



PODER EXECUTIVO
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JAQUELINE FERREIRA GOMES

INVESTIGAÇÃO DA BIODIVERSIDADE E DO POTENCIAL FERMENTATIVO DE
LEVEDURAS ISOLADAS DE FRUTOS NATIVOS DA AMAZÔNIA CENTRAL

Manaus-AM
2024

JAQUELINE FERREIRA GOMES

INVESTIGAÇÃO DA BIODIVERSIDADE E DO POTENCIAL FERMENTATIVO DE
LEVEDURAS ISOLADAS DE FRUTOS NATIVOS DA AMAZÔNIA CENTRAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia do Departamento de Biologia, Instituto
de Ciências Biológicas da Universidade Federal do
Amazonas, como requisito para obtenção do título de
Mestre em Biotecnologia.
Área de Concentração: Biotecnologia Agroflorestral.

Orientador: Profº. Dr. José Odair Pereira - FCA / UFAM
Coorientadora: Profª. Dra. Antonia Queiroz Lima de Souza - FCA / UFAM

Manaus-AM
2024



PODER EXECUTIVO
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

G633i Gomes, Jaqueline Ferreira
Investigação da biodiversidade e do potencial fermentativo de
leveduras isoladas de frutos nativos da Amazônia central /
Jaqueline Ferreira Gomes . 2024
72 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: José Odair Pereira
Coorientadora: Antonia Queiroz Lima de Souza
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal
do Amazonas.

1. Aplicação biotecnológica. 2. Microbiota frutífera. 3. Leveduras
amazônicas. 4. Fermentação não convencional. I. Pereira, José
Odair. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título



PODER EXECUTIVO
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Investigação da biodiversidade e do potencial fermentativo de leveduras isoladas de frutos nativos da Amazônia Central

Dissertação elaborado no curso: Mestrado em Biotecnologia e apresentado ao Programa Multi-Institucional de Pós-graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC-UFAM), como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovado em 12 de dezembro de 2024.

BANCA AVALIADORA

Jaqueline Ferreira Gomes
Discente

Prof. Dr. José Odair Pereira
Orientador

Prof^a. Dra. Antonia Queiroz Lima de
Souza
Coorientadora

Prof. Dr. José Odair Pereira
1º Avaliador (a)

Prof. Dr. Afonso Duarte Leão de Souza
2º Avaliador (a)

Prof. Dr. Rogério Eiji Hanada
3º Avaliador (a)

Prof^a. Dra. Rosany Piccolotto Carvalho
Coordenadora
(Portaria N° 649/2024-GR)
Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em
Biotecnologia

Manaus – AM
2024



PODER EXECUTIVO
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu Senhor, Jesus Cristo, por estar comigo em todos os momentos da minha vida.

Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFAM e aos meus orientadores, Prof. Dr. José Odair Pereira e, em especial, à Prof^a. Dra. Antônia Queiroz Lima de Souza, por me orientarem nesta etapa da minha vida e pela oportunidade de fazer parte de seus grupos de pesquisa, bem como pela confiança em mim depositada. Agradeço ainda ao Prof. Dr. Afonso Duarte Leão de Souza e ao Prof. Dr. Gilvan Silva pelo apoio e pela infraestrutura durante as análises para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço também ao Centro de Apoio Multidisciplinar (CAM) e a Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM, assim como aos servidores técnicos Lourdes Mylla Rocha Perdigão, Júlio Nino de Souza Neto e Rodolfo Pessoa de Melo Moura, por todo o apoio e infraestrutura fornecidos.

Aos meus amigos de laboratório: Douglas Couceiro, Fátima Almeida, Rafael Rodrigues, Ana Tana Rosas, Marjory Martins, Mauro Pacheco, Philippe Defáveri, Elison Sevalho, Anderson Barbosa, Vitória Cavalcante, Rosangela Moreira, e Midiã Rodrigues, meu muito obrigado.

Por fim, mas não menos importantes, aos meus filhos Yasmim Pabline Gomes Bezerra e Pablo Ricardo dos Santos Bezerra Filho, ao meu marido Pablo Ricardo Bezerra e aos meus amigos e familiares que sorriram, choraram, me criticaram e me apoiaram antes, durante e após essa jornada: Franceorasia Dias, Kely Cruz, Nadir Said, Marly Castro Silva, Mariana Mesquita, Samyra Ramos, Luiz Melo, Jéssica Soares, Adriane Araújo, Ana Lúcia, Kamila Limongi, Lourdes Sousa, Otair Silva, Kaio César, Ricardo Moura; Nory Erazos, Michael Hopkins e Jadson Oliveira.

RESUMO

A diversidade das plantas frutíferas na Amazônia brasileira ultrapassa sua riqueza visível, revelando um vasto potencial bioativo ainda pouco explorado. Com o aumento da demanda por produtos contendo compostos bioativos, a busca por alternativas inovadoras se intensifica, o que ressalta a importância de explorar a variabilidade microbiológica presente em cada planta. Este estudo teve como objetivo investigar a biodiversidade e o potencial de fermentação alcoólica de leveduras isoladas de frutos nativos da Amazônia Central, por meio do isolamento e da caracterização dessas leveduras utilizando métodos bioquímicos e moleculares. Dessa forma, buscou-se avaliar a diversidade e a atividade fermentativa das leveduras, com foco na viabilidade para a produção de bebidas fermentadas a partir de frutos amazônicos. Foram coletados frutos de dez espécies de fanerógamas da região amazônica: açaí, patauá, tucumã, inajá, pupunharana, guaraná, taperebá, araçá-boi, bacuri-do-igapó e ubaia. O resultado foi o isolamento de 24 leveduras, as quais foram identificadas como espécies dos gêneros *Meyerozyma* sp. (cinco isolados), *Pichia* (quatro de *P. kudriavzevii* e três de *P. terricola*), e *Kodamaea ohmeri* (quatro isolados). Além disso, foram identificados representantes do subfiló Saccharomycotina (um isolado), da família Debaryomycetaceae (três isolados), da família Rhynchogastremaceae (um isolado) e do gênero *Hanseniaspora* sp. (um isolado). As análises morfológicas revelaram diferenças celulares entre os isolados, inclusive entre os identificados molecularmente como pertencentes à mesma espécie. A análise fermentativa demonstrou que os espécimes da família Debaryomycetaceae, do gênero *Meyerozyma*, bem como as espécies *Kodamaea ohmeri* e *Pichia kudriavzevii*, foram capazes de fermentar glicose, sacarose e frutose. Destaca-se a *P. kudriavzevii*, que apresentou as melhores características para o desenvolvimento de bebidas fermentadas regionais a partir de *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu) e *Astrocaryum aculeatum* (tucumã).

Palavras-chave: Aplicação biotecnológica, Microbiota frutífera, Leveduras amazônicas, Fermentação não convencional.

ABSTRACT

The diversity of fruit-bearing plants in the Brazilian Amazon goes beyond their visible richness, revealing a vast, yet underexplored bioactive potential. With the increasing demand for products containing bioactive compounds, the search for innovative alternatives intensifies, highlighting the importance of exploring the microbiological variability present in each plant. This study aimed to investigate the biodiversity and the potential for alcoholic fermentation of yeasts isolated from native fruits of Central Amazonia, through the isolation and characterization of these yeasts using biochemical and molecular methods. Thus, the goal was to assess the diversity and fermentative activity of the yeasts, focusing on their potential for the production of fermented beverages from Amazonian fruits. Fruits from ten species of Amazonian phanerogams were collected: açaí, patauá, tucumã, inajá, pupunharana, guaraná, taperebá, araçá-boi, bacuri-do-igapó, and ubaia. This resulted in the isolation of 24 yeasts, which were identified as species from the genera *Meyerozyma* sp. (five isolates), *Pichia* (four of *P. kudriavzevii* and three of *P. terricola*), and *Kodamaea ohmeri* (four isolates). Additionally, representatives of the subphylum Saccharomycotina (one isolate), the family Debaryomycetaceae (three isolates), the family Rhynchogastremaceae (one isolate), and the genus *Hanseniaspora* sp. (one isolate) were identified. Morphological analyses revealed cellular differences among the isolates, even among those molecularly identified as belonging to the same species. Fermentative analysis showed that the specimens from the Debaryomycetaceae family, the genus *Meyerozyma*, as well as the species *Kodamaea ohmeri* and *Pichia kudriavzevii*, were capable of fermenting glucose, sucrose, and fructose. Notably, *P. kudriavzevii* demonstrated the best characteristics for the development of regional fermented beverages from *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu) and *Astrocaryum aculeatum* (tucumã).

Keywords: Biotechnological application, Fruit microbiota, Amazonian yeasts, Unconventional fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Frutos coletados das palmeiras amazônicas.....	15
Figura 2-Frutos coletados de diferentes espécies frutíferas amazônicas.....	16
Figura 3-Espécimes das frutíferas testemunhos analisados para o isolamento de leveduras fermentativas	27
Figura 4-Métodos MI e MII	28
Figura 5-Coloração de Gram dos isolados	29
Figura 6-Esquema para o teste de fermentação	30
Figura 7-Etapas que antecedem o teste de fermentação para o mosto de tucumã e cupuaçu....	35
Figura 8-Crescimento das leveduras isoladas de <i>Astrocaryum aculeatum</i>	40
Figura 9-Crescimento das leveduras isoladas de <i>Attalea maripa</i>	41
Figura 10-Crescimento das leveduras isoladas de <i>Attalea maripa</i> e <i>Syagrus inajai</i>	42
Figura 11-Crescimento das leveduras isoladas de <i>Oenocarpus bataua</i> , <i>Euterpe oleracea</i> e <i>Eugenia patrisii</i>	43
Figura 12-Crescimento das leveduras isoladas de <i>Garcinia fluviatilis</i> e <i>Eugenia stipitata</i>	44
Figura 13-Crescimento das leveduras isoladas de <i>Paullinia cupana</i> e <i>Spondias mombin</i>	45
Figura 14-Árvore filogenética a partir de sequências do <i>Its1</i> e <i>Its4</i> do rDNA.....	49
Figura 15-Teste de fermentação do mosto de cupuaçu com linhagens de leveduras fermentativas	57
Figura 16-Teste de fermentação do mosto de tucumã com linhagens de leveduras fermentativas	58

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.2 Objetivo	13
1.2.1 Objetivo Geral	13
1.2.2 Objetivos Específicos	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Frutíferas Amazônicas	14
2.1.1 Euterpe oleracea Mart. (Açaí).....	16
2.1.2 Oenocarpus bataua Mart. (Patauá)	17
2.1.3 Astrocaryum aculeatum G. Mey. (Tucumã)	17
2.1.4 Attalea maripa (Aubl.) Mart. (Inajá).....	18
2.1.5 Syagrus inajai (Spruce) Becc. (Pupunharana)	18
2.1.6 Paullinia cupana Kunth (Guaraná)	19
2.1.7 Spondias mombin L. (Taperebá).....	20
2.1.8 Eugenia stipitata McVaugh (Araçá-boi)	20
2.1.9 Eugenia patrisii Vahl (Ubaia)	21
2.1.10 Garcinia fluviatilis Mouzinho & L. Marinho (Bacuri-do-igapó/Bacuripari) .	21
2.2 Leveduras Fermentativas	22
2.3 Bebida Fermentada por Leveduras	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Coleta e Isolamento	26
3.2 Caracterização Morfológica e Bioquímica dos Isolados e Preservação.....	28
3.3 Avaliação do Potencial Fermentativo das Leveduras Isoladas	30
3.4 Extração de DNA	31
3.5 Amplificação do gene ITS e purificação	31
3.6 Sequenciamento	32
3.7 Processamento e montagem de sequências.....	33
3.8 Classificação taxonômica	33
3.9 Análise filogenética	33
3.10 Obtenção de bebidas à base dos frutos da Amazônia	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Isolamento e Preservação dos Microrganismos de Frutos Amazônicos.....	36

4.2 Características Macro e Micromorfológicas dos Isolados de Leveduras por Métodos Bioquímicos	37
4.2.1 Leveduras Isoladas de <i>Astrocaryum aculeatum</i> (Tucumã).....	39
4.2.2 Leveduras Isoladas de <i>Attalea maripa</i> (Inajá) e <i>Syagrus inajai</i> (Pupunharana)	40
4.2.3 Leveduras Isoladas de <i>Oenocarpus bataua</i> (Patauá), <i>Euterpe oleracea</i> (Açaí) e <i>Eugenia patrisii</i> (Ubaia).....	42
4.2.4 Leveduras Isoladas de <i>Garcinia fluviatilis</i> (Bacuripare) e <i>Eugenia stipitata</i> (Araça-boi)	43
4.2.4 Leveduras Isoladas de <i>Paullinia cupana</i> (Guaraná) e <i>Spondias mombin</i> (Taperebá)	44
4.3 Análise Molecular das Leveduras Isoladas	48
4.4 Análise do Potencial Fermentativo das Leveduras Isoladas de Frutos Amazônicos	49
4.4 Teste da Fermentação das Leveduras Isoladas de Frutos Amazônicos para Formação de uma Bebida Fermentada	54
5. CONCLUSÃO.....	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
APÊNDICE A – RESULTADOS DO SEQUENCIAMENTO DOS ISOLADOS DE LEVEDURAS	69

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é amplamente reconhecido como um dos países mais biodiversos, ocupando posição de destaque no cenário mundial como uma nação megadiversa (Forzza *et al.*, 2016; Ulloa *et al.*, 2017). Até o momento, foram catalogadas mais de 50 mil espécies de plantas, das quais cerca de 35 mil pertencem às angiospermas. Dentre essas, mais de 12 mil estão registradas na região fitogeográfica amazônica (Flora e Funga do Brasil, 2024). A Amazônia Central, uma sub-região do bioma amazônico, abrange partes significativas dos estados do Amazonas e Pará, concentrando-se ao longo do Rio Amazonas e seus afluentes (Aliança Águas Amazônicas, 2024).

Diversas famílias botânicas, como Arecaceae, Anacardiaceae, Sapindaceae, Myrtaceae, Clusiaceae, entre outras, destacam-se por sua relevância econômica, sobretudo no que se refere à produção de frutos amplamente consumidos na região Norte do Brasil (Rabelo, 2012). Espécies de palmeiras amazônicas, como *Euterpe oleracea* Mart. (açaí), *Oenocarpus bataua* Mart. (patauá), *Astrocaryum aculeatum* G. Mey. (tucumã) e *Attalea maripa* (Aubl.) Mart. (inajá), também tem papel fundamental na economia local. Esses frutos são utilizados tanto no consumo *in natura* quanto no processamento agroindustrial, fortalecendo políticas de conservação da biodiversidade e promovendo práticas sustentáveis (Pereira, 2015; Berni *et al.*, 2019).

Além das palmeiras, outras fanerógamas amazônicas, como *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum. (cupuaçu), *Paullinia cupana* Kunth (guaraná), *Spondias mombin* L. (taperebá) e *Eugenia stipitata* McVaugh (araçá-boi), têm ganhado destaque em pesquisas biotecnológicas. Espécies como *Garcinia fluviatilis* Mouzinho & L. Marinho (bacuri-do-igapó) e *Eugenia patrisii* Vahl (ubaia) merecem atenção pela presença de compostos bioativos com potencial quimiopreventivo (Silva *et al.*, 2010). Esses frutos oferecem oportunidade para descobertas de novos compostos nutricionais e microrganismos associados, especialmente leveduras, que são cruciais para processos fermentativos (Almeida 2020).

Considerando a microbiota associada aos frutos amazônicos, composta principalmente por fungos e bactérias, verifica-se que esta apresenta potencial para a produção de metabólitos bioativos com propriedades antioxidantes e antidiabéticas (Chapla; Biasetto; Araújo *et al.*, 2013). No entanto, o conhecimento sobre a diversidade e o potencial desses microrganismos ainda é limitado, o que ressalta a importância de estudos voltados para a caracterização microbiológica (Lindow; Brandl, 2003; Bonatelli, 2012).

Estudos como de Barros *et al.*, (2022) apontam os biomas brasileiros como fontes ricas e consistentes de novas espécies ou linhagens de leveduras, destacando-se pelo potencial biotecnológico e pela valorização da biodiversidade local. O uso dessas leveduras na indústria alimentícia não só valoriza a diversidade microbiana nacional, mas também reduz a dependência de linhagens importadas, possibilitando a criação de produtos sustentáveis e com características sensoriais diferenciadas (Philipson; Blair, 1957; Barros *et al.*, 2022; Palladino *et al.*, 2023).

Adicionalmente, o isolamento de fungos endofíticos é essencial para sua caracterização morfológica e bioquímica, permitindo a análise da diversidade de espécies e o rastreamento de metabólitos bioativos, com aplicações biotecnológicas em diversos setores (Hartmann *et al.*, 2000; Senanayake *et al.*, 2020). Nesse contexto, os recursos genéticos e bioquímicos de valor comercial das leveduras nativas surgem como uma estratégia promissora, capaz de agregar valor à biodiversidade local, fomentar práticas sustentáveis e promover inovações na produção de bens de alto valor agregado. Compreender a origem e os impactos ambientais associados ao uso desses recursos é crucial para garantir um manejo responsável, alinhando conservação ambiental e desenvolvimento econômico.

Dessa forma, este estudo contribui para o avanço do conhecimento sobre a diversidade microbiana da Amazônia e seu potencial biotecnológico, com foco na aplicação de leveduras nativas na fermentação de mostos de *T. grandiflorum* (cupuaçu) e *A. aculeatum* (tucumã). A identificação e caracterização dessas leveduras permitem reconhecer microrganismos com alta capacidade fermentativa, favorecendo a valorização de ingredientes amazônicos na produção de bebidas fermentadas. Além de potencializar o aproveitamento de frutos regionais, o uso dessas leveduras contribui para a obtenção de produtos com perfis sensoriais distintos, reforçando a importância da microbiota local nos processos biotecnológicos e na agregação de valor à biodiversidade amazônica.

1.2 Objetivo

1.2.1 Objetivo Geral

- Investigar a biodiversidade e o potencial fermentativo de leveduras isoladas de frutos nativos da Amazônia Central.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Isolar e caracterizar por métodos morfológicos, bioquímicos e moleculares leveduras associadas aos frutos da Amazônia Central;
- Avaliar a diversidade dos isolados;
- Avaliar a atividade fermentativa de grupos dos isolados;
- Fermentar de 3 a 5 isolados para obtenção de bebidas à base dos frutos da Amazônia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Frutíferas Amazônicas

As plantas frutíferas desempenham um papel importante na manutenção da diversidade florestal da Amazônia, oferecendo benefícios econômicos e sociais às comunidades locais (Portal Amazônia, 2023). Agricultores familiares da região integram conhecimentos tradicionais com inovações ao longo do tempo, aprimorando práticas agrícolas adaptadas às condições específicas de clima, solo e vegetação (Frare; Oliveira; Freitas, 2017). A agricultura amazônica está conectada à biodiversidade local, promovendo o uso sustentável de recursos naturais, como caça, pesca e extrativismo vegetal (Souza *et al.*, 2023).

O extrativismo de palmeiras, como *E. oleracea*, *O. bataua* e *A. aculeatum* (Figura 1), destaca-se como uma prática sustentável, pois permite a exploração de frutos sem causar danos permanentes às plantas e ao meio ambiente. Esses recursos têm sido empregados comercialmente na produção de itens como ceras, óleos, cremes, fibras, palmito, amido entre outros (Tomlinson, 1990; Santelli *et al.*, 2006). O interesse por compostos derivados de óleos e gorduras de palmeiras tem estimulado estudos sobre a bioprospecção de espécies amazônicas, devido aos seus potenciais aplicações nas áreas farmacêutica, alimentícia e cosmética (Gomes *et al.*, 2020). Além de sua relevância econômica, as palmeiras possuem valor cultural significativo para as comunidades amazônicas, desempenhando papel essencial na subsistência, conservação da biodiversidade e promoção do desenvolvimento sustentável da região (Silva; Sevalho; Miranda, 2021).

A biodiversidade amazônica inclui uma variedade de espécies frutíferas de elevado valor nutricional e funcional (Figura 2). Por exemplo, *P. cupana* é reconhecida pelo alto teor de cafeína nas sementes, apresentando propriedades estimulantes e benefícios potenciais à saúde (Schimpl *et al.*, 2013). Da mesma forma, os frutos de *S. mombin* são ricos em vitamina C e carotenoides, atuando como antioxidante e fortalecendo o sistema imunológico (Oliveira *et al.*, 2008).

Além disso, os frutos de *E. oleracea* ganharam visibilidade internacional por suas propriedades nutricionais e classificação como "superalimentos", contribuindo significativamente para a subsistência local e o mercado internacional (Smith, 2014). Os frutos como de *E. stipitata* têm atraído atenção científica devido ao seu potencial antioxidante e anti-inflamatório, evidenciando relevância para a saúde humana (Araújo *et al.*, 2019; Cunha *et al.*,

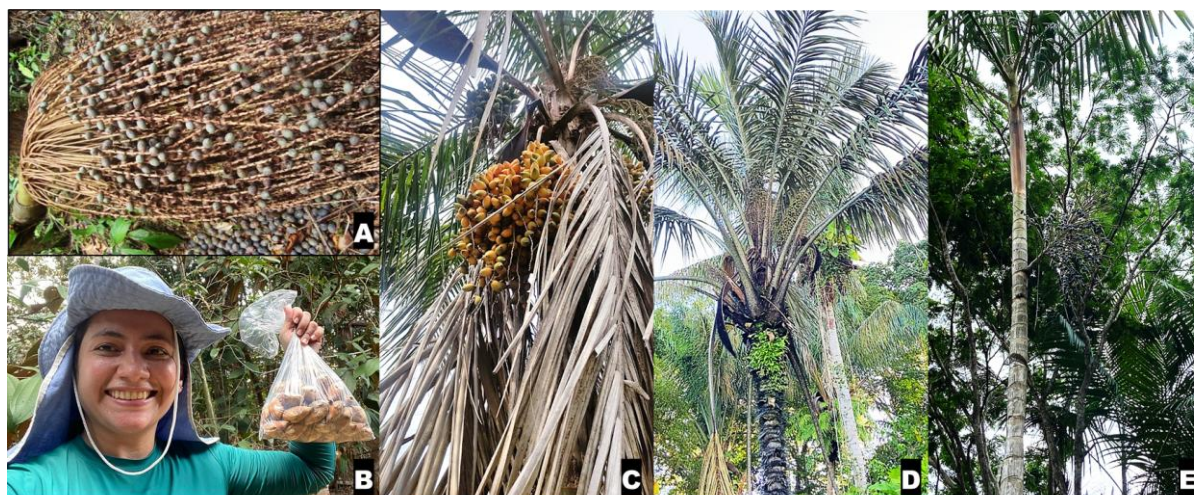
2019; Garcia *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2021). As espécies como *G. fluiatilis* e *E. patrisii* apresentam compostos bioativos promissores, justificando a necessidade de investigações adicionais no campo da biotecnologia. Esses e outros compostos bioativos encontrados nas frutíferas amazônicas estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1. Principais frutíferas amazônicas e seus compostos bioativos.

Fruto	Compostos Bioativos	Referências
<i>P. cupana</i> (Guaraná)	Cafeína, metilxantinas, taninos, polifenóis	Schimpl <i>et al.</i> (2013)
<i>S. mombin</i> (Taperebá)	Vitamina C, carotenoides, flavonoides (miricetina, quercetina, kaempferol)	Oliveira <i>et al.</i> (2008)
<i>E. stipitata</i> (Araçá-boi)	Compostos fenólicos, flavonoides, antioxidantes	Araújo <i>et al.</i> (2019); Cunha <i>et al.</i> (2019)
<i>E. patrisii</i> (Ubaia)	Compostos fenólicos, antioxidantes	Silva <i>et al.</i> (2021)
<i>G. fluiatilis</i> (Bacuri-do-igapó)	Alcalóides, compostos fenólicos	Garcia <i>et al.</i> (2020)
<i>E. oleracea</i> (Açaí)	Antocianinas, flavonoides, compostos fenólicos, ácidos graxos insaturados	Smith (2014)
<i>O. bataua</i> (Patauá)	β -caroteno, fenóis, taninos, lipídios, fibras, ferro, cobre, potássio	Tomlinson (1990); Santelli <i>et al.</i> (2006)
<i>A. aculeatum</i> (Tucumã)	β -caroteno, fitosteróis (esqualeno, β -sitosterol), ácidos graxos (oleico, palmítico)	Gomes <i>et al.</i> (2020)
<i>A. maripa</i> (Inajá)	Compostos fenólicos, β -caroteno, ácidos graxos, antioxidantes	Henderson, Galeano e Bernal (1995)
<i>S. inajai</i> (Pupunharana)	Pouco estudado, potencial antioxidante e bioativo	Lorenzi <i>et al.</i> (2004)

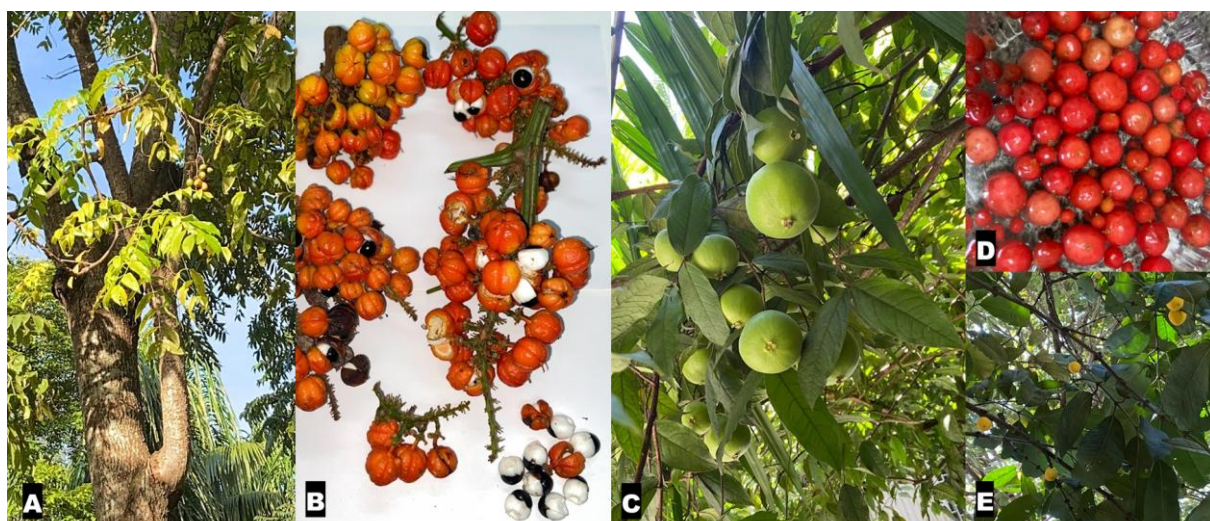
Fonte: Elaboração própria a partir de Schimpl *et al.* (2013), Oliveira *et al.* (2008), Smith (2014), Araújo *et al.* (2019), Cunha *et al.* (2019), Garcia *et al.* (2020), Silva *et al.* (2021), Tomlinson (1990), Santelli *et al.* (2006), Gomes *et al.* (2020), Henderson, Galeano e Bernal (1995) e Lorenzi *et al.* (2004).

Figura 1-Frutos coletados das palmeiras amazônicas



Legenda: A. *Oenocarpus bataua* (patauá); B. *Attalea maripa* (inajá); C. *Syagrus inajai* (pupunharana); D. *Astrocaryum aculeatum* (tucumã); E. *Euterpe oleracea* (açaí).

Figura 2-Frutos coletados de diferentes espécies frutíferas amazônicas



Legenda: A. *Spondias mombin* (taperebá); B. *Paullinia cupana* (guaraná); C. *Eugenia stipitata* (araçá-boi); D. *Eugenia patrisii* (ubaia); E. *Garcinia fluviatilis* (bacuri-do-igapó).

2.1.1 *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí)

A palmeira *E. oleracea* (Arecaceae), conhecida popularmente como açaí, é caracterizada por apresentar um estipe único cilíndrico que pode alcançar até 25 metros de altura, com coloração cinza-escuro e cicatrizes aneladas (Rabelo, 2012). Seus frutos, do tipo drupa, possuem formato globoso, epicarpo fino e liso, adquirindo uma coloração negro-arroxeadada quando maduros. A polpa, ou mesocarpo, é pouco volumosa, exibindo coloração violácea e espessura reduzida (Flora do Brasil, 2024).

As propriedades benéficas das raízes, folíolos e drupa são reconhecidas como fontes não citotóxicas de antioxidantes, com aplicações farmacêuticas, nutracêuticas e/ou cosméticas (Brunschiwig, 2016). Além disso, o óleo extraído por meio da formação de complexos de inclusão de ciclodextrina, demonstra eficácia como agente antibactericida e contribui para o desenvolvimento de novos fármacos (Magalhães *et al.*, 2020).

Os frutos são particularmente ricos em antocianinas, compostos que têm sido associados à modulação do metabolismo lipídico no organismo, reduzindo os efeitos do estresse oxidativo, e apresentam efeitos positivos na regulação dos níveis de glicemia (Cedrim; Barros; Nascimento, 2018). Estudos indicam que o consumo de açaí exerce um efeito protetor em pacientes com hipertensão, reduzindo a frequência cardíaca e também melhora o desempenho físico, aumentando a função vascular (Soares *et al.*, 2020; Muto *et al.*, 2021).

2.1.2 *Oenocarpus bataua* Mart. (Patauá)

A palmeira de *O. bataua* (Arecaceae) pode atingir até 25 metros de altura, apresenta estipes com cicatrizes anelares (Rabelo, 2012). A prática de manejo tradicional do patauá, através da produção extrativista é uma alternativa para a economia florestal de baixo carbono, contribuindo para a preservação da floresta e para a geração de renda local. Um exemplo emblemático dessa prática é a extração do óleo conhecido como "Azeite da Amazônia", cujo potencial econômico tem despertado interesse crescente (Ambiente Brasil, 2023).

Os frutos são elipsóides, de coloração arroxeada escura e superfície lisa, ricos em nutrientes, especialmente aminoácidos e gorduras insaturadas, fundamentais para a saúde humana (Mushtaq *et al.*, 2019; Serra *et al.*, 2019). Na Amazônia, além de seu uso culinário, eles desempenham um papel importante na medicina tradicional, onde são macerados para o tratamento de malária, representando uma opção acessível e de baixo custo em regiões tropicais (Montúfar *et al.*, 2016). Esses frutos também são usados na produção de vinhos naturais não alcoólicos, juntamente com frutas amazônicas como *E. oleracea*, o que fortalece a valorização dos produtos regionais e o desenvolvimento cultural local (Rabelo, 2012).

2.1.3 *Astrocaryum aculeatum* G. Mey. (Tucumã)

Entre as palmeiras da região amazônica, *A. aculeatum* (Arecaceae), conhecida como tucumã. Dispõe de estipe frequentemente marcado por espinhos e cicatrizes anelares, dispondo de frutos ovóides que variam de cor entre verde-clara e amarelada ricos em óleo (Rabelo, 2012).

A conservação do tucumã e de seu habitat natural é essencial para garantir a sustentabilidade de seu uso (Santos *et al.*, 2015). O seu fruto possui uma rica variabilidade de compostos químicos, incluindo β -carotenóides, fitoesteróis como esqualeno e β -sitosterol, além de ácidos graxos como o ácido oleico e o ácido palmítico (Gomes *et al.*, 2020; Medeiros *et al.*, 2022). É um dos frutos mais consumidos na região amazônica, pois está associado a uma melhor saúde e longevidade, sendo considerado um importante recurso etnofarmacológico. Além disso, é eficaz na prevenção de doenças vasculares, inflamatórias e cerebrais, podendo ser utilizado como suplemento nutracêutico (Jantsch *et al.*, 2021).

Estudos científicos destacam que a casca calcificada do fruto do tucumã pode ser utilizada como catalisador na síntese de biodiesel, com capacidade de reutilização por até cinco vezes (Mendonça *et al.*, 2019).

2.1.4 *Attalea maripa* (Aubl.) Mart. (Inajá)

A palmeira *A. maripa* (Arecaceae), conhecida como inajá, mede até 25 metros de altura e dispõe de frutos elipsoides de coloração marrom (Flora e Funga do Brasil 2024). Estudos evidenciam sua importância como fonte alimentar, contribuindo de forma significativa para o sustento das comunidades locais na região amazônica (Portal Amazônia, 2023; UOU, 2023).

De acordo com Shanley; Medina (2005), a versatilidade da polpa, pode ser consumida *in natura* ou utilizada na preparação de iguarias, como bebidas, mingaus e doces. Além disso, o óleo extraído dos frutos, com seu sabor característico e coloração vibrante, tem despertado interesse em aplicações industriais, destacando-se, inclusive, na produção de margarina, conforme constatado por Oliveira, Pedro *et al.*, (2021).

Os estudos de Barbi *et al.*, (2019) aprofundam a análise da composição química do óleo de inajá, evidenciando sua riqueza em compostos fenólicos, β -caroteno e ácidos graxos, além de sua notável estabilidade térmica e propriedades protetoras contra agentes patogênicos e fatores ambientais adversos. Pesquisas, como a de Silva *et al.*, (2021), destacam o potencial antioxidante dos subprodutos do processamento do óleo, como as proantocianidinas.

2.1.5 *Syagrus inajai* (Spruce) Becc. (Pupunharana)

A árvore de *Syagrus inajai* (Arecaceae), conhecida como pupunharana ou pupunha-brava, é caracterizada por um estipe único que pode atingir até 23 metros de altura, com frutos em formato elipsoides, lisos e de coloração amarelo-alaranjada quando maduros (Miranda; Rabelo, 2008). Esta espécie é valorizada pelas comunidades locais, que consomem seus frutos frequentemente *in natura* e utilizam o endocarpo em confecção de objetos decorativos artesanais. Adicionalmente, o estipe da palmeira é empregado na fabricação de arcos para flechas pelos povos indígenas, evidenciando sua significativa importância cultural e utilidade prática ao longo do tempo (Miranda; Rabelo, 2008).

Embora exista um conhecimento e uso tradicional por parte das comunidades locais, os recursos da pupunharana são explorados em pequena escala, com pouca investigação sobre seus compostos bioativos (Marcomini, 2013). As informações detalhadas sobre a composição de frutas nativas, como a *S. inajai*, são fundamentais para impulsionar o mercado econômico regional. Esses dados são fundamentais para o controle de qualidade, segurança alimentar e

adequação da ingestão de nutrientes para a população, conforme destacado por Becker *et al.*, (2018).

2.1.6 *Paullinia cupana* Kunth (Guaraná)

A trepadeira *P. cupana* (Sapindaceae), conhecida popularmente como guaraná, se destaca por suas pequenas gavinhas e frutos globosos e brilhantes (Rabelo, 2012). Reconhecida em várias culturas por suas propriedades estimulantes, afrodisíacas e adstringentes, o guaraná é uma parte essencial da diversidade encontrada na floresta amazônica. Antigamente, o rizoma do guaraná era utilizado em chás por culturas amazônicas, porém, com o avanço tecnológico, suas sementes são agora moídas e comercializadas em forma de pó, comprimidos e/ou cápsulas (Patrício *et al.*, 2019).

As indústrias de refrigerantes no Brasil fazem uso das sementes do guaraná em suas formulações (Marques *et al.*, 2019). Estas possuem funções farmacológicas, incluindo atividades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas, estimulantes, cognitivas, além de proporcionar proteção hepática e auxiliar na perda de peso (Marques *et al.*, 2019). Estudos também demonstraram que o co-encapsulamento do extrato de guaraná com probióticos pode reduzir o estresse oxidativo nas células gastrointestinais (Silva *et al.*, 2022).

Trabalhos científicos evidenciam que concentrações de extratos de guaraná exercem efeitos protetores contra danos induzidos pela acroleína e podem ser utilizados como terapia complementar para reduzir a inflamação associada à lipotoxicidade (Bittencourt, 2020; Ruchel *et al.*, 2021). Além disso, os polifenóis presentes no guaraná possuem a capacidade de inibir as atividades α -glucosidase e α -amilase, o que o torna um potencial fonte alimentar com propriedades anti-hiperglicêmicas (Silva *et al.*, 2018). Essas ações são atribuídas ao alto teor de metilxantinas e taninos presentes nas sementes de guaraná (Marques *et al.*, 2019).

Análises da concentração de compostos químicos em bebidas energéticas à base de guaraná mostram conformidade com as normas estabelecidas pela Química Verde, o que representa um grande potencial econômico na produção de bebidas não alcoólicas e energéticas (Marques *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2021).

2.1.7 *Spondias mombin* L. (Taperebá)

A árvore de *S. mombin* (Anacardiaceae), conhecida popularmente como cajá-mirim, cajazeiro, taperebá, imbuzeiro-taperebá ou simplesmente cajá, pode atingir até 30 metros de altura. Seus frutos são ovóides, lisos, de coloração amarelo-alaranjada e aroma agradável, dispostos em cachos na árvore (Rabelo, 2012).

O fruto é utilizado em preparações culinárias como vinhos naturais não alcoólicos, doces, geleias e licores, também, demonstrou atividades moluscicidas e antivirais (Carvalho, 2006). De acordo com Dantas *et al.*, (2019), os compostos antioxidantes presentes no taperebá ajudam na prevenção de doenças crônicas.

A composição química do taperebá inclui flavonoides como miricetina, quercetina e kaempferol, reconhecidos por suas propriedades antioxidantes (Neri-Numa *et al.*, 2013a). Esses compostos bioativos são importantes na neutralização de radicais livres, contribuindo para a redução do risco de doenças degenerativas. Além disso, a mistura de taperebá com o murici resulta em produtos com características bioativas e antioxidantes superiores, ressaltando a versatilidade e potencial de uso dessa fruta em combinações alimentares (Aniceto *et al.*, 2021).

2.1.8 *Eugenia stipitata* McVaugh (Araçá-boi)

A árvore ou arvoreta de *E. stipitata* (Myrtaceae), pode atingir até 18 metros de altura, dispõe de frutos caracterizados por serem bagas globosas de cor verde a amarela (Flora e Funga do Brasil, 2024). São amplamente reconhecidos na região como araçá-boi, conforme descrito por Rabelo (2012) e Souza, *et al.*, (2018). A polpa é frequentemente utilizada na produção de sucos, sorvetes, geleias e frisanes sendo apreciada tanto por seu sabor, quanto por seu valor nutritivo (Kinupp; Lorenzi, 2014).

Estudos conduzidos por Neri-Numa, *et al.*, (2013b) e Araújo *et al.*, (2019) destacam que esses frutos são ricos em fibras, minerais, carotenoides e compostos fenólicos, como miricetina, quercetina e ácido gálico, além de vitaminas e sais minerais. De acordo com Araújo, *et al.*, (2021b), as sementes do fruto possuem uma capacidade antioxidante significativa, devido ao seu alto teor de polifenóis, que permanecem ativos mesmo após o processo digestivo.

2.1.9 *Eugenia patrisii* Vahl (Ubaia)

A frutífera *E. patrisii* (Myrtaceae) pode alcançar até 8 metros de altura, apresentando frutos globosos, vermelhos, lisos e de sabor adocicado, conforme descrito por Souza (2015). A ausência de um cultivo estruturado mantém a ubaia classificada como "fruto silvestre", evidenciando uma lacuna significativa em termos de pesquisa e documentação sobre essa espécie (Cavalcante, 2010). No entanto, estudos de Pacheco *et al.* (2021) apontam que a produção de *E. patrisii* pode ser consideravelmente aprimorada com a adoção de técnicas de manejo adequadas e adubação orgânica, resultando em um desenvolvimento vegetativo vigoroso e maior produtividade de frutos. Aliado à precocidade da frutificação, esse processo favorece a diversificação de pomares, beneficiando tanto a oferta de frutos para a alimentação humana quanto a conservação dos recursos naturais da Amazônia.

Além disso, Jerônimo *et al.* (2021) destacam que os óleos essenciais extraídos dessa planta possuem atividades antioxidantes e uma notável ação citotóxica sobre células de pulmão, cólon, estômago e melanoma, sugerindo seu grande potencial no desenvolvimento de terapias fitoterápicas. Nesse contexto, Cruz *et al.* (2022) ressaltam o elevado teor de óxido de (E)-cariofileno e cariofileno no óleo essencial da *E. patrisii*, sugerindo seu potencial como fonte de compostos com propriedades anticancerígenas e anestésicas.

2.1.10 *Garcinia fluviatilis* Mouzinho & L. Marinho (Bacuri-do-igapó/Bacuripari)

A árvore de *G. fluviatilis* (Clusiaceae) pode atingir até 10 m de altura, popularmente conhecida como bacuri-do-igapó ou bacuripari, com frutos globosos amarelo-alaranjado e endocarpo branco com sabor ácido-doce (Rabelo, 2012). A polpa desse fruto pode ser utilizada na culinária para doces e sorvetes, enquanto as sementes junto com a polpa podem se tornar uma bebida como frisanter (Kinupp; Lorenzi, 2014).

A espécie de *G. fluviatilis* foi proposta recentemente, em 2019, e direcionou o entendimento de outras duas espécies antes reportadas para a Amazônia, sendo elas, *G. brasiliensis* Mart. e *G. gardneriana* (Planch. & Triana) Zappi que atualmente foram consideradas restritas para a Floresta Atlântica (Mouzinho *et al.*, 2022). Vale ressaltar que gênero *Garcinia* é conhecido por abrigar uma diversidade de metabólitos bioativos, incluindo compostos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas (Lim, 2012).

2.2 Leveduras Fermentativas

As leveduras são fungos unicelulares que atualmente estão classificados em dois grandes filos (*Ascomycota* e *Basidiomycota*) do reino Fungi e domínio Eukarya (Kurtzman, Fell, & Boekhout, 2011). Esses organismos são altamente versáteis pois ocupam diferentes ambientes, incluindo solo, água, plantas e animais, estabelecendo interações simbióticas ou parasitárias com hospedeiros, como a pele e o trato intestinal de diversos seres vivos (Montes de Oca *et al.*, 2016).

A reprodução das leveduras ocorre predominantemente por brotamento ou fissão, e, em seus estágios sexuais, elas não formam corpos frutíferos típicos, como ocorre em outros grupos de fungos (Boulton; Quain, 2001). A identificação dos microrganismos leveduriformes pode ser realizada com base em características morfológicas, fisiológicas, imunológicas e técnicas avançadas de biologia molecular (Santos, 2020).

As leveduras têm desempenhado um papel importante na vida humana há milhares de anos, sendo fundamentais em processos industriais como na produção de cervejas, vinhos fermentados alcoólicos, cidras, saquê, destilados, pães e queijos (Kurtzman; Fell; Boekhout, 2011). Também, fornecem bases para inovações biotecnológicas em áreas como a produção de bioetanol e enzimas. Além disso, contribuem para pesquisas farmacêuticas e genômicas que é evidenciada pela capacidade de produzir biomoléculas de interesse (Santos, 2020).

Um aspecto de destaque nesse contexto é o papel da fermentação, um processo bioquímico no qual açúcares são convertidos em álcool, dióxido de carbono e outros metabólitos secundários, contribuindo para a otimização dos processos industriais e a melhoria da qualidade dos produtos finais (Moreira *et al.*, 2015; Oliveira, Francyslayne; Sampaio; Oliveira, Bruno, 2021). Durante esse processo, moléculas de piruvato são metabolizadas, gerando dióxido de carbono e acetaldeído, que posteriormente são reduzidos a etanol, evidenciando a relevância desse mecanismo para o desenvolvimento de alimentos fermentados de alto valor agregado. Nesse sentido, a diversidade genômica e fenotípica das leveduras sugere a existência de papéis ecológicos distintos, o que torna ainda mais crucial a investigação de sua ecologia e distribuição, áreas que permanecem pouco exploradas e que podem oferecer novos insights sobre as interações e funções desses microrganismos em ambientes fermentativos (Spurley *et al.*, 2022).

A espécie *Saccharomyces cerevisiae* é especialmente notável entre os fungos leveduriformes, devido à sua fisiologia singular e ao seu papel essencial na fermentação de

alimentos e processos industriais (Johnson; Chavarri-Erasun, 2022). De acordo com Barbosa; Costa; Simiqueli, (2022) a capacidade fermentativa e enzimática de *S. cerevisiae* é essencial em processos industriais, onde enzimas como invertase, pectinase e amilase são amplamente utilizadas na hidrólise de açúcares e amidos, aprimorando a textura e o sabor dos produtos alimentícios. Entretanto, as leveduras não-*Saccharomyces*, com suas características metabólicas distintas, são amplamente utilizadas em processos fermentativos para gerar diferentes produtos. Algumas espécies, como *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima* e *Torulaspora delbrueckii*, têm sido empregadas na vinificação para modular o perfil sensorial dos vinhos, contribuindo para a produção de ésteres e ácidos orgânicos. Já *Pichia kudriavzevii* e *Meyerozyma guilliermondii* demonstraram potencial na fermentação de frutas tropicais, favorecendo a formação de compostos aromáticos. Além disso, algumas leveduras não convencionais são exploradas na produção de cervejas artesanais e fermentações não alcoólicas, devido à sua capacidade de influenciar características como acidez, corpo e estabilidade microbiológica dos produtos. Embora possam impactar a qualidade sensorial dos vinhos, eram historicamente tratadas como contaminantes, sendo priorizada sua eliminação ou manutenção em baixas concentrações (Maicas, 2020).

Entre essas leveduras não-*Saccharomyces*, espécies como *Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Schizosaccharomyces pombe* e *Saccharomycodes ludwigii*, modificam o sabor do vinho e a formação de espuma devido ao perfil de aminoácidos, a concentração de amônia, compostos aromáticos voláteis, glicerol e proteínas (Ivit; Kemp, 2018). Adicionalmente, estudos envolvendo os gêneros *Pichia*, *Hanseniaspora* e *Candida*, isolados de frutas variadas, destacaram sua importância para fermentação (Díaz-Muñoz; Vuyst, 2021).

De acordo com Nisiotou *et al.*, (2018) o uso de leveduras indígenas não-*Saccharomyces* com boas características enológicas, podem trazer maior diversidade aos vinhos regionais e acrescentar traços distintivos que refletem o território regional. Corroborando, Palladino *et al.*, (2023) destacam que as leveduras brasileiras apresentam características fisiológicas e metabólicas diversificadas, com potencial significativo para a indústria de alimentos, permitindo a criação de sabores, aromas e texturas únicas. Além de atender às crescentes demandas por produtos personalizados e saudáveis, essas leveduras promovem a valorização de resíduos agroindustriais.

2.3 Bebida Fermentada por Leveduras

A crescente demanda por uma dieta diversificada, baseada em fontes alimentares saudáveis com elevado valor nutricional, econômico e socioambiental, tem impulsionado o interesse por alimentos originários da Amazônia como parte da alimentação da população (Guimarães *et al.*, 2020), isso é uma oportunidade, mas também um desafio para as indústrias alimentícias, demandadas a produzir alimentos que sejam simultaneamente funcionais e saborosos, enquanto empregam técnicas capazes de reduzir as atividades microbianas e enzimáticas responsáveis pela deterioração e perda de propriedades bioativas dos produtos (Araújo *et al.*, 2021a; Souza *et al.*, 2022).

A produção de bebidas alcoólicas fermentadas a partir de frutos apresenta-se como uma estratégia eficaz para agregar valor nutricional e funcional aos produtos, além de ampliar sua vida útil (Marshall; Mejia, 2011). Durante a fermentação, ocorrem modificações bioquímicas na matéria-prima, resultando na liberação de nutrientes, formação de compostos bioativos e alteração das propriedades físico-químicas e sensoriais das bebidas (Swami *et al.*, 2014; Guimenna *et al.*, 2016). O metabolismo das leveduras desempenha um papel fundamental nesse processo, influenciando características como o perfil aromático e a capacidade antioxidante do produto final (Bovo *et al.*, 2018; Campos-Garcia *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2022).

A fermentação não apenas agrega valor aos produtos regionais e não convencionais encontrados na Amazônia, mas também pode reduzir a necessidade de refrigeração ao modificar as características do alimento e aumentar sua estabilidade microbiológica (Souza *et al.*, 2022). Além disso, a capacidade fermentativa das leveduras fornece informações essenciais sobre o desempenho do processo e a qualidade do produto final, permitindo otimizações em parâmetros fermentativos e controle das características sensoriais e bioquímicas da bebida (Boulton; Quain, 2001).

Considerando a vasta biodiversidade da região amazônica, há um grande potencial para a descoberta de novas espécies de leveduras associadas aos frutos amazônicos, o que abre um campo promissor para a biotecnologia alimentar (Silva *et al.*, 2023). A interação entre as leveduras e esses frutos destaca-se como uma área estratégica de pesquisa, especialmente no desenvolvimento de processos fermentativos inovadores.

No entanto, os estudos sobre o valor nutricional dos frutos não convencionais ainda são incipientes, especialmente no que diz respeito à caracterização de seus compostos bioativos, o que limita sua promoção e a ampliação de seu consumo (Souza *et al.*, 2022). Diante disso, a

continuidade das pesquisas nessas áreas é crucial para explorar o potencial desses frutos tanto na nutrição humana quanto na indústria alimentícia. Tais investigações podem não apenas agregar valor aos produtos regionais, mas também contribuir para a diversificação da oferta de bebidas fermentadas, ampliando o mercado e promovendo o uso sustentável dos recursos naturais amazônicos.

Evidentemente, a colaboração entre academia, indústria e órgãos reguladores é fundamental para garantir a exploração plena desse potencial, assegurar o cumprimento de padrões de segurança e qualidade, e fomentar a inovação sustentável no setor alimentício (Palladino *et al.*, 2023)."

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e Isolamento

Os frutos utilizados neste estudo foram coletados em diferentes locais do estado do Amazonas. Os frutos de *E. oleracea*, *Syagrus inajai*, *A. maripa*; *S. mombin*, *E. stipitata*, *G. fluviatilis* e *E. patrisii* foram coletados no campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em Manaus, Amazonas. Os frutos da *P. cupana* foram coletados em Maués, Amazonas, enquanto os frutos de *O. bataua* e *A. aculeatum* foram coletados em Presidente Figueiredo, Amazonas.

As coletas ocorreram em diferentes meses ao longo dos anos 2022 e 2023, de acordo com o período de frutificação e dispersão de cada espécie. Utilizaram-se equipamentos específicos para coleta e armazenamento. As exsicatas das plantas frutíferas das quais foram isoladas as leveduras fermentativas foram incorporadas ao Herbário INPA sob os números de tombamento INPA 300004; INPA 300005; INPA 300006; INPA 300007; INPA 300008 (Figura 3). O acesso ao patrimônio genético foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número de cadastro 52801.

Cada fruto foi submetido ao processo de higienização para garantir a eliminação de microrganismos indesejados. Inicialmente, os frutos foram lavados com água corrente e sabão neutro, utilizando uma esponja estéril para remover sujidades superficiais. Em seguida, foram submetidos à assepsia em câmara de fluxo laminar descontaminada nos seguintes passos: imersão em etanol 70% por 60 segundos, hipoclorito de sódio 3% por 180 segundos, etanol 70% por 30 segundos e, finalmente, água destilada autoclavada por 30 segundos (Souza *et al.*, 2004).

Para a obtenção de leveduras, foram empregados dois métodos distintos e não correlacionados para o isolamento microbiano, designados como Método 1 (MI) e Método 2 (MII). Inicialmente, utilizou-se MI (Figura 4A), no entanto, este não produziu os resultados esperados de obter indivíduos leveduriformes dos frutos. Assim, foi implementado o MII (Figura 4B) como uma abordagem alternativa para garantir um isolamento de leveduras mais direcionado.

Figura 3-Espécimes das frutíferas testemunhos analisados para o isolamento de leveduras fermentativas



Legenda: Exsicatas depositadas no Herbário INPA

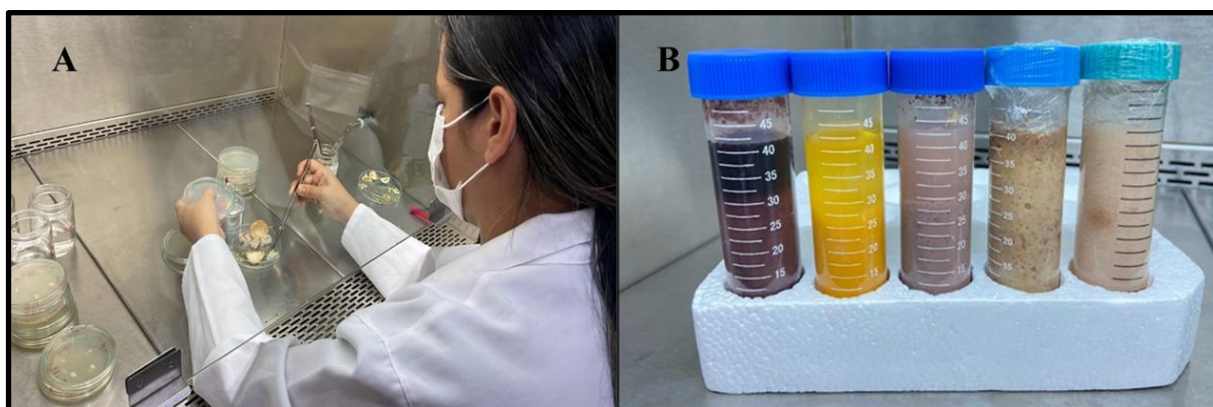
Para a MI, foram utilizadas as diferentes estruturas dos frutos (epicarpo (casca), mesocarpo (polpa) e semente) separando-os com auxílio de estiletes, pinças e placas de Petri estéreis e dispostos e categorizados conforme as estruturas específicas dos frutos. Quatro fragmentos de cada estrutura foram inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA) e meio de cultura Sabouraud (SB) ambos suplementados com antibióticos (ampicilina) com uma concentração de 100 µg/mL. As inoculações foram realizadas em triplicata para cada meio de cultura e para cada estrutura do fruto. Então o material foi mantido em estufa a 26 °C até o crescimento das colônias microbianas.

Após 48 horas as placas que apresentaram leveduras foram submetidas à etapa de repicagem em tubos de ensaio contendo o meio correspondente ao seu crescimento, sem a presença de antibióticos e transferidos para estufa BOD a 26 °C por um período de 48 a 72 horas. Após a incubação, as culturas foram novamente repicadas para placas de Petri, a fim de permitir a continuidade do crescimento e a subsequente análise microbiana, pureza e preservação.

Os procedimentos do MII para a higienização e assepsia dos frutos foram realizados conforme descrito no MI. Depois da assepsia dos frutos, foram retirados o epicarpo e mesocarpo, e ambos foram pesados em balança digital portátil com auxílio de uma placa de

Petri autoclavada e balança previamente tarada para garantir a segurança da assepsia. Foi determinada a proporção de 1 g de material vegetal para cada 1 mL de água destilada autoclavada. Esta preparação foi triturada em um mixer Philips Walita 400W por 5 a 10 minutos, até obter uma mistura homogênea. Posteriormente, 40 ml desse composto (fruto+água) foi transferida para tubos Falcon de 50 mL esterilizados e incubados em uma BOD a 26 °C por 48 horas. Após esse tempo, com auxílio de uma micropipeta e uma ponteira esterilizada, foram retirados 50 µl da mistura e inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA suplementado com antibiótico. Com auxílio de uma alça de Drigalski, a mistura foi uniformemente espalhada sobre a superfície do meio de cultura para garantir uma distribuição homogênea. As placas foram então transferidas para uma incubadora do tipo BOD, mantida a 26 °C, e incubadas por um período adicional de 48 a 72 horas. Todos os isolados de leveduras foram submetidos a cultivo em meio BDA e SB para verificar se o meio de cultivo influencia no isolamento.

Figura 4-Métodos MI e MII



Legenda: A. Processo de isolamento de microrganismo com MI, B. Processo de isolamento de microrganismo com MII.

3.2 Caracterização Morfológica e Bioquímica dos Isolados e Preservação

A pureza dos isolados foi confirmada por análises micromorfológicas. A análise macroscópica foi realizada por meio da observação das colônias quanto à superfície, cor, forma, borda e elevação, conforme descrito por Madigan *et al.* (2010), utilizando um estereomicroscópio binocular. A análise micromorfológica foi efetuada por meio de coloração de Gram como mostra a Figura 5 (Tortora; Funke; Case, 2013), seguindo as etapas descritas a seguir:

1. Pipetar 10 μ L do meio SB com o microrganismo isolado previamente, reativado 48 horas antes, incubado em estufa BOD a 28 ± 2 °C;
2. Deixar o material secar à temperatura ambiente;
3. Corar com violeta de cristal por 60 segundos;
4. Lavar com solução salina e deixar secar;
5. Cobrir a lâmina com solução de iodo de Gram (ou Lugol) por 60 segundos;
6. Lavar novamente com solução salina e deixar secar;
7. Lavar com álcool a 95% ou acetona para descolorir;
8. Lavar novamente com solução salina e deixar secar;
9. Cobrir com Safranina por 60 segundos;
10. Lavar com solução salina, secar e observar sob o microscópio óptico.

Figura 5-Coloração de Gram dos isolados



Legenda: Lâminas dos isolados feitas com a coloração Gram.

O procedimento possibilitou observar a presença de brotamento e classificar as características distintas das leveduras em relação ao tamanho, forma e reprodução, permitindo uma análise mais detalhada de sua estrutura celular e identificação morfológica. Também permitiu avaliar a pureza das colônias, identificando possíveis contaminações por outros microrganismos. A morfologia das colônias e das células leveduriformes foi comparada com dados da literatura especializada.

Para a etapa de purificação das leveduras, foi empregada a metodologia descrita por Souza *et al.*, (2004), com adaptações específicas. As leveduras purificadas foram conservadas em triplicata utilizando o método de criopreservação com glicerol a 20%, conforme descrito

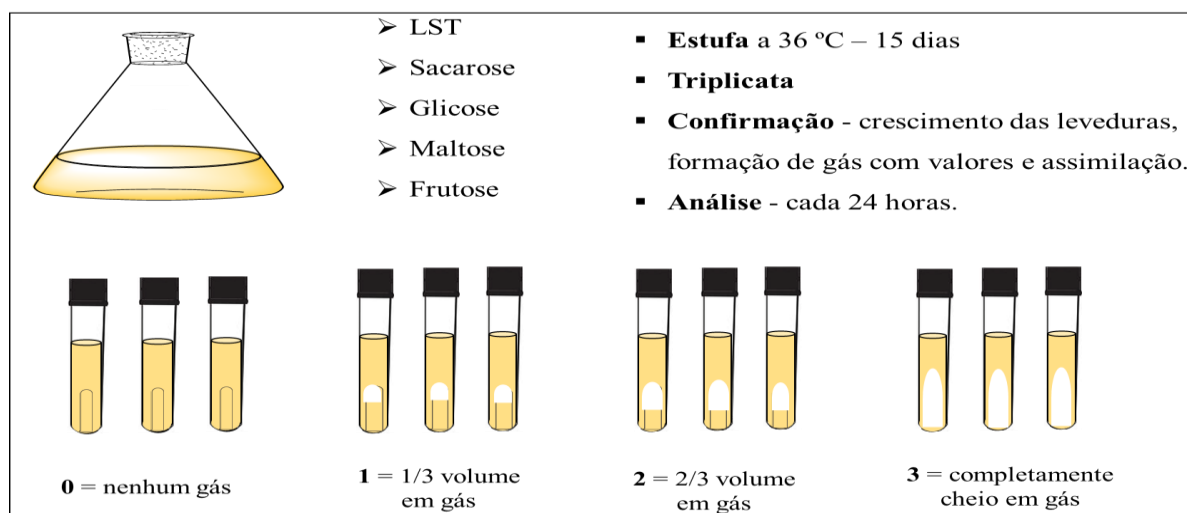
por Costa *et al.*, (2009). Esse método de conservação permite manter a viabilidade das leveduras por longos períodos de tempo, garantindo sua estabilidade genética e funcional.

Todos os isolados foram devidamente preservados e incorporados à coleção de fungos do Laboratório de Bioensaios e Microrganismos da Amazônia (LaBMicrA), localizado na Central Analítica da UFAM.

3.3 Avaliação do Potencial Fermentativo das Leveduras Isoladas

O teste de fermentação seguiu os procedimentos descritos por Silva (1996) e Lacaz *et al.*, (1998), com adaptações específicas do laboratório. Para realizá-lo, uma colônia pura de levedura foi retirada e inoculada em tubos de ensaio de vidro com tampa de rosca. Dentro dos tubos foram colocados tubos de Durham invertidos e adicionados 10 mL de meio líquido YPD (extrato de levedura e peptona a 20 g/L), acrescido de 2% da fonte de carbono a ser testada, incluindo glicose, sacarose, maltose, frutose e o caldo LST (Lauril Sulfato Triptose), conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6-Esquema para o teste de fermentação



Legenda: Relação da fonte de carbono usada para o teste de fermentação das leveduras isoladas e seus respectivos valores.

Todas as leveduras isoladas foram submetidas ao teste de fermentação com diferentes fontes de carbono. Entre os monossacarídeos, foram utilizados glicose ($C_6H_{12}O_6$) e frutose ($C_6H_{12}O_6$), que se diferenciam pela estrutura de seis e cinco átomos de carbono em anel, respectivamente. Foram também testados os dissacarídeos sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) e maltose

(C₁₂H₂₂O₁₁). Além disso, o meio LST foi incluído para identificar microrganismos com capacidade de metabolizar lactose, fornecendo uma avaliação adicional da versatilidade fermentativa das leveduras devido à sua composição seletiva.

O experimento foi realizado em triplicata, com leituras diárias durante 15 dias após a inoculação. A capacidade fermentativa foi avaliada pela produção de gás nos tubos de Durham, com as seguintes pontuações: 0 para ausência de gás, 1 para preenchimento de 1/3 do volume do tubo com gás, 2 para preenchimento de 2/3 e 3 para tubo completamente cheio de gás. Com base nesses dados, foi possível avaliar preliminarmente a capacidade fermentativa das leveduras em cada fonte de carbono testada.

3.4 Extração de DNA

A análise molecular foi iniciada com a extração de DNA das leveduras, seguindo o protocolo descrito por Vicente *et al.* (2008), com adaptações específicas para as condições do laboratório. As linhagens selecionadas foram cultivadas em tubos contendo 10 mL de meio SB, incubados a 28 ± 2 °C por um período de 48 a 72 horas. A extração do DNA genômico total foi realizada utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, EUA), seguindo o protocolo “*Isolation of Genomic DNA from Yeast Cultures or Plant Tissue*”, conforme as instruções fornecidas pelo fabricante.

O sucesso da extração e integridade do DNA total foram avaliadas por eletroforese em gel de agarose a 0,8% (m/v), em tampão TBE 0,5%, contendo brometo de etídio a uma concentração final de 0,5 µg/mL (Souza *et al.*, 2004). A eletroforese foi conduzida utilizando a fonte de alimentação PW200 (PWSYS, Brasil), configurada para aplicação de 140 V, 400 mA de corrente e potência de 120W, durante 60 minutos.

3.5 Amplificação do gene ITS e purificação

O DNA total extraído foi utilizado como molde para amplificação do gene ITS através de Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando o kit HSTM Taq DNA Polymerase (Sinapse Inc., Brasil) e *primers* ITS1-forward (5'-TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG-3') e ITS4-reverse (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'). As reações para cada amostra foram preparadas para um volume final de 25 µL, com os seguintes componentes: 15,3 µL de água MilliQ, 2,5 µL de tampão Mg²⁺ Plus, 1 µL de Desoxirribonucleotídeos Fosfatados (dNTPs) a 5

mM, 2 µL de *primers* ITS1 (3,8 µM) e ITS4 (3,8 µM), 0,2 µL de Taq DNA Polimerase (5 U/µL) e 2 µL de amostra. A amplificação ocorreu em termociclador Veriti™ Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, EUA) sob as seguintes condições: inicialização a 94°C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 59°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto, com uma etapa final de extensão a 72°C por 10 minutos.

A análise dos produtos de PCR foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% (m/v) em tampão TBE 0,5%, contendo brometo de etídio a uma concentração final de 0,5 µg/mL (Souza *et al.*, 2004). A corrida eletroforética ocorreu com uso da fonte PW200 (PWSYS, Brasil) configurada para aplicação de tensão de 140 V, corrente de 400 mA e potência de 120W, durante 60 minutos. Para estimativa do tamanho molecular, foi utilizado o marcador 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen, EUA). A visualização e fotodocumentação foram realizadas em fotodocumentador L-Pix Chemi (Loccus, Brasil).

Após amplificação e visualização, os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Thermo Fisher Scientific, EUA), conforme as instruções do fabricante, com intuito de remover primers livres e nucleotídeos não incorporados.

3.6 Sequenciamento

As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando o kit BigDye® Terminator v3.1 (Thermo Fisher Scientific, EUA) para ambos os primers (ITS1 e ITS4), separadamente. A reação teve um volume final de 10 µL, com os seguintes componentes: 2 µL de água MilliQ, 1,5 µL de tampão de sequenciamento (5x), 1 µL de primer (3,2 µM), 0,5 µL de BigDye Terminator Mix e 5 µL do produto de PCR purificado. A termociclagem para sequenciamento foi conduzida com os seguintes ciclos: 96°C por 1 minuto, seguido de 35 ciclos de 96°C por 10 segundos, 50°C por 10 segundos e 60°C por 4 minutos. Após a reação de sequenciamento, os produtos foram purificados por meio de precipitação com EDTA e Etanol. As leituras foram realizadas em sequenciador ABI 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, EUA).

3.7 Processamento e montagem de sequências

Após o sequenciamento, cada amostra resultou em um par de arquivos no formato AB1, um contendo as sequências dirigidas pelo *primer* ITS1 e outro as sequências dirigidas pelo *primer* ITS4. O processamento das sequências foi conduzido utilizando o programa BioEdit (versão 5.0.9). Os arquivos de cromatogramas brutos (formato AB1) foram inspecionados manualmente para garantir a qualidade das sequências a serem utilizadas nas próximas análises. Foram removidas as regiões iniciais e terminais com baixa qualidade, incluindo aquelas correspondentes aos *primers* utilizados durante a amplificação. Adicionalmente, as bases degeneradas identificadas nas sequências foram substituídas por bases nucleotídicas não determinadas, representadas pelo símbolo "N".

Para montagem de contigs, todas as sequências construídas a partir do *primer* ITS4 foram convertidas em seu reverso complemento. Em seguida, as sequências complementares (ITS1 e ITS4) foram submetidas à montagem por meio da ferramenta *Contig Assembly Program* – CAP (Huang, 1992). Nos casos em que a montagem não foi viável devido à ausência de sobreposição suficiente entre as sequências, a sequência com maior extensão e qualidade foi selecionada para as análises subsequentes.

3.8 Classificação taxonômica

Após processamento e montagem, os contigs e sequências não montadas foram submetidas a análise de classificação taxonômica utilizando a plataforma UNITE (Kõljalg *et al.*, 2020; Abarenkov *et al.*, 2023), empregando a base dados UNITE Species Hypothesis (versão 8.2). A classificação foi realizada por meio de busca do tipo BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) utilizando os parâmetros padrão (*default*) da plataforma. Para classificação taxonômica, foram avaliados todos os resultados da saída padrão – 30 *matches*. Foram consideradas classificações a nível de espécie, quando todos os *matches* resultaram na mesma espécie, com uma porcentagem de similaridade $\geq 96\%$ e um E-value = 0.0. Quando a sequência submetida foi relacionada a mais de um táxon, com porcentagem de similaridade $\geq 96\%$ e E-vale = 0.0, a classificação foi restrita à relação taxonômica mais próxima entre a taxa.

3.9 Análise filogenética

Todas as sequências submetidas a classificação taxonômica foram alinhadas pelo algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004), utilizando os parâmetros padrão disponíveis no programa MEGA11 (Tamura; Stecher; Kumar, 2021). Com base no alinhamento, foram selecionadas regiões tanto conservadas quanto informativas para inferência filogenética. Essas sequências alinhadas e curadas, foram submetidas ao servidor web IQ-TREE (Trifinopoulos *et al.*, 2016) para avaliação do modelo evolutivo mais adequado para a análise filogenética.

Em seguida, foi construída a árvore filogenética a partir das sequências alinhadas e curadas. Para isso foi utilizado o programa MEGA11 (Tamura; Stecher; Kumar, 2021), método de Máxima Verossimilhança, modelo de dois parâmetros de Kimura (K2P) (Kimura, 1980), de acordo com o sugerido pelo servidor web IQ-TREE, e 1000 repetições de bootstrap. A sequência do gene ITS da levedura *Cryptococcus neoformans* (NR_171785.1), disponível no banco de dados NCBI Nucleotide, foi incorporada como outgroup para a ancoragem da topologia da árvore. A árvore filogenética foi exportada no formato SVG e convertida para PNG utilizando a biblioteca CairoSVG versão 2.5.2 (CAIROSVG DEVELOPMENT TEAM, 2024), implementada na linguagem de programação Python (versão 3.10.12) em ambiente Google Colab (Google, 2024). A conversão foi realizada com uma resolução de 300 DPI para garantir a qualidade da imagem.

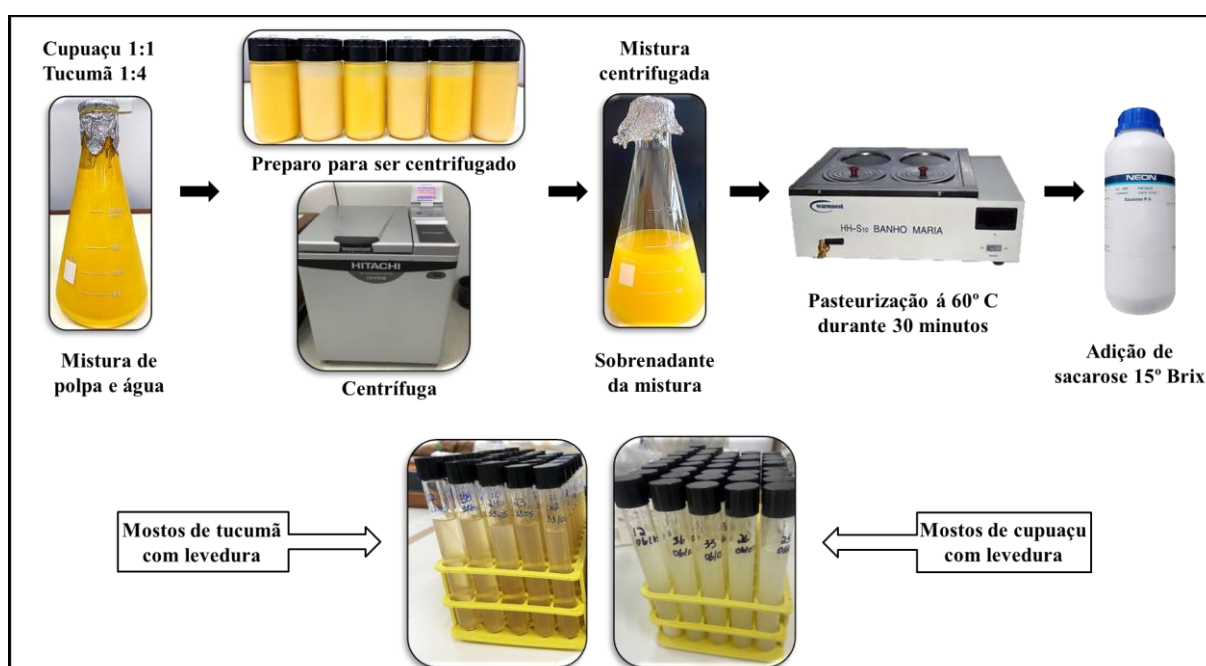
3.10 Obtenção de bebidas à base dos frutos da Amazônia

A preparação para o teste da bebida fermentada iniciou-se com a seleção das leveduras que demonstraram capacidade para fermentar glicose, sacarose e frutose, conforme o protocolo do Instituto Adolfo Lutz (2008), adaptado às especificações do laboratório. Os frutos escolhidos foram o *T. grandiflorum* (cupuaçu) e o *A. aculeatum* (tucumã), selecionados com base nos objetivos deste estudo e na origem regional dessas frutas.

O procedimento envolveu a despolpa dos frutos, que foram misturados com água destilada autoclavada nas proporções de 1:1 para o cupuaçu e 1:4 para o tucumã, utilizando um liquidificador doméstico. A mistura foi então centrifugada em centrífuga modelo Hitachi a 7777 G por 20 minutos a 4 °C (Figura 7). Em seguida, com auxílio de um refratômetro digital, ajustou-se o °Brix, adicionando-se sacarose até atingir o valor de 15 °Brix. Para garantir a eliminação de microrganismos indesejáveis, o mosto foi submetido a tratamento térmico a 60° C por 30 minutos, e o pH foi ajustado para 5.

Foram aplicados 15 mL do mosto em tubos de ensaio de 20 mL, aos quais foram adicionados 1 mL de meio SB contendo as leveduras previamente incubadas por 48 horas. Uma alíquota de 10 μ L de cada amostra de levedura teve suas células contadas com auxílio da câmara de Neubauer. As observações foram realizadas em microscópio óptico para verificar a viabilidade e a morfologia das células de levedura. O teste de fermentação foi conduzido a temperaturas entre 25 °C e 30 °C durante 15 dias, com leituras realizadas a cada 72 horas para monitorar o progresso da fermentação, incluindo a variação de °Brix e a produção de dióxido de carbono.

Figura 7-Etapas que antecedem o teste de fermentação para o mosto de tucumã e cupuaçu



Legenda: Etapas que antecedem o teste de fermentação para o mosto de tucumã e cupuaçu.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Isolamento e Preservação dos Microrganismos de Frutos Amazônicos

O isolamento de leveduras a partir de frutos tem sido amplamente explorado devido à diversidade microbiana presente nesses nichos e ao potencial biotecnológico desses microrganismos (Silva *et al.*, 2023; Macêdo *et al.*, 2023a). Estudos demonstram que as estruturas do fruto, como polpa, casca e sementes, representam ambientes propícios para o desenvolvimento de leveduras, especialmente devido à presença de açúcares fermentáveis e compostos bioativos (Gava *et al.*, 2018; Kasmiarti *et al.*, 2022). Silva *et al.* (2023), por exemplo, utilizaram fermentação espontânea para isolar linhagens de leveduras de *E. stipitata*, *T. cacao* e *T. grandiflorum*, reforçando a importância de estratégias de isolamento que considerem os frutos como reservatórios microbianos, ainda que também abriguem outros grupos de microrganismos.

Essa pesquisa resultou no isolamento e preservação de 119 microrganismos, dos quais 75 foram fungos filamentosos, 20 bactérias e 24 fungos leveduriformes. Os fungos filamentosos foram preservados utilizando os métodos de preservação Castellane, Palito e Glicerol a 20%, enquanto as bactérias e leveduras foram preservadas em Glicerol a 20% armazenado em temperatura de -80 °C. Esses microrganismos estão atualmente conservados na coleção do Laboratório de Bioensaios e Microrganismos da Amazônia (LaBMicrA), na Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

Os resultados indicam que a utilização dos meios de cultivo BDA e SB levou ao isolamento de 18 (75,0%) e 6 (25,0%) leveduras, respectivamente. Além disso, ao empregar o método MII, foi possível isolar 20 (83,3%) leveduras, enquanto o método MI resultou no isolamento de 4 (16,7%). Esses dados demonstram a maior eficiência do meio BDA em comparação ao SB, bem como a superioridade do método MII em relação ao MI no isolamento de leveduras. Ao repicar os isolados de leveduras para avaliar sua seletividade em relação aos meios de cultura, observou-se crescimento em ambos os meios testados, indicando ausência de preferência específica por um meio em detrimento do outro. Observou-se, no entanto, um aumento na quantidade de fungos leveduriformes ao aplicar o método MII, com um percentual de 83,3% dos isolados obtidos por essa abordagem, em comparação a 16,7% pelo método MI. Esses dados indicam a maior eficiência do MII no isolamento de leveduras.

A aplicação do método MII sugere que as leveduras podem estar concentradas em estruturas específicas do fruto, e que o crescimento de fungos filamentosos e bactérias pode comprometer ou dificultar seu isolamento. Nesse contexto, a maceração e a trituração dos tecidos dos frutos podem favorecer o isolamento das leveduras ao aumentar a disponibilidade de nutrientes, como açúcares, e facilitar a liberação desses microrganismos. Além disso, a dispersão do material sobre a placa pode proporcionar um acesso mais imediato aos nutrientes do meio, favorecendo o crescimento das leveduras em detrimento de outros microrganismos, especialmente se estas apresentarem características de inibição ou competitividade em ambientes açucarados.

A distribuição não uniforme das leveduras nos diferentes tecidos do fruto é coerente com as características estruturais e químicas do mesocarpo, que apresenta maior probabilidade de abrigar esses microrganismos. Estudos realizados por Gava *et al.* (2018) e Kasmiarti *et al.* (2022) reforçam essa especificidade de habitat ao abordar métodos distintos para o isolamento de leveduras em frutos variados.

O trabalho desenvolvido por Macêdo *et al.* (2023a), ao isolar 27 linhagens de leveduras dos sucos de graviola (*Annona muricata*) e umbu-cajá (*Spondias* spp.) por meio de fermentação natural, também corrobora a hipótese de que leveduras associadas a frutos podem ser isoladas de forma eficiente a partir da fermentação espontânea, evidenciando sua adaptação a substratos açucarados.

4.2 Características Macro e Micromorfológicas dos Isolados de Leveduras por Métodos Bioquímicos

As variações nas características morfológicas observadas entre os isolados microbianos refletem a diversidade de espécies de leveduras associadas aos frutos amazônicos. A análise dessas variações, tanto morfológicas quanto bioquímicas, é fundamental para compreender a composição microbiana presente nos frutos, pois permite identificar padrões de adaptação, interações com os tecidos vegetais e possíveis mecanismos de competição entre microrganismos. Esses dados fornecem informações relevantes sobre a ecologia microbiana dos frutos e sua relação com as plantas hospedeiras, além de contribuir para a exploração de potenciais aplicações biotecnológicas e ecológicas dessa biodiversidade.

A ausência de registros de leveduras provenientes dos habitats dos frutos de *A. aculeatum*, *A. maripa*, *S. inajai* e *E. patrisii* evidencia uma lacuna significativa na literatura

científica. Nesse contexto, este estudo se destaca como pioneiro ao identificar e caracterizar leveduras associadas a essas plantas, cujas espécies ainda não haviam sido documentadas na literatura ou em bancos de dados científicos. A continuidade dessa linha de investigação pode levar à descoberta de linhagens com propriedades promissoras para aplicações inovadoras. Estudos anteriores, como os de Sperandio, Martins do Vale e Moreira (2015) e Macêdo *et al.* (2023a), já evidenciaram o potencial biotecnológico de leveduras isoladas de frutos, especialmente para o controle biológico de pragas e processos fermentativos. Além disso, essa abordagem pode contribuir para a identificação de novas espécies com características únicas, ampliando o conhecimento sobre a biodiversidade microbiana e suas aplicações em diversas áreas, como saúde, agricultura e indústria de alimentos (Barros *et al.*, 2022).

As leveduras isoladas nesta pesquisa exibiram considerável diversidade morfológica, sugerindo a presença de diferentes espécies e possíveis adaptações aos nichos ecológicos dos frutos. As variações fenotípicas observadas, como diferenças na superfície, coloração, borda e elevação das colônias, refletem a diversidade intra e interespecífica entre os isolados. Por exemplo, os isolados LaBMicrA 1375 e LaBMicrA 1386, ambos identificados como *Pichia kudriavzevii*, apresentaram variações morfológicas distintas, sugerindo plasticidade fenotípica dentro da espécie. Da mesma forma, o isolado LaBMicrA 1393 (*P. terricola*) apresentou características diferentes em relação aos isolados LaBMicrA 1392 e LaBMicrA 1394, apesar de todos terem sido obtidos do mesmo fruto, indicando que diferentes linhagens podem coexistir e se especializar em microambientes específicos dentro do mesmo hospedeiro vegetal.

Os gêneros *Pichia* e *Meyerozyma* foram os mais abundantes, sendo isolados dos frutos de *O. bataua*, *S. injai*, *A. aculeatum*, *A. maripa* e *E. stipitata* (para *Meyerozyma*), enquanto *Pichia* foi encontrado em *E. oleracea* e *A. maripa*. Em contrapartida, o gênero *Kodamaea* foi menos abundante, sendo identificado apenas nos frutos de *A. maripa*, *E. patrisii* e *S. injai*.

Os resultados obtidos sugerem que a diversidade de leveduras pode estar associada às características dos frutos analisados e aos ambientes onde essas plantas se encontram. Diferenças na composição de espécies foram observadas entre frutos distintos, o que pode indicar uma relação entre a microbiota e o hospedeiro vegetal. No entanto, investigações adicionais, com um número maior de amostras e variáveis ambientais, são necessárias para confirmar essa influência. No presente estudo, entre as frutíferas analisadas, os frutos da palmeira *A. maripa* foram identificados como o habitat que abriga a maior variedade de gêneros de leveduras, sugerindo que suas condições microambientais podem favorecer a proliferação desses microrganismos. A presença dessa diversidade pode estar relacionada à composição

nutricional das diferentes partes da planta, aliada às condições específicas de umidade e temperatura do ambiente amazônico.

Nesta pesquisa, *A. maripa* apresentou um número significativo de leveduras isoladas, sugerindo que seus frutos oferecem condições favoráveis para a colonização desses microrganismos. Essa elevada diversidade pode estar associada a fatores como composição química da polpa, presença de metabólitos secundários e disponibilidade de açúcares fermentáveis. De forma semelhante, Fernandes *et al.* (2024) identificaram *E. stipitata* como um hospedeiro com elevada diversidade de leveduras (19 indivíduos), reforçando a hipótese de que certos frutos amazônicos podem atuar como nichos preferenciais para esses microrganismos. Assim, a presença abundante de leveduras em *A. maripa* e *E. stipitata* sugere que características específicas dessas espécies podem favorecer sua colonização, o que merece investigação mais aprofundada.

Os frutos analisados da Amazônia Central apresentaram variações na diversidade de leveduras, sugerindo que fatores como composição química, estrutura do fruto e condições ambientais influenciam a microbiota associada. A predominância de determinadas espécies em frutos específicos indica que certas características do hospedeiro podem favorecer a colonização e o desenvolvimento desses microrganismos.

Esses achados estão em consonância com o estudo de Gava *et al.* (2018), que explorou a diversidade microbiana em plantas cultivadas em regiões semiáridas dos estados de Pernambuco e Bahia. Segundo os autores, os frutos da videira apresentaram o maior sucesso no isolamento de leveduras, possivelmente devido à sua alta concentração de açúcares e ao pH favorável ao desenvolvimento desses microrganismos.

A comparação entre diferentes biomas reforça a hipótese de que a flora nativa de cada região abriga uma microbiota específica, influenciada tanto pelas condições ambientais quanto pelas características dos frutos. A variabilidade na quantidade e diversidade de leveduras entre diferentes hospedeiros e regiões destaca a importância de fatores ecológicos na colonização desses microrganismos e evidencia o potencial biotecnológico dessa biodiversidade.

4.2.1 Leveduras Isoladas de *Astrocaryum aculeatum* (Tucumã)

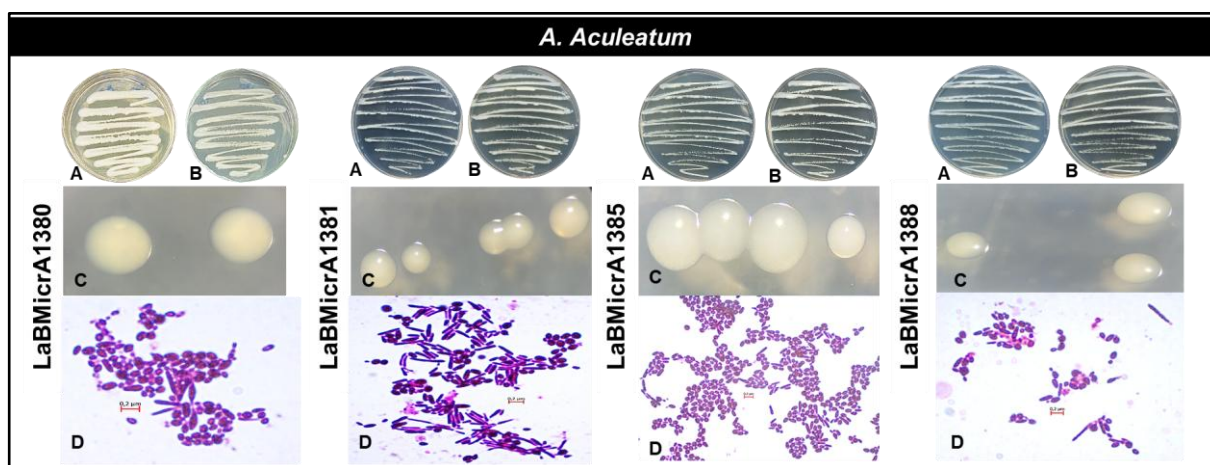
Foram obtidos quatro isolados leveduriformes a partir de *A. aculeatum* utilizando o método MII. Esses isolados foram identificados como *Meyerozyma* spp. (LaBMicrA 1380), *Debaryomycetaceae* sp. (LaBMicrA 1381) e *M. caribbica* (LaBMicrA 1385 e LaBMicrA

1388). A identificação das espécies foi realizada por meio de análises morfológicas macro e microscópicas, complementadas por caracterização molecular.

A análise morfológica desses indivíduos revelou pouca variação entre os isolados, conforme apresentado na Tabela 2. Ainda que pertençam a gêneros distintos, *Meyerozyma* e *Debaryomycetaceae* fazem parte da mesma ordem (Saccharomycetales), o que sugere possíveis semelhanças ecológicas e funcionais entre esses microrganismos. Em relação às leveduras isoladas de outros frutos, foram empregadas as mesmas metodologias de identificação, garantindo a comparabilidade dos dados obtidos.

. Estes apresentaram-se de acordo com os parâmetros morfológicos da colônia com superfície lisa e convexa, coloração creme, forma circular e borda lisa. Diferenciou-se o isolado LaBMicrA 1388, na coloração (branca), o isolado LaBMicrA 1385 na forma (irregular) e o isolado LaBMicrA 1381 na elevação (elevada). Entre os parâmetros morfológicos da célula, todos apresentaram características ogivas (Figura 8).

Figura 8-Crescimento das leveduras isoladas de *Astrocaryum aculeatum*



Legenda: A. crescimento em meio BDA; B. crescimento em meio SB; C. colônia dos isolados; D. células dos isolados.

4.2.2 Leveduras Isoladas de *Attalea maripa* (Inajá) e *Syagrus inajai* (Pupunharana)

Entre os microrganismos isolados de *A. maripa* (Figuras 9 e 10), por meio do método de inoculação em meio de cultivo (MII), foram obtidos seis isolados leveduriformes, os quais foram identificados como *Meyerozyma* spp. (LaBMicrA 1374), *Pichia* sp. (LaBMicrA 1375, LaBMicrA 1379, e LaBMicrA 1386) e *Kodamaea* sp. (LaBMicrA 1376 e LaBMicrA 1378). Os isolados apresentaram variações significativas tanto nas características morfológicas das

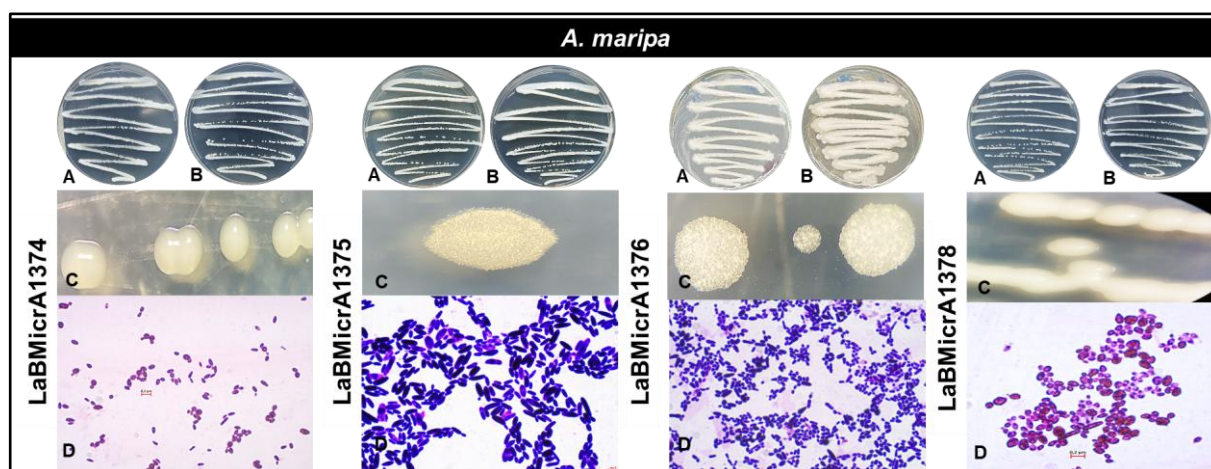
colônias quanto na morfologia celular, conforme descrito na Tabela 2. O isolado LaBMicrA 1374 apresentou características compatíveis com *Meyerozyma* sp., exibindo colônias com superfície lisa, plana e de coloração creme, com formato circular e borda lisa. A morfologia celular foi caracterizada por células de forma cilíndrica.

Os isolados de *Pichia* spp. apresentaram características morfológicas distintas entre si. O isolado LaBMicrA 1375 exibiu colônias com superfície rugosa, plana e de coloração creme, com formato circular e borda filamentosa. O isolado LaBMicrA 1379 apresentou colônias de superfície rugosa, plana e creme, com forma irregular e borda lobulada. Já o isolado LaBMicrA 1386 apresentou colônias com superfície lisa, elevada e de coloração branca, com formato circular e borda lisa. Todos os isolados de *Pichia* sp. exibiram células de morfologia elipsoide.

Os isolados identificados como *Kodamaea* sp., as colônias de LaBMicrA 1376 apresentaram superfície rugosa, plana e de coloração creme, enquanto as colônias de LaBMicrA 1378 eram de superfície lisa, convexa e também creme, ambas com formato circular. Em relação à morfologia celular, o isolado LaBMicrA 1376 apresentou células cilíndricas, enquanto LaBMicrA 1378 apresentou células com formato ogival.

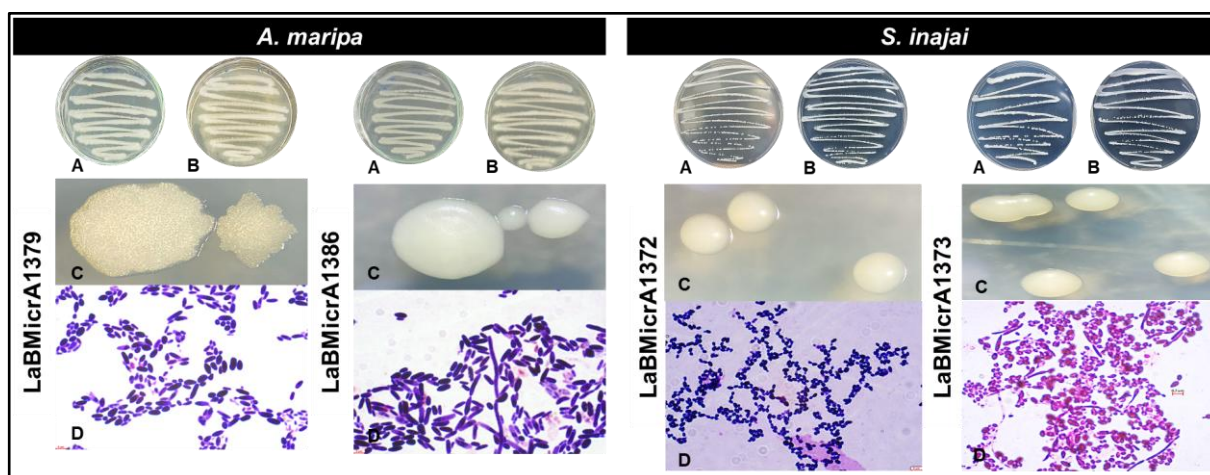
A aplicação da metodologia de inoculação em meio de cultivo (MII) para *S. inajai* resultou no isolamento de dois microrganismos: LaBMicrA 1372, identificado molecularmente como *Meyerozyma* spp., e LaBMicrA 1373, identificado molecularmente como *Kodamaea* spp. Ambos os isolados apresentaram características morfológicas semelhantes, tanto em nível colonial quanto celular, conforme descrito na Tabela 2.

Figura 9-Crescimento das leveduras isoladas de *Attalea maripa*



Legenda: A. crescimento em meio BDA; B. crescimento em meio SB; C. colônia dos isolados; D. células dos isolados.

Figura 10-Crescimento das leveduras isoladas de *Attalea maripa* e *Syagrus inajai*



Legenda: A. crescimento em meio BDA; B. crescimento em meio SB; C. colônia dos isolados; D. células dos isolados

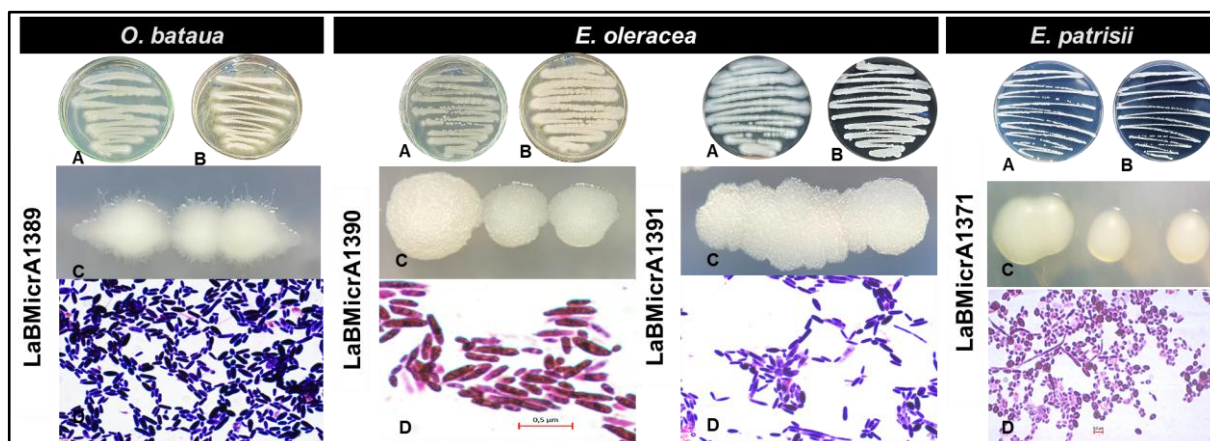
4.2.3 Leveduras Isoladas de *Oenocarpus bataua* (Patauí), *Euterpe oleracea* (Açaí) e *Eugenia patrisii* (Ubaia)

A Figura 11 apresenta os isolados LaBMicrA 1389 (obtido de *O. bataua*), LaBMicrA 1390 e LaBMicrA 1391 (obtidos de *E. oleracea*) e LaBMicrA 1371 (obtido de *E. patrisii*), todos isolados utilizando a metodologia de fermentação natural do fruto (MII).

Os isolados LaBMicrA 1390 e LaBMicrA 1391 exibiram características morfológicas semelhantes, conforme detalhado na Tabela 2, com a principal diferença sendo a superfície das colônias: LaBMicrA 1390 apresentou colônias com superfície rugosa e elevada, enquanto LaBMicrA 1391 teve colônias com superfície rugosa e plana. Ambos os isolados apresentaram coloração creme, formato irregular e bordas lobuladas, além de morfologia celular cilíndrica. A análise molecular identificou-os como: *Saccharomycetaceae* (LaBMicrA 1390) e *P. kudriavzevii* (LaBMicrA 1391).

O isolado LaBMicrA 1371 apresentou colônias com superfície lisa e convexa, coloração branca, formato circular e bordas inteiras, com morfologia celular ogival. A análise molecular indicou que este isolado pertence ao gênero *Kodamaea ohmeri*. Por outro lado, o isolado LaBMicrA 1389 exibiu colônias com superfície lisa e plana, coloração branca, formato rizóide e borda filamentosa, além de morfologia celular ogival.

Figura 11-Crescimento das leveduras isoladas de *Oenocarpus bataua*, *Euterpe oleracea* e *Eugenia patrisii*



Legenda: A crescimento em meio BDA; B. crescimento em meio SB; C. colônia dos isolados; D. células dos isolados.

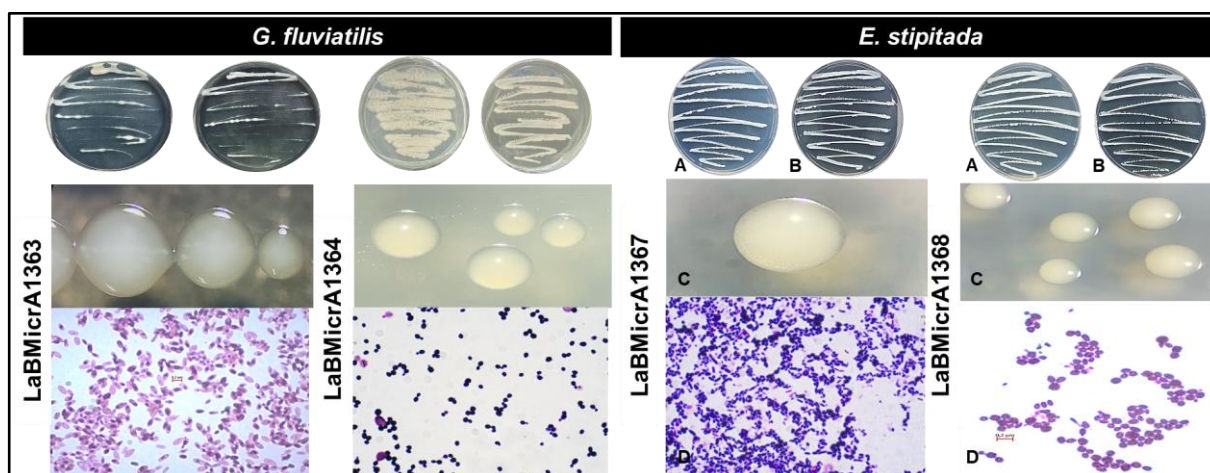
4.2.4 Leveduras Isoladas de *Garcinia fluviatilis* (Bacuripare) e *Eugenia stipitata* (Araçá-boi)

Os isolados de *G. fluviatilis* e *E. stipitata*, apresentados na Figura 12, foram obtidos utilizando a metodologia MI e exibiram características morfológicas distintas, conforme detalhado na Tabela 2.

Os isolados LaBMicrA 1363 e LaBMicrA 1364, provenientes da semente de *G. fluviatilis*, apresentaram colônias com morfologias similares, diferenciando-se apenas na coloração: LaBMicrA 1363 apresentou coloração branca, enquanto LaBMicrA 1364 apresentou coloração creme. Ambos os isolados exibiram superfície lisa e convexa, forma circular e borda lisa. Em termos da morfologia celular, LaBMicrA 1363 dispõe de células elipsoides, enquanto LaBMicrA 1364 apresenta células ovais. A análise molecular indicou que o indivíduo LaBMicrA 1364 pertence à família Rhynchoagastremaceae e o isolado 1363 não teve o sequenciamento realizado durante esta pesquisa.

Por outro lado, os isolados LaBMicrA 1367 e LaBMicrA 1368, obtidos de *E. stipitata*, também exibiram características morfológicas das colônias similares, com superfície lisa e convexa, coloração creme, forma circular e borda lisa. No entanto, a morfologia celular apresentou variações: LaBMicrA 1367 apresentou células ogivais, enquanto LaBMicrA 1368 apresentou células ovais. A análise molecular indicou que ambos os isolados pertencem à família Debaryomycetaceae.

Figura 12-Crescimento das leveduras isoladas de *Garcinia fluviatilis* e *Eugenia stipitata*



Legenda: A. crescimento em meio BDA; B. crescimento em meio SB; C. colônia dos isolados; D. células dos isolados.

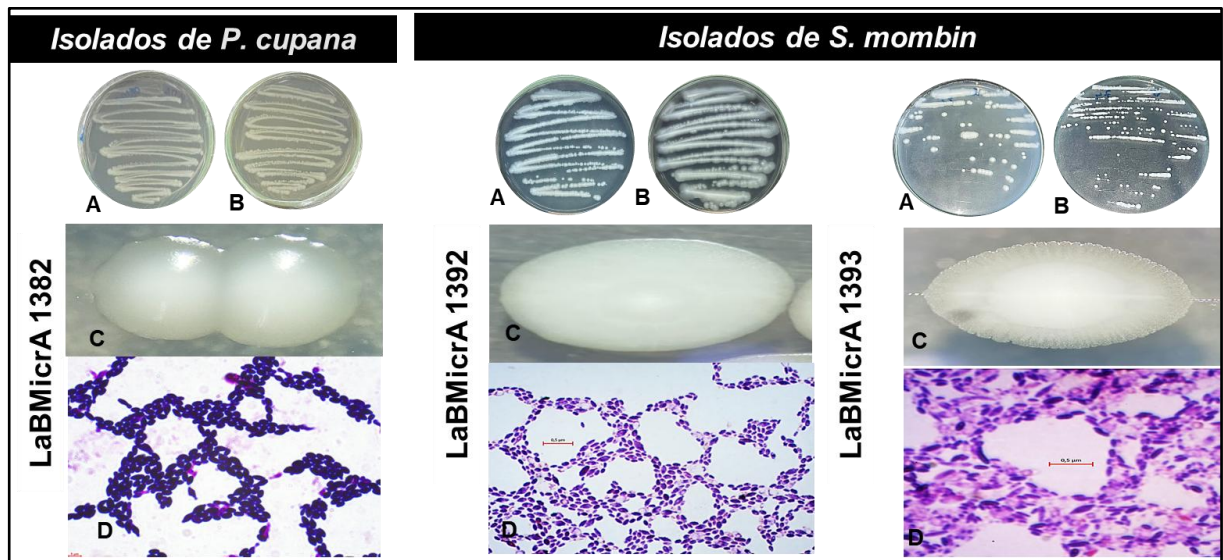
4.2.4 Leveduras Isoladas de *Paullinia cupana* (Guaraná) e *Spondias mombin* (Taperebá)

Os indivíduos leveduriformes obtidos dos frutos de *P. cupana* (LaBMicrA 1382) e dos frutos de *S. mombin* (LaBMicrA 1392 e LaBMicrA 1393), isolados por meio da metodologia (MII), estão demonstrados na Figura 13.

O isolado LaBMicrA 1382, apresentou morfologia da colônia com superfície lisa e convexa, coloração branca, formato irregular, bordas onduladas e células com morfologia ogival e morfologia celular elipsoides. A análise molecular indicou que ambos os isolados pertencem à espécie *Hanseniasporas* spp.

Os isolados LaBMicrA 1392 e LaBMicrA 1393, exibiram características morfológicas diferenciadas. O indivíduo LaBMicrA 1392 apresentou colônias com superfície lisa e convexa, coloração branca, forma circular e bordas lisas, enquanto o indivíduo LaBMicrA 1393 dispões de colônias com superfície lisa e papilada, coloração branca, forma ondulada e bordas onduladas. Em relação à morfologia celular, LaBMicrA 1392 apresentou células cilíndricas e LaBMicrA 1393 apresentou células apiculares, apesar das características morfológicas diferentes a análise molecular indicou que ambos os isolados foram identificados com *P. terricola*.

Figura 13-Crescimento das leveduras isoladas de *Paullinia cupana* e *Spondias mombin*



Legenda: A. crescimento em meio BDA; B. crescimento em meio SB; C. colônia dos isolados; D. células dos isolados.

Tabela 2- Relação das leveduras isoladas de frutos amazônicos e parâmetros morfológicos das colônias e das células

Código LaBMicrA	NPF	NCF	NCL	M	MC	PMCO					PMCE
						S	C	F	B	E	
1380	Tucumã	<i>A. aculeatum</i>	<i>Meyerozyma</i> spp. 1	II	BDA	Rugosa	Creme	Circular	Lisa	Convexa	Ogivas
1381	Tucumã	<i>A. aculeatum</i>	<i>Debaryomycetaceae</i>	II	BDA	Rugosa	Creme	Circular	Lisa	Elevada	Ogivas
1385	Tucumã	<i>A. aculeatum</i>	<i>Meyerozyma</i> spp. 2	II	BDA	Lisa	Creme	Irregular	Lisa	Convexa	Ogivas
1388	Tucumã	<i>A. aculeatum</i>	<i>Meyerozyma</i> spp. 3	II	BDA	Lisa	Branca	Branca	Lisa	Convexa	Ogivas
1374	Inajá	<i>A. maripa</i>	<i>Meyerozyma</i> spp. 4	II	BDA	Lisa	Creme	Circular	Lisa	Plana	Elipsoide
1375	Inajá	<i>A. maripa</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>	II	BDA	Rugosa	Creme	Circular	Filamentosa	Plana	Elipsoide
1376	Inajá	<i>A. maripa</i>	<i>Kodamaea ohmeri</i>	II	BDA	Rugosa	Creme	Circular	Filamentosa	Plana	Elipsoide
1378	Inajá	<i>A. maripa</i>	<i>K. ohmeri</i>	II	BDA	Rugosa	Creme	Circular	Filamentosa	Convexa	Ogivas
1379	Inajá	<i>A. maripa</i>	<i>P. kudriavzevii</i>	II	BDA	Rugosa	Creme	Irregular	Lobulada	Plana	Elipsoide
1386	Inajá	<i>A. maripa</i>	<i>P. kudriavzevii</i>	II	BDA	Lisa	Branca	Branca	Inteira	Elevada	Elipsoide
1390	Açaí	<i>E. oleracea</i>	<i>Saccharomycotina</i>	II	BDA	Rugosa	Branca	Irregular	Lobulada	Elevada	Elipsoide
1391	Açaí	<i>E. oleracea</i>	<i>P. kudriavzevii</i>	II	SB	Rugosa	Branca	Irregular	Lobulada	Plana	Elipsoide
1371	Ubaia	<i>E. patrisii</i>	<i>K. ohmeri</i>	II	BDA	Lisa	Creme	Circular	Lisa	Convexa	Ogivas
1367	Araçá-boi	<i>E. stipitata</i>	<i>Debaryomycetaceae</i>	I	SB	Lisa	Creme	Circular	Lisa	Convexa	Ogivas
1368	Araçá-boi	<i>E. stipitata</i>	<i>Debaryomycetaceae</i>	I	SB	Lisa	Creme	Circular	Lisa	Convexa	Ovais
1364	Bacuripari	<i>G. fluvialis</i>	<i>Rhynchogastremaceae</i>	I	BDA	Lisa	Creme	Circular	Lisa	Convexa	Ovais
1382	Guaraná	<i>P. cupana</i>	<i>Hanseniasporas</i> sp.	II	BDA	Lisa	Branca	Branca	Ondulada	Convexa	Ogivas

Legenda: NP- Nome Popular da Frutífera; NCF- Nome Científico da Frutífera; M- Método; MC- Meio de Cultura; NCL- Nome Científico da levedura; PMCO - Parâmetros Morfológicos das Colônias; PMCE - Parâmetros Morfológicos celular; S - superfície; C - cor; B – borda; F - forma;

Cont. Tabela 2- Relação das leveduras isoladas de frutos amazônicos e parâmetros morfológicos das colônias e das células

Código LaBMicrA	NP	NCF	NCL	M	MC	PMCO					PMCE
						S	C	F	B	E	
1372	Pupunharana	<i>S. inajai</i>	<i>Meyerozyma</i> sp.	II	BDA	Lisa	Creme	Circular	Lisa	Convexa	Ogivas
1373	Pupunharana	<i>S. inajai</i>	<i>K. ohmeri</i>	II	BDA	Lisa	Creme	Circular	Lisa	Convexa	Ogivas
1392	Taperebá	<i>S. mombin</i>	<i>P. terricola</i>	II	SB	Lisa	Branca	Circular	Lisa	Convexa	Elipsoide
1393	Taperebá	<i>S. mombin</i>	<i>P. terricola</i>	II	SB	Lisa	Branca	Irregular	Ondulada	Papilada	Apiculares
1394	Taperebá	<i>S. mombin</i>	<i>P. terricola</i>	II	SB	Lisa	Branca	Circular	Lisa	Convexa	Elipsoide
1363	Bacuripari	<i>G. fluviatilis</i>	não identificado	I	BDA	Lisa	Branca	Circular	Lisa	Convexa	Elipsoide
1389	Patauá	<i>O. bataua</i>	não identificado	II	BDA	Lisa	Branca	Rizoide	Filamentoso	Plana	Elipsoide

Legenda: NP- Nome Popular; NCF- Nome Científico da Frutífera; M- Método; MC- Meio de Cultura; NCL- Nome Científico da levedura; PMCO - Parâmetros Morfológicos das Colônias; PMCE - Parâmetros Morfológicos celular; S - superfície; C - cor; B – borda; F - forma; E elevação

4.3 Análise Molecular das Leveduras Isoladas

Foi realizada a extração de DNA de todas as leveduras isoladas durante o desenvolvimento deste estudo, totalizando 24 microrganismos leveduriformes. Esses isolados foram submetidos ao sequenciamento das regiões ITS1 e ITS4 (D1 e D2) para investigação taxonômica. Para os isolados que apresentaram bandas fracas ou inespecíficas, como os isolados 1363 e 1389, foram realizados novos cultivos e uma nova extração de DNA. No entanto, a amplificação não foi bem-sucedida, impossibilitando seu sequenciamento.

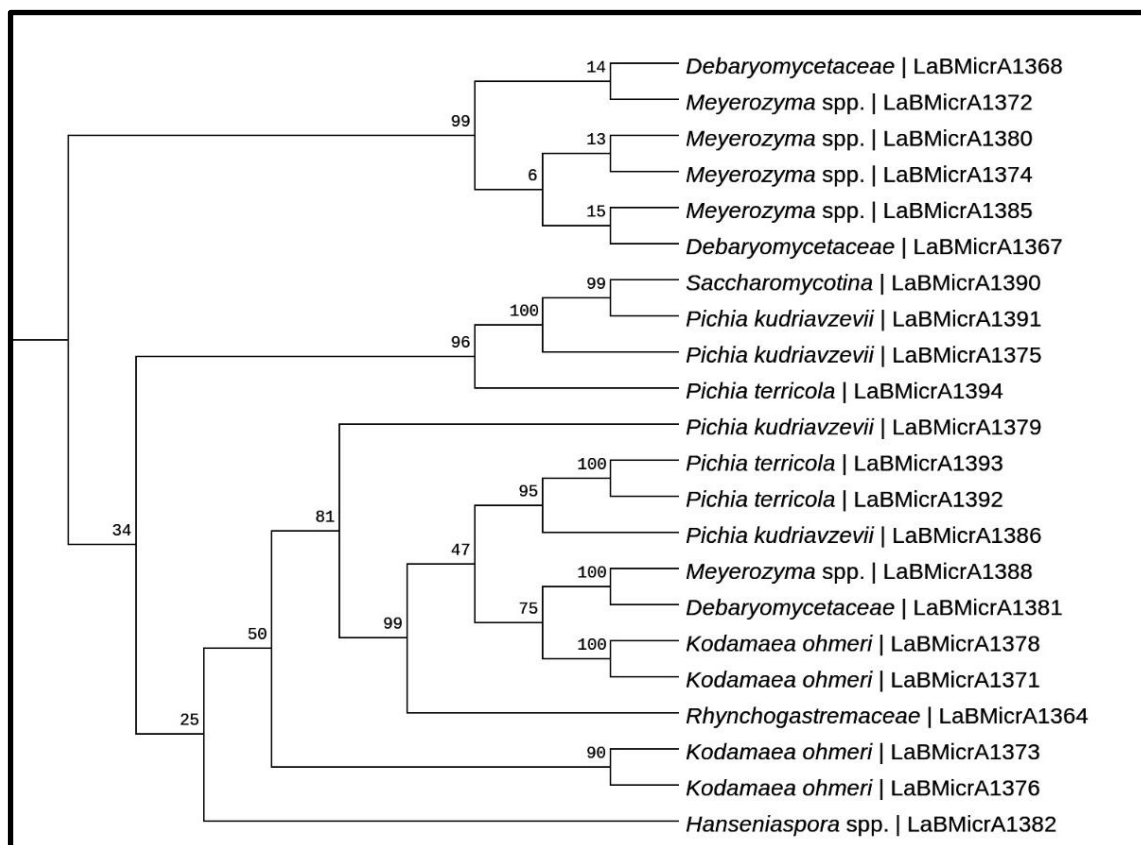
A comparação dos resultados obtidos pelo sequenciamento foi realizada utilizando a plataforma UNITE, considerando um percentual de similaridade superior a 96%. A partir dessa análise, os isolados foram identificados da seguinte forma: o isolado 1382 foi classificado como *Hanseniaspora* sp.; os isolados 1376, 1378, 1371 e 1373 foram atribuídos à espécie *Kodamaea ohmeri*; os isolados 1380, 1385, 1388, 1372 e 1374 ao gênero *Meyerozyma*; enquanto os isolados 1367, 1368 e 1381 foram alocados à família *Debaryomycetaceae*. Além disso, os isolados 1375, 1379, 1386 e 1391 foram identificados como *Pichia kudriavzevii*, e os isolados 1392, 1393 e 1394 como *P. terricola*, conforme ilustrado na Figura 14.

Os estudos de Gava *et al.* (2018), Kasmiarti *et al.* (2022) e Fernandes *et al.* (2024) evidenciam uma diversidade considerável de leveduras associadas a diferentes plantas e substratos, demonstrando que fatores como o tipo de hospedeiro e o ambiente influenciam a composição e abundância dessas comunidades microbianas. Esses achados corroboram os resultados deste estudo, que indicam que a diversidade de leveduras nos frutos analisados pode estar diretamente relacionada às condições ambientais e às características físico-químicas do hospedeiro vegetal.

Estudos anteriores também destacam a influência desses fatores na diversidade de leveduras. Gava *et al.* (2018) identificaram *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii* e *Cystobasidium calyptogenae* a partir do sequenciamento das regiões ITS1/ITS2, revelando a presença de gêneros com aplicações fermentativas bem estabelecidas. Por outro lado, Kasmiarti *et al.* (2022) relataram uma ampla diversidade de espécies isoladas de *Cocos nucifera* L., incluindo *Hanseniaspora* spp., *Candida tropicalis*, *Meyerozyma caribbica* e *Lachancea fermentati*, reforçando a importância de substratos ricos em açúcares na colonização por leveduras fermentativas. Fernandes *et al.* (2024), ao analisar diversos substratos amazônicos, identificaram *Wickerhamomyces anomalus*, *Torulaspora pretoriensis* e *Debaryomyces hansenii*, destacando adaptações ambientais específicas, como resistência a variações osmóticas e baixa umidade.

A diversidade encontrada neste estudo está alinhada com esses achados, indicando que os frutos amazônicos podem atuar como nichos ecológicos importantes para leveduras com potencial biotecnológico.

Figura 14-Árvore filogenética a partir de sequências do *Its1* e *Its4* do rDNA



Legenda: Construída com base na região do gene *Its1* e *Its4* utilizando o método de Máxima Verossimilhança (*Maximum Likelihood*), modelo de dois parâmetros de Kimura (K2P) e 1000 repetições de bootstrap. A sequência de *Cryptococcus neoformans* (NR_171785.1) foi empregada como grupo externo (*outgroup*).

4.4 Análise do Potencial Fermentativo das Leveduras Isoladas de Frutos Amazônicos

Para os testes de fermentação em diferentes açúcares, foram considerados positivos os isolados que apresentaram valores iguais ou superiores a 2 (preenchimento de gás acima da metade do tubo de Durham) durante a análise. A avaliação dos resultados indicou que todos os isolados leveduriformes provenientes de frutos amazônicos submetidos à fermentação com maltose e lactose (LST) apresentaram resultados negativos, conforme demonstrado na Tabela 3.

Essa ausência de fermentação pode indicar uma preferência metabólica dessas leveduras por outros açúcares mais abundantes nos frutos, como glicose, frutose e sacarose. Esse perfil fermentativo é uma característica comum em leveduras adaptadas a ambientes frutíferos, onde a disponibilidade desses carboidratos simples é maior.

No entanto, a incapacidade de fermentar maltose e lactose pode limitar sua aplicação em processos industriais que dependem desses substratos, como a produção de cervejas ou laticínios fermentados. Por outro lado, essa especificidade pode ser vantajosa para fermentações direcionadas ao aproveitamento de mostos ricos em glicose e frutose, como os de *T. grandiflorum* e *A. aculeatum*, reforçando seu potencial para a produção de bebidas fermentadas com características sensoriais diferenciadas.

Os resultados relativos aos demais açúcares foram descritos da seguinte forma: entre os isolados pertencentes à espécie *K. ohmeri*, os indivíduos 1378, 1373 e 1371 foram capazes de fermentar glicose, sacarose e frutose, enquanto o isolado 1376 não apresentou capacidade de fermentar frutose. O tempo necessário para a fermentação variou de 3 a 12 dias entre os diferentes indivíduos desse grupo.

Nas espécies pertencentes ao gênero *Meyerozyma*, todos os isolados testados demonstraram capacidade de fermentar glicose, sacarose e frutose. Contudo, o tempo necessário para completar a fermentação variou entre os isolados, com intervalos de 3 a 10 dias, o que os torna mais eficientes do que os isolados de *K. ohmeri*.

Adicionalmente, o isolado 1389 demonstrou capacidade fermentativa apenas para frutose, exibindo um comportamento distinto dos demais isolados do mesmo gênero, uma vez que não foi considerado fermentativo para a glicose. Por outro lado, o isolado 1363 não apresentou atividade fermentativa para nenhum dos açúcares testados.

As espécies do gênero *Pichia* apresentaram capacidade de fermentar glicose e frutose, mas não metabolizaram sacarose. Especificamente, *P. kudriavzevii* completou a fermentação destes açúcares em 3 a 4 dias, enquanto *P. terricola* apresentou um tempo mais prolongado, variando de 8 a 12 dias. Por sua vez, *Hanseniaspora* sp. fermentou glicose, mas não apresentou atividade fermentativa para frutose e sacarose.

De acordo com Wang *et al.* (2023), espécies como *Hanseniaspora* sp. e *Pichia* sp. destacam-se pela produção de β -glicosidase, uma enzima com potencial biotecnológico para intensificar os variados aromas de vinhos. Embora os isolados analisados neste estudo não sejam diretamente aplicáveis à produção de bebidas, suas características metabólicas podem contribuir para a modulação do perfil sensorial do produto final. Algumas leveduras não

fermentativas ou de baixa produção de etanol desempenham um papel importante na biossíntese de compostos aromáticos voláteis, como ésteres e álcoois superiores, que impactam positivamente o aroma e o sabor das bebidas fermentadas.

Além disso, certos isolados podem influenciar a redução da acidez volátil ao competir com microrganismos produtores de ácidos indesejáveis ou ao metabolizar precursores que contribuem para sabores desagradáveis. Dessa forma, a introdução dessas leveduras em co-cultivos pode ser uma estratégia promissora para o desenvolvimento de bebidas fermentadas com perfis sensoriais aprimorados.

Esses resultados destacam os isolados *K. ohmeri* (LaBMicrA 1371), *Meyerozyma* spp. (LaBMicrA 1385 e LaBMicrA 1372) e *Debaryomycetaceae* (LaBMicrA 1367) como os mais promissores para aplicações em testes com diferentes mostos, devido ao seu desempenho superior na fermentação dos açúcares analisados. Esses achados reforçam a importância da caracterização e seleção de leveduras específicas para a otimização de processos fermentativos e outras aplicações industriais. Estudos anteriores já haviam ressaltado o potencial biotecnológico de leveduras isoladas de diversas fontes (Sperandio; Martins do Vale; Moreira, 2015; Macêdo *et al.*, 2023a).

Tabela 3 - Relação do potencial fermentativo das leveduras isoladas de frutíferas amazônicas

Código LaBMicrA	Nome Científico da levedura Isolada	Teste de Fermentação																	
		LST	G	A	V	D	F	A	V	D	S	A	V	D	M	A	V	D	
1367	Debaryomycetaceae	—	+	+	3	2	+	+	3	3	+	+	3	3	—	+	0	0	
1368	Debaryomycetaceae	—	+	+	3	8	+	+	3	8	+	+	3	8	—	+	0	0	
1381	Debaryomycetaceae	—	+	+	3	3	+	+	3	3	+	+	3	2	—	+	0	0	
1382	<i>Hanseniaspora</i> sp.	—	+	+	3	1	+	+	1	15	+	+	0	0	—	+	0	0	
1376	<i>Kodamaea ohmeri</i>	—	+	+	3	4	—	+	0	0	+	+	3	6	—	+	0	0	
1378	<i>K. ohmeri</i>	—	+	+	3	2	+	+	3	3	+	+	3	4	—	+	0	0	
1373	<i>K. ohmeri</i>	—	+	+	3	8	+	+	3	12	+	+	3	8	—	+	0	0	
1371	<i>K. ohmeri</i>	—	+	+	3	8	+	+	3	8	+	+	3	8	—	+	0	0	
1374	<i>Meyerozyma</i> sp.	—	+	+	3	3	+	+	3	5	+	+	3	3	—	+	0	0	
1372	<i>Meyerozyma</i> sp.	—	+	+	3	3	+	+	3	10	+	+	3	4	—	+	0	0	
1380	<i>Meyerozyma</i> sp.	—	+	+	3	3	+	+	3	6	+	+	3	3	—	+	0	0	
1385	<i>Meyerozyma</i> sp.	—	+	+	3	2	+	+	3	3	+	+	3	3	—	+	0	0	
1388	<i>Meyerozyma</i> sp.	—	+	+	3	3	+	+	3	4	+	+	3	3	—	+	0	0	
1391	<i>Pichia kudriavzevii</i>	—	+	+	3	2	+	+	3	2	—	+	0	0	—	+	0	0	
1375	<i>P. kudriavzevii</i>	—	+	+	3	4	+	+	3	4	—	—	0	0	—	+	0	0	
1379	<i>P. kudriavzevii</i>	—	+	+	3	4	+	+	3	7	—	+	0	0	—	+	0	0	
1386	<i>P. kudriavzevii</i>	—	+	+	3	2	+	+	3	5	—	+	0	0	—	+	0	0	
1392	<i>P. terricola</i>	—	+	+	3	12	+	+	3	8	—	+	0	0	—	+	0	0	
1393	<i>P. terricola</i>	—	+	+	3	12	+	+	3	10	—	—	0	0	—	+	0	0	

Legenda: LST - Caldo Lauril Sulfato Triptose; G - Glicose; A - Assimilação; V - Valor em gás; D - Dias de fermentação; F - Frutose; S - Sacarose; M - Maltose

Cont. Tabela 3- Relação do potencial fermentativo das leveduras isoladas de frutíferas amazônicas

Código LaBMicrA	Nome Científico da levedura Isolada	Teste de Fermentação																	
		LST	G	A	V	D	F	A	V	D	S	A	V	D	M	A	V	D	
1394	<i>P. terricola</i>	—	+	+	3	10	+	+	3	8	—	—	0	0	—	+	0	0	
1390	Saccharomycotina	—	+	+	3	3	+	+	3	4	—	+	0	0	—	+	0	0	
1363	não identificado	—	—	+	0	0	—	—	0	0	—	+	0	0	—	+	0	0	
1389	não identificado	—	+	+	1	>15	+	+	3	8	—	+	0	0	—	+	0	0	

Legenda: LST - Caldo Lauril Sulfato Triptose; G - Glicose; A - Assimilação; V - Valor em gás; D - Dias de fermentação; F - Frutose; S - Sacarose; M - Maltose

4.4 Teste da Fermentação das Leveduras Isoladas de Frutos Amazônicos para Formação de uma Bebida Fermentada

Os testes para a produção de bebidas fermentadas foram realizados utilizando mostos de cupuaçu e tucumã. As leveduras selecionadas para os ensaios foram aquelas que demonstraram capacidade fermentativa para glicose, frutose e sacarose (isolados LaBMicrA: 1367, 1368, 1371, 1372, 1373, 1374, 1378, 1380, 1381 e 1375).

Os resultados do consumo de açúcares pelas leveduras ao longo do tempo, apresentados nos Quadros 1 e 2, indicam que, após 72 horas, os valores de °Brix variaram entre 14° e 14,5° para a maioria dos isolados, representando uma redução mínima em relação ao valor inicial de 15°. Esse comportamento sugere que a taxa de consumo de açúcares foi relativamente baixa para grande parte dos isolados testados.

No entanto, os espécimes de *K. ohmeri* (LaBMicrA 1373 e LaBMicrA 1378) apresentaram valores mais baixos, de 13,5° e 12°, respectivamente, no mosto de cupuaçu, indicando maior atividade fermentativa nesses isolados. Ainda assim, esses valores sugerem que essas leveduras podem não ser ideais para a produção de vinhos convencionais, os quais geralmente requerem leveduras com alta eficiência na conversão de açúcares em etanol.

Além do consumo de açúcares, a eficiência fermentativa das leveduras depende de fatores como disponibilidade de nutrientes (por exemplo, nitrogênio assimilável e vitaminas), temperatura de fermentação e tempo de incubação. O perfil metabólico desses isolados pode indicar potenciais aplicações alternativas, como na modulação sensorial da fermentação ou em processos de co-inoculação com outras leveduras mais eficientes na conversão alcoólica. Após 144 horas, os valores de °Brix oscilaram entre 14° e 13° e, após 216 horas, entre 14° e 12,5°. Esses resultados iniciais sugerem que a maioria das leveduras apresentou um consumo significativo de açúcares nos primeiros dias de fermentação.

No entanto, a definição de “capacidade eficiente” depende do objetivo do processo fermentativo. Para a produção de bebidas alcoólicas, uma fermentação eficiente geralmente está associada a uma conversão rápida e completa de açúcares em etanol, mantendo um equilíbrio desejável entre compostos secundários que influenciam aroma e sabor. Em fermentações comerciais de vinho, por exemplo, espera-se que a conversão de açúcares ocorra em um período de 7 a 14 dias, dependendo da temperatura e do perfil da levedura utilizada. No caso dos isolados estudados, a atividade fermentativa inicial pode indicar um metabolismo acelerado nos primeiros dias. No entanto, sem dados sobre o rendimento alcoólico final e a estabilidade dos

compostos voláteis, não é possível determinar se esse comportamento é vantajoso para a produção de bebidas fermentadas.

Os achados de Macêdo *et al.* (2023a) apontam que leveduras selvagens isoladas de frutas como *Annona muricata* L. (graviola) e *Spondias* spp. (umbu-cajá) foram capazes de fermentar a polpa dessas frutas em 72 horas, resultando no aumento da concentração de ácido acético e compostos fenólicos. O aumento do ácido acético pode ser desejável em certas fermentações, pois contribui para características sensoriais específicas, como notas frutadas e maior complexidade aromática. No entanto, em excesso, pode levar a defeitos sensoriais indesejáveis, como acidez elevada e aromas desagradáveis. Assim, o equilíbrio entre produção de etanol e compostos secundários deve ser cuidadosamente avaliado para determinar a aplicabilidade dessas leveduras em processos industriais.

Os espécimes de *Meyerozyma* sp. (LaBMicrA 1372) e *Kodamaea* sp. (LaBMicrA 1371) apresentaram bom desempenho em ambos os mostos, reduzindo significativamente os valores de °Brix, o que indica um consumo mais eficiente de açúcares fermentáveis. A capacidade de reduzir o °Brix a valores próximos de zero é desejável em processos fermentativos voltados para a produção de bebidas alcoólicas, pois sugere uma conversão mais completa dos açúcares em etanol.

Em contraste, *Meyerozyma* sp. (LaBMicrA 1380) apresentou variações mais amplas nos valores de °Brix, o que pode indicar menor eficiência fermentativa ou necessidade de condições específicas de cultivo para atingir seu desempenho máximo. No contexto de fermentações comerciais, uma menor variação no °Brix ao longo do tempo pode ser indicativa de metabolismo mais lento ou de baixa tolerância da levedura ao ambiente fermentativo, aspecto que deve ser analisado em estudos complementares para determinar sua viabilidade em aplicações industriais.

O espécime de *Debaryomycetaceae* (LaBMicrA 1381) manteve um valor de °Brix constante no mosto de cupuaçu entre 72 e 216 horas, mas apresentou variações no mosto de tucumã, indicando um comportamento inconsistente entre os substratos testados. No entanto, é importante considerar que esses frutos possuem composições distintas em relação aos teores de glicose, frutose e sacarose, o que pode influenciar a disponibilidade de substrato fermentável e, consequentemente, a atividade metabólica das leveduras.

Além dos açúcares, outros fatores nutricionais, como a presença de micronutrientes essenciais (ex.: zinco, magnésio e vitaminas do complexo B), podem desempenhar um papel fundamental na eficiência fermentativa e na adaptação do isolado ao meio. Dessa forma, a

diferença no desempenho fermentativo de LaBMicrA 1381 pode estar relacionada não apenas ao tipo de fruto, mas também à disponibilidade de nutrientes específicos para seu metabolismo. Estudos adicionais são necessários para determinar os fatores que afetam sua capacidade fermentativa em diferentes substratos.

O desempenho do espécime de *Meyerozyma* sp. (LaBMicrA 1385) foi destacado, evidenciando seu potencial para a produção de bebidas fermentadas a partir de mostos de cupuaçu e tucumã. O espécime *Meyerozyma* sp. (LaBMicrA 1374) também demonstrou boa eficácia para ambos os mostos.

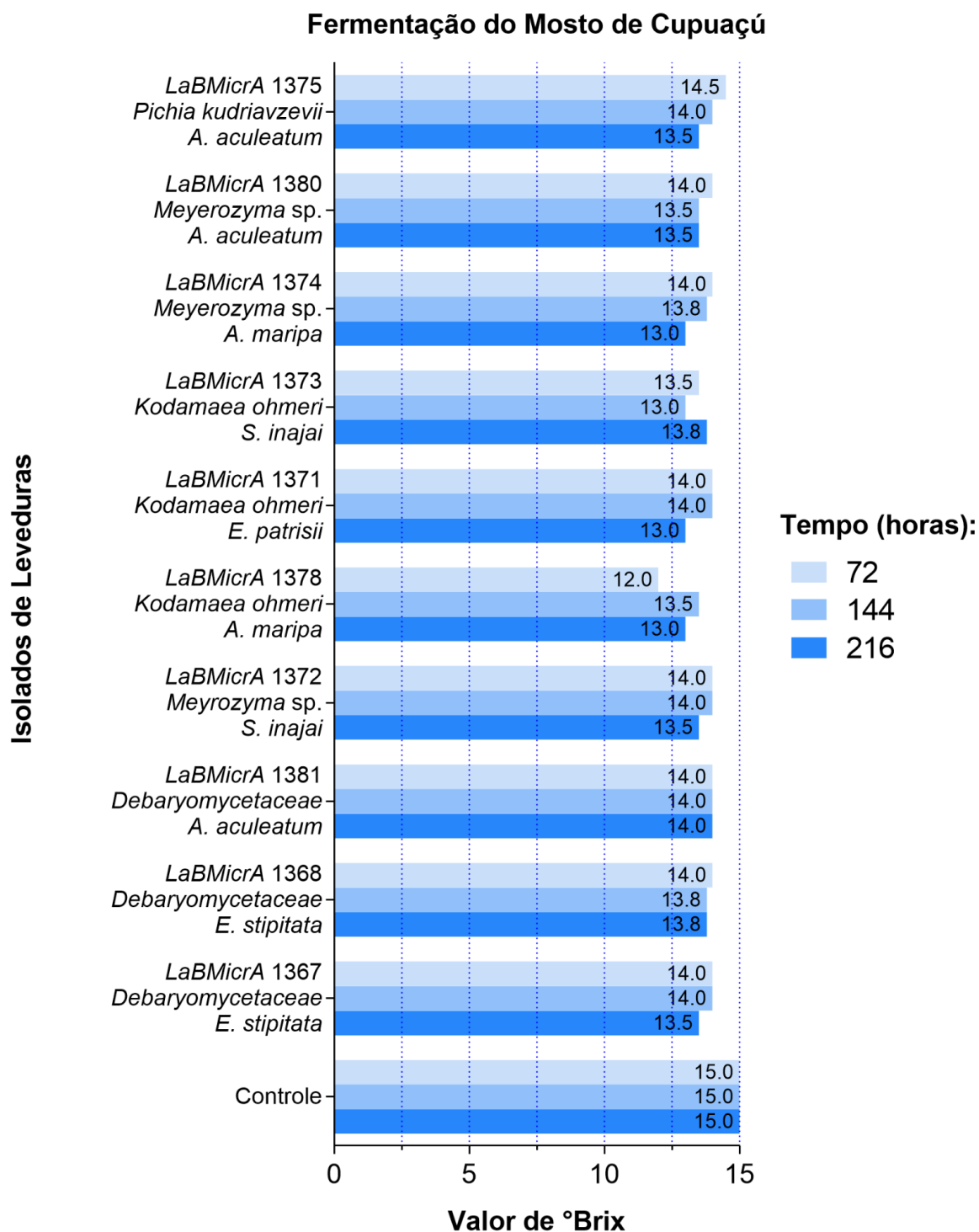
Estudos anteriores, como os de Liu *et al.* (2018), demonstraram a importância das leveduras não-*Saccharomyces* na fermentação de vinhos alcoólicos, particularmente na produção de etanol e compostos fenólicos. Assim, espera-se que aplicações semelhantes possam ser exploradas para bebidas fermentadas de cupuaçu e tucumã.

Os testes com os espécimes de *Kodamaea ohmeri* (LaBMicrA 1373 e LaBMicrA 1378) mostraram pequenas variações nos valores de °Brix para ambos os mostos. Barrajón-Simancas *et al.* (2011) observaram diferenças nas necessidades nutricionais entre linhagens comerciais e selvagens de *Saccharomyces*, sugerindo que a adaptação diferenciada de leveduras selvagens pode explicar essas variações. Como neste estudo todos os isolados foram fermentados sob as mesmas condições experimentais, sem ajustes específicos de fatores nutricionais para cada microrganismo, a baixa variação nos valores de °Brix pode estar relacionada à limitação de nutrientes essenciais.

Os espécimes de *Debaryomycetaceae* (LaBMicrA 1367 e LaBMicrA 1368), apesar de metabolizarem glicose, sacarose e frutose, apresentaram desempenho fermentativo insatisfatório nos mostos testados, com variações irregulares nos valores de °Brix ao longo do tempo. Esse comportamento sugere uma possível limitação metabólica ou adaptação menos eficiente às condições experimentais utilizadas.

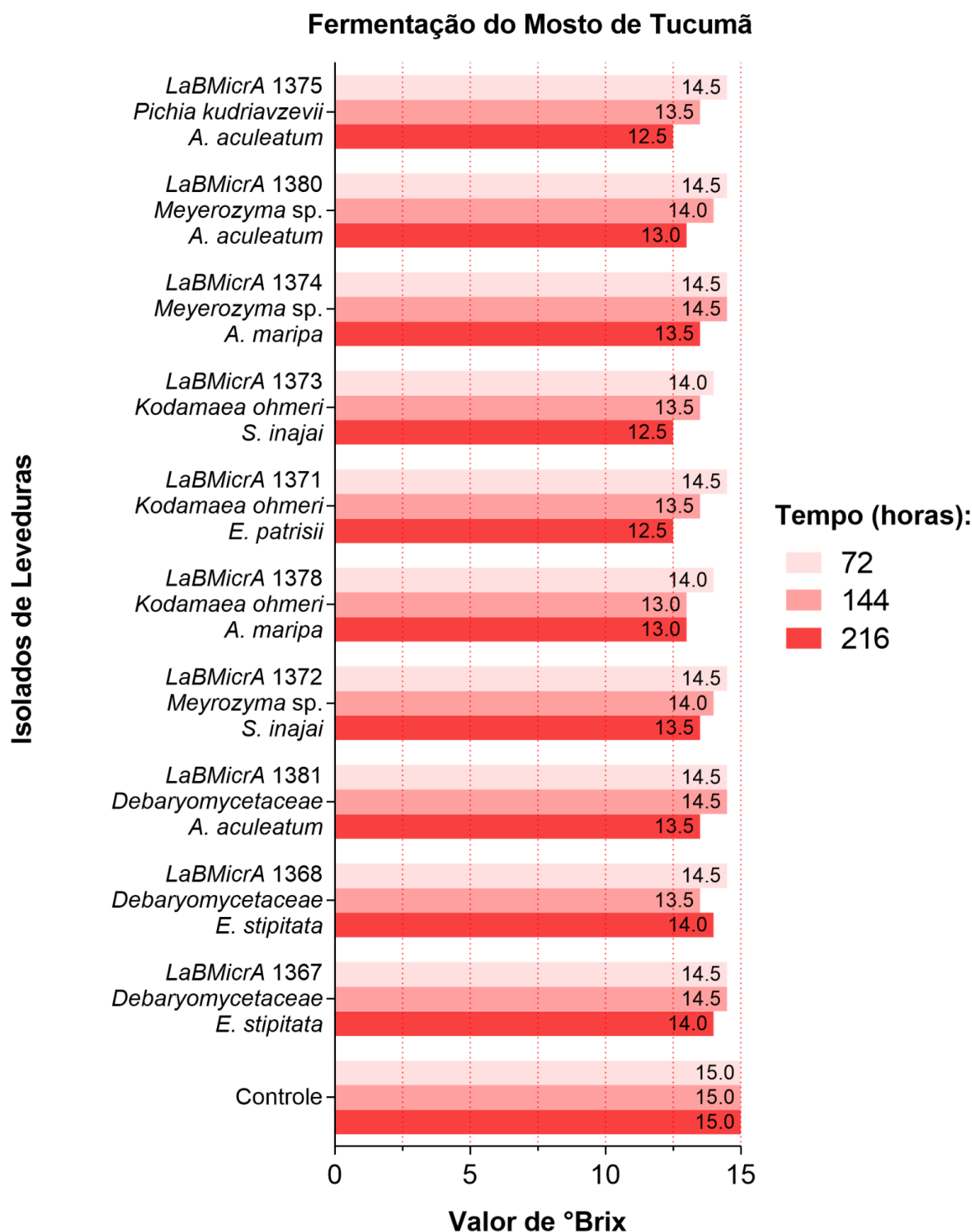
O isolado *Meyerozyma* spp. (LaBMicrA 1372) apresentou bom desempenho fermentativo em ambos os mostos testados. Em contraste, LaBMicrA 1373 mostrou um desempenho insatisfatório no mosto de cupuaçu, mas excelente no mosto de tucumã, possivelmente devido à influência da composição do substrato na modulação metabólica da levedura.

Figura 15-Teste de fermentação do mosto de cupuaçu com linhagens de leveduras fermentativas



Legenda: A análise foi construída a partir dos valores médios de Brix (teor de açúcar) para cada levedura ao longo do tempo (em horas). O gráfico foi gerado utilizando o programa GraphPad Prism versão 8.0.2.

Figura 16-Teste de fermentação do mosto de tucumã com linhagens de leveduras fermentativas



Legenda: A análise foi construída a partir dos valores médios de °Brix (teor de açúcar) para cada levedura ao longo do tempo (em horas). O gráfico foi gerado utilizando o programa GraphPad Prism versão 8.0.2.

5. CONCLUSÃO

Neste estudo, foram isoladas e caracterizadas 24 leveduras a partir de frutos nativos da Amazônia Central, utilizando métodos morfológicos, bioquímicos e moleculares. A caracterização molecular por PCR permitiu a identificação dos isolados, destacando a presença dos gêneros *Meyerozyma*, *Pichia* e *Kodamaea*, além de representantes das famílias *Debaryomycetaceae* e *Rhynchogastremaceae*.

A diversidade dos isolados foi avaliada com base na análise filogenética e na taxa de similaridade molecular, evidenciando a predominância de leveduras do subfilo *Saccharomycotina*, com variações entre os isolados em termos de eficiência fermentativa.

Os testes de fermentação demonstraram que leveduras dos gêneros *Meyerozyma* e *Kodamaea*, além das espécies *Pichia kudriavzevii* e *Pichia terricola*, foram capazes de metabolizar glicose, frutose e sacarose, com redução nos valores de °Brix ao longo do tempo. Entre os isolados testados, *Kodamaea ohmeri* (LaBMicrA 1373 e LaBMicrA 1378) apresentou maior atividade fermentativa no mosto de cupuaçu. No entanto, apesar do bom desempenho fermentativo, *Kodamaea ohmeri* é um microrganismo oportunista associado a infecções em humanos, o que inviabiliza seu uso na produção de bebidas destinadas ao consumo.

A fermentação laboratorial de mostos de *T. grandiflorum* (cupuaçu) e *A. aculeatum* (tucumã) utilizando cinco isolados selecionados demonstrou que *Meyerozyma* spp. (LaBMicrA 1372 e 1374) e *Pichia kudriavzevii* (LaBMicrA 1375) reduziram significativamente os teores de açúcares, sugerindo seu potencial para a produção de bebidas fermentadas à base de frutos amazônicos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARENKOV, K. *et al.* The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. D1, p. D791–D797, 2023.

ALMEIDA, A. F. (Org). **Frutos Amazônicos: Biotecnologia e Sustentabilidade**. Palmas, TO: EDUFT, p. 117, 2020.

AMBIENTE BRASIL. **Pataua: a “oliveira” da Amazônia**. Disponível em: https://ambientes.ambientebrasil.com.br/florestal/artigos/pataua_a_oliveira_da_amazonia.html. Acesso em: 23 mar. 2023.

ALTSCHUL, Stephen; *et al.* Basic Local Alignment Search Tool. **Journal of Molecular Biology**. ed. 215, p. 403-410, 1990.

ANICETO, Adriana; *et al.* Physicochemical Characterization, Antioxidant Capacity, and Sensory Properties of Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) and Taperebá (*Spondias mombin* L.) Beverages. **Molecules**. v. 26, n. 332, 2021.

ARAÚJO, Fábio, *et al.* Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food research international**, v. 121, p. 57-72, 2019.

ARAÚJO, Fábio, *et al.* a. Gastrointestinal bioaccessibility and bioactivity of phenolic compounds from araçá-boi fruit. **LWT**, v. 135, p. 110230, 2021a.

ARAÚJO, Fábio, *et al.* b. Influence of high-intensity ultrasound on color, chemical composition and antioxidant properties of araçá-boi pulp. **Food chemistry**, v. 338, p. 127747, 2021b.

BARBI, Rafaela Cristina Turola *et al.* Subcritical propane extraction of high-quality inajá (*Maximiliana maripa*) pulp oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 153, p. 104576, 2019.

BARBOSA, Cosme Damião; COSTA, Isabella Maciel; SIMIQUELI, Guilherme Ferreira. Produção e caracterização de fermentado alcoólico de manga a partir de linhagem de levedura isolada de fermento comercial. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e432111436339-e432111436339, 2022.

BARRAJÓN-SIMANCAS, N., *et al.* Amino acid uptake by wild and commercial yeasts in single fermentations and co-fermentations. **Food Chemistry**. n. 127, p. 441-446, 2011.
BARROS, Katharina, *et al.* The Brazilian Amazonian rainforest harbors a high diversity of yeasts associated with rotting wood, including many candidates for new yeast species. **Yeast**. n. 40, v. 2, p. 84-101, 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região norte**. CORADIN, L.; CAMILLO, J.; VIEIRA, I. C. G. ed. 1 Brasília: MMA, Série Biodiversidade. n. 53, p. 1452, 2022.

BERNI, Paulo *et al.* Non-conventional tropical fruits: Characterization, antioxidant potential and carotenoid bioaccessibility. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, p. 141-148, 2019.

BITTENCOURT, Leonardo, *et al.* Chronic acrolein exposure in Wistar rats: The effects of guarana extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 65, p. 103733, 2020.

BONATELLI, Maria Leticia. **Bactérias endofíticas e epifíticas cultivadas e não cultivadas do guaranazeiro e o controle da antracnose**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BOVO, Barbara *et al.* The different physical and chemical composition of grape juice and marc influence *Saccharomyces cerevisiae* strains distribution during fermentation. **Journal of food science**, v. 83, n. 8, p. 2191-2196, 2018.

BOULTON, Chris; QUAIN, David. **Brewing Yeast and Fermentation**. p. 659, 2001.

BRUNSCHWIG, Christel *et al.* Chemical composition and antioxidant activity of *Euterpe oleracea* roots and leaflets. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, p. 61, 2016.

CAIROSVG DEVELOPMENT TEAM. **CairoSVG**: A Python SVG converter based on Cairo. Versão 2.5.2. Disponível em: <<https://cairosvg.org>>. Acesso em: 02 dez. 2024.

CAMPOS-GARCÍA, Jesús *et al.* Improving the organoleptic properties of a craft mezcal beverage by increasing fatty acid ethyl ester contents through ATF1 expression in an engineered *Kluyveromyces marxianus* UMPe-1 yeast. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 17, p. 4469-4480, 2018.

CARVALHO, J. E. U. **Frutas da Amazônia**: estudos e pesquisas. Embrapa Amazônia Oriental. 2006.

CAVALCANTE, Paulo B. **Frutas Comestíveis na Amazônia**, 7ª ed. Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém, Brasil, 2010.

CEDRIM, Paula; BARROS, Elenita; NASCIMENTO, Ticiano. Antioxidant properties of acai (*Euterpe oleracea*) in the metabolic syndrome. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

CHAPLA, Vanessa; BIASETTO, Carolina; ARAÚJO, Angela. Fungos endofíticos: uma fonte inexplorada e sustentável de novos e bioativos produtos naturais. **Revista Virtual de Química**, p. 421-437, 2013.

CRUZ, Ellen, *et al.* Seasonal Variability of a Caryophyllane Chemotype Essential Oil of *Eugenia patrisii* Vahl Occurring in the Brazilian Amazon. **Molecules**. v.27, n. 8, 2022.

DANTAS, Aline, *et al.* Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. **Food Chemistry**, v. 274, p. 202-214, 2019.

DÍAZ-MUÑOZ, Cristian; VUYST, Luc. Functional yeast starter cultures for fermentation. **Journal of Applied Microbiology**. v. 133, p. 39-63, 2021.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792-1797, 2004.

FERNANDES, Flávia, *et al.* Isolation, genetic identification of Amazonian yeasts and analysis of thermotolerance and alcohol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* from *Theobroma grandiflorum* and *Eugenia stipitata*. **AIMS Bioengineering**. n. 11v. 1, p. 24-43, 2024.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Syagrus* **in** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15740>. Acesso em: 23 mar. 2023.

FORZZA, Rafaela, *et al.* Herbário Virtual Re flora. **Unisanta BioScience**, v. 4, n. 7, p. 88-94, 2016.

FRARE, J. C. V.; OLIVEIRA, I. A.; FREITAS, L. Potencial agroecológico da agricultura familiar de comunidades ribeirinhas agroextrativistas do Marajó, Amazônia oriental. **Unimar Ciências**, n. 26, p. 41-53, 2017.

MARCOMINI, Poliana Roversi Genovese. Ontogenia dos órgãos reprodutivos e da plântula de *Syagrus inajai* (Spruce) Becc. (Arecaceae). 2013. **Tese**. (Doutorado em Botânica). Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia. Botânica. Manaus-AM. 2013.

GAVA, Carlos, *et al.* Isolation of fruit colonizer yeasts and screening against mango decay caused by multiple pathogens. **Biological Control**. v. 117, p. 137-146, 2018.

GOMES, Antonio, *et al.* Tucumã (*Astrocaryum vulgare*) fat: An Amazonian material as a pharmaceutical input for lipid nanoparticle production. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1-11, 2020.

GOOGLE. **Google Colaboratory**. Disponível em: <<https://colab.research.google.com/>>. Acesso em: 20 nov. 2024.

GUIMARÃES, Sandryne, *et al.* Desenvolvimento de formulações fermentadas probióticas mistas enriquecidas com óleos de frutos amazônicos/Development of mixed probiotic fermented formulations enriched with amazonic fruit oils. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 10882-10901, 2020.

HARTMANN, A. *et al.* Molecular microbial ecology studies on diazotrophic bacteria associated with non-legumes with special reference to endophytic diazotrophs. **In**: Subba Rao NS, Dommergues YR (eds) Microbial interactions in agriculture and forestry. Microbial Interactions in Agriculture and Forestry. v. 11, 2000.

HUANG, X. A contig assembly program based on sensitive detection of fragment overlaps. **Genomics**, v. 14, n. 1, p. 18-25, 1992.

IVIT, Nedret; KEMP, Belinda. The Impact of Non-*Saccharomyces* Yeast on Traditional Method Sparkling Wine. **Fermentation**. v. 4, n. 73 p. 2018

JANTSCH, Matheus, *et al.* Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) prevents memory loss and oxidative imbalance in the brain of rats with hyperlipidemia. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 4, p. e13636, 2021.

JERÔNIMO, Lucas *et al.* Antioxidant and Cytotoxic Activities of Myrtaceae Essential Oils Rich in Terpenoids From Brazil. **Natural Product Communications**. v. 16, n. 2, 2021.

JOHNSON, E. A.; ECHAVARRI-ERASUN, C. Chapter 3-Yeast Biotechnology *in* The Yeasts (Fell, J. W.; Boekhout, T.). p. 21-44. 2011.

KASMIARTI, Getari; *et al.* Isolation of Novel Yeast from Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water and Phenotypic Examination as the Potential Parameters in Bioethanol Production. **Fermentation**. v. 8, n. 283, jun 2022.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, p. 111-120, 1980.

KÖLJALG, U. *et al.* The Taxon Hypothesis Paradigm-On the Unambiguous Detection and Communication of Taxa. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, p. 1910, 2020.

KURTZMAN; FELL; BOEKHOUT, **The Yeasts: Taxonomic Study**. 5^o ed., v. 1, 2011. Acesso em: The Yeasts - Google Books.

LIM, T. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plantas. **Springer**, n.4, p. 64-90 2012.

LINDOW, Steven; BRANDL, Maria. Microbiology of the phyllosphere. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 4, p. 1875-1883, 2003.

LIU, Shuxun, *et al.* Chemical composition of bilberry wine fermented with non-*Saccharomyces* yeasts (*Torulaspota delbrueckii* and *Schizosaccharomyces pombe*) and *Saccharomyces cerevisiae* in pure, sequential and mixed fermentations. **Food Chemistry**. n. 266, p. 262-274, 2018.

MACÊDO, Elvira, *et al.* Yeasts from fermented Brazilian fruits as biotechnological tools for increasing phenolics bioaccessibility and improving the volatile profile in derived pulps. **Food Chemistry**. n. 401, 2023a.

MACÊDO, Elvira, *et al.* Effects of yeast fermented soursop and umbu-cajá pulps on the colonic microbiota of middle-aged hypertensive adults. **Food Bioscience**. n. 51, 2023b.

MADIGAN, Michael, *et al.* Microbiologia de Brock. 12ª Ed. Editora Artmed, Porto Alegre, RS, v. 1160, 2010.

MAGALHÃES, Thalita, *et al.* Development and evaluation of antimicrobial and modulatory activity of inclusion complex of *Euterpe oleracea* mart oil and β -cyclodextrin or HP- β -cyclodextrin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. 942, 2020.

MAICAS, Sergi. The Role of Yeasts in Fermentation Processes. **Microorganisms**. n. 8, v. 1142, 2020.

MARQUES, Leila, *et al.* *Paullinia cupana*: a multipurpose planta review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 1, p. 77-110, 2019.

MARSHALL, E.; MEIJIA, D. Traditional fermented food and beverages for improved livelihoods. **FAO Diversification booklet**, n. 21, p. 79, 2011.

MEDEIROS, Tonny David Santiago *et al.* Cheklist of palm trees (Arecaceae Bercht. & J. Presl) from the State of Amapá, Brazil. **Research, Society and Development**. n. 4, v. 11, 2022.

MENDONÇA, Iasmin M., *et al.* New heterogeneous catalyst for biodiesel production from waste tucumã peels (*Astrocaryum aculeatum* Meyer): Parameters optimization study. **Renewable Energy**, v. 130, p. 103-110, 2019.

MIRANDA, Iris; RABELO, Afonso, **Guia de identificação das palmeiras de Porto de Trombetas** – PA. Editora INPA, p. 365, 2008.

MONTES DE OCA, R., *et al.* Yeast: description and structure. **Yeast Additives and Animal Production**, p. 4-13, 2016.

MONTÚFAR, Rommel *et al.* *Oenocarpus bataua* Mart.(Arecaceae): rediscovering a source of high oleic vegetable oil from Amazonia. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, p. 167-172, 2016. As leveduras selecionadas para o teste da bebida foram aquelas que se mostraram positivas para a fermentação de glicose, frutose e sacarose.

MOREIRA, Crislaine Santos *et al.* Análise dos parâmetros morfofisiológicos de linhagens de leveduras industriais com potencial biotecnológico para a produção de etanol. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 3, p. 55-63, 2015.

MOUZINHO, Thiago. *et al.*, Nomenclatural and taxonomic novelties in *Garcinia* (Clusiaceae) from Amazonian forest. **Phytotaxa**. n. 548, p. 91–98. 2022.

NERI-NUMA, I. A. *et al.* Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, v. 50, p. 70-76. 2013a.

NERI-NUMA, I. A., *et al.* Bioactive compounds and bioactivities of *Eugenia stipitata*: A comprehensive review". **Food Chemistry**. v. 136, p. 1576-1583, 2013b.

NISIOTOU, Aspásia *et al.* The use of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* and *Starmerella bacillaris* strains as a tool to create chemical complexity in local wines. **Food Research International**, v. 111, p. 498-508. 2018.

OLIVEIRA, Francyslayne de Jesus; SAMPAIO, Adriana Oliveira dos Santos; OLIVEIRA, Bruno Motta. EFICIÊNCIA FERMENTATIVA DE LEVEDURAS ISOLADAS DO CERRADO. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**. n. 3, v. 2, 2021.

OLIVEIRA, Pedro Danilo *et al.* Enzymatic interesterification effect on the physicochemical and technological properties of cupuassu seed fat and inaja pulp oil blends. **Food Research International**, v. 145, p. 110384, 2021.

OLIVEIRA, Valdinéia Aparecida *et al.* Biochemical and molecular characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains obtained from sugar-cane juice fermentations and their impact in cachaca production. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 3, p. 693-701, 2008.

PACHECO, Acácio; *et al.* Análise do cultivo experimental de ubaia (*Eugenia patrisii* Vahl.-Myrtaceae): uma frutífera nativa da Amazônia. **Brazilian Applied Science Review**. v. 5, n. 1, p. 86-99, 2021.

PALLADINO, Fernanda, *et al.* Diversity of Native Yeasts Isolated in Brazil and Their Biotechnological Potential for the Food Industry. **Current Food Science and Technology Reports**. v. 1, p. 81-90, 2023.

PEREIRA, Carlos, *et al.* Extratos bioativos de frutos amazônicos por química verde: Extração por Líquido Pressurizado (PLE) e Fluido Supercrítico (SFE). **Tese** (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM. 2015.

PHILIPSON, M. N.; BLAIR, I. D. Bacteria in clover root tissue. **Journal of Clinical Microbiology** n. 3, v. 2, p. 125-129, 1957.

PORTAL AMAZÔNIA. **Inajá: Nativo da região amazônica, o inajá é uma palmeira oleaginosa que pode chegar a 20 metros de altura**. Disponível em: Inajá - Portal Amazônia. Acesso em: 24 mar 2023.

RABELO, Afonso. **Frutos nativos da Amazônia: comercializados nas feiras de Manaus-AM**. Editora INPA, p. 390, 2012.

RUCHEL, Jader B. *et al.* Lipotoxicity-associated inflammation is prevented by guarana SENANAYAKE (*Paullinia cupana*) in a model of hyperlipidemia. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 5, p. 524-532, 2021.

SANTELLI, Paulo. Fisiologia pós-colheita de frutos da palmeira *Syagrus oleracea* (Mart.) Becc. (Arecaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 523-528, 2006.

SANTOS, Mariely *et al.* **Seleção e caracterização molecular de leveduras não-convencionais quanto ao consumo de alfa-terpineol**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SANTOS, Mary *et al.* Amazonian native palm fruits as sources of antioxidant bioactive compounds. **Antioxidants**, v. 4, n. 3, p. 591-602, 2015.

SENANAYAKE, I. C. *et al.* Morphological approaches in studying fungi: collection, examination, isolation, sporulation and preservation. **Mycosphere**. n. 11, v. 1, p. 2678-2754, 2020.

SERRA, Josilene Lima *et al.* Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocols, total carotenoids and chemical composition. **Food Research International**, v. 116, p. 12-19, 2019.

SHANLEY, Patricia; MEDINA, Gabriel (Ed.). **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Cifor, 2005.

SILVA, Antonio Jorge Barbosa da; SEVALHO, Elison de Souza; MIRANDA, Ires Paula de Andrade. Potencial das palmeiras nativas da Amazônia Brasileira para a bioeconomia: análise em rede da produção científica e tecnológica. **Ciência Florestal**. v. 31, n. 2, p. 1020-1046, abr./jun. 2021.

SILVA, Marília, *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.

SILVA, C. P., *et al.* Polyphenols from guaraná after in vitro digestion: Evaluation of bioaccessibility and inhibition of activity of carbohydrate-hydrolyzing enzymes. **Food Chemistry**, v. 267, p. 405-409, 2018.

SILVA, Marluci, *et al.* Co-encapsulation of guaraná extracts and probiotics increases probiotic survivability and simultaneously delivers bioactive compounds in simulated gastrointestinal fluids. **LWT**, v. 161, p. 113351, 2022.

souza

SILVA, Luan, *et al.* Bioprospecting *Saccharomyces cerevisiae* in fruits from Amazonian region for beer brewing. **Bioengineering**. n. 11, p. 130-146. 2023.

SILVA, N. Testes bioquímicos para identificação de bactérias em alimentos. **Instituto de Tecnologia de Alimentos: Campinas, São Paulo, Brazil**, 1996.

SILVA, Vinnícius, *et al.* Development of a Simple and Fast Procedure Based on Acid Dilution for Determination of Macro and Microelements in Guarana-Based Beverages by ICP OES. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 1467-1475, 2021.

SMITH, Nigel. **Palms and People in the Amazon**. Springer, 2014.

SOARES, Ricardo *et al.* Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seed extract improves aerobic exercise performance in rats. **Food Research International**, v. 136, p. 109549, 2020.

SOARES, K. P. *Attalea* **in** Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15682>>. Acesso em: 26 abr. 2024

SOUZA, Maria Adilane da Conceição, *et al.* Ocupação da Terra e uso de recursos naturais em comunidade de agricultores familiares da Transamazônica. **Revista Ouricuri**. v. 13, n. 2, p. 3-27. 2023.

SOUZA, Maria Anália Duarte de. Estudos em *Eugenia* L. (Myrtaceae) na Amazônia Central: taxonomia com o uso de ferramentas morfoanatômica. **Tese** (Doutorado em Botânica). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus-AM. 2015.

SOUZA, Pedro Lucas L. *et al.* Evaluation of sensory and antioxidant properties of araçá-boi wines as an effect of yeast type, must filtration and fermentation temperature. **Chemical Papers**, v. 76, n. 6, p. 3531-3540, 2022.

SOUZA, Rosângela, *et al.* Avaliação físico-química do fruto araçá-boi (*Eugenia stipitata* MacVaugh) cultivado na mesma região do sudoeste Mato-grossense. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 10, n. 3, 2018.

SOUZA, Antonia; *et al.* Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* Benthham. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 2, p. 185-195, 2004.

SPERANDIO, Eugenio; MARTINS DO VALE, Helson; MOREIRA, Geisianny. Yeasts from native Brazilian Cerrado plants: Occurrence, diversity and use in the biocontrol of citrus green mould. **Fungal Biology**. n. 119, p. 984-993. 2015.

SPURLEY, William *et al.* Substrate, temperature, and geographical patterns among nearly 2,000 natural yeast isolates. **Yeast**. n. 39, p. 55–68, 2022.

SWAMI, Shrikant Baslingappa; THAKOR, N. J.; DIVATE, A. D. Fruit wine production: a review. **Journal of Food Research and Technology**, v. 2, n. 3, p. 93-100, 2014.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

TOMLINSON, P. The structural biology of palms Oxford University Press. **Oxford**. 1990.
TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10. ed. São Paulo: Pearson. 2013.

TRIFINOPOULOS, J.; NGUYEN, L. T.; VON HAESELER, A.; MINH, B. Q. **Nucleic Acids Research**, v. 44, W1, p. W232-W235, 2016.

ULLOA, Carmen *et al.* An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. **Science**, v. 358, n. 6370, p. 1614-1617, 2017.

UOU. **Queridinho dos cabelos, óleo de patauá ajuda a manter Amazônia de pé no PA**. Disponível em: <https://www.uol.com.br/ecoa/ultimas-noticias/2023/01/05/oleo-de-pataua-queridinho-dos-cabelos-e-exclusivo-da-amazonia-e-gera-renda.htm>. acesso em: 23.mar. 2023.

WANG, Xiaodi *et al.* Sequential fermentation with indigenous non-*Saccharomyces* yeasts and *Saccharomyces cerevisiae* for flavor and quality enhancement of Longyan dry white wine. **Food Bioscience**. n. 55, p. 102952, 2023.

APÊNDICE A – RESULTADOS DO SEQUENCIAMENTO DOS ISOLADOS DE LEVEDURAS

>Rhynchogastremaceae | **LaBMicrA 1364**

GGTGCGCGATGGCAGGTTGTGAGCAGACCTACGACAAGAAGCGAGACGAACTTATTACGTC
TGCCGTGGATGTTCGAGATTCCACTAATCCTTTTAAGACGAGCCATTGGCTGGCACACGTCCA
AGTCCAAGCCGCCCCCAGATCAGAAACCTGGAGGGGTTGAGATTTTCATGACACTCAAACAGG
CATGCCTTTTCGGAATACCAAAAGGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATT
CTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGAT
CCGTTGTTGAAAGTTTGTGTTTGTAAATAACAAAGACGTTTATTACACTAATGTTTGTATA
GACCCGGAGGTCAACGGTTCACAGAGGTTTGG

>Debaryomycetaceae | **LaBMicrA 1367**

GCTTTGGTTTGGCCTAGAGATAGGTTGGGCCAGAGGTTTAACAAAACACAATTTAATTATTT
TTATTGATAGTCAAATTTTGAATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTC
GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCA
TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAGAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTC
ATTTCTCTCTCAAACCCCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAAGTAGGCGTTTG
CTTGAAAAGTATTGGCATGGGTAGTACTGGATAGTGCTGTGACCTCTC

>Debaryomycetaceae | **LaBMicrA 1368**

CTGCGCGGGCGAAAAACCTTACACACAGTGTCTTTTTGATACAGAAGTCTTGCTTTGGTTTG
GCCTAGAGATAGGTTGGGCCAGAGGTTTAACAAAACACAATTTAATTATTTTATTGATAGT
CAAATTTTGAATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTCGCATCGATGAA
GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTG
AACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAGAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTC
AAACCCCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAAGTAGGCGTTTGCTTGAAAAGTA
TTGGCATGGGTAGTACTGGATAGTGCTGTGACCTCTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCG
TTGAATGGTGTGGCGGGATATTTCTGGTATTGTTGGCCCGGCCTTACAACAACCAAACAAG

>*Kodamaea ohmeri* | **LaBMicrA 1371**

GGAAAAAATGAGTGTACTGACGGTACCGTTTTGTAGAGTACTGTCGTCATTATTTTCGTG
CAAACACAATAACAATCCGTGAGGATTAGGGAAGTATTCGCTCAAACAAGCATACCATTGGGA
ATACCCAATGGTGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCCGAGAGCTGCGATTTCGTATTA
CGTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTT
TTAAGAATTTCTTGTAAGAATTGTTTTTTAAATAGATTGTTTAGTTGTAAAAAACAG

>*Meyerozyma* sp. | **LaBMicrA 1372**

GCTTTGGTTTGGCCTAGAAATAGGTTGGGCCAGAGGTTTAACAAAACACAATTTAATTATTT
TTATTGATAGTCAAATTTTGAATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTC
GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCA
TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAGAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTC
ATTTCTCTCTCAAACCCCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAAGTAGGCGTTTG
CTTGAAAAGTATTGGCATGGGTAGTACTGGATAGTGCTGTGACCTCTCAATGTATTAGGTT
TATCCACTCGTTGAATGGTGTGGCGGGATATTTCTGGTATTGTTGGCCCGGCCTTACAACAA
CAAACAAGTTTGACCTC

>*Kodamaea ohmeri* | **LaBMicrA 1373**

CAATTCTTTACAAGAAATTCTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATG
AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATACGAATCGCAGCTCTCGGAATCATCGAATCTTTG
AACGCACATTGCACCATTGGGTATTCCCAATGGTATGCTTGTTTGAGCGAATACTTCCCTAA
TCCTCACGGATTGTATTGTGTTTGCACGAAAATAATGACGACAGTACTCTACAAAACGGTAC
CGTCAGTACACTCATTTTTTTTCTCCTCAAATCAAGTAGGACTACCCGCTGAACTTAA

>*Meyerozyma* sp. | **LaBMicrA 1374**

CTGCGCGGCGAAAACCTTACACACAGTGTCTTTTTGATACAGAACTCTTGCTTTGGTTTGGC
CTAGAGATAGGTTGGGCCAGAGGTTTAACAAAACACAATTTAATTATTTTTATTGATAGTCA
AATTTTGAATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGA
ACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAGAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTCAA
ACCCCCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAACTAGGCGTTTGCTTGAAAAGTATT
GGCATGGGTAGTACTGGATAGTGCTGTGACCTCTCAATGTATTAGGTTTATCCAACCTCGTT
GAATGGTGTGGCGGGATATTTCTGGTATTGTTGGCCCGGCCTTACAACAACCAAACAAGTTT
GACCTCAAATCAGGTAGGAATTTCCA

>*Pichia kudriavzevii* | **LaBMicrA 1375**

ACGAAAAACAAACNAACTTTCAACAACGGANCTNTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCA
GCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCANCANTTCTTGAACGCACA
TTGCGCCCCCTCGGNNTTCCGGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGCGCGTGC
GCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACNTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACTCGC

>*Kodamaea ohmeri* | **LaBMicrA 1376**

ACTAAACAAATCTATCTAAAAACAATTCTTTACAAGAAATTCTTAAACTTTCAACAACGG
ATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATACGAATCGCAG
CTCTCGGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCACCATTGGGTATTCCCAATGGTATGCT
TGTTTGAGCGAATACTTCCCTAATCCTCACGGATTGTATTGTGTTTGCACGAAAATAATGAC
GACAGTACTCTACAAAACGGTACCGTCAGTACACTCA

>*Kodamaea ohmeri* | **LaBMicrA 1378**

GTGTACTGACGGTACCGTTTTGTAGAGTACTGTGTCATTATTTTCGTGCAACACAATACA
ATCCGTGAGGATTAGGGAAGTATTCGCTCAAACAAGCATACCATTTGGGAATACCCAATGGTG
CAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCCGAGAGCTGCGATTTCGTATTACGTATCGCATTTT
GCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAAGAATTTCTT
GTAAAGAATTGTTTTTTAGATAGATTTGTTTAGTT

>*Pichia kudriavzevii* | **LaBMicrA 1379**

CTTTTTGTTGTCTCGCAACACTCGCTCTCGGCCGCCAAGCGTCCCTGAAAAAAGTCTAGTT
CGCTCGGCCAGCTTCGCTCCCTTTTCAGGCGAGTCGCAGCTCCGACGCTCTTTACACGTCGTC
CGCTCCGCTCCCCCAACTCTGCGCACGCGC

>*Meyerozyma* sp. | **LaBMicrA 1380**

CTGCGCGGCGAAAACCTTACACACAGTGTCTTTTTGATACAGAACTCTTGCTTTGGTTTGGC
CTAGAAATAGGTTGGGCCAGAGGTTTAACAAAACACAATTTAATTATTTTTATTGATAGTCA
AATTTTGAATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGA
ACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAGAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTCAA
ACCCCCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAACTAGGCGTTTGCTTGAAAAGTATT

GGCATGGGTAGTACTGGATAGTGCTGTGCGACCTCTCAATGTATTAGGTTTATCCAACTCGTT
GAATGGTGTGGCGGGATATTTCTGGTATTGTTGGCCCGGCCTTACAACAACCAAACAAG

>Debaryomycetaceae | **LaBMicrA 1381**

ACTTGTTTGGTTGTTGTAAGGCCGGGCCAACAATACCAGAAATATCCCGCCACACCATTCAA
CGAGTTGGATAAACCTAATACATTGAGAGGTCGACAGCACTATCCAGTACTACCCATGCCAA
TACTTTTCAAGCAAACGCCTAGTTCGACTAAGAGTATCASTCAATACCAAACCCGGGGGTTT
GAGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTCTGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTT
CAAA

>*Hanseniaspora* sp. | **LaBMicrA 1382**

AATTGCGCTGCTTCTTTAGAGTGTGCGCANTGAAAGTAGTCTTGCTTGAATCTCAGTCAACGC
TNACACACATTGGAGTTTTTTACTTTNATTTAATTCTNTCTGCTTTGAATCGAAGGTTCAAG
GCAAAAAACAAACACAAACAATTATNTNTTATTATATTTTTTAACTAAACCAAATTCCTA
ACGGANATTTTAAATAATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTCGCATCGATAA
AAACGTAGCGAATTGCGATAAGTAATGTGAATTGCAATNCTCGTGAATCATGAATTTTTGAA
CGCACATTGCGCCCTTGAGCATTCTCAGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAA
AAGATAATTTATTAACTTTTGGTNNTGGGCGATACTCAGGGTTAGCTTGAAATTGGAGACTG
TTTCAGTCTTTTTTAATTCAACACTTAGCTTCTTTGGAGACGCTGTTCTCGCTGTGATGTAT
TTATGGATTTATTCGTTTTACTTTAC

>*Meyerozyma* sp. | **LaBMicrA 1385**

CTGCGCGGCGAAAAACCTTACACACAGTGTCTTTTTGATACAGAACTCTTGCTTTGGTTTGG
CCTAGAAATAGGTTGGGCCAGAGGTTTAAACAAAACACAATTTAATTATTTTTATTGATAGTC
AAATTTTGAATTAATCTTCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTCGCATCGATGAAG
AACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAGAGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTCA
AACCCCCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAACTAGGCGTTTGCTTGAAAAGTAT
TGGCATGGGTAGTACTGGATAGTGCTGTGCGACCTCTCAATGTATTAGGTTTATCCAACTCGT
TGAATGGTGTGGCGGGATATTTCTGGTATTGTTGGCCCGGCCTTACAACAACCAAACAAG

>*Pichia kudriavzevii* | **LaBMicrA 1386**

GCCGCCAAGCGTCCCTGAAAAAAGTCTAGTTCGCTCGGCCAGCTTCGCTCCCTTTTCAGGCG
AGTCGCAGCTCCGACGCTCTTTACACGTCGTCCGCTCCGCTCCCCAACTCTGCGCACGCGC
AAGATGGAAACGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCGGAATGCCGAGGGGCGCAATGTGCGTT
CAAGAACTCGATGATTCACGATGGCTGCAATTCACACTAGGTATCGCATTTTCGCTGCGCTCT
TC

>*Meyerozyma* sp. | **LaBMicrA 1388**

CTTGTTTGGTTGTTGTAAGGCCGGGCCAACAATACCAGAAATATCCCGCCACACCATTCAAC
GAGTTGGATAAACCTAATACATTGAGAGGTCGACAGCACTATCCAGTACTACCCATGCCAAT
ACTTTTCAAGCAAACGCCTAGTTCGACTAAGAGTATCACTCAATACCAAACCCGGGGGTTTG
AGAGAGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTCTGGAATACCAGAGGGGCGCAATGTGCGTTC
AAAGATTTCGATGATTCACGAAAATCTGCAATTCATATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCT
TCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGAAGATTAATTCAAATTTGA
CTATCAATAAAAATAATTAAATTGTGTTTTGTAAACCTCTGGCCCAACCTATTTCTAGGCC
AAACCAAAGCAAGAGTTCTGTATCAAAAAGACACTGTGTGTAAGGTTTTTCGCCGCGCAG

>Saccharomycotina | **LaBMicrA 1390**

CGAAAACAACAACACCTAAATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCTACGAAAA
 CGAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCG
 ATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCCT
 CGGCATTCCGGGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGCGCGTGCGCAGAGTTGG
 GGGAGCGGAGCGGACGACGTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACTCGCCTGAAAGGGAGCGAA
 GCTGGCCGAGCGAACTAGACTTTTTTTTCAGGGACGCTTGCGGGCCGAGAGCGAGTGTTGCGA
 GACAACAAAAAG

>*Pichia kudriavzevii* | **LaBMicrA 1391**

ATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCTACGAAAACGAAAAACTTTCAACAACG
 GATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCA
 GCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCCTCGGCATTCCGGGGGGGCATG
 CCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGCGCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACG
 GTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACTCGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAACTAGA
 CTTTTTTTCAGGGACGCTTGCGGGCCGAGAGCGAGTGTTGCGAGACAACAAAAAGCTCGAC

>*Pichia terricola* | **LaBMicrA 1392**

TCCGCTTATTGATATGCTTAAGTTTCAGCGGGTATTCCTACCTGATTTGAGGTCGAGCTTGAT
 AGCTGGGGTTCGGCGCACAAACATAGTTCGCTTCGCCCTCGTTTCTTTTCGGCGGGGGCCAAGGC
 CGGGCCAGCTCCACTTGCGTGAGATAGAAACGACGCTCAAACAGGCATGCCCCCGGAATAC
 CAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAGAACTCGATGATTCACGATGGCTGCAATTCACACTAGGT
 ATCGCATTTTCGCTGCGCTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTA
 TTCTTATGGATTCTTGACTAGGTTATTCATGTTTAGGGGTTTGTTACGCGCACGCAGTGTTG
 AAAGTATATCACAGTAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTAC

>*Pichia terricola* | **LaBMicrA 1393**

GTCGAGCTTGATAGCTGGGGTCGGCGCACAAACATAGTTCGCTTCGCCCTCGTTTCTTTTCGG
 CGGGGCCAAGGCCGGGCCAGCTCCACTTGCGTGAGATAGAAACGACGCTCAAACAGGCATGC
 CCCCCGGAATACCAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAGAACTCGATGATTCACGATGGCTGCAA
 TTCACACTAGGTATCGCATTTTCGCTGCGCTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTG
 TTGAAAGTTTTATTCTTATGGATTCTTGACTAGGTTATTCATGTTTAGGGGTTTGTTACGCG
 CACGCAGTGTTGAAAGTATATCACAGTAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAG

>*Pichia terricola* | **LaBMicrA 1394**

GCGTGCGCGTAACAAACCCCTAAACATGAATAACCTAGTCAAGAATCCATAAGAATAAAACT
 TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACCTAGT
 GTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCC
 GGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCGTTTCTATCTCACGCAAGTGAGCTGGCCCGGCCCTTG
 CCCC GCCGAAAAGAAACGAGGGCGAAGCGAAGTATGTTGTGCGCCGACCCAGCTATCAAGC
 TCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAG