cold adaptation strategies, and secondary metabolites. [S. l.: s. n.] Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su12114518>

VACHER, C. *et al.* The Phyllosphere: Microbial Jungle at the Plant-Climate Interface. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, [S. l.], v. 47, n. June, p. 1–24, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-121415-032238>

VU, D. *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**, [S. l.], v. 85, p. 91–105, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.007>

WALKER, G. M. **Yeast physiology and biotechnonology**. 1. ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 1998. *E-book*.

WALKER, G. M. Yeasts. **Encyclopedia of Microbiology**, [S. l.], p. 478–491, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00335-7>

WANG, G.; LIU, L.; LIANG, W. Single Cell Oil Production from Hydrolysates of Inulin by a Newly Isolated Yeast *Papiliotrema laurentii* AM113 for Biodiesel Making. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S. l.], v. 184, n. 1, p. 168–181, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2538-9>

WANG, Q. M.; JIA, J. H.; BAI, F. Y. *Pseudozyma hubeiensis* sp. nov. and *Pseudozyma shanxiensis* sp. nov., novel ustilaginomycetous anamorphic yeast species from plant leaves. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 289–293, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63827-0>

YANG, H. *et al.* The production and application of enzymes related to the quality of fruit wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], p. 1–11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1763251>

ANEXOS

Tabela suplementar 1. Perfil enzimático de leveduras associadas a filosfera (filoplano) de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BMA 118	++	++	NR	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 119	(w)	+	NR	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 227	(w)	(w)	++	(w)	NR	++	Serra Caiçara
”	BMA 252	(w)	-	++	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 186	(w)	-	+	+	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BMA 48	++	-	++	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 304	-	++	++	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BMA 86	(w)	-	-	+	(w)	++	Serra Caiçara
”	BMA 78	-	+	-	(w)	++	-	Serra Caiçara
”	BMA 65	-	(w)	-	(w)	(w)	-	Serra Caiçara
”	BMA 73	-	(w)	-	++	+	-	Serra Caiçara
”	BRT 16	++	-	-	+	+	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 91	(w)	-	-	+	+	-	Serra Caiçara
”	BMA 85	(w)	+	-	+	(w)	-	Serra Caiçara
”	BMA 57	(w)	++	-	++	++	-	Serra Caiçara
”	BRT 172	-	(w)	-	(w)	NR	++	Serra Caiçara
”	BRT 08	++	-	(w)	+	++	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 194	(w)	++	++	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 192	(w)	++	(w)	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 200	(w)	+	-	+	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 71	(w)	-	-	++	++	++	Serra Caiçara
”	BMA 74	-	-	-	+	++	++	Serra Caiçara
”	BMA 77	-	-	-	++	++	++	Serra Caiçara
”	BMA 79	+	-	-	+	++	-	Serra Caiçara
”	BMA 81	-	-	-	++	++	+	Serra Caiçara
”	BMA 39	-	++	+	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 45	(w)	-	-	+	+	-	Serra Caiçara
”	BMA 63	++	-	-	+	(w)	-	Serra Caiçara
”	BRT 30	(w)	++	++	(w)	NR	-	RPPN –Tocaia

Continuação - Tabela suplementar 1. Perfil enzimático de leveduras associadas a filosfera (filoplano) de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BMA 76	(w)	(w)	++	+	NR	++	Serra Caiçara
”	BRT 34	-	++	++	+	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 43	-	+	++	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 84	++	(w)	+	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 97	+	+	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 249	(w)	(w)	++	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 01	+	-	-	++	++	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 38	(w)	-	-	++	++	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 25	+	-	-	(w)	+	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 159	-	++	+	++	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 51	+	-	-	++	++	-	Serra Caiçara
”	BMA 213	-	++	++	-	NR	++	Serra Caiçara
”	BMA 103	(w)	-	+	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 29	-	++	++	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 40	+	-	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 115	-	++	NR	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 141	(w)	NR	-	NR	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 208	-	NR	+	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 209	-	NR	NR	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 220	-	-	+	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 229	-	NR	++	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 230	NR	NR	NR	+	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 238	NR	NR	NR	+	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 239	NR	NR	NR	+	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 250	(w)	++	++	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 138	+	NR	-	NR	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 222	(w)	NR	+	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 183	(w)	NR	-	-	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 199	-	NR	-	-	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 289	-	++	++	-	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 294	(w)	-	++	-	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BMA 223	-	NR	+	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 271	-	NR	(w)	(w)	NR	NR	Serra Caiçara

Continuação - Tabela suplementar 1. Perfil enzimático de leveduras associadas a filosfera (filoplano) de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BMA 135	-	NR	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 281	++	-	NR	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 277	-	++	-	++	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 13	(w)	-	++	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 182	-	++	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 266	-	(w)	+	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 226	-	-	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 270	-	NR	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 169	-	NR	-	-	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 184	-	NR	+	(w)	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 317	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 11	-	++	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 59	-	++	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 66	-	+	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 61	-	+	-	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 203	NR	NR	NR	NR	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 242	-	+	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 88	-	-	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 188	(w)	NR	++	NR	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 35	-	-	-	(w)	++	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 170	-	-	(w)	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 05	++	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 181	-	++	(w)	(w)	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 37	-	(w)	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 36	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 153	-	NR	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 60	-	-	-	++	(w)	-	Serra Caiçara
”	BMA 114	-	(w)	NR	NR	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 211	-	NR	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 72	-	-	-	++	+	-	Serra Caiçara
”	BRT 176	-	NR	-	++	NR	-	RPPN –Tocaia

Continuação - Tabela suplementar 1. Perfil enzimático de leveduras associadas a filosfera (filoplano) de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BRT 197	-	-	-	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BMA 236	NR	NR	NR	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 161	-	NR	-	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 282	(w)	-	-	++	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 290	(w)	-	-	+	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 155	NR	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 17	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 116	(w)	NR	NR	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 22	++	+	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 98	-	(w)	NR	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 106	-	(w)	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 202	-	NR	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 42	-	-	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 64	++	-	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 143	(w)	NR	-	(w)	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 32	+	++	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 108	-	-	NR	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 58	-	-		(w)	(w)	-	Serra Caiçara
”	BMA 142	-	++	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 233	-	++	-	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 154	-	++	-	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 02	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 06	-	-	-	+	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 10	+	-	++	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 175	(w)	NR	-	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 04	-	-	-	++	++	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 09	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 107	(w)	-	NR	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 148	-	(w)	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 241	NR	NR	NR	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 228	(w)	-	-	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 157	+	NR	-	NR	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BMA 244	NR	NR	NR	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 245	NR	NR	NR	+	NR	NR	Serra Caiçara

Continuação - Tabela suplementar 1. Perfil enzimático de leveduras associadas a filosfera (filoplano) de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BMA 224	-	-	++	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 139	(w)	-	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 134	-	++	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 46	++	(w)	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 23	-	-	-	++	++	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 70	-	-	-		+	-	Serra Caiçara
”	BMA 80	-	-	-	+	++	-	Serra Caiçara
”	BMA 87	-	-	-	+	++	-	Serra Caiçara
”	BMA 140	-	++	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 24	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 26	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 03	(w)	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 18	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 49	-	-	-	++	++	-	Serra Caiçara
”	BMA 54	-	-	-	-	-	-	Serra Caiçara
”	BMA 62	-	-	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 276	-	(w)	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 19	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 14	-	++	++	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 310	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 205	-	NR	++	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 210	-	NR	++	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 232	NR	NR	NR	(w)	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 240	NR	NR	NR	+	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 267	-	NR	-	+	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 33	-	-	++	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 300	NR	NR	++	NR	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 145	-	++	++	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 265	-	(w)	++	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 12	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 278	NR	NR	-	NR	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 280	-	-	-	(w)	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 178	-	++	-	(w)	NR	-	RPPN –Tocaia

Continuação - Tabela suplementar 1. Perfil enzimático de leveduras associadas a filosfera (filoplano) de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BRT 21	++	-	++	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 168	-	NR	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 179	-	(w)	-	NR	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 187	-	(w)	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BMA 44	-	-	-	++	++	-	Serra Caiçara
”	BMA 104	-	-	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 113	-	-	-	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 131	+	-	++	NR	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 150	-	-	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 212	-	NR	++	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 231	-	(w)	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 261	-	-	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 268	-	NR	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 105	(w)	NR	++	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 136	+	++	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 247	-	-	++	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 103	(w)	-	+	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 31	-	-	-	-	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 173	NR	++	NR	NR	NR	-	RPPN –Tocaia
”	BRT 177	+	NR	(w)	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 299	-	-	-	-	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BRT 302	+	++	-	++	NR	NR	RPPN –Tocaia
”	BMA 41	-	-	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 47	+	-	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 53	-	(w)	+	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 67	NR	-	NR	++	+	NR	Serra Caiçara
”	BMA 75	-	-	-	+	++	++	Serra Caiçara
”	BMA 82	++	-	++	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 89	++	++	-	+	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 90	++	++	+	+	(w)	-	Serra Caiçara
”	BMA 92	+	-	-	+	-	++	Serra Caiçara

Continuação - Tabela suplementar 1. Perfil enzimático de leveduras associadas a filosfera (filoplano) de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BMA 93	-	(w)	-	+	NR	++	Serra Caiçara
”	BMA 109	-	(w)	NR	NR	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 120	+	++		++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 127	+	-	++	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 130	NR	-	NR	NR	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 133	-	++	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 144	NR	-	++	(w)	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 146	(w)	-	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 152	-	NR	-	+	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 234	-	(w)	+	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 258	+	-	-	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 259	-	-	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 260	-	(w)	-	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 262	-	++	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 263	+	+	-	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 272	(w)	++	(w)	NR	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 275	NR	NR	NR	NR	NR	-	Serra Caiçara

++ (atividade forte), + (atividade positiva), w (fraca atividade), - (sem atividade), **NR** (teste não realizado),
RPPN-Tocaia (Reserva Particular do Patrimônio Natural – Tocaia)

Tabela suplementar 2. Perfil enzimático de leveduras isoladas a partir de flores de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
Isolados não identificados								
”	BMA 219	(w)	NR	++	(w)	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 99	(w)	-	++	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 27	-	++	-	-	NR	-	RPPN-Tocaia
”	BRT 28	-	++	-	-	NR	-	RPPN-Tocaia
”	BMA 100	-	NR	-	-	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 101	-	(w)	-	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BMA 102	-	-	NR	++	NR	-	Serra Caiçara
”	BRT 196	-	+	-	-	NR	NR	RPPN-Tocaia
”	BMA 217	-	NR	-	++	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 214	-	NR	(w)	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 216	-	NR	-	(w)	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 218	-	NR	(w)	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BMA 256	++	++	+	(w)	NR	NR	Serra Caiçara

++ (atividade forte), + (atividade positiva), w (fraca atividade), - (sem atividade), **NR** (teste não realizado),
RPPN-Tocaia (Reserva Particular do Patrimônio Natural – Tocaia)

Tabela suplementar 3 - Perfil enzimático de leveduras isoladas a partir de frutos de bromélias da Caatinga alagoana coletadas na Reserva Particular do Patrimônio Natural –Tocaia e Serra Caiçara.

Leveduras	Nº Coleção	Enzimas						Locais de Coleta
		Amilase	Caseinase	Celulase	Esterase	Lipase	Pectinase	
<i>Isolados não identificados</i>								
”	BRT 167	(w)	NR	+	++	NR	NR	RPPN-Tocaia
”	BRT 162	-	+	-	-	NR	-	RPPN-Tocaia
”	BRT 164	-	++	-	-	NR	-	RPPN-Tocaia
”	BRT 189	-	++	-	++	NR	NR	RPPN-Tocaia
”	BRT 190	-	NR	-	-	NR	NR	RPPN-Tocaia
”	BMA 207	-	NR	NR	-	NR	NR	Serra Caiçara
”	BRT 165	-	NR	-	NR	NR	NR	RPPN-Tocaia
”	BRT 166	(w)	NR	-	(w)	NR	NR	RPPN-Tocaia
”	BRT 191	-	++	(w)	-	NR	NR	RPPN-Tocaia
”	BRT 285	-	-	-	(w)	NR	-	RPPN-Tocaia
”	BRT 307	-	-	-	-	NR	-	RPPN-Tocaia
”	BRT 308	-	(w)	-	-	NR	-	RPPN-Tocaia
”	BRT 287	-	++	-	-	NR	-	RPPN-Tocaia
++ (atividade forte), + (atividade positiva), w (fraca atividade), - (sem atividade), NR (teste não realizado), RPPN-Tocaia (Reserva Particular do Patrimônio Natural – Tocaia)								