

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E  
BIOLÓGICAS EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
AGRÍCOLA CURSO DE MESTRADO**

**REGISTRO DE OCORRÊNCIA E DESCRIÇÃO  
DE NOVAS ESPÉCIES DE *Aspergillaceae* E *Dothideomycetes*  
DA RESTINGA DE GUAIBIM- BA**

**CRISTIANE NASCIMENTO FIGUEIREDO**

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
AGOSTO- 2021**

**REGISTRO DE OCORRÊNCIA E DESCRIÇÃO  
DE NOVAS ESPÉCIES DE *Aspergillaceae* E *Dothideomycetes*  
DA RESTINGA DE GUAIBIM- BA**

**CRISTIANE NASCIMENTO FIGUEIREDO**

Bióloga

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2018

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Phellippe Arthur Santos Marbach

Co-orientadora: Jackeline Pereira Andrade

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
AGOSTO- 2021**

## FICHA CATALOGRÁFICA

F475r Figueiredo, Cristiane Nascimento.  
Registro de ocorrência e descrição de novas espécies de Aspergillaceae e Dothideomycetes da Restinga de Guaibim- BA / Cristiane Nascimento Figueiredo.\_ Cruz das Almas, BA, 2021.  
100f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Microbiologia Agrícola.  
Orientador: Prof. Dr. Phellippe Arthur Santos Marbach.  
Coorientadora: Jackeline Pereira Andrade.

1.Fungos – Diversidade biológica. 2.Fungos – Restingas.  
3.Ecosistema – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.  
II.Título.

CDD: 579.5

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.  
Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).(os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E  
BIOLÓGICAS EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
AGRÍCOLA CURSO DE MESTRADO**


**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE  
DISSERTAÇÃO DE CRISTIANE  
NASCIMENTO FIGUEIREDO**



Prof. Drº. Phellippe Arthur Santos Marbach  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
CPF 979.228.707-87



Prof. Drº. José Luiz Bezerra  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
CPF: 006.920.004-10



Prof. Drº. Jorge Teodoro de Souza  
Universidade Federal de Lavras  
CPF: 501.667.861-87

Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em  
Microbiologia Agrícola em \_\_\_\_\_ conferindo  
o grau de Mestre em Microbiologia Agrícola em  
\_\_\_\_\_.

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA  
AGOSTO- 2021**

## AGRADECIMENTOS

À Deus e todas as entidades de luz.

A UFRB pela oportunidade de realização do curso.

À FAPESB pelo apoio a pesquisa e concessão da bolsa.

À minha família, especialmente aos meus pais (Dona Eva e Seu Dadá) e minhas irmãs (Angélica e Danúzia) por todo o amor e por sempre acreditarem em mim.

Àos professores Phellippe e Jackeline pelos valiosos ensinamentos, amizade, confiança, cuidado e bons momentos compartilhados ao longo desses anos.

À todos os professores, técnicos e funcionários que colaboraram com meus estudos e trabalho.

Ào meu amigo e parceiro de laboratório, Harisson Guimarães, pelo companheirismo, conhecimentos compartilhados, por tornar meus dias mais divertidos e alegres, e por todo apoio.

À toda equipe do LABEV.

À Rodrigo pelo apoio e companheirismo.

À minha amiga Giselle e demais amigos, que apesar da distância foram constante fonte de motivação e incentivo.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização desse sonho.

Muito obrigada!

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Primers utilizados nas reações de PCRs.....	46
<b>Tabela 2.</b> Reações das PCRs (volume final 25 µL).....	46
<b>Tabela 3.</b> Programas de ciclos térmicos usados para amplificação.....	47
<b>Tabela 4.</b> Resultado do BLASTn após o sequenciamento parcial das regiões gênicas BenA dos isolados pertencentes aos gêneros <i>Aspergillus</i> e <i>Penicillium</i> e LSU dos isolados pertencentes aos gêneros <i>Latorua</i> , <i>Neoscytalidium</i> , <i>Nigrograna</i> e <i>Tremateia</i> .....	49

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Ligação glicosídica entre duas unidades de  $\beta$ -D-Glicose; cadeia linear da celulose, formada por várias unidades consecutivas de celobiose; ligações de hidrogênio intra e intermolecular na estrutura molecular da celulose. Linhas tracejadas: Ligações de hidrogênio intermolecular. Linhas pontilhadas: Ligações de hidrogênio intramolecular (Modificado de Festucci-Buselli et al., 2007).....27

### CAPÍTULO 1

**Figura 2.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Aspergillus*, Seção *Terrei* baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene *benA*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Aspergillus flavipes* CBS 260.73 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que representam registro de ocorrência e uma nova espécie.....51

**Figura 3.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Aspergillus*, Seção *Terrei* baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene *CaM*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Aspergillus flavipes* CBS 260.73 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que representam registro de ocorrência e uma nova espécie.....50

**Figura 4.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Aspergillus*, Seção

*Terrei* baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes *benA* e *CaM*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Aspergillus flavipes* CBS 260.73 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que representam registro de ocorrência e uma nova espécie.....53

**Figura 5.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Latorua*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Murilentithecium clematidis* MFLUCC 14-0562 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que pertencem a nova espécie.....55

**Figura 6.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Latorua*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Murilentithecium clematidis* MFLUCC 14-0562 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que pertencem a nova espécie.....55

**Figura 7.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Latorua*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes ITS e LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de



substituições. *Murilentithecium clematidis* MFLUCC 14-0562 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que pertencem a nova espécie.....56

**Figura 8.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Neoscytalidium*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Cophinforma atrovirens* MFLUCC 11-0425 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....57

**Figura 9.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Neoscytalidium*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Cophinforma atrovirens* MFLUCC 11-0425 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....57

**Figura 10.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Neoscytalidium*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes ITS e LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Cophinforma atrovirens* MFLUCC 11-0425 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....57

**Figura 11.** Árvore filogenética das espécies dos gêneros *Biatriospora* e *Nigrograna*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Trematosphaeria pertusa* CBS 122371 e *Medicopsis romeroi* CBS 252.60 foram usados como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....60

**Figura 12.** Árvore filogenética das espécies dos gêneros *Biatriospora* e *Nigrograna*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Trematosphaeria pertusa* CBS 122371 e *Medicopsis romeroi* CBS 252.60 foram usados como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....62

**Figura 13.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Biatriospora* e *Nigrograna*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene Tef-1. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Trematosphaeria pertusa* CBS 122371 e *Medicopsis romeroi* CBS 252.60 foram usados como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....62

**Figura 14.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Citrina*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene BenA. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima

verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium corylophilum* CBS 31248 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representa registro de ocorrência e novas espécies.....64

**Figura 15.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Citrina*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene CaM. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium corylophilum* CBS 31248 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representa registro de ocorrência e novas espécies.....65

**Figura 16.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Lanata-divaricata*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene BenA. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium stolkiaie* CBS 31567 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representam novas espécies.....67

**Figura 17.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Lanata-divaricata*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene CaM. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium stolkiaie* CBS 31567 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representam novas

espécies.....68

**Figura 18.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Lanata-divaricata*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes BenA e CaM. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium stolkiaie* CBS 31567 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representam novas espécies.....69

**Figura 19.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. Nome em negrito indica isoladoo que representa nova espécie.....71

**Figura 20.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. Nome em negrito indica isoladoo que representa nova espécie.....72

**Figura 21.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes ITS e LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de

substituições. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....72

**Figura 22.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências de nucleotídeos parciais do gene gene 18 S. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 1000 bootstraps. A escala representa o número de substituições. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.....73

**Figura 23 .** A. *Aspergillus* sp. 1EM1 e *Aspergillus* sp. 1EM4, após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, MEAbI, YES e verso de CREA. B, C, E, F. Conidióforos. D. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.....76

**Figura 24.** A. *Aspergillus* sp. 124EM2, após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, CY20S, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, CY20S, YES e verso de CREA. B, C, D, F. Conidióforos. E. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.....77

**Figura 25.** A. *Latorua* sp. IS11M3, da esquerda para direita, primeira fila, verso MEA, BDA, OA; segunda fila, verso *Latorua* sp. IS13EM3 em MEA, BDA, OA após 14 dias em meios de cultura a 25 °C;. B. Esporulação em OA; C-E. Células conidiogênicas que originam as cadeias conidiais. Barras de escalas = 10 µm.....77

**Figura 26.** A. *Neoscytalidium* sp. IS70EM7, da esquerda para direita, verso MEA (48 h), MEA (7 d) BDA (7 d) a 25 °C;. B. Artroconídios contínuos; C. Hifas septadas e marrom escuras; D-F. Formas de conídios. Barras de escalas = 10 µm.....80

**Figura 27.** A. *Nigrograna* sp. IS24M3, após 14 dias em meios de cultura a 24 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso MEA, BDA, OA; segunda fila, reverso de MEA, BDA, OA. B, C. Micromorfologia em MEA, depois de 14 d. Barras de escalas = 10 µm.....81

**Figura 28.** A. *Penicillium* sp. IS7 e *Penicillium* sp. IS33, após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, YES, MEAbI; segunda fila, reverso de CYA, reverso de YES e verso de CREA. B–E. Conidióforos. F. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.....83

**Figura 29.** A. Isolados *Penicillium* sp. 40 e *Penicillium* sp. 41 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, YES, MEAbI; segunda fila, reverso de CYA, reverso de YES e verso de CREA. B–D. Conidióforos. E-F. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.....84

**Figura 30.** A. Isolados *Penicillium* sp. IS38, *Penicillium* sp. IS48 e *Penicillium* sp. IS50 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–F. Conidióforos. E. Conídios. F. Micélio enrolado. Barras de escalas = 10 µm...88

**Figura 31.** A. Isolados *Penicillium* sp. IS15, *Penicillium* sp. IS18 e *Penicillium* sp. IS20 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B, D–F. Conidióforos. C. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.....89

**Figura 32.** A. *Penicillium* sp. 25M3 e *Penicillium* sp. 42M4, após 7 dias em

meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, MEAbI, YES e verso de CREA. B- G. Conidióforos. H, I. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.....91

**Figura 33.** *Tremateia* sp. 36EM5, após 10 dias em meios de cultura BDA a 25 °C.....93

## RESUMO

### FIGUEIREDO, C. N. REGISTRO DE OCORRÊNCIA E DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES DE *Aspergillaceae* E *Dothideomycetes* DA RESTINGA DE GUAIBIM- BA.

Formadas no período Quaternário, os ecossistemas restingas são associados ao bioma tropical Mata atlântica. Esse ecossistema tem sofrido constantemente grande impacto devido as atividades antrópicas, levando a uma degradação sem precedentes da sua diversidade biológica. Considerado o ecossistema mais ameaçado do país, o desmatamento nas restingas ainda é negligenciado, portanto, políticas mais eficazes são necessárias para preservação e conservação dessas áreas, uma vez que possuem uma grande biodiversidade de flora, fauna e microrganismos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi identificar em nível de espécie, isolados fúngicos obtidos da coleta de amostras de serrapilheira e solo da restinga de Guaibim, BA. O isolamento foi realizado pela técnica de diluições seriadas. O DNA dos isolados foi extraído e utilizado como molde para amplificar via PCR regiões gênicas específicas. As árvores filogenéticas foram geradas no programa MEGA 5.2. Os isolados foram caracterizados morfolologicamente utilizando meios de cultura específicos e incubados em diferentes temperaturas. De acordo com os resultados das análises filogenéticas, os caracteres morfológicos dos isolados foram comparados com as das espécies relacionadas filogeneticamente. Desse modo, identificamos espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Latorua*, *Nigrograna*, *Neoscytalidium*, *Penicillium* e *Tremateia*, contribuindo para ampliar o conhecimento da diversidade fúngica das restingas e brasileira.

**Palavras-chave:** Diversidade fúngica; ecossistemas tropicais; taxonomia



## **ABSTRACT**

### **FIGUEIREDO, N. C. REGISTRATION OF OCCURRENCE AND DESCRIPTION OF NEW SPECIES OF *Aspergillaceae* AND *Dothideomycetes* FROM THE GUAIBIMBA RESTINGA.**

Restingas are ecosystems formed in the Quaternary period and are associated with the tropical Atlantic Forest biome. This ecosystem has constantly suffered great impact due to human activities, leading to an unprecedented degradation of its biological diversity. Considered the most threatened ecosystem in the country, deforestation in restingas is still neglected, therefore, more effective policies are needed for the preservation and conservation of these areas, since they have a great biodiversity of flora, fauna and microorganisms. Therefore, the objective of this work was to identify, at species level, fungal isolates obtained from the collection of litter and soil samples from the restinga of Guaibim, BA. Isolation was performed using the serial dilution technique. The DNA of the isolates was extracted and used as a template to amplify specific gene regions via PCR. The phylogenetic trees were generated in the MEGA 5.2 program. Isolates were morphologically characterized using specific culture media and incubated at different temperatures. According to the results of the phylogenetic analyses, the morphological characters of the isolates were compared with those of the phylogenetically related species. In this way, we identified species of the genera *Aspergillus*, *Latorua*, *Nigrograna*, *Neoscytalidium*, *Penicillium* and *Tremateia*, contributing to expand the knowledge of fungal diversity in restingas and in Brazil.

**Keywords:** Fungal diversity; tropical ecosystems; taxonomy

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>19</b>
<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>20</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICO.....</b>	<b>20</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>21</b>
Taxonomia de fungos filamentosos.....	21
Importância econômica dos fungos.....	22
Fungos celulolíticos.....	26
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO I: Descrição de novas espécies fúngicas e registros de ocorrência na restinga de Guaibim- Ba.....</b>	<b>38</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>94</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>95</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

Entende-se por Restinga os ecossistemas que engloba comunidades vegetacionais distintas, localizadas em cordões arenosos que podem ser de origem marinha, fluvial, lagunar ou eólica formados do período quaternário. As restingas são consideradas comunidades vegetacionais edáficas, pois dependem mais da natureza do solo que do clima (RESOLUÇÃO CONAMA nº 261, de 30 de junho de 1999).

O solo das restingas é ácido, arenoso e pobre em nutrientes, em alguns casos o aerossol da água do mar é a principal fonte de nutrientes para as plantas (BONILHA et al., 2012). A vegetação das restingas é um mosaico de formações vegetacionais com fitofisionomias distintas, definidas pelas características dos substratos, que possuem processos deposicionais e idades distintos (BONILHA et al., 2012; RIZZINI, 1997).

As restingas cobrem 79% da costa brasileira (ARAÚJO, 1992), contudo, a densidade demográfica na zona costeira é cinco vezes superior à média nacional, assim, a restinga é um dos ecossistemas mais impactados e considerado o mais ameaçado do país. As áreas remanescentes têm sofrido intenso impacto antrópico, como supressão da vegetação para abertura de estradas, indústria imobiliária depósitos de lixo e extração ilegal de areia (ROCHA et al, 2003; ROCHA et al, 2007; COSENDEY, ROCHA, MENEZES, 2016).

Até recentemente, a maior parte do conhecimento sobre a biodiversidade das restingas restringia-se à sua flora e fauna, contudo esse cenário está mudando. Estudos recentes indicam que esse ecossistema possui uma grande diversidade de bactérias, fungos endofíticos, micorrizas, leveduras e fungos filamentosos (MENDES & TSAI, 2018; MUSSI-DIAS et al., 2020; SILVA et al., 2017). Apesar da extensão da diversidade microbiana das restingas ainda ser desconhecida alguns trabalhos mostram que a sua microbiota comporta espécies desconhecidas e que possuem potencial biotecnológico relevante (ANDRADE et al., 2018; ANDRADE et al., 2019a; ANDRADE et al., 2019b). Estes resultados apontam para a necessidade de estudos sistemáticos sobre a diversidade microbiana das restingas em virtude da iminente perda de diversidade desse ecossistema decorrente de

ações antrópicas.

A Área de Proteção Ambiental (APA) de Guaibim faz parte das áreas consideradas prioritárias para conservação no Brasil pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2007). O ecossistema predominante desta APA é uma restinga que possui 8 formações vegetacionais distintas que inclui, pelo menos uma espécie ameaçada de extinção (MARTINS, 2012). Apesar da sua relevância biológica não existem políticas públicas para a conservação desta APA e suas formações vegetacionais são frequentemente submetidas à impactos antrópicos que resultam na sua descaracterização e na perda de biodiversidade. Neste trabalho serão apresentados resultados de estudos sobre a diversidade taxonômica de fungos filamentosos celulolíticos da restinga da APA de Guaibim. Esta comunidade específica de fungos foi escolhida pela sua relevância da mineralização da matéria orgânica vegetal, um processo particularmente relevante para a estruturação e manutenção das formações vegetacionais das restingas, visto que o solo desse ecossistema, em geral é pobre em nutrientes.

## **OBJETIVO GERAL**

O presente estudo teve como objetivo identificar e descrever isolados fúngicos do solo e da serrapilheira da Área de Proteção Ambiental da Restinga de Guaibim, Bahia.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Descrever as características macromorfológicas em diferentes meios de cultura dos isolados fúngicos;
- Medir e descrever estruturas micromorfológicas;
- Realizar filogenia molecular dos isolados fúngicos com as espécies relacionadas filogeneticamente;

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. Taxonomia de fungos filamentosos

A taxonomia é a ciência que trata da identificação e descrição dos seres vivos em unidades de biodiversidade denominadas taxa, com base na morfologia, filogenia molecular, ecologia e comportamento (PARFREY et al., 2006; RUGGIERO et al., 2015). Os fungos por anos foram considerados como plantas, no entanto estes organismos são heterotróficos, não realizam fotossíntese, não possuem clorofila e a parede celular é constituída por quitina. Desse modo, no ano de 1969, Robert Whittaker propôs a criação de um táxon que incluísse exclusivamente os fungos o Reino Fungi (WHITTAKER, 1969). Com base em características morfológicas e reprodutivas, os fungos foram inicialmente agrupados em 4 filós: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota (WHITTAKER, 1969). Esta classificação foi extensivamente mudada ao longo do tempo e atualmente, com bases em filogenias moleculares, os fungos são agrupados em 18 filós, 23 subfilós, 74 classes, 215 ordens, 731 famílias e 5377 gêneros (TEDERSOO, et al., 2018).

Atualmente, existem 120.000 espécies fúngicas aceitas, contudo, estimativas apontam que há cerca de 12 milhões de espécies fúngicas distribuídas mundialmente, representando o segundo maior grupo de eucariotos do planeta (HAWKSWORTH & LÜCKING, 2017; WU et al., 2019). A maioria (99%) das espécies fúngicas conhecidas constituem o grupo dos fungos verdadeiros, dentre estas, a maior parte pertencem aos filós Ascomycota e Basidiomycota (LUCKING et al., 2020). O filo Ascomycota, também chamado de fungos de saco, contém o maior número de espécies fúngicas, abrigando mais de 80.000, incluindo as leveduras, líquens, mofos, microfungos parasitas e endófitos (WIJAYAWARDENE et al., 2017). Espécies pertencentes a esse filo são caracterizadas por apresentarem ascós, que produzem de quatro a oito ascósporos meióticos (SCHOCH et al., 2009).

Tradicionalmente, as características morfológicas eram centrais para distinção de espécies fúngicas (RAJA et al., 2017). O uso de dados

morfológicos na identificação de espécies é importante na compreensão do processo evolutivo desses caracteres, entretanto, devido à pouca variabilidade intra e interespecífica, o número limitado de caracteres e evolução convergente a identificação e descrição de espécies fúngicas com base apenas na morfologia resultava na subestimação da diversidade taxonômica desses organismos (GIRAUD et al., 2008). Este problema foi, em grande parte resolvido com a abordagem polifásica na identificação e descrição de espécies fúngicas. Na taxonomia polifásica, a identificação e descrição de novas espécies envolvem estudos morfofisiológicos, micromorfológicos e filogenias moleculares multilocus (RAJA et al., 2017).

## **2. Importância econômica dos fungos**

Os fungos ocorrem de duas formas: leveduriforme e filamentosos. As leveduras são unicelulares e se reproduzem pelo processo de brotamento, enquanto que os bolores possuem seu corpo formado por dois tipos de hifas: assimilativas e reprodutivas. As hifas assimilativas compõem o micélio e tem função de absorver nutrientes do meio, por sua vez, as hifas reprodutivas ou aéreas produzem os esporos que são dispersos e germinam em condições favoráveis, propagando as espécies (ALBRECHT et al., 1996).

Os fungos, tanto leveduras, bem como bolores têm contribuído significativamente na saúde e bem-estar dos seres humanos. A fabricação de bebidas fermentadas datam desde 7.000 anos aC na aldeia neolítica de Jiahu, na China (SICARD & LEGRAS, 2011). No antigo Egito e na Mesopotâmia as bebidas mais utilizadas era vinhos e cervejas. Ainda no antigo Egito, foram encontradas evidências de pão fermentado. Embora, os povos antigos não tivessem conhecimento dos microrganismos envolvidos nesses processos fermentativos, a fermentação pelas leveduras do gênero *Saccharomyces* foi utilizada por milhares de anos (SICARD & LEGRAS, 2011).

Ainda na indústria alimentícia, durante os últimos 4000 anos, *Penicillium roqueforti* foi utilizado na produção de queijos azuis (DEMAIN & MARTENS, 2017). Outras espécies, como *Penicillium camemberti* é explorada para fabricação de queijos brancos, enquanto que trufas e

cogumelos são fontes diretas de alimentos ou ainda podem ser utilizados na composição de diversos pratos (VALLONE et al., 2014). O ácido cítrico produzido por *Aspergillus niger* é utilizado como aromatizante, conservante, acidulante e regulador de pH nas indústrias alimentícias, bebidas e cosméticas (CAIRNS et al., 2018). A espécie *Rhizopus oryzae* produz ácido láctico, utilizado como acidulante e conservante (FU et al., 2016).

A rápida industrialização no mundo contemporâneo resultou no aumento do uso de corantes sintéticos nas indústrias alimentícias, cosméticas, farmacêuticas e têxtil. Entretanto, esses corantes tem efeitos cancerígenos, imunossupressores e prejudicam o meio ambiente. Desse modo, a busca por pigmentos naturais têm aumentado e são utilizados como alternativa mais saudável e ecologicamente correta aos corantes artificiais (VENIL et al., 2020). Estudos indicam que os pigmentos naturais de fungos filamentosos são as melhores alternativas aos sintéticos, uma vez que são biodegradáveis, fácil processamento, e possuem resistência contra agentes bióticos e abióticos (EISENMAN & CASADEVALL, 2012; VENIL et al., 2020).

Entre as fontes não convencionais, os fungos filamentosos são conhecidos por produzirem uma variedade de pigmentos coloridos que incluem várias classe químicas como, carotenóides, melaninas, flavinas, fenazinas, quinonas, monascinas, violaceína ou índigo (DUFOSSE et al., 2014). Os pigmentos policetídeo vermelho e amarelo de espécies de *Monascus* tem sido comercialmente produzidos e usados legalmente como corantes alimentares (MAPARI, THRANE & MEYER, 2010). Na indústria têxtil *Penicillium murcianum* e *Talaromyces australis* produtores de pigmentos amarelo e vermelho, se mostraram satisfatórios no tingimento dos tecidos (HERNÁNDEZ et al., 2018). Outras famílias fúngicas tem sido descritas como potentes produtoras de pigmentos naturais: *Monascaceae*, *Trichocomaceae*, *Nectriaceae*, *Hypocreaceae*, *Pleosporaceae*, *Cordycipitaceae*, *Xylariaceae*, *Chaetomiaceae*, *Sordariaceae*, *Chlorociboriaceae*, *Hyaloscyphaceae*, *Hymenochaetaceae*, *Polyporaceae*, *Ophiostomataceae*, *Tremellaceae*, *Herpotrichiellaceae* e *Tuberaceae* (LAGASHETTI et al., 2019).

Ainda nas indústrias, as enzimas produzidas por fungos possuem várias aplicações e catalisam uma variedade de reações químicas, podendo reduzir o gasto energético em alguns processos e a poluição ambiental.

Metade das enzimas utilizadas comercialmente são provenientes dos fungos filamentosos, as principais são: proteases, celulases, xilanases, lipases, amilases e fitases (MCKELVEY & MURPHY, 2017). Essas enzimas são produzidas por diferentes gêneros fúngicos, incluindo *Aspergillus*, *Coriolus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Trichoderma* e *Pichia*. Elas são usadas amplamente nas indústrias de papel, farmacêuticas, alimentícias, bio-branqueamento de polpa de madeira, bioprocessamento de têxteis, aditivos alimentares para aves, melhoria nas propriedades nutricionais de alimentos e extração de óleos vegetais (KUHAD, GUPTA & SINGH, 2011; SINGH, 2019). Nas indústrias de bebidas são utilizadas na fabricação de sucos de frutas, cervejas e atuam na qualidade do vinho (IMRAN et al., 2016).

As proteases representam um dos maiores grupos de enzimas usadas pela indústria e representam cerca de 60% das vendas totais de enzimas no mundo (ZAMBARE, NILEGAONKAR & KANEKAR, 2011). Essas enzimas catalisam a hidrólise de ligações peptídicas em outras proteínas. A celulase exerce um papel importante na produção de bioetanol (KUHAD, GUPTA & SINGH, 2011; SRIVASTAVA et al., 2018). Por sua vez, as amilases fúngicas são utilizadas desde a conversão de amido em xaropes de açúcar até a produção de ciclodextrinas para a indústria farmacêutica (SUNITHA et al., 2012).

Ainda na indústria farmacêutica, a primeira grande contribuição foi em 1928, quando Alexander Fleming descobriu a penicilina, o primeiro antibiótico produzido por *Penicillium notatum* (renomeado *Penicillium rubens*), utilizado no tratamento contra infecções bacterianas (GAYNES, 2017). A descoberta de Fleming deu início à era das drogas microbianas. Posteriormente, a busca de bioprodutos produzidos por microrganismos continuou, e foi constatado que outras espécies de *Penicillium* produzem importantes drogas. *Penicillium brevicompactum* é produtor da mevastina/compactina, que atua na redução do colesterol e do ácido micofenólico, um medicamento imunossupressor (BROW et al., 1976; FLOREY, et al., 1946; MURTHY et al., 1999). A espécie *Penicillium griseofulvum* é explorada na produção do antifúngico griseofulvina.

Na agricultura, o gênero *Trichoderma* é utilizado em larga escala no controle biológico (POVEDA, ABRIL-URIAS e ESCOBAR, 2020). Outras



sspécies dos gêneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Pythium*, *Piriformospora* e *Sebacinales* são utilizadas na promoção e indução da imunidade nas plantas (CORNEJO et al., 2014; ALTAF et al., 2018). Em contraste, várias espécies fúngicas se destacam por causar grandes perdas anualmente na agricultura (GODFRAY, CROZ & ROBINSON, 2016). Embora não sejam consideradas as principais doenças em plantas, algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* podem contaminar produtos agrícolas em diferentes estágios, durante a pré-colheita, colheita, processamento e manuseio. *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* são conhecidos produtores de aflatoxinas e freqüentemente contaminam produtos agrícolas como amendoim, milho, arroz e produtos derivados (PERRONE et al., 2007; WANG et al., 2017). *Penicillium expansum* possui uma distribuição mundial e causa a deterioração na uva, morango, pêra oriental, maçã e citros (KIM, et al, 2007). Devido a coloração apresentada pelos esporos visíveis em frutos contaminados, o termo “bolor azul” é empregado para se referir a essa espécie (KIM, et al, 2007; ERRAMPALLI, 2014).

Membros da classe *Dothideomycetes* são os fitopatógenos que infectam a maioria das principais culturas de mono e dicotiledôneas, incluindo espécies alimentícias e causam grandes perdas agrícolas anualmente na maioria das áreas cultivadas do mundo. Espécies dos gêneros *Coccolibolus*, *Didymella*, *Phaeosphaeria*, *Pyrenophora*, *Venturia*, *Mycosphaerella* e *Leptosphaeria* são os principais patógenos das culturas do milho, melão, trigo, cevada, maçã, banana e brássicas, respectivamente (HEARD, BROWN & HAMMOND-KOSACK, 2015). Outros exemplos bem conhecidas incluem o complexo Sigatoka da bananeira por *Pseudocercospora* spp. (CHANG et al., 2016), cancro de Sphaerulina de choupo em plantas lenhosas por *Sphaerulina* spp. (PHILLIPS et al., 2013), mancha preta em cítricos por *Phyllosticta citricarpa* e mancha das folhas de *Teratosphaeria* em espécies de *Eucalyptus* por *Teratosphaeria* spp (CROUS et al., 2019).

Algumas espécies da classe são patógenas de animais e outras espécies que são onipresentes da biomassa vegetal de plantas mortas são alérgenos importantes, conhecidos por agravar a asma em humanos (GIOULEKAS et al., 2004). Os *Dothideomycetes* podem crescer em outras espécies fúngicas como micoparasitas e são tolerantes ao vapor do etanol,

como *Baudoinia* spp., que crescem nas proximidades de destiladores de uísques e caves de vinho (VIDEIRA et al., 2017).

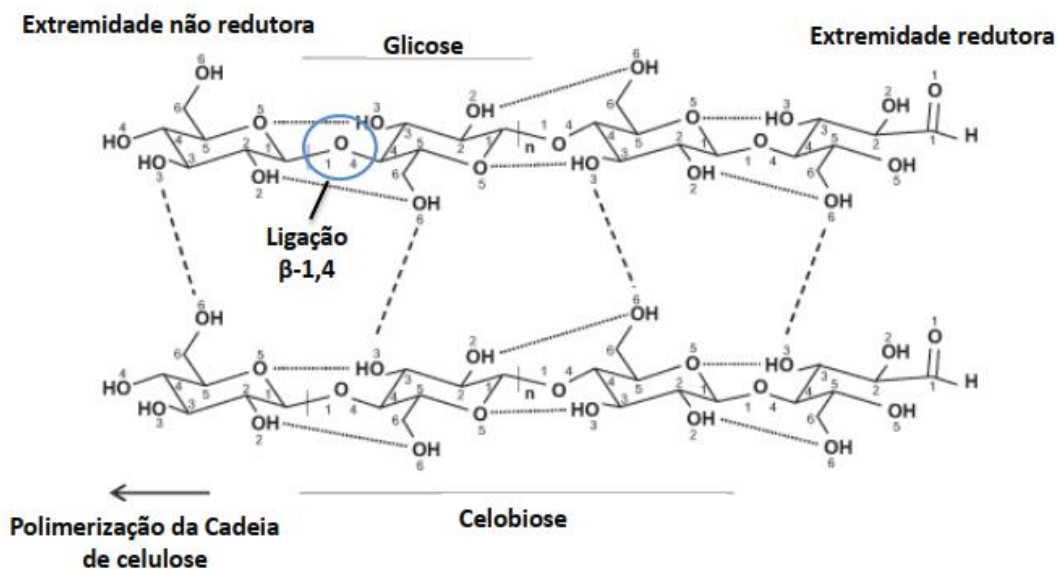
Em humanos, as infecções fúngicas estão entre as doenças mais difíceis de serem controladas. Dentre a diversidade estimada desses microrganismos, poucas centenas de fungos possuem capacidade de patogenicidade, e um pequeno número causa alguma doença em pessoas saudáveis (KÖHLER, CASADEVALL & PERFECT, 2015). Entretanto, estudos recentes estimam que as infecções fúngicas, especialmente aquelas causadas por espécies dos gêneros *Candida*, *Cryptococcus* e *Aspergillus* matam mais de 1 milhão de pessoas anualmente (JANBON et al., 2019).

Embora, sejam frequentemente associados as doenças, os fungos são de extrema importância na vida dos seres humanos. Contribuem significativamente na agricultura e na produção de importantes fármacos. Presentes no nosso cotidiano, os compostos fúngicos salvaram milhões de vidas, aumentaram a expectativa de vida humana e formam a base de muitas indústrias, além disso é considerado uma fonte importante de alimento (DEMAIN & MARTENS, 2017).

### **3. Fungos celulolíticos**

#### *3.1. Características da celulose*

A celulose é formada por diversas cadeias lineares de glicose, unidas por ligações  $\beta$ -1,4 (Figura 1). Os dímeros de glicose, chamados de celobiose é a unidade estrutural repetitiva do polímero (Figura 1). Nas plantas a celulose compõe a parede celular, conferindo rigidez, formato, resistência e sustentação da célula vegetal. Desse modo, este polímero biológico é o mais abundante e representa o maior reservatório de carbono do planeta. Anualmente as plantas produzem cerca de 180 bilhões de toneladas de celulose (FESTUCCI-BUSELLI, OTONI & JOSHI, 2007). Durante a biossíntese da celulose, as cadeias de glicose são unidas por forças de Van der Waals e por pontes de hidrogênio intra e intermoleculares. Essas ligações conferem resistência a hidrólise e uma forma rígida com microfibrilas insolúveis (MCNAMARA, MORGAN & ZIMMER, 2015).



**Figura 1.** Ligação glicosídica entre duas unidades de  $\beta$ -D-Glicose; cadeia linear da celulose, formada por várias unidades consecutivas de celobiose; ligações de hidrogênio intra e intermolecular na estrutura molecular da celulose. Linhas tracejadas: Ligações de hidrogênio intermolecular. Linhas pontilhadas: Ligações de hidrogênio intramolecular (Modificado de Festucci-Buselli et al., 2007).

### 3.2. Fungos celulolíticos

A biomassa de celulose é abundante na natureza e representa mais da metade da matéria orgânica produzida globalmente por meio da fotossíntese das plantas (LI et al., 2020). Os fungos filamentosos possuem um papel fundamental na degradação da celulose, uma vez que hidrolisam esse polímero composto e convertem em moléculas mais simples, como a glicose. Desse modo, esses microrganismos contribuem de forma significativa na reciclagem do carbono e de outros nutrientes, mantendo o equilíbrio da biosfera (ARO, PAKULA & PENTTILÄ, 2004).

Na natureza uma diversidade de microrganismos como bactérias, leveduras e bolores são capazes de decompor a celulose natural por meio da produção de enzimas celulolíticas, conhecidas como celulases (ZALDÍVAR et al., 2001). Estas enzimas atuam na quebra das ligações  $\beta$ -1,4-D-glicosídicas que compõem as moléculas de celulose e são classificadas em: a) endoglucanases, que clivam ligações internas da fibra celulósica; b) exoglucanases, que atuam na região externa da celulose; e c)  $\beta$ -glicosidases, que hidrolisam oligossacarídeos solúveis em glicose (LYND et

al., 2002).

Com grandes aplicações biotecnológicas, as celulases produzidas por fungos filamentosos são mais requeridas, uma vez que estes microrganismos produzem em níveis mais elevados quando comparado com bactérias e leveduras, e além disso, colonizam substratos sólidos (MRUDULA & MURUGAMMAL 2011). Espécies dos gêneros *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Neurospora* e *Penicillium* são grandes produtores dessas enzimas e algumas espécies desses gêneros, como *Trichoderma reesei* tem sido amplamente utilizado para produzir celulase comercial, necessária para a hidrólise completa da lignocelulose (LIU et al., 2019; MONDAL, HALDER & MONDAL 2021).

Além disso, os fungos celulolíticos podem ser utilizados para degradação de resíduos agroindustriais, como bagaço da cana-de-açúcar, sabugo de milho e casca de arroz, que aumentam a cada ano. Esse acúmulo contribui de forma significativa para poluição do meio ambiente e perda de recursos. Portanto, a utilização desses resíduos agroindustriais em bioprocessos, transforma-os em compostos químicos, como álcool, ácidos orgânicos, aminoácidos, entre outros. Desse modo, os fungos auxiliam no controle da poluição ambiental e na produção de bioprodutos (MENEZES & BARRETO, 2015).

As celulases são enzimas de grande importância e de interesse para pesquisadores e indústrias, uma vez que são utilizadas em vários processos economicamente relevantes como produção bebidas, acabamento de tecidos, fabricação de produtos químicos e de biocombustíveis. Alguns desses biocombustíveis são potenciais substitutos para derivados de petróleo (KILIKIAN et al., 2014).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBRECHT, T.; FONS, M.; BOLDOGH, I.; RABSON, A. S. **Medical Microbiology**. ed. 4, Galveston, Texas, 1996.
- ALTAF, M., M.; IMRAN, M.; ABULREESH, H., H.; KHAN, M., S., A.; AHMAD, I. Chapter 15 - Diversity and Applications of *Penicillium* spp. in Plant-Growth Promotion. **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**, p. 261-276, 2018.
- ANDRADE, P., P.; FIGUEIREDO, C., N.; MARBACH, P., A., S.; NASCIMENTO, R., P.; SOUZA, J., T. Fungal Planet description sheets: 785–867. **Persoonia**, v. 41, n. 389, p. 785-867, 2018.
- ANDRADE, P., P.; FIGUEIREDO, C., N.; MARBACH, P., A., S.; SOUZA, H., G.; SOUZA, J., T. Fungal Planet description sheets: 951-1041. **Persoonia**, v. 43, p. 223–425, 2019a.
- ANDRADE, P., P.; FIGUEIREDO, C., N.; MARBACH, P., A., S.; SOUZA, H., G.; SOUZA, J., T. Fungal Planet description sheets: 868–950. **Persoonia**, 42: 291–473, 2019b.
- ARAÚJO, D., S., D. Vegetation types of sandy coastal plains of tropical Brazil: a first approximation In: Seeliger U. ed. Coastal plant communities of Latin America. **San Diego: Academic Press**, 337–347, 1992.
- ARO, N.; PAKULA, T.; PENTTILÄ, M. Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 4, p. 39-719, 2004.
- BONILHA, R., M.; CASAGRANDE, J., C.; SOARES, R., M., S.; REIS-DUARTE, R., M. Characterization of the soil fertility and root system of restinga forests. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 6, 2012.
- BRASIL, Conselho Nacional do Meio Ambiente- RESOLUÇÃO CONAMA nº 261, de 30 de junho de 1999 Publicada no DOU no 146, de 2 de agosto de 1999, Seção 1, páginas 29-31. Biomas – Estágios sucessionais da vegetação de restinga.

BROWN, A. G.; SMALE, T. C.; KING, T. J.; HASENKAMP, R.; THOMPSON, R. H. Crystal and molecular structure of compactin, a new antifungal metabolite from *Penicillium brevicompactum*. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions** v. 1, n. 11, p. 1165-1170, 1976.

CAIRNS, C., T.; NAI, C.; MEYER, V. How a fungus shapes biotechnology: 100 years of *Aspergillus niger* research. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 5, n. 13, 2018.

CHANG, T., C.; SALVUCCI, A.; CROUS, P., W.; STERGIOPOULOS, L. Comparative Genomics of the Sigatoka Disease Complex on Banana Suggests a Link between Parallel Evolutionary Changes in *Pseudocercospora fijiensis* and *Pseudocercospora eumusae* and Increased Virulence on the Banana Host. **Plos genetics**, 2016.

CORNEJO, H., A., C.; RODRÍGUEZ, L., M.; BUCIO, J., S., L.; BUCIO, J., L. Chapter 36 - Enhanced Plant Immunity Using *Trichoderma*. **Biotechnology and Biology of Trichoderma**, p. 495-504, 2014.

COSENDEY, B., N.; ROCHA, C., F., D.; MENEZES, V., A. Population density and conservation status of the teiid lizard *Cnemidophorus littoralis*, an endangered species endemic to the sandy coastal plains (restinga habitats) of Rio de Janeiro state, Brazil. **Journal of Coastal Conservation**, v. 20, p. 97-106, 2016.

CROUS, P., W.; WINGFIELD, M., J.; CHEEWANGKOON, R.; CARNEGIE, A., J.; BURGESS, T., I.; SUMMERELL, B., A.; EDWARDS, J.; TAYLOR, P., W., J.; GROENEWALD, J., Z. Foliar pathogens of *eucalypts*. **Studies in mycology**, v. 94, p. 125-298, 2019.

DEMAIN, A., L.; MARTENS, E. Production of valuable compounds by molds and yeasts. **The Journal of Antibiotics**, v. 70, p. 347-360, 2017.

DUFOSSÉ, L.; FOUILLAUD, M.; CARO, Y.; MAPARI, S., A., S.; SUTTHIWONG, N. Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 56-61, 2014.

EISENMAN, H., E.; CASADEVALL, A. Synthesis and assembly of fungal

melanin. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 931-940, 2012.

ERRAMPALLI, D. *Penicillium expansum* (Blue Mold). **Postharvest Decay**, p. 189–231, 2014.

FESTUCCI-BUSELLI, R., A.; OTONI, W., C.; JOSHI, C., P. Structure, organization, and functions of cellulose synthase complexes in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 1, 2007.

FLOREY, H.W.; ADELAIDE, M. B.; JENNINGS, M. A.; OXFD, B.M.; GILLIVER, K.; CAMB, B. A.; SANDERS, A. G.; LOND, M. B. Mycophenolic acid an antibiotic from *Penicillium brevicompactum* dierckx. **Lancet**, p. 46-49, 1946.

FU, Y.-Q.; YIN, L.-F.; ZHU, H.-Y.; JIANG, R. High-efficiency L-lactic acid production by *Rhizopus oryzae* using a novel modified one-step fermentation strategy. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 410–417, 2016.

GAYNES, R. The Discovery of Penicillin—New Insights After More Than 75 Years of Clinical Use. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 5, p. 849, 2017.

GIRAUD, T.; REFRÉGIER, G.; GAC, M., L.; VIENNE, D., M.; HOOD, M., E. Speciation in fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, n. 6, p. 791-802, 2008.

GODFRAY, H., C., J.; CROZ, D., M., D.; ROBINSON, S. Food system consequences of a fungal disease epidemic in a major crop. Philosophical transactions of the Royal Society of London. **Series B, Biological sciences**, v. 371, n. 1709, 2016.

HAWKSWORTH, D.; LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 4, 2017.

HEARD, S.; BROWN, N., A.; HAMMOND-KOSACK, K. An Interspecies Comparative Analysis of the Predicted Secretomes of the Necrotrophic Plant Pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. **Plos one**, v. 10, n. 6, 2015.

HERNÁNDEZ, V., A.; GALLEGUILLOS, F.; THIBAUT, R.; MÜLLER, A. Fungal dyes for textile applications: testing of industrial conditions for wool fabrics dyeing. **The Journal of The Textile Institute**, v. 110, n. 1, p. 61-66, 2018.

JANBON, G.; QUINTIN, J.; LANTERNIER, F.; D'ENFERT, C. Studying fungal pathogens of humans and fungal infections: fungal diversity and diversity of approaches. **Genes & Immunity**, v. 20, p. 403-414, 2019.

KILIKIAN, B., V.; AFONSO, L., C.; SOUZA, T., F., C.; FERREIRA, R., G.; PINHEIRO, I., R. Filamentous fungi and media for cellulase production in solid state cultures. **Brazilian journal of microbiology**, v. 45, n. 1, p. 279–286, 2014.

KIM, W. K.; SANG, H. K.; WOO, S. K.; PARK, M. S.; PAUL, N. C.; YU, S. H. Six Species of *Penicillium* associated with blue mold of grape. **Mycobiology**, v. 35, n. 4 180-185, 2007.

KÖHLER, J., R.; CASADEVALL, A.; PERFECT, J. The Spectrum of Fungi That Infects Humans. **Cold Spring Harbor Perspectives Medicine**, v. 5, n. 1, 2015.

KUHAD, R., C.; GUPTA, R.; SINGH, A. Microbial Cellulases and Their Industrial Applications. **Enzyme Research**, v. 2011, 2011.

LAGASHETTI, A., C.; LAURENT DUFOSSÉ, L.; SINGH, S., K.; SING, P., N. Fungal Pigments and Their Prospects in Different Industries. **Microorganisms**, v. 7, n. 604, 2019.

LI, J-X.; ZHANG, F.; JIANG, D., D.; LI, J.; WANG, F. L.; ZHANG, Z.; WANG, W.; ZHAO, X., Q. Diversity of Cellulase-Producing Filamentous Fungi From Tibet and Transcriptomic Analysis of a Superior Cellulase Producer *Trichoderma harzianum* LZ117. **Frontiers Microbiology**, 2014.

LIU, P.; LIN, A.; ZHANG, G.; ZHANG, J.; CHEN, Y.; SHEN, T.; ZHAO, J.; WEI, D.; WANG, W. Enhancement of cellulase production in *Trichoderma reesei* RUT-C30 by comparative genomic screening. **Microbial Cell Factories**, v. 18, n. 81, 2019.

LÜCKING, R.; AIME, M., C.; ROBBERTSE, B.; MILLER, A., N.;



ARIYAWANSA, H., A.; AOKI, T.; CARDINALI, G.; CROUS, P., W.; DRUZHININA, I., S.; GEISER, D., M.; HAWKSWORTH, D., L.; HYDE, K., D.; IRINYI, L.; JEEWON, R.; JOHNSTON, P., R.; KIRK, P., M.; MALOSSO, E.; MAY, T., W.; MEYER, W.; ÖPIK, M.; ROBERT, V.; STADLER, M.; THINES, M.; VU, D.; YURKOV, A., M.; ZHANG, N.; SCHOCH, C., L. Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? **IMA fungus**, v. 11, n. 14, 2020.

LYND, L., R.; WEIMER, P., J.; ZYL, W., H., V.; PRETORIUS, I., S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 506–577, 2002.

MAPARI, S., A., S.; THRANE, U.; MEYER, A., S. Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants? **Trends Biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 7-300, 2010.

MARTINS, L., L., M. Fitofisionomia das formações vegetais da Restinga da Área de Proteção Ambiental (APA) de Guaibim, Valença, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 10, n. 1, p. 66-73, 2012.

MCNAMARA, J., T.; MORGAN, J., L., W.; ZIMMER, J. A Molecular Description of Cellulose Biosynthesis. **Annual Review of Biochemistry**, v. 84, p. 895–921, 2015.

MCKELVEY, S., M.; MURPHY, R., A. Biotechnological Use of Fungal Enzymes. **Fungi: Biology and Applications**, 2017.

MENDES, L., W.; TSAI, S., M. Distinct taxonomic and functional composition of soil microbiomes along the gradient forest-restinga-mangrove in southeastern Brazil. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 111, p. 101-114, 2018.

MENEZES, C., R.; BARRETO, A., R. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**. V. 19, n. 2, p. 1365-1391, 2015.

Ministério do Meio Ambiente. 2007. Áreas prioritárias para conservação, uso sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira: Atualização. Portaria MMA nº09, 23 de janeiro de 2007.

MONDAL, S.; HALDER, S., K.; MONDAL, K., C. Tailoring in fungi for next generation cellulase production with special reference to CRISPR/CAS system. **Systems Microbiology and Biomanufacturing**, v. 29, p. 1-17, 2021.

MRUDULA, S.; MURUGAMMAL, R. Production of cellulase by *Aspergillus niger* under submerged and solid state fermentation using coir waste as a substrate. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 3, 2011.

MURTHY, M., V., R.; MOHAN, E., V., S.; SADHUKHAN, A., K. Cyclosporin-A production by *Tolypocladium inflatum* using solid state fermentation. **Process Biochemistry**, v. 34, n. 3, p. 269-280, 1999.

MUSSI-DIAS, V.; FREIRE, M., G., M.; SANTOS, A., V.; MOREIRA, D., D., O.; CAROLINO, A., T.; SAMUELS, R., I. Screening of Fungi Isolated from the Brazilian Restinga for Insecticidal Activity. **Microbiology Research Journal International**, v. 30, n. 3, p. 48-63, 2020.

PARFREY, L., W.; BARBERO, E.; LASSER, E.; DUNTHORN, M.; BHATTACHARYA, D.; PATTERSON, D., J.; KATZ, L., A. Evaluating Support for the Current Classification of Eukaryotic Diversity. **Plos Genetics**, v. 2, n. 12, 2006.

PERRONE, G.; SUSCA, A.; COZZI, G.; EHRLICH, K.; VARGA, J.; FRISVAD, J., C.; MEIJER, M.; NOONIM, P.; MAHAKARNCHANAKUL, W.; SAMSON, R., A. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in mycology**, v. 59, p. 53-66, 2007.

PHILLIPS, A., J., L.; ALVES, A.; ABDOLLAHZADEH, J.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M., J.; GROENEWALD, J., Z.; CROUS, P., W. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. **Studies in mycology**, v. 76, p. 51-167, 2013.

POVEDA, J.; ABRIL-URIAS, P.; ESCOBAR, C. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Filamentous Fungi Inducers of Resistance: *Trichoderma*, Mycorrhizal and Endophytic Fungi. **Frontiers in microbiology**, 2020.

RAJA, H. A.; MILLER, A. N.; PEARCE, C. J.; OBERLIES, N. H. Fungal

identification using molecular tools: A primer for the natural products research community. **Journal of Natural Products**, v. 80 n. 3 p. 756-770, 2017.

RIZZINI, C., T. Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos. 2a ed. Rio de Janeiro, 1997.

ROCHA, C., F., D.; Bergallo, H., G.; Alves, M., A., S.; Sluys, M., v. A biodiversidade nos grandes remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro e nas restingas da Mata atlântica. **Editora Rima**, São Carlos, São Paulo, 160 p, 2003.

ROCHA, C., F., D.; BERGALLO, H., G.; SLUYS, M., V.; ALVES, M., A., S.; JAMEL, C., E. The remnants of restinga habitats in the brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. **Brazilian Journal of Biology**, v.67, n. 2, p. 263-73, 2007.

RUGGIERO, M., A.; GORDON, D., P.; ORRELL, T., M.; BAILLY, N.; BOURGOIN, T.; BRUSCA, R., C.; CAVALIER-SMITH, T.; GUIRY, M., D.; KIRK, P., M. A. Higher Level Classification of All Living Organisms. **Plos one**, 2015.

SCHOCH, C., L.; CROUS, P., W.; GROENEWALD, J., Z.; BOEHM, E., W., A.; BURGESS, T., I.; GRUYTER, J.; HOOG, G., S.; DIXON, L., J.; GRUBE, M.; GUEIDAN, C.; HARADA, Y.; HATAKEYAMA, S.; HIRAYAMA, K.; HOSOYA, T.; HUHDORF, S., M.; HYDE, K., D.; JONES, E., B., G.; KOHLMAYER, J.; SPATAFORA, J., W. A class-wide phylogenetic assessment of *Dothideomycetes*. **Studies in mycology**, v. 64, p. 1-15, 2009.

SICARDA, D.; LEGRAS, J., L. Bread, beer and wine: Yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex Pain, bière et vin : domestication des levures du complexe d'espèces *Saccharomyces sensu stricto*. **Comptes Rendus Biologies**, v. 334, n. 3, p. 229-236, 2011.

SILVA, I., R.; SILVA, D., K., A.; SOUZA, F., A.; OEHL, F.; MAIA, L., C. Changes in arbuscular mycorrhizal fungal communities along a river delta island in northeastern Brazil. **Acta Oecologica**, v. 79, p. 8-17, 2017.

SRIVASTAVA, N.; SRIVASTAVAC, M.; MISHRA, P., K.; GUPTA, V., K.; MOLINA, G.; COUTO, S., R.; MANIKANTA, A.; RAMTEKEA, P., W.

Applications of fungal cellulases in biofuel production: Advances and limitations. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2379-2386, 2018.

SUNITHA, V., H.; RAMESHA, A.; SAVITHA, J.; SRINIVAS, C. Amylase production by endophytic fungi *Cylindrocephalum* sp. isolated from medicinal plant *Alpinia calcarata* (Haw.) Roscoe. **Brazilian journal of microbiology**, v. 43, n. 3, p. 1213-1221, 2012.

TEDERSOO, L.; SÁNCHEZ-RAMÍREZ, S.; KÕLJALG, U.; BAHRAM, M.; DÖRING, M.; SCHIGEL, D.; MAY, T.; RYBERG, M.; ABARENKOV, K. High-level classification of the fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. **Fungal Diversity**, v. 90, ed. 1, p. 135–159, 2018.

VALLONE, L.; GIARDINI, A.; SONCINI, G. Secondary metabolites from *Penicillium roqueforti*, a starter for the production of gorgonzola cheese. **Italian journal of food safety**, v. 3, n. 3, 2014.

VENIL, C., K.; VELMURUGAN, P.; DUFOSSÉ, L.; DEVI, P., R.; RAVI, A., V.; Fungal Pigments: Potential Coloring Compounds for Wide Ranging Applications in Textile Dyeing. **Journal of fungi**, v. 6, n. 68, 2020.

WANG, T.; LI, P.; ZHANG, Q.; ZHANG, W.; ZHANG, Z.; WANG, T.; HE, t. Determination of *Aspergillus* pathogens in agricultural products by a specific nanobody-polyclonal antibody sandwich ELISA. **Scientific Reports**, v. 7, n. 4348, 2017.

WIJAYAWARDENE, N., N.; HYDE, K., D.; RAJESHKUMAR, K., C.; HAWKSWORTH, D., L.; KARUNARATHNA, S., C. Notes for genera: *Ascomycota*. **Fungal diversity**, v. 86, p. 1-594, 2017.

WHITTAKER, R., H. New Concepts of Kingdoms of Organisms: Evolutionary relations are better represented by new classifications than by the traditional two kingdoms. **Science**, v. 163, n. 3863, 1969.

WU, B.; HUSSAIN, M.; ZHANG, W.; STADLER, M.; LIU, X.; XIANG, M. Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. **Mycology: An International Journal on Fungal Biology**, v. 10, n. 3, p. 127-140, 2019.

ZALDÍVAR, M.; VELÁSQUEZ, J., C.; CONTRERAS, I.; PÉREZ, L., M.  
*Trichoderma aureoviride* 7-121, a mutant with enhanced production of lytic  
enzymes: its potential use in waste cellulose degradation and/or biocontrol.  
**Electronic Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 3, 2001.

---

**CAPÍTULO 1**

**DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES FÚNGICAS E  
REGISTROS DE OCORRÊNCIA NA RESTINGA DE  
GUAIBIM- BA**

*Journal of Microbiology*

---

DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES FÚNGICAS E REGISTROS DE OCORRÊNCIA  
DA RESTINGA DE GUAIBIM- BA

Cristiane Nascimento Figueiredo<sup>a</sup>, Harisson Guimarães de Souza<sup>a</sup>, Jackeline  
Pereira Andrade<sup>a</sup>, Jorge Teodoro de Souza<sup>b</sup>, Phellippe Arthur Santos Marbach<sup>a,c\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Programa de Pós-  
graduação em Microbiologia Agrícola, Rua Rui Barbosa, 710, CEP 44380-000,  
Cruz das Almas, BA, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Programa de Pós-graduação em  
Fitopatologia - 37200-000 - Lavras, MG, Brasil.

<sup>c</sup> Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Centro de Ciências Agrárias,  
Ambiental e Biológicas  
– CCAAB, Laboratório de Biologia Evolutiva – LABEV, Rua Rui Barbosa, 710,  
Centro, CEP 44380- 000, Cruz das Almas, BA, Brasil.

\*Autor correspondente

E-mail: phmarbach@hotmail.com (Phellippe Arthur Santos Marbach)

## RESUMO

### FIGUEIREDO, C., N.; SOUZA, H., G.; ANDRADE, J., P.; SOUZA, J., T.; MARBACH, P., A., S. DESCRIÇÃO DE NOVAS ESPÉCIES FÚNGICAS E REGISTROS DE OCORRÊNCIA DA RESTINGA DE GUAIBIM- BA

O solo é um dos principais reservatórios de diversidade fúngica. O objetivo deste estudo foi estudar a riqueza de ascomicetes em um conjunto de amostras de solo e de serrapilheira do ecossistema restinga de Guaibim, Bahia, Brasil. O isolamento de todas as linhagens foi realizado em meio de cultivo seletivo para fungos celulolítico e a identificação e descrição de novas espécies foi feita usando a abordagem polifásica. Inicialmente, os isolados fúngicos foram identificados morfolologicamente em nível de gênero e seus posicionamentos taxonômicos elucidados por meio de análises filogenéticas com regiões genômicas e gênicas que melhor refletem a história evolutiva de cada gênero, como as sequências de DNA do espaçador transcrito interno (ITS), da subunidade maior (LSU) do rDNA e regiões dos genes que codificam a  $\beta$ -tubulina (*benA*), calmodulina (*CaM*), e o fator de alongamento de transcrição (*Tef*). As filogenias moleculares indicaram que alguns isolados eram filogeneticamente relacionados com espécies descritas enquanto que outros apresentaram posição taxonômica distinta, indicando que representavam novas espécies fúngicas. Tanto os isolados que representavam registro de ocorrência como os isolados que representavam novas espécies foram caracterizados macro e micromorfolologicamente. Com base na abordagem polifásica foram identificadas e descritas oito novas espécies distribuídas nos gêneros *Aspergillus*, *Latorua*, *Penicillium*, *Neoscytalidium*, *Nigrograna* e *Tremateia*, além do registro de ocorrência de *Penicillium paxilli*, *P. citrinum* e *Aspergillus hortai*. Este estudo contribui para documentar a diversidade e ampliar o conhecimento sobre a distribuição geográfica de fungos celulolíticos encontrados nos ecossistemas de restingas.

**Palavras-chave:** Diversidade fúngica; ecossistemas tropicais; taxonomia;



**ABSTRACT**

**FIGUEIREDO, C., N.; SOUZA, H., G.; ANDRADE, J., P.; SOUZA, J., T.; MARBACH, P., A., S. DESCRIPTION OF NEW FUNGI SPECIES AND RECORDS OF THE OCCURRENCE OF THE GUAIBIM-BA DROM SANDY DUNES.**

Soil is one of the main reservoirs of fungal diversity. The aim of this study was to evaluate the richness of ascomycetes in a set of soil and litter samples from the restinga ecosystem of Guaibim, Bahia, Brazil. The isolation of all strains was carried out in a selective culture medium for cellulolytic fungi and the identification and description of new species was carried out using the polyphasic approach. Initially, the fungal isolates were morphologically identified at the genus level and their taxonomic positions elucidated through phylogenetic analyzes with genomic and gene regions that best reflect the evolutionary history of each genus, such as the DNA sequences of the internal transcribed spacer (ITS), rDNA major subunit (LSU) and regions of genes encoding  $\beta$ -tubulin (*benA*), calmodulin (*CaM*), and transcription elongation factor. Molecular phylogenies indicated that some isolates were phylogenetically related to described species while others had a distinct taxonomic position, indicating that they represented new fungal species. Both the isolates that represented occurrence records and the isolates that represented new species were characterized macro and micromorphologically. Based on the polyphasic approach, eight new species distributed in the genera *Aspergillus*, *Lactoria*, *Penicillium*, *Neoscytalidium*, *Nigrograna* and *Tremateia* were identified and described, in addition to the occurrence record of *Penicillium paxilli*, *P. citrinum* and *Aspergillus hortai*. This study contributes to documenting the diversity and expanding the knowledge about the geographic distribution of cellulolytic fungi found in restinga ecosystems.

**Keywords:** Fungal diversity; tropical ecosystems; taxonomy

## 1. INTRODUÇÃO

Encontrados em todas condições climáticas do planeta, os fungos representam o segundo grupo de eucariotos com maior biodiversidade da Terra (SCHOCH et al., 2012). Esses microrganismos são essenciais para o equilíbrio ecológico da biosfera, uma vez que são os principais decompositores da matéria orgânica (TRESEDER & LENNON, 2015; NARANJO-ORTIZ & TONI GABALDÓN, 2019). Dentre os filos fúngicos conhecidos, o *Ascomycota* é um dos grupos do domínio Eukarya mais diversificado. Abriga mais de 83.000 espécies, representando mais da metade das espécies fúngicas conhecidas (JAMES et al., 2020).

*Ascomycota* é dividido em 3 subfilos. *Saccharomycotina*, comumente referido como leveduras, é constituído por mais de 1000 espécies conhecidas (SHEN et al., 2018). O subfilo *Taphrinomycotina* possui 140 espécies (JAMES et al., 2020). *Pezizomycotina* contém mais de 82.000 espécies descritas em 16 classes e é conhecido como o grupo dos fungos filamentosos (JAMES et al., 2020).

O filo *Ascomycota* é caracterizado pela produção de um asco, essa estrutura é constituída por uma parede delgada e geralmente contém 8 ascósporos, entretanto, esse número é variável, às vezes possui 1-4 ou até 12-70 esporos sexuais (COUSIN, 2014). O asco encontra-se no interior de um corpo frutífero, denominado ascoma ou ascocarpo. As espécies desse filo são economicamente importantes, utilizadas como fonte de matéria-prima em diversos setores. Na agricultura, várias espécies de *Trichoderma* são utilizadas em larga escala no controle biológico (ZIN & BADALUDDIN, 2020). *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Saccharomyces* são os principais gêneros utilizados na fabricação de alimentos e bebidas (KHACHATOURIANS, 2003).

Na indústria farmacêutica espécies de *Penicillium* se destacam como produtoras de importantes fármacos, como a penicilina, ácido micofenólico,

griseofulvina e mevastina, drogas utilizadas como antibiótico, imunossupressor, antigúngico e no combate ao colesterol, respectivamente (BROW et al., 1976; FLOREY, et al., 1946; MURTHY et al., 1999). *Aspergillus glaucus* é produtor do composto anticancerígeno, aspergiolida (TAO et al., 2009). *Tolypocladium nivenum* é produtor do composto ciclosporina A, que possui atividades imunossupressoras e ação contra coronavírus (BOREL et al., 1976; WILDE et al., 2011). *Aspergillus japonicas* é utilizado na produção de probióticos (DEMAIN & MARTENS, 2017).

Estimam-se que o mundo tenha cerca de 12 milhões de espécies fúngicas, entretanto, é conhecido apenas 120.000 espécies de toda essa biodiversidade (HAWKSWORTH & LÜCKING, 2017; WU et al., 2019). Devido as condições ambientais, como temperatura e umidade e maior diversidade de plantas vasculares, supõe-se que a maior parte da comunidade fúngica global ocorra em regiões tropicais (PEAY, BARALOTO, FINE, 2013).

As florestas de Planícies Costeiras, também conhecidas como restingas, representam uma das fitofisionomias encontradas na Mata Atlântica Brasileira (MARQUES, SILVA & LIEBSCH, 2015). Formadas no período Quaternário, as restingas são ecossistemas presentes ao longo da costa litorânea brasileira cuja diversidade de microrganismos e pouco conhecida e explorada biotecnologicamente, embora, alguns estudos demonstrem que as restingas possuem uma alta diversidade de microfungos (ANDRADE et al., 2014; FREIRE et al., 2017; ANDRADE et al., 2018; ANDRADE et al., 2019; MUSSI-DIAS et al., 2020). Além disso, as restingas é o ecossistema mais impactado e ameaçado do país, pois seus remanescentes estão constantemente sob pressões antrópicas. O objetivo desse trabalho foi identificar, descrever e documentar a biodiversidade fúngica filamentosa da restinga de Guaibim, Bahia.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Reativação dos isolados

O acervo do laboratório de Biologia Evolutiva (LABEV) possui 1023 isolados fúngicos da restinga de Guaibim, BA conservados pelo Método Castellani (CASTELLANI, 1939). Desses isolados, 20 (7, 15, 18, 20, 33, 38, 40, 41, 48, 50, 1EM1, 1EM4, 24M3, 11EM7, 13EM3, 25M3, 36EM5, 42M4, 70EM7 e 124EM2) foram reativados em placas de Petri contendo Ágar Extrato de Malte (20 %). As suspensões de esporos foram feitas para isolados dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* em solução ágar-água (2 g de ágar: 1000 ml dH<sub>2</sub>O; 1 gota de tween). Essas suspensões foram feitas a partir de culturas puras com 7 dias de crescimento a 28 °C. Para isolados pertencentes aos demais gêneros, *Lactoria*, *Neoscytalidium*, *Nigrograna* e *Tremateia* foi realizado diluições seriadas para obter culturas monospóricas.

### 2.2 . Caracterização morfológica dos isolados

Para a caracterização macromorfológica os meios foram preparados em placas de Petri com um volume de 20 ml. Para os isolados fúngicos pertencentes aos gêneros *Aspergillus* (1EM1, 1EM4, 124EM2) e *Penicillium* (7,15, 18, 20, 33, 38, 40, 41, 50, 25M3, 42M4), 3,0 µL da suspensão de esporos em ágar-água semi-sólido de cada isolado foi inoculado em 3 pontos equidistantes em placas de Petri contendo os meios de cultura CYA (Czapek Yeast Autolysate ágar, PITT, 1979) incubados a 25, 30 e 37 °C, CYAS (Czapek Yeast Autolysate ágar with 5 % NaCl), CZ (Czapek's ágar RAPER; THOM 1949), MEAb1 (Blakeslee's malt extract ágar, BLAKESLEE, 1915), CREA (Creatine sucrose ágar, FRISVAD, 1981), DG18 (Dichloran 18 % Glycerol ágar, HOCKING; PITT, 1980), OA (Oatmeal ágar, SAMSON et al., 2010), YES (Yeast extract sucrose ágar, Frisvad, 1981), CY20S (KLICH, 2002) e M20S

(SAMSON et al., 2010) incubados a 25 °C por 7 dias, no escuro (SAMSON et al., 2014; VISAGIE et al., 2014). Os isolados 11EM7, 13EM3, 24M3, 36EM5 e 70EM7 foram cultivados em BDA (2 % potato-dextrose ágar), MEA (2 % malt extract ágar) e OA (Oatmeal ágar) por 7-14 d, a 24 e 25°C no escuro.

Após o crescimento dos isolados, características morfológicas, como taxas de crescimento das colônias, largura e textura da margem, coloração do verso e reverso, forma e textura da colônia, presença ou ausência de exsudato, pigmento solúvel, cleistotécio/escleródios foram analisadas. Todos os nomes e códigos de cores referem-se ao Methuen Handbook of Color (KORNERUP & WANSCHER, 1967) e aos gráficos de nomes de cores ISCC-NBS (KELLY & JUDD, 1965).

As características microscópicas dos isolados fúngicos foram analisadas em microcultivos em placas de Petri. Os isolados foram crescidos em meio MEA, OA, BDA e MEAbl a 25 °C de 7 a 14 dias em luz próxima de ultravioleta (UV) e no escuro. As lâminas foram preparadas com ácido láctico e visualizadas utilizando o microscópio óptico. A forma, textura e tamanho das estipes, células conidiogênicas (quando presentes), métulas (quando presente), fiálides (quando presente), metaconídios (quando presente), artroconídios (quando presente), conídios e vesículas (quando presente) foram observadas e medidas.

### 2.3 Extração de DNA, sequenciamento e análises filogenéticas

Os isolados fúngicos foram crescidos em meio BDA (2 % potato-dextrose ágar) por 3-5 dias a 25°C no escuro e em BDA líquido (2 % potato-dextrose) a 25°C por 2d a 150 RPM. Após esse período o DNA dos fungos foi extraído seguindo o protocolo adaptado, descrito por Doyle e Doyle (1990). A amplificação e sequenciamento dos gêneros *Aspergillus*, *Lactoria*, *Nescytalidium*, *Nigrograna*, *Penicillium* e *Tremateia* foram realizados com fragmentos dos genes  $\beta$ -tubulina (*benA*), calmodulina (*CaM*),

espaçador transcrito interno (ITS), larga subunidade ribossomal (LSU) e fator de alongamento da tradução 1-alfa (*tef-1*) utilizando os primers, reações e programas das PCRs descritos nas tabelas a seguir, respectivamente.

**Tabela 1.** Primers utilizados nas reações de PCRs.

Locus	Nome do primer	Direção	Sequência do primer (5'-3')
Espaçador transcrito interno (ITS)	ITS1	<i>Forward</i>	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
	ITS4	<i>Reverse</i>	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC
$\beta$ -tubulina ( <i>BenA</i> )	Bt <sub>2a</sub>	<i>Forward</i>	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC
	Bt <sub>2b</sub>	<i>Reverse</i>	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC
Calmodulin ( <i>CaM</i> )	CMD5	<i>Forward</i>	CCG AGT ACA AGG ARG CCT TC
	CMD6	<i>Reverse</i>	CCG ATR GAG GTC ATR ACG TGG
LSU	LROR	<i>Forward</i>	ACC CGC TGA ACT TAA GC
	LR5	<i>Reverse</i>	TCC TGA GGG AAA CTT CG
Tef-1	EF1-983F	<i>Forward</i>	GCY CCY GGH CAY CGT GAY TTY AT
	EF1-2218R	<i>Reverse</i>	ATG ACA CCR ACR GCR ACR GTY TG

**Tabela 2.** Reações das PCRs (volume final 25  $\mu$ L).

Reagentes	ITS	benA	CmD	LSU	Tef-1
Tampão 5X ( $\mu$ L)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2,5	2	2	2	2,5
dNTPs (2,5 mM)	0,5	2	2	2,5	2,5
Taq Polimerase (5 U/ $\mu$ L)	0,2	0,4	0,2	0,2	0,3
<i>Primer forward</i> (10 pmol/ $\mu$ L)	0,7	0,75	5	2	2
<i>Primer reverse</i> (10 pmol/ $\mu$ L)	0,7	0,75	5	2	2
DNA ( $\mu$ L)	2	2	2	2	2,5
Água ( $\mu$ L)	15,9	14,6	12,3	11,8	10,7

**Tabela 3.** Programas de ciclos térmicos usados para amplificação.

Regiões gênicas	Desnaturação inicial	Ciclos	Desnaturação	Anelamento	Alongação	Extensão final
ITS, benA e CaM	94 °C, 2 min	38	93 °C, 30 s	50 °C, 30 s	72 °C, 60 s	72 °C, 10 min
LSU	94 °C, 5 min	40	94 °C, 45 s	54 °C, 45 s	72 °C, 60 s	72 °C, 10 min
		30	94 °C, 45 s	52°C, 45 s	72 °C, 60 s	72 °C, 7 min
Tef	94 °C, 5 min	40	94 °C, 45 s	52 °C, 30 s	72 °C, 90 s	72 °C, 6 min

Os produtos das PCRs foram enviados para serem sequenciados na empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. (Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS) utilizando o sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer armado com capilares de 50cm e polímero POP7 (Applied Biosystems). As sequências foram editadas no programa Chromas 2.6.2 (Technelysium DNA Sequencing Software). As sequências nucleotídicas obtidas de cada isolado fúngico foram comparadas com sequências depositadas no banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI) utilizando o programa BLASTN (ALTSCHUL, et al., 1997). Esta comparação foi realizada para saber com quais espécies nossos isolados fúngicos eram taxonomicamente mais relacionados. Em seguida, as sequências nucleotídicas dos genes selecionados de linhagens fúngicas ainda não identificados e do tipo das espécies mais próximas aos nossos isolados foram recuperados. O alinhamento múltiplo destas sequências e a edição foram feitos no programa MEGA 6.0 (TAMURA et al., 2013). As árvores filogenéticas foram geradas no mesmo programa utilizando o método de Máxima Verossimilhança, com 100 bootstraps.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### *3.1 . Identificação dos isolados*

Os isolados analisados neste trabalho foram obtidos a partir de amostras de solo e de serrapilheira da restinga de Guaibim, Bahia. A serrapilheira é a camada de matéria orgânica vegetal em decomposição que cobre o solo de formações vegetacionais. Essa camada é fundamental na ciclagem de nutrientes e é considerada o principal meio de transferência de matéria orgânica e elementos minerais da vegetação para a superfície do solo (MORAES, DELITTIYARA & VUONO, 1999).

Na natureza, os fungos são os microrganismos mais importantes para a decomposição da matéria orgânica devido à sua capacidade na produção de diversas enzimas e por crescerem em substratos sólidos, portanto, são vistos como potentes degradadores da celulose, biopolímero presente na parede celular vegetal (COUTURIER et al., 2016). A decomposição deste carboidrato tem fundamental importância no ciclo biogeoquímico do carbono (ALEXANDER, 1982). As cepas estudadas nesse trabalho, pertencentes a diversos gêneros (Tabela 4) foram isoladas de meio de cultura seletivo para fungos celulolíticos. Desse modo, evidencia que esses fungos tem potencial para produzir enzimas celulolíticas e degradar este biopolímero. Além disso, mostra que as restingas possuem uma comunidade fúngica celulolítica diversificada com potencial biotecnológico inexplorado.



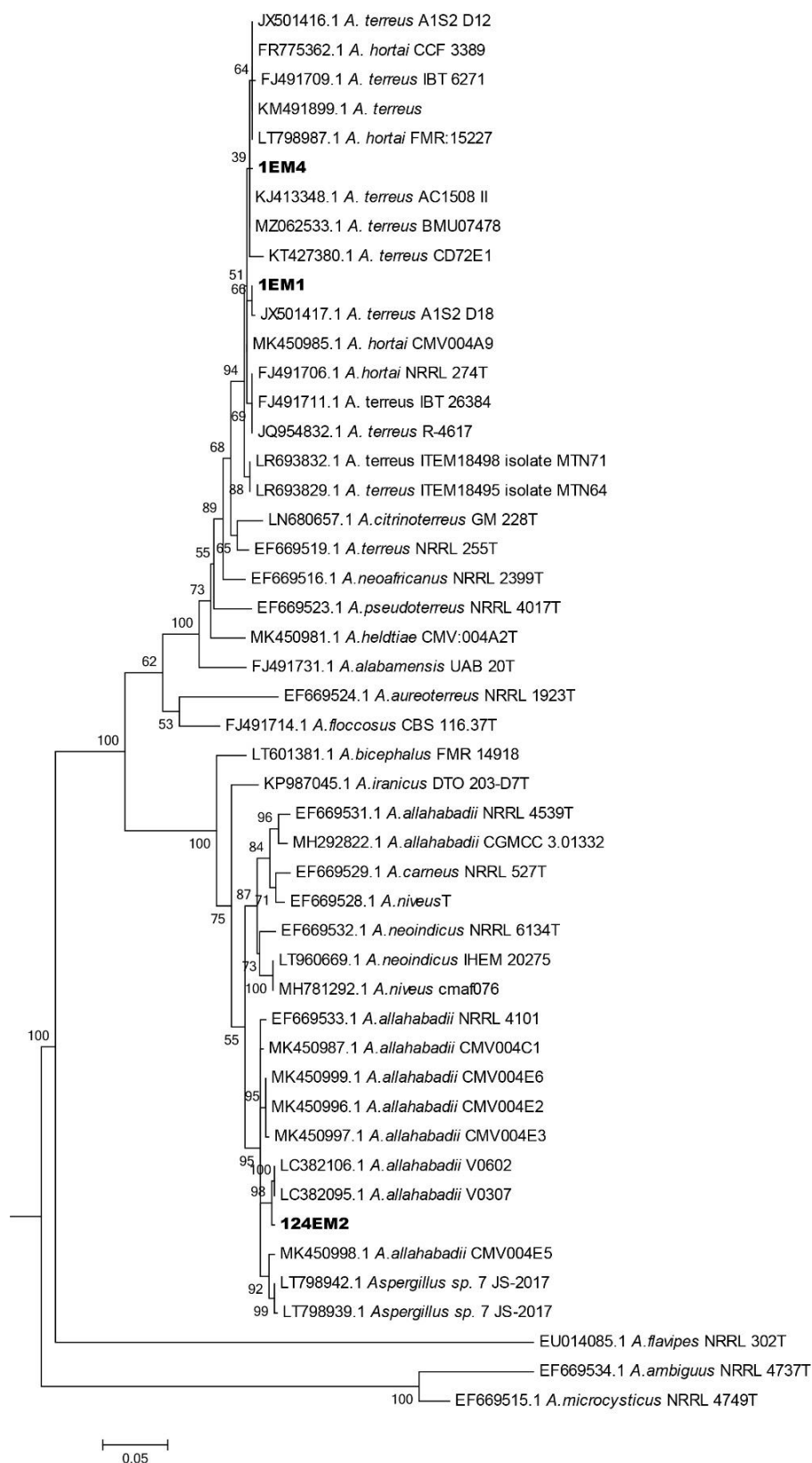
**TABELA 4.** Resultado do BLASTn após o sequenciamento parcial das regiões gênicas *BenA* dos isolados pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* e *LSU* dos isolados pertencentes aos gêneros *Latorua*, *Neoscytalidium*, *Nigrograna* e *Tremateia*.

ISOLADOS	ESPÉCIES MAIS PRÓXIMAS	IDENTIDADE (%)	TIPO DAS ESPÉCIES	IDENTIDADE (%)
1EM1 1EM4	<i>Aspergillus terreus</i> A1S2_D18	99.62%	<i>Aspergillus hortai</i> NRRL 274	99.61%
124EM2	<i>Aspergillus allahabadii</i> CMV004C1	98.79%	<i>Aspergillus neoindicus</i> CBS 444.75	96.08%
11EM7 13EM3	<i>Latorua grootfonteinensis</i> CBS 369.72	99.53%	<i>Latorua grootfonteinensis</i> CBS 369.72	99.53%
70EM7	<i>Neoscytalidium</i> sp. IOM325287	99.31%	<i>Neoscytalidium novaehollandiae</i> CMW 26170	99.07%
24M3	<i>Nigrograna chromolaenae</i> MFLUCC 17-2079	97.43%	<i>Nigrograna mackinnonii</i> CBS 674.75	97.26%
7 33	<i>Penicillium citrinum</i> a1s2_d37	100%	<i>Penicillium citrinum</i> CBS 139.45	100%
40 41	<i>Penicillium paxilli</i> 16b	99.78%	<i>Penicillium kapuscinskii</i> CBS218.28	89.05%
38	<i>Penicillium steckii</i> MUT 3495	100%		
48	<i>Penicillium sumatrense</i> DI16-76	99.77%	<i>Penicillium kapuscinskii</i> CBS218.28	87.41%
50	<i>Penicillium sumatrense</i> 205P	100%		
15 18 20	<i>Penicillium</i> sp. YD- 2017m NN072452_1	99.52%	<i>Penicillium pedernalense</i> F01-11	98.93%
25M3 42EM4	<i>Penicillium</i> sp. 2 AM-2018 20b	98.33%	<i>Penicillium echinulonalgiovense</i> CBS:328.59	98.70%
36EM5	<i>Tremateia camporesii</i> MFLU 19-2109	99.04%	<i>Tremateia camporesii</i> MFLU 19-2109	99.04%

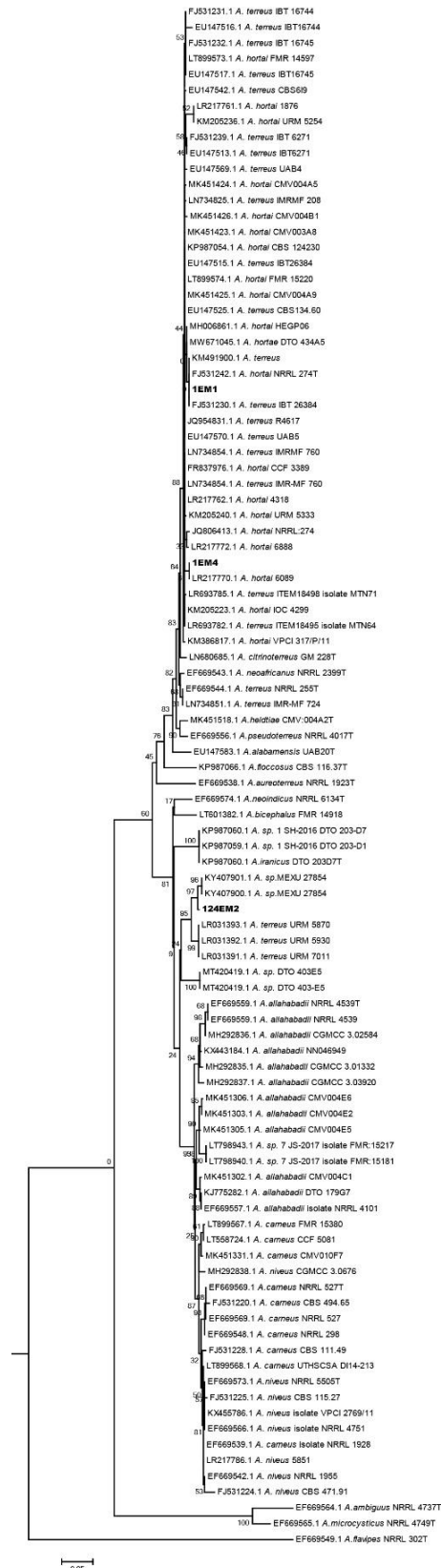
### 3.2 . Análises filogenéticas

Inicialmente, foi feita a comparação das sequências parciais do genes *benA* e *CaM* dos isolados pertencentes ao gênero *Aspergillus* 1EM1, 1EM4 e 124EM2 com

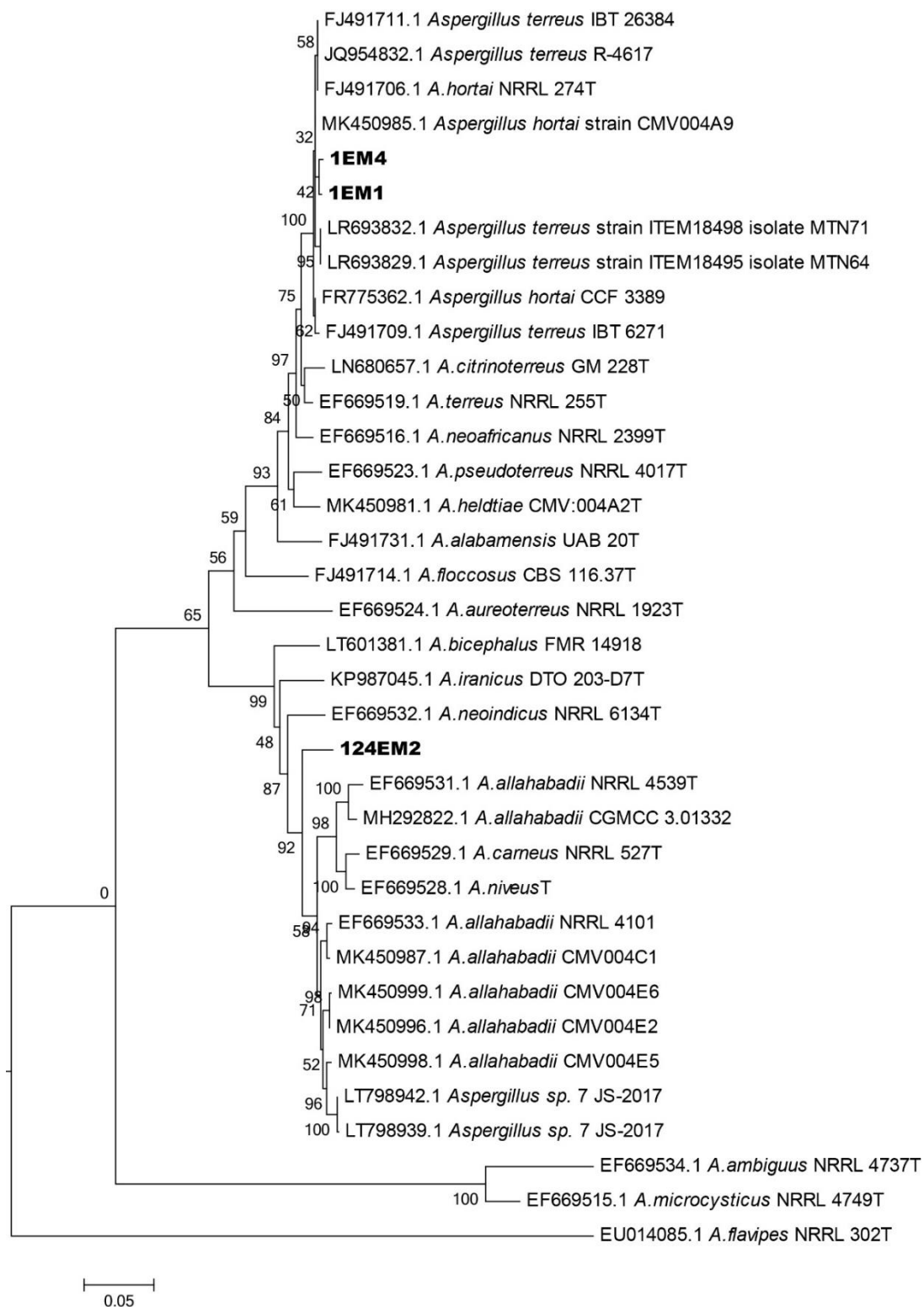
sequências depositadas na base de dados do NCBI. Esta análise indicou que esses isolados são relacionados com espécies da seção *Terrei*, portanto as análises filogenéticas envolvendo esses isolados foram realizadas com sequências ortólogas apenas das espécies dessa seção. As filogenias de um único gene (Figuras 2 e 3) e combinada (Figura 4) indicaram que os isolados 1EM1 e 1EM4 são filogeneticamente relacionados ao tipo da espécie de *Aspergillus hortai* enquanto que o isolado 124EM2 não possui relações filogenéticas com espécies conhecidas, indicando que esta linhagem representa uma nova espécie da seção *Terrei*. *Aspergillus hortai* foi isolada pela primeira vez de uma orelha humana no Rio de Janeiro, e posteriormente foi obtida a partir de amostras de solo, coletadas na Flórida (EUA) e nas ilhas Galápagos (SAMSON et al., 2011), indicando que essa espécie possui ampla distribuição nas Américas e se adapta a diferentes habitats. O isolado *Aspergillus* sp. 124EM2, a partir das análises filogenéticas de *CaM* (Figuras 2) se agrupa com as cepas *Aspergillus* sp. MEXU 27854 cloneA e *Aspergillus* sp. MEXU 27854 cloneB, entretanto, este grupo ainda é desconhecido. Esses isolados são facultativos marinhos e foram isoladas na Baía de Caleta em Acapulco, Guerrero, México (CUEVAS et al., 2017). Uma comparação com a sequência parcial de *CaM*, utilizando o BlastN, mostra que dentre as espécies descritas de *Aspergillus Terrei*, o isolado 124EM2 possui a maior identidade com *Aspergillus niveus* CBS 115.27, 95% (501/530). Utilizando a sequência parcial de *benA* a maior identidade é com *Aspergillus neoindicus* CBS 444.75, 96% (466/485) pb.



**Figura 2.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Aspergillus*, Seção *Terrei* baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene *benA*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Aspergillus flavipes* CBS 260.73 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que representam registro de ocorrência e uma nova espécie.



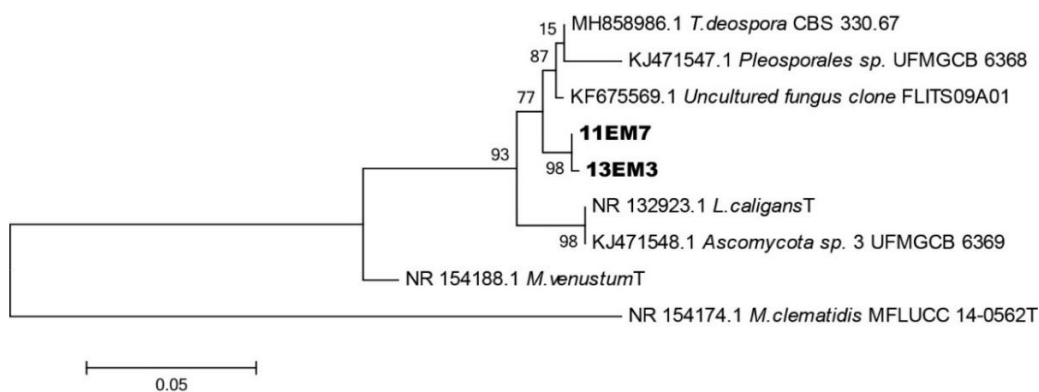
**Figura 3.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Aspergillus*, Seção *Terrei* baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene *CaM*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Aspergillus flavipes* CBS 260.73 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que representam registro de ocorrência e uma nova espécie.



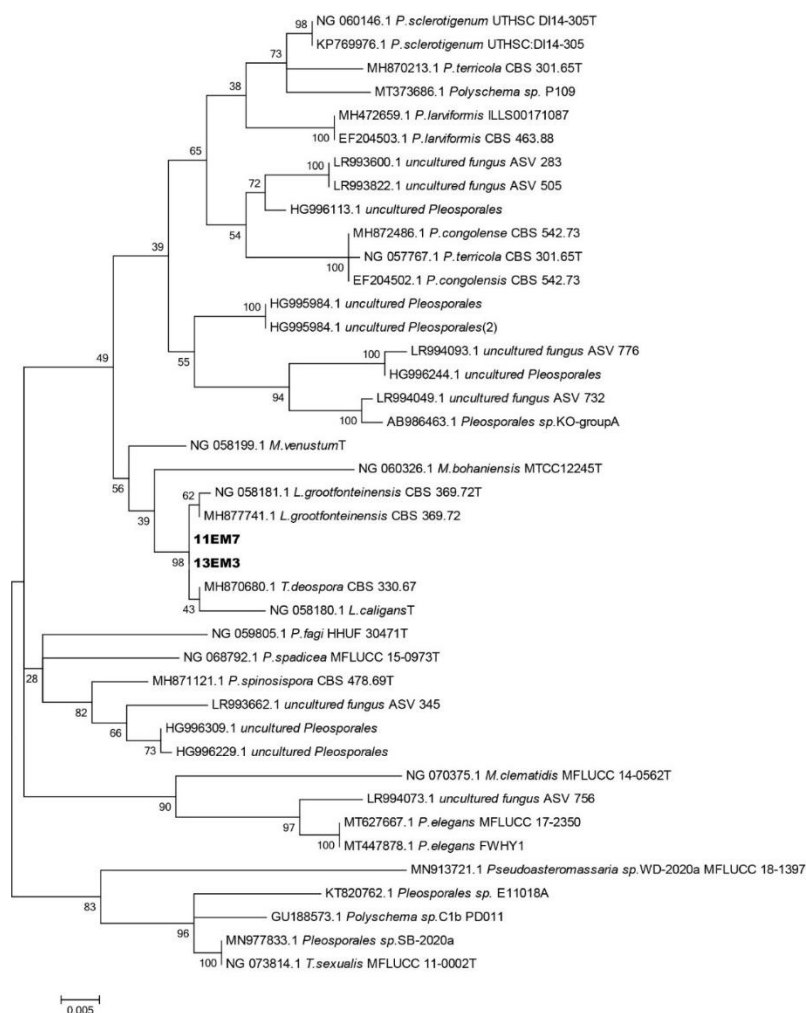
**Figura 4.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Aspergillus*, Seção *Terrei* baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes *benA* e *CaM*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Aspergillus flavipes* CBS 260.73 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que representam registro de ocorrência e uma nova espécie.

A relação filogenética dos isolados 11EM7 e 13EM3 foi feita a partir dos conjuntos de dados dos genes ITS e LSU, e a espécie *Murilentithecium clematidis* MFLUCC 14-0562 foi utilizada como grupo externo. As filogenias de um único gene (Figuras 5 e 6) possuem concordância genealógica quando comparadas com análise combinada (Figura 7), e indicam que os isolados 11EM e 13EM3 pertencem a uma nova espécie do gênero *Latorua*. Este gênero, bem como a sua família *Latoruaceae* foram introduzidos em 2015 por Crous (CROUS et al., 2015). *Latorua* possui apenas duas espécies conhecidas, *Latorua caligans* e *Latorua grootfonteinensis*. *L. Caligans*, isolada de solo brasileiro foi primeiramente descrita como membro do gênero *Bahusandhika*, entretanto, membros desse gênero não possuem células apicais cupuladas, os conídios não são proeminentemente contraídos nos septos e a ornamentação dessas microestruturas são diferentes daquelas encontradas nos conídios de *Latorua* (JALMI et al., 2014).

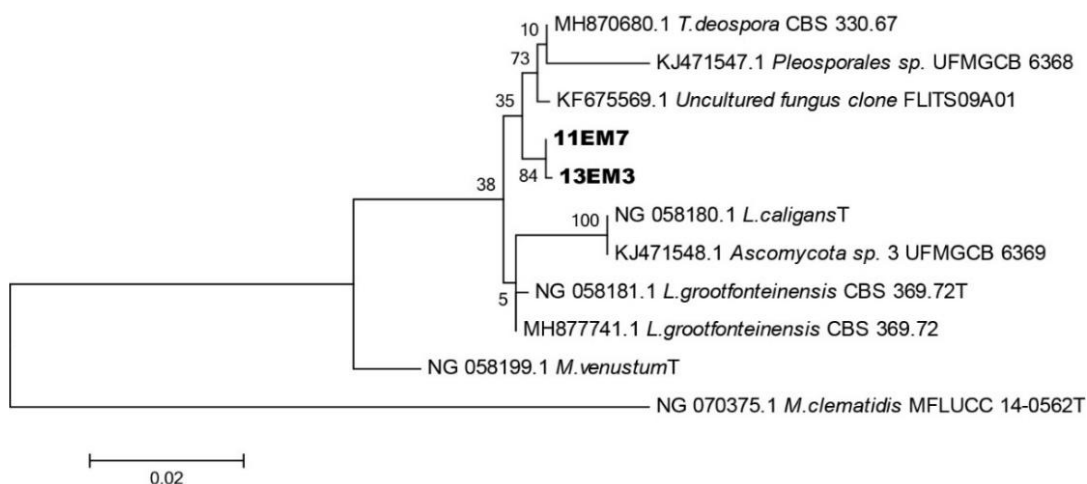
A outra espécie de *Latorua*, *L. grootfonteinensis*, foi isolada do solo arenoso na Namíbia e foi originalmente descrita como pertencente ao gênero *Torula*. No entanto, *Latorua* possui conídios mais ornamentados, predominantemente com 3 septos e em média são mais curtos quando comparados com os do gênero *Torula*. As linhagens 11EM7 e 13EM3 formam um clado distinto e possuem caracteres morfológicos diferentes daqueles caracteres apresentados pelas espécies já conhecidas do gênero, por exemplo em BDA a taxa de crescimento de é de 26-34 mm, enquanto *L. Grootfonteinensis* possui 60 mm e *L. Caligans* 65 mm de diâmetro (CROUS et al., 2015).



**Figura 5.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Latorua* e espécies relacionadas, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Murilenthecium clematidis* MFLUCC 14-0562 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que pertencem a nova espécie.



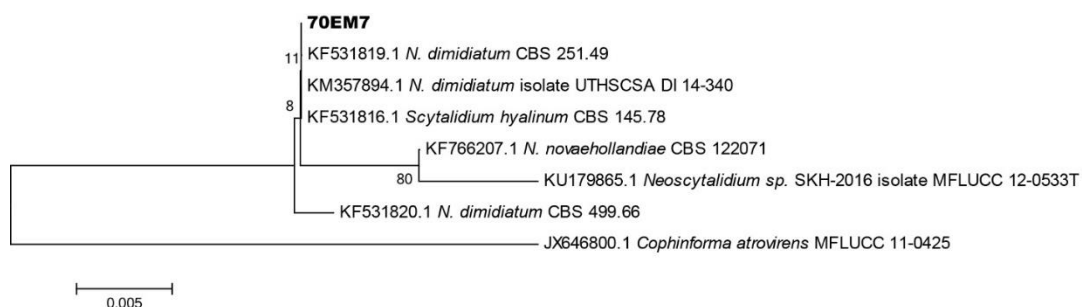
**Figura 6.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Latorua* e espécies relacionadas, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Murilenthecium clematidis* MFLUCC 14-0562 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que pertencem a nova espécie.



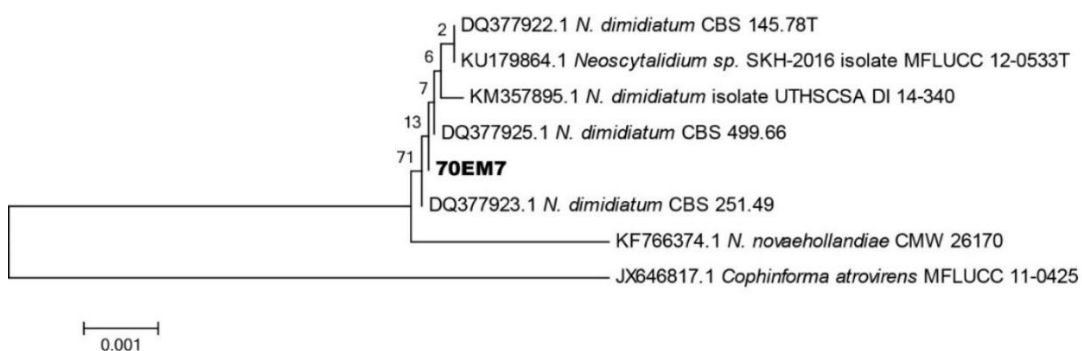
**Figura 7.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Latorua* e espécies relacionadas, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes *ITS* e *LSU*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Murilentithecium clematidis* MFLUCC 14-0562 foi usado como grupo externo. Nomes em negritos, indicam os isolados que pertencem a nova espécie.

A filogenia inferida a partir dos conjuntos de dados de ITS (Figura 8) indica que o isolado 70EM7 é filogeneticamente relacionada com *Neoscytalidium dimidiatum*. Entretanto, estudos filogenéticos com LSU (figura 9) e análise combinada (Figura 10) mostram que o isolado 70EM7 forma um clado distinto do tipo das espécies de *Neoscytalidium dimidiatum* CBS 145.78 e *Neoscytalidium orchidacearum* MFLUCC 12-0533, respectivamente. *Neoscytalidium* foi introduzido por Crous em 2006 para agrupar espécies que possuem artroconídios secos e pulverulentos (CROUS et al., 2006; PHILLIPS et al., 2013). Com apenas três espécies descritas, este gênero é conhecido por causar patogenicidade em plantas e animais (incluindo humanos).

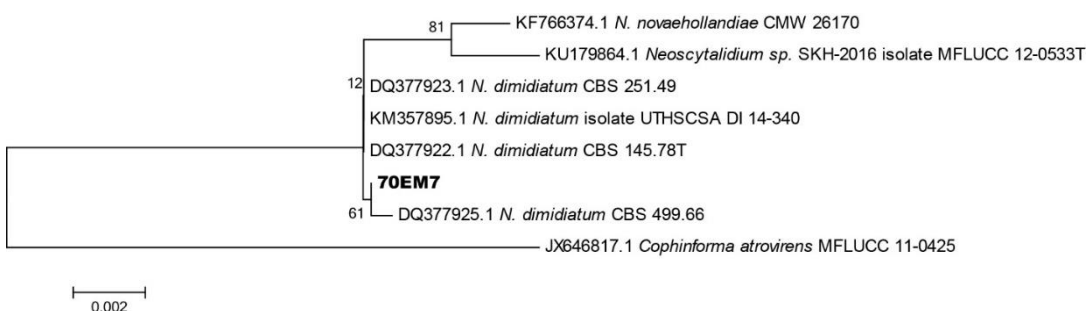




**Figura 8.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Neoscytalidium*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Cophinforma atrovirens* MFLUCC 11-0425 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.



**Figura 9.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Neoscytalidium*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Cophinforma atrovirens* MFLUCC 11-0425 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.



**Figura 10.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Neoscytalidium*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes ITS e LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Cophinforma atrovirens* MFLUCC 11-0425 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.

Análises filogenéticas dos conjuntos de dados ITS, LSU e Tef-1 (Figuras 11, 12 e 13) contendo membros representativos dos gêneros *Biatriospora* e *Nigrograna*, ambos pertencentes a ordem *Pleosporales*, indicam que a cepa 24M3 é distinta das demais espécies, formando um clado separado. Introduzido em 2013 como um gênero monotípico, *Nigrograna* foi descrito para acomodar uma única espécie assexuada, *Nigrograna mackinnonii*, agente causador de eumicetoma na América Latina (GRUYTER et al., 2013). Mais tarde, no ano de 2014, baseados em uma filogenia multilocus, Ahmed e colaboradores demonstraram que esta espécie, *Nigrograna mackinnonii* é filogeneticamente relacionada ao gênero monotípico *Biatriospora*, com a espécie-tipo *Biatriospora marina*, descrita no ano de 1986 (HYDE & BORSE, 1986; AHMED et al., 2014). Desse modo, *Nigrograna* foi considerada sinônimo de *Biatriospora* (AHMED et al., 2014). Seguindo esse conceito, em 2016 foram descritas quatro espécies com o estado sexuada desconhecido, endofíticas de plantas lenhosas das florestas temperadas da República Tcheca e regiões tropicais, incluindo a floresta Amazônica, *Biatriospora antibiotica*, *Biatriospora peruviana*, *Biatriospora carolli* e *Biatriospora yasuniana* (KOLAŘÍK et al., 2016). Ainda em 2016, foram descobertas espécies que produzem estruturas reprodutivas sexuadas que são relacionadas filogeneticamente com *N. Mackinnonii*, entretanto, possuem ascósporos distintos daqueles produzidos por *B. marina* (JAKLITSCH & VOGLMAYR, 2016). Assim, esses autores duvidaram do estudo multilocus realizado por Ahmed e colaboradores em 2014 com *B. marina* e definiram que *Nigrograna* e *Biatriospora* são gêneros distintos (JAKLITSCH & VOGLMAYR, 2016).

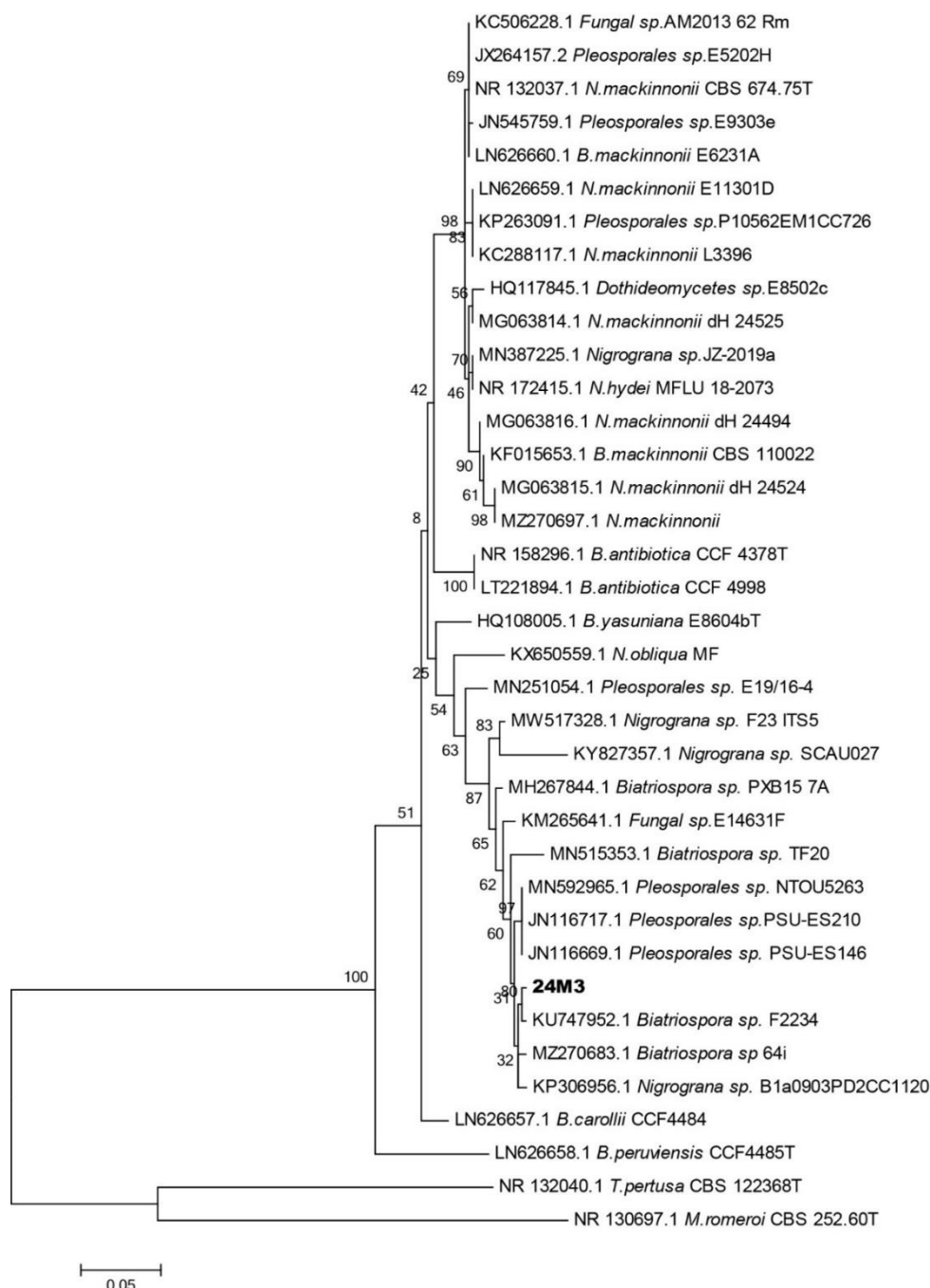
O conceito genérico de Jaklitsch & Voglmayr (2016), foi seguido por Tibpromma e colaboradores em 2017, e introduziram uma nova espécie sexual, *Nigrograna cangshanensis*, vivendo como sapróbica em madeira em estado de

decomposição na China (TIBPROMMA et al., 2017). Em 2018 Kolařík, baseado em estudos filogenéticos utilizando o ITS, demonstrou que as espécies publicadas por Jaklitsch & Voglmayr (2016), Kolařík et al., (2016) e Tibpromma (2017) se agrupam com outras espécies de *Nigrograna*, entretanto formam linhagens filogenéticas distintas, indicando que são espécies distintas, pertencentes ao mesmo gênero (KOLAŘÍK, 2018).

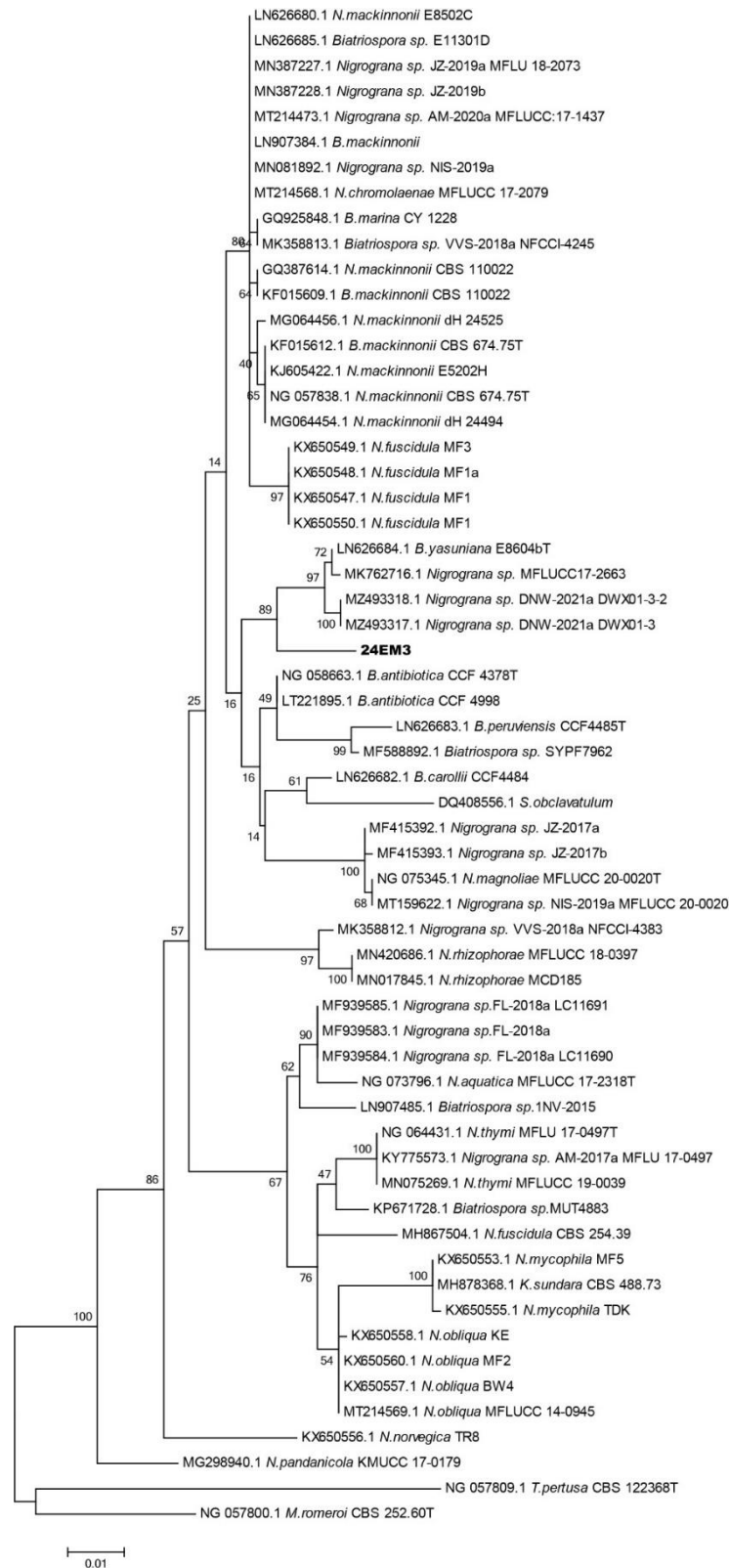
Pertencente a família de fungos *Nigrogranaceae*, a entimologia do gênero *Nigrograna* refere-se ao grãos pretos produzidos pela espécie tipo, *N. mackinnonii*. Com 19 espécies descritas, esse gênero é caracterizado principalmente por picnídios solitários, raramente confluentes e são produzidos na superfície da colônia ou imersos no ágar (GRUYTER et al., 2013; JAKLITSCH & VOGLMAYR, 2016). Essas microestruturas possuem forma globosa a subglobosa ou piriforme, com protuberâncias miceliais septadas marrom-escuras, ostíolos papilíferos de coloração que variam de olivácea a negras-oliváceas e a parede é constituída por células pseudoparenquimatosas. As células conidiogênicas das espécies desse gênero são hialinas, fiáldicas, discretas e produzem conídios de tons sub-hialinos a marrom, asseptatos e elipsoidais (GRUYTER et al., 2013).

*Nigrograna* é distribuída por todo mundo, encontradas em diversos substratos, em sedimentos e esponjas marinhas, geralmente associadas a plantas vasculares angiospermas, e possuem uma maior diversidade nas Américas Central e do Sul, onde podem se comportar como patógenos humanos. Algumas espécies de fungos endofíticos de plantas terrestres também são encontrados em habitats marinhos ou estaurinos, em material vegetal submerso ou a deriva (KOLAŘÍK et al., 2016). Essas espécies são conhecidas como fungos marinhos facultativos e são considerados favoritos para bioprospecção (DEBBAB, ALY & PROKSCH, 2012). O gênero

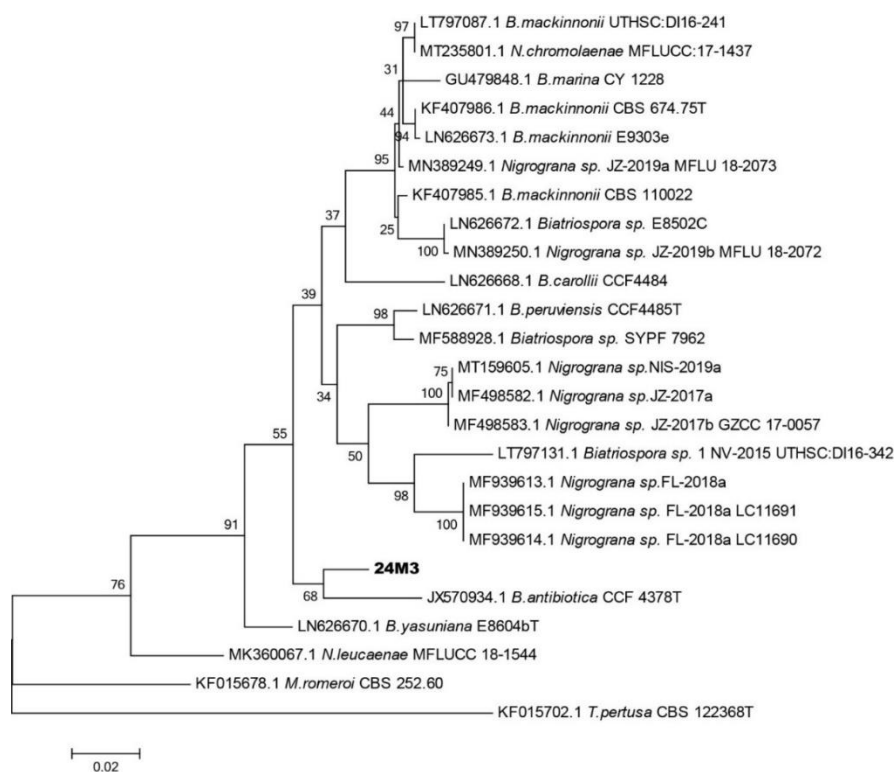
*Nigrograna* possui espécies encontradas em ambos habitats, e é conhecido por produzir metabólitos diversificados extraordinários (STODŮLKOVÁ et al., 2015; SHAW et al., 2015). Algumas espécies de *Nigrograna* são estéreis e produzem conídios estritamente em condições específicas.



**Figura 11.** Árvore filogenética das espécies dos gêneros *Biatriospora* e *Nigrograna*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Trematosphaeria pertusa* CBS 122371 e *Medicopsis romeroi* CBS 252.60 foram usados como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.



**Figura 12.** Árvore filogenética das espécies dos gêneros *Biatriospora* e *Nigrograna*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Trematosphaeria pertusa* CBS 122371 e *Medicopsis romeroi* CBS 252.60 foram usados como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.

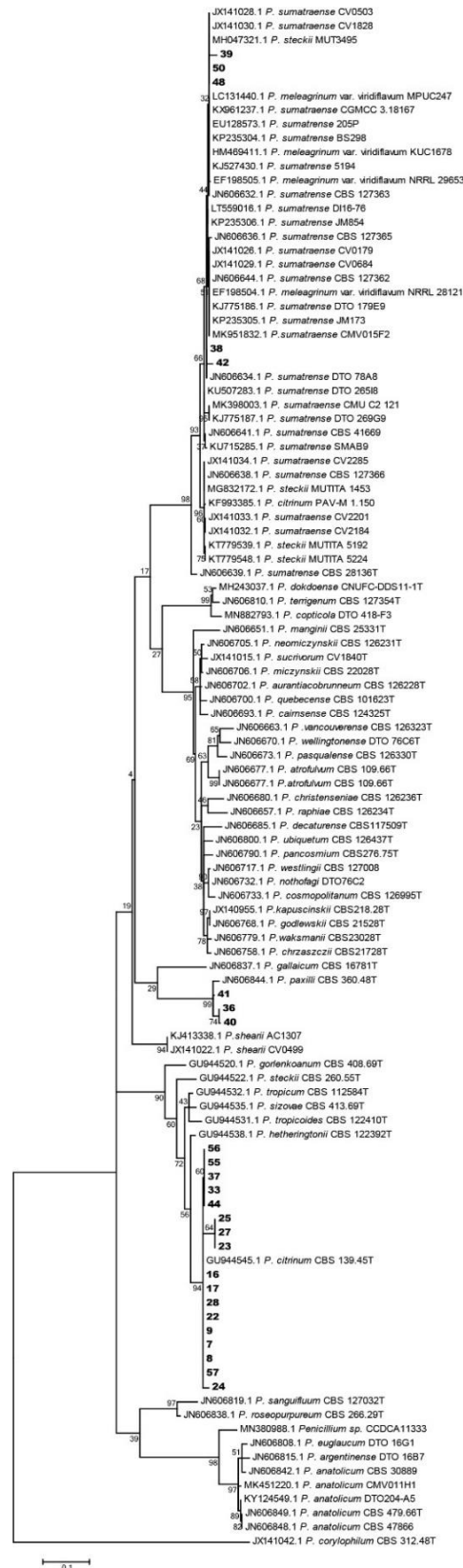


**Figura 13.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Biatriospora* e *Nigrograna*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene Tef-1. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Trematosphaeria pertusa* CBS 122371 e *Medicopsis romeroi* CBS 252.60 foram usados como grupo externo. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.

A relação filogenética dos isolados 7, 33, 38, 40, 41, 48 e 50 com membros da seção *Penicillium Citrina* foi analisada utilizando sequências parciais dos genes *benA* e *CaM* (Figuras 14 e 15). De acordo com a filogenia molecular os isolados 7 e 33 são filogeneticamente relacionados com *Penicillium cintrinum* e os isolados 40 e 41 com *Penicillium paxilli*. *P. citrinum* possui ampla distribuição mundial, considerado uma das formas de vida eucariota mais comum no planeta com diversas adaptações ecológicas (PITT, 1979). Suas principais características *in vitro* é crescimento em CYA a 37 °C e produzir pigmento solúvel amarelo alaranjado em YES. Os isolados 7 e 33 apresentam características semelhantes. Além disso, os isolados 7 e 33 similares o tipo da espécie de *P. citrinum* possuem taxas de crescimentos similares em meios de cultura após 7 dias de crescimento. A espécie *P. paxilli* pode ser distinguido de *P.*

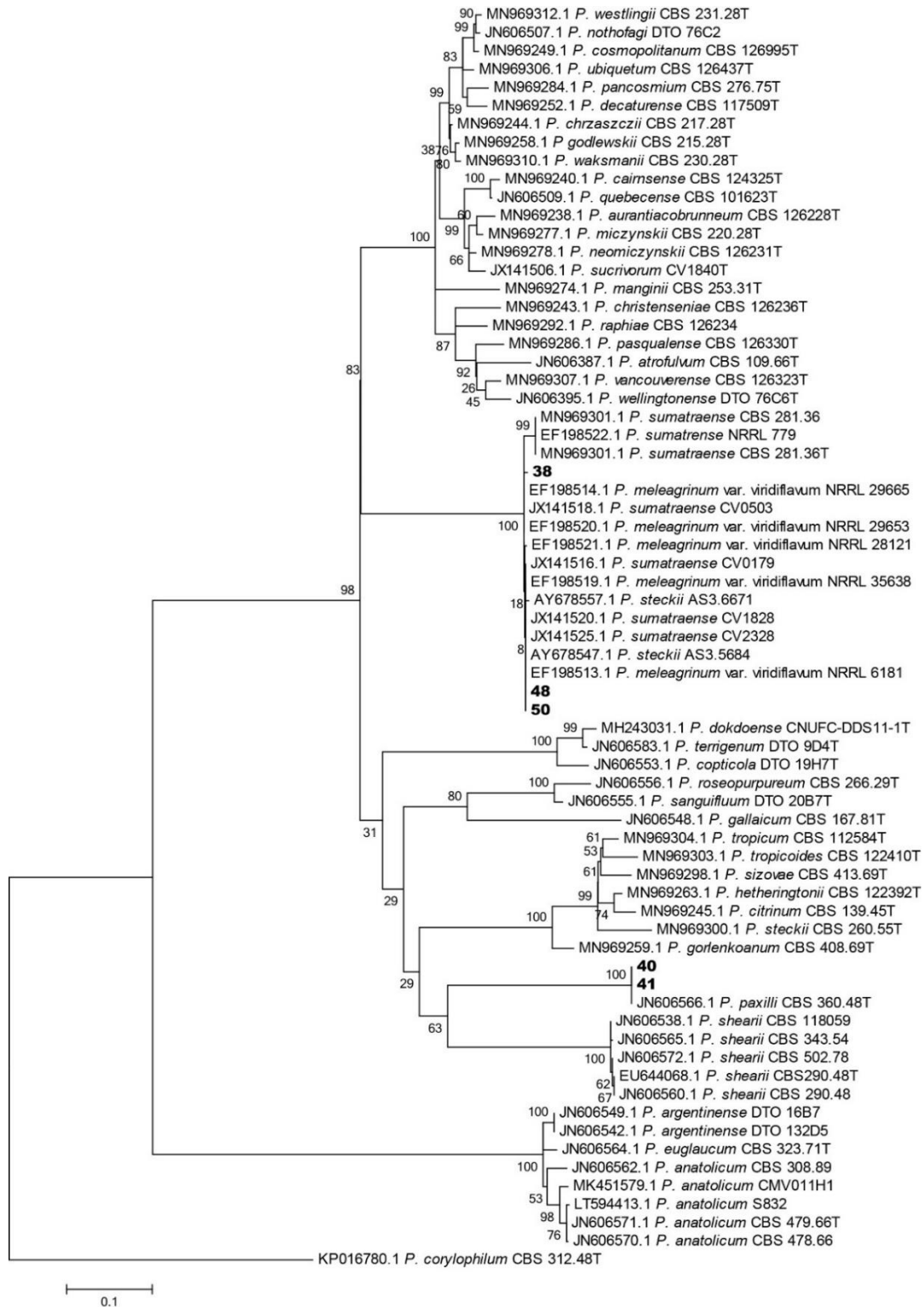
*citrinum* por sua incapacidade de crescer em 37 °C (HOUBRAKEN, et al 2011). Os isolados 40 e 41 também não cresceram a 37 °C, e possuem outros caracteres similares ao tipo da espécie de *P. Paxilli*, como produção de exsudato em CYA, ausência da produção de ácido em CREA e taxas de crescimento semelhantes nos meios de cultura. Com relação as características micromorfológicas, o tamanho das métulas e fiálides diferiram, as linhagens 40 e 41 possuem métulas maiores e fiálides menores quando comparada com o tipo da espécie de *P. paxilli*. Essas diferenças conferem plasticidade a espécie, uma vez que os isolados 40 e 41 estão evoluindo independentemente a milhares de ano do tipo da espécie *P. Paxilli*. Contudo, filogeneticamente são 100% idênticos, além disso a maioria dos caracteres morfológicos são semelhantes, indicando que *P. paxilli* é um registro de ocorrência para a restinga brasileira de Guaibim

Já os isolados 38, 48 e 50 possuem relações filogenéticas com *Penicillium sumatrense*. Morfologicamente, os isolados 38, 48 e 50 diferem de *P. sumatrense*. Possuem a maioria dos conidióforos biverticilado, ocasionalmente mono e terverticilado, estipes com paredes lisas e tamanho entre 48-202 (-240) x 1-2 µm; número de métulas 2-3, com tamanho (-9)10-22 (-25) x 2-3 µm ( $12.2 \pm 3.6$  x  $2.3 \pm 0.42$ ), comprimento das fiálides entre 5-8 (-9) x 1-2 µm ( $6.3 \pm 1.5$  x  $1.9 \pm 0.21$ ). Por outro lado, o tipo da espécie de *P. sumatrense* possui conidióforos apenas biverticilados, ocasionalmente com um ramo adicional, estipes de parede lisa a levemente rugosa, com comprimento de até 200 x 2.0-3.0 µm; número de métulas de 3 a 6 com tamanho entre (10-) 12-16 x 2.0-3.0 µm; comprimento das fiálides entre 8.0-10 x 2.0-3.0µm. Quanto as características macromorfológicas são distintos também, o tipo da espécie de *P. sumatrense* possui taxas de crescimento bem maiores em CYA e produção de pigmento solúvel.



**Figura 14.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Citrina*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene BenA. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium corylophilum* CBS 31248 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representa registro de ocorrência e novas espécies.

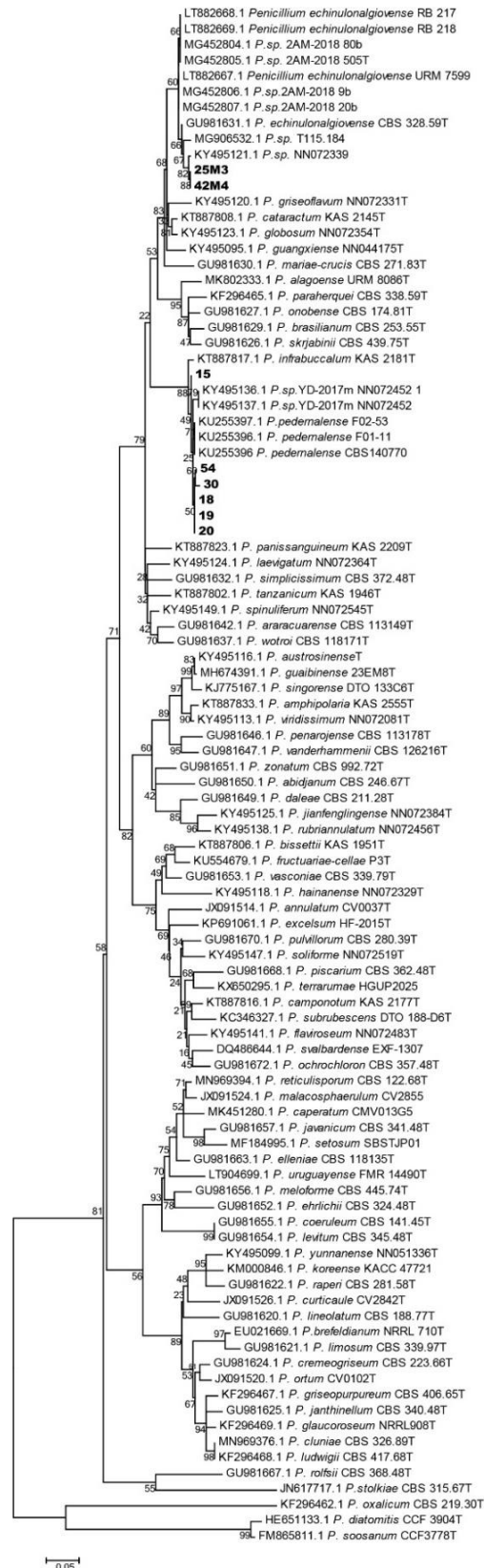




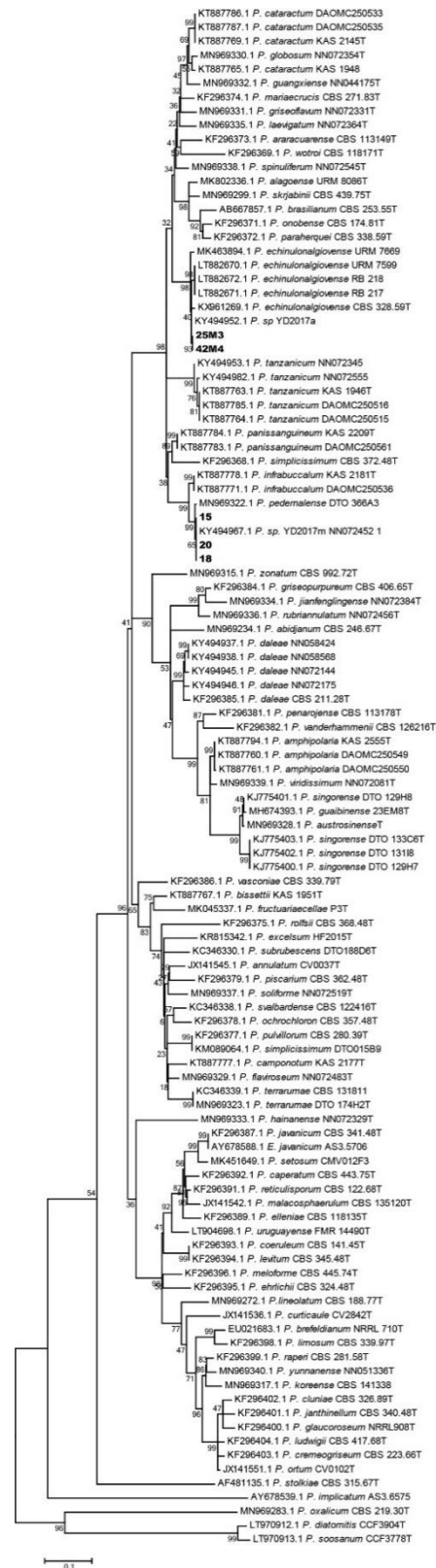
**Figura 15.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Citrina*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene CaM. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium corylophilum* CBS 31248 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representa registro de ocorrência e novas espécies.

Resultados das análises filogenéticas construídas a partir dos conjuntos de dados de *benA* e *CaM* (Figuras 16, 17 e 18) indicam que os isolados 25M3 e 42M4 são relacionados filogeneticamente com *Penicillium echinulonalgiovense*, entretanto, formam um clado distinto. *P. echinulonalgiovense* foi descrito pela primeira vez em 1956, e recentemente foi isolado como endófito de bromélia na Caatinga (FREIRE et al., 2020). Os caracteres morfológicos das linhagens 25M3 e 42M4 foram comparados com os caracteres do registro de ocorrência, e possuem diferenças tanto macromorfológicas, bem como micromorfológicas.

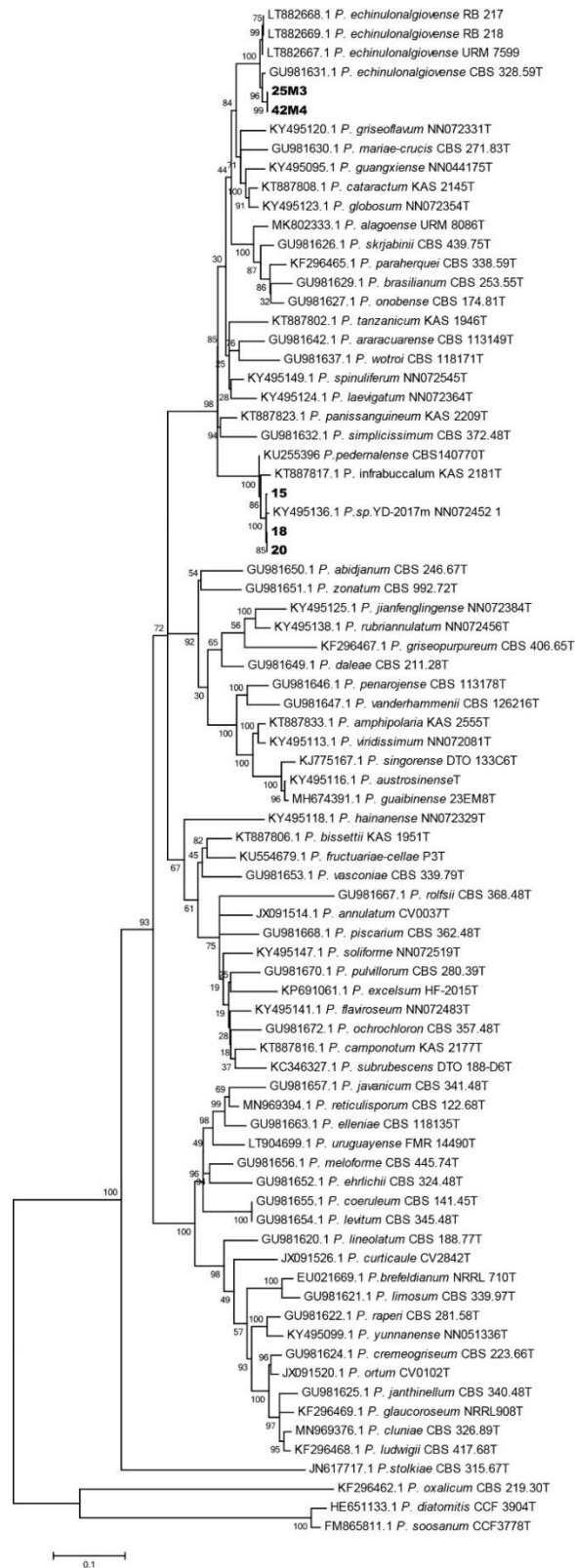
De acordo com as filogenias (Figuras 16, 17 e 18), os isolados 15, 18 e 20 são filogeneticamente diferentes e se agrupam próximo das espécies *Penicillium pedernalense* e *Penicillium infrabuccalum*. Além disso, diferem morfológicamente, como nas taxas de crescimento das colônias nos meios CYA 25 e 30 °C, YES, OA CREA, DG18 e CYAS, na quantidade de produção de ácido e nos tamanhos dos caracteres microscópicos.



**Figura 16.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Lanata-divaricata*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene BenA. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium stolckiae* CBS 31567 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representam novas espécies.

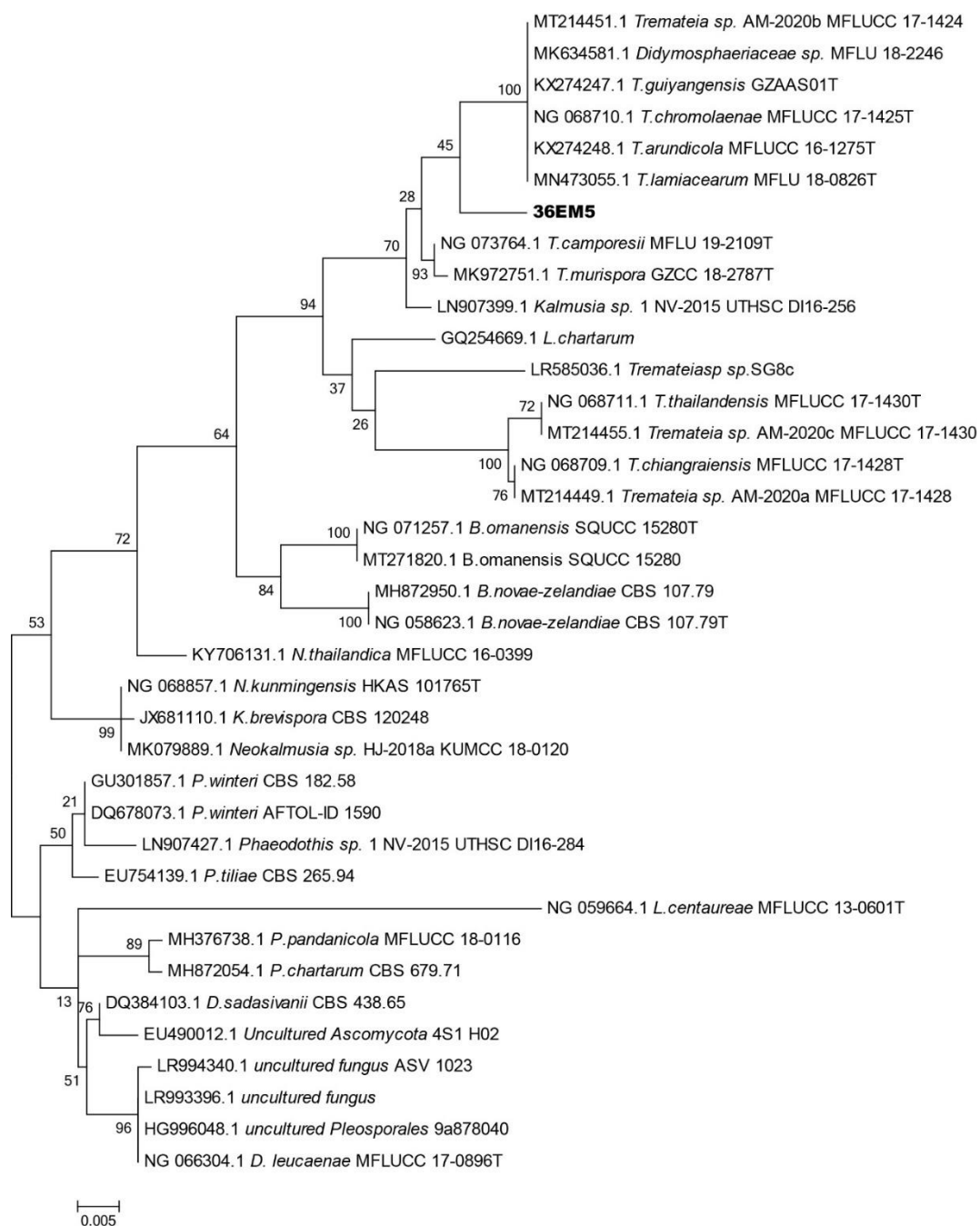


**Figura 17.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Lanata-divaricata*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene *CaM*. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium stolckiae* CBS 31567 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representam novas espécies.

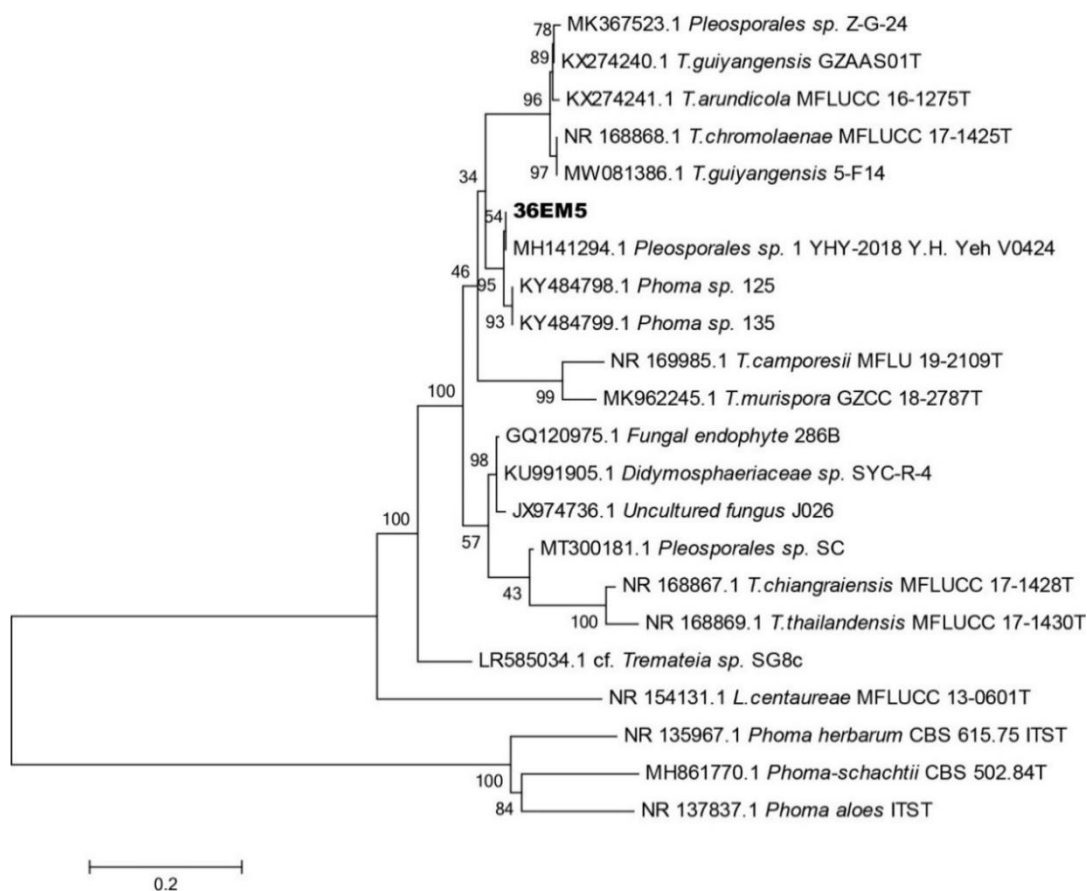


**Figura 18.** Árvore filogenética das espécies da seção *Penicillium Lanata-divaricata*, baseado no alinhamento múltiplo das seqüências parciais dos genes BenA e CaM. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. *Penicillium stolkiaie* CBS 31567 foi usado como grupo externo. Nome em negrito indica isolados que representam novas espécies.

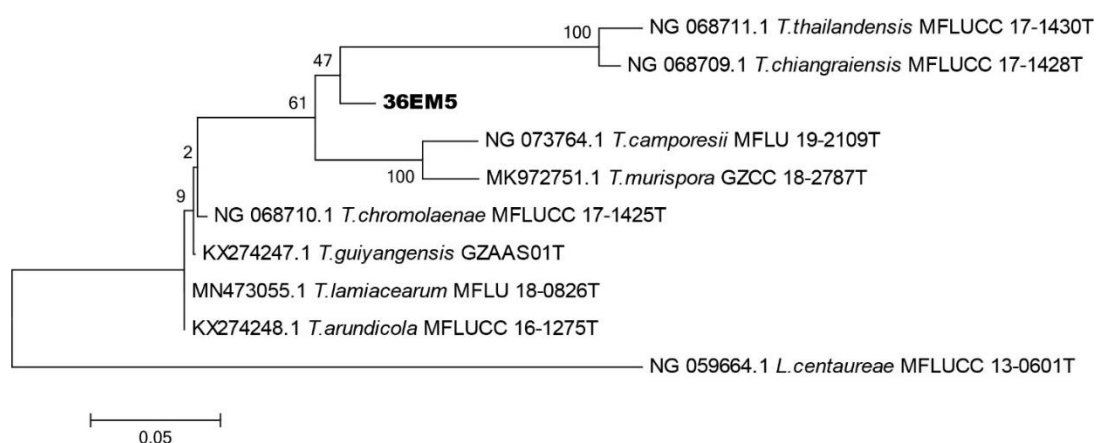
As filogenias feitas com base nos dados de sequências de ITS e LSU da linhagem 36EM5 com espécies do gênero *Tremateia* (Figuras 19, 20 e 21) resultaram em árvores com topologias semelhantes. Na filogenia de único gene, ITS (Figura 19), o isolado 36EM5 forma um clado distinto com uma cepa ainda desconhecida de *Pleosporales* sp. 1YHY-2018 Y. H. Yeh V0424 e dois isolados identificados como pertencentes ao gênero *Phoma*. Na filogenia utilizando dados da região gênica do LSU e na filogenia combinada do ITS e LSU (Figuras 20 e 21), o isolado 36EM5 forma um clado distinto das demais tipos das espécies desse gênero. Entretanto, duas espécies de *Tremateia*, *Tremateia lamiacearum* e *Tremateia halophila* não possuem sequências de ITS disponíveis no Genbank. Mas, uma árvore baseada nas sequências parciais da pequena subunidade ribossomal, 18 S, mostra que essas duas espécies são distantes filogeneticamente do grupo de espécies que são mais próximas da cepa 36EM5 (Figura 22). O gênero *Tremateia* foi estabelecido em 1995 por Kohlmeyer e colaboradores como um gênero marinho facultativo. *T. halophila* foi descrita como espécie tipo do gênero (HYDE et al., 2020; MAPOOK et al., 2020). Entretanto, em 2016 foi constatado que esse gênero ocorre também em habitat terrestre (HYDE et al., 2016). Todas as espécies conhecidas desse gênero possuem a micromorfologia assexuada indeterminada (HYDE et al., 2016; FENG, ZHANG & LIU, 2019; HYDE et al., 2020; MAPOOK et al., 2020).



**Figura 19.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene ITS. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.

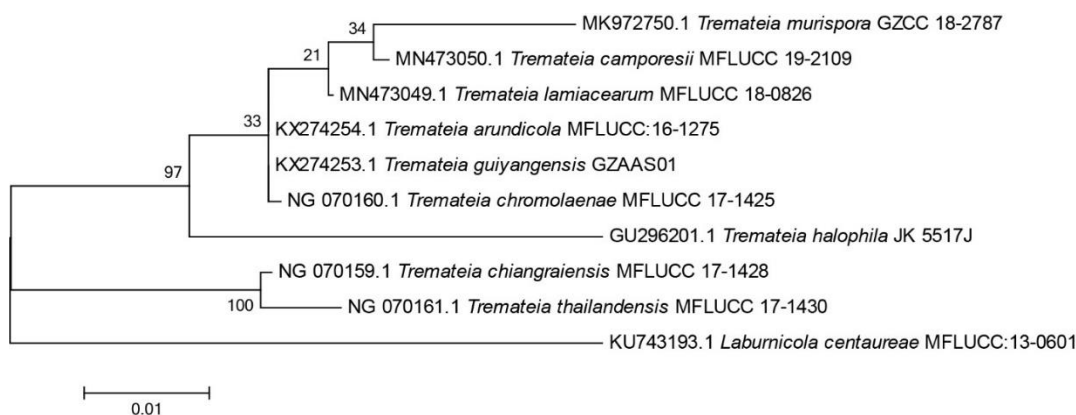


**Figura 20.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.



**Figura 21.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais dos genes ITS e LSU. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.





**Figura 22.** Árvore filogenética das espécies do gênero *Tremateia*, baseado no alinhamento múltiplo das sequências parciais do gene 18 S. A reconstrução filogenética foi realizada pelo método da máxima verossimilhança utilizando 100 bootstraps. A escala representa o número de substituições. Nome em negrito indica isolado que representa nova espécie.

### 3.3 Taxonomia

De acordo com os dados filogenéticos, os isolados 124EM2, 15, 18, 20, 25M3, 42M4, 24M3, 36EM5, 70EM7, 11EM7 e 13EM3, pertencentes a diferentes gêneros estão em clados distintos nas filogenias e diferem fenotipicamente das espécies relacionadas filogeneticamente. Com base nesses dados, descrevemos 7 espécies novas para os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Tremateia*, *Nigrograna*, *Neoscytalidium* e *Latorua*. As análises filogenéticas indicam que os isolados 7, 33, 40, 41, 1EM1 e 1EM4 são registros de ocorrência para os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

**Descrição morfológica de *Aspergillus* sp. IS1EM1 e *Asperillus* sp. IS1EM4, seção *Terrei*** (Figura 23).

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* CYA: 38-40; CYA 37°C: ; MEAbI: 18-28 ; OA: 31-41; CREA: 21-26; YES: 36-40;

*Caracteres das colônias:* **CYA 25 °C, 7 d:** colônias flocosa, radial e concentricamente enrugada, micélio branco (No. 263), esporulação amarelo esverdeado brilhante (No. 98), amarelo esverdeado vivo (No. 97), sem exsudato, pigmento solúvel amarelo

laranja forte (No. 68), reverso laranja profundo (No. 51), amarelo laranja profundo (No. 69). **MEAbI** 25 °C, 7 d: colônias flocosa, concentricamente enrugada, micélio branco (Nº 263), esporulação moderado amarelo alaranjado (Nº 71), rosa amarelado (Nº 29), laranja claro amarelo (No. 70), amarelo acinzentado (No. 90) sem exsudado, pigmento solúvel amarelo esverdeado vívido (No. 97), amarelo vivo (No. 82), reverso amarelo laranja profundo (No. 69), amarelo forte (No. 84), amarelo laranja forte (No. 68), amarelo laranja brilhante (No. 67), marrom forte (No. 55) e amarelado escuro (No. 78). **OA** 25 °C, 7 d: colônias flocosa, plana, micélio branco (No. 263), esporulação moderada amarelo alaranjado (No. 71), amarelo pálido (No. 89), exsudato claro, pigmento solúvel amarelo laranja forte (No. 68) e laranja forte (No. 51). **CREA** 25 °C, 7 d: colônias com esporulação moderada, sem ácido. **YES** 25 °C, 7 d: colônias flocosa, concentricamente e aleatoriamente enrugada, micélio branco (Nº 263), esporulação amarelo brilhante (Nº 83), amarelo claro (Nº 86), não exsudato, pigmento solúvel amarelo laranja forte (No. 68), reverso amarelo laranja profundo (No. 69), marrom amarelado forte (No. 74), amarelo laranja brilhante (No. 67) e amarelo laranja moderado (No. 71).

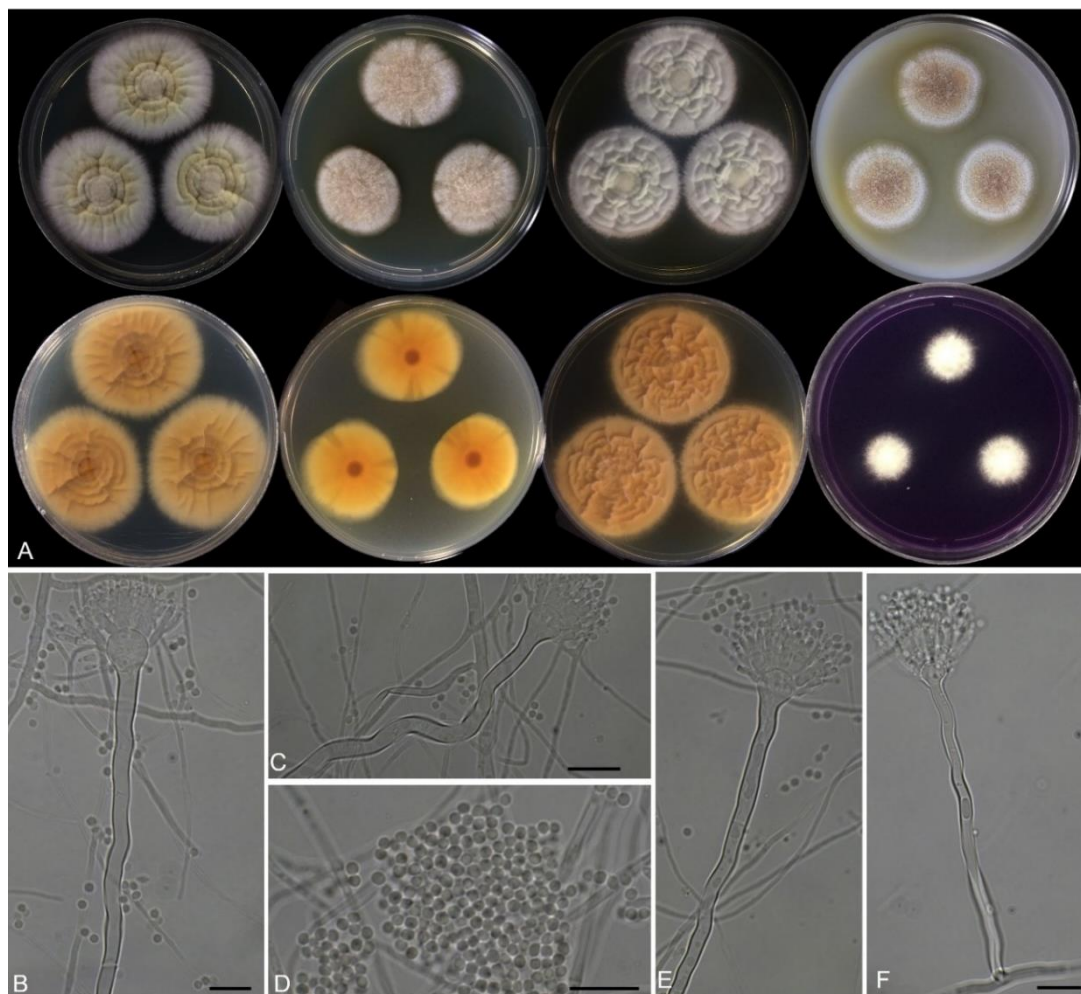
**Descrição morfológica de *Aspergillus* sp. IS124EM2, seção *Terrei* (Figura 24).**

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* CYA: 28; CYA 37°C: 31; CY20S: 32; OA: 20; CREA: 20; MEAbI: 17; YES: 28; CZ: 18;

*Caracteres das colônias:* **CYA** 25 °C, 7 d: colônias flocosas, radial e concentricamente enrugada, micélio branco (No. 263), esporulação amarelo esverdeado vívido (No. 97), cinza amarelado (No. 93) exsudato às vezes claro, pigmento solúvel amarelo brilhante (No. 83), reverso marrom amarelado profundo (No. 75), amarelo brilhante (No. 83). **CYA** 37 °C, 7 d: colônias as vezes com exsudato claro, pigmento solúvel amarelo brilhante (No. 83). **CY20S** 25 °C, 7 d: colônias

flocosas, radialmente e irregularmente enrugada, micélio branco (No. 263), esporulação rosa pálido (No. 7), branco rosado (No. 9), não exsudado, pigmento solúvel amarelo brilhante (Nº 83), reverso amarelo vívido (Nº 82) para amarelo brilhante (Nº 83). **OA** 25 °C, 7 d: colônias flocosas, micélio branco (No. 263), esporulação cinza amarelado (No. 93), exsudato claro, pigmento solúvel amarelo forte (No. 84). **CREA** 25 °C, 7 d: colônias com esporulação moderada, sem ácido. 25 °C, 7 d: colônias flocosas, planas, micélio branco (Nº 263), esporulação branco rosado (Nº 9), branco amarelado (Nº 92), sem exsudato, sem pigmento solúvel, reverso marrom amarelado forte (No. 74). **YES** 25 °C, 7 d: colônias flocosas, irregularmente enrugada, micélio branco (nº 263), esporulação branco amarelado (nº 92), branco (nº 263), sem exsudato, pigmento solúvel amarelo vivo (Nº 82), reverso amarelo brilhante (Nº 83), amarelo laranja forte (Nº 68). **CZ** 25 °C, 7 d: colônias flocosas com áreas submersas, micélio amarelo esverdeado claro (No. 101), esporulação amarelo profundo (No. 85), sem exsudato, sem pigmento solúvel, reverso amarelo esverdeado claro (No. 101).

*Micromorfologia:* bisseriado, cabeça conidial colunar, estipes lisa, sinuosa, não septada e hialina (52-) 60-195 x 2- 4.5 µm. Vesículas variam de espatuladas a piriformes, algumas vezes globosas, 8-15 x 6-13 µm; conídios lisos a levemente rugosos, globosos e subglobosos, 2.0 x 2.0 (-2.5) µm.



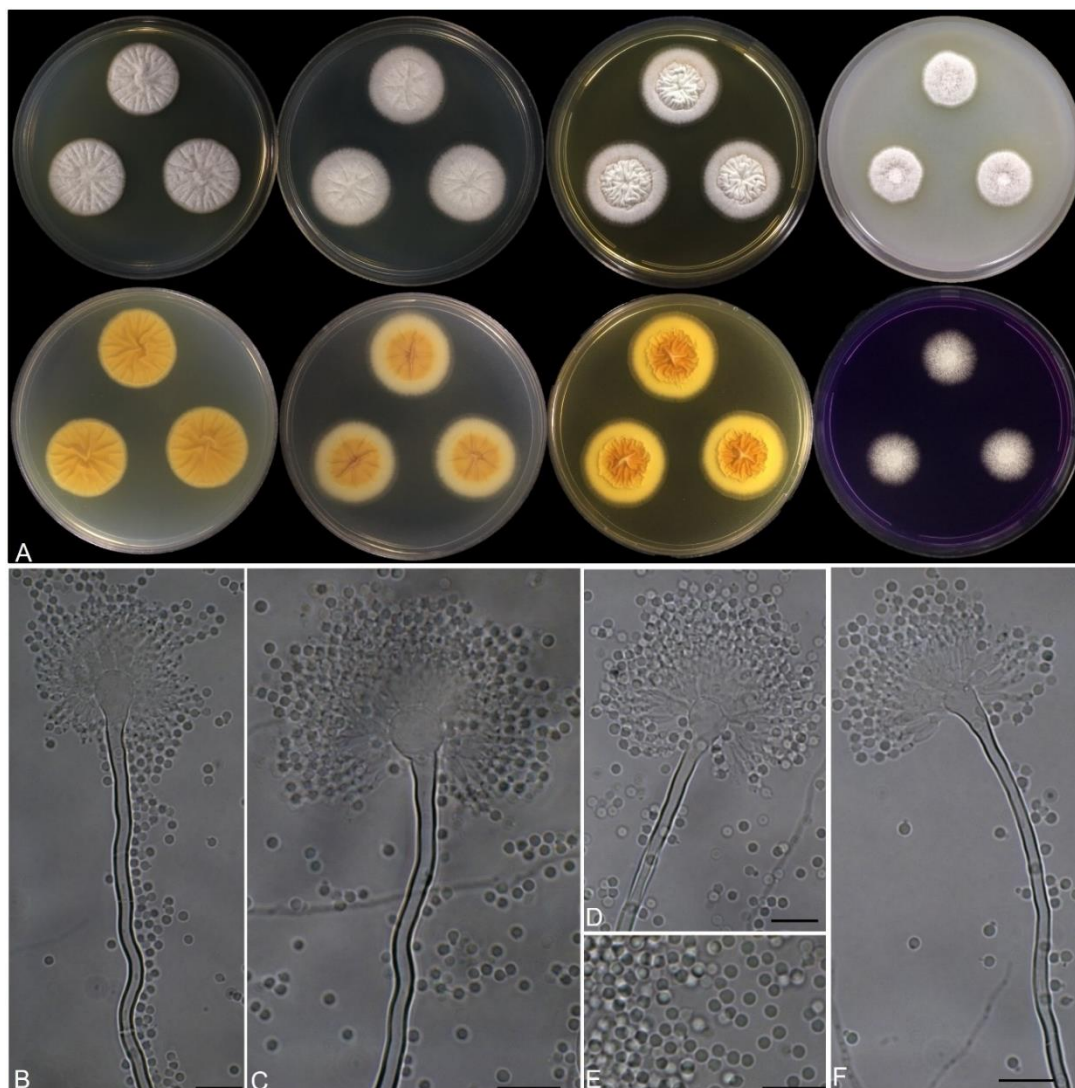
**Figura 23** . A. *Aspergillus* sp. 1EM1 e *Aspergillus* sp. 1EM4, após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, MEAbI, YES e verso de CREA. B, C, E, F. Conidióforos. D. Conídios. Barras de escalas = 10 μm.

**Descrição morfológica de *Lactoria* sp. IS11EM3 e *Lactoria* sp. IS13EM3** (Figura 25).

*Diâmetro das colônias, 14 d (em mm):* BDA: 26-34; MEA: 34-35; OA: 31-37;

*Caracteres das colônias:* **MEA** 25 °C, 14 d: colônias radialmente e concentricamente sulcadas no reverso, com micélio aéreo plano moderado cinza claro (No. 264) no centro e cinza médio (No. 265) na margem, reverso preto (No 267), com margens lisas e uniformes. **BDA** 25 °C, 14 d: colônias radialmente sulcadas, com micélio aéreo plano moderado cinza esverdeado claro (Nº 154) e reverso preto (Nº 267), com margens lisas e uniformes. **OA** 25 °C, 14 d: colônias planas, micélio aéreo plano e

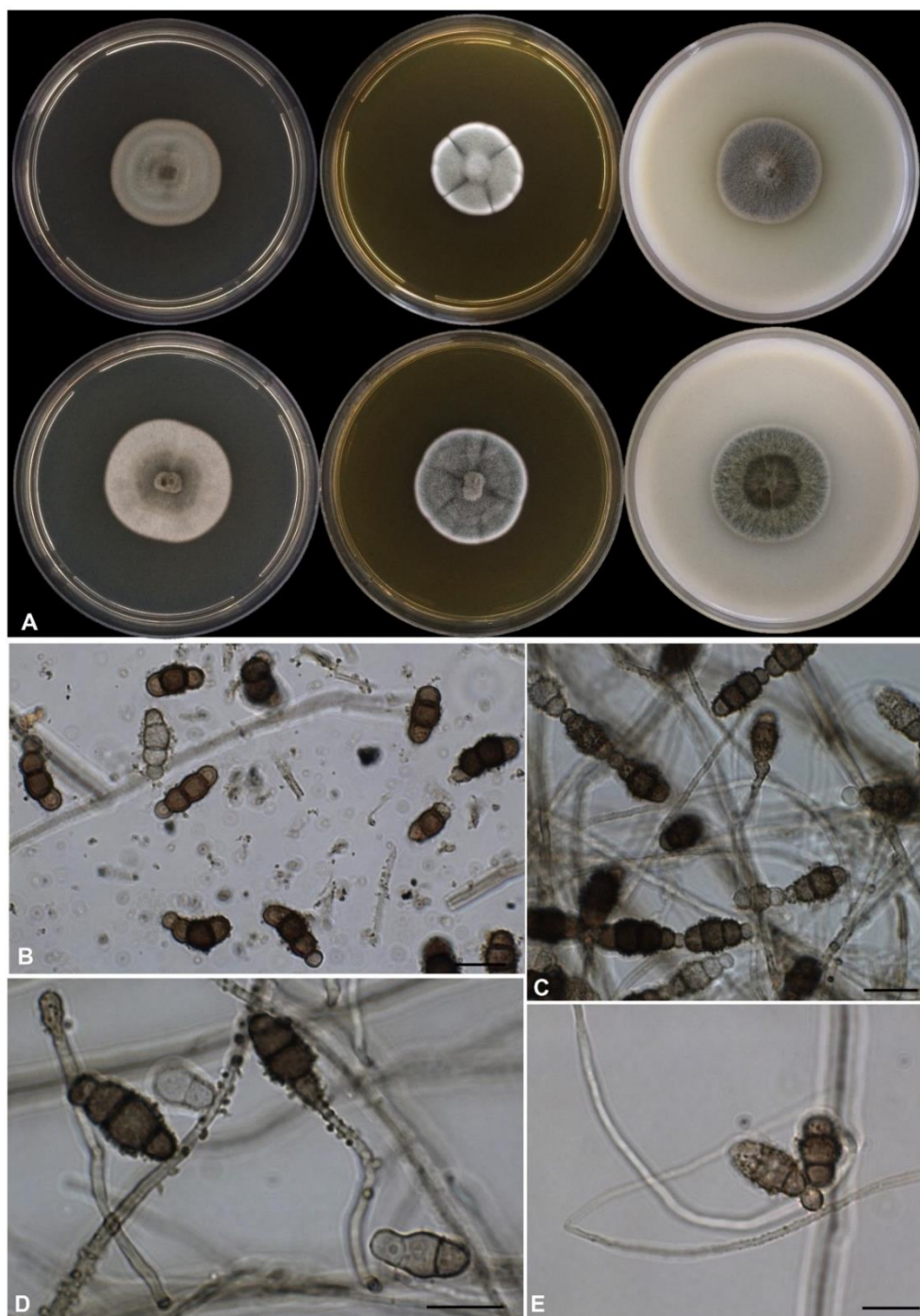
denso cinza claro (No. 266) no centro e preto (No. 267) na margem, pigmento solúvel moderadamente vivo amarelo esverdeado (No. 97). com margens lisas e uniformes.



**Figura 24.** A. *Aspergillus* sp. 124EM2, após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, CY20S, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, CY20S, YES e reverso de CREA. B, C, D, F. Conidióforos. E. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.

**Micromorfologia:** : Micélio imerso a superficial, marrom claro, levemente rugoso, septado. Conidióforos marrom claros, lisos a levemente rugosos, eretos, flexíveis, septados (4–) 6–54 (–71) x 1–3 µm. Células conidiogênicas integradas, clavadas, eretas, marrom claras, lisas a levemente rugosas, polibásticas, 4–11 × 3–6 µm. Conídios acrógenos, marrons, secos, fusóide-elipsoidal com célula basal obtusamente arredondado (3–6 µm diam) e pequena célula apical (3–5 µm diam) que colapsa

durante a conidiogênese, tornando-se cupulado; segunda e terceira células da base 4–8  $\mu\text{m}$  diam, célula subapical 4–7  $\mu\text{m}$  diam, conídios (3–) 4-septados, constritos nos septos, mais largos na segunda célula da base, que é marrom mais escuro do que outras células, conídios 13–21 (–24)  $\times$  6–9  $\mu\text{m}$ .



**Figura 25.** A. *Lactoria* sp. IS11M3, da esquerda para direita, primeira fila, verso MEA, BDA, OA; segunda fila, verso *Lactoria* sp. IS13EM3 em MEA, BDA, OA após 14 dias em meios de cultura a 25 °C; B. Esporulação em OA; C-E. Células conidiogênicas que originam as cadeias conidiais. Barras de escalas = 10  $\mu\text{m}$ .

**Descrição morfológica de *Neoscytalidium* sp. IS70EM7** (Figura 26).

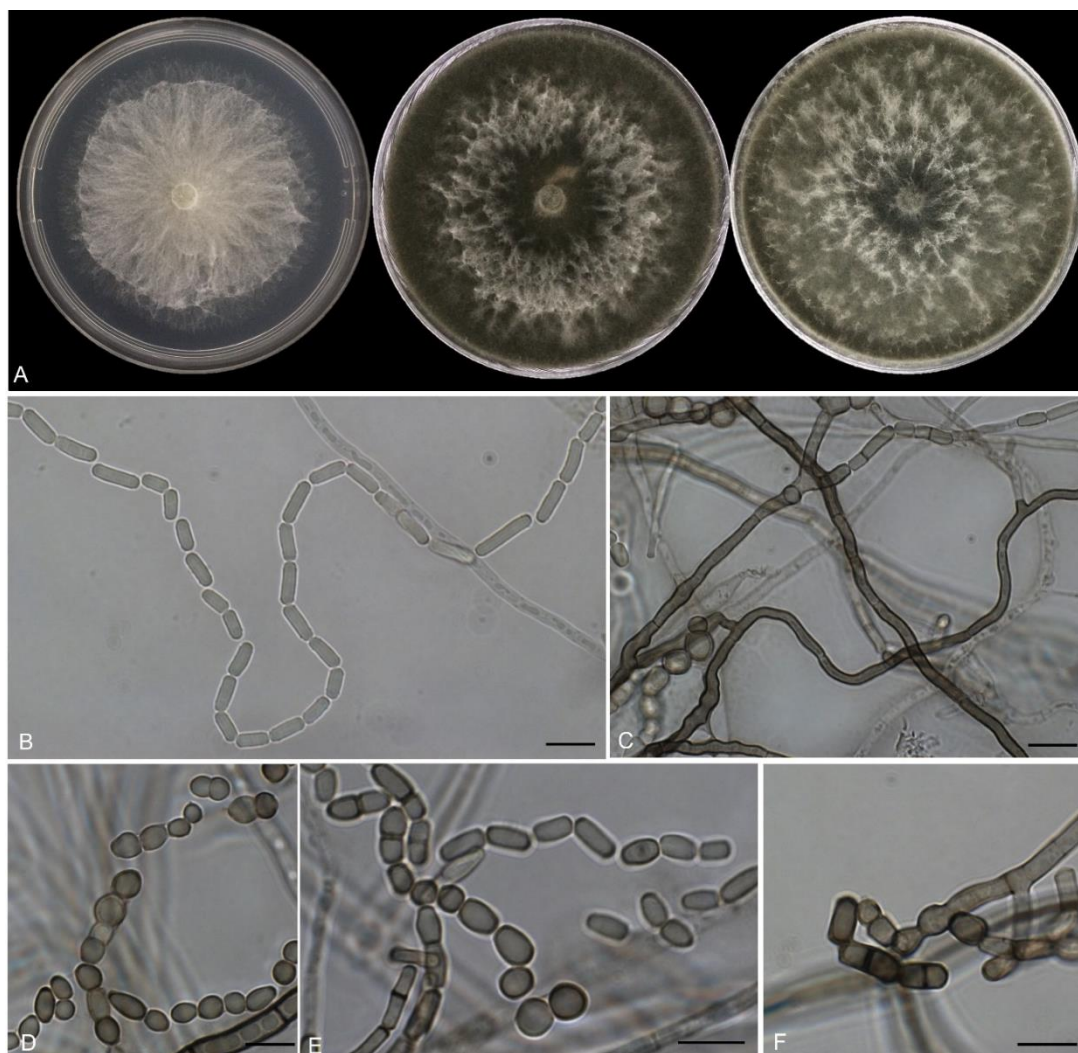
*Diâmetro das colônias, 24 h (em mm):* BDA: 18; MEA: 16;

*Diâmetro das colônias, 48 h (em mm):* BDA: 65; MEA: 60;

*Caracteres das colônias: BDA 25 °C:* colônias com crescimento rápido, cobrindo a superfície de uma placa de 85 mm e 90 mm em 3 dias, o micélio começou a crescer como colônia branca e oliva no centro, lanosa, e então fez a transição e finalmente tornou-se efusa, colônia peluda ou lanosa, cinza escuro para cinza claro em 7 dias.

**MEA 25 °C:** colônias com crescimento rápido, cobrindo a superfície de uma placa de 85 mm e 90 mm em 3 dias, o micélio começou a crescer como colônia hialina e marrom moderada no centro, lanosa e então transitou e finalmente tornou-se efusa, peluda ou lanosa cinza escuro em 7 dias.

*Micromorfologia:* Morfologia sexual: Indeterminado. Conidióforos reduzidos a células conidiogênicas. Conídios elipsóides a ovóides, em forma de bastonete ou de formato redondo, hialino tornando-se marrom e 2 septos na maturidade, 8-13 (-14)x 4-6 (-7). Hifas ramificados, septadas, marrons e desarticulados em artrósporos septados algumas vezes.



**Figura 26.** A. *Neoscytalidium* sp. IS70EM7, da esquerda para direita, verso MEA (48 h), MEA (7 d) BDA (7 d) a 25 °C;. B. Arthroconídios contínuos; C. Hifas septadas e marrom escuras; D-F. Formas de conídios. Barras de escalas = 10 µm.

**Descrição morfológica de *Nigrograna* sp. IS24M3 (Figura 27).**

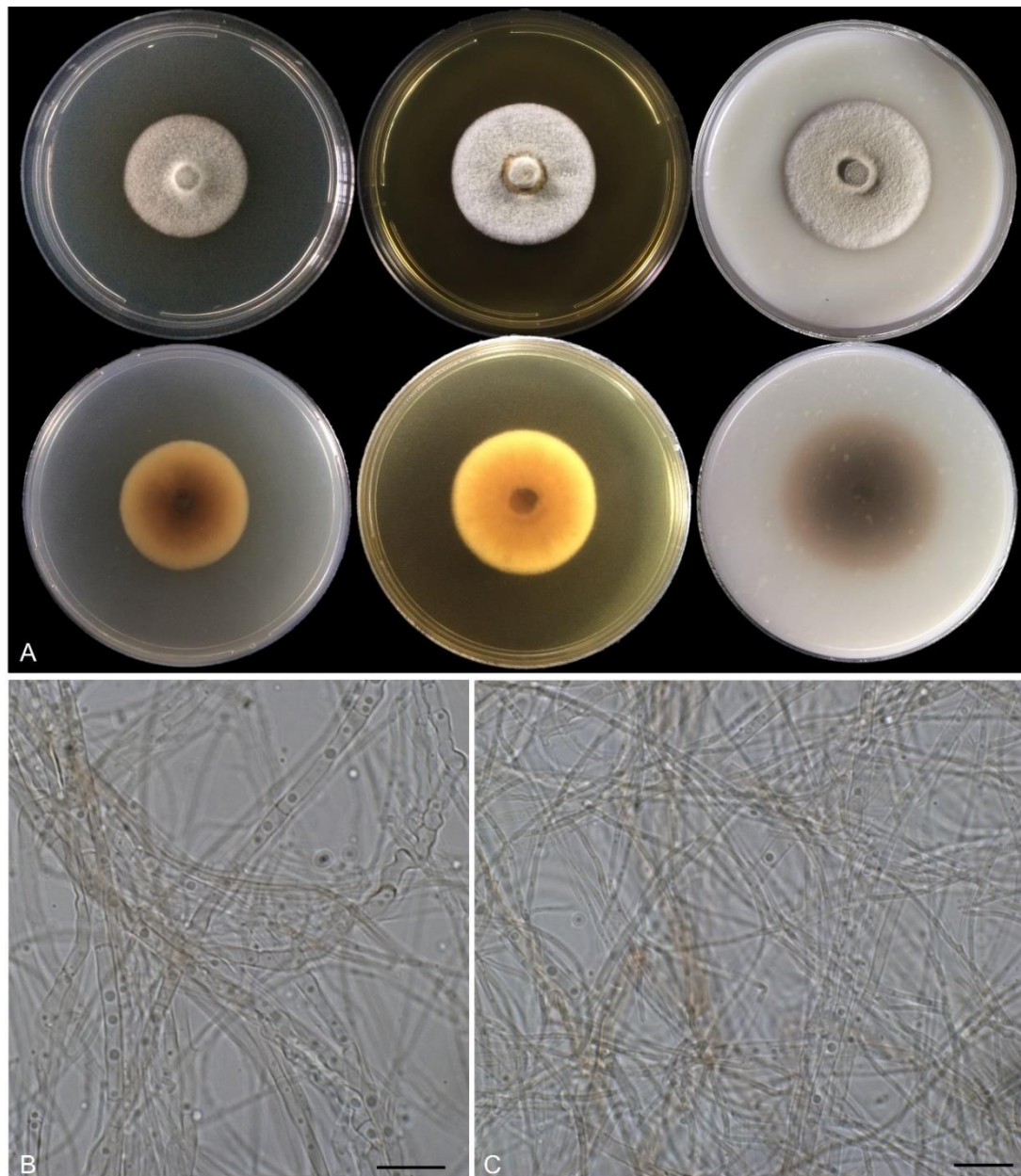
*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* BDA: 21; MEA: 18; OA: 22;

*Diâmetro das colônias, 14 d (em mm):* BDA: 39; MEA: 34; OA: 42;

*Caracteres das colônias:* **MEA** 24 °C, 14 d: colônias cinza claro (ISCC-NBS No. 264), planas, flocosas com parte central empilhada, pigmento solúvel amarelo laranja brilhante moderado (No. 67), reverso em marrom escuro (Nº 59) no centro e marrom claro (Nº 57) na margem. **PDA** 24 °C, 14 d: colônias cinza claro (No. 264) em branco



(No. 263), planas, flocosa para lanose, nenhum pigmento solúvel, marrom claro reverso (No. 57). OA 24 °C, 14 d: colônias leve cinza (No. 264), planas, flocosas, sem pigmento solúvel, reverso marrom moderado (No. 58) a marrom escuro (No. 59).



**Figura 27.** A. *Nigrograna* sp. IS24M3, após 14 dias em meios de cultura a 24 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso MEA, BDA, OA; segunda fila, reverso de MEA, BDA, OA. B, C. Micromorfologia em MEA, depois de 14 d. Barras de escalas = 10 µm.

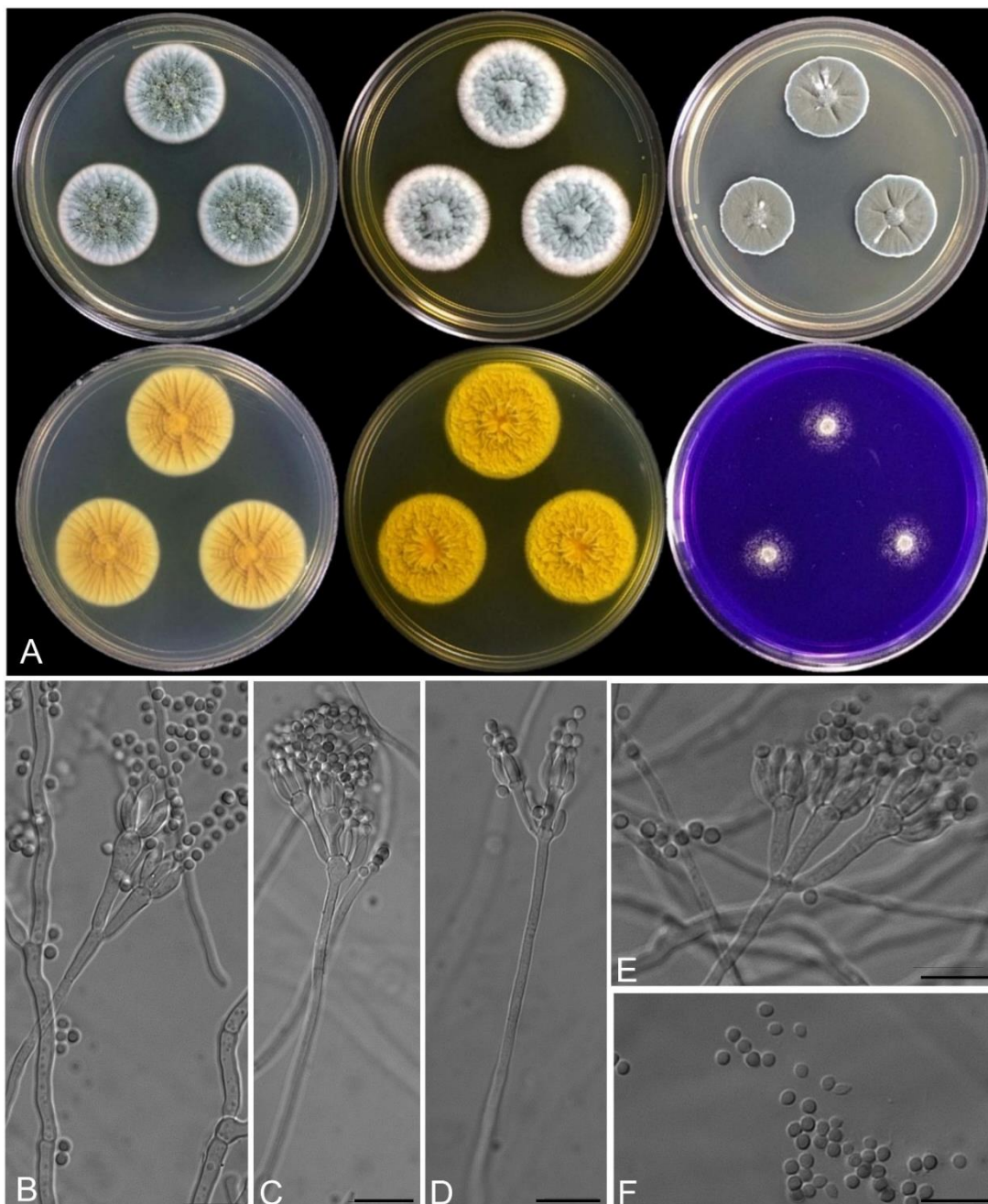
**Descrição morfológica de *Penicillium* sp. IS7 e *Penicillium* sp. IS33, seção *Citrina*** (Figura 28).

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* CYA 29; CYA 30 °C 22–26; CYA37 °C 12;

MEAb1 21–23; YES 21–32; CREA 18–19;

*Caracteres das colônias:* **CYA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, concentricamente e radialmente sulcadas, margens baixas, estreitas a largas (2–4 mm), inteiras, micélio branco; textura velutinosa a flocosa; esporulação moderada a densa; conídio em massa cinza médio a cinza (1E1–3E1); pigmento solúvel amarelo brilhante, exsudato algumas vezes presente claro e amarelo; reverso marrom dourado a marrom claro (5D7–5D5) no centro, amarelo acizentado (4B4) na margem. **MEAb1** 25 °C, 7 d: colônias baixas, levemente levantadas no centro, radialmente sulcadas, margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras, micélio branco, textura velutinosa com áreas flocosas, esporulação densa, conídio em massa oliva a marrom oliva (3F3 – 4F4); pigmento solúvel e exsudato ausente; reverso laranja claro a acinzentado (5A4 – 5B6). **YES** 25 °C, 7 d: colônias baixas, levantadas no centro, irregularmente sulcadas, margens baixas, estreitas (2 mm), inteiras, micélio branco, textura velutinosa com áreas flocosas, esporulação densa, conídio em massa cinza claro a cinza médio (1D1–1E1); pigmento solúvel amarelo alaranjado, exsudato ausente; reverso amarelo acinzentado a dourado (4C5 – 4C6). **CREA** 25 °C, 7 d: pouco crescimento das colônias, produção de ácido ausente.

*Micromorfologia:* esclerócio ausente. Conidióforos simetricamente biverticilados, 37,5% possuem ramos subterminais; estipes lisas 29–250 (–331) x 2,0 µm, maioria das vezes septadas; métulas 8–16 x 2–2.5 (–3) µm; fiálides ampuliformes 6–9 x 2–3 µm. Conídios subglobosos a globosos, lisos 2–2,5 x 2–2.5 µm

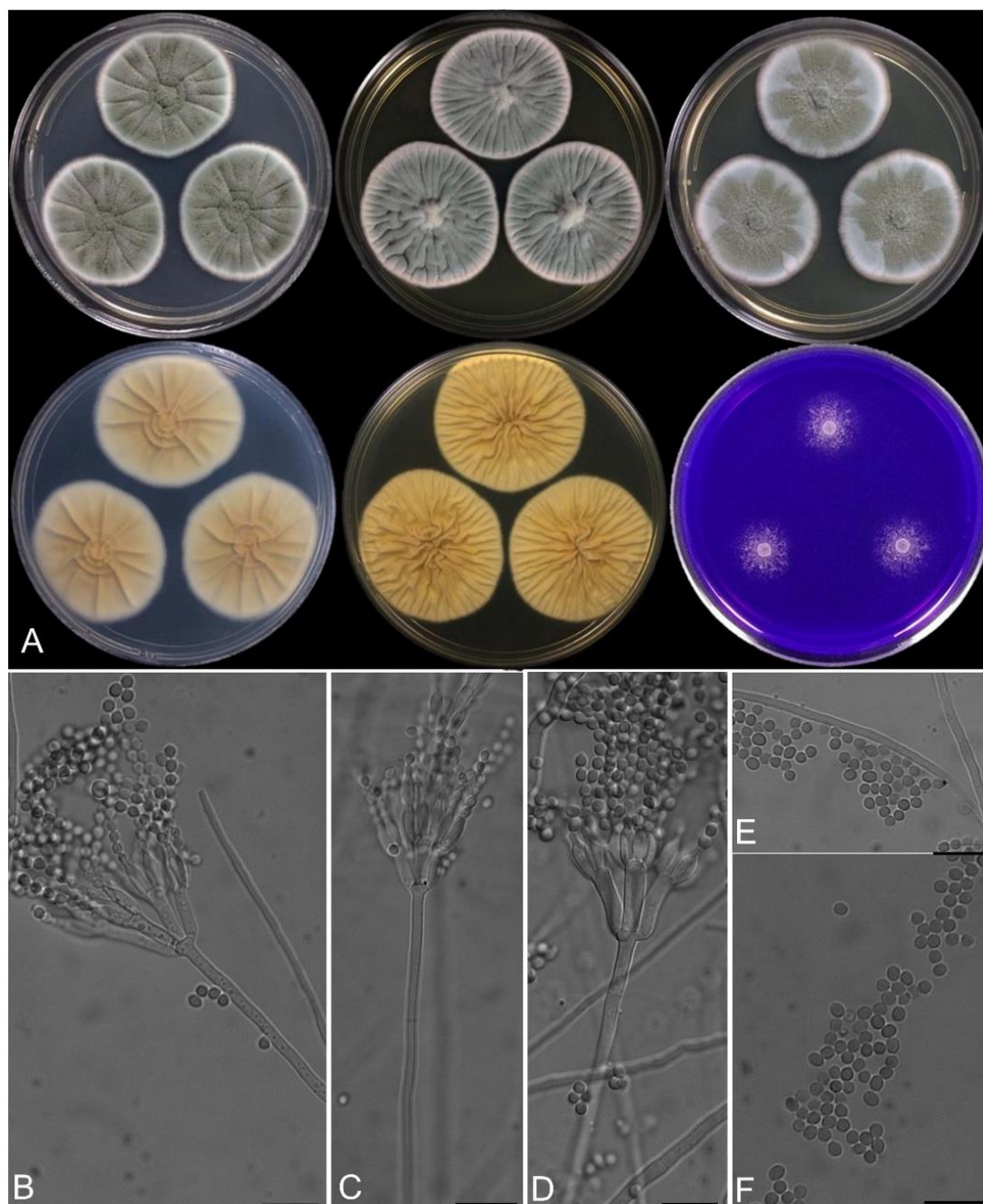


**Figura 28.** A. *Penicillium* sp. IS7 e *Penicillium* sp. IS33, após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, YES, MEAbI; segunda fila, reverso de CYA, reverso de YES e verso de CREA. B–E. Conidióforos. F. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.

**Descrição morfológica de *Penicillium* sp. IS40 e *Penicillium* sp. IS41, seção *Citrina* (Figura 29).**

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* CYA 32–33; CYA 30 °C 20–21; CYA 37 °C não foi observado crescimento; MEAbI 29–36; YES 29–35; CREA 19–21;

*Caracteres das colônias:* **CYA** 25 °C, 7 d: moderadamente profundas,



**Figura 29.** A. Isolados *Penicillium* sp. 40 e *Penicillium* sp. 41 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, YES, MEAbI; segunda fila, reverso de CYA, reverso de YES e verso de CREA. B–D. Conidióforos. E–F. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.

concentricamente e radialmente sulcadas, margens baixas, estreitas (2 mm), ocasionalmente largas (4 mm) inteiras, micélio branco; textura velutinoso com áreas flocosas; esporulação moderada a densa; conídio em massa oliva (1F4–2D3); pigmento solúvel ausente, exsudato claro; reverso laranja acinzentado no centro

(5B4–5C4) cinza amarelado (3B2) na margem. **MEAbI** 25 °C, 7 d: colônias baixas, levemente levantadas no centro, levemente sulcada radialmente, margens baixas, estreitas (2–3 mm), inteiras, micélio branco; textura velutinoso com áreas flocosas; esporulação densa; conídio em massa marrom oliva (4E4) no centro, cinza amarronzado (4D2) nas margens; pigmento solúvel e exsudato ausente; reverso amarelo acizentado (4B5) no centro, amarelo pálido (4A3) na margem. **YES** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radialmente e concentricamente sulcados, ocasionalmente sulcos irregulares, margens baixas, estreitas a largas (2–4 mm), inteiras, micélio branco; textura velutinoso a flocosa; esporulação moderada a densa; conídio em massa cinza a cinza oliva (2D1–2D2); pigmento solúvel e exsudato ausente; reverso laranja claro no centro (5A5), amarelo acizentado (4B3) na margem. **CREA** 25 °C, 7 d: fraco crescimento, produção de ácido ausente.

*Micromorfologia:* Esclerócio ausente. Conidióforos predominantemente biverticilado, estipes lisas a levemente enrugadas, septadas (93–)136–764 x 1.5–3 µm; métulas 9–19 x 1.5–3 µm fíalides ampuliformes 6–11 x 2–3 µm. Conídios 2–3 x 2–3 µm, lisos a levemente enrugados, subglobosos a elipsoidais.

**Descrição morfológica de *Penicillium* sp. IS38, *Penicillium* sp. IS48 e *Penicillium* sp. IS50, seção *Citrina*** (Figura 30).

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* CYA: 28-32; CYA 30 °C: 24-26; CYA 37 °C: não foi observado crescimento; MEAbI: 26-29; YES: 20-23; DG18: 25-31; OA: 22-24; CYAS: 24-29; CZ: 17-26;

*Caracteres das colônias:* **CYA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radialmente e concentricamente sulcadas; margens baixas e estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco com textura flocosa e esporulação densa; conídios em massa verde acizentado (1D3); exsudato claro e pigmento solúvel as vezes presente de coloração

amarelo claro; o reverso da colônia possui coloração de laranja acinzentada a marrom claro (5B5 – 7D6) no centro e amarelo claro nas (5A5 – 6A5) nas margens. **MEAbI** 25 °C, 7 d: colônias elevadas no centro, levemente radiadas e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas e inteiras; micélio branco com textura velutinosa; esporulação densa, conídios em massa com coloração cinza acastanhado a marrom oliva (4D2 - E4); exsudato claro, pigmento solúvel ausente; reverso com coloração amarelo acinzentado a laranja acastanhado (4B4 - 5C6) no centro e amarelo pálido nas (4A3) margens. **YES** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radialmente e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-3 mm), inteira; micélio branco com textura flocosa; esporulação moderada a densa, conídios em massa verde acinzentado (1D3); exsudato ausente, pigmento solúvel ausente e o reverso com coloração amarelo acinzentado (2B3). **DG18** 25 °C, 7 d: colônias elevadas no centro, radialmente sulcadas; margens baixas, estreitas e inteiras; micélio branco com textura flocosa; esporulação densa, conídios em massa de coloração oliva (3E3); exsudato e pigmentos solúveis ausentes; reverso com coloração amarelo pastel (1A4) no centro e cinza esverdeado (28B2) nas margens. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas com margens baixas, estreitas (3 mm), inteiras; micélio branco com textura velutinosa; esporulação densa; conídios em massa verde acinzentado (1D3-1D4); exsudato claro a marrom, pigmento solúvel ausente; reverso marrom claro(6D4) no centro e oliva (3D3) nas margens. **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, radialmente e randomicamente sulcadas; margens baixas, estreitas a largas, inteiras; micélio branco com textura flocosa; esporulação moderada a densa, conídio em massa cinza esverdeado (1D2); exsudato e pigmento solúvel ausentes; reverso amarelo pálido (3A3). **CZ** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas e inteiras; micélio branco de textura flocosa; esporulação moderada, conídios

em massa verde acinzentado (1D4); exsudato de pigmento solúvel ausentes; reverso com coloração amarelo fosco (3B3) no centro e cinza (3B1) nas margens.

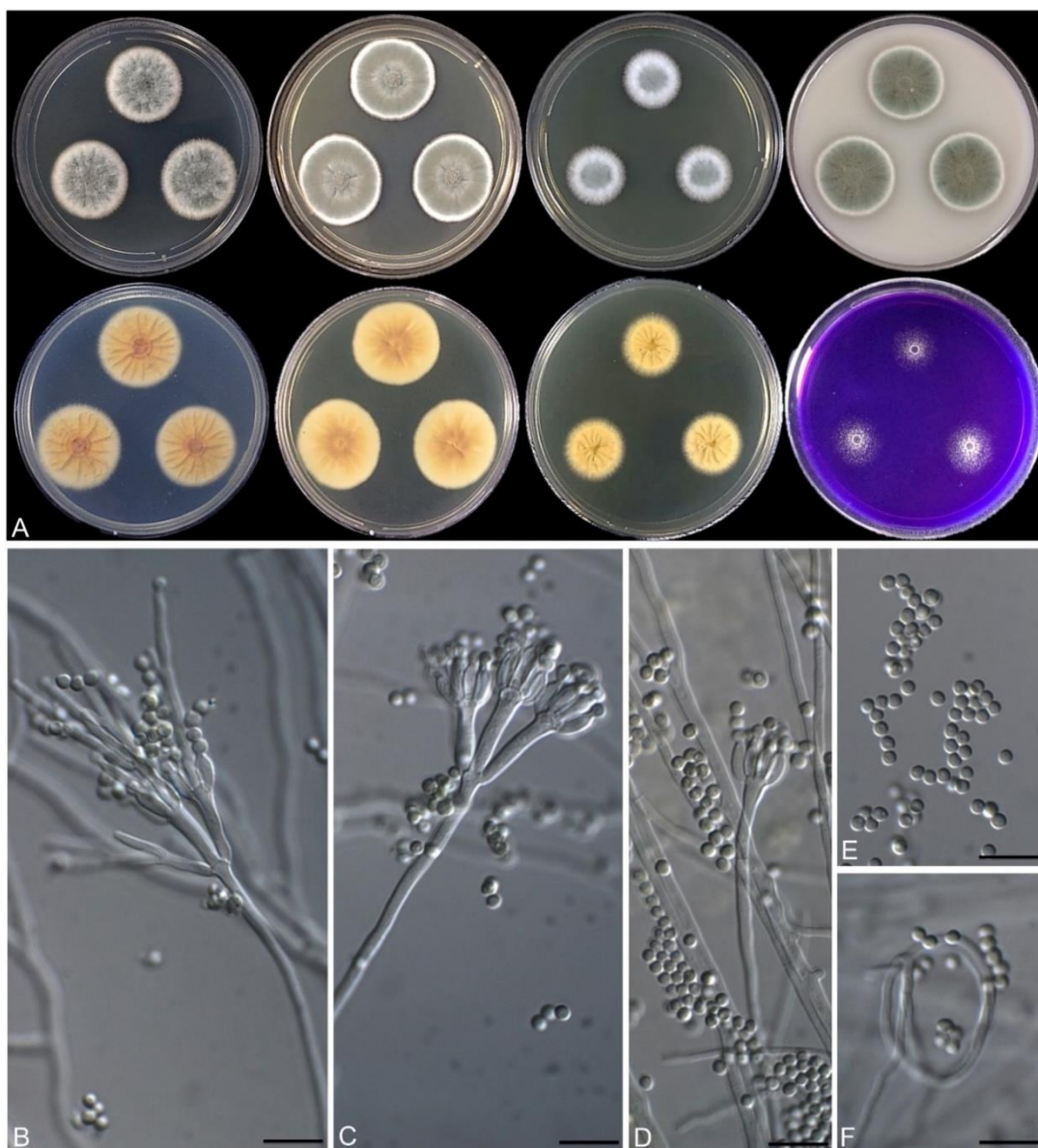
*Micromorfologia:* Esclerócio ausente. Conidióforos predominantemente biverticilados, ocasionalmente monoverticilado e terverticilado, estipes com paredes lisas variando em comprimento e largura 48-202 (-240) x 1-2  $\mu\text{m}$ ; 2-3 métulas com comprimento desigual (-9)10-22 (-25) x 2-3  $\mu\text{m}$  ( $12.2 \pm 3.6$  x  $2.3 \pm 0.42$ ). Apresentam de 3 a 5 fiálides, ampuliformes, 5-8 (-9) x 1-2  $\mu\text{m}$  ( $6.3 \pm 1.5$  x  $1.9 \pm 0.21$ ). Conídio subgloboso a globoso, frequentemente liso e as vezes rugoso, (2-3 x 2)  $\mu\text{m}$  ( $2.0 \pm 0.18$  x  $2.0 \pm 0,00$ ).

**Descrição morfológica de *Penicillium* sp. IS15, *Penicillium* sp. IS18 e *Penicillium* sp. IS20 seção *Lanata-divaricata*** (Figura 31).

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* CYA: 28-33; CYA 30°C: 29-36 CYA 37°C: não foi observado crescimento; MEAbI: 29-32; YES: 35-36; CREA: 21-25; DG18: 19-29; OA: 33-35; CYAS: 23-25; CZ: 32-39;

*Caracteres das colônias:* **CYA 25 °C, 7 d:** colônias moderadamente profundas, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas a largas (1-10 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada a flocosa; esporulação moderadamente densa; conídios em massa verde acinzentado (1D3 - 1D4) a azeitona (1E5 - 2D3) e ausência de pigmentos solúveis; exsudatos claros, às vezes presentes; reverso amarelo pálido (1A3), amarelo acinzentado (2B3) a amarelo opaco (3B3). **MEAbI 25 °C, 7 d:** colônias baixas, planas; margens baixas a quase acima da superfície, estreitas (1-3 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa e aveludada; esporulação densa, conídios em massa cinza acastanhado a marrom oliva (4D2 - 4D3); pigmentos

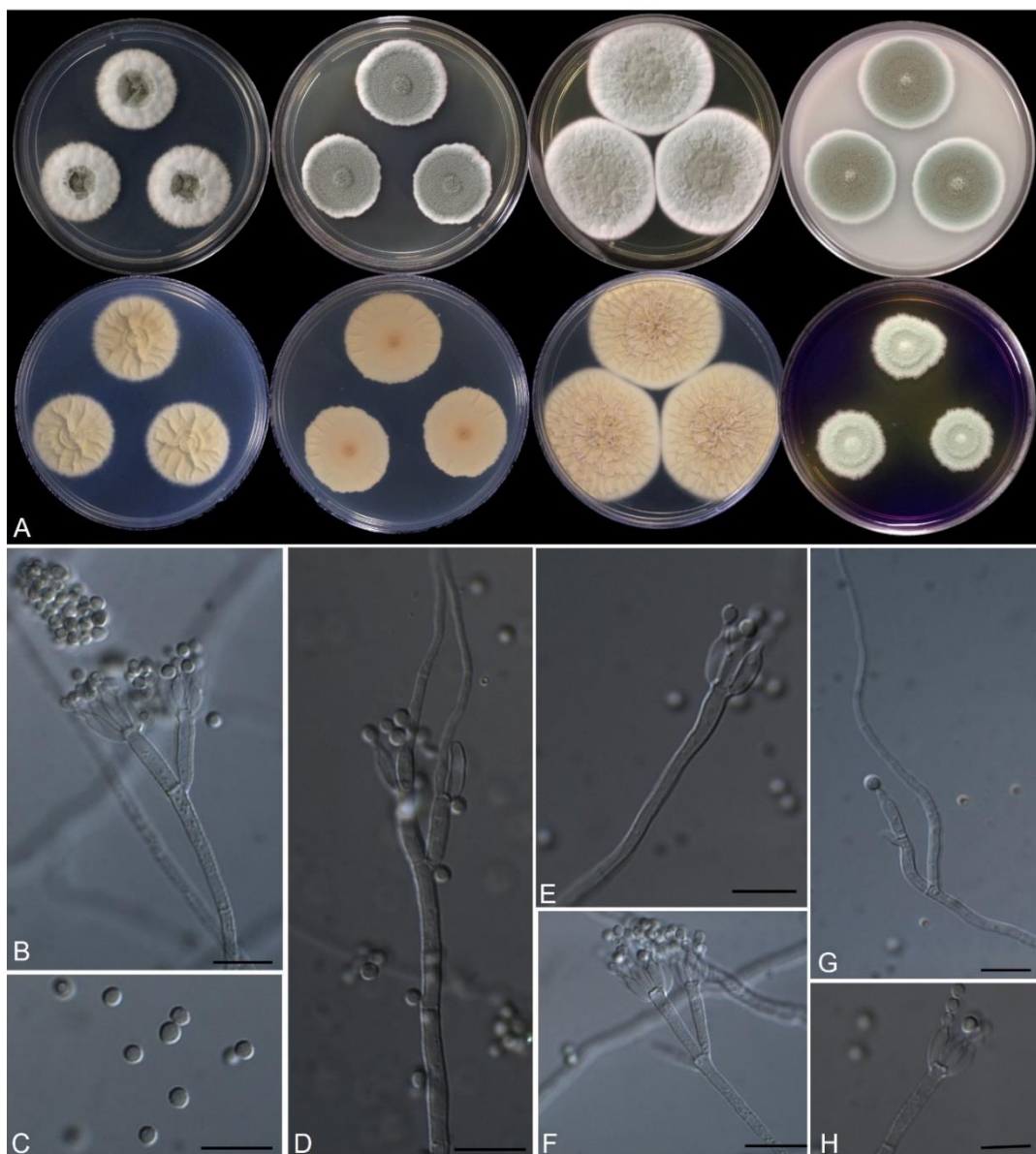
solúveis e exsudatos ausentes; verde acinzentado reverso (29B3 - 30B4). **YES** 25 °C,



**Figura 30.** A. Isolados *Penicillium* sp. IS38, *Penicillium* sp. IS48 e *Penicillium* sp. IS50 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–F. Conidióforos. E. Conídios. F. Micélio enrolado. Barras de escalas = 10 µm.

7 d: colônias moderadamente profundas, aleatoriamente sulcadas, elevadas no centro; margens baixas, estreitas a largas (2-8 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação moderada a densa; conídios em massa cinza esverdeado (1D2); pigmentos solúveis ausentes; exsudatos claros, às vezes presentes; reverso amarelo claro a amarelo claro (4A3 - 4A4), amarelo acinzentado (1B3 - 1B4).





**Figura 31.** A. Isolados *Penicillium* sp. IS15, *Penicillium* sp. IS18 e *Penicillium* sp. IS20 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B, D–F. Conidióforos. C. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.

**CREA 25 °C, 7 d:** colônias crescimento moderado, produção de ácido forte algumas vezes. **DG18 25 °C, 7 d:** colônias baixas, ligeiramente elevadas no centro; margens baixas, estreitas (2 mm) inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação moderada a densa; conídios em massa de cinza esverdeado a verde acinzentado (1D2-1D3); pigmentos solúveis e exsudatos ausentes; reverso do branco (1A1) a laranja

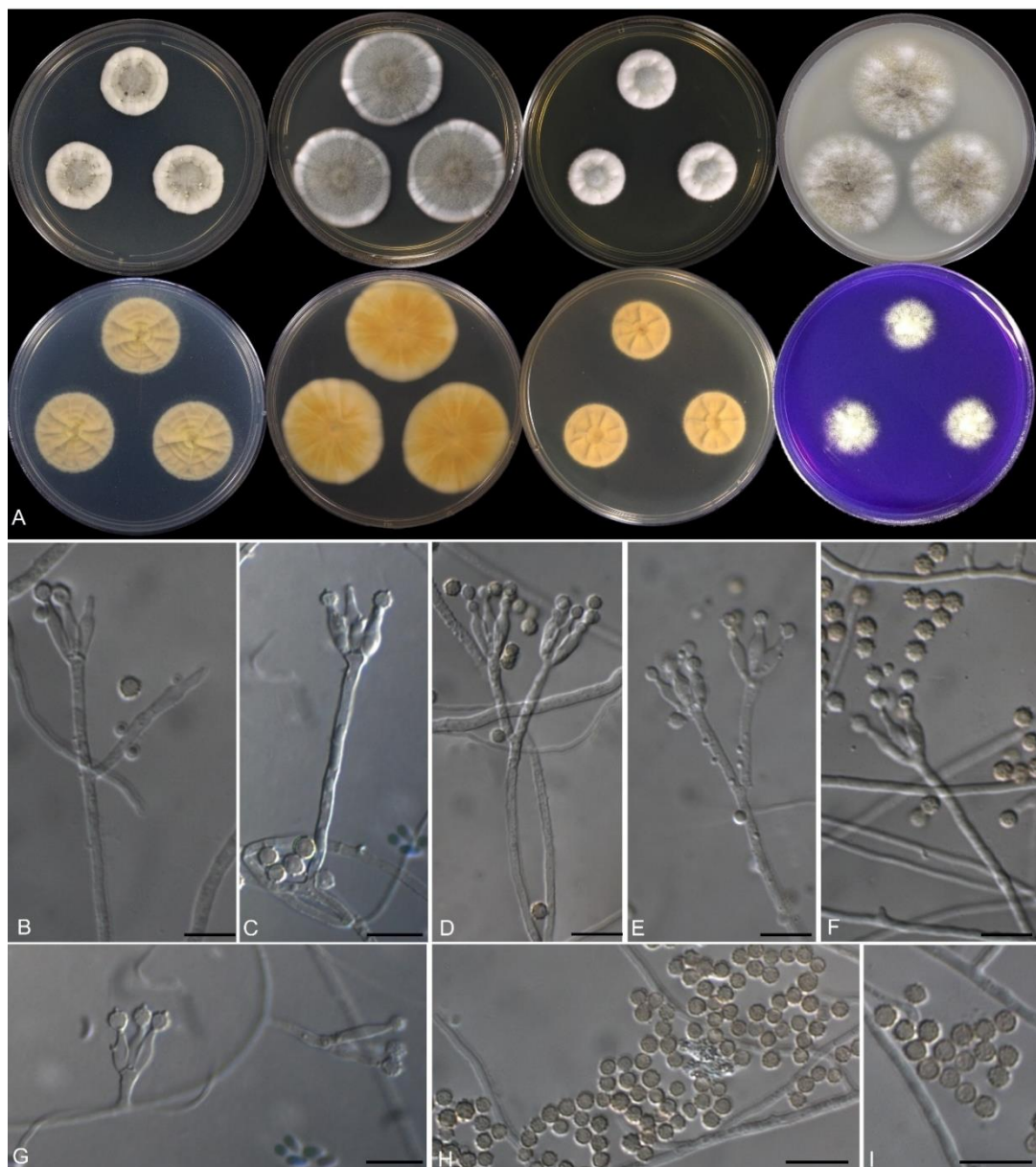
acinzentado (5B3) no centro, cinza amarelado (2C2) na margem. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas (2 mm); micélio branco; textura aveludada; esporulação densa; azeitona em massa de conídios (2D3); pigmentos solúveis e exsudatos ausentes; cinza esverdeado reverso (26B2). **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, irregularmente sulcadas, margens baixas, estreitas (2 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação densa; conídios em massa verde acinzentado (1D3-1D4); pigmentos solúveis e exsudatos ausentes; reverso amarelo pálido (4A3). **CZ** 25 °C, 7 d: colônias planas; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio verde; textura flocosa; esporulação moderada a densa, conídios em massa de azeitona (1E5-3D3); pigmentos solúveis e exsudatos ausentes; reverso marrom oliva (4E4) no centro e branco esverdeado (27A2) na margem.

*Micromorfologia:* Os isolados apresentaram conidióforos biverticilados e onoverticilados, com menor proporção de divaricados. Estípes lisas ou levemente rugosas variando entre 21-241 x 2-3 µm. Quantidade de métulas variando entre 1-4 com (8-)9--18(-25) x 2-3,5 µm. Fialides ampuliformes, variando de 2-6 fialides por métula, medindo 6-9,5 x 2--3 µm. Conídios globoso para subgloboso, lisos a levemente rugosos medindo 2-4 x 2-3 µm ( $2,5 \pm 0,54$  x  $2,5 \pm 0,50$ ). n=70

**Descrição morfológica de *Penicillium* sp. IS25M3 e *Penicillium* sp. 42M4, seção *Lanata-divaricata* (Figura 32).**

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* CYA: 23-31; CYA 30°C: 24-27 CYA 37°C: 19-21; MEAbI: 24-32; YES: 21-22; CREA: 18-19; DG18: 17-20; OA: 33-37; CYAS: 19-20; CZ: 31-32;

*Caracteres das colônias:* **CYA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas a largas, inteiras; micélio



**Figura 32.** A. *Penicillium* sp. 25M3 e *Penicillium* sp. 42M4, após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, MEAbI, YES e verso de CREA. B- G. Conidióforos. H, I. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.

branco; textura flocosa; esporulação esparsa a moderada; conídios em massa verde acinzentado (1D3); exsudato claro, pigmento solúvel ausente; reverso amarelo pastel, amarelo claro a amarelo acinzentado (1A4-4A3-B3). **MEAbI** CYA 25 °C, 7 d: colônias elevadas, ligeiramente sulcadas; margens baixas, estreitas a largas, inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação densa, conídios em massa castanhos (5E4); ausência de exsudato, ausência de pigmento solúvel; reverso amarelo

acinzentado (4B5) no centro e amarelo claro, laranja acinzentado a amarelo dourado (4A3-5B6-7) na margem. Colônias em **YES** 21-22 mm de diâmetro a 25 °C em 7 dias, moderadamente profundas, radialmente e concentricamente sulcadas; margens baixas, larga, inteira; micélio branco; textura flocosa; esporulação moderada; conídios em massa cinza esverdeado (1D2); exsudato e pigmento solúvel ausente; reverso amarelo acinzentado (1B4). **CREA** 25 °C, 7 d: colônias crescimento fraco, ácido não produzido. **DG18** 25 °C, 7 d: colônias baixas, elevadas no centro, fracamente sulcadas; margens baixas, estreitas inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação densa; conídios em massa verde esverdeado (1D3); ausência de exsudato, ausência de pigmento solúvel; reverso branco amarelado a cinza esverdeado (2A2-28B2) no centro e amarelo acinzentado a azeitona (2B4-3E3) na margem. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, elevadas no centro, estreitas inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação esparsa a moderada; conídios em massa de cinza esverdeado a verde acinzentado (1B2-1D3); exsudato claro, pigmento solúvel amarelo brilhante às vezes presente; reverso amarelo acinzentado a laranja acastanhado (4B5 - 5C6) no centro e claro, marrom oliva a cinza esverdeado (2A2-4D6-28B2) na margem. **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação moderada; conídios em massa de verde acinzentado a oliva (1D3-1E3); ausência de exsudato, ausência de pigmento solúvel; reverso amarelo acinzentado (1B4) no centro e verde acinzentado (27C3) na margem. **CZ** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, irregulares e regulares estreitas; micélio branco; textura flocosa; esporulação esparsa a moderada; conídios em massa conídios em massa cinza esverdeado a verde acinzentado (1B2-1C3); ausência de exsudato, pigmento amarelo solúvel; reverso verde acinzentado a amarelo acinzentado (1C5-

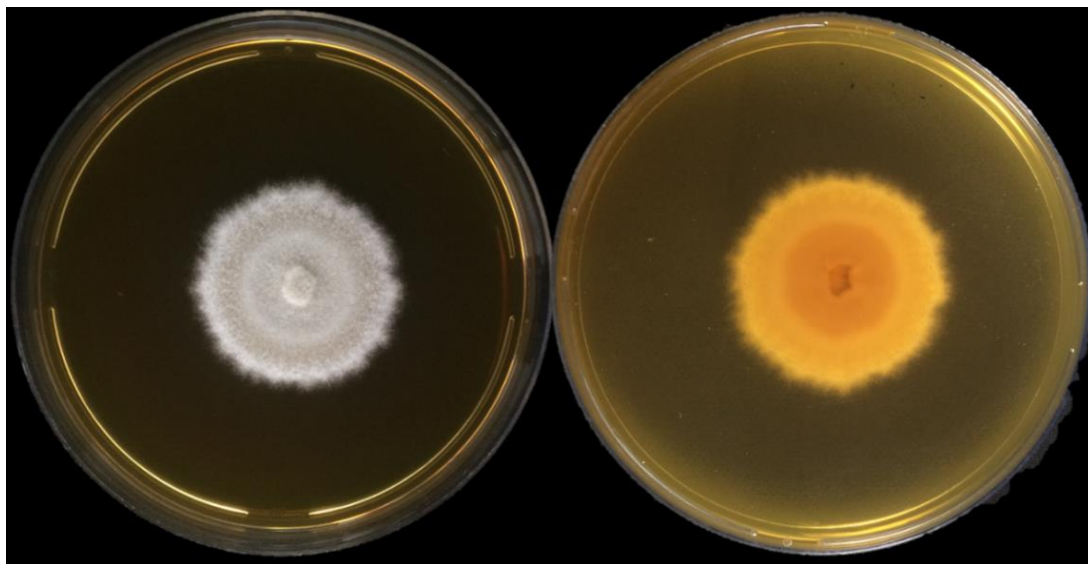
2C4) no centro e cinza (2B1) na margem.

*Micromorfologia:* Os isolados apresentaram conidióforos biverticilados e onoverticilados, com menor proporção de divaricados. Estipes ocasionalmente septadas, lisas ou levemente rugosas variando entre (3-)7-392(-586) x 1.5-2(-2.5)  $\mu\text{m}$ . Quantidade de métulas variando entre 2-3 com 8-19(-21) x 2-2.5  $\mu\text{m}$ . Fialides ampuliformes, variando de 1-8 fialides por métula, medindo 7-11 x 1.5-3  $\mu\text{m}$ . Conídeos globoso para subgloboso, rugosos medindo 3-4 x 3-4  $\mu\text{m}$ . n=75

**Descrição morfológica de *Tremateia* sp. IS3 e EM5 (Figura 33).**

*Diâmetro das colônias, 7 d (em mm):* BDA: 30;

*Caracteres das colônias:* **BDA** 25 °C, 7 d: colônias circulares, planas, filamentosas, culturas brancas na superfície com 7 d, margem irregular, completamente amarelo acinzentado pigmentado após 10 dias, reverso laranja claro.



**Figura 33.** *Tremateia* sp. 36EM5, após 10 dias em meios de cultura BDA a 25 °C.

#### 4. CONCLUSÃO

As restingas são ecossistemas que apresentam uma rica diversidade de espécies fúngicas. Neste estudo foram identificados por meio de taxonomia polifásica 8 novas espécies e três registros de ocorrência do filo *Ascomycota*, pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Latorua*, *Neoscytalidium*, *Nigrograna* e *Tremateia*. As restingas são ecossistemas únicos constantemente afetados pela ocupação humana. A realização de novos estudos é importante para identificar táxons ainda desconhecidos e promover políticas de preservação que visem conservar a micobiota das restingas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, S., A.; VAN DE SANDE, W., W., J.; STEVENS, D., A.; FAHAL, A.; VAN DIEPENINGEN, A., D.; MENKEN, S., B., J.; HOOG, G., S. *Persoonia*, v. 33, p. 141-154, 2014.

ALEXANDER, M. *Introduction to Soil Microbiology*. Jonh Willey & Sons, New York, Second Edition, 1982.

ALTSCHUL, S., F.; MADDEN, T., L.; SCHÄFFER, A., A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D., J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nuclei acids research*, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.

ANDRADE, J., P.; MARBACH, P., A., S.; MOTTA, C., M., S.; SOUZA, J., T.; *Fungal planet*. *Persoonia*, v. 32, 2014.

ANDRADE, P., P.; FIGUEIREDO, C., N.; MARBACH, P., A., S.; NASCIMENTO, R., P.; SOUZA, J., T. *Fungal Planet* description sheets: 785–867. *Persoonia*, v. 41, n. 389, p. 785-867, 2018.

ANDRADE, P., P.; FIGUEIREDO, C., N.; MARBACH, P., A., S.; SOUZA, H., G.; SOUZA, J., T. *Fungal Planet* description sheets: 951-1041. *Persoonia*, v. 43, p. 223–425, 2019.

BOREL, J., F.; FEURER, C.; GUBLER, H., U.; STÄHELIN, H. Biological effects of cyclosporin A: A new antilymphocytic agent. *Agents and actions*, v. 6, p. 468-475, 1976.

BROWN, A. G.; SMALE, T. C.; KING, T. J.; HASENKAMP, R.; THOMPSON, R. H. Crystal and molecular structure of compactin, a new antifungal metabolite from *Penicillium brevicompactum*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions* v. 1, n. 11, p. 1165-1170, 1976

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *J Trop Med & Hyg*, v. 42, p. 225–226, 1939.

CROUS, P., W.; CHINELOS, B.; WINGFIELD, M., J.; RHEEDER, J.; MARASAS, W., F., O.; PHILIPS, A., J., L.; ALVES, A.; BURGESS, T.; BARBER, P.; GROENEWALD, J., Z. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. *Studies in mycology*, v. 55, p. 235-253, 2006.

CROUS, P., W.; BRAUN, U.; WINGFIELD, M., J.; WOOD, A., R.; SHIN, H., D.; SUMMERELL, B., A.; ALFENAS, A., C.; CUMAGUN, C., J., R.; GROENEWALD, J., Z. Phylogeny and taxonomy of obscure genera of microfungi. *Persoonia*, v. 22, p. 139-161, 2009.

CROUS, P., W.; CARRIS, L., M.; GIRALDO, A.; GROENEWALD, J., Z.; HAWKSWORTH, D., L.; RESTREPO, M., H.; JAKLITSCH, W., M.; LEBRUN, M., H.; SCHUMACHER, R., K.; STIELOW, J., B.; LINDE, E., J., V.; VILCĀNE, J.

VOGLMAYR, H.; WOOD, A., R. The Genera of Fungi - fixing the application of the type species of generic names – G 2: *Allantophomopsis*, *Latorua*, *Macrodiplodiopsis*, *Macrohilum*, *Milospium*, *Protostegia*, *Pyricularia*, *Robillarda*, *Rotula*, *Septoriella*, *Torula*, and *Wojnowicia*. IMA fungus, v. 6, n. 1, p. 163-198, 2015.

COUSIN, M., A. FUNGI | Classification of the Eukaryotic Ascomycetes. Encyclopedia of Food Microbiology, p. 35-40, 2014.

COUTURIER, M.; GRANIER, C., B.; URIO, M., B.; RAMOS, L., P.; BERRIN, J., G. Fungal Enzymatic Degradation of Cellulose. Green Energy and Technology, p. 133-146, 2016.

CUEVAS, M., A., A.; CRUZ, I., R.; CASTELLANOS, M., S.; MENENDEZ, D.; RAJA, H., A.; NATHAN, P., J.; GONZALEZ, M., D., C.; FIGUEROA, M. Dioxomorpholines and Derivatives from a Marine-Facultative *Aspergillus* Species. Journal of Natural Products, v. 80, n.8, p. 2311–2318, 2017.

DEBBAB, A.; ALY, A., H.; PROKSCH, P. Endophytes and associated marine derived fungi—ecological and chemical perspectives, v. 57, p. 45-83, 2012.

DEMAIN, A., L.; MARTENS, E. Production of valuable compounds by molds and yeasts. The Journal of Antibiotics, v. 70, p. 347-360, 2017.

DOYLE, J., J.; DOYLE J., L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, v.12, p.13-15, 1990.

FENG, Y.; ZHANG, S., N.; LIU, Z., Y. *Tremateia murispora* sp. nov. (*Didymosphaeriaceae*, *Pleosporales*) from Guizhou, China. Phytotaxa, v. V. 416, n. 1, p. 79-87, 2019.

FLOREY, H.W.; ADELAIDE, M. B.; JENNINGS, M. A.; OXFD, B.M.; GILLIVER, K.; CAMB, B. A.; SANDERS, A. G.; LOND, M. B. Mycophenolic acid an antibiotic from *Penicillium brevicompactum* dierckx. Lancet, p. 46-49, 1946.

FREIRE, M., G., M.; DIAS, V., M.; MATTOSO, T., V.; HENK, D., A.; MENDES, A.; MACEDO, M., G., R.; TURATTI, C.; MACHADO, S., W.; SAMUELS, R., I.; Survey of endophytic *Alternaria* species isolated from plants in the Brazilian restinga biome. Journal of Pharmacy and Biological Sciences, v. 12, n. 2, p. 84-94, 2017.

FREIRE, K., T., L., S.; ARAÚJO-MAGALHÃES, G., R.; NASCIMENTO, S., S.; PAIVA, L., M.; BARBOSA, R., N.; BEZERRA, D., P., J.; SOUZA-MOTTA, M., C. First report of *Penicillium brasilianum* Bat., *P. cluniae* Quintan., and *P. echinulonalgiovense* S. Abe ex Houbraken & R.N. Barbosa (Eurotiales, Aspergillaceae) as endophytes from a bromeliad in the Caatinga dry forest in Brazil. Check List, v. 16, n. 4, p. 1055–1061, 2020.

FRISVAD, J., C. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric *Penicillia*. Applied and Environmental Microbiology, v. 4, p. 568-579, 1981.

GRUYTER, J.; WOUDEBERG, J., H., C.; AVESKAMP, M., M.; VERKLEY, G., J., M.; GROENEWALD, J., Z.; CROUS, P., W. Redisposition of phoma-like anamorphs in *Pleosporales*. Studies in mycology, v. 75, n. 1, p. 1–36, 2013.



HAWKSWORTH, D.; LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum*, v. 5, n. 4, 2017.

HOCKING, A., D.; PITT, J., I. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 39, p. 488-492, 1980.

HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. *Studies in mycology*, v. 70, n. 1, p. 1-51, 2011.

HYDE, K., D.; BORSE, B., D. Marine fungi from Seychelles. V. *Biatriospora marina* gen. et sp. nov. from mangrove wood. *Mycotaxon*, v. 26, p. 263-270, 1986.

HYDE, K., D.; HONGSANAN, S.; JEEWON, R.; BHAT, D., J.; MCKENZIE, E., H., C.; JONES, E., B., G.; PHOOKAMSAK, R.; ARIYAWANSA, H., A.; BOONMEE, S.; ZHAO, Q.; ABDEL-AZIZ, F., A.; ABDEL-WAHAB, M., A.; BANMAI, S.; CHOMNUNTI, P.; CUI, B., K.; DARANAGAMA, D., A.; DAS, K.; DAYARATHNE, M., C.; SILVA, N., I.; DISSANAYAKE, A., J.; DOILOM, M.; EKANAYAKA, A., H.; GIBERTONI, T., B.; GÓES-NETO, A.; HUANG, S., K.; JAYASIRI, S., C.; JAYAWARDENA, R., S.; KONTA, S.; LEE, H., B.; LI, W., J.; LIN, C., G.; LIU, J., K.; LU, Y., Z.; LUO, Z., L.; MANAWASINGHE, I., S.; MANIMOHAN, P.; MAPOOK, A.; NISKANEN, T.; NORPHANPHOUN, C.; PAPIZADEH, M.; PERERA, R., H.; PHUKHAMSAKDA, C.; RICHTER, C.; SANTIAGO, A., L., C., M., A.; DRECHSLER-SANTOS, E., R.; SENANAYAKE, I.; TANAKA, K.; TENNAKOON, T., M., D., S.; THAMBUGALA, K., M.; TIAN, Q.; TIBPROMMA, S.; THONGBAI, B.; VIZZINI, A.; WANASINGHE, D., N.; WIJAYAWARDENE, N., N.; WU, H., X.; YNAG, J.; ZENG, X., Y.; ZHANG, H.; ZHANG, J., F.; BULGAKOV, T., S.; CAMPORESI, E.; BAHKALI, A., H.; AMOOZEGAR, M., A.; ARAUJO-NETA, L., S.; AMMIRATI, J., F.; BAGHELA, A.; BHATT, R., P.; BOJANTCHEV, D.; BUYCK, B.; DA SILVA, G., A.; DE LIMA, C., L., F.; OLIVEIRA, R., J., V.; DE SOUZA, C., A., F.; DAI, Y., C.; DIMA, B.; DUONG, T., T.; ERCOLE, E.; MAFALDA-FREIRE, F.; GHOSH, A.; HASHIMOTO, A.; KAMOLHAN, S.; KANG, J., C.; KARUNARATHNA, S., C.; KIRK, P., M.; KYTÖVUORI, I.; LANTIERI, A.; LIIMATAINEN, K.; LIU, Z., Y.; LIU, X., Z.; LÜCKING, R.; MEDARDI, G.; MORTIMER, P., E.; NGUYEN, T., T., T.; PROMPUTTHA, I.; RAJ, K., N., A.; RECK, M., A.; LUMYONG, S.; SHAHZADEH-FAZELI, S., A.; STADLER, M.; SOUDI, M., R.; SU, H., Y.; TAKAHASHI, T.; TANGTHIRASUNUN, N.; UNİYAL, P.; WANG, Y.; WEN, T., C.; XU, J., C.; ZHANG, Z., K.; ZHAO, Y., C.; ZHOU, J., L.; ZHU, L. Fungal diversity notes 367–490: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal diversity*, v. 80, n. 1-270, 2016.

HYDE, K., D.; DONG, Y.; PHOOKAMSAK, R.; JEEWON, R.; BHAT, D., J.; JONES, E., B., G.; LIU, N., G.; ABEYWICKRAMA, P., D.; MAPOOK, A.; WEI, D.; PERERA, R., H.; MANAWASINGHE, I., S.; PEM, D.; BUNDHUN, D.; KARUNARATHNA, A.; EKANAYAKA, A., H.; BAO, D., F.; LI, J.; SAMARAKOON, M., C.; CHAIWAN, N.; MORTIMER, P., E.; ZHAO, Q.; LUMYONG, S.; XU, J.; SHENG, J. Fungal diversity notes 1151–1276: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. *Fungal diversity*, v. 100, p. 5-277, 2020.

- JAKLITSCH, W., M.; VOGLMAYR, H. Hidden diversity in *Thyridaria* and a new circumscription of the *Thyridariaceae*. *Studies in mycology*, v. 85, p. 35-64, 2016.
- JALMI, P.; PRABHUGAONKAR, A.; HYDE, K., D.; BHAT, D., J. Phylogenetic placement of *Bahusandhika*, *Cancellidium* and *Pseudoepicoccum* (asexual Ascomycota). *Phytotaxa*, v. 176, n. 1, p. 68-80, 2014.
- JAMES, T., Y.; STAJICH, J., E.; HITTINGER, C., T.; ROKAS, A. Toward a Fully Resolved Fungal Tree of Life. *Review in Advance*, v. 74, p. 291-313, 2020.
- KELLY, K.; JUDD, D., B. ISCC-NBS color-name charts illustrated with centroid colors. National Bureau of Standards circular, 1965.
- KHACHATOURIANS, G., G. Fungi In Food Technology: An Overview. College of Agriculture, 2003.
- KLICH, M., A. Identification of Common *Aspergillus* Species. P. 116, 2020.
- KOLAŘÍK, M.; SPAKOWICZ, D., J.; GAZIS, R.; SHAW, J.; KUBÁTOVÁ, A.; NOVÁKOVÁ, A.; CHUDÍČKOVÁ, M.; FORCINA, G., C.; KANG, K., W.; KELNAROVÁ, I.; SKALTSAS, D.; PORTERO, C., E.; STROBEL, S., A.; TRUJILLO, A., N. *Biatriospora* (Ascomycota: Pleosporales) is an ecologically diverse genus including facultative marine fungi and endophytes with biotechnological potential. *Plant Systematics and Evolution*, v. 303, p. 35-50, 2016.
- KOLAŘÍK, M. New taxonomic combinations in endophytic representatives of the genus *Nigrograna*. *Czech Mycology*, v. 70, n. 2, p. 123–126, 2018.
- MAPOOK, A.; HYDE, K., D.; MCKENZIE, E., H., C; JONES, E., B., G.; BHAT, D., J.; JEEWON, R.; STADLER, M.; SAMARAKOON, M., C.; MALAITHONG, M.; TANUNCHAI, B.; BUSCOT, F.; WUBET, T.; PURAHONG, W. Taxonomic and phylogenetic contributions to fungi associated with the invasive weed *Chromolaena odorata* (Siam weed). *Fungal diversity*, v. 101, p. 1-175, 2020.
- MARQUES, M., C., M.; SILVA, S., M.; LIEBSCH, D. Coastal plain forests in southern and southeastern Brazil: ecological drivers, floristic patterns and conservation status. *Brazilian Journal of Botany*, v. 38, p. 1-18, 2015.
- MORAES, R., M.; DELITTIYARA, W., B., C.; VUONO, S., D. Litterfall and litter nutrient content in two Brazilian Tropical Forests. *Brazilian Journal of Botany*, v. 22, n. 1, 1999.
- MURTHY, M., V., R.; MOHAN, E., V., S.; SADHUKHAN, A., K. Cyclosporin-A production by *Tolypocladium inflatum* using solid state fermentation. *Process Biochemistry*, v. 34, n. 3, p. 269-280, 1999.
- MUSSI-DIAS, v.; FREIRE, M., G., M.; SANTOS, A., V.; MOREIRA, D., D., O. Screening of Fungi Isolated from the Brazilian Restinga for Insecticidal Activity. *Microbiology Research Journal International*, v. 30, n. 3, p. 48-63, 2020.
- NARANJO-ORTIZ, M., A; GABALDÓN, T. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 94, n. 6, p. 2101-2137, 2019.

PEAY, K. G.; BARALOTO, C.; FINE, P., V. A. Strong coupling of plant and fungal community structure across western Amazonian rainforests. *The ISME Journal*, v. 7, p. 1852-1861, 2013.

PITT, J., I. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press Inc, London, 1979.

PHILLIPS, A., J., L.; ALVES, A.; ABDOLLAHZADEH, J.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M., J.; GROENEWALD, J., Z.; CROUS, P., W. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in mycology*, v. 76, p. 51-167, 2013.

SAMSON, R., A.; VISAGIE, C., M.; HOUBRAKEN, J.; HONG, S., B.; HUBKA, V.; KLAASSEN, C., W., H.; PERRONE, G.; SEIFERT, K., A.; SUSCA, A.; TANNEY, J., B.; VARGA, J.; KOCSUBÉ, S.; SZIGETI, G.; YAGUCHI, T.; FRISVAD, J., C. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, v. 78, p. 148-173, 2014.

SAMSON, R., A.; PETERSON, S., W.; FRISVAD, J., C.; VARGA, J. New species in *Aspergillus* section *Terrei*. *Studies in mycology*, v. 69, n. 1, p. 39-55, 2011.

SCHOCH C.L.; SEIFERT K.A.; HUHNDORF, S. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 109, p. 6241-6246, 2012.

SHAW, J., J.; SPAKOWICZ, D., J.; DALAL, R., S.; DAVIS, J., H.; LEHR, N., A.; DUNICAN, B., F.; ORELLANA, E., A.; TRUJILLO, A., N.; STROBEL, S., A. Biosynthesis and genomic analysis of medium-chain hydrocarbon production by the endophytic fungal isolate *Nigrograna mackinnonii* E5202H. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 99, p. 3715-3728, 2015.

SHEN, X., X.; OPULENTE, D., A.; KOMINEK, J.; ZHOU, X.; STEENWYK, J., L.; BUH, K., V.; HAASE, M., A., B.; WISECAVER, J., H.; WANG, M.; DOERING, D., T.; BOUDOURIS, J., T.; SCHNEIDER, R., M.; LANGDON, Q., K.; OHKUMA, M.; ENDOH, R.; TAKASHIMA, M.; MANABE, R., I.; ČADEŽ, N.; LIBKIND, D.; ROSA, C., A.; DEVIRGILIO, J.; HULFACHOR, A., B.; GROENEWALD, M.; KURTZMAN, C., P.; HITTINGER, C., T.; ROKAS, A. Tempo and Mode of Genome Evolution in the Budding Yeast Subphylum. *Cell*, v. 175, n. 6, p. 1533-1545, 2018.

STODŮLKOVÁ, E.; MAN, P.; KUZMA, M.; ČERNÝ, J.; CÍSAŘOVÁ, I.; KUBÁTOVÁ, A.; CHUDÍČKOVÁ, M.; KOLARÍK, M.; FLIEGER, M. A highly diverse spectrum of naphthoquinone derivatives produced by the endophytic fungus *Biatrispora* sp. CCF 4378. *Folia microbiologica*, v. 60, p. 259- 267, 2015.

TAO, K.; DU, L.; SUN, X.; CAI, M.; ZHU, T.; ZHOU, X.; GU, Q.; ZHANG, Y. Biosynthesis of aspergiolide A, a novel antitumor compound by a marine-derived fungus *Aspergillus glaucus* via the polyketide pathway. *Tetrahedron Letters*, v. 50, n. 9, p. 1082-1085, 2009.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, p. 2725-2729, 2013.

TRESEDER, K., K.; LENNON, J., T. Fungal traits that drive ecosystem dynamics on land. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 79, n. 2, p. 243-262, 2015.

TIBPROMMA, S.; HYDE, K., D.; JEEWON, R.; MAHARACHCHIKUMBURA, S.; LIU, J., K., J.; BHAT, D., J.; JONES, E., B., G.; MCKENZIE, E.; ERIO, C.; BULGAKOV, T.; DOILOM, M.; SANTIAGO, A.; DAS, K., MANIMOHAN, P.; GIBERTONI, T., B.; LIM, Y., W.; EKANAYAKA, A., H.; THONGBAI, B.; LEE, H., B.; YANG, J., B.; KIRK, P., M.; SYSOUPHANTHONG, P.; SINGH, S.; BOONMEE, S.; DONG, w.; et al. Fungal diversity notes 491–602: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. *Fungal Diversity*, v. 83, n. 1, p. 1–261, 2017.

VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; HONG, S. B.; KLAASSEN, C. H. W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K. A.; VARGA, J.; YAGUCHI, T.; SAMSON, R. A. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, v. 78, p. 343–371, 2014.

VU, D.; GROENEWALD, M.; VRIES, M.; GEHRMANN, T.; STIELOW, B.; EBERHARDT, U.; AL-HATMI, A.; GROENEWALD, J., Z.; CARDINALI, G.; HOUBRAKEN, J.; BOEKHOUT, T.; CROUS, P., W.; ROBERT, V.; VERKLEY, G., J., M. Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Studies in mycology*, v. 92, p. 135-154, 2019.

WILDE, A., H.; DOBBE, J., C., G.; MEER, Y., V.; THIEL, V.; NARAYANAN, K.; MAKINO, S.; SNIJDER, E., J.; HEMERT, M., J., V. Cyclosporin A inhibits the replication of diverse coronaviruses. *Journal of general virology*, v. 92, p. 2542-2548, 2011.

WU, B.; HUSSAIN, M.; ZHANG, W.; STADLER, M.; LIU, X.; XIANG, M. Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. *Mycology: An International Journal on Fungal Biology*, v. 10, n. 3, p. 127-140, 2019.

ZIN, A., N.; BADALUDDIN, N., A. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *V. 65*, n. 2, p. 168-178, 2020.