



**SIRLEI CRISTINA DE SOUZA**

**DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Aspergillus*,  
*Penicillium* E *Talaromyces* ISOLADOS DO SOLO DE CANGA  
DO QUADRILÁTERO FERRÍFERO**

**LAVRAS-MG  
2018**

**SIRLEI CRISTINA DE SOUZA**

**DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Aspergillus*, *Penicillium* E  
*Talaromyces* ISOLADOS DO SOLO DE CANGA DO QUADRILÁTERO FERRÍFERO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Luís Roberto Batista  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

de Souza, Sirlei Cristina.

Diversidade de espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e  
*Talaromyces* isolados do solo de canga do Quadrilátero Ferrífero /  
Sirlei Cristina de Souza. - 2018.

138 p. : il.

Orientador(a): Luís Roberto Batista.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Fungos. 2. Taxonomia. 3. Identificação. I. Batista, Luís  
Roberto. . II. Título.

**SIRLEI CRISTINA DE SOUZA**

**DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Aspergillus*, *Penicillium* E  
*Talaromyces* ISOLADOS DO SOLO DE CANGA DO QUADRILÁTERO FERRÍFERO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA 22 de março de 2018.

Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza EPAMIG

Dra. Sarah da Silva Costa Guimarães UFLA

Dr. Juliano de Carvalho Cury UFSJ

Dr. Ludwig Heinrich Pfenning UFLA

Prof. Dr. Luís Roberto Batista  
Orientador

**LAVRAS-MG  
2018**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, e ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, pela oportunidade.

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado. A FAPEMIG e ao CNPq.

À VALE pelo apoio financeiro, e acesso as amostras estudadas.

Ao meu orientador Luís Roberto Batista pelo apoio, ensinamentos e paciência nesse período.

Aos parceiros do Departamento de Fitopatologia: Sarah, Silvino e Gláucia e do Departamento de Ciências do Solo, Amanda, Márcia, Paula e Aline pela contribuição inestimável nessa tese e para minha formação.

À Profa. Dra. Fátima Maria de Souza Moreira pela receptividade, auxílios e ensinamentos.

Às minhas amigas da pós-graduação Mariana Lino, Mariana Coelho, Tamara e Natálie por seguir nessa caminhada junto comigo.

À todos do laboratório Thaiana, Lorena, Michele Aragão, Michelle Terra, Anielli, Nathasha, Fabiana Passamani, Fabiana Couto, Elaine, Suzana, Gi, Luís Gustavo, Suemis, Eloiza, Daniele, Luísa, Renan, Thalissa e todos outros que tornaram meus dias muito mais divertidos e proveitosos, além de toda ajuda.

À parceria do meu amigo Wesley Mendes, pelas horas e horas de ajuda no laboratório e pelas longas conversas sobre filmes e séries.

À minha amiga Vanessa Pereira por tudo, minha companheira dentro e fora do laboratório aprendi muito com você!

Ao meu amor Vinícius Coimbra, por estar comigo nos bons e maus momentos que um doutorado resulta, obrigada por ser essa pessoa tão incrível! Amo muito!

À minha mãe Maria das Graças, a pessoa que mais acreditou que eu chegaria até aqui, nunca serei capaz de agradecer suficiente por tudo que fez e faz por mim, te amo muito.

Ao meu pai Waldemar Cardozo de Souza (in memorian), que sempre está comigo, sei que está.

**Muito obrigada!**

Este projeto faz parte do subprojeto intitulado “Biodiversidade e bioprospecção de *Aspegillus* spp. e *Penicillium* spp. em solos de áreas de mineração” que compõe o projeto submetido e aprovado no edital 01/2010 FAPEMIG/FAPESP/FAPESPA/VALE S.A “Diversidade de plantas e de organismos dos solos com potencial biotecnológico e indicadores de impacto ambiental, no estado de Minas Gerais”.

Meu agradecimento às agências financiadoras.

## RESUMO GERAL

A canga constitui substrato com características particulares em relação à formação de solos. São formações originadas a partir de concentração de compostos ferruginosos soldando materiais diversos, como resultado da atuação intensa de fatores climáticos sobre o material geológico. Estas crostas superficiais de ferro são típicas no estado de Minas Gerais (MG), na região denominada Quadrilátero Ferrífero – QF. O solo é considerado um mosaico de microhabitats devido a sua heterogeneidade e complexidade, sendo um dos principais ecossistemas para o desenvolvimento de populações microbianas. Entretanto, em áreas de canga pouco se conhece da comunidade fúngica e seus atributos biotecnológicos. Gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* são comuns no solo, pois este normalmente apresenta abundância de compostos orgânicos necessários para o seu desenvolvimento. Além disso, são exímios produtores de moléculas bioativas capazes de serem aplicadas em diversas áreas como indústrias farmacêuticas e alimentícias e biorremediação. Com isso, este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* isolados do solo de áreas de canga do Quadrilátero Ferrífero utilizando técnicas filogenética e fenotípica. Foram coletadas 10 amostras de solo em período seco e 10 amostras em período chuvoso e em cada uma destas foram realizadas diluições seriadas nos meios DG18 e DRBC. As espécies foram identificadas através de características morfológicas e análises moleculares. No total foram isolados 2029 fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*, o período seco apresentou um maior número de isolados 1275, enquanto das amostras do tempo chuvoso foram isolados 754 fungos desses gêneros. O número de isolados de *Aspergillus* foi 298 e de *Penicillium* e *Talaromyces* foram 1731. Dos 89 morfotipos não identificados pela morfologia, 76 foram submetidos a análises moleculares, utilizando para inferência filogenética as regiões gênicas *RPB2*, calmodulina e beta-tubulina. Um total de 35 espécies foi identificado entre elas estão: *A. niger*, *A. pseudoustus*, *A. aculetus*, *A. flavus*, *P. citrinum*, *P. janthinellum*, *P. bilaiae*, *P. roquerfort*, *T. angelucus* e *T. stolli*. Morfotipos que foram inconclusivos somam sete e 34 espécies permanecem apenas com classificação em gêneros, das quais nove são possíveis novidades taxanômicas denominadas: *A. novalimaensis*, *P. sulcatus*, *P. minimum*, *P. asperosus*, *P. flavosus*, *P. minasgeraensis*, *T. rosaceus*, *T. brasiliensis* e *T. viscosus*. Esses dados possibilitarão um maior incentivo para a área de taxonomia fúngica no Estado de Minas Gerais, aumentando o nosso conhecimento sobre a biodiversidade nestas áreas.

**Palavras-chave:** Fungos. Taxonomia. Identificação.

## ABSTRACT

The ironstone (*canga*) is a substrate presenting peculiar characteristics involved in soil formation. It comes from the concentration of ferruginous compounds that put diverse materials together as a result of severe actions from climatic factors on geological material. Such superficially formed iron crusts are typical in the State of Minas Gerais, Brazil, especially in a region known as Iron Quadrangle. The soil is often characterized as a microhabitat mosaic due to its heterogeneity and complexity. Thereby, it is believed to be one of the most important ecosystems regarding the development of microbial populations. However, in *canga* areas, very little is known about soil fungal communities and its biotechnological attributes. Genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* are common fungi found in soil because they usually have plenty of organic compounds required for their development itself. Furthermore, these organisms are outstanding producers of bioactive molecules frequently used in several areas including the pharmaceutical and food industry, and bioremediation. Hence, the present study aimed to assess the fungal diversity belonging to genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from soils composing the *canga* areas in the Iron Quadrangle by using phylogenetic and phenotypic techniques. Ten soil samples were collected in the dry season and other ten samples in the rainy season. Serial dilutions were made into the DG18 and DRBC culture media. Species identification was conducted through morphological and molecular analyses. In total, 2029 fungi from *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* were isolated. The dry period presented a larger number of 1275 isolates, while 754 fungi were isolated in the rainy season. About 298 isolates were properly identified as *Aspergillus* whereas 1731 isolates were related to *Penicillium* and *Talaromyces*. Among the unidentified morphotypes, 76 out of 89 were subjected to molecular analyses by using the RPB2, calmodulin, and beta-tubulin gene regions for phylogenetic inference. A total of 35 species were identified including the species *A. niger*, *A. pseudoustus*, *A. aculeatus*, *A. flavus*, *P. citrinum*, *P. janthinellum*, *P. bilaiae*, *P. roquerfort*, *T. angelucus* and *T. stollii*. Inconclusive morphotypes add up to 7 and 34 species remain only in genus classification, of which 9 of them are likely taxonomic novelties such as *A. novalimaensis*, *P. sulcatus*, *P. minimum*, *P. asperosus*, *P. flavosus*, *P. minasgeraensis*, *T. rosaceus*, *T. brasiliensis* and *T. viscosus*. Taking these data into account will provide a greater incentive and stimulate further advancements into the fungal taxonomy field in Minas Gerais, surely enhancing our understanding and knowledge about the biodiversity living in such area.

**Keywords:** Fungi. Taxonomy. Identification.



## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1- Mapa geológico simplificado do Quadrilátero Ferrífero. ....	16
Figura 2 - Micromorfologia de <i>Aspergillus</i> . ....	19
Figura 3 - Micromorfologia de <i>Penicillium</i> . ....	21
Figura 4 - Micromorfologia de <i>Talaromyces</i> . ....	23

### SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

#### ARTIGO 1

Figura 1 - Esquema de amostragem do solo. ....	40
Figura 2 - Diluição Seriada em DRBC (esquerda) e DG18 (direita). ....	44
Figura 3 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de <i>BenA</i> que mostram as relações entre espécies do gênero <i>Aspergillus</i> . ....	48
Figura 4 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas ( <i>BenA</i> e <i>CaM</i> ) que mostram as relações entre espécies do gênero <i>Aspergillus</i> . ....	49
Figura 5 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de <i>BenA</i> que mostram as relações entre espécies do gênero <i>Penicillium</i> . ....	51
Figura 6 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas ( <i>BenA</i> e <i>RPB2</i> ) que mostram as relações entre espécies do gênero <i>Penicillium</i> . ....	52
Figura 7- Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de <i>BenA</i> que mostram as relações filogenéticas de espécies do gênero <i>Talaromyces</i> . ....	54
Figura 8 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas ( <i>BenA</i> e <i>RPB2</i> ) que mostram as relações filogenéticas de espécies do gênero <i>Talaromyces</i> . .	54

#### ARTIGO 2

Figura 1 - Árvore filogenética de máxima parcimônia inferida das sequências concatenadas <i>BenA</i> que mostram as relações filogenéticas do isolado com espécies do gênero <i>Aspergillus</i> . ....	97
Figura 2 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas ( <i>BenA</i> e <i>CaM</i> ) que mostram as relações filogenéticas do isolado com espécies do gênero <i>Aspergillus</i> . ....	97
Figura 3 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de <i>BenA</i> que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero <i>Penicillium</i> . ....	99
Figura 4 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas ( <i>BenA</i> e <i>RPB2</i> ) que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero <i>Penicillium</i> . ....	100
Figura 5 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências das sequências concatenadas ( <i>BenA</i> e <i>RPB2</i> ) que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero <i>Talaromyces</i> . ....	101
Figura 6 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de <i>BenA</i> que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero <i>Talaromyces</i> . ....	102
Figura 7 - <i>Aspergillus novalimaensis</i> (CCDCA 13379). ....	104
Figura 8 - <i>Penicillium minasgeraensis</i> (CCDCA 13369). ....	106
Figura 9 - <i>Penicillium asperosus</i> (CCDCA 13345). ....	108
Figura 10 - <i>Penicillium flavosus</i> (CCDCA 13338). ....	110
Figura 11 - <i>Penicillium sulcatus</i> (CCDCA 13333). ....	112
Figura 12 - <i>Penicillium minimum</i> (CCDCA 13395). ....	114
Figura 13 - <i>Talaromyces brasiliensis</i> (CCDCA 13332). ....	116
Figura 14 - <i>Talaromyces viscosus</i> (CCDCA 13393). ....	118
Figura 15 - <i>Talaromyces rosaceus</i> (CCDCA 13375). ....	120

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Coordenadas Geográficas dos pontos amostrais. ....	41
Tabela 2 - Estimativa da população fúngica das amostras de solo de Canga.....	45
Tabela 3 - Espécies do gênero <i>Penicillium</i> e <i>Talaromyces</i> isolados de área de canga.....	47
Tabela 4 - Espécies do gênero <i>Aspergillus</i> isolados de área de canga. ....	48

## SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE .....	11
1 INTRODUÇÃO .....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	12
2.1 O solo como habitat de fungos filamentosos .....	12
2.2 O Quadrilátero Ferrífero e o solo de canga .....	14
2.3 O gênero <i>Aspergillus</i> .....	17
2.4 O gênero <i>Penicillium</i> .....	20
2.5 O gênero <i>Talaromyces</i> .....	22
2.6 Taxonomia de <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Talaromyces</i> .....	24
REFERÊNCIAS .....	26
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS .....	36
ARTIGO 1 .....	36
CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E FILOGENÉTICA DE <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> E <i>Talaromyces</i> ISOLADOS DO SOLO DE CANGA .....	36
RESUMO .....	37
1 INTRODUÇÃO .....	38
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	40
2.1 Localização das áreas de coleta .....	40
2.2 Desenho amostral e coleta .....	40
2.3 Isolamento dos fungos .....	41
2.3.1 Contagem de UFCs e avaliação dos meios DG18 e DRBC .....	42
2.4 Purificação e identificação de fungos filamentosos .....	42
2.4.1 Identificação fenotípica das espécies .....	42
2.5 Caracterização dos morfotipos não identificados .....	43
2.6 Extração de DNA, PCR, sequenciamento e análises filogenéticas .....	43
3 RESULTADOS .....	44
3.1 Avaliação da eficiência dos meios DRBC e DG18 no isolamento de <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Talaromyces</i> e unidades formadoras de colônias de fungos totais .....	44
3.2 Quantificação dos isolados dos gêneros <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Talaromyces</i> .....	45
3.3 Espécies identificadas de <i>Penicillium</i> e <i>Talaromyces</i> e seus principais marcadores morfológicos .....	45
3.4 Espécies identificadas de <i>Aspergillus</i> e seus principais marcadores morfológicos .....	46
3.5 Morfotipos não identificados de <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Talaromyces</i> .....	47
3.6 Análises filogenéticas .....	48
3.6.1 Análise filogenética em espécies de <i>Aspergillus</i> .....	48
3.6.2 Análise filogenética em espécies de <i>Penicillium</i> .....	49
3.6.3 Análise filogenética em espécies de <i>Talaromyces</i> .....	52
4 DISCUSSÃO .....	55
5 CONCLUSÃO .....	60
REFERÊNCIAS .....	61
MATERIAL SUPLEMENTAR .....	68
APÊNDICE A .....	68
APÊNDICE B .....	69
APÊNDICE C .....	81
APÊNDICE D .....	82
APÊNDICE E .....	83
APÊNDICE F .....	84

APÊNDICE G .....	85
APÊNDICE H .....	86
APÊNDICE I.....	87
APÊNDICE J .....	87
APÊNDICE K .....	87
ARTIGO 2.....	89
NOVAS ESPÉCIES DE <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> E <i>Talaromyces</i> ISOLADAS DO SOLO DE CANGA BRASILEIRO.....	89
RESUMO.....	90
1 INTRODUÇÃO .....	91
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	93
2.1 Isolados utilizados no estudo .....	93
2.2 Caracterização morfológica.....	93
2.3 Extração de DNA, PCR e análises filogenéticas .....	93
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	95
3.1 Análises filogenéticas de <i>Aspergillus</i> .....	95
3.2 Análises filogenéticas de <i>Penicillium</i> .....	97
3.3 Análises filogenéticas de <i>Talaromyces</i> .....	100
3.4 TAXONOMIA .....	103
4 CONCLUSÃO.....	121
AGRADECIMENTOS .....	121
REFERÊNCIAS .....	122

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

As cangas são afloramentos formados há milhões de anos resultantes do intemperismo de rochas ferríferas subjacentes, resultando em couraças que podem atingir dezenas de metros de espessura e se estender por milhares de hectares. As couraças ferruginosas localizam-se predominantemente no estado de Minas Gerais, principalmente no Quadrilátero Ferrífero. Os solos de áreas de Canga são altamente distróficos, ligeiramente ácidos, pedregosos e apresentam baixa capacidade de troca catiônica (CARMO, 2013; DORR 1969).

O solo abriga uma considerável parte da diversidade de fungos do planeta, sendo considerado seu ambiente primário. Entretanto, não existe nenhuma estimativa que garanta o número exato de espécies de fungos nesse substrato. Estes são importantes componentes da microbiota do solo, constituindo a maior biomassa quando comparados a outros organismos, dependendo das condições nutricionais do ecossistema. Estão envolvidos em processos como agregação do solo, decomposição de resíduos orgânicos, mineralização de nutrientes, estabelecimento de relações simbióticas e controle de pragas e doenças (COLEMAN et al., 2004., MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

A presença de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* no solo é comum, já que as condições são ótimas para o seu crescimento, principalmente pela abundância de compostos orgânicos neste ecossistema. E devido a essa ampla ocorrência e à atividade desses gêneros no solo, o isolamento e identificação de suas espécies podem contribuir para um melhor entendimento da estrutura da comunidade do solo e suas funções (GOMEZ et al., 2007; YILMAZ et al., 2014; SERRANO et al., 2015).

Solos ricos em ferro podem alterar a composição microbiológica, levando a uma diminuição da biodiversidade, entretanto pode também acarretar na seleção de linhagens resistentes ao impacto proveniente da exploração de minérios, e estas podem apresentar potencial biotecnológico ainda inexplorado (PAUL, 2015).

É instigante avaliar, sobretudo, a biodiversidade de ambientes ricos em ferro e sob influência de mineração, visto que este ambiente foi completamente alterado e apresenta características diferentes de solos de cultivo, de florestas ou urbano. Além disso, a presença de grande quantidade de minério pode influir adaptações a microbiota do solo, tornando-a específica e adaptada, possibilitando o reconhecimento de novas espécies.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 O solo como habitat de fungos filamentosos

O solo é constituído por uma coleção de corpos naturais tridimensionais resultantes dos fatores de formação do solo, assim como da matéria orgânica viva e morta (SANTOS et al., 2008). O habitat do solo é definido como o conjunto de organismos vivos que habitam o solo, incluindo plantas, animais e microrganismos e seu bem como seu ambiente abiótico. A natureza exata desse habitat é determinada por uma complexa interação de geologia, do clima e da vegetação, isto é, interação entre material mineral e orgânico com a temperatura, a pluviosidade, a altitude, a latitude, a exposição ao sol, ao vento, e muitos outros fatores. Isto faz do solo um habitat extremamente peculiar com relação a outros habitats terrestres, tendo em vista sua natureza heterogênea, complexa e dinâmica (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PAUL, 2015). Tais características permitem que microrganismos com metabolismos díspares possam conviver lado a lado, interagindo em estado de equilíbrio dinâmico, muitas vezes com relações de dependência essenciais para sua sobrevivência, proporcionando assim condições ideais para uma biodiversidade extremamente elevada (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Atualmente, sabe-se que o metabolismo e a sobrevivência dos microrganismos são fortemente influenciados pelo tipo de solo e por diversos fatores ambientais. A estrutura das comunidades microbianas também está relacionada a diversos fatores, tais como: tamanho de partículas, pH, capacidade de intercambio de íons, conteúdo de matéria orgânica, concentração de oxigênio e temperatura (GARBEVA et al., 2004). Em contraste com outros habitats, ambientes superficiais do solo podem sofrer alterações drásticas de suas características e, como consequência, a composição das comunidades microbianas do solo flutua bastante (DANIEL, 2006).

A maioria dos processos naturais tem o solo como o centro dinâmico, crítico e regulador e, este, não só abriga uma grande proporção da biodiversidade da Terra, mas também fornece substrato físico para a maioria das atividades humanas. Embora os solos já tenham sido amplamente estudados e classificados quanto às suas características físicas e químicas, o conhecimento de sua biodiversidade e função no ecossistema é muito mais complexo (COLEMAN et al., 2004). A exemplo disso, enquanto milhões de bactérias e fungos são frequentemente encontrados em solo fértil e de superfície, apenas cerca de 0,1% de taxa microbianos foram cultivados e seu papel entendido em solos mais profundos ou distantes da rizosfera (BARRIOS, 2007).

A microbiota do solo possui representantes de todos os grupos (bactérias, fungos, algas e vírus) que desempenham papel fundamental nos processos que afetam funções do ecossistema (AZEVEDO et al., 2010). Estima-se que microrganismos estão envolvidos em mais de 80% das reações que ocorrem no solo. Desses microrganismos os fungos representam, na maioria dos habitats do solo, grande parte da biomassa microbiana, desempenhando papel importante como decompositores de substratos complexos e participam do ciclo natural do carbono, do nitrogênio e do fósforo, representando até 90% da produtividade primária líquida desses elementos na maioria dos ecossistemas terrestres (BELL et al., 2009; JOERGENSEN; WICHERN, 2008; PAUL, 2015).

O sucesso na colonização e a riqueza de fungos no solo estão relacionados à sua habilidade saprofítica e competitiva, ao rápido crescimento micelial, à produção de esporos, à produção de enzimas, assim como à tolerância a agentes alopáticos, à salinidade, a metais pesados, a fungicidas naturais e à variação de temperatura (AZEVEDO et al., 2010). Muitos fungos que habitam o solo são considerados saprófitos, ou seja, que decompõem a matéria orgânica e contribuem para a ciclagem dos nutrientes. Outros, por sua vez, formam micorrizas com diversas espécies de plantas (PFENNING; ABREU, 2006).

Os gêneros mais comuns de fungos filamentosos encontrados no solo são representantes de *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Fusarium*, *Pythium*, *Verticillium* e *Alternaria* (GAMS, 2007). Esses microrganismos possuem a capacidade de secretar enzimas no meio ambiente, cuja função é auxiliar na degradação de produtos e compostos. É amplamente verificado na literatura que espécies do gênero *Aspergillus* são encontradas com mais frequência em solos tropicais, enquanto espécies de *Penicillium* são mais comumente encontradas em solos de regiões temperadas, também chamados solos boreais. Fungos pertencentes aos dois gêneros encontrados em solo são empregados em processos biotecnológicos, devido à produção de enzimas, aos antibióticos e a outros compostos de proveito industrial (PAUL, 2015; SCHUSTER et al., 2002).

Fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* têm sido amplamente estudados quanto à sua capacidade de solubilizar fosfatos inorgânicos insolúveis (CHANG; YANG, 2009; NARSIAN et al., 2010). Estes microrganismos fosfato solubilizadores podem transformar a forma insolúvel de fosfatos em forma solúvel por meio de quelação, de reações de troca iônica e principalmente de acidificação (WANG et al., 2007).

## 2.2 O Quadrilátero Ferrífero e o solo de canga

A região conhecida como Quadrilátero Ferrífero (QF) constitui uma das mais importantes regiões mineradoras do Brasil e situa-se no centro-sul do estado de Minas Gerais com extensão territorial de aproximadamente 7200 km<sup>2</sup>. É uma área próxima à capital Belo Horizonte, formada pelas cidades de Sabará, Rio Piracicaba, Congonhas, Casa Branca, Itaúna, Itabira, Nova Lima, Santa Bárbara, Mariana, Ouro Preto, entre outras. Compreende quatro grandes conjuntos de acordo com a sua litoestratigrafia: Embasamento Cristalino, Super grupo Rio das Velhas, Super grupo Minas, e Grupo Itacolomi. Além disso, situa-se na zona entre dois *hotspots* brasileiros: Mata Atlântica e o Cerrado (DORR, 1969; RAMOS, 2016; ALMEIDA; HASUI, 1984). Nessa região encontram-se jazidas de ferro (Fe), manganês (Mn), ouro (Au), bauxita e pedras preciosas, como topázio e esmeralda (ROESER; ROESER, 2010). Os solos presentes nesta área são muito diversificados no que diz respeito à sua classificação, sendo predominante o latossolo vermelho com altos teores de ferro (AZEVEDO et al., 2012).

Durante o ciclo do ouro em meados do século XVII, a região do Quadrilátero Ferrífero foi ocupada pelos portugueses, o que proporcionou o avanço da urbanização pelo estado de Minas Gerais, entretanto com a decadência do ouro nas aluviões, deu-se início a exploração do minério de ferro (LAMOUNIER et al., 2011).

A origem do topônimo ‘Quadrilátero Ferrífero’ permanece incerta. É provável que o nome tenha sido dado pelo geólogo Luiz F. M. Rego em 1933 devido ao arranjo geométrico “planimétrica quadrangular” de suas principais macroestruturas e às megajazidas de ferro que as compõe (MACHADO, 2009).

Do ponto de vista geomorfológico, o Quadrilátero Ferrífero está inserido nas terras altas do centro de Minas, com grande diversidade de relevo e altitudes máximas na casa dos 2000 m. Hospeda as cabeceiras das bacias dos rios das Velhas e Doce, duas dentre as principais bacias hidrográficas brasileiras, e apresenta grande diversidade de biomas, que incluem resquícios de mata atlântica, bem como trechos de cerrado. É a sede de diversas áreas de proteção ambiental e de diversas categorias de unidades de conservação. Áreas protegidas por lei, dentre as quais, pode-se destacar a área de Proteção Ambiental das Andorinhas, o Parque Estadual do Itacolomi, a Floresta do Uaimii, o Parque Estadual do Rola-Moça e a Estação Ecológica do Tripuí (QFE-2050, 2009; AZEVEDO et al., 2012).

Diversas fitofisionomias ocorrem no QF tais como a floresta estacional semidecidual, as matas de galeria, os capões de altitude, o campo sujo, o campo cerrado e os campos rupestres, integrando um mosaico em função da geodiversidade, dos tipos de solos e dos



gradientes altitudinais e climatológicos (CARMO, 2010; JACOBI; CARMO, 2008; VINCENT; MEGURO, 2008).

A extração de minério é responsável por inúmeros investimentos no Brasil e representa um dos setores básicos da economia nacional. Em Minas Gerais, o QF desempenhou papel fundamental no avanço econômico do estado, tornando-se atualmente responsável por aproximadamente 70% da produção nacional do minério de ferro, provindos de 50 minas em atividade na região. Os municípios localizados no QF são responsáveis, ainda, por 26,8% do PIB de Minas Gerais (QFE-2050, 2009). Está previsto que o setor brasileiro de produção de minérios de ferro cresça cerca de 3% ao ano e alcance a produção anual de 281 milhões de toneladas de minério de ferro afim de que sejam suprimidas as demandas nacionais e internacionais (DNPM, 2010). Contudo, a degradação de extensas áreas devido às atividades mineradoras a céu aberto tem trazido sérios prejuízos econômicos e, principalmente, graves danos ao ambiente. Esse tipo de atividade, além de alterar as características originais dos solos, leva à perda de grande parte de seus conteúdos de matéria orgânica e da biodiversidade natural, condições básicas para uma atividade biológica sustentável (MENDES FILHO, 2004).

O Quadrilátero Ferrífero é considerado de “importância biológica extrema” para a conservação da biodiversidade no estado, em razão da grande diversidade geológica e de sua riquíssima variedade biológica (AZEVEDO et al., 2012; COSTA, 1998). Além disso, integra também um conjunto de cerca de 1.560 áreas prioritárias para a conservação da biodiversidade brasileira e contém 12 Áreas-Chave para a Conservação da Biodiversidade - ACBs representando 11% do total de ACBs em Minas Gerais. (GIULIETTI et al., 2009; CARMO, 2010).

Segundo Marent et al. (2011), apesar do número significativo de unidades de conservação no seu interior, elas têm sido insuficientes para a conservação do seu meio ambiente. Com a crescente demanda por recursos naturais e, ao mesmo tempo a redução cada vez maior dos habitats naturais surge frequentemente antagonismos entre a exploração e a preservação.

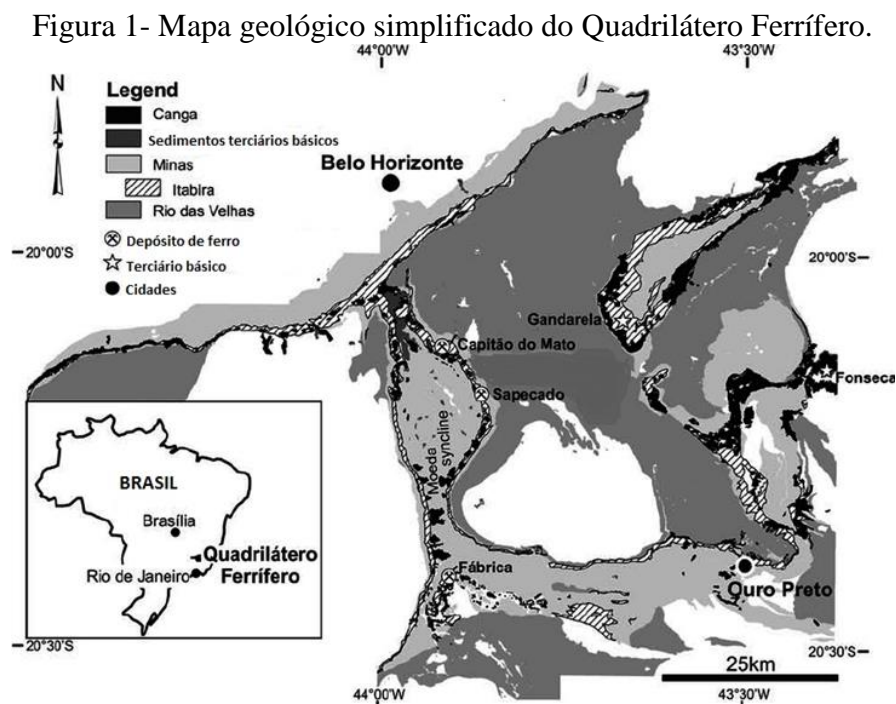
Nesta região, encontram-se afloramentos rochosos com uma quantidade grande de ferro, o que torna o ambiente bastante adverso para muitas espécies de plantas e microrganismos. Apesar desta condição, o QF apresenta uma grande diversidade florística e de fungos filamentosos, com altos níveis de endemismo (JACOBI; CARMO, 2008; RAMOS 2016). Devido à sua associação com um extenso depósito de minério de ferro e, por ser um dos ecossistemas menos estudados do Brasil, o QF tem uma biodiversidade local e regional

seriamente ameaçada devido à intensa atividade de mineração associada aos afloramentos de ferro.

O primeiro relato da definição de canga foi dado por Eschwege em 1822, que a descreve como conglomerado de rocha ferruginosa composto por variedades de hematita cimentadas por limonita (Renger, 2005). Em 1964 uma definição mais ampla e aceita foi estabelecida por Dorr:

...uma rocha formada por material detrítico derivado de itabiritos e hematitas, cimentado por limonita. Ela é moderadamente dura, bem consolidada, levemente permeável e muito resistente à erosão e ao intemperismo químico. A canga forma extensos depósitos em ou próximo de superfícies erosivas atuais ou antigas.

Áreas de canga (FIGURA 1) são caracterizadas por complexos de solos que formam afloramentos de rocha, os quais resultam em grandes couraças, ocorrendo na Serra dos Carajás, (PA), em Caetité (BA), em Morraria de Urucum (MS) e, principalmente, no Quadrilátero Ferrífero (MG) dentro de uma área de cerca de 100 km<sup>2</sup> (CARMO, 2013; DORR 1969; VIANA 2016). Estão associadas aos litotipos ricos em ferro, por isso são designadas como formações ferríferas bandadas – FFB, sendo o Brasil um dos locais com maiores ocorrências de FFB do planeta (CASTRO, 2008). Estas formações ferríferas são únicas quando se consideram os processos de formação e as potencialidades minerais (PIACENTINI et al., 2007).



Legenda: O mapa enfatiza a distribuição da canga, formando cenário do planalto que caracteriza a região montanhosa do Quadrilátero Ferrífero.

Fonte: Cabral (2012), adaptado de Dorr (1969).

Canga couraçada e canga nodular são os dois tipos fisiográficos básicos. A primeira é composta por campo sujo e componente lenhoso subarbustivo ao lado de espécies herbáceas epilíticas de neossolos, ao passo que a segunda é caracterizada por substratos dissociados e sem ocorrência de afloramentos rochosos (RIZZINI, 1979). Nesses afloramentos, algumas áreas podem chegar a mais de 30 metros de espessura formando “ilhas de ferro” localizadas em cumes e encostas de serras, em altitudes que variam de 900 a 1.900 m (SIMMONS, 1963).

Os solos de canga do Quadrilátero Ferrífero são altamente distróficos e ligeiramente ácidos, ambas as características são consequência do avançado grau de intemperismo responsável pela intensa lixiviação de nutrientes e cargas elétricas (SCHAEFER, 2008). Os substratos de canga contêm pouco fósforo (P), magnésio (Mg) e cálcio (Ca), mas muito ferro (Fe) e manganês (Mn) (VINCENT; MEGURO, 2008; OLIVEIRA et al., 2009).

Os sistemas subterrâneos – cavernas ferruginosas – associados às cangas localizadas no Quadrilátero Ferrífero abrigam uma comunidade de invertebrados com uma extrema complexidade estrutural, grande diversidade de organismos troglomórficos com várias ocorrências de espécies novas para a ciência – e elevada diversidade beta. As espécies troglomórficas representam ampla relevância em função de sua história evolutiva e distribuição restrita (FERREIRA, 2005; SILVA, 2007).

Em levantamentos florísticos, cerca de 500 espécies foram relatadas até agora. Segundo Jacobi e Carmo (2011), foram identificadas 86 famílias, 250 gêneros e 458 espécies de plantas vasculares. Com relação aos microrganismos, o trabalho feito por Ramos em 2016 registrou que, dos 168 isolados de fungos do QF genotipados por ISSR, 26% foram oriundos de áreas de Canga, dentre os quais 83,9% pertencem aos gêneros *Penicillium*, *Trichoderma* e *Aspergillus*.

### 2.3 O gênero *Aspergillus*

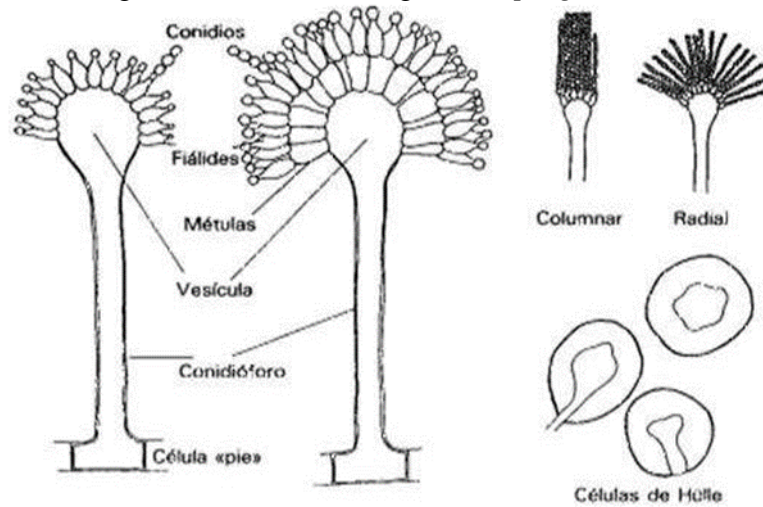
A família *Trichocomaceae*, até 2011, era composta por diversos gêneros de fungos, nos quais se enquadrava o gênero *Aspergillus*, todavia em um extenso trabalho feito por Houbraken e colaboradores, a taxonomia foi reavaliada e essa família foi subdividida em: *Aspergillaceae* (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Hamigera*, *Leiothecium*, *Monascus*, *Penicilliopsis*, *Phialomyces*, *Sclerocleista*, *Warcupiella* e *Xeromyces*), *Trichocomaceae* (*Rasamsonia*, *Sagenomella*, *Talaromyces*, *Thermomyces* e *Trichocoma*) e *Thermoascaceae* (*Byssochlamys/Paecilomyces* e *Thermoascus*) (HOUBRAKEN et al., 2011).

*Aspergillus* foi descrito pela primeira vez pelo padre italiano e biólogo Pietro Antonio Micheli em 1729, e a nomenclatura foi dada em virtude da semelhança entre a

estrutura reprodutiva assexuada (conidióforo) e o utensílio utilizado em igrejas para orvalhar água benta, chamado “Asperges”. Porém, apenas em 1926 que foi publicada a primeira monografia por Tom e Church. Em 1965, Raper e Fennell dividiram as espécies considerando suas características morfológicas, enquanto Gams, em 1985, dividiu o gênero em seções (BENNET, 2010; MICHELI, 1729; GIBBONS; ROKAS, 2013).

Durante anos, muitos manuais de identificação morfológica foram lançados com o intuito de delimitar espécies (THOM; RAPER 1945; KLICH; PITT, 1988; KLICH 2002). A taxonomia de *Aspergillus* é complexa e sofre mudanças com o tempo. A cada nova tecnologia de identificação, suas espécies vão sendo realocadas e novas espécies são igualmente descobertas. A identificação é tradicionalmente baseada na caracterização cultural e morfológica (RAPER; FENNEL, 1965; SAMSON; VARGA, 2010), embora os perfis bioquímico, genético e ecológico acrescentem informações taxonômicas importantes na abordagem polifásica, que abrange conhecimentos menos limitados em todos os aspectos biológicos destes organismos (PETERSON, 2008; VISAGIE et al., 2014; SILVA et al., 2015).

A hifa ereta proveniente da célula pé é denominada conidióforo, o qual se dilata para dar origem a uma forma arredondada ou elíptica, nomeada como vesícula. Na área fértil da vesícula são formadas células conidiogênicas, métulas e fiálides que produzem cadeias longas de esporos mitóticos, intitulados conídios. Todo este aparato é denominado aspergilli (FIGURA 2), que pode ser bisseriado, quando há métulas e fiálides, ou unisseriado, quando apenas fiálides surgem da vesícula (BENNET, 2010). Além do aspergilli, outras estruturas morfológicas podem auxiliar na identificação do gênero, tais como, cleistotécios, escleródios e células de Hülle. O cleistotécio e o escleródio são estruturas capsulares, fechadas e esféricas que podem ser abundantes em colônias de algumas espécies de *Aspergillus*. O cleistotécio é característico do estágio sexual reprodutivo e contém ascósporos meióticos no interior do asco. A estrutura escleródio é composta por massas de micélio torneadas e sua função está relacionada com a sobrevivência em condições adversas (BENNET, 2010).

Figura 2- Micromorfologia de *Aspergillus*.

Fonte: Control Calidad SEIMC.

A fácil dispersão dos esporos, inclusive a longas distâncias, é uma característica marcante desse gênero. Este fator ocorre em razão das estruturas reprodutivas produzirem quantidades grandes de esporos leves, além de se adaptarem a diferentes ambientes, mesmo com poucos recursos como água, luz e nutrientes. Eles também podem crescer em uma ampla gama de temperatura (6-55°C) e com uma umidade relativamente baixa. Essa capacidade de aerolização e disseminação no ambiente o prioriza em qualquer nicho ecológico (MCCORMICK et al., 2010; KRIJGSHELD et al., 2013).

Na última revisão do gênero *Aspergillus*, realizada por Samson e colaboradores (2014) sugerem que este gênero apresenta até o momento 4 subgêneros: *Aspergillus*, *Circumdati*, *Fumigati* e *Nidulantes*, e 23 seções: *Aeni*, *Aspergillus*, *Bispori*, *Candidi*, *Cervini*, *Circumdati*, *Clavati*, *Cremeri*, *Flavi*, *Flavipedes*, *Fumigati*, *Jani*, *Nidulantes*, *Nigri*, *Ochraceorosei*, *Raperi*, *Restricti*, *Robusti*, *Silvati*, *Sparsi*, *Terrei*, *Usti* e *Versicolores* (SKLENÁŘ et al., 2017; HOUBRAKEN et al., 2014; HUBKA et al., 2014; JURJEVIĆ et al., 2015; DESPOT et al., 2017). Aproximadamente um terço das espécies de *Aspergillus* também possui a forma sexuada descrita. No entanto, com a mudança do novo Código Internacional de Nomenclatura para algas, fungos e plantas, as espécies dos gêneros como *Neosartorya*, *Emericella*, *Eurotium* e *Petromyces* passaram a se enquadrar em um único gênero: *Aspergillus*. Embora tenha sido bastante estudado, a sistemática desse gênero ainda apresenta constantes mudanças devido aos recentes estudos de filogenia molecular e quimiotaxonômicos (SAMSON; VARGA, 2009; SAMSON et al., 2014).

A identificação correta de *Aspergillus* é fundamental, levando-se em consideração o elevado número de identificações errôneas, as quais ocorrem muitas vezes por se utilizar

apenas um método ou falta de experiência com o gênero. Outra explicação para a falha nas identificações está relacionada ao fato de que muitas espécies são fenotipicamente idênticas. Por sua vez, estirpes isoladas de tecido humano ou animais, ou armazenados por longos períodos de tempos, tendem a ter uma esporulação mais restrita, o que pode levar a uma variação na micromorfologia, por exemplo (SAMSON et al., 2014; LATGÉ, 1999). Os *Aspergillus* são bastante diversos, considerados cosmopolitas e amplamente distribuídos na natureza (KLICH, 2002). As espécies desse gênero são costumeiramente reconhecidas por deteriorar alimentos (saprófitos), produzir micotoxinas e algumas são frequentemente descritas como patógenos humanos e animais. Inúmeras espécies são utilizadas na biotecnologia para a produção de uma variedade metabólitos, tais como antibióticos, ácidos orgânicos, medicamentos, enzimas e agentes em fermentações (SAMSON et al., 2014).

#### **2.4 O gênero *Penicillium***

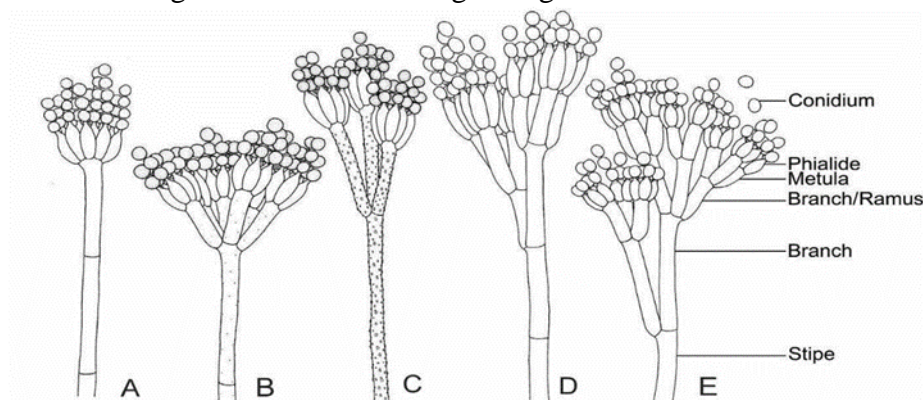
Assim como *Aspergillus*, o gênero *Penicillium* também se encontra na família *Aspergillaceae*, ordem *Eurotiales*, classe *Eurotiomycetes* e filo *Ascomycota* e é considerado um dos gêneros mais importantes desse filo. São conhecidos por apresentarem impactos positivos e negativos sobre as atividades humanas (HOUBRAKEN et al., 2011).

O nome *Penicillium* foi introduzido a primeira vez por Link em 1809 e é derivado de *Penicillus*, que significa "pequeno pincel" em latim. Mas foi apenas em 1901 que Dierckx introduziu os sistemas de subgêneros *Aspergilloides*, *Biverticillium* e *Eupenicillium*. A monografia "The Penicillia" escrita por Thom (1930) foi uma das mais importantes contribuições para o conhecimento desse gênero. Pitt, em 1979, subdividiu o gênero em relação aos tipos de ramificações de suas estruturas reprodutivas assexuadas (conidióforos) e coloração das colônias, delimitando assim 4 subgêneros, 12 seções e 18 subseções.

Embora esse gênero tenha muitas variações de cores e tamanhos, as características básicas são de micélio vegetativo abundante, irregularmente ramificado, septado, hialino ou de cores vivas, formando colônias de micélios densa e compacta com margens bem definidas. Conidióforos provenientes da superfície indiferenciados, podendo haver hifas aéreas. Estipes relativamente estreitas e de paredes finas, 2-5  $\mu\text{m}$  e em algumas espécies apicalmente inchadas, hialinas, em algumas espécies marrons. Penicilli composto com um, dois ou raramente mais vértices de métula e ramos como células de suporte, raramente excedendo 15  $\mu\text{m}$  de comprimento, ampulliforme, raramente cilíndrico. Conídio em cadeias não ramificadas, unicelulares, comumente entre 2-5  $\mu\text{m}$  de diâmetro e superior a 6  $\mu\text{m}$ . Colônias coloridas em tons de verde, esporadicamente branco ou marrom. Clamidósporos ausentes.

Ocasionalmente produzem escleródios, composto de células de paredes grossas e parenquimatosas. Fase sexuada às vezes produzida, geralmente dura, globosa a subglobosa amadurecendo do centro para fora e muitas vezes tardiamente, branco, pálido, amarelo, laranja ou marrom e algumas vezes preto ou vermelho. Ascos elipsoidal a globosa, geralmente de 5-15  $\mu\text{m}$ . Ascósporos lenticular de 2-5  $\mu\text{m}$  geralmente com cristas equatoriais (HOUBRAKEN; SAMSON, 2011; RAPER; THOM, 1949) (FIGURA 3).

Figura 3- Micromorfologia do gênero *Penicillium*.



Legenda: A: Monoverticilado; B e C: Biverticilado; D: Terverticilado; G: Poliverticilado.

Fonte: Visagie et al., (2014).

São reconhecidas cerca de 360 espécies, subdivididas em quatro subgêneros *Aspergilloides*, *Penicillium*, *Furcatum* e *Biverticillium*. Recentemente os três primeiros foram incluídos no gênero *Penicillium* e *Biverticillium* sob *Talaromyces* e 26 seções *Aspergilloides*, *Brevicompacta*, *Canescentia*, *Charlesii*, *Chrysogena*, *Cinnamopurpurea*, *Citrina*, *Digitata*, *Eladia*, *Exilicaulis*, *Fasiculata*, *Fracta*, *Gracilentia*, *Lanata-divaricata* *Osmophila*, *Paradoxa*, *Penicillium*, *Ramigena*, *Ramosa*, *Robsamsonia*, *Roquefortorum*, *Sclerotiora*, *Stolkia*, *Thysanophora*, *Torulomyces* e *Turbata* (HUBKA et al., 2015; HOUBRAKEN; SAMSON, 2011; HOUBRAKEN et al., 2016; PERRONE, 2017).

A classificação desse gênero não é simples, e a realocação de espécies é comum. A utilização, somente das características morfológicas leva a muitos erros de identificação que, atualmente, só é aceita quando variados procedimentos de análises (morfológica, moleculares e fisiológicas) são aplicados. Essa confluência de técnicas é chamada de taxonomia polifásica e é imprescindível no estudo da diversidade de *Penicillium* e fungos em geral (SAMSON et al., 2011; VISAGIE et al., 2014).

Os *Penicillium* ocorrem de forma generalizada em ambientes terrestres e são encontrados inclusive em ambientes aquáticos. Desde a descoberta da penicilina espécies de

*Penicillium* têm sido avaliadas, com sucesso, quanto à produção de diversificados tipos de metabólitos secundários ativos, incluindo substâncias antibacterianas (PETIT et al., 2009; LIN et al., 2018), larvicidas (DEVARAJAN et al., 2017), antioxidantes (YANG et al., 2017), antifúngicas (NICOLETTI et al., 2007), anti-inflamatórios (HA et al., 2017), pigmentos (VIGGIANO et al., 2017; CELESTINO et al., 2014) e também micotoxinas potentes (FRISVAD; SAMSON, 2004). Muitas dessas espécies, fontes de novos produtos inovadores e fármacos, foram isoladas de solo. Além disso, produzem diversas enzimas de interesse industrial, e algumas espécies podem ser utilizadas no biocontrole de insetos (PALLU, 2010; AHMED, 2018).

## 2.5 O gênero *Talaromyces*

O gênero *Talaromyces* sempre foi estritamente relacionado ao gênero *Penicillium*, denominado como sua forma teleomorfa. Foi descrito por Benjamin (1955) e caracterizado por conter cleistotécio macios com as paredes entrelaçadas de hifas e tipicamente amarelos, ascomata com asco ovado e ascosporos globoso com espinhos. Stolk e Samson (1971) apresentaram o gênero *Hamigera* para espécies de *Talaromyces* que produziam asco único, limitando *Talaromyces* às espécies que produzem ascos em cadeias. Embora Pitt (1980) tenha considerado *Hamigera* sinônimo de *Talaromyces*, Houbraken e Samson (2011) detalharam em trabalho de filogenia que as espécies de *Talaromyces* termofílicas mostraram ser distintas de *T. byssochlamydoides*, *T. eburneus* e *T. emersonii*, e foram classificadas no novo gênero *Rasamsonia* e *Thermomyces* (HOUBRAKEN et al., 2012, 2014; HOUBRAKEN; SAMSON 2011; STOLK; SAMSON, 1972; BENJAMIN, 1955).

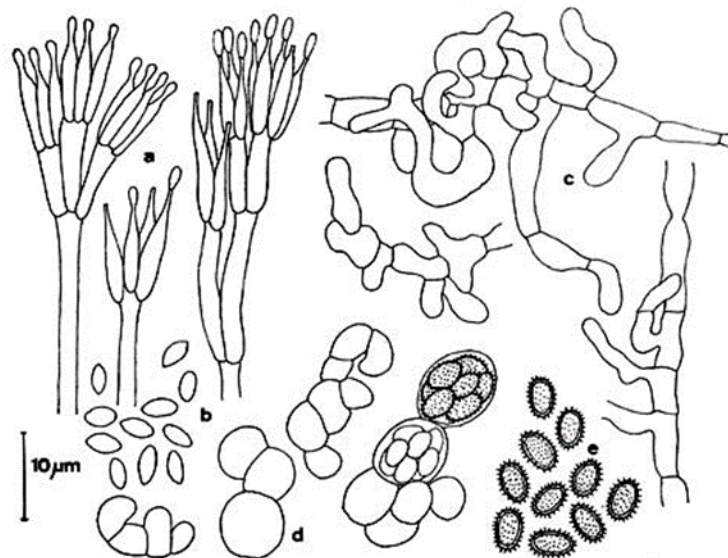
Diversos trabalhos documentaram que o subgênero *Biverticillium*, pertencente ao gênero *Penicillium sensu stricto*, forma um grupo polifilético (FRISVAD; FILTENBORG et al., 1990; LOBUGLIO et al., 1993; OGAWA et al., 1997; SEIFERT et al., 2004; WANG; ZHUANG, 2007). Houbraken e Samson (2011), usando uma filogenia de quatro genes, provaram que as espécies de *Biverticillium* e *Talaromyces* formam um clado monofilético. As espécies foram então recombinaadas, *Penicillium*, subgênero *Biverticillium*, agora pertencente ao gênero *Talaromyces* (SAMSON et al., 2011). Com as mudanças no Código Internacional de Nomenclatura para algas, fungos e plantas, as espécies filogeneticamente relacionadas devem ser tratadas sob o mesmo nome independentemente de suas formas sexuadas ou assexuadas (MCNEILL et al., 2012).

Como base os *Talaromyces* apresentam colônias em meio de cultura CYA geralmente com reverso amarelo ou vermelho e /ou pigmentos solúveis, em CYAS nenhum crescimento



ou crescimento muito restrito, às vezes produzem sinemata. Conidióforos com elementos lisos ou de paredes ásperas, simetricamente biverticilado, com menor proporção de ramos subterminais (em algumas espécies com um único ramo lateral subterminal que depois repete o padrão de ramificação do eixo principal), algumas espécies monoverticiladas ou com polialídeos solitários. Estipes geralmente hialina, terminando em uma métula espiral de 3-10. Células conidiogênicas fialídicas, comprimento aproximadamente igual da métula, tipicamente acerosa. Conídio asseptado, em cadeias basipetas, comumente elipsoidal a fusiforme, raramente globoso a subgloboso ou ovoidal (FIGURA 4). Ascomata cleistotecial, quando produzido, normalmente com parede macia, com exterior recoberto por hifas, muitas vezes amarela, ocasionalmente branco, creme, rosado, laranja, avermelhado ou verde. Asco produzido em cadeias, contendo oito ascosporos, raras vezes dois. Ascosporos unicelulares, elipsoidais a globosos, dificilmente macios, muitas vezes com espinhos, hialino a amarelo, eventualmente vermelho. Os anamorfos são muito semelhantes aos *Penicillium* e muitas vezes é difícil diferenciá-los morfológicamente (YILMA et al., 2014).

Figura 4 – Micromorfologia de *Talaromyces*.



Fonte: Stolk e Samsom (1972), adaptado.

Com base em análise filogenética multigenes ITS, *BenA* e *RPB2*, foi proposta uma nova classificação para o gênero, colocando as 88 espécies aceitas em sete seções, denominadas como: *Bacillispori*, *Helici*, *Islandici*, *Purpurei*, *Subinflati*, *Talaromyces* e *Trachyspermi*. Para identificação molecular, o gene *BenA* é sugerido como um marcador molecular secundário ao *barcode* ITS (YILMAZ et al., 2014).

Embora raras, algumas espécies de *Talaromyces* são importantes patógenos oportunistas, causando principalmente doenças pulmonares. *Talaromyces marneffe* é a mais conhecida, podendo causar uma micose fatal, especialmente em indivíduos imunocomprometidos por HIV (USTIANOWSKI et al., 2008; MOHSIN et al., 2017; ZHANG et al., 2017). *Talaromyces marneffe* é a única espécie conhecida dimórfica no gênero, produzindo crescimento filamentosos em 25° C e uma fase leveduriforme a 37 °C (ANDRIANOPOULOS, 2002). *Talaromyces purpurogenus* e *Talaromyces amestolkiae* também já foram relatados como causadores de doenças pulmonares (ATALAY et al., 2016; VILLANUEVA-LOZANO, 2017).

Entretanto, outras espécies são capazes de produzir substâncias benéficas através de metabólitos secundários como anti-inflamatórios, ácidos, ergosteróis, óleos, antibióticos, pigmentos, entre outros (CHEN et al., 2018; ZHANG et al., 2017; REN et al., 2017; DE GOES et al., 2017; NOINART et al., 2017; FRISVAD et al., 2013).

## 2.6 Taxonomia de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*

A taxonomia tem como objetivo descrever, identificar e classificar os seres vivos, informando se um organismo pertence ou não ao grupo predefinido na classificação (MOORE et al., 2010). A identificação de fungos foi primeiramente baseada em características micro e macromorfológicas, entretanto esse método esbarra, muitas vezes, em aspectos como pouca variação morfológica entre espécies ou o que se conhece como espécies crípticas. Essas últimas se referem a um grupo que satisfaz a definição biológica, isto é, são isoladas reprodutivamente entre si, mas são morfologicamente idênticas (BICKFORD et al., 2007).

As técnicas morfológicas de identificação são importantes, porém associadas a outras técnicas para sua validação. Colwell em 1970 sugeriu a ideia de um consórcio de múltiplas técnicas como a melhor forma de se chegar ao resultado mais preciso de identificação, conhecido atualmente como taxonomia polifásica. Essa técnica envolve análises fenotípicas, genéticas, fisiológicas, químicas e dados ecológicos (RODRIGUES et al., 2011; SAMSON; VARGA, 2009).

A taxonomia dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* vem sendo reavaliada utilizando a taxonomia polifásica, e os dados moleculares são baseados em sequenciamento multilocus de genes conservados como  $\beta$ -tubulina, calmodulina e *RPB2* (VISAGIE et al., 2016; HOUBRAKEN et al., 2014; YILMAZ et al., 2014). A região ITS do rDNA é considerada *barcode* para fungos, e bastante efetiva na separação de gêneros, todavia a maioria das espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* apresentaram

pouca ou nenhuma variação em suas sequências e a separação intra-específica apenas pelo *barcode* não é possível (HOUBRAKEN et al., 2011; VISAGIE et al., 2014).

Análises bioquímicas como, por exemplo, a produção de metabólitos secundários, são importantes ferramentas na identificação de fungos, pois são, muitas vezes, capazes de gerar perfis metabólitos únicos para cada espécie. Estudos quimiotaxonomicos de *Talaromyces* (FRISVAD et al., 1990) e de *Penicillium* (FRISVAD; FILTENBORG, 1990; NIELSEN et al., 2006) mostraram que parte destes pode ser classificada com base em metabólitos secundários em combinação com morfologia e fisiologia. Da mesma forma, espécies de *Aspergillus* possuem perfis altamente específicos de metabólitos e apontam para a mesma espécie de morfologia, fisiologia e dados de sequência de DNA (FRISVAD et al., 2008). Entretanto, isolados de *Aspergillus* das seções *Flavi*, *Nigri* e *Circumdati*, por exemplo, produzem um grande número de metabólitos secundários idênticos (FRISVAD; SAMSON, 2000; FRISVAD et al., 2004), portanto essa técnica deve ser usado com cautela. Quando usada isoladamente permite identificação inequívoca em nível de espécies. A melhor maneira de usar extratos como auxiliares de identificação é extraí-los e separá-los por HPLC e, em seguida, identificar parcial ou totalmente a quantidade de metabólitos secundários possível, geralmente usando tecnologia baseada em espectroscopia de massa (FRISVAD et al., 2008).

Outra técnica auxiliar é a impressão digital de espectrometria de massa por tempo de voo com dessorção/ionização assistida por matriz (MALDI-TOF MS). Foi aplicado com sucesso à identificação de bactérias (SIEGRIST et al., 2007; ANGELETTI et al., 2017) e espécies de leveduras (AMIRI-ELIASI; FENSELAU, 2001; KOLECKA et al., 2013). Foi encontrado apenas um número limitado de estudos focados em *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* (WELHAM et al., 2000; HETTICK et al., 2011; CHALUPOVÁ et al., 2014; NORMAND et al., 2017) e *Aspergillus* (LUETHY et al., 2018; DE CAROLIS et al., 2011; VERWER et al., 2013). Embora esses estudos relatem que MALDI-TOF MS distingue entre espécies, observa-se um grande grau de variação dentro de uma espécie, mesmo entre duplicatas da mesma cepa (SHAFER et al., 2017). Isso significa que os dados de um alto número de tensões terão de ser incluídos no banco de dados para tornar possíveis identificações robustas. Dificuldades com identificações também são relatadas em *Aspergillus* e nem todas as cepas podem ser identificadas com 100% de precisão (IRIART et al., 2012; VERWER et al., 2013). Assim, podemos concluir que, embora essa técnica seja promissora, continua sendo necessário muito trabalho para tornar possíveis identificações de rotina (YILMAZ et al., 2014).

## REFERÊNCIAS

- AHMED, K. Enhanced production, purification and characterization of industrial enzyme by *Penicillium lilacinum* (Thom, 1910). **World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biotechnology and Bioengineering**, Abu Dhabi, v. 5, n. 1, p. 2018, 2018.
- ALMEIDA, F. F. M.; HASUI, Y. **O pré-cambriano do Brasil**. São Paulo. Editora Edgard Blücher, 1984.
- AMIRI-ELIASI, B.; FENSELAU, C. Characterization of the protein subset desorbed by MALDI from whole bacterial cells. **Analytical Chemistry**, Singapore, v. 73, n. 4, p. 746–750, 2001.
- ANDRIANOPOULOS, A. Control of morphogenesis in the human fungal pathogen *Penicillium marneffei*. **International journal of medical microbiology**, Singapore, v. 292, n. 5–6, p. 331–347, 2002.
- ANGELETTI, S. Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical microbiology. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 138, p. 20-29, 2017.
- ATALAY, A. et al. Pulmonary infection caused by *Talaromyces purpurogenus* in a patient with multiple myeloma. **Le infezioni in medicina: rivista periodica di eziologia, epidemiologia, diagnostica, clinica e terapia delle patologie infettive**, Salerno, v. 24, n. 2, p. 153–157, 2016.
- AZEVEDO, E. et al. Biodiversity of filamentous fungi on soils and sands In: RAI, M.; KÖVICS, G. (Eds.). **Progress in Mycology**. New Pali: Scientific Publishers, 2010. p. 233–257.
- AZEVEDO, Ú. R. DE et al. **Geoparque Quadrilátero Ferrífero (MG)**. Belo Horizonte: Geoparques do Brasil/Propostas, 2011.
- BARRIOS, E. Soil biota, ecosystem services and land productivity. **Ecological Economics**, Amsterdam, v. 64, n. 2, p. 269–285, 2007.
- BELL, C. W. et al. Linking microbial community structure and function to seasonal differences in soil moisture and temperature in a Chihuahuan Desert grassland. **Microbial Ecology**, New York, v. 58, n. 4, p. 827–842, 2009.
- BENJAMIN, C. R. Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium*. **Mycologia**, New York, v. 47, p. 669–687, 1955.
- BENNET, J. W. **An overview of the genus *Aspergillus***. 2010. Disponível em: < [http://open-access biology.com/aspergillus/aspergillusch1.pdf](http://open-access.biology.com/aspergillus/aspergillusch1.pdf) > Acesso em: 22 jan. 2018.

- BICKFORD, D. et al. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, Graz, v. 22, n. 3, p. 148–155, 2007.
- CABRAL, A. R. et al. Dating the Itabira iron formation, Quadrilátero Ferrífero of Minas Gerais, Brazil, at 2.65Ga: Depositional U-Pb age of zircon from a metavolcanic layer. **Precambrian Research**, Kinshasa, v. 204-205, p. 40-45, 2012.
- CARMO, F. F.; JACOBI, C. M. A vegetação de canga no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais: caracterização e contexto fitogeográfico. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 3, p. 527–541, 2013.
- CARMO, F. F. Importância Ambiental e Estado de Conservação dos Ecossistemas de Cangas no Quadrilátero Ferrífero e Proposta de Áreas-Alvo para a Investigação e Proteção da Biodiversidade em Minas Gerais. **Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - Minas Gerais (MG)**, v. Dissertação, p. 1–90, 2010.
- CARMO, F.F. **Importância Ambiental e Estado de Conservação dos Ecossistemas de Cangas no Quadrilátero Ferrífero e Proposta de Áreas-Alvo para a Investigação e Proteção da Biodiversidade em Minas Gerais**. Dissertação (Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre), 98f. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- CELESTINO, J. D. R. et al. Bioprospecting of Amazon soil fungi with the potential for pigment production. **Process Biochemistry**, Singapore, v. 49, n. 4, p. 569–575, 2014.
- CHALUPOVÁ, J. et al. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry. **Biotechnology Advances**, Boston, v. 32, n. 1, p. 230–241, 2014.
- CHANG, C. H.; YANG, S. S. Thermo-tolerant phosphate-solubilizing microbes for multi-functional biofertilizer preparation. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 100, n. 4, p. 1648–1658, 2009.
- CHEN, A. J. et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section Cervini. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 85, p. 65–89, 2017.
- COLEMAN, D. C.; CROSSLEY, D. A.; HENDRIX, P. F. **Fundamentals of Soil Ecology**. 2. ed. Boston: Elsevier Academic Press, 2004.
- COSTA, C. M. R. **Biodiversidade em Minas Gerais: Um atlas para sua conservação**. 1. ed. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 1998.
- DANIEL, R. The metagenomics of soil. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 3, n. 6, p. 470–478, 2005.
- DE CAROLIS, E. et al. Species identification of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Mucorales* with direct surface analysis by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. **Clinical Microbiology and Infection**, Paris, v. 18, n. 5, p. 475–484, 2012.
- DE GOES, K. C. G. P. et al. *Talaromyces sayulitensis*, *Acidiella bohémica* and *Penicillium citrinum* in Brazilian oil shale by-products. **Antonie van Leeuwenhoek, International**

**Journal of General and Molecular Microbiology**, Dordrecht, v. 110, n. 12, p. 1637–1646, 2017.

DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL. **Anuário Mineral Brasileiro** –. Disponível em: <[http://www.dnpm.gov.br/portal/relatorios/amb/Completo\\_2010.pdf](http://www.dnpm.gov.br/portal/relatorios/amb/Completo_2010.pdf)>. Acesso em: 14 jan. 2018.

DESPOT, D. J. et al. New sterigmatocystin-producing species of *Aspergillus* section *Versicolores* from indoor air in Croatia. **Mycological Progress**, Tübingen, v. 16, n. 1, p. 63–72, 2017.

DIERCKX, R. P. Un essai de révision du genre *Penicillium*. **Annales de la Société scientifique de Bruxelles**, Bruxelas, v. 25, p. 83–89, 1901.

DORR II, J. V. N. Physiographic, stratigraphic, and structural development of the Quadrilatero Ferrífero, Minas Gerais, Brazil. **Geological Survey Professional Paper**, Dublin, n. 641–A, p. 110, 1969.

ESCHWEGE, W. L. VON. **Geognostisches Gemälde von Brasilien und wahrscheinliches Muttergestein der Diamanten**. Weimar: Landes-Industrie-Comptoir, 1822.

FERREIRA, R. L. A vida subterrânea nos campos ferruginosos. **O carste**, Goiânia, v. 3, n. 17, p. 106–115, 2005.

FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. Revision of *Penicillium* subgenus *Furcatum* based on secondary metabolites and conventional characters. In: SAMSON, R. A.; PITT, J. I. (Eds.). **Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. London: Springer US, 1989. p. 159–172.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. *Neopetromyces* gen. nov. and an overview of teleomorphs of *Aspergillus* subgenus *Circumdati*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 45, p. 201–207, 2000.

FRISVAD, J. C.; ANDERSEN, B.; THRANE, U. The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi. **Mycological Research**, Cambridge, v. 112, n. 2, p. 231–240, 2008.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 2004, n. 49, p. 1–173, 2004.

FRISVAD, J. C. et al. *Talaromyces atroroseus*, a new species efficiently producing industrially relevant red pigments. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 12, p. 1–15, 2013.

GAMS, W. The analysis of communities of saprophytic microfungi with special reference to soil. In: WINTERHOFF, W. (Ed.). **Fungi in vegetation science**. Netherland: Kluwer Academic, 1992. p. 183–223.

GARBEVA, P.; VAN VEEN, J. A.; VAN ELSAS, J. D. MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for

- Disease Suppressiveness. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 42, n. 1, p. 243–270, 2004.
- GIBBONS, J. G.; ROKAS, A. The function and evolution of the *Aspergillus* genome. **Trends in Microbiology**, New York, v. 21, n. 1, p. 14–22, 2013.
- GIULIETTI, A. M. **Plantas Raras do Brasil**. Belo Horizonte: Conservation International, 2009.
- GOMEZ, E.; PIOLI, R.; CONTI, M. Fungal abundance and distribution as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 43, n. 3, p. 373–377, 2007.
- HA, T. M. et al. Anti-inflammatory effects of curvularin-type metabolites from a marine-derived fungal strain *Penicillium* sp. SF-5859 in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophages. **Marine Drugs**, Beijing, v. 15, n. 9, p. 1–12, 2017.
- HETTICK, J. et al. Discrimination of Fungi by MALDI-TOF Mass Spectrometry. In: C, F.; ET AL. (Eds.). **Rapid Characterization of Microorganisms by Mass Spectrometry**. Washington, D.C: ACS Symposium Series American Chemical Society, 2011.
- HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 70, p. 1–51, 2011.
- HOUBRAKEN, J.; DE VRIES, R. P.; SAMSON, R. A. **Modern taxonomy of biotechnologically important aspergillus and penicillium species**. 1. ed. [s.l.] Copyright © 2014 Elsevier Inc. All rights reserved. v. 86, 2014.
- HOUBRAKEN, J. et al. *Penicillium araracuarensense* sp. nov., *Penicillium elleniae* sp. nov., *Penicillium penarojense* sp. nov., *Penicillium vanderhammenii* sp. nov. and *Penicillium wotroi* sp. nov., isolated from leaf litter. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Washington, v. 61, n. 6, p. 1462–1475, 2011.
- HUBKA, Vit et al. Revision of *Aspergillus* section Flavipedes: seven new species and proposal of section Jani sect. nov. **Mycologia**, New York, v. 107, n. 1, p. 169–208, 2015.
- IRIART, X. et al. Routine identification of medical fungi by the new vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization - Time of flight system with a new time-effective strategy. **Journal of Clinical Microbiology**, Boston, v. 50, n. 6, p. 2107–2110, 2012.
- JACOBI, C. M.; CARMO, F. F. Diversidade dos campos rupestres ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, MG. **Megadiversidade**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 1–2, p. 25–33, 2008.
- JAK, D. et al. New sterigmatocystin-producing species of *Aspergillus* section Versicolores from indoor air in Croatia. **Mycological Progress**, Tübingen, v. 16, p. 63–72, 2017.
- JOERGENSEN, R. G.; WICHERN, F. Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, New York, v. 40, n. 12, p. 2977–2991, 2008.

JURJEVIĆ, Ž. et al. Taxonomy of *Aspergillus* section *Petersonii* sect. nov. encompassing indoor and soil-borne species with predominant tropical distribution. **Plant Systematics and Evolution**, London, v. 301, n. 10, p. 2441-2462, 2015.

KLICH, M. A. **Identification of common *Aspergillus* species**. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002.

KOLECKA, A. et al. Identification of medically relevant species of arthroconidial yeasts by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. **Journal of Clinical Microbiology**, Boston, v. 51, n. 8, p. 2491–2500, 2013.

KRIJGSHELD, P. et al. Development in *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 53, n. 74, p. 1–29, 2005.

LAMOUNIER, W. L.; CARVALHO, V. L. M.; SALGADO, A. A. R. Serra do Gandarela: possibilidade de ampliação das unidades de conservação no Quadrilátero Ferrífero-MG. **Geography Department, University of Sao Paulo**, v. 22, n. 2011, p. 171–192, 2011.

LATGÉ, J.-P. *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillosis*. **Clinical Microbiology Reviews**, Heidelberg, v. 12, n. 2, p. 310–350, 1999.

LIN, S. et al. Polyketides from the fungus *Penicillium decumbens*. **Journal of Asian Natural Products Research**, Tokio, v. 6020, p. 1–6, 2018.

LINK, H. F. Observationes in ordines plantarum naturales. **Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde**, v. 3, n. 1, 1809.

LOBUGLIO, K. F.; PITT, J. I.; TAYLOR, J. W. Phylogeentic analysis of two ribosomal DNA regions indicates multiple independent losses of a sexual *Talaromyces* state among sexual *Penicillium* species in subgenus *Biverticillium*. **Mycologia**, New York, v. 85, n. 4, p. 592–604, 1993.

LUETHY, P. M.; ZELAZNY, A. M. Rapid one-step extraction method for the identification of molds using MALDI-TOF MS. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, p. 1–6, 2018.

MACHADO, M. M. M. **Construindo a Imagem Geológica do Quadrilátero Ferrífero: Conceitos e Representações**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

MARENT, B.; LAMOUNIER, W.; GONTIJO, B. Conflitos ambientais na Serra do Gandarela, Quadrilátero Ferrífero-MG: mineração x preservação. **Geografias (UFMG)**, Belo Horizonte, v. 07, n. janeiro-junho de 2011, p. 99–113, 2011.

MCCORMICK, A.; LOEFFLER, J.; EBEL, F. *Aspergillus fumigatus*: Contours of an opportunistic human pathogen. **Cellular Microbiology**, London, v. 12, n. 11, p. 1535–1543, 2010.

MCNEILL J, BARRIE FF, BUCK WR, et al. (eds) (2012). **International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code)**. Koeltz Scientific Books, Königstein. [Regnum vegetabile no. 154.]



- MENDES FILHO, P. F. **Potencial de reabilitação do solo de uma área degradada, através da revegetação e do manejo microbiano**. 2004. 105f. Tese (Doutorado em Agronomia - Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agriculatura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo. Piracicaba.
- MICHELI, P. A. **Nova plantarvm genera jvxta Tovrnefortii methodvm disposita...**, 1729.
- MOHSIN, J. et al. Imported Talaromycosis in Oman in Advanced HIV: A Diagnostic Challenge Outside the Endemic Areas. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 182, n. 7–8, p. 739–745, 2017.
- MOORE, E. R. B. et al. Microbial systematics and taxonomy: Relevance for a microbial commons. **Research in Microbiology**, New York, v. 161, n. 6, p. 430–438, 2010.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006, 729p.
- NARSIAN, V.; AHMED, A. A.; PATEL, H. H. Rock phosphate dissolution by specific yeast. **Indian Journal of Microbiology**, New Delhi, v. 50, n. 1, p. 57–62, 2010.
- NICOLETTI, R. et al. Production and fungitoxic activity of Sch 642305, a secondary metabolite of *Penicillium canescens*. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 163, n. 5, p. 295–301, 2007.
- NIELSEN, K. F. et al. Production of metabolites from the *Penicillium roqueforti* complex. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, London, v. 54, n. 10, p. 3756–3763, 2006.
- NOINART, J. et al. A new ergosterol analog, a new bis-anthraquinone and anti-obesity activity of anthraquinones from the marine sponge-associated fungus *Talaromyces stipitatus* KUFA 0207. **Marine Drugs**, Beijing, v. 15, n. 5, 2017.
- NORMAND, A. C. et al. Decision criteria for MALDI-TOF MS-based identification of filamentous fungi using commercial and in-house reference databases. **BMC Microbiology**, London, v. 17, n. 1, p. 1–17, 2017.
- OGAWA, H.; YOSHIMURA, A.; SUGIYAMA, J. Polyphyletic origins of species of the anamorphic genus *Geosmithia* and the relationships of the cleistothecial genera: Evidence from 18S, 5S and 28S rDNA sequence analyses. **Mycologia**, New York, v. 89, n. 5, p. 756–771, 1997.
- OLIVEIRA, S. H. et al. Seedling growth of the invader *Calotropis procera* in ironstone rupestrian field and seasonally dry forest soils. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 4, n. 2, p. 2009.
- PALLU, A. P. DE S. **Potencial biotecnológico de fungos de gênero *Penicillium* e interação com cana-de-açúcar**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010. Piracicaba.

PAUL, E. A. **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry**. 4. ed. ed. London: Elsevier Academic Press, 2015.

PERRONE, G.; SUSCA, A. *Penicillium* Species and Their Associated Mycotoxins. **Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols**, p. 107–119, 2017.

PETERSON, S. Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. **Mycologia**, New York, v. 100, n. 2, p. 205–226, 2008.

PETIT, P. et al. Novel antimicrobial secondary metabolites from a *Penicillium* sp. isolated from Brazilian cerrado soil. **Electronic Journal of Biotechnology**, Berlin, v. 12, n. 4, p. 1–10, 2009.

PFENNING, L. H.; ABREU, L. M. Diversity of microfungi in tropical soils. In: MOREIRA, F. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSARD, L. (Eds.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian Ecosystems**. Wallingford: CABI, 2006. p. 184–205.

PIACENTINI, T.; BOGGIANI, P. C.; YAMAMOTO, J. K. Formação ferrífera associada à sedimentação glaciogênica da Formação Puga (Marinoano) na Serra da Bodoquena, MS. **Revista Brasileira de Geociências**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 530–541, 2007.

PITT, J. I. **The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces***. London: Academic Pres, 1979. QFE. **Quadrilátero Ferrífero: Centro de estudos avançados [DEGEO/EM/UFOP]**. Disponível em: <<http://www.qfe2050.ufop.br/>>. Acesso em: 14 jun. 2017.

RAGAVENDRAN, C.; MARIAPPAN, T.; NATARAJAN, D. Larvicidal, Histopathological Efficacy of *Penicillium daleae* against Larvae of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* Plus Biototoxicity on *Artemia nauplii* a Non-target Aquatic Organism. **Frontiers in Pharmacology**, Washington, v. 2, p. 1–24, 2017.

RAMOS, T. C. D. A. **Identificação e caracterização genética para prospecção do potencial biotecnológico de fungos filamentosos isolados de solos do Quadrilátero Ferrífero, MG**. 2016. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)-Universidade Federal de São João Del Rei,. [s.l.] Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, 2016.

RAPER, K. B.; FENEL, D. I. **The genus *Aspergillus***. Baltimore: Williams & Wilkins, 1965. 686 p. Baltimore: Williams & Wilkins, 1965.

RAPER, K. B.; THOM, C. **A manual of the *Penicillia***. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1949.

REN, J. et al. Bioactive Azaphilone Derivatives from the Fungus *Talaromyces aculeatus*. **Journal of Natural Products**, New York, v. 80, n. 8, p. 2199–2203, 2017.

RENGER, F. E. O “Quadro Geognóstico do Brasil” de Wilhelm Ludwig von Eschwege: breves comentários à sua visão da geologia no Brasil. **Geonomos**, Belo Horizonte, v. 13, n. 1–2, p. 91–95, 2005.

RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos sociológicos e florísticos**. v. 2. ed. São Paulo: Hucitec/EdUSP, 1979.

RODRIGUES, P. et al. A polyphasic approach to the identification of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus* Section Flavi isolated from Portuguese almonds. **International Journal of Food Microbiology**, Sydney, v. 129, n. 2, p. 187–193, 2009.

ROESER, H. M. P.; ROESER, P. A. O Quadrilátero Ferrífero -Mg, Brasil: Aspectos Sobre Sua História, Seus Recursos Minerais E Problemas Ambientais Relacionados. **Geonomos**, Belo Horizonte, v. 18, n. 1, p. 33–37, 2010.

SAMSON, R. A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, p. 141–173, 2014.

SAMSON, R. A.; VARGA, J. What is a species in *Aspergillus*? **Medical Mycology**, New York, v. 47, n. SUPPL. 1, p. S13–S20, 2009.

SAMSON, R.; VARGA, J. Molecular systematics of *Aspergillus* and its teleomorphs. In: GK MACHIDA M. (Ed.). ***Aspergillus: molecular biology and genomics***. Montrouge: Horizon Press, 2009. p. 19–40.

SANTOS, M. L. M. et al. Solos e Ocupação das Terras na Amazônia Brasileira. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Eds.). **Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros**. Lavras: Editora UFLA, 2008. p. 69–70.

SCHAEFER, C. E. G. R.; MENDONÇA, B. A. F.; RIBEIRO, A. S. **Solos desenvolvidos sobre canga ferruginosa no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais**. Simpósio Afloramentos Ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero: Biodiversidade, Conservação e Perspectivas de Sustentabilidade. **Anais...**Belo Horizonte: UFMG/ICB, 2008.

SCHUSTER, E. et al. On the safety of *Aspergillus niger* - A review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 59, n. 4–5, p. 426–435, 2002.

SEIFERT, K. A. et al. *Penicillium cecidicola*, a new species on cynipid insect galls on *Quercus pacifica* in the western United States. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 50, n. 2, p. 517–523, 2004.

SERRANO, R. et al. Rapid identification of *aspergillus fumigatus* within the section fumigati. **BMC Microbiology**, London, v. 11, p. 82, 2011.

SHAFER, D. et al. Comparison of direct smear and chemical extraction methods for MALDI-TOF mass spectrometry identification of clinical relevant anaerobic bacteria. **Frontiers in Laboratory Medicine**, Amsterdam, v. 1, n. 1, p. 27–30, 2017.

SIEGRIST, T. J. et al. Discrimination and characterization of environmental strains of *Escherichia coli* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 68, n. 3, p. 554–562, 2007.

SILVA, F. R. **A paisagem do Quadrilátero Ferrífero, MG: Potencial para o uso turístico da sua geologia e geomorfologia.** 144 f. 2007. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Geografia). Departamento de Geografia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

SILVA, F. C.; ET AL. Taxonomia polifásica para identificação de *Aspergillus* seção flavi: uma revisão. **Revista Ifes Ciência**, Vitória, v. 1, n. 1, p. 18–40, 2015.

SIMMONS, G. C. Canga caves in the Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. **Brazilian National Speleological Society Bulletin**, Buenos Aires, v. 25, n. 1963, p. 66–72, 1963.

STOLK, A. C.; SAMSON, R. A. Studies on *Talaromyces* and related genera I. *Hamigera* gen. nov. and *Byssochlamys*. **Persoonia**, v. 6, n. 1971, p. 341–357, 1971.

STOLK, A. C.; SAMSON, R. A. **The genus Talaromyces: studies on Talaromyces and related genera II.** 2. ed. ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1972.

THOM, C. et al. **The penicillia.** Baltimore: Williams & Wilkins, 1930.

THOM, C.; RAPER, K. B. **A Manual of the Aspergilli.** London: Bailliere Tindall and Cox, 1945.

USTIANOWSKI, A. P.; SIEU, T. P.; DAY, J. N. *Penicillium marneffei* infection in HIV. **Current opinion in infectious diseases**, Washington, v. 21, n. 1, p. 31–36, 2008.

VERWER, P. E. B. et al. Discrimination of *Aspergillus lentulus* from *Aspergillus fumigatus* by Raman spectroscopy and MALDI-TOF MS. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, London, v. 33, n. 2, p. 245–251, 2014.

VIANA, P. L. et al. Flora of the cangas of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil: history, study area and methodology. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 5, p. 1107–1124, 2016.

VIGGIANO, A. et al. Pathway for the biosynthesis of the pigment chrysogine by *Penicillium chrysogenum*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 84, n. 4, 2018.

VILLANUEVA-LOZANO, H. et al. Successful treatment of *Talaromyces amestolkiae* pulmonary infection with voriconazole in an acute lymphoblastic leukemia patient. **Journal of Infection and Chemotherapy**, Bethesda, v. 23, n. 6, p. 400–402, 2017.

VINCENT, R. D. C.; MEGURO, M. Influence of soil properties on the abundance of plant species in ferruginous rocky soils vegetation, southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 377–388, 2008.

VISAGIE, C. M. et al. *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, n. 1, p. 63–139, 2014.

VISAGIE, C. M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, n. 1, p. 343–371, 2014.

VISAGIE, C. M. et al. A phylogenetic revision of *Penicillium* sect. *Exilicaulis*, including nine new species from fynbos in South Africa. **IMA Fungus**, New York, v. 7, n. 1, p. 75–117, 2016.

WANG, L.; ZHUANG, W. Y. Phylogenetic analyses of penicillia based on partial calmodulin gene sequences. **BioSystems**, New York, v. 88, n. 1–2, p. 113–126, 2007.

WELHAM, K. J. et al. Characterization of fungal spores by laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. **Rapid Commun Mass Spectrom**, London, v. 14, n. 5, p. 307–310, 2000.

YANG, Z. et al. N-Me-trichoderamide B isolated from *Penicillium janthinellum*, with antioxidant properties through Nrf2- mediated signaling pathway. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, New York, v. 25, n. 24, p. 6614–6622, 2017.

YILMAZ, N. et al. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, p. 175-341, 2014.

ZHANG, J. et al. Coinfection of disseminated *Talaromyces marneffe* and *Mycobacteria kansasii* in a patient with papillary thyroid cancer. **Medicine**, New York, v. 96, n. 52, p. 7–9, 2017.

**SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**

**ARTIGO 1**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E FILOGENÉTICA DE *Aspergillus*, *Penicillium*  
E *Talaromyces* ISOLADOS DO SOLO DE CANGA**

**ARTIGO FORMATADO DE ACORDO COM A NBR 6022 (ABNT, 2003), COM  
ADAPTAÇÕES SEGUNDO O MANUAL DE NORMALIZAÇÃO DA UFLA**

## RESUMO

Os fungos representam um componente essencial da biodiversidade, não só pelo grande número de espécies, mas também pelo seu significado ecológico, evolutivo e socioeconômico. O isolamento de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* do solo é comum, já que as condições são favoráveis para o seu crescimento, principalmente pela abundância de compostos orgânicos neste micro-ecossistema. Canga é um termo utilizado para designar depósitos hematíticos superficiais e estas áreas apresentam características químicas e físicas de solo peculiares, havendo assim, a necessidade de melhor entendimento da estrutura das comunidades fúngicas nesse ambiente. Com isso, este estudo teve como objetivo fazer um levantamento da diversidade de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* isolados do solo de áreas de Canga do Quadrilátero Ferrífero. Foram coletadas 10 amostras de solo em período seco e 10 em período chuvoso e em cada uma destas foram realizadas diluições seriadas nos meios DG18 e DRBC. As espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* foram identificadas através de características morfológicas e moleculares. No total foram isolados 2029 fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*, o período seco apresentou um maior número de isolados 1275, enquanto das amostras do tempo chuvoso foram isolados 754 fungos desses gêneros. O número de isolados de *Aspergillus* foi 298 e de *Penicillium* e *Talaromyces* foram 1731. Dos 89 morfotipos não identificados pela morfologia, 76 foram submetidos a análises moleculares, utilizando para inferência filogenética as regiões gênicas *RPB2*, calmodulina e beta-tubulina. Um total de 35 espécies foram identificadas em 20 seções diferentes. *A. niger*, *A. pseudoustus*, *A. flavus*, *P. bilaiae*, *P. lehmflumine*, *P. roquerfort*, *P. virgatum*, *T. angelicus* e *T. stolli* estão entre as espécies identificadas. Morfotipos que foram inconclusivos somam sete e 34 espécies permanecem apenas com classificação em gêneros, das quais nove são possíveis novidades taxanômicas. Estudos de diversidade nessas áreas são necessários e de grande importância científica, principalmente com o propósito de contribuir para o conhecimento da diversidade de fungos de regiões pouco conhecidas.

**Palavras-chave:** Taxonomia. Morfologia. Filogenia.

## 1 INTRODUÇÃO

O reino fungi é um dos mais diversos grupos de organismos na Terra, sendo considerado agente integrante do ecossistema dos solos que governam o ciclo do carbono, nutrição vegetal e várias patologias. São amplamente distribuídos em todos os ecossistemas, mas a distribuição de espécies e grupos funcionais ainda é mal documentada (TEDERSOO et al., 2014). Os fungos compreendem cerca de 100.000 espécies, todavia a extensão real da diversidade fúngica global é estimada entre 0,8 milhão e 5,1 milhões de espécies (BLACKWELL, 2011).

Solos de região de canga, apesar de ter poucos estudos relacionados à diversidade fúngica, demonstram uma biodiversidade peculiar e endêmica, isso é o resultado de um conglomerado de microhabitats distintos e dispersos ao longo das montanhas couraçadas (SKIRYCZ, 2014).

O gênero *Aspergillus* foi descrito pela primeira vez por Michele em 1729, Haller (1768) validou o gênero e Fries (1832) certificou o nome genérico. O gênero atualmente apresenta 23 seções (HOUBRAKEN et al., 2014; HUBKA et al., 2014; JURJEVIĆ et al., 2015) e, segundo Samson et al. (2014), cerca de 339 espécies são aceitas, sendo que grande parte das descrições foram feitas na última década. As espécies desse gênero ocorrem em todo o mundo em uma ampla gama de habitats, incluindo desertos, áreas agrícolas, ambientes polares e aquáticos, manguezais, plantas, animais, ar, madeiras, pedras e humanos (ABDEL-AZEE et al., 2016).

*Penicillium* recebeu esse nome por apresentar conidióforos com forma semelhante a pincel, em latim “*Penicillus*”, e foi descrito por Link em 1809. São reconhecidas cerca de 360 espécies, subdivididas em 28 seções (HUBKA et al., 2015; HOUBRAKEN; SAMSON, 2011; HOUBRAKEN et al., 2016; PERRONE, 2017). *Penicillium* ocorre de forma generalizada em ambientes terrestres e é encontrado inclusive em ambientes aquáticos. Este gênero compreende mais de 350 espécies descritas e muitas são habitantes comuns do solo, bem como produtos agrícolas, industrializados e alimentos em deterioração (FRISVAD; SAMSON, 2004; PITT, HOCKING, 2009; VISAGIE et al., 2014).

O gênero *Talaromyces* foi descrito por Benjamin (1955) para acomodar espécies de *Penicillium* teleomórficas com ascomata macio, que geralmente são brancas ou amareladas e cercadas por múltiplas camadas de hifas entrelaçadas. É um membro da ordem *Eurotiales* dentro da família *Trichocomaceae* (BENJAMIM, 1955; HOUBRAKEN; SAMSON, 2011). Esse gênero foi isolado de diversos substratos e ambientes como solo, ar, plantas, matéria em decomposição, tecidos humanos e animais (VISAGIE et al., 2015; LUO et al., 2016;



ROMERO et al., 2016; YILMAZ et al., 2016; GUEVARA- SUAREZ., et al 2017). Houbraken e Samson (2011), usando filogenia de quatro genes, demonstraram que as espécies de *Biverticillium* e *Talaromyces* formam um clado monofilético. As espécies foram então recombinadas, *Penicillium* do subgênero *Biverticillium* agora pertence ao gênero *Talaromyces* (SAMSON et al., 2011). Com as mudanças no Código Internacional de Nomenclatura para algas, fungos e plantas, as espécies filogeneticamente relacionadas devem ser tratadas sob o mesmo nome independentemente de suas formas sexuadas ou assexuadas (MCNEILL et al., 2012). Através de estudos da taxonomia de *Talaromyces* usando uma abordagem polifásica, sete seções foram definidas dentro do gênero *Talaromyces*: *Bacillispori*, *Helici*, *Islandici*, *Purpurei*, *Subinflati*, *Talaromyces* e *Trachyspermi*.

Nesse contexto, o estudo de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* de áreas de canga é necessário e de grande importância científica, principalmente com o propósito de contribuir para o conhecimento da diversidade de fungos dessas regiões pouco estudadas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Localização das áreas de coleta

A área de coleta está localizada nos municípios Nova Lima - MG, no Centro de Tecnologia de Ferrosos - Miguelão, pertencentes a Vale S/A, situando-se em uma grande região rica em minérios denominada Quadrilátero Ferrífero.

O clima na área é predominantemente quente. Há muito mais pluviosidade no verão que no inverno. A classificação do clima é Cwa e, apresenta temperatura média anual de 21°C e pluviosidade média anual de 1390 mm.

### 2.2 Desenho amostral e coleta

A coleta foi realizada no período de 10 a 15 de agosto de 2015 (período seco) e de 11 a 15 de janeiro de 2016 (período chuvoso). Foram coletadas 20 amostras compostas (10 em cada período), em dois transectos (FIGURA 1). Os locais de coleta foram georreferenciados utilizando aparelhos de GPS da marca Garmin, modelo Etrex e modelo 62sc para marcar os pontos (TABELA 1).

Figura 1- Esquema de amostragem do solo.

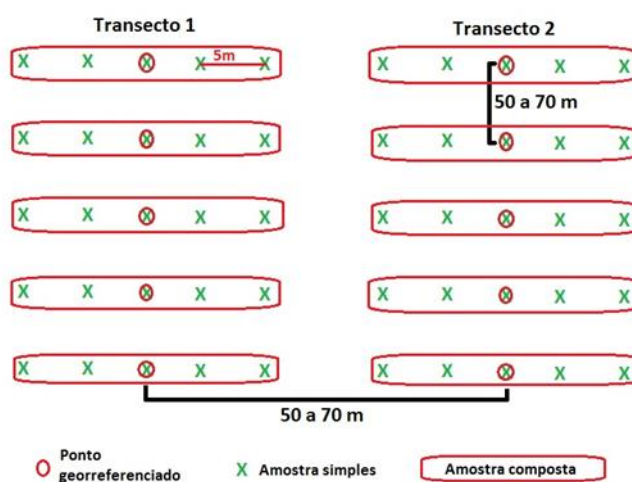


Tabela 1- Coordenadas Geográficas dos pontos amostrais.

Coordenadas			
Ponto	Seco	Ponto	Chuvoso
CR 1	60°89'66"; 77°75'499"	CR 11	60°89'63"; 77°75'501"
CR 2	60°90'21"; 77°75'546"	CR 12	60°90'20"; 77°75'543"
CR 3	60°90'69"; 77°75'597"	CR 13	60°90'69"; 77°75'594"
CR 4	60°91'20"; 77°75'644"	CR 14	60°91'20"; 77°75'642"
CR 5	60°91'80"; 77°75'695"	CR 15	60°91'82"; 77°75'690"
CR 6	60°92'43"; 77°75'722"	CR 16	60°92'42"; 77°75'722"
CR 7	60°91'91"; 77°75'766"	CR 17	60°91'96"; 77°75'770"
CR 8	60°91'40"; 77°75'722"	CR 18	60°91'41"; 77°75'718"
CR 9	60°90'82"; 77°75'682"	CR 19	60°90'84"; 77°75'684"
CR 10	60°90'26"; 77°75'638"	CR 20	60°90'28"; 77°75'643"

Cada subamostra foi extraída com o auxílio de um trado, na profundidade de 0 a 20 cm, e para o isolamento de fungos retirados utilizado 30 g de solo coletado em cada amostra dessas regiões. As amostras compostas de solo foram homogeneizadas, armazenadas em sacos plásticos e colocadas em isopor para transporte até o Laboratório de Micologia e Micotoxinas de Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde ficaram armazenadas em freezer - 20°C até início do processamento. Parte de cada amostra foi enviada para os Laboratórios de Análises de Fertilidade do solo do DCS/UFLA para caracterizações química e física.

### 2.3 Isolamento dos fungos

Para o isolamento dos fungos presentes nas amostras foi utilizada a técnica de diluição seriada ( $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ ), na qual foram pesadas 10,0 g do solo coletado, sendo adicionado a este 90,0 mL de solução salina (0,85 %) esterilizada. Cada amostra foi homogeneizada em agitador a 120 rpm, por período de 30 minutos. Foi realizado um pré-teste com diversos meios para isolamento, sendo os meios DG18 e DRBC considerados os mais favoráveis à riqueza de espécies de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Talaromyces* spp.. Desta forma, estes meios foram selecionados para o presente estudo:

- **DG18:** 1,0 mL de Dicloran; 5,0 de Peptona Bacteriológica; 1,0 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,5 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 220 g de Glicerol; 15,0 g de Ágar; 1 mg de cloranfenicol; 1000 mL de Águadestilada.

- **DRBC:** 10,0 g de Glicose; 5,0 de Peptona Bacteriológica; 1,0 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,5 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,5 mL de solução 5% de Rosa Bengala; 1,0 mL de Dicloran; 1000 mL de

Água Destilada; 15,0 g de Ágar; 1 mg de cloranfenicol. As placas foram incubadas a 25 °C, por um período de cinco dias.

### **2.3.1 Contagem de UFCs e avaliação dos meios DG18 e DRBC**

Após o estabelecimento das colônias, foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs) conforme Pitt e Hocking (1997), afim de estimar o número de fungos/g de solo das amostras e áreas avaliadas. Também foi efetuada a contagem seletiva dos isolados pertencentes aos dois gêneros avaliados exclusivamente. Os meios de cultura utilizados, DG18 e DRBC, foram comparados entre si quanto à efetividade no isolamento de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*.

### **2.4 Purificação e identificação de fungos filamentosos**

As colônias com macromorfologia similar as de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* foram purificadas em meio de cultivo Extract Malt Agar (20,0 g de Extrato de Malte; 15,0 g de Ágar e 1000 mL de Água Destilada) e, posteriormente inoculadas em meios de cultivo e temperaturas padronizados, de acordo com manuais de identificação Klich (2002b) para o gênero *Aspergillus*, e Pitt (2000) para o gênero *Penicillium*.

#### **2.4.1 Identificação fenotípica das espécies**

Os isolados pertencentes ao gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* foram inoculados em meios de cultivo padronizados, conforme mencionado na literatura, CYA a 25°C e 37°C, MEA a 25°C, CREA (3,0 g de Creatina; 30 g de Sacarose; 0,5 g de HCl; 0,5 g de MgSO<sub>4</sub>; 0,5 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H; 0,01 g de FeSO<sub>4</sub>.7H; 15,0 g de Ágar e 1000 mL de Água Destilada) e YES (20 g de Extrato de Levedura; 150 g de sacarose; 15,0 g de Ágar e 1000 mL de Água Destilada) a 25°C. Após a inoculação, estes foram incubados em BOD por sete dias. Para a caracterização microscópica foram confeccionadas lâminas a partir de colônias puras do meio de cultivo MEA, em que foram avaliados: ramificação, comprimento, largura e textura dos conidióforos, comprimento e textura das métulas e fiáides, diâmetro, forma e textura dos conídios. Para características macroscópicas avaliou-se: diâmetro da colônia, cor, micélio, presença ou ausência de exsudato, cor do reverso, presença ou ausência de pigmentação solúvel e cleistotécio/escleródios. Os manuais utilizados foram de Pitt (2000), Klich (2000), Pitt e Hocking (1997), Houbraken et al (2014) e outros artigos recentes.

## 2.5 Caracterização dos morfotipos não identificados

Os morfotipos não identificados foram caracterizados quanto ao seu crescimento em cinco cultivos diferentes: CYA 25°C, 30°C e 37°C; MEA 25°C; YES e CREA 25°C, e as características microscópicas também foram avaliadas, segundo Houbraken e Samson (2011) modificado. Fotografias macro e microscópicas foram utilizadas para auxiliar na separação dos morfotipos para posterior identificação filogenética.

## 2.6 Extração de DNA, PCR, sequenciamento e análises filogenéticas

Setenta e seis morfotipos não identificados por morfologia clássica foram colocados em Ágar de Batata-dextrose e a biomassa foi colhida em tubo de centrífuga de 1,5 mL. O DNA total da cepa foi extraído utilizando o método CTAB (DOYLE; DOYLE, 1991). Os genes  $\beta$ -tubulina (*BenA*) e calmodulina (*CaM*) (VISAGIE et al., 2014) foram amplificados usando um GoTaq Colorless Master Mix (Promega) em T100 Thermal Cycler (Bio-Rad). As condições de ciclo foram: 94°C durante 2 min, 40 ciclos de 94°C por 30 s, 54°C por 30 s e 72°C por 40 s, e uma extensão final a 72°C por 4 min, gerando fragmentos de aproximadamente 500 pb. A amplificação do gene *RPB2* foi iniciada por um período de 5 min a 95°C, seguido de 30 ciclos de 1 minuto a 95°C, 2 minutos a 50°C com um aumento de 0,2°C por segundo para 72°C, 2 minutos a 72°C e uma extensão final de 10 minutos a 72°C. A partir da amplificação foram gerados produtos de aproximadamente 1000 pb. As regiões gene foram sequenciadas em um sequenciador 3500 XL (Applied Biosystems) na empresa MACROGEN – Coreia do Sul.

As sequências bidirecionais de DNA para cada região foram montadas pelo software *SeqAssem* (HEPPERLE, 2004), sendo comparadas com as depositadas em BLAST (ALTSCHUL et al., 1997), e as sequências tipo adicionais de isolados de outras espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* foram obtidas de GenBank, NCBI (TABELA 1). As sequências foram alinhadas usando ClustalW implementado no MEGA5.1 (TAMURA et al., 2011). Os alinhamentos foram depositados em TreeBASE. As análises de máximas parcimônia (MP) foram realizadas usando MEGA5.1 para cada uma das três regiões de genes e para os conjuntos de dados combinados. A estabilidade do clado foi avaliada com 1.000 replicações de bootstrap. A análise de ML foi realizada sob o modelo de reversão de nucleotídeos, com heterogeneidade de taxa de gama e uma proporção de sítios invariantes (GTR + G + I). As sequências de *Aspergillus pseudoustus* (IBT 28161), *Aspergillus ustus* (CBS 26167), *Talaromyces aculeatus* (CBS 28948) e *Talaromyces palmae* (CBS 44288)

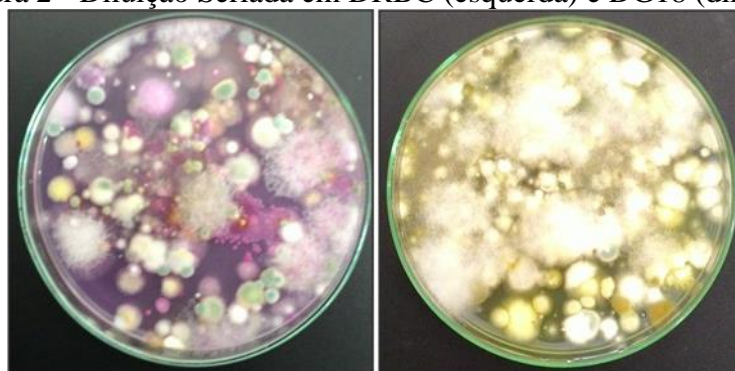
foram selecionadas como *outgroup*. As sequências de DNA geradas neste estudo foram depositadas em GenBank.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Avaliação da eficiência dos meios DRBC e DG18 no isolamento de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* e unidades formadoras de colônias de fungos totais

Com relação ao desempenho dos meios de cultura para o isolamento, notou-se que o meio DG18 foi ideal para o isolamento de *Penicillium* e *Talaromyces*, proporcionando o crescimento de 71% destes. Já o meio DRBC foi mais propício ao estabelecimento de *Aspergillus*, obtendo 83% dos isolados desse gênero (FIGURA 2).

Figura 2 - Diluição Seriada em DRBC (esquerda) e DG18 (direita).



A avaliação de fungos totais nas amostras foi feita por contagem em placas de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs), e as amostras do tempo chuvoso apresentaram uma quantidade de UFCs maior se comparadas às do tempo seco em ambos meios usados para isolamento (TABELA 2).

Tabela 2- Estimativa da população fúngica das amostras de solo de Canga.

SECO			CHUVOSO		
Amostra	DRBC (UFC/g)	DG18 (UFC/g)	Amostra	DRBC (UFC/g)	DG18 (UFC/g)
CR 1	1,26 . 10 <sup>4</sup>	0,9 . 10 <sup>4</sup>	CR 11	1,23 . 10 <sup>4</sup>	1,3 . 10 <sup>4</sup>
CR 2	1,01 . 10 <sup>4</sup>	0,63 . 10 <sup>4</sup>	CR 12	1,02 . 10 <sup>4</sup>	1,08 . 10 <sup>4</sup>
CR 3	1,1 . 10 <sup>4</sup>	1,21 . 10 <sup>4</sup>	CR 13	0,99 . 10 <sup>4</sup>	1,09 . 10 <sup>4</sup>
CR 4	0,92 . 10 <sup>4</sup>	1,27 . 10 <sup>4</sup>	CR 14	1,21 . 10 <sup>4</sup>	1,15 . 10 <sup>4</sup>
CR 5	1,3 . 10 <sup>4</sup>	1,49 . 10 <sup>4</sup>	CR 15	1,15 . 10 <sup>4</sup>	1,17 . 10 <sup>4</sup>
CR 6	1,5 . 10 <sup>4</sup>	0,96 . 10 <sup>4</sup>	CR 16	1,4 . 10 <sup>4</sup>	1,7 . 10 <sup>4</sup>
CR 7	1,02 . 10 <sup>4</sup>	1,1 . 10 <sup>4</sup>	CR 17	0,97 . 10 <sup>4</sup>	0,7 . 10 <sup>4</sup>
CR 8	0,79 . 10 <sup>4</sup>	0,6 . 10 <sup>4</sup>	CR 18	0,75 . 10 <sup>4</sup>	0,72 . 10 <sup>4</sup>
CR 9	1,69 . 10 <sup>4</sup>	1,25 . 10 <sup>4</sup>	CR 19	1,1 . 10 <sup>4</sup>	1,05 . 10 <sup>4</sup>
CR 10	1,1 . 10 <sup>4</sup>	0,75 . 10 <sup>4</sup>	CR 20	1,11 . 10 <sup>4</sup>	1,3 . 10 <sup>4</sup>
Médias	1,05 . 10 <sup>4</sup>	1,01 . 10 <sup>4</sup>	Médias	1,09 . 10 <sup>4</sup>	1,12 . 10 <sup>4</sup>

### 3.2 Quantificação dos isolados dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*

Foram isolados, de 20 amostras, um total de 2029 fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*, apresentando o tempo seco um maior número de isolados 1275, enquanto das amostras do tempo chuvoso foram isolados 754 fungos desses gêneros. Desse total, 298 de *Aspergillus* e 1731 de *Penicillium* e *Talaromyces*. As características morfológicas desses dois últimos gêneros são muito similares, por essa razão eles foram agrupados. Dos isolados de *Aspergillus* 21,8 % foram possíveis de chegar em espécies utilizando identificação morfológica, e 78,2 % foram armazenados para posterior análise de identificação molecular. As porcentagens para o gênero *Penicillium* e *Talaromyces* chegaram 17,37% de espécies identificadas e 82,63% de não identificadas, as quais também passaram por análises genéticas.

As espécies não identificadas serão chamadas, nesse trabalho, de morfotipos. Os gêneros *Penicillium* e *Talaromyces* apresentaram 85 morfotipos e 10 espécies identificadas, e o gênero *Aspergillus* apresentou 4 morfotipos e 7 espécies foram identificadas.

### 3.3 Espécies identificadas de *Penicillium* e *Talaromyces* e seus principais marcadores morfológicos

As espécies *P. funiculosus*, *P. minioluteum*, *P. purpurogenum* e *P. variabile* são agora denominadas *T. funiculosus*, *T. minioluteus*, *T. purpurogenus* e *T. variabilis*, respectivamente, e estão incluídas nas seções *Talaromyces* (*T. funiculosus* e *T. purpurogenus*), *Trachyspermi* (*T. minioluteus*) e *Islandici* (*T. variabilis*).

As espécies *P. janthinellum*, *P. oxalicum* e *P. simplicissimum* são bastante similares em placa e apresentaram elevado crescimento em CYA e MEA a 25°C, crescendo também a 37°C. Alguns de seus caracteres microscópicos foram diferenciados, possibilitando a identificação segundo Pitt (2000a). *P. janthinellum* apresentou *penicilli* muito irregular com fiálides saindo diretamente da estipe. Apesar de possuir colônias semelhantes às de *P. glabrum*, as de *P. decumbens* foram menores (CYA de 20 a 30 mm e MEA de 25 a 40 mm), crescendo a 37°C, bem como *P. citrinum*. Além disso, apresentou alta produção de exudato, pigmentação solúvel verde ou amarelo citrino e crescimento em MEA bastante inferior ao CYA. As espécies *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum* são predominantemente terverticiladas, mas também podem apresentar alguns *penicilli* bi ou poliverticilados (PITT, 2000a). Isolados de *P. brevicompactum* apresentam colônias medianas no MEA (12 a 20 mm); tipicamente produzem pigmentação solúvel amarronzada no CYA e *penicilli* mais arranjado e organizado. Os isolados de *P. glabrum* apresentaram as seguintes características: colônia em CYA de 40 a 50 mm, verde escura com micélio branco bastante desenvolvido e reverso de coloração palha; crescimento em MEA de 40 a 50 mm, colônia baixa, aveludada e similar a do CYA; não cresceu a 37°C. Por sua vez, *P. fellutanum* em CYA cresceu 17 a 22 mm, radialmente sulcado, de coloração cinza pálido e verde escuro. Em MEA cresceu aproximadamente 16 mm, baixo e plano. Microscopicamente foi distinguível, pois apresentou apenas duas métulas vesiculadas e conídios elipsoidais, finamente rugosos ou rugosos, medindo 2,5 a 3 µm. *P. roquefort* apresentou em CYA 25°C colônias maiores de 50 mm de diâmetro, verdes escuras e conidióforos biverticilados; CREA com crescimento e produção de ácido. *P. biliae* é monoverticilado, com reverso amarelo a alaranjado em CYA e MEA, produção positiva em CREA; crescimento a 37°C de 5 a 8 mm. *P. chrysogenum* apresentou em CYA colônia de 30 a 35 mm de diâmetro, verde acinzentada, baixa, com presença de exudato de coloração caramelo a marrom e reverso amarronzado; em MEA colônia de 20 a 25 mm de diâmetro, baixa, plana e verde escura com reverso palha; não cresceu a 37 °C. Microscopicamente notou-se *penicilli* com um ou dois ramos e conídios elipsoidais, lisos, de 2,5 a 4 µm. *P. variabile* (syn *T. variabilis*) apresentou colônias similares em CYA e MEA a 25 °C: verdes acinzentadas, baixas e planas, medindo de 15 a 22 mm, observando-se como marcadores morfológicos fiálides aciculadas e conídios lisos, muito elipsoidais, medindo de 3 a 4 µm (TABELA 3).



Tabela 3- Espécies do gênero *Penicillium* e *Talaromyces* isolados de área de canga.

Espécies	Período		Total	Seções
	Seco	Chuvoso		
<i>Penicillium janthinellum</i>	102	54	156	<i>Lanata-Divaricata</i>
<i>Penicillium decumbens</i>	74	23	97	<i>Exilicaulis</i>
<i>Penicillium citrinum</i>	5	0	5	<i>Citrina</i>
<i>Penicillium janczewskii</i>	14	0	14	<i>Canescentia</i>
<i>Penicillium brevicompactum</i>	9	1	10	<i>Brevicompecta</i>
<i>Penicillium glabrum</i>	10	0	10	<i>Aspergilloides</i>
<i>Penicillium chrysogenum</i>	1	0	1	<i>Chrysogena</i>
<i>Penicillium bilaiae</i>	1	0	1	<i>Sclerotiora</i>
<i>Penicillium roquerfort</i>	1	0	1	<i>Roquefortorum</i>
<i>Talaromyces variabile</i>	2	0	2	<i>Islandici</i>

### 3.4 Espécies identificadas de *Aspergillus* e seus principais marcadores morfológicos

O gênero *Aspergillus* é de fácil identificação, contudo chegar à espécie apenas com análises morfológicas muitas vezes é um desafio. Uma das vantagens é que as seções são separadas pela coloração das colônias, o que torna essa característica macroscópica de grande importância na diferenciação. As cores das colônias podem variar de vários tons de verde, amarelo, marrom, branco, preto e cinza. Neste trabalho foram encontradas dez diferentes espécies, separadas em cinco seções (TABELA 4).

Segundo o manual descrito por Klich (2002b), identificando as espécies comuns de *Aspergillus*: *A. foetidus* apresenta conídios espinhosos, quando ainda juntos as fiáldes e, conídios lisos, quando maduros; isolados de *A. niger* possuem conídios globosos de 3,5 a 4,5  $\mu\text{m}$  que podem ser finamente rugosos, rugosos ou espinhosos. Os isolados de *A. aculeatus* é de fácil identificação morfológica são uniseriados e apresentaram vesículas extremamente grandes (60-100  $\mu\text{m}$ ), além de terem crescido pouco e de forma peculiar a 37°C.

Alguns isolados de *A. parasiticus* e *A. flavus* são muito similares macroscopicamente, com poucas diferenças microscópicas, apresentando grande plasticidade fenotípica. Segundo o manual de Klich (2002b), os conídios de *A. flavus* podem ser lisos até finamente rugosos, já os de *A. parasiticus* são extremamente rugosos. Neste trabalho, a diferenciação também foi feita por testes de cromatografia, já que a produção de micotoxinas é distinta entre essas espécies.

*A. ostianus* apresentaram diâmetros de colônia no CYA a 25°C de 30 a 35 mm em 7 dias; colônias amarelas e micélio branco; reverso de amarela ou palha; conidióforo 300-680  $\mu\text{m}$ , paredes grossas, de incolor a amarelo dourado claro. Exímio produtor de Ocratoxina A em alimentos.

Tabela 4 - Espécies do gênero *Aspergillus* isolados de área de canga.

Espécies	Período		Total	Seções
	Seco	Chuvoso		
<i>Aspergillus trisporus</i>	1	1	2	<i>Jani</i>
<i>Aspergillus parasiticus</i>	83	75	158	<i>Flavi</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	2	9	11	<i>Flavi</i>
<i>Aspergillus oryzae</i>	0	3	3	<i>Flavi</i>
<i>Aspergillus aculeatus</i>	9	10	19	<i>Nigri</i>
<i>Aspergillus niger</i>	17	0	17	<i>Nigri</i>
<i>Aspergillus foetidus</i>	1	2	3	<i>Nigri</i>
<i>A. niger agregado</i>	0	18	18	<i>Nigri</i>
<i>Aspergillus ostianus</i>	2	0	2	<i>Circundati</i>

### 3.5 Morfotipos não identificados de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*

Do total de isolados, 89 morfotipos não puderam ser identificados com base nos marcadores morfológicos, pois possuíam características muito distintas das encontradas nas chaves de identificação e artigos pesquisados. A caracterização e descrição desses morfotipos foram realizadas utilizando a metodologia de Houbraken e Samson (2011) modificada (APÊNDICE A a H). A identificação destes morfotipos é de extrema importância para avaliar a riqueza e a composição da comunidade nas áreas estudadas.

### 3.6 Análises filogenéticas

Considerando os 89 morfotipos não identificados, 76 foram submetidos a análises moleculares, utilizando para inferência filogenética as regiões gênicas *RPB2*, calmodulina e beta-tubulina. Os 13 restantes não amplificaram com eficiência as regiões gênicas ou os resultados dos sequenciamentos não foram satisfatórios. A filogenia foi bem suportada por valores de pp. e 95-100 %, sendo acima de 70 % de *bootstrap* na maioria dos nós. Os dendogramas foram divididos por seções. Uma vez que certas sequências não foram amplificadas com qualidade, alguns morfotipos estão presentes somente nas árvores filogenéticas concatenadas. O total de espécies identificadas foram 35, os morfotipos inconclusivos somam sete e, 34 espécies permanecem apenas com classificação em gênero, das quais muitas são possíveis novidades taxanômicas.

#### 3.6.1 Análise filogenética em espécies de *Aspergillus*

As análises filogenéticas para isolados de *Aspergillus* englobam três seções: *Cervini*, *Fumigati* e *Usti*. O isolado CCDCA11396 corresponde à espécie *Aspergillus pseudoustus* e demonstra relação com *A. ustus*, embora seja claramente diferente (FIGURAS 3 e 4).

Figura 3 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de *BenA* que mostram as relações entre espécies do gênero *Aspergillus*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios, e somente valores acima de 70% são indicados. Os isolados tipo são designados com sobrescrito T.

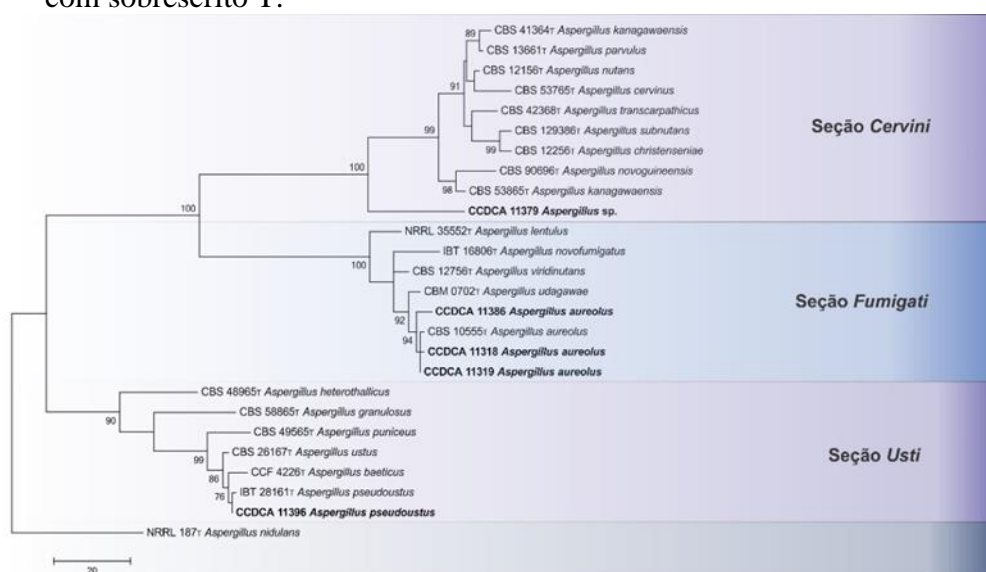
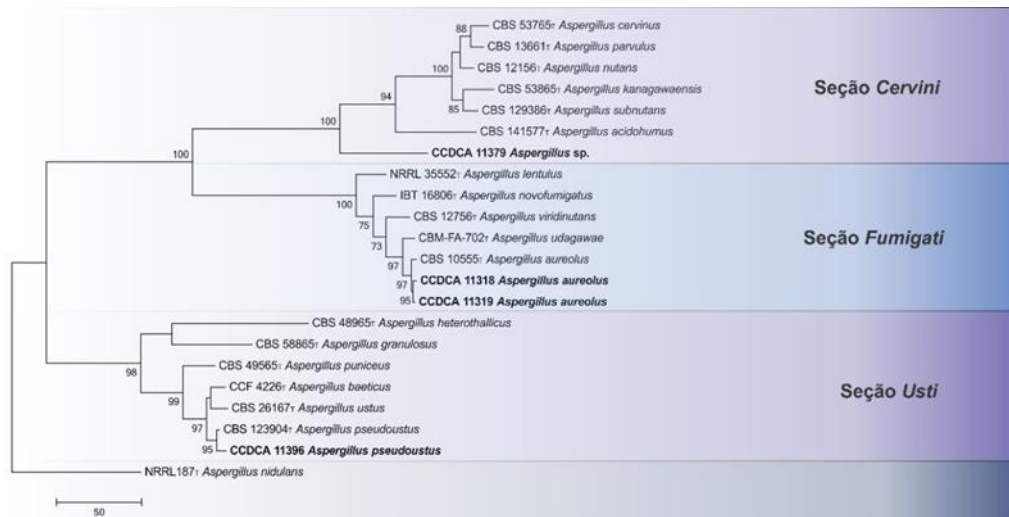


Figura 4 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas (*BenA* e *CaM*) que mostram as relações entre espécies do gênero *Aspergillus*. Os valores de *bootstrap*, são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios, e somente valores acima de 70% são indicados. Os isolados tipo são designados com sobrescrito T.



### 3.6.2 Análise filogenética em espécies de *Penicillium*

Quatro morfotipos estão dentro da seção *Ramosa* como *Penicillium virgatum*, apresentando similaridades morfológica e genética e confirmando, dessa forma, a identificação. Os membros da seção *Citrina* são abundantes e têm uma distribuição mundial.

Três morfotipos identificados como da seção *Citrina* foram identificados como *Penicillium ubiquetum*, *Penicillium citrinum* e *Penicillium cairnsense* considerando as similaridades genéticas.

A seção *Sclerotiora* é filogeneticamente bem definida, existem vários estudos recentes que introduzem novas espécies. Neste trabalho, foram identificadas as seguintes espécies dessa seção: *Penicillium austrosinicum*, *Penicillium bilaiiae* e *Penicillium adametzi*, outras espécies continuam com classificação até gênero.

*Penicillium lemhiflumine* foi a única espécie da seção *Cinnamopurpurea* identificada na presente pesquisa e é distinguida de espécies semelhantes (*P. cvjetkovicii*, *P. salmoniflumine*, *P. monsgalena* e *P. idahoense*), porque forma colônias sulcadas quando cresce em MEA.

Espécies de seção *Aspergilloides* compartilham caracteres fenotípicos tais como, conidióforos monovercílados, taxa de crescimento rápido em CYA e/ou MEA, e reação Ehrlich negativo. Várias espécies de seção *Aspergilloides* produzem muitos conídios no MEA, os quais se deslocam ou caem em massa. Essa característica é mais pronunciada em

DG18. Somente uma espécie foi identificada dessa seção, *P. longicatenatum*, filogeneticamente única e em comum com outras espécies do *P. thomii*-clade, produz escleródios em CYA e MEA, e cresce bem em CYA a 30°C. Apresenta proximidade com *Penicillium vagum* que gera conídios espessos e espinhosos, demonstrando uma moderada produção de ácido no CREA, ao passo que *P. longicatenatum* exibe conídios finamente rugosos.

*Penicillium atramentosum* foi encontrado nas amostras de canga e descrito como produtor de uma gama de metabólitos secundários. Em diversos isolados não foi possível identificar as espécies, permanecendo somente com o nome do gênero e a seção a qual pertence. Para alguns são necessários novas análises filogenéticas e adição de técnicas químicas para auxiliar na identificação, outros são evidentes novas espécies e suas descrições serão feitas a posteriori (FIGURAS 5 e 6).

Figura 5 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de *BenA* que mostram as relações entre espécies do gênero *Penicillium*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios, e somente valores acima de 70% são indicados. Os isolados tipo são designados com sobrescrito T.

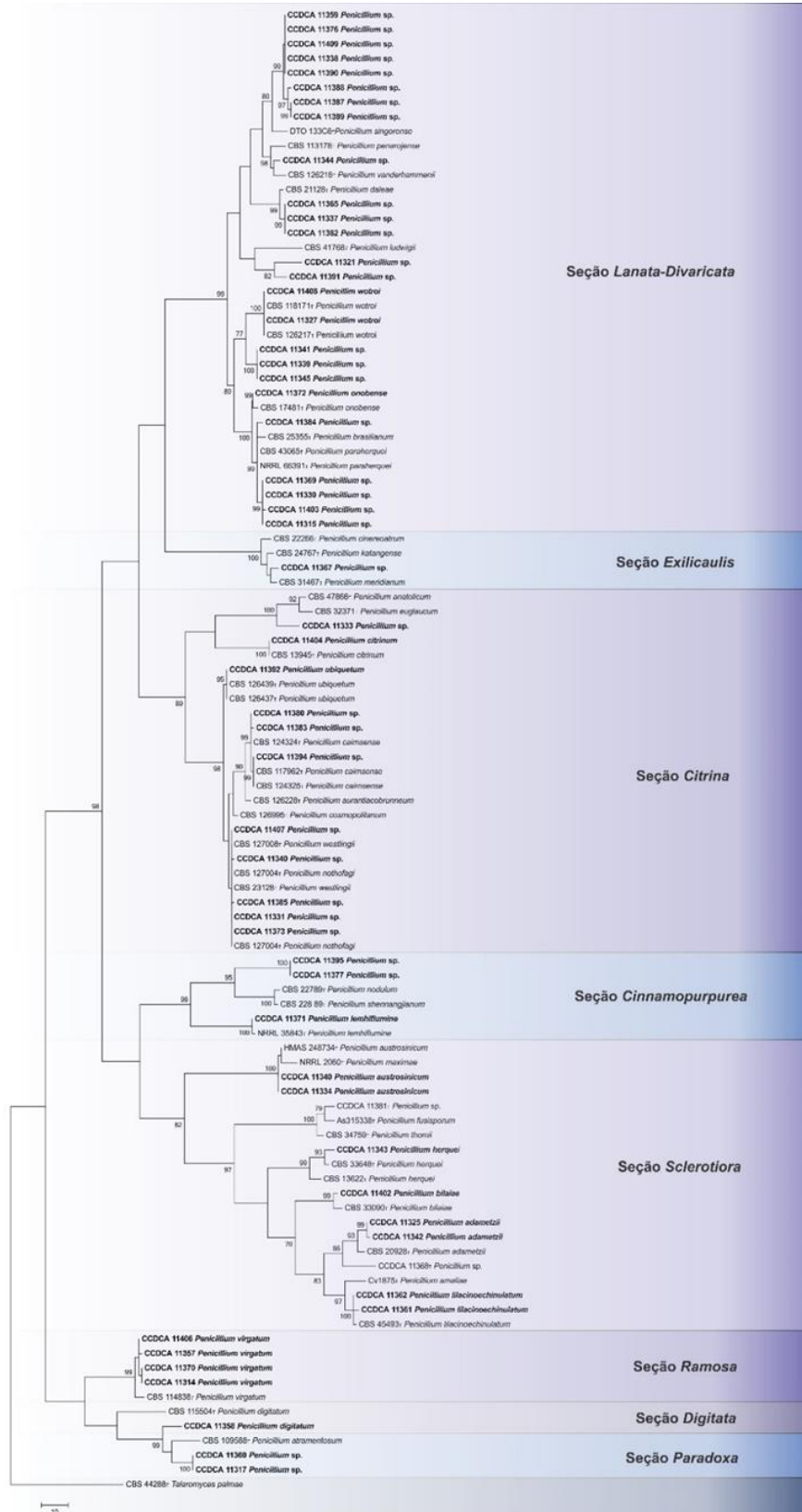
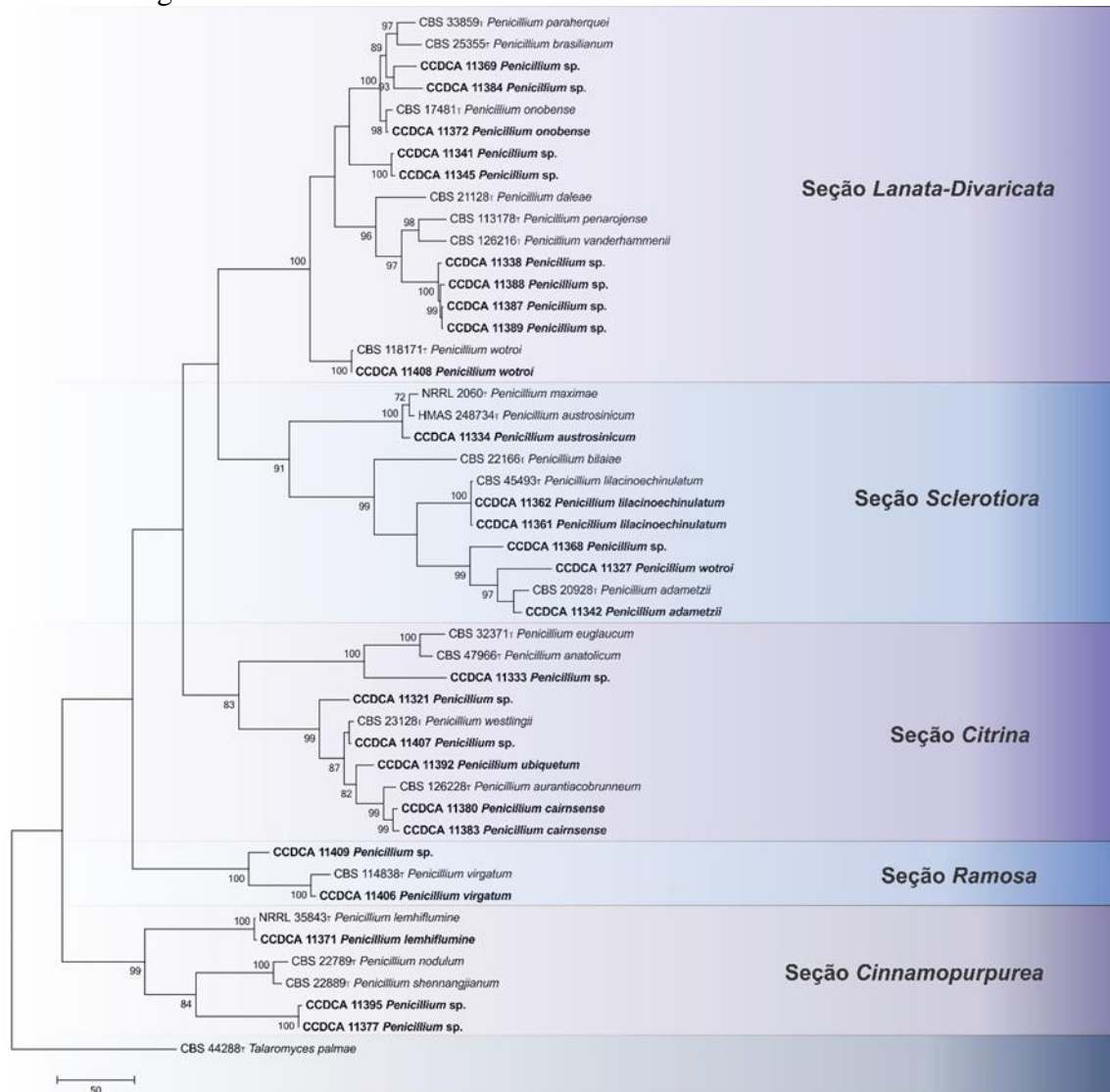


Figura 6 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas (*BenA* e *RPB2*) que mostram as relações entre espécies do gênero *Penicillium*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios, e somente valores acima de 70% são indicados. Os isolados tipo são designados com sobrescrito T.



### 3.6.3 Análise filogenética em espécies de *Talaromyces*

A maioria dos isolados foram identificados como pertencentes ao gênero *Talaromyces* seção *Talaromyces*, tendo como espécie mais próxima *Talaromyces amazonense*, descrito por Yilmaz e colaboradores (2016). Inúmeras características morfológicas são similares, no entanto apenas o gene beta-tubulina foi sequenciado, sendo necessários mais dados para confirmação da espécie (FIGURAS 7 e 8).

Figura 7 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de *BenA* que mostram as relações filogenéticas de espécies do gênero *Talaromyces*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios, e somente valores acima de 70% são indicados. Os isolados tipo são designados com sobrescrito T.

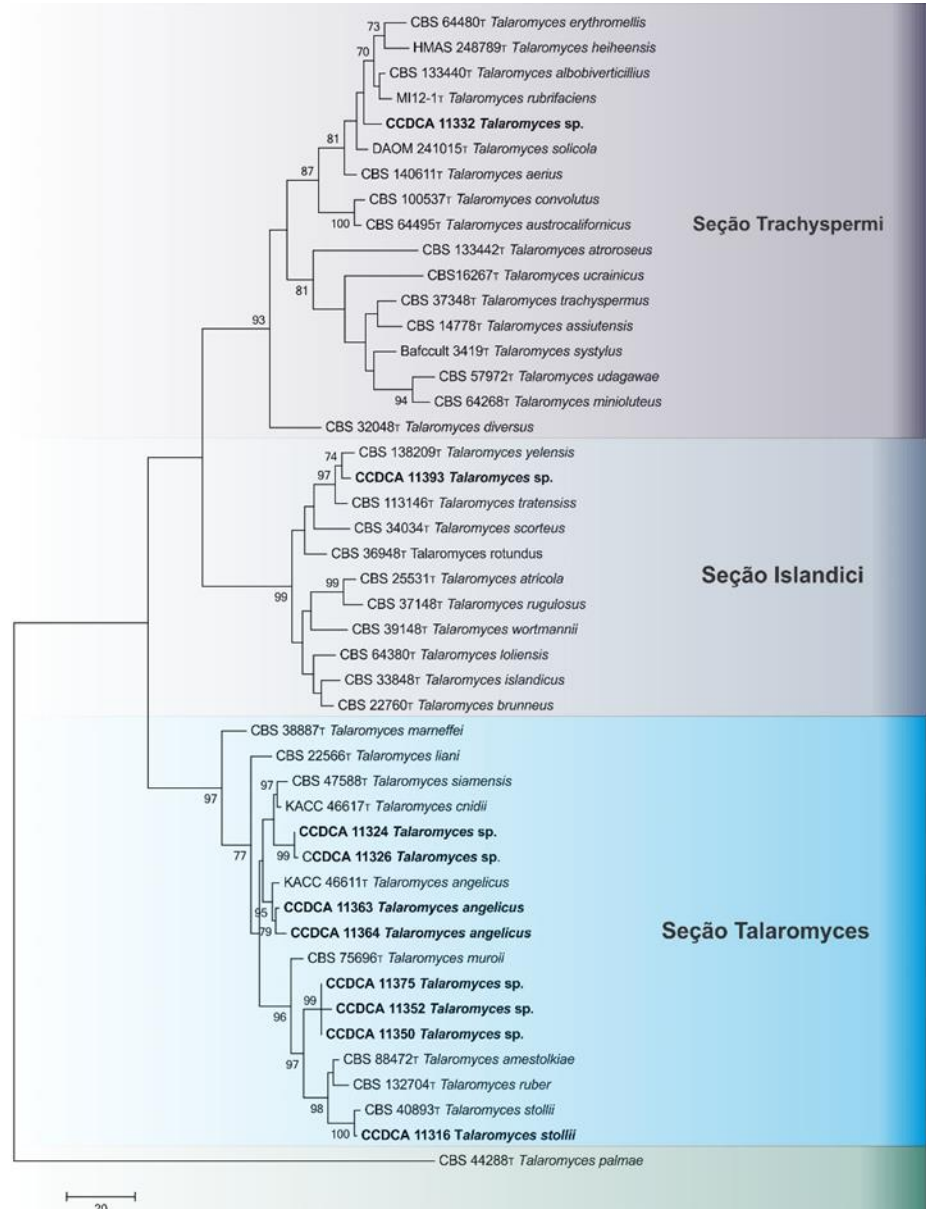
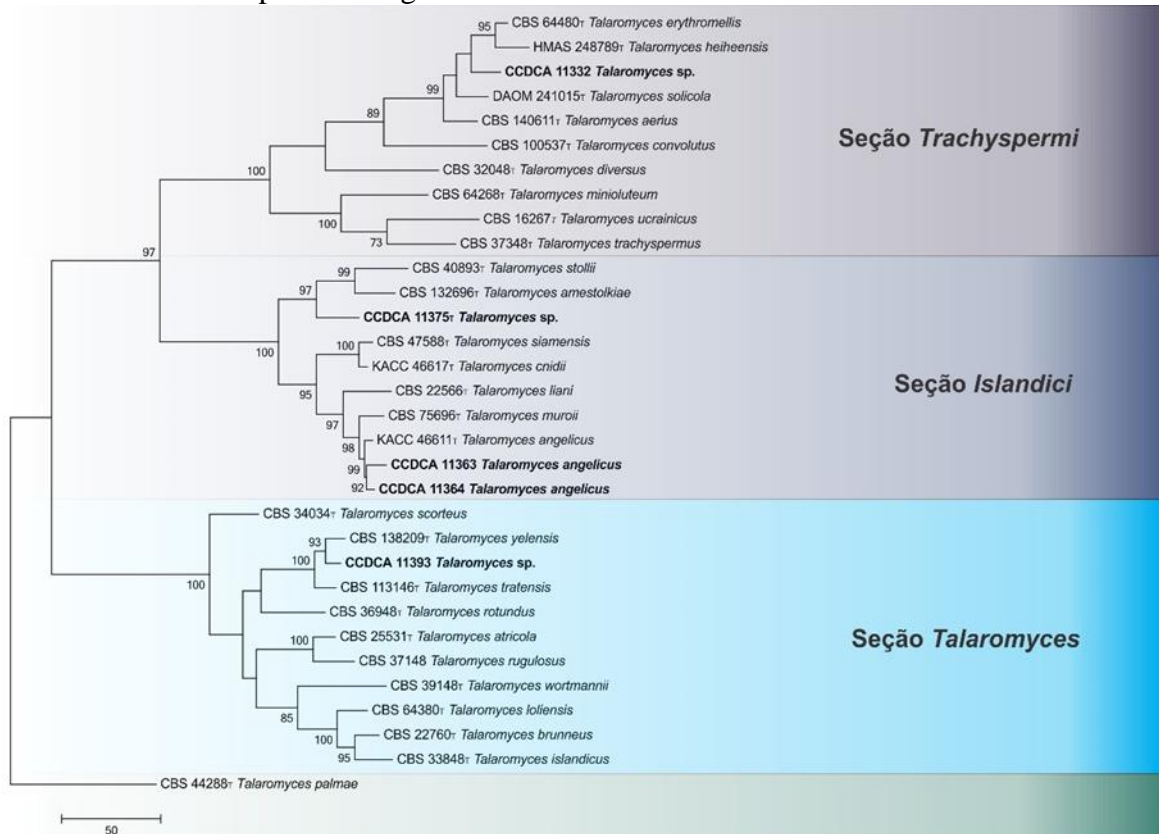




Figura 8 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas (*BenA* e *RPB2*) que mostram as relações filogenéticas de espécies do gênero *Talaromyces*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios, e somente valores acima de 70% são indicados. Os isolados tipo são designados com sobrescrito T.



#### 4 DISCUSSÃO

O resultado das análises de diversidade de fungos do solo depende do método utilizado (GAMS, 1992). O método de diluição em placa é o mais comumente empregado para este tipo de estudo, pois apresenta bons resultados. Somado a isso, a escolha do meio de cultura também é muito importante para priorizar o crescimento das espécies de interesse. O meio DG18 apresenta baixa atividade de água (0,95), o que auxilia o crescimento de fungos xerofílicos fastidiosos, como várias espécies de *Penicillium*. Meios com atividade de água alta (0,99) caucionam espécies de rápido crescimento, como a maioria das espécies de *Aspergillus* (HOCKING; PITT, 1980; SAMSON et al., 1996). Embora o meio DRBC possua Rosa Bengala, utilizado para inibir ou retardar espécies de crescimento rápido, isso não atrapalhou o desenvolvimento das espécies de *Aspergillus*.

Douglas King e colaboradores (1979), ao descreverem o meio DRBC para isolamento de fungos em alimentos atentaram que, em concentrações elevadas (aproximadamente 5 µg), o antimicrobiano dicloran pode inibir completamente o crescimento de *A. niger*. A

concentração de 2 µg foi deste modo adotada por apresentar equilíbrio em inibir as espécies de crescimento rápido indesejadas, como os gêneros *Rhizopus* e *Mucor*, em detrimento das espécies de interesse, como *Aspergillus*. À vista disso, o menor número de morfotipos de *Aspergillus* encontrados nos dois meios avaliados pode ser explicado devido a presença deste antimicrobiano.

Os solos de áreas de Canga são ricos em matéria orgânica, além de possuir pH mais baixo, oportunizando o estabelecimento dos fungos em detrimento de bactérias e outros microrganismos, diminuindo assim a competição espacial e nutricional. O solo das amostras de Canga possui ainda característica peculiar como, por exemplo, a elevada concentração de ferro.

Monteiro (2012), trabalhando com isolamento de fungos de solo do Cerrado de Minas Gerais, aferiu valores de unidades formadoras de colônias um pouco inferiores (média total de  $5,0 \cdot 10^3$ ) aos encontrados neste trabalho e, os valores de UFC também alteraram bastante de amostra para amostra. Em pesquisas semelhantes em amostras de Canga, Pereira (2015) encontrou valores de UFCs com média de  $3,4 \cdot 10^5$ , mostrando que a quantidade e a diversidade de espécies no solo alteram-se muito em poucos metros, ou até centímetros, devido aos microsítios. Cada partícula do solo pode ser habitada por uma comunidade microbiana, a qual pode ser muito distinta da adjacente, em função das condições ambientais díspares (ZHOU et al., 2002; MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PAUL, 2015).

O número de espécies identificadas e morfotipos de *Penicillium* e *Talaromyces* foram drasticamente maiores que os de *Aspergillus*. É importante enfatizar que o mesmo ocorreu em vários trabalhos encontrados na literatura, os quais avaliaram fungos de solos cultivados. Oliveira e colaboradores (2013) avaliaram a diversidade de fungos do solo no semiárido pernambucano em dois períodos do ano (seco e chuvoso) e encontraram 85 espécies, sendo 28 de *Penicillium* (597 isolados) e 18 de *Aspergillus* (356 isolados). Souza (2010), trabalhando com solos da Mata Atlântica em técnica de lavagem de partículas, obteve 29 espécies de *Penicillium* e seis de *Aspergillus*. Puangsombat e colegas (2010) analisaram cinco tipos de solos da Tailândia e encontraram nove espécies de *Aspergillus* e 27 de *Penicillium*. Solos de área de mangue também foram estudados e determinaram que *Penicillium* e *Aspergillus* são os gêneros dominantes com 21 e 11 espécies, respectivamente (GOMES, 2016).

*Penicillium* é um gênero que contém saprófitos comuns, cujos conídios são facilmente dispersos através da atmosfera. A predominância de *Penicillium* pode estar relacionada ao antagonismo sobre outras espécies, seja por produção de metabólitos secundários ou, mesmo

indiretamente, por meio da competição nutricional, da produção elevada de esporos e da maior capacidade de crescimento em meios de cultivo (GOMEZ et al., 2007).

Entretanto em outros trabalhos, as prevalências se invertem, dos 11 gêneros de fungos filamentosos identificados por Borges 2017, *Aspergillus* (27,92%) e *Penicillium* (24,08%) foram os mais frequentes em solo de monocultura de ervas. O gênero *Aspergillus* representa um grupo de fungos amplamente difundido, ocorrendo com grande frequência em áreas cultivadas e solos de florestas tropicais (CHRISTENSEN; TUTHILL, 1985).

Os gêneros *Penicillium* e *Talaromyces* são identificados morfológicamente pelas comparações de suas estruturas reprodutivas (sexual e assexual), além de tamanho e coloração das colônias, porém diferenciá-los em espécies não fácil. Sua evolução genética é bastante lenta e variações de sua morfologia podem sofrer alterações de maneira muito sutil entre espécies próximas.

A diferenciação de espécies pela observação de seus caracteres morfológicos foi a primeira forma de classificação de organismos vivos e já extintos. Para fungos filamentosos, ainda hoje, esta técnica é muito utilizada e, de sobremaneira, corrobora outras técnicas moleculares e bioquímicas. Nesse contexto, imagens das formas microscópicas e das colônias em diferentes meios de cultura e temperaturas são de grande auxílio na taxonomia fúngica (WATANABE, 2010).

As espécies de *Talaromyces* foram identificadas e relacionadas, pois, até recentemente, este gênero era considerado fase sexuada de *Penicillium*. Todas as espécies descritas no subgênero *Biverticillium* foram reescritas e renomeadas, como *Talaromyces* (SAMSON et al., 2011; YILMAZ et al., 2014).

O grupo de espécies da seção *Nigri* é considerado o mais importante dentro de *Aspergillus*. Todavia, essa seção também é conhecida pela difícil identificação e classificação, considerada uma das mais complexas do gênero. Tanto na análise das colônias quanto na microscopia, alguns marcadores morfológicos são imprescindíveis e determinantes na identificação das espécies e, por isso foram as ferramentas utilizadas no presente trabalho (SAMSON e al., 2006).

*Aspergillus trisporus* ainda está sendo descrito, entretanto análises de comparação de sequências gênicas determinam que os isolados encontrados nesse trabalho correspondam à mesma espécie. Essa espécie faz parte da seção *Jani* relatada recentemente por HUBKA (2015), na qual ainda enquadrada as espécies *A. janus* e *A. brevijanus*. As espécies dessa seção produzem três diferentes tipos de conidióforos, dois deles são bisseriados e produzem fiálides e conídios, ao passo que o terceiro tipo é representado por micro-

semimacronematosos produzindo conídios acessórios. A ocorrência de conídios verdes pode influenciar a cor das colônias ou criar setores.

Na taxonomia microbiana, mais evidentemente em taxonomia fúngica, progressivamente tem se tornando mais claro que, os dados associados como, por exemplo, avaliação de micotoxinas, metabólitos secundários e análises moleculares, podem muitas vezes ser mais bem aplicados que dados para uma finalidade específica. Ou seja, uma abordagem de múltiplas técnicas gera dados de qualidade, os quais são mais precisos e úteis (SIMÕES et al., 2013).

De acordo com Houbraken et al. (2014), atualmente não é possível reconhecer todas as seções sem empregar os dados de sequências de DNA, sendo o ideal formular um sistema de classificação que incluísse características fenotípicas. Este sistema de classificação proposto seria o ponto de partida para investigação dos caracteres fenotípicos úteis para a classificação.

Várias espécies de *Aspergillus* são utilizadas na produção de metabólitos bioativos, assim como podem ser agentes causadores de doenças humanas, incluindo aspergilose invasiva, osteomielite, endocardite e queratite micótica (SERRANO et al., 2015; SAMSON et al., 2007; VINH et al., 2009)

*Aspergillus aureola* já foi isolado de solos contaminados com óleos, solos de semi-desertos, solo de países tropicais (Brasil, Gana, Libéria, Suriname), sumo de maracujá (Fiji) (FENNELL; RAPER, 1955; PETERSON, 1992; HORIE et al., 2003; SAMSON et al. 2007; CATHERINE et al., 2015; ADHIKARI et al., 2015). Também já foi relatada a produção de pseurotina que é sintetizada por uma enzima PKS-NRPS híbrida em várias espécies de fungos, sendo considerado um inibidor competitivo da quitina sintase capaz de suprimir a produção de imunoglobulina E (WENKE et al. 1993). *Aspergillus aureola* (syn. *A. indohii*) é a única espécie homotética dentro do complexo *A. viridinutans*, as espécies restantes são provavelmente heterofísicas, e a forma teleomórfica foi observada em *A. udagawae* e *A. felis* (NOVÁKOVÁ et al., 2014). *Aspergillus pseudoustus* já foi isolada de milho armazenado e contaminante de cultura de *Bipolaris sorokiniana* na África do Sul, e um isolado veio do ar da Finlândia (SAMSON et al., 2011).

Dentro da seção de *Usti*, *A. ustus* produz versicolorinas, *A. heterothallicus* é um produtor de esterigmatocistina, enquanto *A. pseudoustus* foi descrito, recentemente, como produtor de ácido norsolônico, averufina e versicolorina C, indicando que esta espécie também transporta pelo menos parte dos clusters de genes da biossintética de aflatoxina (VARGA et al., 2015).

Thom (1930) introduziu a seção *Lanata-Divaricata* para espécies com conidióforos biverticilados que geralmente contêm um alongamento do eixo principal, divergindo do eixo para formar um vértice assimétrico. Como resultado, os conidióforos geralmente podem ser interpretados como monoverticilados, embora na maioria dos casos sejam conidióforos biverticilados ramificados (*divaricato*). Este grupo de espécies é comumente isolado do solo (THOM 1930; RAPER; THOM 1949; CHO 2005; HOUBRAKEN et al., 2011; LAICH et al 2016). Foram identificadas três espécies na seção *Lanata-Divaricata*: *P. onobense*, *P. wotroi* e *daleae*, a filogenia agrupou com 100% de similaridade, além das características morfológicas estão em concordância com o artigo de descrição de Houbraken (2011a).

Dentro da seção *Ramosa* como *Penicillium virgatum* foi isolado pela primeira vez do solo de um campo de soja na Nova Caledônia, mas também já encontrado em madeira de construção (KWAŚNA et al., 2005; ORTIZ et al., 2014), no Brasil não há relato.

Os membros da seção *Citrina* também são conhecidos por sua capacidade de produzir micotoxinas como citrinina e citreoviridina. A citrinina é nefrotóxica consistentemente produzida por *P. citrinum*, mas também por outras espécies relacionadas, incluindo *P. gorlenkoanum*, *P. ubiquestum*, *P. hetheringtonii*, *P. miczynskii*, *P. chrzaszczii*, *P. manginii* e *P. westlingii*; e citreoviridina é produzida por *P. cairnsense*, *P. miczynskii* e *P. manginii* (POLLOCK, 1947, FRISVAD, 1989, FRISVAD; FILTENBORG 1990, FRISVAD et al. 2006, HOUBRAKEN et al. 2010). As espécies desta seção são muito comuns no solo, mas também são isolados de ambientes internos e alimentos. Sua distribuição pode estar relacionada ao clima (PITT e HOCKING 2009; SAMSON et al. 2010; HOUBRAKEN 2011b).

As características de colônias cultivadas em condições padronizadas foram altamente informativas. A morfologia do conidióforo entre diferentes espécies é muito semelhante, contudo há exceções, como no caso de *P. herquei* e *P. malachiteum* que produzem conidióforos biverticilados (HOUBRAKEN; SAMSON, 2011), porém se distinguem por produção de cleistotécio em *P. malachiteum*. *P. malachiteum*, por sua vez, apresenta crescimento restrito em comparação com *P. herquei* (VISAGIE et al., 2013). *P. lilacinoechinulatum* era considerado um sinônimo de *P. bilaiae* (PITT, 1979, PITT et al., 2000), entretanto em 2013 um estudo de taxonomia polifásica da seção *Citrina* os distinguiu (VISAGIE et al., 2013). *P. lilacinoechinulatum* tem esporulação mais fraca na maioria dos meios de cultura, e crescimento mais lento no CYA, ausência de exsudatos marrons ou amarelos produzidos consistentemente em *P. bilaiae* no CYA com um crescimento mais lento a 37°C.

Morfologicamente, as espécies na seção *Cinnamopurpurea* são bastante semelhantes, produzindo esporos subglobose a elipsoidais, lisos e finamente rugosos, monoverticilados de paredes lisas e colônias de crescimento lento, muitas vezes com um reverso marrom em alguns meios (PETERSON et al., 2015).

A seção *Paradoxa* é a única que agrupa dois diferentes gêneros, ela contém as seguintes espécies: *Aspergillus paradoxus*, *A. malodoratus*, *A. crystallinus* e *P. atramentosum* formando um clado bem apoiado (85% bs, 1,00 pp) (HOUBRAKEN et al., 2011).

As espécies do gênero *Talaromyces* têm uma distribuição mundial e ocorrem em diversos substratos, incluindo solo, poeira doméstica, folhas, madeiras e frutas (YILMAZ et al., 2014). Nas últimas décadas houve grandes progressos na compreensão da diversidade de espécies desse gênero (BENJAMIN, 1955; STOLK; SAMSON, 1971, 1972; PITT, 1979; SAMSON et al. 2011). Foram aceitas 88 espécies divididas em sete seções: *Bacillispori*, *Helici*, *Islandici*, *Purpurei*, *Subinflati*, *Talaromyces* e *Trachyspermi* (YILMAZ et al., 2014; VISAGIE et al., 2015; LUO et al. 2016; ROMERO et al., 2016; WANG et al., 2016).

*Talaromyces* é um gênero importante para áreas como biotecnologia, micologia médica e alimentar e, *Talaromyces amazonensis*, em especial, é produtor de duclauxina, ácido berquéllico e vermicilina. (YILMAZ et al., 2016). São três compostos conhecidos por sua ação anticancerígena (FUSKA et al. 1979; SHIBATA et al., 1965; FRISVAD et al., 1990; BRYANT et al., 1993; STIERLE et al., 2006; CAO et al., 2015). Além disso, as detecções desses metabólitos podem ajudar na identificação.

## 5 CONCLUSÃO

O solo coletado no tempo chuvoso apresentou um número maior de fungos totais se comparado ao tempo seco, no entanto isso se inverte quando a análise é feita apenas para os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*. Foram isolados 2029 fungos, sendo 298 de *Aspergillus* e 1731 de *Penicillium* e *Talaromyces*.

Através de dados morfológicos e moleculares, foi possível chegar a 35 espécies diferentes, embora muitos morfotipos continuem sem identificação em nível de espécie. Esses morfotipos representam grande probabilidade de serem espécies novas e apresentarem potencial biotecnológico, passando agora a compor a Coleção de Microrganismos do Departamento de Ciências de Alimentos (CCDCA).

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-AZEEM, A. M. et al. Biodiversity of the genus *Aspergillus* in different habitats. In: **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. 2016. p. 3-28.
- ADHIKARI, M. et al. A new record of *Neosartorya aureola* isolated from field soil in Korea. **The Korean Journal of Mycology**, Seoul, v. 43, p. 191-195, 2015.
- ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 25, n. 17, p. 3389-402, 1997.
- BENJAMIN, C. R. Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium*. **Mycologia**, New York, v. 47, p. 669–687, 1955.
- BLACKWELL M. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? **American Journal of Botany**, New York, v. 98, p. 426–438, 2011.
- BORGES, L. R. et al. Diversidade de fungos filamentosos em solo de monocultivo de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Curitiba, v. 9, n. 2, 2017.
- BRYANT, F. O.; CUTLER, H. G.; JACYNO, J. M. Properties and cost-effective method for production of the antitumor agent duclauxin from sporulation *Penicillium herquei*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Vancouver, v. 82, p. 1214–1217, 1993.
- CATHERINE, K. et al. Cultural characterization of fungi isolated from oil contaminated soils. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, Washington, v. 5, n. 16, p. 16-21, 2015.
- CHRISTENSEN, M.; TUTHILL, D. *Aspergillus* an overview. In: SAMSON, R.; PITT, J. (Ed.). **Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics**. New York: Plenum Press, p. 195-209, 1985.
- CHO, H. S.; HONG, S. B.; GO, S. J. First report of *Penicillium brasilianum* and *P. daleae* isolated from soil in Korea. **Mycobiology**, London, v. 33, p. 113-117, 2005.
- DOUGLAS-KING, J. A.; HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Dichloran-Rose Bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 37, n. 5, p. 959-964, 1979.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, Oxford, v.19, n. 1, p.11-15, 1987.
- FENNELL, D. I.; RAPER, K. B. New species and varieties of *Aspergillus*. **Mycologia**, New York, v. 47, p. 68–89, 1955. FRIES EM (1832). *Systema Mycologicum*. E. Mauritius, Gryphiswald.



FRISVAD, J. C. The connection between the penicillia and aspergilla and mycotoxins with special emphasis on misidentified isolates. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 18, p. 452–467, 1989.

FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. Revision of *Penicillium* subgenus *Furcatum* based on secondary metabolites and conventional characters. In: SAMSON, R. A.; PITT, J. I. (Eds.). **Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification**. London: Springer US, 1989. p. 159–172.

FRISVAD, J. C. et al. Important mycotoxins and the fungi which produce them. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 571, p. 3–31. 2006.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 2, n. 49, p. 1–173, 2004.

FUSKA, J.; NEMEC, P.; FUSKOVÁ, A. Vermicillin, a new metabolite from *Penicillium vermiculatum* inhibiting tumor cells in vitro **The Journal of Antibiotics**, v. 34, p. 735–739, 1979.

GAMS, W. The analysis of communities of saprophytic microfungi with special reference to soil. In: WINTERHOFF, W. (Ed.). **Fungi in vegetation science**. Netherland: Kluwer Academic, 1992. p. 183–223.

GOMES, D. N. F.; CAVALCANTI, M. A.; PASSAVANTE, J. Z.O. Fungos filamentosos isolados de sedimento do manguezal Barra das Jangadas, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brasil. **Tropical Oceanography**, Recife, v. 39, n. 1, 2016.

GOMEZ, E.; PIOLI, R.; CONTI, M. Fungal abundance and distribution as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 43, n. 3, p. 373–377, 2007.

GUEVARA-SUAREZ, M. et al. Four new species of *Talaromyces* from clinical sources. **Mycoses**, Washington, v. 60, n. 10, p. 651–662, 2017.

HALLER, A.V. Historia stirpium indigenarum *Helvetiae inchoata*. **Bernae**, 1968

HEPPERLE, D. **SeqAssem**©. A sequence analysis tool, contig assembler and trace data visualization tool for molecular sequences. Win32-Version, 2004. Available at <http://www.sequentix.de>. Accessed 01 February 2018.

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

HORIE, Y. Two new species of *Neosartorya* from Amazonian soil, Brazil. **Mycoscience**, Tokyo, v. 44, p. 397–402, 2003.

HOUBRAKEN, H. J.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. **Fungal Diversity**, Hong Kong, v. 44, p. 117–133, 2010.

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

HOUBRAKEN, J.; DE VRIES, R. P.; SAMSON, R. A. **Modern taxonomy of biotechnologically important aspergillus and penicillium species**. 1. ed. [s.l.]. London: Elsevier Inc. All rights reserved., 2014. v. 86.

HOUBRAKEN, J. et al. *Penicillium araracuarensense* sp. nov., *Penicillium elleniae* sp. nov., *Penicillium penarajense* sp. nov., *Penicillium vanderhammenii* sp. nov. and *Penicillium wotroi* sp. nov., isolated from leaf litter. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Washington, v. 61, n. 6, p. 1462–1475, 2011.

HOUBRAKEN, J.; WANG, L.; LEE, H. B.; FRISVAD, J. C. New sections in *Penicillium* containing novel species producing patulin, pyripyropens or other bioactive compounds. **Persoonia**, v. 36, p. 299–314, 2016.

HUBKA, C. M. et al. *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, p. 63-139, 2014.

HUBKA, V. et al. Revision of *Aspergillus* section Flavipedes: seven new species and proposal of section Jani sect. nov. **Mycologia**, New York, v. 107, n. 1, p. 169-208, 2015.

JURJEVIĆ, Ž. et al. Taxonomy of *Aspergillus* section Petersonii sect. nov. encompassing indoor and soil-borne species with predominant tropical distribution. **Plant Systematics and Evolution**, London, v. 301, n. 10, p. 2441-2462, 2015

KLICH, M. A. **Identification of common *Aspergillus* species**. Amsterdam: Centraalbureau voor Schimmelauteurs, 2002. 116 p.

KWAŚNA, H.; NIRENBERG, I. Delimitation of *Penicillium virgatum* sp. nov. and *P. daleae* on the basis of morphological and molecular characters. **Mycological research**, Cambridge, v. 109, n. 9, p. 974-982, 2005.

LAICH, F.; ANDRADE, J. *Penicillium pedernalense* sp. nov., isolated from whiteleg shrimp heads waste compost. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, New York, v. 66, n. 11, p. 4382-4388, 2016.

LUO, Y. et al. *Talaromyces rubrifaciens*, a new species discovered from heating, ventilation and air conditioning systems in China. **Mycologia**, New York, v. 108, p. 773–779, 2016.

MCNEILL J, BARRIE FF, BUCK WR, et al. (eds) **International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code)**. Koeltz Scientific Books, Königstein. 2012. [Regnum vegetabile no. 154].

MONTEIRO, M. C. P. **Identificação dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do Cerrado**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola)– Universidade Federal de Lavras, UFLA, 2012. 75p.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2. ed. ed. Lavras: Editora UFLA, 2006, 729p.

NOVÁKOVÁ, A. et al. New species in *Aspergillus* section *Fumigati* from reclamation sites in Wyoming (USA) and revision of *A. viridinutans* complex. **Fungal Diversity**, Washington, v. 64, n. 1, p. 253-274, 2014.

OLIVEIRA, S. H. et al. Seedling growth of the invader *Calotropis procera* in ironstone rupestrian field and seasonally dry forest soils. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 4, n. 2, p. 2009.

ORTIZ, R. et al. Deterioration, decay and identification of fungi isolated from wooden structures at the Humberstone and Santa Laura saltpeter works: A world heritage site in Chile. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Birmingham, v. 86, p. 309-316, 2014.

PAUL, E.A. **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry**. 4. ed. Elsevier Academic Press, Londres, UK, 2015, 59p.

PEREIRA, V. M. **Diversidade, riqueza e composição dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* de solos do Quadrilátero Ferrífero**. 2016. 222 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

PERRONE, G.; SUSCA, A. *Penicillium* Species and Their Associated Mycotoxins. **Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols**, p. 107–119, 2017.

PETERSON, S. W. *Neosartorya pseudofischeri* sp. nov. and its relationship to other species in *Aspergillus* section *Fumigati*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 96, p. 547-554. 1992.

PETERSON, S. W.; JURJEVIĆ, Ž.; FRISVAD, J. C. Expanding the species and chemical diversity of *Penicillium* section *Cinnamopurpurea*. **PloS one**, San Francisco, v. 10, n. 4, p. e0121987, 2015.

PITT, J. I. A. **Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species**. Australia: Food Science Australia, 187 p. 2000.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 2. ed. London: Blackie Academic and Professional, 593 p. 1997.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3 ed. London: Blackie Academic and Professional, 519 p. 2009.

POLLOCK, A. V. Production of citrinin by five species of *Penicillium*. **Nature**, London, v. 160: 331–332, (1947).

PUANGSOMBAT, P.; SANGWANIT, U.; MAROD, D. Diversity of soil fungi in different land use types in Tha Kum-Huai Raeng forest reserve, Trat Province. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, Chatuchak, v. 44, p. 1162-1175, 2010.

RAPER, K. B.; THOM, C. **A manual of the *Penicillia***. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1949.

ROMERO, S. M. et al. *Talaromyces systylus*, a new synnematosus species from Argentinean semi-arid soil. **Nova Hedwigia**, Berlin, v. 102, n. 1-2, p. 241-256, 2016.

SAMSON R. A. et al. Methods for the detection and isolation of food-borne fungi. In: SAMSON R. A. et al. (Eds). **Introduction to food-borne fungi**. Netherlands: CBS. p. 261-269, 1996.

SAMSON RA, et al. **Food and Indoor Fungi (CBS Laboratory Manual Series 2)**. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. 2010. 390 p.

SAMSON, R. A.; HONG, S. B.; FRISVAD, J. C. Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*, New York, v. 44, p. 133-148, 2006.

SAMSON, R. A. et al. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 70, p. 159–183, 2011.

SAMSON, R. A. et al. Diagnostic tools to identify black aspergilli. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 59, p. 129-145, 2007.

SERRANO, R. et al. Rapid identification of *aspergillus fumigatus* within the section *fumigati*. **BMC Microbiology**, London, v. 11, p. 82, 2011.

SIMÕES, M. F. et al. Polyphasic identification and preservation of fungal diversity: Concepts and applications. In: MALIK, A.; GROHMANN, E.; ALVES, M. (Eds.). **Management of Microbial Resources in the Environment**. Netherlands: Ed. Springer, p. 530, 2013.

SKIRY CZ, A. et al. Canga biodiversity, a matter of mining. **Frontiers in Plant Science**, Melbourne, v. 5, p. 653, 2014.

SOUZA, C. N. et al. Diversidade de fungos do solo da Mata Atlântica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA, 6., 2010, Brasília, DF. **Anais...**Brasília, DF, 2010.1 CD-ROM.

STIERLE, A. A.; STIERLE, D. B.; KELL, Y. K. Berkelic acid, a novel spiroketal with selective anticancer activity from an acid mine waste fungal extremophile. **Journal of Organic Chemistry**, Chicago, v. 71, p. 5357–5360, 2006.

STOLK, A. C.; SAMSON, R. A. Studies on *Talaromyces* and related genera I. *Hamigera* gen. nov. and *Byssochlamys*. **Persoonia**, v. 6, p. 341–357, 1971.

STOLK, A. C.; SAMSON, R. A. **The genus *Talaromyces*: studies on *Talaromyces* and related genera II**. 2. ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1972.

TAMURA, K. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology**, New York, v. 28, p. 2731-2739, 2011.

TEDERSOO, L. et al. Global diversity and geography of soil fungi. **Science**, Washington, v. 346, n. 6213, p. 1256688, 2014.

THOM, Charles et al. **The penicillia**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1930.

VARGA, J. et al. Mycotoxin producers in the *Aspergillus* genus: an update. **Acta Biologica Szegediensis**, Budapest, v. 59, n. 2, p. 151-167, 2015.

VINH, D. C. et al. Chronic invasive aspergillosis caused by *Aspergillus viridinutans*. **Emerging infectious diseases**, Atlanta, v. 15, n. 8, p. 1292, 2009.

VISAGIE, C. M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, n. 1, p. 343–371, 2014.

VISAGIE, C. M. et al. Five new *Penicillium* species in section *Sclerotiora*: a tribute to the Dutch Royal family. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Tshwane, v. 31, p. 42, 2013.

VISAGIE, C. M. et al. Four new *Penicillium* species isolated from the fynbos biome in South Africa, including a multigene phylogeny of section Lanata-Divaricata. **Mycological progress**, Tübingen, v. 14, n. 10, p. 96, 2015.

WANG, Q. et al. *Talaromyces neofusisporus* and *T. qii*, two new species of section *Talaromyces* isolated from plant leaves in Tibet, China. **Scientific reports**, London, v. 6, p. 18622, 2016.

WENKE, J.; ANKE, H.; STERNER, O. Pseurotin A and 8-O-demethylpseurotin A from *Aspergillus fumigatus* and their inhibitory activities on chitin synthase. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 57, 961–964, 1993.

WATANABE, T. **Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species**. 3. ed. Boca Raton, FL: Taylor and Francis Group, 2010. 426 p.

YILMAZ, N. et al. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, p. 175-341, 2014.

YILMAZ, N. et al. Taxonomic re-evaluation of species in **Talaromyces** section *Islandici*, using a polyphasic approach. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Tshwane, v. 36, p. 37, 2016.

ZHOU, J. et al. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Berlin, v. 68, n. 1, p. 326-334, 2002.

**MATERIAL SUPLEMENTAR**

**APÊNDICE A – Principais características dos morfotipos não identificados do gênero *Aspergillus*.**

Morfotipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11396	39-41	39-41	37-40	0	32-34	Globoso; rugoso	Bisseriado, CYA 25°C branco flocoso com exudado marrom, reverso amarelo intenso
CCDCA 11379	0	23-25	0	0	0	Globoso, liso	Unisseriados, paredes lisas, marrom amarelado
CCDCA 11319	55-60	55-60	60-68	56-58	0	Globoso; rugoso	Bisseriado, CYA 25°C branco flocoso com exudado marrom, reverso amarelo intenso
CCDCA 11318	55-60	55-60	60-68	56-58	0	Globoso; rugoso	Bisseriado, CYA 25°C branco flocoso com exudado marrom, reverso amarelo intenso

**APÊNDICE B – Principais características dos morfotipos não identificados do gênero *Pencillium* e *Talaromyves*.**

Morfotipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11321	23-26	22-25	22-25	24-26	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA alaranjado, exudato presente, reverso laranja intenso
CCDCA 11322	23-25	16-18	0	13-15	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde escuro com borda branca
CCDCA 11323	29-32	18-20	0	20-22	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C verde com esclerodios laranja, MEA verde, ambos com reverso laranja intenso
CCDCA 11324	23-25	30-33	13-15	30-33	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco aveludado, MEA verde escuro funiculoso
CCDCA 11325	23-26	19-20	0	23-26	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde com reverso avermelhado, crescimento a 30°C com exudado e pigmentação solúvel avermelhada
CCDCA 11326	22-25	24-27	0	22-25	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticidado, cya 25°C e MEA branco aveludado, conidióforo finamente rugoso

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11327	42-45	29-33	20-24	42-44	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C, 30°C e MEA verde claro, sulcado, aveludado
CCDCA 11328	43-45	45-49	0	27-29	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C beje, MEA e CYA 30°C verde escuro, conidióforo finamente rugoso
CCDCA 11329	27-29	29-32	0	15-18	positivo	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, coloração verde, MEA com reverso laranja intenso, produção de ácido
CCDCA 11406	18-24	14-16	0	14-16	0	Globoso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C cinza munto sulcado, MEA verde aveludado com reverso laranja
CCDCA 11330	44-48	45-47	5-7	37-39	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, coloração verde, conidióforo rugoso
CCDCA 11331	20-24	17-20	0	2-4	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, verde claro no CYA 25°C e verde escuro no MEA, centralmente branco
CCDCA 11332	01-03	10-13	0	01-02	0	Globoso; finamente rugoso	Biverticilado, pouquíssimo crescimento em CYA 25°C, formação de exudato viscoso no MEA



Morfotipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11333	22-25	22-15	0	16-19	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, coloração marron com escleródios, conidióforo rugoso
CCDCA 11407	29-33	15-18	0	3-5	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, verde claro no CYA 25°C e verde escuro no MEA, centralmente branco
CCDCA 11334	33-35	18-22	0	14-17	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde com esclerodios laranja, todos reversos laranja intenso
CCDCA 11335	08-12	22-14	0	08-12	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C pequeno com centro verde, fiálides alongadas
CCDCA 11408	40-43	41-44	29-32	41-44	0	Subgloboso; finamente rugoso	Terverticilado, coloração verde, conidióforo rugoso
CCDCA 11336	43-45	43-45	0	43-45	0	Subgloboso; finamente rugoso	Terverticilado, coloração verde, conidióforo rugoso
CCDCA 11337	15-18	21-24	0	20-24	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, coloração verde amarronzada, aveludado, MEA com reverso laranja intenso
CCDCA 11338	24-26	30-33	0	16-18	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, cya 25 verde oliva com reverso amarelo

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11339	43-46	39-43	0	43-46	0	Globoso; rugoso	Terverticilado, CYA 25°C grande e branco, conidióforo e conídios muito rugosos
CCDCA 11340	21-24	15-19	0	1-3	15-19	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C sulcado, crescimento em CREA
CCDCA 11341	43-46	39-43	02-05	43-46	0	Globoso; rugoso	Terverticilado, CYA 25°C grande e branco, conidióforo e conídios muito rugosos
CCDCA 11342	21-24	15-19	0	1-3	15-19	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C sulcado, crescimento em CREA
CCDCA 11343	15-17	16-18	0	2-5	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde escuro com produção de pigmentação solúvel amarelada
CCDCA 11344	45-48	45-48	6-8	38-40	2-5	Subgloboso; finamente rugoso	Terverticilado, colônias amarelas, conidióforo rugoso e baixo crescimento em CREA

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11345	46-49	45-48	3-5	44-46	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, CYA 25°C grande e branco com exudato marrom, reverso marrom
CCDCA 11346	15-18	16-19	0	15-18	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, MEA com pigmentação e reverso marrom, formação de conídios em cadeia
CCDCA 11347	12-15	22-24	0	13-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado e monoverticilado, CYA 25°C branco e sulcado
CCDCA 11348	15-17	23-26	3-5	15-17	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco, sulcado e centralmente amarelo.
CCDCA 11349	12-15	22-24	0	0	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde escuro sulcado reverso amarelo escuro, MEA granulado e amarelo, conidióforo rugoso
CCDCA 11350	29-33	28-32	1-3	3-6	0	Subgloboso; liso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA granulado salmão
CCDCA 11351	20-24	20-24	0	20-24	0	Subgloboso; liso	Monoverticilado, CYA 25°C reverso salmão e MEA granulado branco

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11352	8-10	14-16	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, MEA verde funiculoso, fiálides ampliforme
CCDCA 11353	4-6	20-22	0	4-6	0	Elipsoidal; liso	Biverticilado, MEA laranja com exudato laranja, conidio elipsoidal
CCDCA 11354	19-22	30-33	0	6-8	0	Cilindrico; liso	Biverticilado, cya e mea verde musgo
CCDCA 11355	1-3	10-12	0	1-3	0	Subgloboso; liso	Biverticilado, crescimento baixo em CYA 25°C, MEA verde com exudado incolor viscoso
CCDCA 11356	8-10	27-30	0		0	Subgloboso; liso	Biverticilado, MEA granulado amarelo
CCDCA 11357	28-31	32-35	0	28-31	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde azulado com borda branca
CCDCA 11358	24-26	29-33	0	24-26	0	Subgloboso; liso	Biverticilado, verde bem escuro em CYA 25°C, mea amarelo granulado
CCDCA 11359	15-17	28-32	0	16-20	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, Cya 25°C pequeno e sulcado, mea azulado com bordas brancas

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11360	28-31	28-31	0	7-9	10-12	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde com exudado roxo/avermelhado, MEA verde oliva, crescimento em CREA
CCDCA 11361	24-26	24-25	4-7	24-26	4-7	Subgloboso; liso	Monoverticilado, CYA 25°C branco com reverso e exudato marrom
CCDCA 11362	25-29	24-26	1-3	0	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA branco com centro amarelo
CCDCA 11363	18-22	34-36	3-6	18-22	4-6	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco com centro rosa sulcado, MEA funiculoso com produção de pigmentação solúvel, conidióforo rugoso
CCDCA 11364	25-29	24-26	0	1-3	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C branco com centro amarelo, MEA branco granulado
CCDCA 11365	28-30	33-35	0	27-29	0	Globoso; rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C branco/amarelado, conídios muito rugosos
CCDCA 11366	25-29	24-26	0	1-3	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C branco com centro amarelo, MEA branco granulado

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11367	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA branco com reverso amarelo
CCDCA 11368	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA branco flocoso com reverso amarelo
CCDCA 11369	30-33	40-44	4--6	30-33	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde oliva com borda branca, MEA branco flocoso
CCDCA 11370	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco sulcado, MEA branco flocoso
CCDCA 11409	20-22	16-18	0	9-10	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C cinza sulcado, MEA branco flocoso
CCDCA 11371	9-12	9-12	0	0	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde oliva com reverso vermelho
CCDCA 11372	45-49	44-48	0	34-37	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco com reverso vermelho, MEA salmão, conidióforo rugoso
CCDCA 11373	12-15	11-14	0	12-15	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde escuro sulcado

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11374	48-50	48-50	0	41-43	26-30	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde sulcado, MEA branco aveludado, conidióforo rugoso
CCDCA 11375	18-20	21-24	0	21-24	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, CYA 25°C sulcado com centro rosa, reverso rosa, MEA branco granuloso
CCDCA 11376	7-10	20-22	0	06-8	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C pequeno e verde, MEA verde com borda branca, conidióforo rugoso
CCDCA 11377	1-3	5-8	0	1-3	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, pouquíssimo crescimento em CYA 25°C, MEA branco com reverso amarelo
CCDCA 11378	15-19	15-19	0	15-19	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA e MEA branco aveludado com reverso vermelho intenso
CCDCA 11410	24-27	22-24	0	0	0	Subgloboso; liso	Biverticilado, CYA 25°C verde sulcado, reverso salmão, MEA branco granuloso

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11380	44-46	37-39	0	28-30	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C amarelo claro com exudado marrom, reverso amarelo intenso
CCDCA 11381	48-53	47-52	0	38-40	0	Elipsoidal; liso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde com borda branca, produção de ácidos
CCDCA 11382	24-27	22-24	0	24-27	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA branco, conidióforo rugoso
CCDCA 11383	28-30	33-35	0	35-37	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde com borda branca
CCDCA 11384	47-50	45-47	0	45-47	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Terverticilado, CYA 25°C branco/amarelado muito sulcado, conidióforo rugoso
CCDCA 11385	26-28	22-25	0	12-15	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde sulcado, reverso palha
CCDCA 11386	28-30	33-35	0	35-37	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde com borda branca



Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11387	26-28	22-25	0	12-15	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde sulcado, reverso amarelo
CCDCA 11388	26-28	22-25	0	12-15	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde sulcado, reverso amarelo
CCDCA 11389	26-28	33-35	0	28-30	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C amarelo sulcado, MEA branco granulado
CCDCA 11390	28-31	34-37	0	32-35	0	Elipsoidal; liso	Biverticilado, CYA 25°C verde escuro, MEA com borda branca, fiálide alongadas
CCDCA 11391	26-28	33-35	0	28-30	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C amarelo sulcado, MEA branco granulado
CCDCA 11392	24-26	15-18	0	23-25	0	Elipsoidal; liso	Biverticilado, CYA 25°C branco, MEA verde com reverso amarelo
CCDCA 11393	3-5	8-10	0	3-5	0	Globoso; finamente rugoso	Biverticilado, MEA amarelado com exudado viscoso
CCDCA 11394	30-32	29-31	0	5-7	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde oliva com reverso amarelo intenso

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11395	1-3	5-8	0	1-3	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, pouquíssimo crescimento em CYA 25°C, MEA branco com reverso amarelo
CCDCA 11316	48-50	48-50	0	41-43	26-30	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde sulcado, MEA branco aveludado, conidióforo rugoso
CCDCA 11317	28-31	28-31	0	7-9	10--12	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, Cya 25°C verde com exudado roxo/avermelhado, MEA verde oliva, crescimento em CREA
CCDCA 11314	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco sulcado, MEA branco flocoso
CCDCA 11403	30-33	40-44	4-6	30-33	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde oliva com borda branca, MEA branco flocoso
CCDCA 11315	30-33	40-44	4-6	30-33	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde oliva com borda branca, MEA branco flocoso
CCDCA 10731	29-33	15-18	0	3-5	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, verde claro no CYA 25°C e verde escuro no MEA, centralmente branco

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11321	23-26	22-25	22-25	24-26	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA alaranjado, exudato presente, reverso laranja intenso
CCDCA 11322	23-25	16-18	0	13-15	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde escuro com borda branca
CCDCA 11323	29-32	18-20	0	20-22	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C verde com esclerodios laranja, MEA verde, ambos com reverso laranja intenso
CCDCA 11324	23-25	30-33	13-15	30-33	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco aveludado, MEA verde escuro funiculoso
CCDCA 11325	23-26	19-20	0	23-26	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde com reverso avermelhado, crescimento a 30°C com exudado e pigmentação solúvel avermelhada
CCDCA 11326	22-25	24-27	0	22-25	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, cya 25°C e MEA branco aveludado, conidióforo finamente rugoso

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11327	42-45	29-33	20-24	42-44	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C, 30°C e MEA verde claro, sulcado, aveludado
CCDCA 11328	43-45	45-49	0	27-29	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C beje, MEA e CYA 30°C verde escuro, conidióforo finamente rugoso
CCDCA 11329	27-29	29-32	0	15-18	positivo	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, coloração verde, MEA com reverso laranja intenso, produção de ácido
CCDCA 11406	18-24	14-16	0	14-16	0	Globoso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C cinza munto sulcado, MEA verde aveludado com reverso laranja
CCDCA 11330	44-48	45-47	5-7	37-39	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, coloração verde, conidióforo rugoso
CCDCA 11331	20-24	17-20	0	2-4	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, verde claro no CYA 25°C e verde escuro no MEA, centralmente branco
CCDCA 11332	01-03	10-13	0	01-02	0	Globoso; finamente rugoso	Biverticilado, pouquíssimo crescimento em CYA 25°C, formação de exudato viscoso no MEA

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11333	22-25	22-15	0	16-19	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, coloração marron com escleródios, conidióforo rugoso
CCDCA 11407	29-33	15-18	0	3--5	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, verde claro no CYA 25°C e verde escuro no MEA, centralmente branco
CCDCA 11334	33-35	18-22	0	14-17	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde com esclerodios laranja, todos reversos laranja intenso
CCDCA 11335	08--12	22-14	0	08--12	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C pequeno com centro verde, fiálides alongadas
CCDCA 11408	40-43	41-44	29-32	41-44	0	Subgloboso; finamente rugoso	Terverticilado, coloração verde, conidióforo rugoso
CCDCA 11336	43-45	43-45	0	43-45	0	Subgloboso; finamente rugoso	Terverticilado, coloração verde, conidióforo rugoso
CCDCA 11337	15-18	21-24	0	20-24	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, coloração verde amarronzada, aveludado, MEA com reverso laranja intenso
CCDCA 11338	24-26	30-33	0	16-18	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, cya 25 verde oliva com reverso amarelo

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11339	43-46	39-43	0	43-46	0	Globoso; rugoso	Terverticilado, CYA 25°C grande e branco, conidióforo e conídios muito rugosos
CCDCA 11340	21-24	15-19	0	1--3	15-19	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C sulcado, crescimento em CREA
CCDCA 11341	43-46	39-43	02--05	43-46	0	Globoso; rugoso	Terverticilado, CYA 25°C grande e branco, conidióforo e conídios muito rugosos
CCDCA 11342	21-24	15-19	0	1--3	15-19	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C sulcado, crescimento em CREA
CCDCA 11343	15-17	16-18	0	2--5	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde escuro com produção de pigmentação solúvel amarelada
CCDCA 11344	45-48	45-48	6--8	38-40	2--5	Subgloboso; finamente rugoso	Terverticilado, colônias amarelas, conidióforo rugoso e baixo crescimento em CREA

Morfotipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11345	46-49	45-48	3--5	44-46	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, CYA 25°C grande e branco com exudato marrom, reverso marrom
CCDCA 11346	15-18	16-19	0	15-18	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, MEA com pigmentação e reverso marrom, formação de conídios em cadeia
CCDCA 11347	12--15	22-24	0	13-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado e monoverticilado, CYA 25°C branco e sulcado
CCDCA 11348	15-17	23-26	3--5	15-17	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco, sulcado e centralmente amarelo.
CCDCA 11349	12--15	22-24	0	0	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde escuro sulcado reverso amarelo escuro, MEA granulado e amarelo, conidióforo rugoso
CCDCA 11350	29-33	28-32	1--3	3--6	0	Subgloboso; liso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA granulado salmão
CCDCA 11351	20-24	20-24	0	20-24	0	Subgloboso; liso	Monoverticilado, CYA 25°C reverso salmão e MEA granulado branco

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11352	8--10	14--16	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, MEA verde funiculoso, fiálides ampliforme
CCDCA 11353	4--6	20-22	0	4--6	0	Elipsoidal; liso	Biverticilado, MEA laranja com exudato laranja, conidio elipsoidal
CCDCA 11354	19-22	30-33	0	6--8	0	Cilindrico; liso	Biverticilado, cya e mea verde musgo
CCDCA 11355	1--3	10--12	0	1--3	0	Subgloboso; liso	Biverticilado, crescimento baixo em CYA 25°C, MEA verde com exudado incolor viscoso
CCDCA 11356	8--10	27-30	0		0	Subgloboso; liso	Biverticilado, MEA granulado amarelo
CCDCA 11357	28-31	32-35	0	28-31	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde azulado com borda branca
CCDCA 11358	24-26	29-33	0	24-26	0	Subgloboso; liso	Biverticilado, verde bem escuro em CYA 25°C, mea amarelo granulado
CCDCA 11359	15-17	28-32	0	16-20	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, Cya 25°C pequeno e sulcado, mea azulado com bordas brancas



Morfotipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11360	28-31	28-31	0	7--9	10--12	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, Cya 25°C verde com exudado roxo/avermelhado, MEA verde oliva, crescimento em CREA
CCDCA 11361	24-26	24-25	4--7	24-26	4--7	Subgloboso; liso	Monoverticilado, CYA 25°C branco com reverso e exudato marrom
CCDCA 11362	25-29	24-26	1--3	0	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA branco com centro amarelo
CCDCA 11363	18-22	34-36	3--6	18-22	4--6	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco com centro rosa sulcado, MEA funiculoso com produção de pigmentação solúvel, conidióforo rugoso
CCDCA 11364	25-29	24-26	0	1--3	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C branco com centro amarelo, MEA branco granulado
CCDCA 11365	28-30	33-35	0	27-29	0	Globoso; rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C branco/amarelado, conídios muito rugosos
CCDCA 11366	25-29	24-26	0	1--3	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C branco com centro amarelo, MEA branco granulado

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11367	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA branco com reverso amarelo
CCDCA 11368	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA branco flocoso com reverso amarelo
CCDCA 11369	30-33	40-44	4--6	30-33	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde oliva com borda branca, MEA branco flocoso
CCDCA 11370	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco sulcado, MEA branco flocoso
CCDCA 11409	20-22	16-18	0	9--10	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C cinza sulcado, MEA branco flocoso
CCDCA 11371	9--12	9--12	0	0	0	Subgloboso; finamente rugoso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde oliva com reverso vermelho
CCDCA 11372	45-49	44--48	0	34-37	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco com reverso vermelho, MEA salmão, conidióforo rugoso
CCDCA 11373	12--15	11--14	0	12--15	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde escuro sulcado

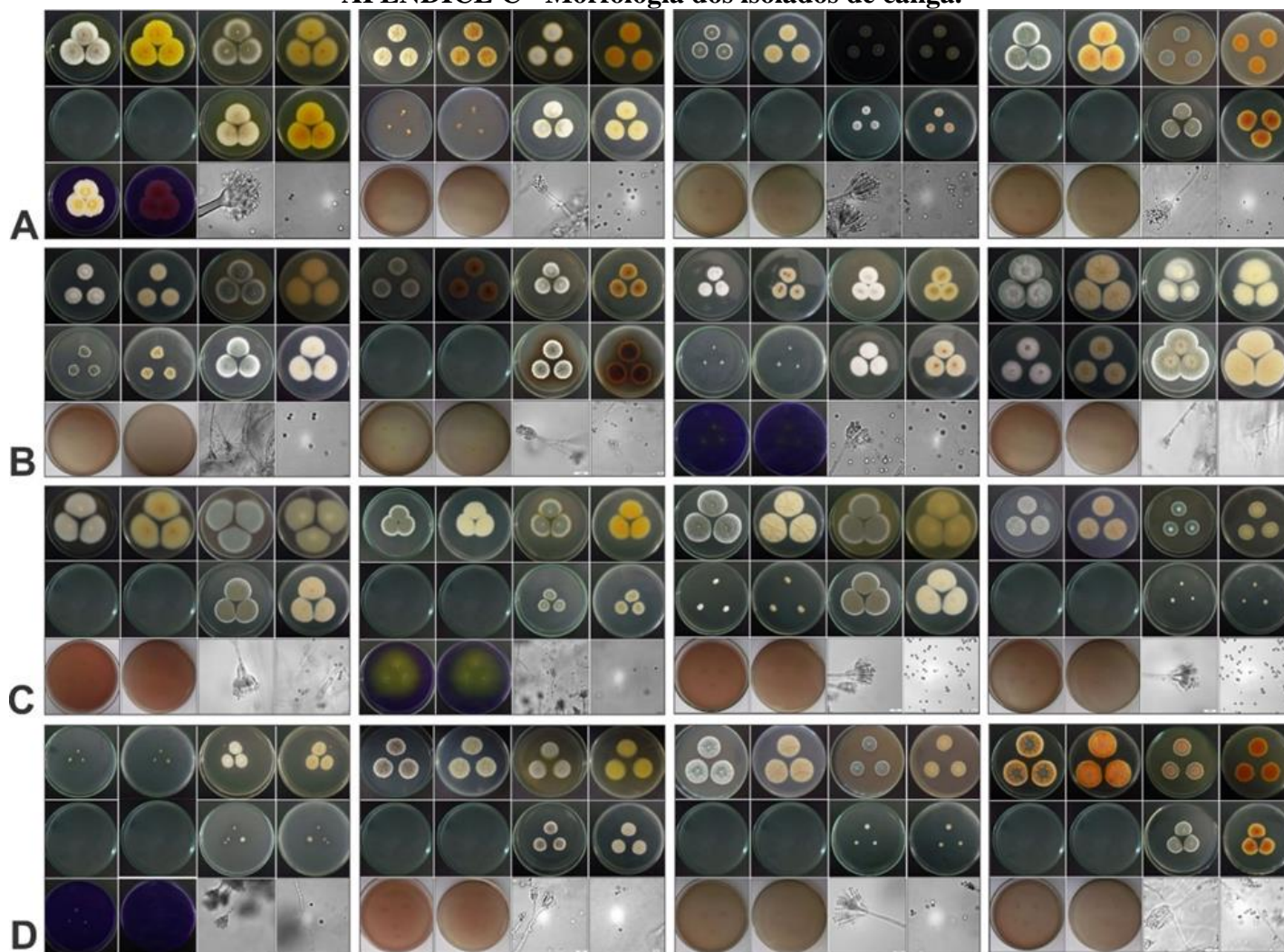
Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11374	48-50	48-50	0	41-43	26-30	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde sulcado, MEA branco aveludado, conidióforo rugoso
CCDCA 11375	18-20	21-24	0	21-24	0	Subgloboso; rugoso	Biverticilado, CYA 25°C sulcado com centro rosa, reverso rosa, MEA branco granulado
CCDCA 11376	7--10	20-22	0	06--8	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C pequeno e verde, MEA verde com borda branca, conidióforo rugoso
CCDCA 11377	1--3	5--8	0	1--3	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, pouquíssimo crescimento em CYA 25°C, MEA branco com reverso amarelo
CCDCA 11378	15-19	15-19	0	15-19	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA e MEA branco aveludado com reverso vermelho intenso
CCDCA 11410	24-27	22-24	0	0	0	Subgloboso; liso	Biverticilado, CYA 25°C verde sulcado, reverso salmão, MEA branco granuloso

Morfotipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11380	44-46	37-39	0	28-30	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C amarelo claro com exudado marrom, reverso amarelo intenso
CCDCA 11381	48-53	47-52	0	38-40	0	Elipsoidal; liso	Monoverticilado, CYA 25°C e MEA verde com borda branca, produção de ácidos
CCDCA 11382	24-27	22-24	0	24-27	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA branco, conidióforo rugoso
CCDCA 11383	28-30	33-35	0	35-37	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde com borda branca
CCDCA 11384	47-50	45-47	0	45-47	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Terverticilado, CYA 25°C branco/amarelado muito sulcado, conidióforo rugoso
CCDCA 11385	26-28	22-25	0	12--15	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde sulcado, reverso palha
CCDCA 11386	28-30	33-35	0	35-37	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde com borda branca

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11387	26-28	22-25	0	12--15	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde sulcado, reverso amarelo
CCDCA 11388	26-28	22-25	0	12--15	0	Globoso; liso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde sulcado, reverso amarelo
CCDCA 11389	26-28	33-35	0	28-30	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C amarelo sulcado, MEA branco granulado
CCDCA 11390	28-31	34-37	0	32-35	0	Elipsoidal; liso	Biverticilado, CYA 25°C verde escuro, MEA com borda branca, fiálide alongadas
CCDCA 11391	26-28	33-35	0	28-30	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C amarelo sulcado, MEA branco granulado
CCDCA 11392	24-26	15-18	0	23-25	0	Elipsoidal; liso	Biverticilado, CYA 25°C branco, MEA verde com reverso amarelo
CCDCA 11393	3--5	8--10	0	3--5	0	Globoso; finamente rugoso	Biverticilado, MEA amarelado com exudado viscoso
CCDCA 11394	30-32	29-31	0	5--7	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C e MEA verde oliva com reverso amarelo intenso

Morfortipos	Diâmetros das colônias (mm)					Formato e textura dos conídios	Características Típicas
	CYA 25°C	MEA 25°C	CYA 37°C	CYA 30°C	CREA 25°C		
CCDCA 11395	1--3	5--8	0	1--3	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, pouquíssimo crescimento em CYA 25°C, MEA branco com reverso amarelo
CCDCA 11316	48-50	48-50	0	41-43	26-30	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde sulcado, MEA branco aveludado, conidióforo rugoso
CCDCA 11317	28-31	28-31	0	7--9	10--12	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, Cya 25°C verde com exudado roxo/avermelhado, MEA verde oliva, crescimento em CREA
CCDCA 11314	14-16	15-17	0	14-16	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C branco sulcado, MEA branco flocoso
CCDCA 11403	30-33	40-44	4--6	30-33	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde oliva com borda branca, MEA branco flocoso
CCDCA 11315	30-33	40-44	4--6	30-33	0	Elipsoidal; finamente rugoso	Biverticilado, CYA 25°C verde oliva com borda branca, MEA branco flocoso
CCDCA 10731	29-33	15-18	0	3--5	0	Subgloboso; finamente rugoso	Biverticilado, verde claro no CYA 25°C e verde escuro no MEA, centralmente branco

**APÊNDICE C - Morfologia dos isolados de canga.**



Legenda: **A.** CCDCA 11396, CCDCA 11321, CCDCA 11322 e CCDCA 11323; **B.** CCDCA 11324, CCDCA 11325, CCDCA 11326 e CCDCA 11327; **C.** CCDCA 11328, CDCA 11329, CCDCA 11330 e CCDCA 11331; **D.** CCDCA 11332, CCDCA 11333, CCDCA 11407 e CCDCA 11334.

**APÊNDICE D - Morfologia dos isolados de canga.**



Legenda: **A.** CCDCA 11335, CCDCA 11336, CCDCA 11337 e CCDCA 11338; **B.** CCDCA 11339, CCDCA 11340, CCDCA 11343 e CCDCA 11344; **C.** CCDCA 11345, CCDCA 11346, CCDCA 11347 e CCDCA 11348; **D.** CCDCA 11350, CCDCA 11351, CCDCA 11353 e CCDCA 11354.



**APÊNDICE E - Morfologia dos isolados de canga.**



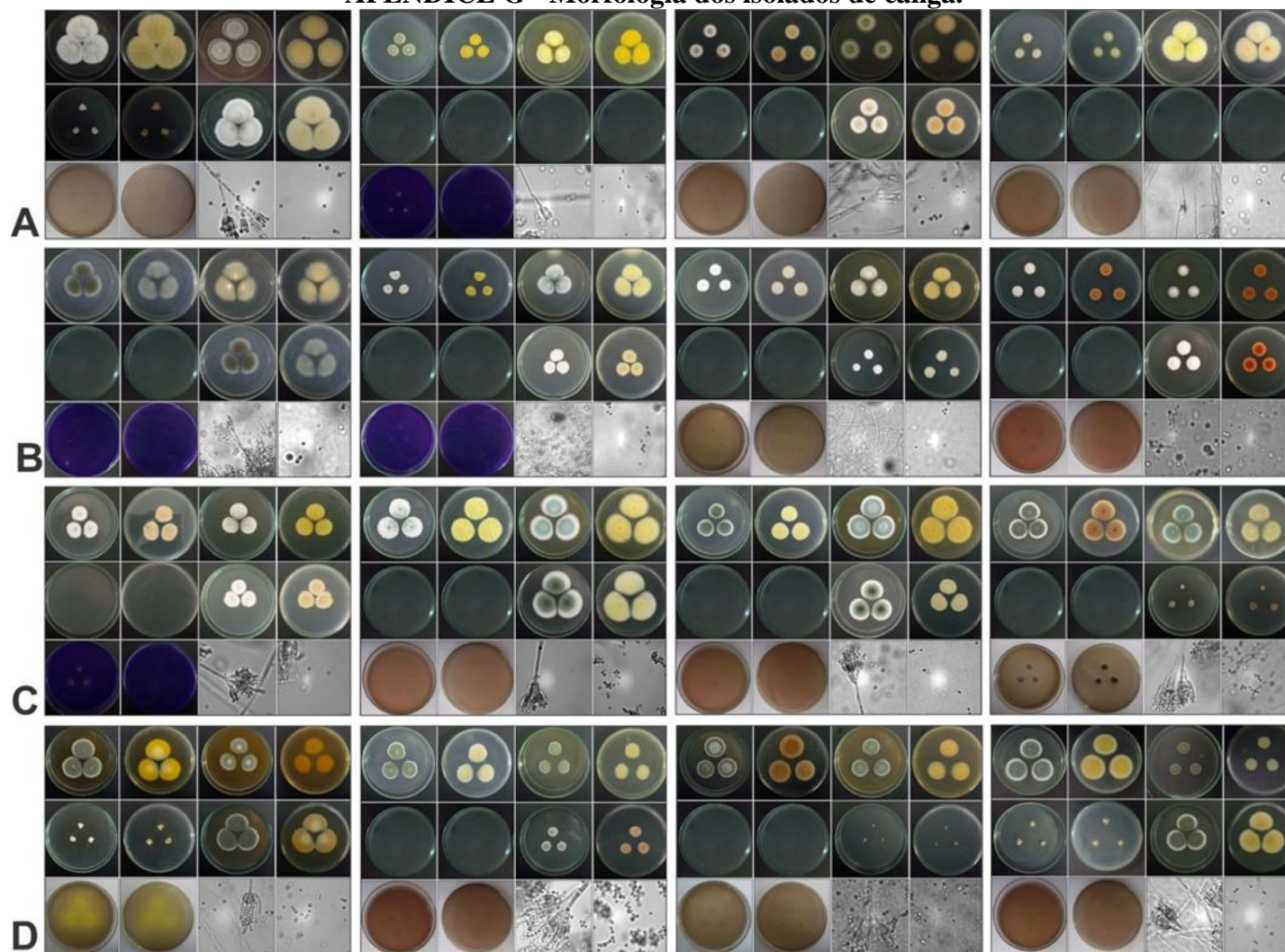
Legenda: **A.** CCDCA 11355, CCDCA 11357, CCDCA 11360 e CCDCA 11361; **B.** CCDCA 11362, CCDCA 11363, CCDCA 11365 e CCDCA 11366; **C.** CCDCA 11367, CCDCA 11369, CCDCA 11370 e CCDCA 11409; **D.** CCDCA 11371, CCDCA 11372, CCDCA 11373 e CCDCA 11374.

**APÊNDICE F - Morfologia dos isolados de canga.**



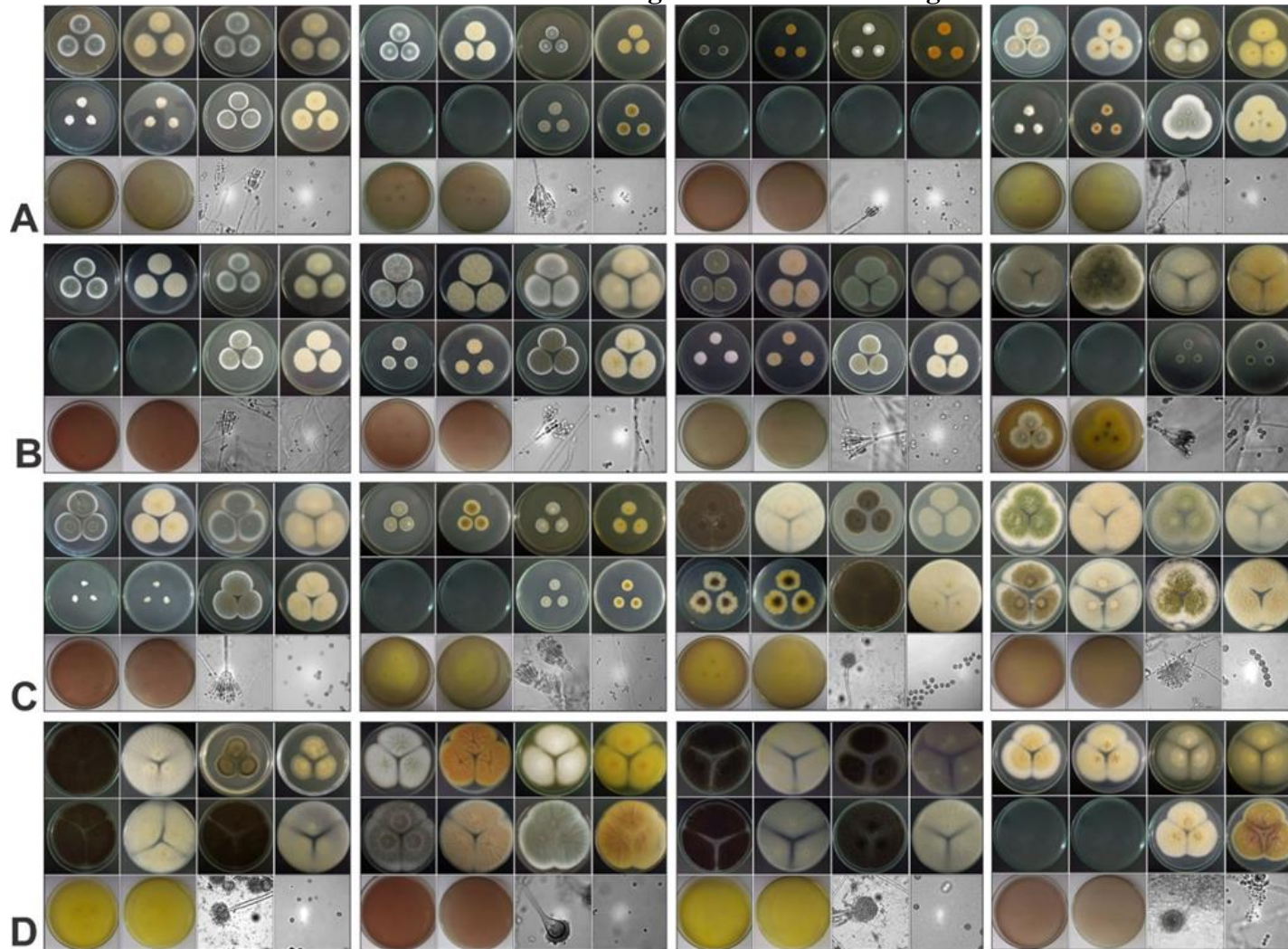
Legenda: **A.** CCDCA 11375, CCDCA 11376, CCDCA 11377 e CCDCA 11410; **B.** CCDCA 11380, CCDCA 11381, CCDCA 11384 e CCDCA 11385; **C.** CCDCA 11387, CCDCA 11388, CCDCA 11389 e CCDCA 11392; **D.** CCDCA 11393, CCDCA 11394, CCDCA 11406 e CCDCA 11408.

APÊNDICE G - Morfologia dos isolados de canga.



Legenda: **A.** CCDCA 11341, CCDCA 11349, CCDCA 11352 e CCDCA 11356; **B.** CCDCA 11358, CCDCA 11359, CCDCA 11368 e CCDCA 11378; **C.** CCDCA 11383, CCDCA 11386, CCDCA 11390 e CCDCA 11317; **D.** CCDCA 11402, CCDCA 11392, CCDCA 11406 e CCDCA 11393.

**APÊNDICE H - Morfologia dos isolados de canga.**



Legenda: **A.** CCDCA 11340, CCDCA 10731, CCDCA 11314 e CCDCA 11316; **B.** CCDCA 11358, CCDCA 11359, CCDCA 11368 e CCDCA 11378; **C.** CCDCA 11383, CCDCA 11386, CCDCA 11390 e CCDCA 11317; **D.** CCDCA 11402, CCDCA 11319, CCDCA 11406 e CCDCA 11404.

**APÊNDICE I - Resultado das análises filogenéticas dos isolados de *Aspergillus*.**

<b>Isolado</b>	<b>Calmodulina</b>	<b>Beta-tubulina</b>	<b>Seção</b>	<b>Espécie</b>
CCDCA11379	x	x	<i>Cervini</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
CCDCA11318	x	x	<i>Fumigati</i>	<i>Aspergillus aureola</i>
CCDCA11319	x	x	<i>Fumigati</i>	<i>Aspergillus aureola</i>
CCDCA11386		x	<i>Fumigati</i>	<i>Aspergillus aureola</i>
CCDCA11396	x	x	<i>Usti</i>	<i>Aspergillus pseudoustus</i>

**APÊNDICE J - Resultado das análises filogenéticas dos isolados de *Talaromyces*.**

<b>Isolado</b>	<b>RPB2</b>	<b>Beta-tubulina</b>	<b>Seção</b>	<b>Espécie</b>
CCDCA11364	x	x	<i>Talaromyces</i>	<i>Talaromyces angelicus</i>
CCDCA11363	x	x	<i>Talaromyces</i>	<i>Talaromyces angelicus</i>
CCDCA11375	x	x	<i>Talaromyces</i>	<b><i>Talaromyces sp.</i></b>
CCDCA11352		x	<i>Talaromyces</i>	<b><i>Talaromyces sp.</i></b>
CCDCA11350		x	<i>Talaromyces</i>	<b><i>Talaromyces sp.</i></b>
CCDCA11324		x	<i>Talaromyces</i>	<b><i>Talaromyces sp.</i></b>
CCDCA11326		x	<i>Talaromyces</i>	<b><i>Talaromyces sp.</i></b>
CCDCA11316		x	<i>Talaromyces</i>	<i>Talaromyces stollii</i>
CCDCA11332	x	x	<i>Trachyspermi</i>	<b><i>Talaromyces sp.</i></b>
CCDCA11393	x	x	<i>Islandici</i>	<b><i>Talaromyces sp.</i></b>

**APÊNDICE K - Resultado das análises filogenéticas dos isolados de *Penicillium*.**

<b>Isolado</b>	<b>RPB2</b>	<b>Beta-tubulina</b>	<b>Seção</b>	<b>Espécie</b>
CCDCA 11369	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11403		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 1133		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11315		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11384	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11372	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<i>Penicillium onobense</i>
CCDCA 11341	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11345	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11339		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11408		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<i>Penicillium wotroi</i>
CCDCA 11328	x		<i>Lanata-divaricata</i>	<i>Penicillium wotroi</i>
CCDCA 11327	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<i>Penicillium wotroi</i>
CCDCA 11321	x	x	<i>Sclerotiora</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11391		x	<i>Sclerotiora</i>	<b><i>Penicillium sp.</i></b>
CCDCA 11365		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<i>Penicillium daleae</i>
CCDCA 11337		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<i>Penicillium daleae</i>
CCDCA 11382		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<i>Penicillium daleae</i>

Isolado	RPB2	Beta-tubulina	Seção	Espécie
CCDCA 11344		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11338	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11376		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11359		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11390		x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11388	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11387	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11389	x	x	<i>Lanata-divaricata</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11409	x	x	<i>Ramosa</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11333	x	x	<i>Citrina</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11404		x	<i>Citrina</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
CCDCA 11383	x	x	<i>Citrina</i>	<i>Penicillium cairnsense</i>
CCDCA 11380	x	x	<i>Citrina</i>	<i>Penicillium cairnsense</i>
CCDCA 11394		x	<i>Citrina</i>	<i>Penicillium cairnsense</i>
CCDCA 11392	x	x	<i>Citrina</i>	<i>Penicillium ubiquestum</i>
CCDCA 11407	x	x	<i>Citrina</i>	<b>Não resolvido</b>
CCDCA 11331		x	<i>Citrina</i>	<b>Não resolvido</b>
CCDCA 11373		x	<i>Citrina</i>	<b>Não resolvido</b>
CCDCA 11340		x	<i>Citrina</i>	<b>Não resolvido</b>
CCDCA 11385		x	<i>Citrina</i>	<b>Não resolvido</b>
CCDCA 11367		x	<i>Exilicaulis</i>	<b>Não resolvido</b>
CCDCA 11323	x	x	<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium austrosinicum</i>
CCDCA 11334		x	<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium austrosinicum</i>
CCDCA 11343		x	<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium herquei</i>
CCDCA 11381		x	<i>Aspergilloides</i>	<b>Não resolvido</b>
CCDCA 11402		x	<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium bilaiae</i>
CCDCA 11325		x	<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium adametzi</i>
CCDCA 11342	x	x	<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium adametzi</i>
CCDCA 11368	x	x	<i>Sclerotiora</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11395	x	x	<i>Cinnamopurpurea</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11377	x	x	<i>Cinnamopurpurea</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11371	x	x	<i>Cinnamopurpurea</i>	<i>Penicillium lemhiflumine</i>
CCDCA 11357		x	<i>Ramosa</i>	<i>Penicillium virgatum</i>
CCDCA 11406	x	x	<i>Ramosa</i>	<i>Penicillium virgatum</i>
CCDCA 11370		x	<i>Ramosa</i>	<i>Penicillium virgatum</i>
CCDCA 11314		x	<i>Ramosa</i>	<i>Penicillium virgatum</i>
CCDCA 11358		x	<i>Paradoxa</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11360		x	<i>Paradoxa</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11317		x	<i>Paradoxa</i>	<b><i>Penicillium</i> sp.</b>
CCDCA 11361	x		<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium lilacinoechinulatum</i>
CCDCA 11362	x		<i>Sclerotiora</i>	<i>Penicillium lilacinoechinulatum</i>
CCDCA 11350	x		<i>Aspergilloides</i>	<i>Penicillium longicatenatum</i>
CCDCA 11323	x		<i>Paradoxa</i>	<i>Penicillium atramentosum</i>
CCDCA 11354	x		<i>Digitata</i>	<i>Penicillium digitatum</i>

**ARTIGO 2**

**NOVAS ESPÉCIES DE *Aspergillus*, *Penicillium* E *Talaromyces* ISOLADAS DO SOLO  
DE CANGA BRASILEIRA**

**ARTIGO FORMATADO DE ACORDO COM A NBR 6022 (ABNT, 2003), COM  
ADAPTAÇÕES SEGUNDO O MANUAL DE NORMALIZAÇÃO DA UFLA**

## RESUMO

O solo é considerado um mosaico de micro-habitats devido a sua heterogeneidade e complexidade, apresenta-se como um ecossistema muito rico, contendo uma grande biodiversidade de microrganismos. As canga são formações originadas a partir de concentração de compostos ferruginosos soldando materiais diversos, como resultado da atuação intensa de fatores climáticos sobre o material geológico. A descrição de novas espécies é sempre um desafio, sendo necessárias técnicas diversas para credibilizar a apresentação de uma novidade taxonômica. Como parte de uma pesquisa sobre diversidade em que 2029 fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* foram isolados do solo de canga em Nova Lima, no estado de Minas Gerais - Brasil, nove novas espécies não puderam ser atribuídas a nenhuma outra espécie descrita. Para as descrições taxonômicas foram utilizadas técnicas de morfologia clássica e análises filogenéticas. Os cálculos de filogenia foram gerados a partir de dados GenBank usando dados de dois loci (*BenA* e *CaM*) para *Aspergillus* e (*BenA* e *RPB2*) para *Penicillium* e *Talaromyces*. Foram descritas uma espécie do gênero *Aspergillus* seção Cervini (*A. novalimaensis*), cinco espécies do gênero *Penicillium* seções *Lanata-Divaricata*, *Citrina* e *Cinnamopurpurea* (*P. sulcatus*, *P. munimum*, *P. asperosus*, *P. flavosus* e *P. minasgeraensis*) e três espécies do gênero *Talaromyces*, seções *Talaromyces*, *Trachyspermi* e *Islandici* (*T. rosaceus*, *T. brasiliensis* e *T. viscosus*). As descrições das novas espécies foram baseadas em aspectos de comparação filogenéticas e morfológicas que as distingiram de qualquer outra relatada até o momento.

**Palavras-chave:** Morfologia. Análise de multigenes. Filogenia. Taxonomia.



## 1 INTRODUÇÃO

Os fungos são importantes componentes da microbiota edáfica, constituindo a maior biomassa quando comparados a outros organismos dependendo das condições nutricionais do ecossistema (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; PAUL, 2015, SANTOS et al., 2008). No entanto, apesar de sua imensa importância nos solos de canga (cauraças ferruginosas), eles são provavelmente os organismos menos estudados, e sua biodiversidade é pouco conhecida.

Áreas de canga são caracterizadas por complexos de solos que formam afloramentos de rocha e resultam em grandes cauraças que ocorrem na Serra dos Carajás, (PA), Caetité (BA) e Morraria de Urucum (MS) e principalmente no Quadrilátero Ferrífero (MG) em uma área de cerca de 100 km<sup>2</sup> (CARMO, 2013; DORR, 1969; VIANA, 2016). Estas áreas estão associadas aos litotipos ricos em ferro e são designadas como formações ferríferas bandadas – FFB, sendo o Brasil um dos locais com maior ocorrência de FFB do planeta (CASTRO, 2008).

Até 2011, os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* estavam, entre outros, compreendidos dentro da família Trichocomaceae. Contudo, com a mudança do novo Código Internacional de Nomenclatura para algas, fungos e plantas esta família foi subdividida em: Aspergillaceae (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Hamigera*, *Leiothecium*, *Monascus*, *Penicilliopsis*, *Phialomyces*, *Sclerocleista*, *Warcupiella* e *Xeromyces*), Trichocomaceae (*Rasamsonia*, *Sagenomella*, *Talaromyces*, *Thermomyces* e *Trichocoma*) e Thermoascaceae (*Byssochlamys*, *Paecilomyces* e *Thermoascus*) (HOUBRAKEN; SAMSON, 2011; PETERSON, 2012; VISAGIE et al., 2014).

Gams et al. (1985) descreveu a seção *Cervini* (*Aspergillus*) incluindo espécies com conidióforos radiados, curtos e unisseriados, e colônias com coloração de marrom claro a rosado. Em 1964, Christensen e colaboradores atribuíram quatro espécies a esta seção: *A. cervinus*, *A. kanagawaensis*, *A. nutans* e *A. parvulus*. Com adventos das análises filogenéticas baseada em multilocus as sequências mostraram que a seção *Cervini* pertence ao subgênero *Fumigati* juntamente com as seções *Fumigati* e *Clavati*, e mais seis espécies foram atribuídas à seção: *A. acidohumus*, *A. christenseniae*, *A. novoguineensis*, *A. subnutans*, *A. transcarpathicus* e *A. wisconsinensis* (PETERSON et al., 2008; CHEN et al., 2016).

Morfologicamente, as espécies de *Penicillium* da seção *Cinnamopurpurea* são bastante semelhantes, todas produzem esporos subglobosos ou elipsoidais finamente rugosos, conidióforos de paredes lisas normalmente monoverticilados, colônias de crescimento lento, muitas vezes com reverso marrom em alguns meios de cultura e apresentam nove espécies

distintas. Já a seção *Citrina* inclui 56 espécies comumente encontradas no solo e possuem membros importantes pela capacidade de produzir micotoxinas citrinina e citreoviridina (HOUBRAKEN et al, 2011a).

Tradicionalmente, a taxonomia da seção *Lanata-Divaricata* é complexa pela semelhanças morfológicas entre espécies e variações dentro de uma espécie. Em 1979 Pitt sinonimizava um grande número de espécies com *P. janthinellum* e *P. simplicissimum*. Somente com a incorporação de DNA dados de sequência no conceito de espécie usado para *Penicillium*, fomos capazes de resolver satisfatoriamente esses problemas e facilitar a identificação deles. Isto é por causa das espécies mais claras inferidas das filogenias que tornam as comparações morfológicas mais fáceis (VISAGIE et al., 2015).

A seção *Trachyspermi (Talaromyces)* inclui 16 espécies, tem crescimento restrito em CYA, YES e DG18, desenvolvem um pouco mais rápido no MEA, sem crescimento para um crescimento fraco no CREA. Algumas espécies produzem abundantes pigmentos vermelhos. Conidióforos são geralmente biverticillate e algumas espécies produzem ascomatas amarelos. *Talaromyces atroroseus*, *T. minioluteus* e *T. albobiverticillius* têm importância biotecnológica, com os seus pigmentos utilizados como corantes na indústria de alimentos (FRISVAD et al., 2013; YILMAZ et al., 2014; ROMERO et al., 2016; WANG et al., 2016; LUO et al., 2016). Já a seção *Islandici* contém 33 espécies (CHEN., et al 2016; YILMAZ at al 2014; PETERSON; JURJEVIĆ, 2017) e normalmente as colônias tem crescimento restrito e proeminente micélio amarelo. Análises filogenéticas, de morfologia e extrólite revelaram que *T. variabilis*, *P. concavorugulosum* e *T. sublevisporus* são sinônimos de *T. wortmannii* (YILMAZ et al., 2014). Esta seção inclui espécies que produzem moléculas biotecnológicas (por exemplo, *T. variabilis* e *T. rugulosus*) e são medicamento importantes (por exemplo, *T. piceus*, *T. columbinus* e *T. radicus*) (BARTHOMEUF et al., 1991, PETRUCCIOLI et al., 1999; HORRÉ et al. 2001, DE VOS et al., 2009, PETERSON; JURJEVIC, 2013).

O objetivo deste estudo foi, portanto, propor e descrever nove novas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* comparando-as com espécies descritas anteriormente usando caracteres culturais, microscopia e análises filogenéticas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Isolados utilizados no estudo

As culturas foram isoladas do solo de canga (courças ferruginosas) da cidade de Nova Lima, Minas Gerais – Brasil e foram cedidas pela Coleção de Cultura do Departamento de Ciências dos Alimentos (CCDCA). Além disso, estas culturas também estão depositadas na Coleção Micológica de Lavras (CML).

### 2.2 Caracterização morfológica

A cultura monospórica foi inoculada em três pontos equidistantes em CYA (PITT, 1979), YES (FRISVAD, 1981), MEA (SAMSON et al., 2010), DG18 (HOCKING; PITT, 1980) e CREA (FRISVAD, 1981) em Placas de Petri de vidro de 9 cm contendo 20 mL de meio e incubadas a 25°C (CYA, YES, MEA, DG18, CREA) e 30°C e 37°C (CYA) (VISAGIE et al., 2014). Depois de sete dias de incubação, os diâmetros das colônias nos vários meios de cultura foram medidos. A densidade de esporulação, frente e reverso, a coloração das colônias, a presença ou a ausência de exsudato e a produção de pigmentos solúveis foram observados. Colônias foram fotografadas com uma câmera Nikon SMZ1500. As espécies foram caracterizadas microscopicamente pela preparação de lâminas de MEA. O ácido láctico foi usado como fluido de montagem, e as quantidades em excesso de conídios foram lavadas com etanol. Os isolados foram examinados usando um microscópio ZEISS AxioSkop 2 plus e o pacote de software Nikon NIS-Elements D foi usado para capturar fotografias e fazer medições. As imagens adquiridas foram editadas usando o Corel Draw X7.

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

A cepa foi cultivada em Ágar de Batata-dextrose e a biomassa foi colhida em tubo de centrífuga de 1,5 mL. O DNA total da cepa foi extraído utilizando o método CTAB (DOYLE; DOYLE, 1991). Os genes  $\beta$ -tubulina (*BenA*) e calmodulina (*CaM*) (VISAGIE et al., 2014) foram amplificadas usando um GoTaq Colorless Master Mix (Promega) em T100 Thermal Cycler (Bio-Rad) e as condições de ciclo foram: 94°C durante 2 min, 40 ciclos de 94°C por 30 s, 54°C por 30 s e 72°C por 40 s, e uma extensão final a 72°C por 4 min, gerando fragmentos de aproximadamente 500 pb. A amplificação do gene *RPB2* foi iniciada por um período de 5 min a 95°C seguido de 30 ciclos de 1 minuto a 95°C, 2 minutos a 50°C com um aumento de 0,2°C por segundo para 72°C, 2 minutos a 72°C e uma extensão final de 10 minutos a 72°C. A

partir da amplificação foram gerados produtos de aproximadamente 950 pb. As regiões gênicas foram sequenciadas em um sequenciador 3500 XL (Applied Biosystems).

As sequências bidirecionais de DNA para cada região foram montadas pelo software *SeqAssem* (HEPPERLE, 2004). As sequências foram comparadas com as depositadas em BLAST (ALTSCHUL et al., 1997), e as sequências tipo adicionais de isolados de outras espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* foram obtidas de GenBank, NCBI. As sequências foram alinhadas usando ClustalW implementado no MEGA5.1 (TAMURA et al., 2011). Os alinhamentos foram depositados em TreeBASE. As análises máximas de parcimônia (MP) foram realizadas usando MEGA5.1 para cada uma das três regiões de genes e para os conjuntos de dados combinados. A estabilidade do clado foi avaliada com 1.000 replicações de *bootstrap*. A análise de MP foi realizada sob o modelo de reversão de nucleotídeos, com heterogeneidade de taxa de gama e uma proporção de sítios invariáveis (GTR + G + I). As sequências de *Aspergillus pseudoustus* (IBT 28161), *Aspergillus ustus* (CBS 26167), *Talaromyces aculeatus* (CBS 28948) e *Talaromyces palmae* (CBS44288) foram selecionadas como *outgroup*. As sequências de DNA geradas neste estudo serão depositadas no GenBank.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Análises filogenéticas de *Aspergillus*

Não houve conflitos entre as topologias das árvores de *BenA* e *CaM*, então um conjunto de dados concatenado foi construído com sequências das duas regiões para gerar árvores filogenéticas de MP. A análise das sequências parciais de *BenA* continha 492 caracteres. Destes, 191 informativos. Uma de oito árvores foram geradas (Comprimento=220, Índice de Conciestência CI=0.859091 e Índice de Retenção RI=0.813253). Na análise das sequências parciais de *CaM*, 527 caracteres foram analisados, sendo destes 181 informativos. Uma de seis árvores foram geradas (Comprimento=249, Índice de Conciestência CI=0.843373 e Índice de Retenção RI=0.816901). A análise combinada das sequências das duas regiões foi congruente com as análises individuais (Comprimento=473, Índice de Conciestência CI=0.843552 e Índice de Retenção RI=0.804749).

As análises filogenéticas revelaram que a cepa CCDCA11379 está agrupada na seção *Cervini*, distinta de outras espécies nesta seção e também a mais basal (FIGURAS 1 e 2).

Recentemente a seção *Cervini* foi revisada e divididas em dez taxas: *A. cervinus*, *A. kanagawaensis*, *A. nutans*, *A. parvulus*, *A. acidohumus*, *A. christenseniae*, *A. novoguineensis*, *A. subnutans*, *A. transcarpathicus* e *A. wisconsinensi*. Tradicionalmente a seção *Cervini* era diferenciada por conidióforos unisseriados, radiados ou colunares e curtos, de cor castanha. A morfologia dessa seção é muito semelhante e os isolados atribuídos a essas espécies são frequentemente identificados erroneamente (CHEN et al., 2016). As espécies da seção *Cervini* são, em sua grande maioria, isoladas do solo, e já foram encontradas em países como: África do Sul (MASSEE, 1914), Nova Zelândia (NEILL, 1939, DI MENNA et al., 2007), Malásia e EUA (CHRISTENSEN; FENNELL 1964, SMITH, 1961), Japão (NEHIRA, 1951) Ucrânia e Rússia (USHAKOVA et al., 1974, BUIAK et al., 1978) Austrália (MCLENNAN et al., 1954), Turquia (ILHAN e ASAN 2001) Argentina (MAGNOLI et al., 1998). Entretanto essa seção é economicamente menos importante e não muito estudada, principalmente por apresentarem poucos isolados ligados à patologias humana e à produção de moléculas bioativas (HUBKA et al., 2012; PHOEBE et al., 1978; CHAO et al., 1979).

*Aspergillus novalimaensis* sp nov. entra como a taxa mais basal das árvores filogenéticas superando a espécie *A. acidohumus*. Entretanto, essas duas espécies compartilham uma característica morfológica bastante distinta das outras espécies da seção que é o crescimento quase nulo em CYA 25°C e se assemelha a *A. novoguineensis* pelas

características das colônias em MEA com textura aveludada, esporulação densa, conídios em massa de cor marrom rosado. Além disso, *A. novalimaensis* sp nov. apresenta conidióforos radiados diferentes das espécies *A. nutans*, *A. parvulus*, *A. christenseniae* e *A. subnutans* (CHEN et al., 2016).

A grande maioria das espécies da seção *Cervini* foram isoladas de solos, assim com a espécies descritas neste artigo. Os solos de canga são altamente distróficos e ligeiramente ácidos. Ambas as características são consequência do avançado grau de intemperismo responsável pela intensa lixiviação de nutrientes e cargas elétricas (SCHAEFER, 2008), propriedade que é compartilhada com o solo no qual foi isolado *A. acidohumus* em Guizhou, China.

*CaM* e *BenA* funcionam bem como identificação secundária na separação de espécies de *Aspergillus* (PETERSON, 2008, SAMSON et al., 2014) e apresentam sequências únicas para todas as espécies dessa seção (CHEN et al., 2016), inclusive para *A. novalimaensis*.

Assim, a descrição de *A. novalinaensis* contribui para o conhecimento da diversidade de fungos de um tipo de solo até então não estudado nesse sentido, e da seção *Cervini*, que apresenta espécies tão importantes em solo de todo o mundo, confirmando a necessidade de proteger habitats naturais, como as áreas de canga.

Figura 1 - Árvore filogenética de máxima parcimônia inferida das sequências concatenadas *BenA* que mostram as relações filogenéticas do isolado com espécies do gênero *Aspergillus*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios e, somente valores acima de 70% são indicados. Os tipos de isolados são designados com sobrescrito T.

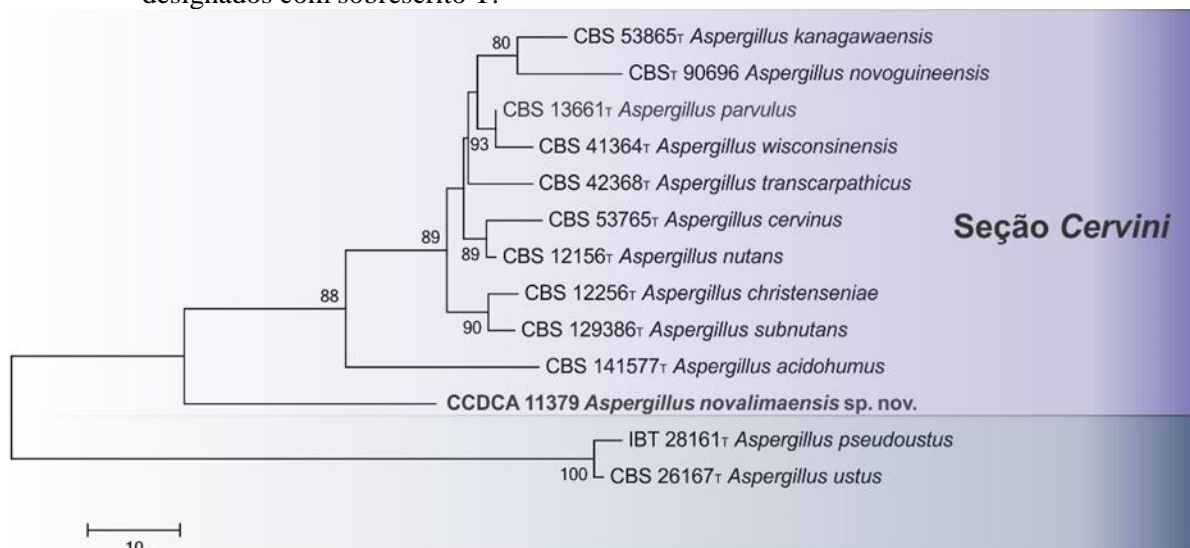
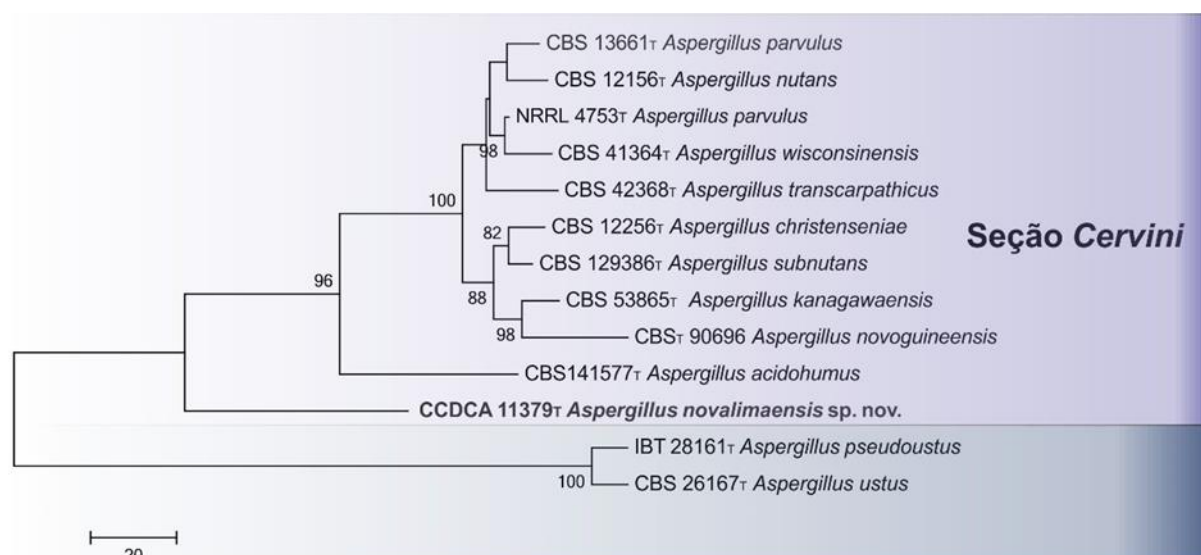


Figura 2 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas (*BenA* e *CaM*) que mostram as relações filogenéticas do isolado com espécies do gênero *Aspergillus*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios e, somente valores acima de 70% são indicados. Os tipos de isolados são designados com sobrescrito T.



### 3.2 Análises filogenéticas de *Penicillium*

A comparação filogenética segrega cinco novas espécies das já descritas de *Penicillium*. Estas estão agrupadas nas seções *Citrina*, *Cinnamopurpurea* e *Lanata-Divaricata* (FIGURAS 3 e 4). As espécies deste gênero representadas no filograma obtiveram 95-100 % de suporte por probabilidade posterior (pp.) e *bootstrap* acima de 70 %. No seu conjunto, quer

o indivíduo ou a análise combinada dos dois genes, suporta *P. sulcatus*, *P. minimum*, *P. minasgeraensis*, *P. asperosus* e *P. flavosus* como novas espécies.

*Penicillium sulcatus* sp.nov. apresenta grande quantidade de cleitotécios, e seu crescimento em YES o distingue de todas espécies filogeneticamente próximas, com colônias muito grandes e sulcadas, além de produzir pigmentação solúvel amarela. Seis espécies, além de *Penicillium sulcatus* sp. nov., formaram cleistotécio dentro da seção *Citrina*: *P. shearii*, *P. euglaucum*, *P. anatolicum*, *P. argentinense*, *P. tropicum* e *P. tropicoides*. Estes cleistotécios apresentam tons acinzentados a amarronzados e muitas vezes levaram mais de seis semanas para amadurecer. Os ascosporos dessas espécies são elipsoidais, com duas cristas equatoriais e a parede de textura que varia de finamente rugosa (*P. anatolicum*, *P. tropicum*), lisas (*P. tropicoides*) ou reticulada (*P. argentinense*, *P. euglaucum*) (HOUBRAKEN et al., 2011b).

*Penicillium muminus* sp.nov. leva esse nome por apresentar crescimento muito restrito em todos meios de cultura em que foi cultivado, tem conidióforos monverticilados e lisos. Morfologicamente, as espécies da seção *Cinnamopurpurea* são bastante semelhantes, e produzem esporos subglobos e elipsoidais finamente rugosos, conidióforos monverticilados que podem ser ou não divaricatos, com paredes lisas e colônias de crescimento lento, muitas vezes com um marrom reverso em alguns meios de culturas. Os conidióforos de *P. shennongjianum* e *P. ellipsoideosporum* se diferem de *P. minimum* sp. nov e da maioria das outras espécies pois não são vesiculados (PETERSON et al., 2015). *P. minasgeraensis*, *P. asperosus* e *P. flavosus* pertencem à seção *Lanata-Divaricata*, que abrange espécies com conidióforos geralmente biverticilados, que podem conter um alongamento do eixo principal e outro que divergem do eixo para formar uma vértice assimétrica. Como resultado, os conidióforos podem ser interpretados como monverticilados, embora na maioria dos casos sejam conidióforos divergentes bivariantes ramificados (também denominados divaricato). Este grupo de espécies é comumente isolado do solo (THOM 1930; RAPER; THOM 1949; PITT 1979; CHRISTENSEN et al., 2000), mas alguns são frequentes em folhas podres (HOUBRAKEN et al., 2011).



Figura 3 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de *BenA* que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero *Penicillium*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios e, somente valores acima de 70% são indicados. Os tipos de isolados são designados com sobrescrito T.

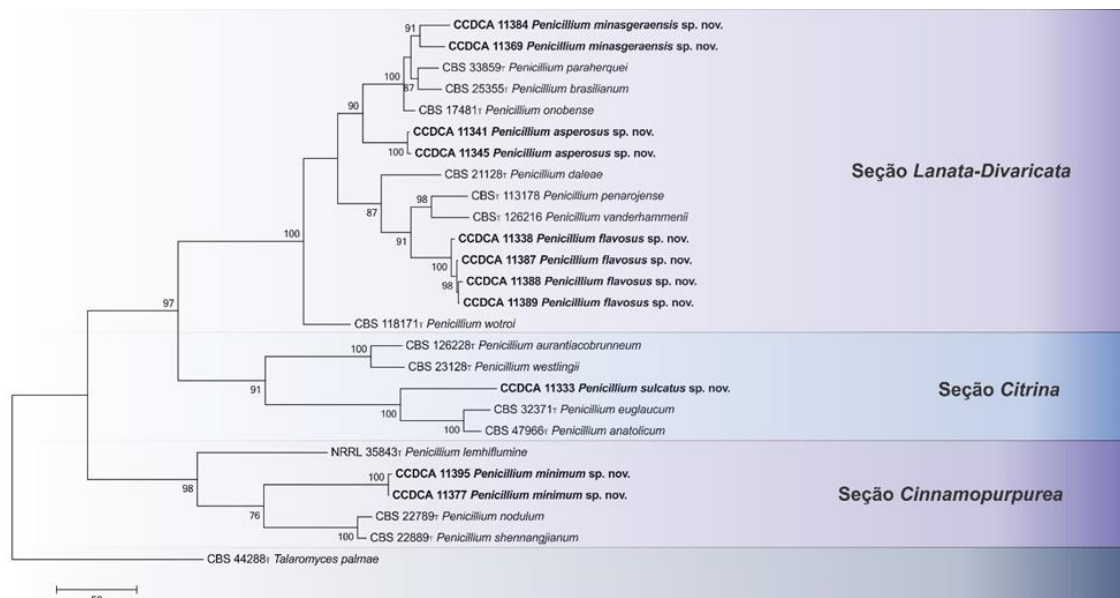
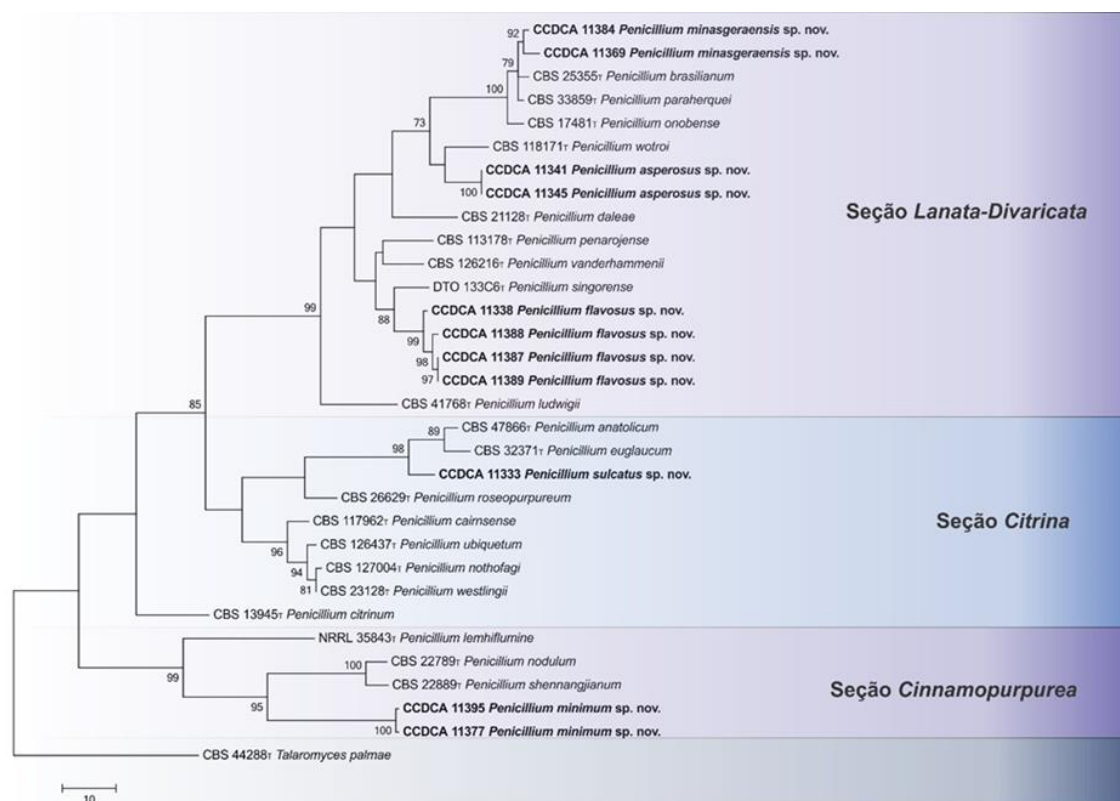


Figura 4 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências concatenadas (*BenA* e *RPB2*) que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero *Penicillium*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios e, somente valores acima de 70% são indicados. Os tipos de isolados são designados com sobrescrito T.



### 3.3 Análises filogenéticas de *Talaromyces*

*Trachyspermi*, *Islandici* e *Talaromyces* são as seções que agregam as novas espécies: *Talaromyces brasiliensis*, *Talaromyces viscosus* e *Talaromyces rosaceus*, respectivamente. As análises foram realizadas para revelar as relações filogenéticas das novas espécies com putativos outros representantes do gênero *Talaromyces*. As análises apresentam apoio estatístico bem suportado nos nós, com valores de pp. acima de 70 % e bootstrap de 95-100 % (FIGURAS 5 e 6).

*Talaromyces brasiliensis* sp. nov. (seção *Trachyspermi*) caracteriza-se por ser filogeneticamente relacionado com *T. albobiverticillius*, *T. rubrifaciens*, *T. solicola*, *T. erythromellis* e *T. heeheensis*. A seção *Trachyspermi* foi estabelecido para espécies que crescem restrito em CYA, YES e DG18, um pouco mais rápido em MEA e mal em CREA. Conidióforos são biverticilados e Ascomata. Se presente, tem uma cor creme branca ou amarela e *Talaromyces brasiliensis* se encaixa bem na descrição (YAGUCHI et al., 1996).

*Talaromyces viscosus* sp. nov. (seção *Islandici*) está intimamente relacionado a *T. yelensis* com *T. tratensis*, apresentando normalmente crescimento restrito em CYA, exsudado amarelo viscoso em MEA, ausência de ascos, conidióforos biverticilados e lisos e conídios elipsoidais com paredes rugosas. De um modo geral, as espécies dessa seção que são capazes de crescer à temperatura de 37°C, podem ser consideradas um risco como agentes patogênicos oportunistas. *Talaromyces allahabadensis*, *T. columbinus*, *T. islandicus*, *T. piceus*, *T. radicus*, *T. subaurantiacus* e *T. yelensis* podem crescer a 37°C e algumas cepas de *T. wortmannii* (YILMAZ et al., 2016). Alguns casos de patógenos oportunistas para *T. piceus* e *T. radicus* foram relatados anteriormente (HORRÉ et al., 2001; DE VOS et al., 2009).

*Talaromyces rosaceus* (seção *Talaromyces*) tem como espécie mais próxima *Penicillium galapagense*, entretanto suas morfologias são completamente distintas, *P. galapagense* produz esporos bem característicos com formato elipsoidal, além de colônias sem tons rosas como visto em *T. rosaceus* sp. nov.. Espécies dessa seção normalmente produzem ascomata amarelo, e que ocasionalmente podem ser brancas, rosadas ou avermelhadas. São também comumente isoladas do solo, ambientes internos, humanos e produtos alimentares (YILMAZ et al., 2014).

Figura 5 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências das sequências concatenadas (*BenA* e *RPB2*) que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero *Talaromyces*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios e, somente valores acima de 70% são indicados. Os tipos de isolados são designados com sobrescrito T

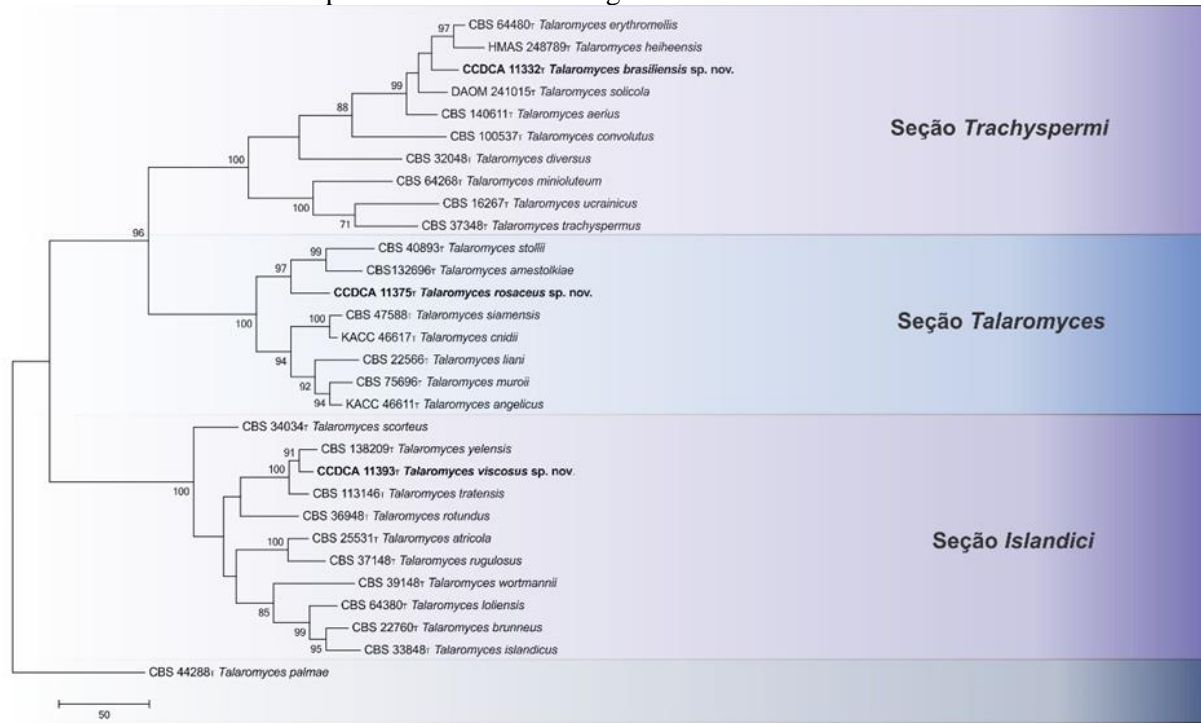
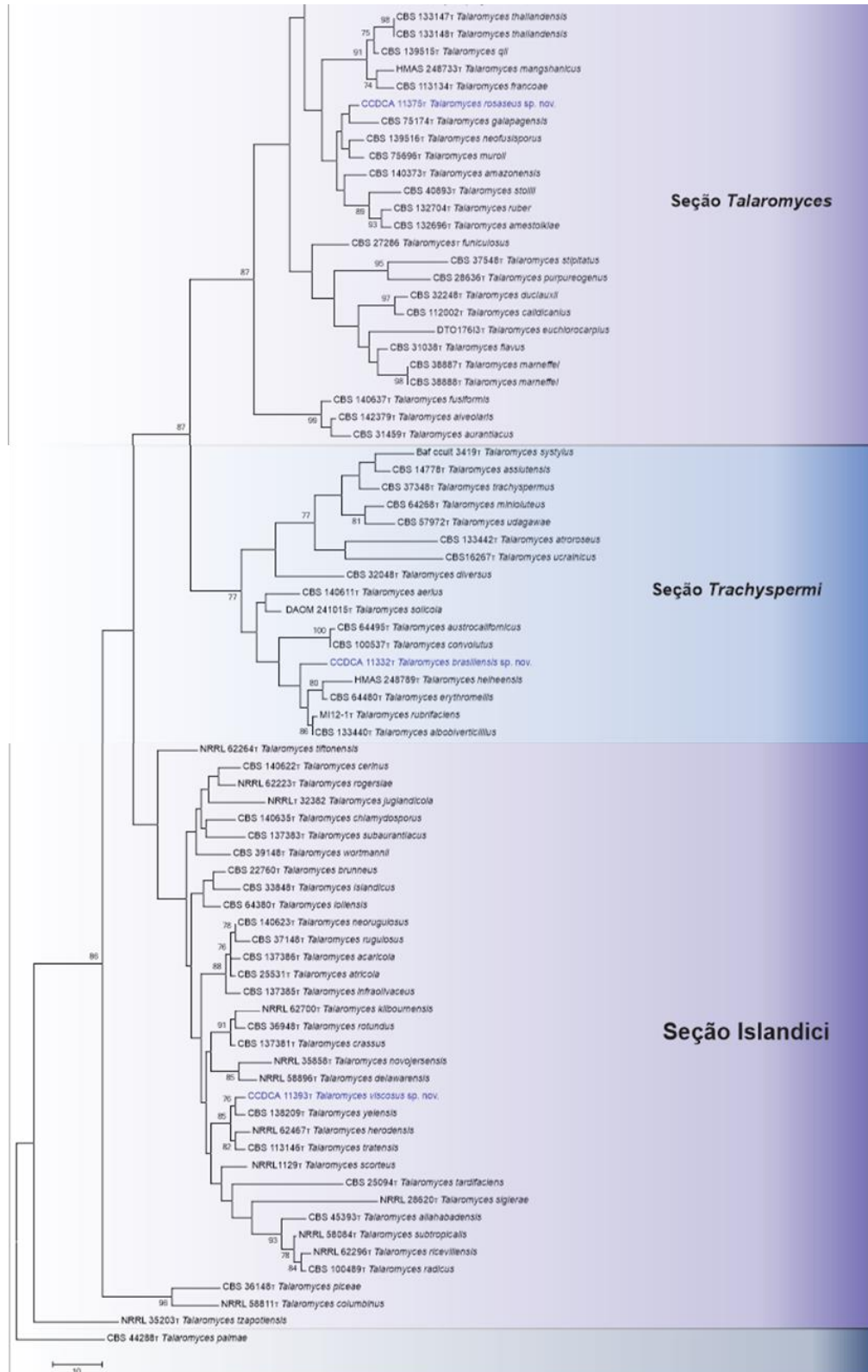


Figura 6 - Árvore filogenética derivada de análise Bayesiana das sequências de *BenA* que mostram as relações filogenéticas dos isolados com espécies do gênero *Talaromyces*. Os valores de *bootstrap* são indicados em porcentagem acima e abaixo dos internódios e, somente valores acima de 70% são indicados. Os tipos de isolados são designados com sobrescrito T.



### 3.4 TAXONOMIA

*Aspergillus novalimaensis* S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.**

MycoBank: MB 811447 (FIGURA 7).

**Etimologia:** O epíteto específico refere-se à localidade onde foi isolado, Nova Lima - Brasil. Gênero *Aspergillus*, seção *Cervini*.

**Diagnóstico:** *Aspergillus novalimaensis* não cresce em CYA 25, 30 e 37°C, e cresce muito restrito em YES, DG18. Se assemelha ao *A. acidohumus* por não apresentar crescimento em CYA entretanto se difere pelo crescimento ter em MEA sem sulco e mais aveludado.

**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais - Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11379, CML 3999 – cultura tipo).

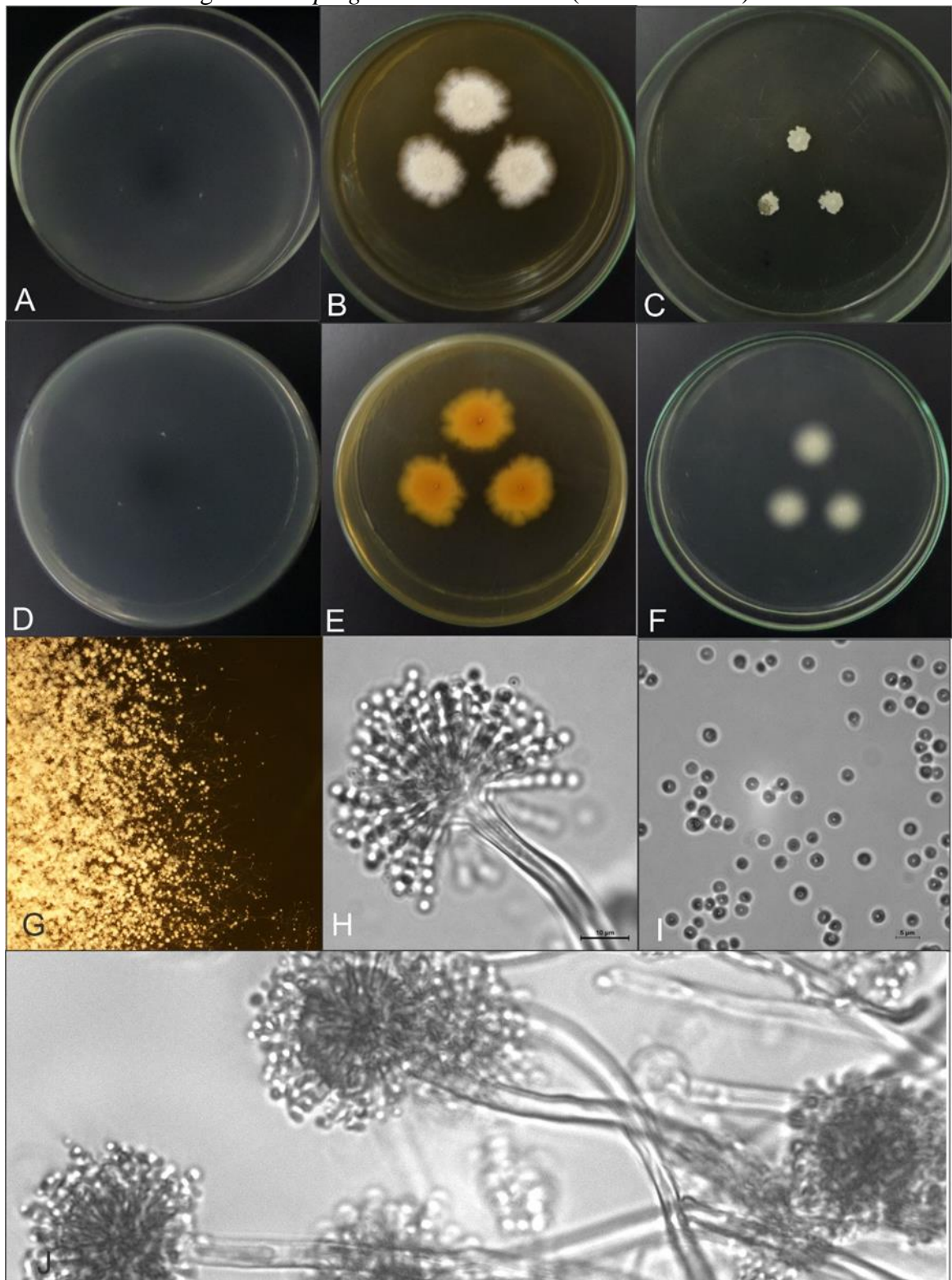
**Sequências:** BenA = MG913382; CaM = MG913383.

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 25°C não cresce; CYA 30°C não cresce; CYA 37°C não cresce; MEA 25°C 23-25; DG18 25°C 15-19; YES 25°C 7-9; CREA não cresce.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: não cresce. MEA 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação densa, conídios em massa cor marrom rosado; pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso marrom amarelado. YES 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, sulcadas; margens inteiras; branco do micélio; flocoso de textura; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso bege. DG18 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, planas; margens inteiras; micélio branco; textura aveludado; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso creme para branco; CREA 25°C, 7 d: sem crescimento.

**Micromorfologia:** Conidióforos eretos, radiados e unisseriados, paredes lisas, marrom amarelado, 50-65 × 5,0-7,5 µm; vesículas globosas, 14-18 µm, fíalde hialina em forma cilíndrica, 4- 6 × 1-2 µm; conídio globoso e liso, marrom rosado formado em cadeias, 2-3,5 µm; Ascomata não produzido.

Figura 7 - *Aspergillus novalimaensis* (CCDCA 13379).



Legenda: culturas com sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, dg18; G. MEA (lupa); H e J conidióforos; I. conídios.

*Penicillium minasgeraensis* S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.** (FIGURA 8).

**Etimologia:** O epíteto específico refere-se à localidade onde foi isolado, Minas Gerais - Brasil.

Gênero *Penicillium*, seção *Lanata-Divaricata*.

**Diagnóstico:** *Penicillium minasgeraensis* apresenta conidióforo muito rugoso e crescimento rápido em CYA e MEA.

**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11369, CML 3992 - cultura tipo).

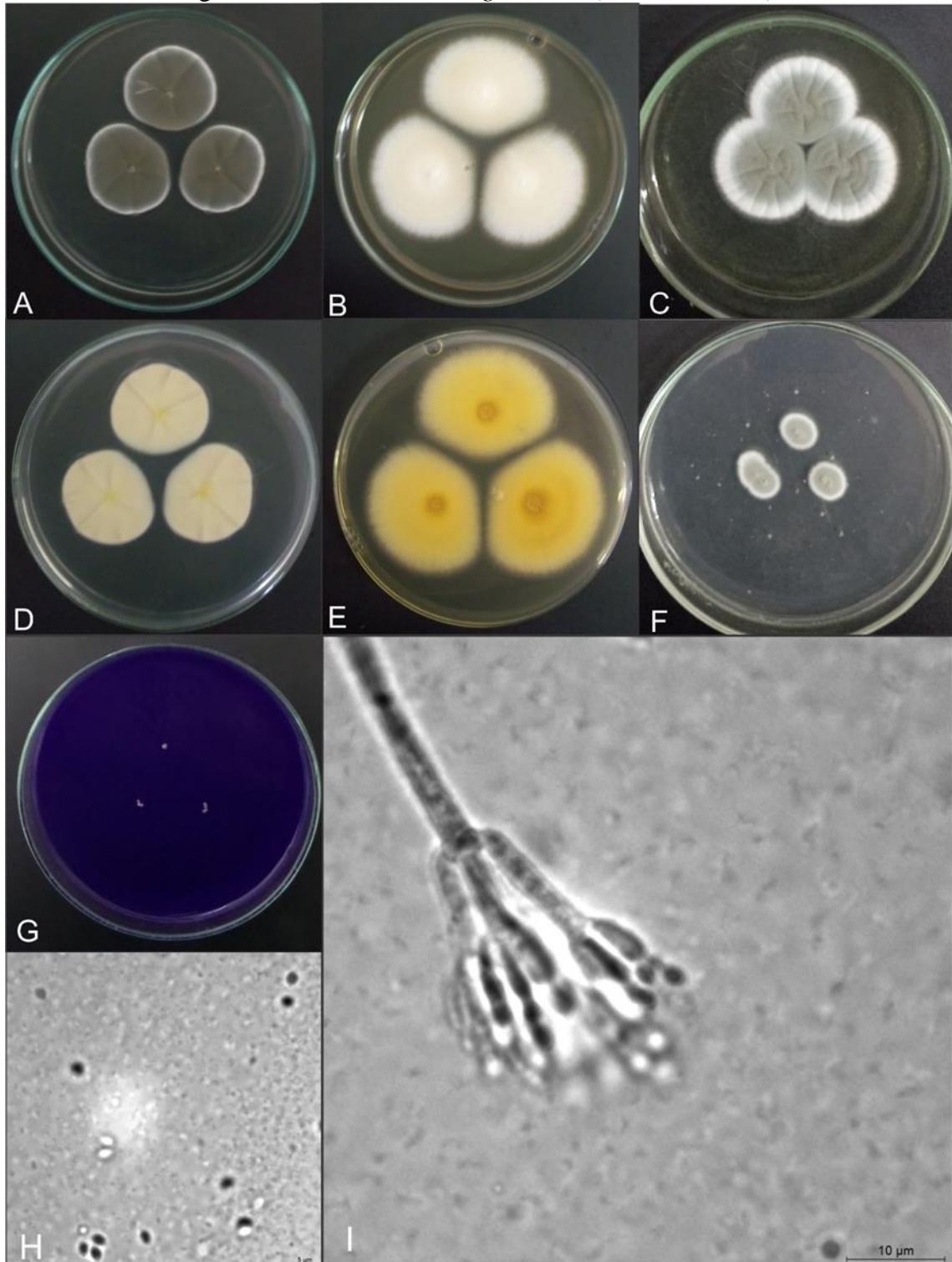
**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 25°C 44-50; CYA 30°C 43-48; CYA 37°C 2-5; MEA 25°C 45-51; DG18 25°C 23-55; YES 25°C 35-40; CREA sem crescimento.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: colônias baixas e moderadamente sulcadas e radiais, margens baixas, estreitas e brancas; micélio branco, textura flocosa; esporulação de moderada a densa, conídios abundantes e verdes, exsudato e pigmentação solúvel ausentes, reverso palha. CYA 30 °C, 7 d: colônias baixas, pouca esporulação, textura aveludada; micélio branco; textura flocosa; conídeos verdes; exsudato e pigmentação solúvel ausentes, reverso palha. CYA 37°C, 7 d: colônias profundas, radialmente sulcada e côncava; margens moderadamente profundas, estreitas, irregulares; micélio branco, esporulação ausente; exsudado ausente, pigmento solúvel ausente, reverso de branco a palha. MEA 25°C, 7 d: colônias aveludadas com bordas regulares; micélio branco com textura flocosa; esporulação moderadamente densa, conídios verde acinzentados; exsudado ausente, pigmento solúvel ausente, reverso amarelo intenso. YES 25°C, 7 d: colônias baixas, sulcadas radialmente, com um anel parecido devido a áreas esporulantes e não esporulantes, mas menos óbvias do que as da CYA; margens baixas, estreitas; micélio branco; textura flocosa; esporulação escassa a moderada, conídios verde acinzentados, exsudado ausente, pigmento solúvel ausente, reverso amarelo. DG18 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, planas; margens inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso creme para branco. As colônias não produzem ácido.

**Micromorfologia:** Conidióforos bi e terverticillate, muitas vezes com ramos subterminais produzidos, rugosos; ramos 180-750 × 3-4,5 µm; ramos, ramos divergentes, 6- 40 × 3-4,5 µm;

métulas 3-6  $\mu\text{m}$ , conidióforo, 8-20  $\times$  2,5-4,5  $\mu\text{m}$ , conídios subgloboso e finamente rugoso, 2-3,5  $\mu\text{m}$ .

Figura 8 - *Penicillium minasgeraensis* (CCDCA 13369).



Legenda: culturas com sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, YES; G. CREA; H. conídios; I. conidióforos.



*Penicillium asperosus* S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.** (FIGURA 9).

**Etimologia:** O epíteto específico vem do latim e refere-se à característica espinhosa dos conidióforos.

Gênero *Penicillium*, seção *Lanata-Divaricata*.

**Diagnóstico:** *Penicillium asperosus* apresenta exudato laranja e reverso marrom no CYA.

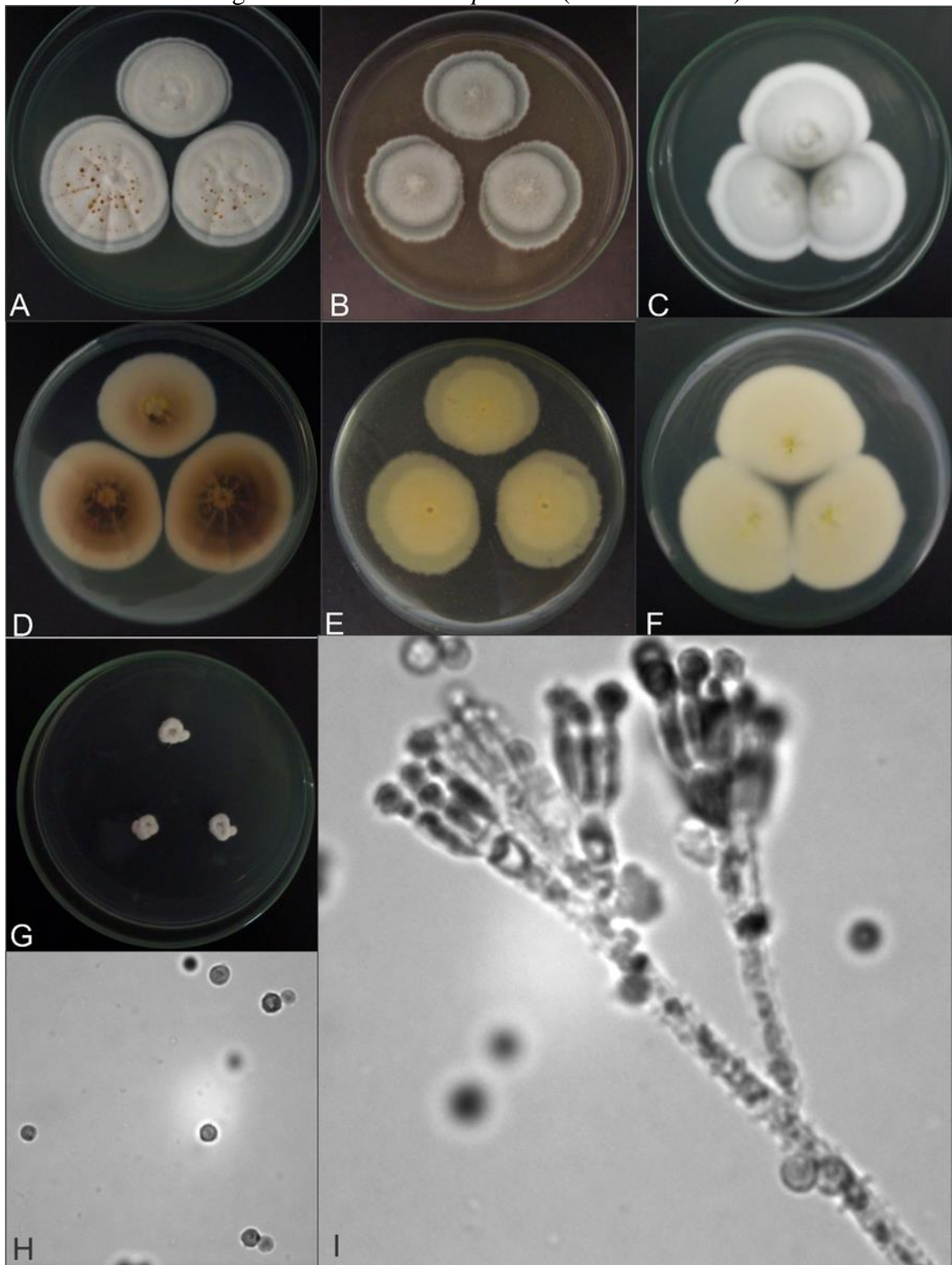
**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11345, CML 3993 – cultura tipo).

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 25°C 45-51; CYA 30°C 44-50; CYA 37°C 5-9; MEA 25°C 34-38; DG18 25°C 26-30; YES 25°C 19-23; CREA 3-5.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: crescimento muito rápido, colônias baixas, textura flocosa, esporulação baixa e com bordas regulares, reverso marrom, exudatos marrom a laranja. CYA 30°C, 7 d: colônias baixas, pouca esporulação, textura aveludada; micélio branco; textura flocosa; conídeos verdes; exudato e pigmentação solúvel ausentes, reverso palha. MEA 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação mediana, conídios verdes oliva a cinza; pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso amarelado. YES 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação mediana, conídios verdes oliva a cinza; pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso palha, semelhante ao MEA. DG18 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, planas; margens inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso creme para branco. Não produz ácido.

**Micromorfologia:** Conidióforos predominantemente biverticillate, stipes variável em comprimento de 20-200 µm, paredes espinhosas, 2,0-3,0 µm de largura. Métulas em vértices de 2-3 com comprimento desigual, divaricado, ligeiramente inflamado no ápice, 10-20 × 2,0-4,0 µm, fiálides ampuliformes, 6,0-8,0 × 2-3 µm. Conídios globosas espinhosos, 2,3-2,8 µm de diâmetro.

Figura 9 - *Penicillium asperosus* (CCDCA 13345).



Legenda: culturas com sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F verso, CYA, MEA, YES; G. CYA 30°C; H. conídios; I. conidióforos.

*Penicillium flavosus* S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.** (FIGURA 10).

**Etimologia:** O epíteto específico vem do latim e refere-se à coloração amarela do reverso em CYA.

Gênero *Penicillium*, seção *Lanata-Divaricata*.

**Diagnóstico:** *Penicillium flavosus* apresenta esporulação intensa e reverso amarelo intenso em CYA.

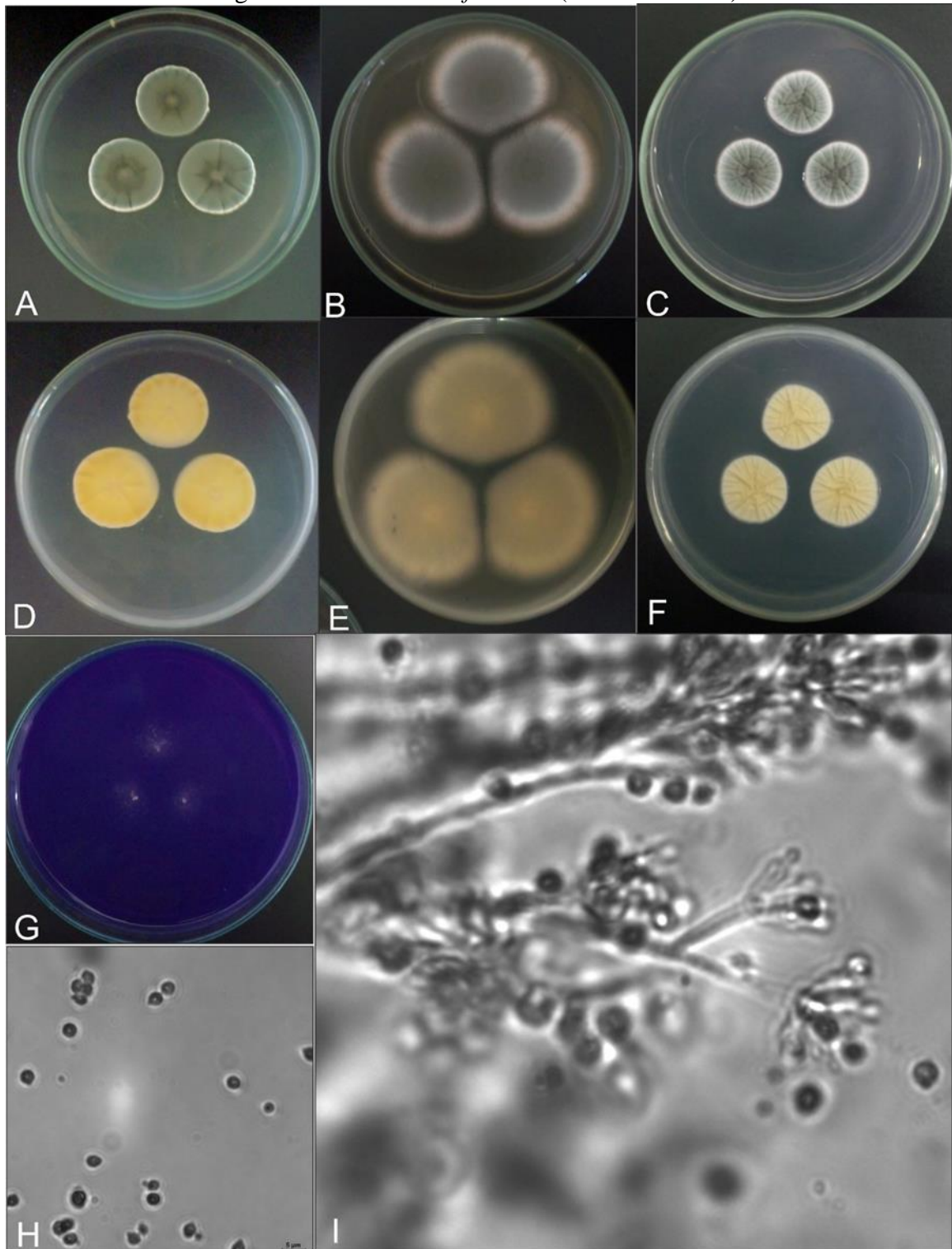
**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11338, CML 3994 – cultura tipo).

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 25°C 23-25; CYA 30°C 20-23; CYA 37°C não cresce; MEA 25°C 38-43; DG18 25°C 19-24; YES 25°C 29-33; CREA 7-10.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: crescimento muito restrito com colônias não esporuladas e com bordas irregulares, reverso palha. MEA 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação mediana, conídios verdes oliva a cinza; pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso amarelado. YES 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação mediana, conídios verdes oliva a cinza; pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso palha, semelhante ao MEA. DG18 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, planas; margens inteiras; micélio branco; textura aveludado; Esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso creme para branco; CREA 25°C, 7 d: crescimento restrito.

**Micromorfologia:** Conidióforos nascidos de hifas de superfície ou aéreas, stipe ramificada 35-60 × 3-4 µm, com paredes lisas, biverticilado, métulas 4-6 µm, fiálides ampuliformes 2-3 µm com coluna curta, conídios apiculato 2,5-3 µm com parede rugosa.

Figura 10 - *Penicillium flavosus* (CCDCA 13338).



Legenda: culturas com sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, YES; G. CREA; H. conídios; I. conidióforos.

*Penicillium sulcatus* S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.** (FIGURA 11).

**Etimologia:** O epíteto específico refere-se à característica da colônia sulcada no meio de cultura YES.

Gênero *Penicillium*, seção *Citrina*.

**Diagnóstico:** *Aspergillus sulcatus* produz muita quantidade de cleitotécios, e o crescimento em YES observa-se bem maior que qualquer espécie próxima.

**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA 11333, CML 3991 – cultura tipo).

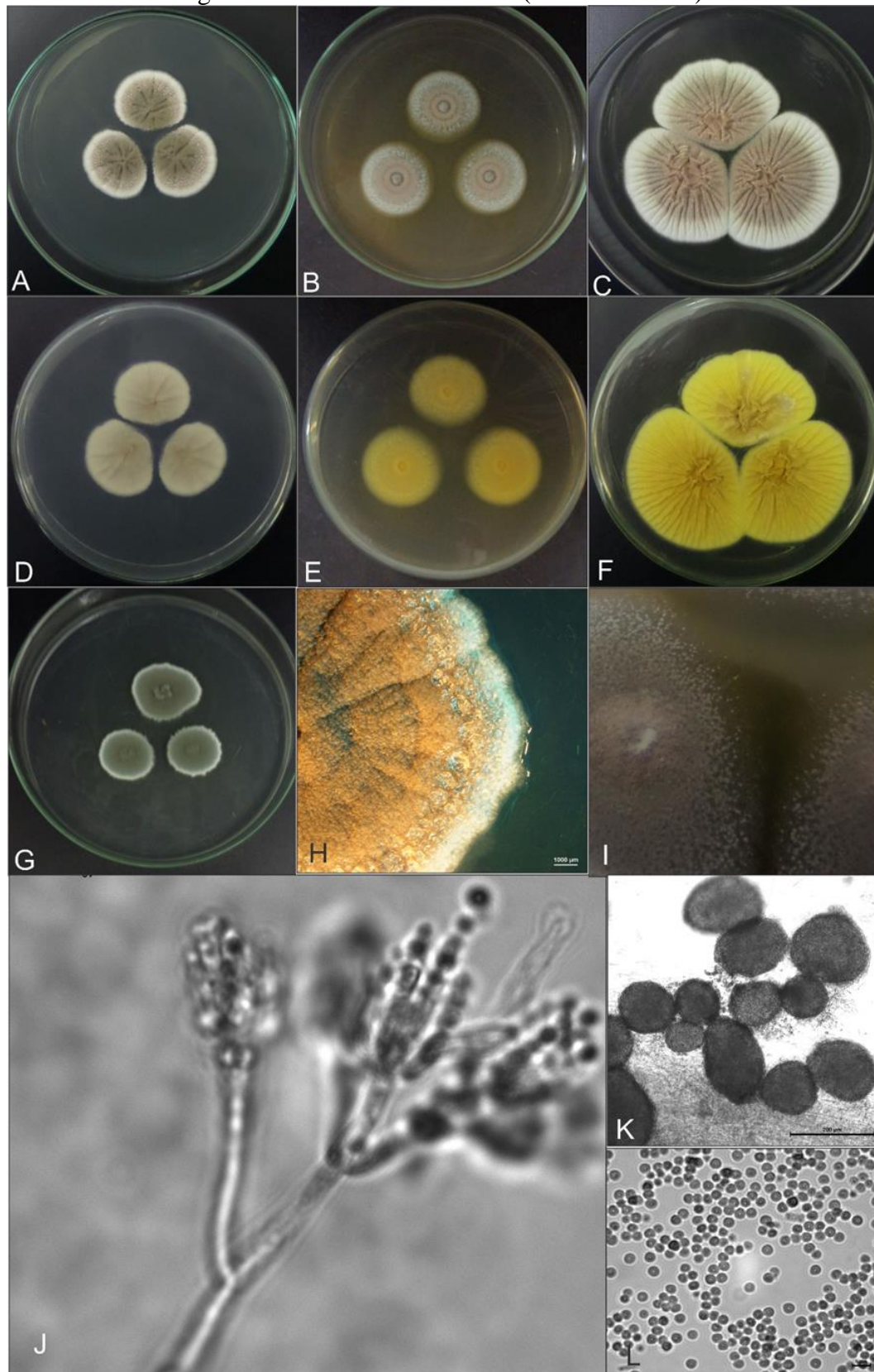
**Sequências:** BenA = MG913356; CaM = MG913355.

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 25°C 24-26; CYA 30°C não cresce; 19-22; CYA 37°C não cresce; MEA 25°C 24-25; DG18 25°C 19-22; YES 25°C 47-51; CREA 17-19.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: Esporulação ausente ou discreta em isolados frescos, e esporulação moderada a boa em culturas mantidas por mais tempo de cultura, conídios verde acinzentados, cleistotecia abundantemente, amarelo pálido quando jovem, ficando marrom-caramelho, micélio claro ou amarelo, exsudado produzido em grandes gotículas de cor clara, pigmento solúvel ausente, margem inteira, reverso palha a bege. MEA 25°C, 7 d: esporulação discreta e não influenciando a cor da colônia, cleistotécios abundantes marrom-caramelos, pigmentação e exsudatos ausentes. YES 25°C, 7 d: esporulação ausente ou fraca em uma semana, cleistotécios abundantes, conídios cinza-verdes, micélio branco ou bege claro, pigmentação solúvel em amarelo-laranja, reverso amarelo escuro, exsudato ausente. DG18 25°C, 7 d: esporulação abundante, conídios verdes escuros, micélio branco, pigmentos solúveis e exsudatos ausentes, reverso palha a bege; CREA 25°C, 7 d: crescimento fraco em produção de ácidos.

**Micromorfologia:** Cleistotécia produzido na maioria dos meios de cultura, amarelo-marrom quando jovem, tornando-se marrom em seguida; globoso ou subgloboso com até 200 µm diam, ocasionalmente maior. Conidióforos predominantemente biverticillate, estipes variáveis em comprimento 20-200 µm, paredes lisas, 2,0-3,0 µm de largura. Métulas em vértices de 2-3, de comprimento desigual, divaricado, ligeiramente inflamado no ápice, 10-20 × 2,0-4,0 µm. fiálides ampuliformes, 6,0-8,0 × 2-3 µm. Conídios globosos, completamente lisos, 2,3-2,8 µm de diâmetro.

Figura 11 - *Penicillium sulcatus* (CCDCA 13333).



Legenda: culturas com sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, YES; G. DG18; H.CYA (lupa); I. MEA (lupa); J. conidióforo; K. cleistotécio; L conídios.

***Penicillium minimum*** S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.**  
MycoBank: MB 811467 (FIGURA 12).

**Etimologia:** O epíteto específico vem do latim e refere-se ao crescimento muito restrito em todos os meios de cultura testados.

Gênero *Penicillium*, seção *Cinnamopurpurea*.

**Diagnóstico:** *Aspergillus minimum* cresce muito restrito em CYA e o reverso não é marrom avermelhado como a maiorias das espécies próximas.

**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11395, CML 3995 – cultura tipo).

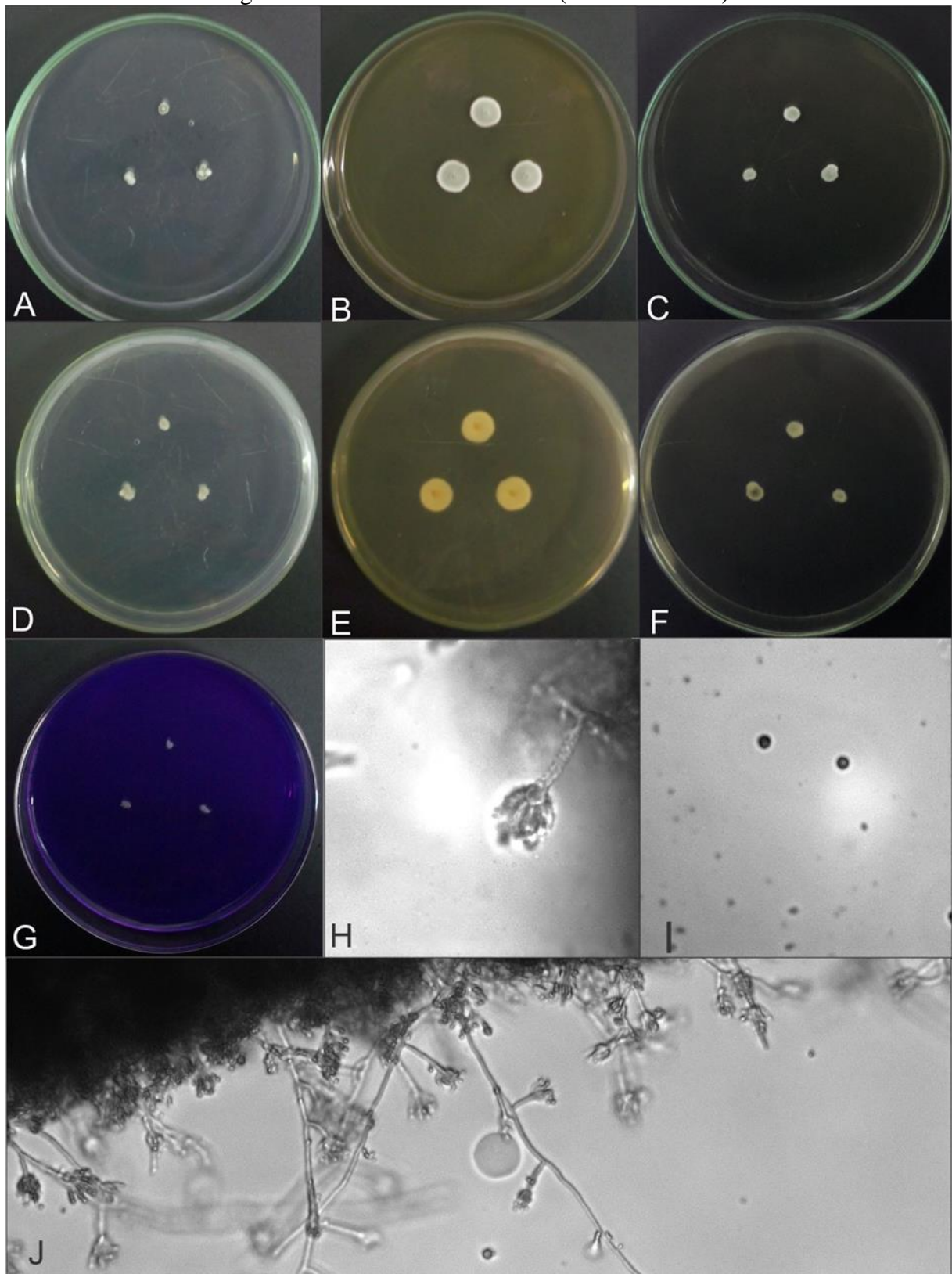
**Sequências:** BenA = MG913312; CaM = MG913313.

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 25°C 1-3; CYA 30°C não cresce; CYA 37°C não cresce; MEA 25°C 5-8; DG18 25°C 5-8; YES 25°C 4-6; CREA 3-5.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: crescimento muito restrito com colônias não esporuladas e com bordas irregulares, reverso palha. MEA 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação mediana, conídios verdes oliva a cinza; pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso amarelado. YES 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação mediana, conídios verdes oliva a cinza; pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso palha, semelhante ao MEA. DG18 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, planas; margens inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso creme para branco; CREA 25°C, 7 d: não produz ácido.

**Micromorfologia:** Conidióforos monoverticilados; estipes variáveis em comprimento 20-200 µm, paredes finamente rugosas, 2,0-3,0 µm de largura. Fiálides ampuliformes, 6.0-8.0 × 2-3 µm. Conídios globosos, completamente lisos, 2,3-2,8 µm de diâmetro.

Figura 12 - *Penicillium minimum* (CCDCA 13395).



Legenda: culturas de sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, YES; G. CREA; H e J conidióforos; I. conídios.



***Talaromyces brasiliensis*** S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.** (FIGURA 13).

**Etimologia:** O epíteto específico refere-se ao país onde foi isolado - Brasil.

Gênero *Talaromyces*, seção *Trachyspermi*.

**Diagnóstico:** *Aspergillus brasiliensis* tem crescimento restrito e apresenta exsudatos viscosos em MEA.

**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11332– holotype, CML 3998 – cultura tipo).

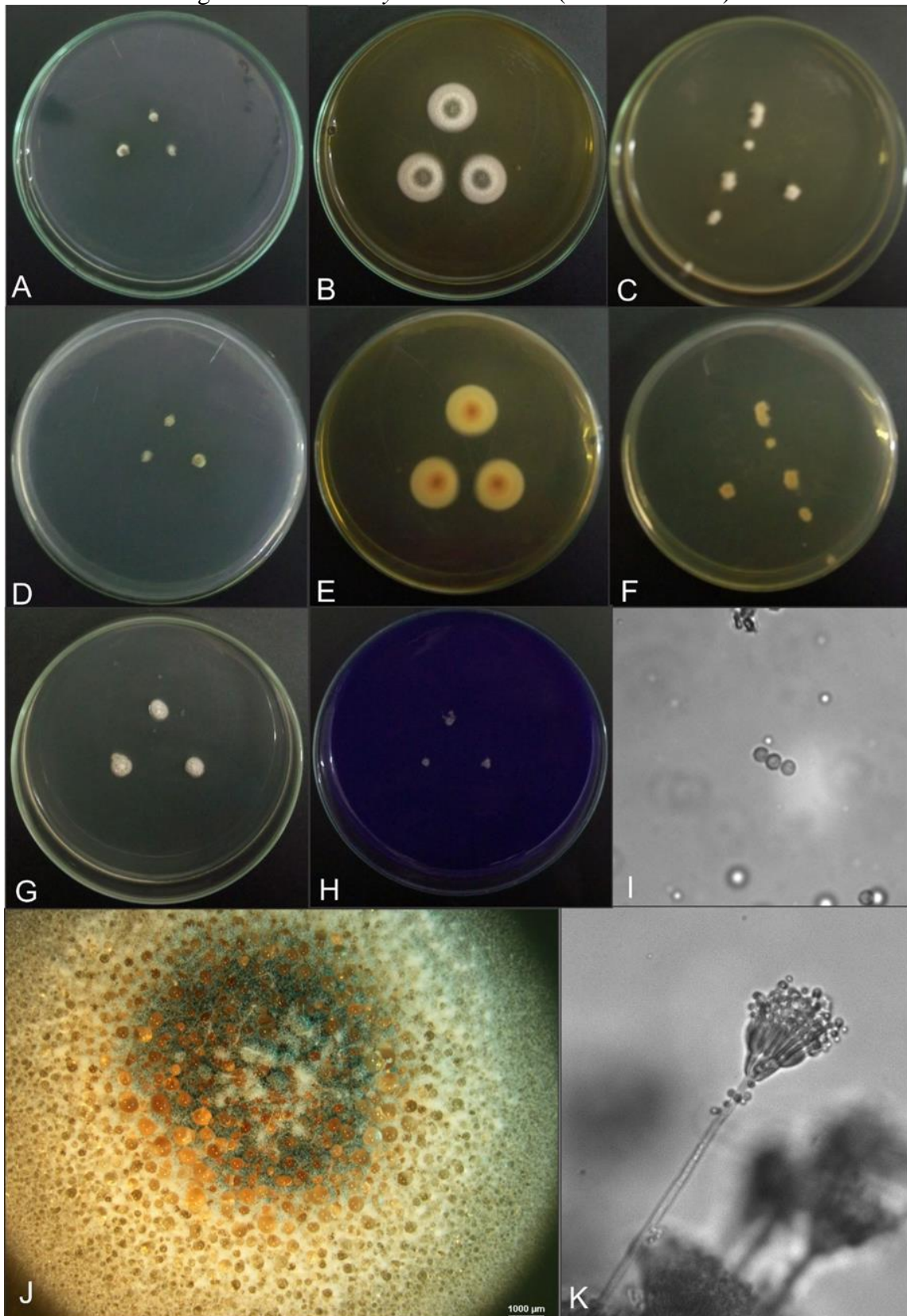
**Sequências:** BenA = MG91342; CaM = MG913353.

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 25°C 1-3; CYA 30°C não cresce; CYA 37°C não cresce; MEA 25°C 18-22; DG18 25°C 3-5; YES 25°C 3-5; CREA não cresce.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: não cresce. MEA 25°C, 7 d: colônias moderadamente planas; margens inteiras; branco do micélio; textura aveludada; esporulação escassa, conídios verdes; pigmentos solúveis ausentes; exsudato claro e viscoso; reverso marrom amarelado. YES 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, sulcadas; margens inteiras; branco do micélio; flocoso de textura; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso bege. DG18 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas, planas; margens inteiras; micélio branco; textura aveludado; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso creme para branco; CREA 25°C, 7 d: sem crescimento.

**Micromorfologia:** Conidióforos biverticilado, paredes lisas, marrom amarelado, 50-65 × 5,0-7,5 µm; vesículas globosas, 14-18 µm, fiálide hialina em forma cilíndrica, 4- 6 × 1-2 µm; conídio globoso e liso, 2-3,5 µm; Ascomata não produzido.

Figura 13 - *Talaromyces brasiliensis* (CCDCA 13332).



Legenda: culturas de sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, YES; G. DG18; H.CREA; I. conídios; J. MEA (lupa); K. conidióforo.

*Talaromyces viscosus* S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista **sp. nov.** (FIGURA 14).

**Etimologia:** O epíteto específico vem do latim e refere-se à característica viscosa do exsudato produzida nos meios de culturas MEA e YES.

Gênero *Talaromyces*, seção *Islandi*.

**Diagnóstico:** *Talaromyces viscosus*.

**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11393, CML 3996 – cultura tipo).

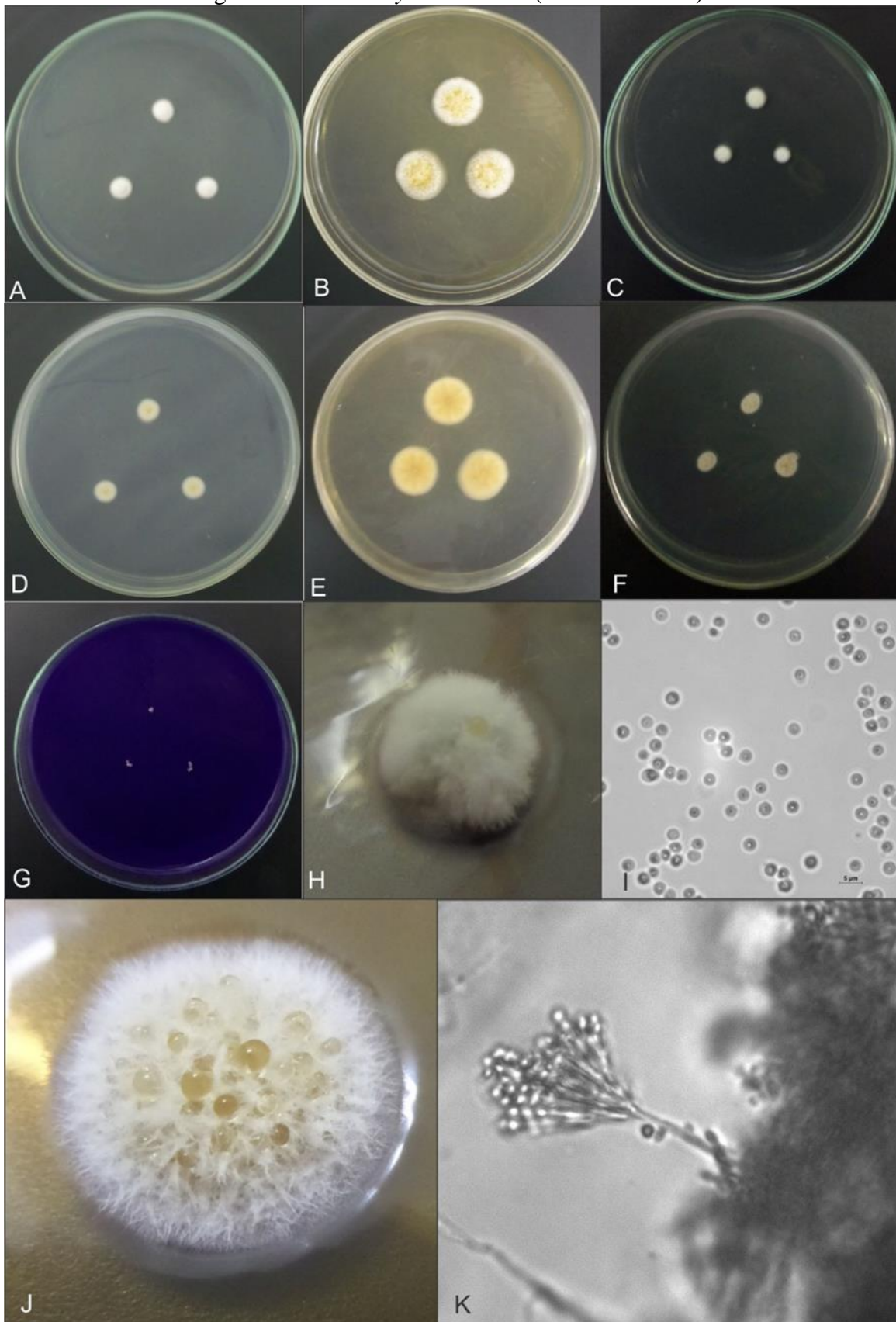
**Sequências:** BenA = MG913382; CaM = MG913383.

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 4-6; CYA 30°C 7-9; CYA 37°C não cresce; MEA 25°C 11-14; DG18 25°C 5-7; YES 25°C 9-11; CREA sem crescimento.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas; margens baixas e inteiras; micélio branco a amarelado; textura flocosa; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudados claros e viscosos; reverso branco a amarelado. MEA 25°C, 7 d: Colônias com margens profundas e inteiras; Micélio branco a amarelo; textura flocosa; esporulação escassa; pigmentos solúveis ausentes; exsudato amarelo e muito viscoso; reverso amarelo. YES 25°C, 7 d: colônias margens baixas e inteiras; micélio branco a amarelo; textura muito flocosa; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; pouco exsudato amarelo; reverso palha. DG18 25°C, 7 d: colônias com margens baixas e inteiras; micélio branco a amarelo; textura flocosa; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso amarelo. CREA 25°C, 7 d: sem crescimento.

**Micromorfologia:** Conidióforos biverticilado, ramos subterminais às vezes presentes; stipes com paredes lisas, 60-190 × 2,5-3,5 µm; ramos de até 30 µm de comprimento; métula de 4-6 × 2,5-3,5 µm; fiálides ampuliformes, terminando em um poro apical fino, 2-4 × 0,5- 1 µm; Conídios lisos, subglobosos a amplamente elipsoidal, 2,5-3,5 × 2,5-3 µm.

Figura 14 - *Talaromyces viscosus* (CCDCA 13393).



Legenda: culturas de sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, YES; G. CREA; H. YES (lupa); I. conídios; J. MEA (lupa); K. conidióforo.

***Talaromyces rosaceus* S.C. Souza, S.S.Costa, L.R. Batista sp. nov.** (FIGURA 15).

**Etimologia:** O epíteto específico vem do latim e refere-se à característica das colônias de coloração rosa.

Gênero *Talaromyces*, seção *Talaromyces*.

**Diagnóstico:** *Talaromyces rosaceus* apresenta coloração rosada em suas colônias.

**Tipo:** Nova Lima, Minas Gerais, Brasil, solo de canga, setembro de 2015, isolado por S. C. Souza. (CCDCA11375, CML 3997 – cultura tipo).

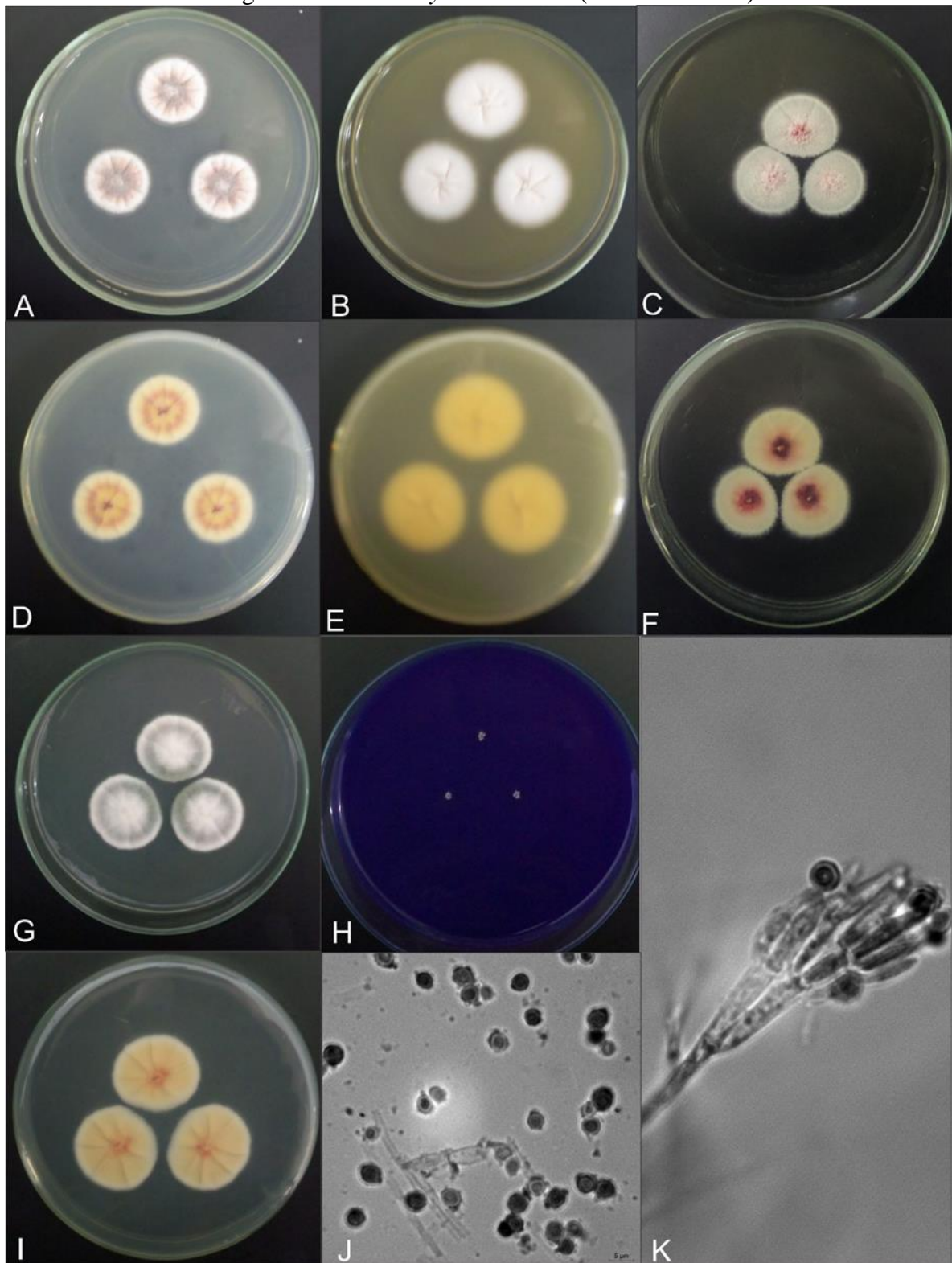
**Sequências:** BenA = MG913345; CaM = MG913343.

**Diâmetros das colônias:** 7 d (mm): CYA 15-18; CYA 30°C 17-20; CYA 37°C não cresce; MEA 25°C 21-25; DG18 25°C 5-7; YES 25°C 21-24; CREA sem crescimento.

**Características das colônias:** CYA 25°C, 7 d: colônias moderadamente profundas; margens baixas e inteiras; micélio branco a amarelado; textura flocosa; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudados ausentes; reverso amarelado com centro marrom a rosa escuro. MEA 25°C, 7 d: colônias com margens profundas e inteiras; micélio branco a amarelo; textura flocosa; esporulação escassa; pigmentos solúveis ausentes; exsudato amarelo e muito viscoso; reverso amarelo. YES 25°C, 7 d: colônias margens baixas e inteiras; micélio branco a amarelo; textura muito flocosa; esporulação escassa; conídios rosas pigmentos solúveis ausentes; exsudato ausente; reverso palha. DG18 25°C, 7 d: colônias com margens baixas e inteiras; micélio branco a amarelo; textura flocosa; esporulação ausente; pigmentos solúveis ausentes; exsudatos ausentes; reverso amarelo. CREA 25°C, 7 d: sem crescimento.

**Micromorfologia:** Conidióforos biverticilados, subterminais ramos às vezes presentes; stipes com paredes finamente rugosas, 60-190 × 2,5-3,5 µm; métula 8-11 x 2,5-3,5 µm; fiálides ampuliformes, 8-10 × 2,5-3 µm; Conídios apiculados, subglobosos, 2,5-3,5 × 2,5-3 µm.

Figura 15 - *Talaromyces rosaceus* (CCDCA 13375).



Legenda: culturas de sete dias, da esquerda para a direita: A-C verso, CYA, MEA, YES; D-F reverso, CYA, MEA, YES; G e I CYA 30°C; H. CREA; J. conídios; K. conidióforo.

#### **4 CONCLUSÃO**

O presente estudo forneceu filogenias das espécies pertencentes a diferentes seções dentro dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* relatando nove novas espécies. Representa uma pequena proporção de fungos não descritos de áreas de canga, ambientes tão peculiares e de potencial inestimável para novas descobertas.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Financiamento da Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação para o Melhoramento do Pessoal de Educação Superior (CAPES) e a Empresa Vale S.A pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 25, n. 17, p. 3389-402, 1997.
- BARTHOMEUF, C.; REGERAT, F.; POURRAT, H. Production of inulinase by a new mold of *Penicillium rugulosum*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, New York, v. 72, p. 491–494, 1991.
- BUIAK, L. I.; AL-NURI, M. A.; LANDAU, N.S. et al. Effect of a stimulating factor formed by *Aspergillus wentii* on exoprotease biosynthesis by a culture of *Aspergillus kanagawaensis*. **Mikrobiologiya**, Bethesd, v. 47, p. 1004–1009, 1978.
- CARMO, F.F.; JACOBI, C. M. Canga vegetation in the Iron Quadrangle, Minas Gerais: characterization and phytogeographical context. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 3, p. 527-541, 2013.
- CASTRO, P.T.A. Cangas: a influência da geodiversidade na biodiversidade. In: **Simpósio Afloramentos Ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero: Biodiversidade, Conservação e Perspectivas de Sustentabilidade**. Belo Horizonte, 30-51 p. 2008.
- CHAO, P. D. et al. Metabolites of aspergilli. New naphthalenones and 6-ethyl -7-methoxyjuglone from *Aspergillus parvulus*. **Journal of Chemical Research**, London, v. 4, p. 236, 1979.
- CHEN, A. J. et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section Cervini. **Studies in mycology**, Utrecht, v. 85, p. 65-89, 2016.
- CHRISTENSEN, M.; TUTHILL, D. *Aspergillus* an overview. In: SAMSON, R.; PITT, J. (Ed.). **Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics**. New York: Plenum Press, p. 195-209, 1985.
- CHRISTENSEN, M.; FRISVAD, J. C.; TUTHILL, D. E. *Penicillium* species diversity in soil and some taxonomic and ecological notes. In: SAMSON, R. A.; PITT, J. I. *Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification*. London: Harwood Academic Publishers, 2000. p. 309-321.
- CHRISTENSEN, M.; FENNELL, D.I.; BACKUS, M. P. (1964). *Aspergillus kanagawaensis* and related species in Wisconsin forest soils. **Mycologia**, New York, v. 56, p. 354–362, 1964.
- DE VOS, J. P. et al. Disseminated *Penicillium radicum* infection in a dog, clinically resembling multicentric malignant lymphoma. **Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift**, Gent, v. 78, p. 183–188, 2009.
- DI MENNA, M. E. et al. Biodiversity of indigenous tussock grassland sites in Otago, Canterbury and the central North Island. V. *Penicillia* and aspergilli. **Journal of the Royal Society of New Zealand**, Wellington, v. 37, p. 131–137, 2007.



DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, Oxford, v.19, n. 1, p.11-15, 1987.

DORR II, J. V. N. Physiographic, stratigraphic, and structural development of the Quadrilatero Ferrifero, Minas Gerais, Brazil. **Geological Survey Professional Paper**, Dublin, n. 641-A, p. 110, 1969.

FRISVAD, J. C. et al. *Talaromyces atroroseus*, a new species efficiently producing industrially relevant red pigments. **PloS one**, San Francisco, v. 8, n. 12, p. 1–15, 2013.

FRISVAD, J. C. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric penicillia. **Applied and Environmental Microbiology**, Berlin, v. 41, n. 3, p. 568-579, 1981.

GAMS, W. et al. Infrageneric taxa of *Aspergillus*. **In: Advances in Penicillium and Aspergillus systematics** (Samson RA, Pitt JI, eds), NATO ASI Series. Ser. A.: Life Sciences, Vol. 102. Plenum Press, New York: 55–62, 1985.

HEPPERLE, D. **SeqAssem**©. A sequence analysis tool, contig assembler and trace data visualization tool for molecular sequences. Win32-Version, 2004. Available at <http://www.sequentix.de>. Accessed 01 fev 2018.

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

HORRE, R.; GILGES, S.; BREIG, P. et al. Case report. Fungaemia due to *Penicillium piceum*, a member of the *Penicillium marneffeii* complex. **Mycoses**, Washington, v. 44, p. 502–504, 2001.

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

HOUBRAKEN, J. et al. *Penicillium araracuarensis* sp. nov., *Penicillium elleniae* sp. nov., *Penicillium penarojense* sp. nov., *Penicillium vanderhammenii* sp. nov. and *Penicillium wotroi* sp. nov., isolated from leaf litter. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Washington, v. 61, n. 6, p. 1462–1475, 2011.

HUBKA, V. et al. Rare and new etiological agents revealed among 178 clinical *Aspergillus* strains obtained from Czech patients and characterised by molecular sequencing. **Medical Mycology**, New York, v. 50, p. 601–610, 2012.

ILHAN, S.; ASAN, A. Soilborne fungi in wheat fields of Kırka Vicinity (Eskişehir – Turkey). **Biologia**, Bratislava v. 56, p. 363–371, 2001.

LUO, Y. et al. *Talaromyces rubrifaciens*, a new species discovered from heating, ventilation and air conditioning systems in China. **Mycologia**, New York, v. 108, p. 773–779, 2016.

MAGNOLI, C. et al. Enumeration and identification of *Aspergillus* group and *Penicillium* species in poultry feeds from Argentina. **Mycopathologia**, New York, v. 142, p. 27–32, 1998.

MASSEE, G. E. Fungi Exotici XVIII. *Aspergillus cervinus* Masee. **Kew Bulletin of Miscellaneous Information (Royal Gardens, Kew)**, 158, 1914.

MCLENNAN, E.I.; DUCKER, S.C.; THROWER, L.B. New soil fungi from Australian heathland: *Aspergillus*, *Penicillium* and *Spegazzinia*. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 2, p. 355–364, 1954.

MICHELI, P. A. **Nova plantarvm genera jvxta Tovrnefortii methodvm disposita...**, 1729

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do solo**. 2. Ed. Editora UFLA, Lavras, 2006, 729p.

NEILL, J. C. The mould fungi of New Zealand. **Royal Society of New Zealand Transactions & Proceedings**, Wellington, v. 69, p. 237–264, 1939.

NEHIRA, T. A new species of the genus *Aspergillus* isolated in Japan. **Journal of Japanese Botany**, Tokyo, 26: 109–110, 1951.

PAUL, E. A. **Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry**. 4. ed. Elsevier Academic Press, Londres, UK, 2015, 59p.

PETERSON, S.W.; JURJEVIC, Z. *Talaromyces columbinus* sp. nov., and genealogical concordance analysis in *Talaromyces* Clade 2a. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, p. e78084, 2013.

PETERSON, S. W. *Aspergillus* and *Penicillium* identification using DNA sequences: barcode or MLST? **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 95, p. 339–344, 2012.

PETERSON, S. Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. **Mycologia**, New York, v. 100, n. 2, p. 205–226, 2008.

PETERSON, S. W.; JURJEVIĆ, Ž. New species of *Talaromyces* isolated from maize, indoor air, and other substrates. **Mycologia**, New York, p. 1–20, 2017.

PETERSON, S. W.; JURJEVIĆ, Ž.; FRISVAD, J. C. Expanding the species and chemical diversity of *Penicillium* section *Cinnamopurpurea*. **PLoS one**, San Francisco, v. 10, n. 4, p. e0121987, 2015.

PETRUCCIOLI, M.; FEDERICI, F.; BUCKE, C. et al. Enhancement of glucose oxidase production by *Penicillium variabile* P16. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 24, p. 397–401, 1999.

PHOEBE, C. H.; SLATKIN, D. J.; SCHIFF, P.L. et al. Metabolites of *Aspergilli*. 5. Terremutin and terremutin hydrate, an artefact, from *Aspergillus nutans*. **Lloydia Journal of Natural Products**, Washington, v. 41, p. 662–662, 1978.

PITT, J. I. **The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces***. London: Academic Press, 1979. QFE. **Quadrilátero Ferrífero: Centro de estudos avançados [DEGEO/EM/UFOP]**. Disponível em: <<http://www.qfe2050.ufop.br/>>. Acesso em: 14 jun. 2017.

RAPER, K. B.; THOM, C. **A manual of the *Penicillia***. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1949.

ROMERO, S. M. et al. *Talaromyces systylus*, a new synnematosous species from Argentinean semi-arid soil. **Nova Hedwigia**, Berlin, v. 102, n. 1-2, p. 241-256, 2016.

SAMSON, R. A.; VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v.78, p. 141–73, 2014.

SAMSON RA, et al. **Food and Indoor Fungi (CBS Laboratory Manual Series 2)**. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. 2010. 390 p.

SANTOS, M. L. M. et al. Solos e Ocupação das Terras na Amazônia Brasileira. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Eds.). **Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros**. Lavras: Editora UFLA, 2008. p. 69–70.

SCHAEFER, C. E. G. R.; MENDONÇA, B. A. F.; RIBEIRO, A. S. Solos desenvolvidos sobre canga ferruginosa no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. **Simpósio Afloramentos Ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero: Biodiversidade, Conservação e Perspectivas de Sustentabilidade**. UFMG/ICB, Belo Horizonte, 2008.

SMITH, G. Some new and interesting species of micro-fungi. **British Mycological Society Transactions**, London, v. 44, p. 12–50, 1961.

TAMURA, K. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology**, New York, v. 28, p. 2731-2739, 2011.

THOM, Charles et al. **The penicillia**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1930.

USHAKOVA, V. I.; DALKO, L. D.; EGOROV, N. S. Study of the protease complex synthesized by *Aspergillus kanagawaensis* in relation to its fibrinolytic activity. *Nauchnye Doklady Vyssheĭ Shkoly*. **Biologicheskĭe Nauki**, p. 93–97, 1974.

VIANA, P. L et al. Flora of the cangas of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil: history, study area and methodology. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 5, p. 1107-1124, 2016.

VISAGIE, C. M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, n. 1, p. 343–371, 2014.

VISAGIE, C. M. et al. Five new *Penicillium* species in section *Sclerotiora*: a tribute to the Dutch Royal family. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Tshwane, v. 31, p. 42, 2013.

WANG, Q. et al. *Talaromyces neofusisporus* and *T. qii*, two new species of section *Talaromyces* isolated from plant leaves in Tibet, China. **Scientific reports**, London, v. 6, p. 18622, 2016.

YAGUCHI, T.; SOMEYA, A.; UDAGAWA, S. A reappraisal of intrageneric classification of *Talaromyces* based on the ubiquinone systems. **Mycoscience**, Tokyo, v. 37, n. 1, p. 55-60, 1996.

YILMAZ, N. et al. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 78, p. 175-341, 2014.

YILMAZ, N. et al. Taxonomic re-evaluation of species in **Talaromyces** section *Islandici*, using a polyphasic approach. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, Tshwane, v. 36, p. 37, 2016.