

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Microbiologia

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO



**COMUNIDADES DE LEVEDURAS
ASSOCIADAS A CACTÁCEAS DE
ECOSSISTEMAS DE CERRADO E
RESTINGA**

Larissa Falabella Daher de Freitas

Belo Horizonte
2014

Larissa Falabella Daher de Freitas

**COMUNIDADES DE LEVEDURAS ASSOCIADAS A CACTÁCEAS DE
ECOSSISTEMAS DE CERRADO E RESTINGA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais
como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Microbiologia.

Orientador: Carlos Augusto Rosa
Departamento de Microbiologia, ICB/UFMG

Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por tudo que Ele sempre foi, é e será para mim. Agradeço por me fortalecer nos momentos de fraqueza e desânimo, por me trazer paz e descanso quanto parecia ser impossível. Por me guiar e colocar pessoas maravilhosas no meio caminho.

Ao Carlos Rosa, pela confiança que sempre teve e por acreditar em mim, pela oportunidade de trabalho, por me ensinar tanto e com tanta paciência. Aprendi muito todo esse tempo e muito disso é graças a você.

À professora Paula Benevides de Moraes, não só por ter aceitado o convite de compor a banca examinadora, como também por ter me recebido tão bem em sua casa!

À Dra. Raquel Miranda Cadete, por ter aceitado o convite de compor a banca examinadora. E por sempre ser tão prestativa e atenciosa!

Ao professor Luiz Henrique Rosa, relator da minha dissertação, por ter aceitado o convite e por sempre estar tão disponível a ajudar.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Ao Fábio Bond por ser tão prestativo me ajudando nas coletas do Sumidouro e por tamanha alegria e diversão. Ao Seu Alberico por me guiar e me ajudar bastante na coleta do Tocantins e pelas lindas fotos tiradas.

Aos amigos do Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos, pelas amizades, alegrias, companheirismo e ensinamentos. Agradeço em especial a Alice, por me ajudar tanto com as análises estatísticas... Muito Obrigada mesmo! Agradeço também a Fran por me acudir nos meus momentos de apuros com minhas coletas, sempre tão prestativa! E agradeço também as minhas amigas Batutas: Barbara, Camila e Zé, por me divertirem tanto e me ajudarem sempre!

Aos meus amigos Hakuna Matata, em especial a Lilia, minha companheira de Mestrado, de sala e de Laboratório. E ao Zazu, obrigada pela amizade de anos, pela cumplicidade e por, muitas vezes, acreditar mais em mim do que eu mesma.

A minha família maravilhosa. Agradeço a minha mãe por tanto amor e dedicação. Ao meu pai por sempre acreditar em mim e apoiar meus estudos. Aos meus

irmãos menores por serem motivos de tantas risadas e alegrias. À vovó pelo amor, cuidado e orações. À Ló, pela amizade, carinho, cuidado, incentivo e ajudas. E ao Pepis, por sempre estar disposto a me ajudar!

A minha célula, por me dar força, escutar meus problemas e sempre orar por mim. E a Mariana, amiga que mesmo tão distante se encontra tão presente!

RESUMO

Os tecidos em decomposição de cactáceas formam um sistema ecológico no qual as leveduras cactofílicas dependem dos insetos vetores para a dispersão, e esses vetores utilizam estes micro-organismos como alimento, já que representam uma rica fonte de vitaminas, esteróis e proteínas. Além disso, as leveduras encontradas são específicas para este habitat, uma vez que é um ambiente tóxico para muitos organismos. Os insetos vetores também são específicos, sendo estes responsáveis pela estruturação das comunidades de leveduras em diferentes espécies de cactáceas. O presente trabalho teve como objetivo estudar a comunidade de leveduras associadas a cactos em ecossistemas brasileiros de Cerrado e Restinga, comparando as comunidades de leveduras associadas a tecidos necróticos, flores e frutos de cactáceas e aos insetos que visitam essas plantas. As coletas foram realizadas no Parque Estadual do Sumidouro (Minas Gerais), no Município de Aurora do Tocantins (Tocantins) e no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (Rio de Janeiro). Um total de 473 leveduras foi obtido, sendo 91 isoladas da coleta do Sumidouro, 209 em Tocantins e 173 na Restinga de Jurubatiba. Os isolados foram agrupados de acordo com o perfil fisiológico e molecular. Um isolado de cada grupo foi submetido ao sequenciamento da região D1/D2 do gene do rRNA. As leveduras mais frequentes em necrose de cactos foram *Pichia cactophila*, *Candida (Ogataea) sonorensis* e *Sporopachydermia cereana* – complexo. Essas espécies são conhecidas por serem as espécies cactofílicas mais comuns, sendo encontradas em diferentes espécies de cactos e em diferentes regiões. *Candida (Kodamaea) restingae*, *Kodamaea nitidulidarum* e *Wickerhamiella cacticola* foram isoladas também com grande frequência, principalmente de flores de cactos e intestino de larvas associadas a este substrato. Foram isoladas ainda 20 possíveis espécies novas de leveduras. *Saccharomycetales* sp. nov., espécie nova filogeneticamente próxima à *Candida nonsorbophila*, foi isolada de todas as três regiões de coleta. Foram encontrados 24 isolados dessa espécie, com ocorrência em tecidos necrosados, flores e frutos de diferentes cactos colunares e em insetos. A espécie *Kluyveromyces marxianus* – similar apresentou diferença de sete pares de base e um *gap* na região D1/D2 com a espécie *Kl. marxianus*. Esta espécie foi isolada com elevada frequência em necroses, flores e frutos do cacto *Cereus saddianus*, de insetos associados com necroses de *Micranthocereus dolichospermaticus* em Aurora do Tocantins, e foi também isolada de uma amostra do

cacto *Pilosocereus arrabidae*, na Restinga de Jurubatiba no Rio de Janeiro. Outras possíveis espécies novas também foram isoladas na coleta realizada no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, como *Candida xylopsoci* – similar, *Erythrobasidium hasegawianum* – similar, “*Starmera pilosocereana* sp. nov.”, *Starmerella* sp. e *Yamadazyma* sp.1. Na coleta realizada em Aurora do Tocantins foram isoladas ainda quatro possíveis espécies novas, *Pichia insulana* – similar, *Wickerhamiella* sp., *Yamadazyma* sp.2 e *Yamadazyma* sp.3. Já no Parque Estadual do Sumidouro foram isoladas as espécies *Barnettozyma* sp., *Bullera arundinariae* – similar, *Candida montana* – similar, *Cryptococcus flavus* – similar, *Dipodascus australiensis* – similar, *Kwoniella* sp., *Meira argovae* – similar, *Sympodiomyopsis* sp.1 e “*Sympodiomyopsis* sp.2”. Este elevado número de espécies novas aponta para a necessidade de estudos acerca de leveduras cactofílicas em ecossistemas brasileiros, uma vez que poucos trabalhos já foram feitos, e nestes, a identificação das espécies foi feita utilizando-se apenas testes fisiológicos. O presente trabalho mostrou que as comunidades de leveduras amostradas foram mais similares dentro de uma mesma região e que a comunidade encontrada em necrose de *C. calcirupicola*, do Cerrado de Minas Gerais, foi mais similar com a comunidade encontrada em *C. pernambucensis*, do ecossistema de Restinga do que com aquelas encontradas em necrose de cactos coletados no ecossistema de Cerrado no Tocantins. Possivelmente as comunidades de leveduras dos cactos *C. calcirupicola* e *C. pernambucensis* apresentam semelhanças nas espécies de insetos vetores. Outra hipótese é que estes cactos tenham composição química do tecido similar, explicando assim a similaridade entre as comunidades de leveduras.

ABSTRACT

Cacti necrotic tissues form an ecological system in which cactophilic yeasts depend on insect vectors for dispersion, and these vectors in turn use these microorganisms as food supply, given that they represent a source of vitamins, sterols and proteins. Furthermore, cactophilic yeasts are specific for this habitat, since it is a toxic environment for many organisms. The insect vectors are also specific, and responsible for the structure of the yeast communities in different cacti species. This study aimed to analyze the yeast communities associated to cacti in Brazilian ecosystems of Cerrado and Restinga, by comparing the yeast communities associated to cacti necrotic tissues, flowers and fruits, and the insects that frequent these plants. The samples were collected in the Parque Estadual do Sumidouro (Minas Gerais), in the city of Aurora do Tocantins (Tocantins) and in the Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (Rio de Janeiro). A total of 473 yeasts were obtained, with 91 isolates collected from Sumidouro, 209 isolates from Tocantins and 173 isolates from Restinga de Jurubatiba. The isolates were grouped according to their physiological and molecular profiles. The D1/D2 region of the large subunit rRNA gene of one isolate from each group was sequenced. The most frequent yeasts in cacti necrosis were *Pichia cactophila*, *Candida (Ogataea) sonorensis* and *Sporopachydermia cereana* – complex. These species are known for being the most common cactophilic species, being found in several cacti species and in different regions. *Candida (Kodamaea) restingae*, *Kodamaea nitidulidarum* and *Wickerhamiella cacticola* were also isolated with great frequency, mainly from cacti flowers and from the intestine of larvae associated with this substrate. In addition, 20 possible new yeast species were isolated. *Saccharomycetales* sp. nov., a new species phylogenetically close to *Candida nonsorbophila*, was isolated in all the three regions in which the samples were collected, with 24 isolates occurring in necrotic tissues, flowers and fruits from different columnar cacti and from insects. The species *Kluyveromyces marxianus* – similar differ by seven base pairs and one gap in the D1/D2 region from the species *Kl. marxianus*. This species was isolated with great frequency in necrotic tissues, flowers and fruits from the cactus *Cereus saddianus*, and from insects associated to necrosis in *Micranthocereus dolichospermaticus* in the region of Tocantins. In addition, this yeast was also isolated from the cactus *Pilosocereus arrabidaei*, collected in the Restinga de Jurubatiba in Rio

de Janeiro. Other potential new species were also isolated in the sampling performed in the Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. These were *Candida xylopsoci* – similar, *Erythrobasidium hasegawianum* – similar, “*Starmera pilosocereana* sp. nov.”, *Starmerella* sp. and *Yamadazyma* sp.1. In the sampling performed in Aurora do Tocantins, four possible new species were also isolated, *Pichia insulana* – similar, *Wickerhamiella* sp., *Yamadazyma* sp.2 and *Yamadazyma* sp.3. Meanwhile, in the Parque Estadual do Sumidouro the new species isolated were *Barnettozyma* sp., *Bullera arundinariae* – similar, *Candida montana* – similar, *Cryptococcus flavus* – similar, *Dipodascus australiensis* – similar, *Kwoniella* sp., *Meira argovae* – similar, *Sympodiomyopsis* sp.1 and “*Sympodiomyopsis* sp.2”. This large number of new species points the need for continued studies of cactophilic yeasts from Brazilian ecosystems. Since few studies have been conducted in this area and in those researches the species identification was performed by solely physiological tests. This study showed that the yeast communities evaluated were more similar within the same region, and the community found in *C. calcirupicola* necrosis, in the Cerrado of Minas Gerais, was more similar to the Restinga ecosystem than to the Cerrado of Tocantins. This finding might be in accordance with the possibility of the yeast communities from *C. calcirupicola* and *C. pernambucensis* cacti share similar insect vectors species. Another hypothesis is that these cacti present similar chemical tissue composition, thus explaining the similarity among their yeast communities.