

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

**REGISTRO DE OCORRÊNCIA E DESCRIÇÃO DE NOVAS
ESPÉCIES DE *Penicillium* DO CERRADO BAIANO**

HARISSON GUIMARÃES DE SOUZA

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

**REGISTRO DE OCORRÊNCIA E DESCRIÇÃO DE NOVAS
ESPÉCIES DE *Penicillium* DO CERRADO BAIANO**

HARISSON GUIMARÃES DE SOUZA

Biólogo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2019

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

Orientador: Phellippe Arthur Santos Marbach

Co-orientadora: Jackeline Pereira Andrade

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

AGOSTO - 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

S729r	<p>Souza, Harison Guimarães de. Registro de ocorrência e descrição de novas espécies de Penicillium do Cerrado Baiano / Harison Guimarães de Souza._ Cruz das Almas, Bahia, 2021. 101f.; il.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Microbiologia Agrícola. Orientador: Prof. Dr. Phellippe Arthur SantosMarbach. Coorientadora: Prof. Dra. Jackeline Pereira Andrade.</p> <p>1.Penicillium – Fungos. 2.Penicillium – Biodiversidade. 3.Cerrado – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 589.2</p>
-------	--

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB.

Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico).

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

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
HARISSON GUIMARÃES DE SOUZA**



Prof. Dr. Phellippe Arthur Santos Marbach
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
(Orientador)

CPF 979.228.707-87



Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza
Universidade Federal de Lavras

CPF: 501.667.861-87



Dr^a. José Luiz Bezerra
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

CPF: 006.920.004-10

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

AGOSTO - 2021

À minha mãe, Maria Rilsa que sempre me apoiou e nunca mediu esforços em garantir uma educação de qualidade.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo apoio a pesquisa e concessão de bolsa.

Ao professor Phellippe pela orientação, conselhos, ensinamentos e amizade durante a graduação e agora no mestrado.

À UFRB pela estrutura e oportunidade de realização do curso.

À professora Jackeline pela co-orientação, todo apoio e suporte.

À minha querida amiga e colega de curso Cristiane Figueiredo por toda ajuda, esforço, confiança, preocupação e alegria durante a realização do mestrado.

À minha família, minha mãe Rilsa, minha irmã Aléxia, e meus irmãos Angel e Robert por estarem presentes e me incentivar a nunca desistir dos meus sonhos.

Aos amigos do laboratório Djalma, Lucas, Lenon pelas risadas e conhecimentos compartilhados.

À colega Dennifier pela ajuda nas edições nas árvores.

Aos professores, técnicos e funcionários que contribuíram para realização dos meus estudos e trabalhos.

Aos amigos Ramon, Gisele, Pedro, Paulo, Juliana, Gabriel, Micael, Adirele, Thaís e Lucas pela amizade, apoio emocional e incentivo.

À todos aqueles que de alguma forma contribuíram na realização dessa grande conquista.

Muito obrigado!

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. <i>Primers</i> utilizados nas ampliações da PCR	55
Tabela 2. Reações da PCR	55
Tabela 3. Programações de ciclos térmicos da PCR	56
Tabela 4. Resultado do BLASTn após sequenciamento da região gênica <i>benA</i> ..	57
Tabela 5. Conjuntos de dados de cada gene e modelos usados nas análises filogenéticas	59
Tabela 6. Comparação de <i>Penicillium</i> ISAMSO37, ISAM1SO59 e IS24.1 com <i>Penicillium maximimae</i>	72
Tabela 7. Comparação de <i>Penicillium</i> ISAMSO10 com <i>Penicillium</i> ISAMSO5, <i>Penicillium anatolicum</i> , <i>Penicillium argentinense</i> e <i>Penicillium euglaucum</i>	76
Tabela 8. Comparação de <i>Penicillium</i> ISAMSO5 com <i>Penicillium anatolicum</i> CBS 476.66	79
Tabela 9. Comparação de <i>Penicillium</i> AMSO2 e AMSO52 com <i>P. sumatraense</i> CBS 281.36.....	82
Tabela 10. Comparação de <i>Penicillium</i> sp. AMSO19 com a espécie próxima <i>P. globosum</i>	84
Tabela 11. Comparação entre o registro de ocorrência <i>Penicillium</i> AM5SO64 e <i>P. shearii</i> CBS 290.48	87

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1.** Mapa de distribuição do bioma cerrado em território brasileiro e taxas de desmatamento da vegetação em quilômetros quadrados.....52
- Figura 2.** Nome dos componentes do conidióforo de *Penicillium*30
- Figura 3.** Padrões de ramificação de conidióforos em *Penicillium*. A. Conidióforos com fiálides solitárias. B. Monoverticilado. C. Biverticilado. D. Divaricado. E. Terverticilado. F. Quaterverticilado.....52

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Sclerotiorum* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *BenA*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam a nova espécie. *P. levitum*^T e *P. griseolum*^T foram utilizados como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.60
- Figura 2.** Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Sclerotiorum* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *CaM*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam a nova espécie. *P. levitum*^T e *P. griseolum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.61
- Figura 3.** Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Sclerotiorum* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *RPB2*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam a nova espécie. *P. levitum*^T e *P. griseolum*^T foi utilizado como grupo

externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.....62

Figura 4. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Citrina* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *BenA*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. corylophilum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.65

Figura 5 Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Citrina* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *CaM*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. corylophilum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.66

Figura 6. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Citrina* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *RPB2*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. corylophilum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.67

Figura 7 Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Lanata-Divaricata* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *BenA*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. glaucum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstrap*.69

Figura 8. A. Colônias da esquerda para a direita: CYA, CYA reverso, MEA, MEA reverso, YES; linha superior: isolado 24,1; linha do meio isolado AMSO37; linha

inferior isolado AM1SO59; B. textura em CYA 24.1; C. textura em CYA AMSO37; D. textura em CYA AM1SO59; E. conidióforo; F. conídios; G-K. conidióforos. – Barras de escala: E – K = 10 µm.....71

Figura 9. A. *Penicillium* sp. ISAMSO10 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, DG-18, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–G. Conidióforos. H. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.....76

Figura 10. A. *Penicillium* sp. ISAMSO5 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, DG-18, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–D. Conidióforos. E. Conídios. F. Conidióforo com ramo. Barras de escalas = 10 µm.80

Figura 11 A. *Penicillium* sp. ISAMSO2 e ISAMSO52 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–G. Conidióforos. H. Conídios. F. Barras de escalas = 10 µm.....75

Figura 12. A. Isolado de *Penicillium* sp. ISAMSO19 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA.86

Figura 13. Isolados *Penicillium* sp. ISAM5SO64 após 7 dias em meios de cultura a a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, DG-18, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–I. Conidióforos. J. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.88

RESUMO

DE SOUZA, H. G. Registro de ocorrência e descrição de novas espécies de *Penicillium* do cerrado baiano

O cerrado é reconhecido como a savana mais rica do mundo em termos de biodiversidade, abrigando diversas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção. Apesar de sua importância biológica, o cerrado tem sido foco de poucos estudos de diversidade microbiana. Portanto, este estudo teve como objetivo estudar a diversidade de *Penicillium* presentes no solo do Cerrado baiano. Amostras de solos de cinco municípios do oeste baiano (Cocos, Correntina, Igaporã, Livramento e Licínio de Almeida) foram coletadas. Para o isolamento dos fungos foi utilizado meio seletivo contendo celulose como única fonte de nutriente, foi adotada a Técnica das Diluições Seriadas, até a diluição 10^{-3} . Foi realizada a extração de DNA, amplificação e sequenciamento dos fragmentos das regiões gênicas β -tubulina (*benA*) e calmodulina (*CaM*) e da segunda maior subunidade da RNA polímera II (RPB2) dos isolados. Em seguida foi feito o alinhamento múltiplo e edição das sequências nucleotídicas. As árvores filogenéticas de cada gene foram geradas no programa MEGA 5.2. Para a caracterização morfológica os isolados foram inoculados nos meios de cultura CYA (5, 25, 30, 35 e 37 ° C), DG18, CREA, MEAbI, CYAS, CZ e OA a 25 ° C durante 7 dias. Para microscopia, os isolados foram crescidos em meio MEAbI por microcultivo, após 7-10 dias de crescimento as lâminas foram montadas utilizando ácido láctico, e as estruturas microscópicas foram caracterizadas e medidas. De acordo com os resultados das análises filogenéticas, os caracteres morfológicos dos isolados foram comparados com os das espécies filogeneticamente próximas. Com base nos resultados da taxonomia polifásica, foram identificadas cinco novas espécies distribuídas nas seções *Citrina*, *Lanata-Divaricata* e *Sclerotiorum*, e um registro de ocorrência de *Penicillium shearii* para o cerrado baiano.

Palavras-chave: *Citrina*; diversidade; *Lanata-Divaricata*; *Sclerotiorum*; solo

ABSTRACT

DE SOUZA, H. G. Occurrence record and description of new species of *Penicillium* from the cerrado of Bahia.

The cerrado is recognized as the richest savanna in the world in terms of biodiversity, home to several endemic and endangered species. Despite its biological importance, the cerrado has been the focus of few studies on microbial diversity. Therefore, this study aimed to study the diversity of *Penicillium* present in the Cerrado soil of Bahia. Soil samples from five municipalities in western Bahia (Cocos, Correntina, Igaporã, Livramento and Licínio de Almeida) were collected. For the isolation of the fungi, a selective medium of cellulose was used as the only source of nutrient, the Serial Dilutions Technique was adopted, until the 10⁻³ dilution. DNA extraction, amplification and sequencing of fragments of the β -tubulin (*benA*) and calmodulin (*CaM*) gene regions and of the second largest subunit of RNA polymer II (*RPB2*) of the isolates were performed. Then, the multiple alignment and editing of the nucleotide sequences was carried out. The phylogenetic trees of each gene and concatenated were generated in the MEGA 5.2 program. For morphological characterization the isolates were inoculated in CYA (5, 25, 30, 35 and 37 °C), DG18, CREA, MEAbI, CYAS, CZ and OA culture media at 25 °C for 7 days. For microscopy, the isolates were grown in MEAbI medium by microculture, after 7-10 days of growth the slides were mounted using lactic acid, and the microscopic structures were characterized and measured. According to the results of the phylogenetic analyses, the morphological characters of the isolates were compared with those of the phylogenetically close species. Based on the results of the polyphasic taxonomy, five new species distributed in the *Citrina*, *Lanata-Divaricata* and *Sclerotiorum* sections were identified, as well as a record of the occurrence of *Penicillium shearii* for the Bahia cerrado.

Keywords: *Citrina*, diversity, *Lanata-Divaricata*; *Sclerotiorum*, soil

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
REVISÃO DE LITERATURA	14
1. O bioma cerrado	14
2. O gênero <i>Penicillium</i>	19
2.1. Histórico.....	19
2.2. Importância ambiental e biotecnológica.....	22
2.3. Taxonomia.....	26
REFERÊNCIAS.....	34

CAPÍTULO 1

Cinco novas espécies de <i>Penicillium</i> isoladas do bioma cerrado no Brasil.....	46
---	----

INTRODUÇÃO GERAL

O cerrado é o segundo maior bioma do Brasil ocupando 23% de toda área do território nacional. O bioma abriga um rico patrimônio de recursos naturais adaptados às diferentes condições climáticas (MARRIS, 2005; STRASSURB et al., 2017). O cerrado é considerado um *hotspot* que abriga grande biodiversidade de espécies endêmicas que estão ameaçadas de extinção devido ao avanço indiscriminado das atividades antrópicas da agropecuária (FRANÇOSO et al., 2015; STRASSBURG et al., 2017). Apesar da relevância ambiental e socioeconômica do bioma, o acesso a sua biodiversidade é pouco conhecido, principalmente a microbiota do solo (PROCÓPIO & BARRETO, 2021)

As comunidades fúngicas possuem um importante papel na manutenção e equilíbrio ecológico. Participam principalmente na dinâmica da reciclagem da matéria orgânica e nutrientes, e afetam tanto a produtividade da cadeia alimentar como a qualidade do solo. (FRANÇA et al., 2018). Os gêneros *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Aspergillus* e *Penicillium* são os representantes de fungos filamentosos que comumente predominam em solos do Cerrado (GARCIA et al., 2015).

O gênero *Penicillium* é ubíquo em muitos ambientes e apresenta versatilidade de crescimento em diferentes condições de temperatura, pH, salinidade e dessecação (YADAV et al., 2018). Abriga espécies de relevância ambiental e econômica, alguns são patógenos oportunistas de plantas e animais, causam deterioração de alimentos e produzem uma gama de potentes micotoxinas (VISAGIE et al., 2014c). Apresentam também importância biotecnológica, pois sintetizam substâncias anticancerígenas, antimicrobianas e biorremediadoras da poluição (JOURDA et al., 2016; CHAN et al., 2016; ZHANG et al., 2019). Outras espécies produzem enzimas de interesse industrial ou podem atuar no biocontrole de fitopatógenos (BORATYŃKI et al., 2018; BOUGHALLEB-M'HAMDI; SALEM; M'HAMDI, 2018).

A descrição de novas espécies fúngicas do gênero *Penicillium* permite conhecer a biodiversidade de uma determinada área, além de compreender a história evolutiva e as relações filogenéticas desse grupo de organismos (VISAGIE et al., 2014c). Do ponto de vista econômico a busca por novas espécies possibilita o uso de características importantes para setores da indústria, saúde e

agronegócio (DESHMUKH; PRAKASH; RANJAN, 2018). A real diversidade fúngica do Cerrado ainda é pouco conhecida devido a carência de estudos nessa região (MAIA et al., 2015). Assim, este estudo contribui para o conhecimento da diversidade de *Penicillium* no cerrado apresentando o registro de ocorrência e a descrição de novas espécies desse gênero encontradas no Cerrado baiano.

REVISÃO DE LITERATURA

1. O bioma cerrado

Um bioma pode ser definido como uma unidade biológica ou espaço geográfico com predominância de características geomorfológicas, climáticas e fitogeográficas uniformes (COUTINHO, 2006). O Brasil exibe diferentes zonas climáticas devido a sua extensão de 8,5 milhões de Km², que abrange os Trópicos de Capricórnio e do Equador. As diferenças climáticas acarretam em grandes variações ecológicas resultando na formação de biomas distintos, como Amazônia (abrange 49% do território), Cerrado (23,9%), Mata Atlântica (13%), Caatinga (9,9%), Pampas (2%) e Pantanal (1,7%) (RATTER, BRIDGEWATER, RIBEIRO, 2003).

As savanas brasileiras ou Cerrado constituem o segundo maior domínio morfoflorístico do território, ocupando uma área de 2.036.448 km², encontra-se localizado no Planalto Central do Brasil, delimitado pela floresta amazônica a noroeste e pela Mata Atlântica ao sudeste (RATTER; BRIDGEWATER; RIBEIRO, 2003). O ecossistema incide nos estados da Bahia, Maranhão, Piauí, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, e São Paulo (Figura 1). Neste espaço territorial encontra-se um imenso reservatório aquífero ocupado pelas três nascentes das maiores bacias hidrográficas da América do Sul (Amazônica/Tocantins, São Francisco e Prata) (RATTER et al., 1997). O bioma é responsável pela produção de 40% da água no Brasil. Possui um clima tropical com duas estações distintas, a seca, que vai de abril a setembro, com temperaturas médias em torno de 27 °C, e a chuvosa, de outubro a março, com temperatura média de 22 °C e com precipitação média anual de 1.500 mm (YAMADA, 2005). O ecossistema abriga muitas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção, por isso, é considerado um dos 34 *hotspots* mundiais para conservação da biodiversidade (MAYERS et al., 2000).

As mudanças na fitofisionomia do bioma estão vinculadas a variações na profundidade do solo, presença de concreções no perfil, contraste nos regimes hídricos e profundidade do lençol freático (EITEN, 1972; FURLEY; RATTER & GIFFORD, 1988). As fisionomias da vegetação são alteradas por regimes hídricos e padrões de drenagem em níveis de pequenas bacias hidrográficas onde as características topográficas desempenham um papel importante (RUGGIERO et al., 2006).

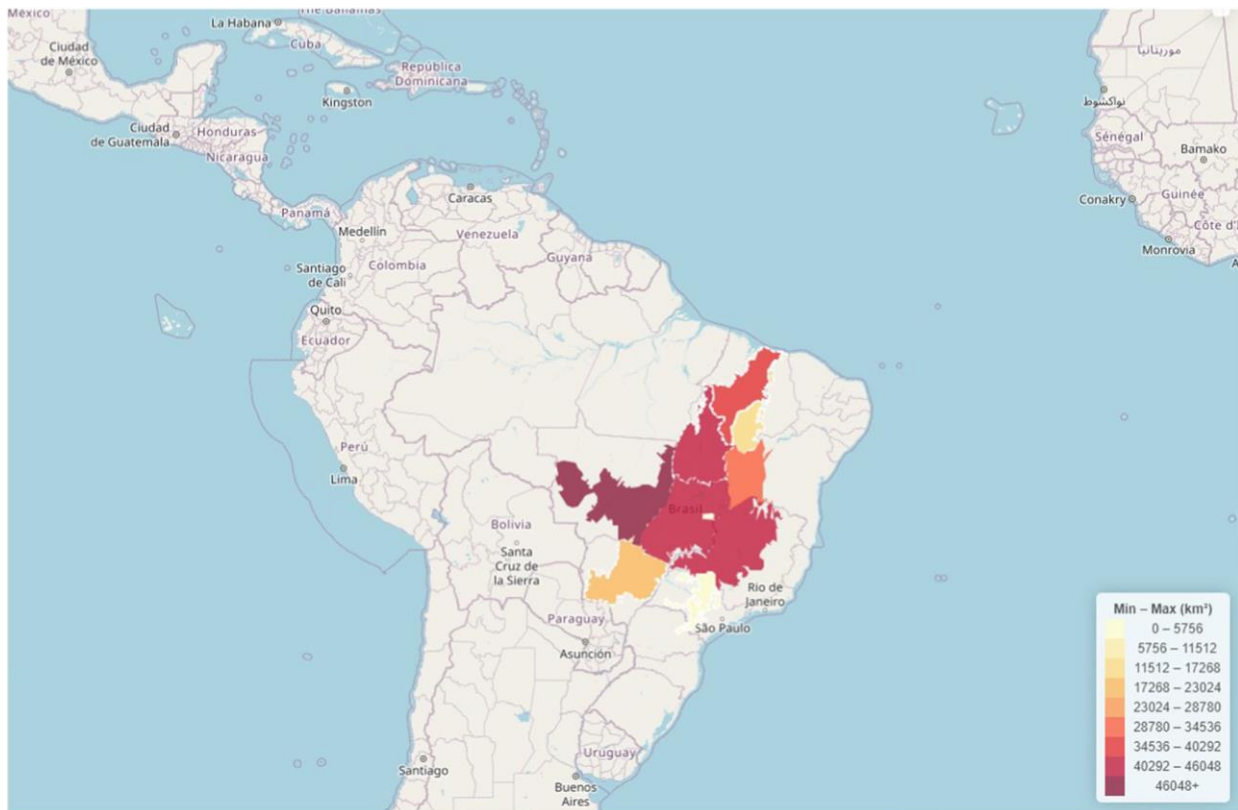


Figura 1. Mapa de distribuição do bioma Cerrado em território brasileiro e taxas de desmatamento da vegetação em quilômetros quadrados (INPE 2020; PROCÓPIO & BARRETO, 2021).

A vegetação do Cerrado e sua densidade não é determinada pelo nível de pluviosidade, como é observado nas savanas africanas, mas sim de fatores edáficos como fertilidade, concentração de alumínio, grau de saturação do solo e alterações causadas pelo fogo e corte (LOPES & COX, 1977; AMORIM & BATALHA, 2006)

Os solos do Cerrado são intemperizados, ácidos, geralmente pobre em nutrientes e com elevado teor de argila e alumínio. Na maioria dos casos, a falta de elementos como Nitrogênio (N), Potássio (K), P (Fósforo), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Enxofre (S) é atribuída ao baixo nível de matéria orgânica dos materiais originais e às perdas intensas

com o intemperismo profundo (BUSTAMANTE et al., 2012). Latossolos cobrem cerca de 50% da região, o restante constitui principalmente de entisolos, inceptisolos e ultisolos. Solos arenosos cobrem 15% da área (BUOL, 2009). O pH do solo do cerrado sensu stricto e das fisionomias abertas associadas é sempre ácido (em média 5). O pH do solo afeta a disponibilidade de nutrientes e na toxicidade de elementos para algumas plantas, independentemente de suas concentrações totais na matriz mineral do solo (RATTER, BRIDGEWATER, RIBEIRO, 2003). A toxicidade do alumínio, por exemplo, ocorre apenas em solos com pH abaixo de 5, em que Al^{3+} e $(AlOH)^{2+}$ entram em solução (LOPES, 1996).

O cerrado é a savana que apresenta maior riqueza em diversidade botânica do mundo e abriga várias espécies de plantas, insetos, peixes, anfíbios, aves e répteis endêmicos (KLINK; MACHADO, 2005). É reconhecido como a savana mais rica do mundo em termos de biodiversidade, sendo lar de 12.000 espécies de plantas nativas (SANO; DE ALMEIDA; RIBEIRO, 2008). Exibe uma ampla diversidade de habitats, que determinam uma notável alternância de espécies entre os estratos vegetais. Cerca de 199 espécies de mamíferos foram registradas (MARINHO-FILHO; RODRIGUES; JUAREZ, 2002). Metade das espécies de aves registradas no país estão concentradas no cerrado, cerca de 837 espécies habitam o domínio (SILVA, 1997). Os números de peixes (1200 espécies), répteis (184 espécies) e anfíbios (209 espécies) também são elevados (COLLI; BASTOS; ARAÚJO, 2002; VALDUJO et al., 2012). O número de peixes endêmicos não é conhecido, porém os valores são bastante altos para anfíbios e répteis: 28% e 17%, respectivamente (VALDUJO et al., 2012). Estimativas apontam que o Cerrado é um importante ecossistema que serve de refúgio para 13% das borboletas, 35% das abelhas e 23% dos cupins dos trópicos (PIRES et al., 2014; MARTINS et al., 2017). Além disso, o bioma serve de corredor ecológico para muitas espécies que habitam a mata atlântica e a floresta amazônica (KLINK & MACHADO, 2005).

O cerrado é o segundo bioma brasileiro que mais sofreu alterações com a ocupação humana, ficando apenas atrás da Mata Atlântica. Com o aumento do consumo de grãos e carnes para exportação, novas áreas são constantemente ocupadas e desmatadas (Figura 1), levando ao esgotamento progressivo dos recursos naturais da região (DE CASTRO et al., 2008). A expansão da chamada fronteira agrícola tem convertido os ecossistemas em grandes áreas de monocultura de soja, milho, algodão, café e eucalipto (KLINK & MACHADO, 2005; MYERS, 2000). Entre 2004 a 2017 cerca de 3 milhões de hectares de florestas foram convertidas ao cultivo de monocultura de soja para atender a demanda nacional e internacional (DE CASTRO et al., 2008). Além disso,

a procura por carvão vegetal oriundo de árvores nativas para atender a indústria siderúrgica também coloca o cerrado em risco (BOZZINI, 2003).

Apesar de sua grande relevância biológica, dentre todos os *hotspots* mundiais, o Cerrado possui o menor percentual de áreas sob proteção ambiental integral, contendo 8,21% de seu território legalmente protegido por unidades de conservação (FRANÇOSO et al., 2015). As interferências humanas no bioma trazem ameaças à biodiversidade dos ecossistemas e resultam em poluição, fragmentação e degradação de habitats, invasão de espécies exóticas, aumento de ocorrência de doenças, modificações climáticas e extinção de espécies (FRANÇOSO et al., 2015; CASTRO et al., 2008; COLLI; VIEIRA; DIANESE, 2020). Nas últimas décadas, a expansão da fronteira agrícola é o principal fator responsável pela perda da biodiversidade, modificação da fitofisionomia e contaminação de solos do Cerrado (KLINK & MACHADO, 2005).

O uso inadequado do solo do Cerrado devido à intensa atividade agrícola resulta na alteração de suas características físico-químicas e biológicas. O impacto gerado leva à degradação do bioma e afeta consideravelmente as comunidades de microrganismos (BUSTAMANTE et al., 2012). Os fungos, por exemplo, são fundamentais para a conservação e funcionamento dos ecossistemas do solo, pois degradam a matéria orgânica e reciclam os nutrientes, além de realizarem associações simbióticas mutualistas com as raízes de plantas ou com outros organismos. Os efeitos sobre a degradação da microbiota são devastadores e podem afetar a fitofisionomia do ambiente e toda a cadeia alimentar (NEWSHAM; FITTER; WATKINSON, 1995).

Ecossistemas tropicais apresentam a maior biodiversidade de solo em todo o mundo. Distintas comunidades fúngicas são encontradas ao longo dos diferentes gradientes de vegetação do cerrado (DE ARAUJO et al., 2017). A diversidade e distribuição de espécies fúngicas são afetadas pelo gradiente da vegetação devido a diversificação fitofisionômica ao longo dos estratos do bioma, além de fatores abióticos relativos à região (PROCÓPIO & BARRETO, 2021). Os filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* apresentam a maior abundância dentro das comunidades fúngicas do Cerrado, representando 45% e 32% respectivamente (DE ARAUJO et al., 2017). A alta abundância de membros de *Ascomycota* é registrada em diferentes ambientes, ocupando solos de pastagem, agrícolas e áreas nativas do bioma (DE CASTRO et al., 2008). As espécies do filo *Ascomycota* é abundante em uma ampla variedade de solos por todo globo, atuando na degradação de polímeros oriundos de vegetais como a celulose e hemicelulose (SHARY; RALPH; HAMMEL, 2007). Já espécies do filo *Basidiomycota*

atuam na decomposição de compostos complexos e possui relativa abundância em fisionomias que apresentam solos ricos em matéria orgânica (DE CASTRO et al., 2016).

A vegetação interfere no microclima do solo, isolando o solo e reduzindo a variação da temperatura, afetando desse modo a taxa de respiração e o balanço de carbono total (VALENTINI et al., 2008). Além da diversidade de fungos estar fortemente associada à cobertura vegetal em algumas áreas do cerrado, as estruturas de comunidades microbianas são profundamente afetadas pelo efeito das flutuações sazonais no regime de precipitação durante as estações chuvosa e seca (DE CASTRO et al., 2016). Alterações no pH, temperatura e disponibilidade de nutrientes também são fatores preponderantes para a estabilidade da microbiota do cerrado (PROCÓPIO & BARRETO, 2021)

Os gêneros fúngicos com maior frequência e incidência no bioma são *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Aspergillus* e *Fusarium* (GARCIA et al., 2015; MONTEIRO et al., 2016). Representantes desses gêneros são ditas onipresentes, pois podem se adaptar às variações de temperatura, mas sua abundância de propagação é dependente das condições ideais de temperatura e umidade (GARCIA et al., 2015). As espécies de *Penicillium* e *Trichoderma* toleram uma ampla faixa de temperatura, por isso, são frequentemente encontradas em grande abundância em todos os gradientes florestais do bioma, independentemente da estação seca ou chuvosa (GARCIA et al., 2015).

Vários estudos encontraram níveis reduzidos de biomassa microbiana, diversidade e estrutura de comunidades alteradas devido à diferentes perturbações causadas principalmente pelo uso de pesticidas, mineração, poluição por metais pesados e compactação dos solos em áreas agricultáveis (ENGELEN et al., 1998; SMIT et al., 1999; JOHNSON et al. 2001; DE CASTRO et al., 2008). Solos não perturbados apresentam maior número de espécies fúngicas quando comparados com regiões modificadas por atividades antrópicas. O número de unidades taxonômicas para áreas usadas na monocultura de soja e pastagem foi reduzido em até 50% em relação a solos de unidades conservação (DE CASTRO et al., 2008). A perda de riqueza fúngica em áreas ocupadas pode representar o completo desaparecimento de linhagens fúngicas. Enquanto o solo e a fauna são foco de estudos e esforços para conservação, a comunidade microbiana é frequentemente negligenciada (PROCÓPIO & BARRETO 2021). A caracterização taxonômica e a descrição de novas espécies são fundamentais para uma melhor compreensão e manejo do bioma, bem como proteger espécies fúngicas que estão

ameaçadas de extinção (DE CASTRO et al., 2008; MONTEIRO et al., 2016; PROCÓPIO & BARRETO, 2021).

2. O gênero *Penicillium*

2.1. Histórico

O gênero *Penicillium* foi introduzido por Heinrich Link em 1809 para acomodar fungos assexuados que possuíam conidióforos semelhantes a um 'penicillus' (pincel) (LINK, 1809). Link alocou três espécies ao gênero: *P. candidum*, *P. glaucum* e o tipo genérico *P. expansum*. Embora tenha sido descrito originalmente como anamorfo, Brefeld (1874) publicou detalhadamente a produção de ascósporos durante a fase sexual de *P. glaucum*. Ludwig em 1892, então propôs o nome *Eupenicillium* para acomodar as espécies de *Penicillium* produtoras de ascósporos. Em 1901, Dierckx criou o primeiro sistema de classificação subgenérico para o gênero *Penicillium*, subdividindo-o em *Aspergilloides*, *Biverticillium* e *Eupenicillium*.

Apesar da descrição de muitos estágios sexuais para as espécies de *Penicillium*, havia controversia se nomes genéricos devem ser usados separadamente para incluir espécies produtoras de ascósporos. Thom (1954) e Raper (1957) afirmam que criar novos gêneros para acomodar morfotipos sexuais de *Penicillium* ocasionaria desordem nomenclatural desnecessária, principalmente para isolados que se encontram no início da fase sexual e posteriormente perde a capacidade de produzir áscosporos sob manutenção em laboratório. Além disso, o uso de nomes sexuais dificulta a comunicação entre cientistas e profissionais do setor industrial que identificam e manejam rotineiramente as espécies de *Penicillium* (THOM, 1954).

O gênero *Penicillium* obteve destaque após estudos comprovarem a associação de espécies que geram impactos positivos e negativos à economia. Wehmer (1895) descreveu *P. italicum* (mofo azul), espécie fitopatogênica que causa podridão em frutas, grãos e vegetais (KANASHIRO et al., 2020). Thom em 1906 constatou em seu estudo a conexão de espécies de *Penicillium* em queijos. O gênero se tornou notoriamente conhecido após Alexander Fleming (1928) descobrir a penicilina, uma nova classe de fármacos – os antibióticos – que reduziram drasticamente o número de mortes causadas por infecções (GAYNES, 2017).

A medida que o número de espécies de *Penicillium* aumentava, subgrupos foram sugeridos para acomodar espécies intimamente relacionadas. Biourge (1923) subdividiu *Penicillium* em duas seções, seis subseções e quatro séries, além de redescrever 125 espécies do gênero com desenhos detalhados e placas coloridas em sua monografia. Ao longo dos anos, mais de 1000 nomes foram acrescentados ao gênero, muitos com descrições incompletas. Atualmente a maioria desses nomes são invalidados ou considerados sinônimos pelos critérios de classificação moderna (VISAGIE et al., 2014c). Thom et al (1930) realizaram uma extensiva classificação do gênero propondo o conceito de classificação de grupo e separando *Paecilomyces*, *Gliocladium* e *Scopulariopsis* de *Penicillium*. Além disso, Thom não aderiu ao sistema de classificação subgenérica de Dierckx e Biourge. Sugeriu a divisão do gênero em 4 subgêneros, 12 seções e 18 séries, baseado nas características da colônia e no padrão de ramificação dos conidióforos. Thom revisou todas as espécies descritas até 1930 e aceitou 300 em sua monografia.

Raper & Thom (1949) publicaram o “*Manual of the Penicillia*” para identificação de espécies do gênero. Os critérios usados foram características macromorfológicas, microscópicas e fisiológica como textura, pigmentação e taxa de crescimento das colônias em diferentes meios de cultura padronizados, além do padrão de ramificação dos conidióforos. Com base nessa metodologia, os autores validaram 137 espécies de *Penicillium*.

Em 1955, Benjamin criou o novo gênero *Talaromyces* inserindo apenas as espécies de *Penicillium* que apresentam ascomas moles com paredes compostos de hifas entrelaçadas e com crescimento indeterminado. Após quase duas décadas, Stolk & Samson (1972), criaram o gênero *Hamigera* para as espécies de *Talaromyces* caracterizadas por asci que se desenvolvem isoladamente a partir de báculos. O gênero *Talaromyces* foi redefinido e restringido a espécies que produzem ascos em cadeias curtas.

O sistema de classificação infragenérica passou por vigorosas mudanças, visto que, diferentes autores deram enfoque a diferentes caracteres morfológicos ao criar os subgrupos de *Penicillium*. Pitt (1979) desconsiderou o caracter textura da colônia como critério de similaridade para espécies evolutivamente relacionadas e propôs uma nova classificação baseada na morfologia e no padrão de ramificação dos conidióforos, além de incluir caracteres secundários como morfologia das

fiálides, taxa de crescimento e características da colônia. Após revisão, Pitt (1979) subdividiu o gênero em quatro subgêneros (*Penicillium*, *Biverticillum*, *Furcatum* e *Aspergilloides*), 12 seções, 18 séries e aceitou 150 espécies. Três anos depois, Ramirez (1982) validou 252 espécies, incluindo espécies de *Eupenicillium*, teleomorfo de *Penicillium*.

Historicamente, a classificação e identificação de espécies de *Penicillium* foi avaliada por meio de uma abordagem fenotípica, baseando-se apenas em características macroscópicas e microscópicas (VISAGIE et al., 2014c). Entretanto, as características morfológicas para algumas espécies são indistinguíveis e nem sempre são reproduzidas em condições artificiais (KATOCH & KAPOOR, 2015). Após o uso de técnicas de biologia molecular que permitiram a amplificação e sequenciamento de regiões do DNA, o conceito de espécie fúngica migrou de fenético para filogenético (XU, 2016). A partir de então, diversas mudanças ocorreram na classificação e identificação de *Penillium*.

Houbraken & Samson (2011) segregaram a família *Trichocomaceae* com base em filogenia multigênica em três famílias distintas (*Aspergillaceae*, *Thermoascaceae* e *Trichocomaceae*), sendo *Penicillium* realocado na família *Aspergillaceae*. O estudo também indicou que as espécies que pertencem ao subgênero *Biverticillum* formam um clado monofilético com as espécies teleomorfas do gênero *Talaromyces*. Seguindo o conceito baseado na nomenclatura “um fungo-um nome” introduzido pelo *International Nomenclature Code* (ICN) para Algas, Fungos e Plantas, em 2013, todas as espécies do subgenero *Biverticillum* foram transferidas para o gênero *Talaromyces*. As espécies pertencentes aos demais subgêneros formam um clado monofilético com espécies classificadas em *Chromocleista*, *Eupenicillium*, *Hemicarpenteles*, *Thysanophora* e *Torulomyces*, cujo os nomes foram recombinaados como sinônimo de *Penicillium*. Duas linhagens principais e bem sustentadas estão presentes em *Penicillium*, representando os subgêneros *Aspergilloides* e *Penicillium*. A filogenia apontou a formação de 25 clados, em que cada clado representa uma seção do gênero (Houbraken & Samson, 2011).

A adoção do conceito de espécie consolidada em propriedades morfológicas pode resultar em identinficações e classificações imprecisas (VISAGIE et al., 2014c; LÜCKING et al., 2020). Fungos com conidióforos típicos em forma de pincel não são mais necessariamente espécies de *Penicillium*. Com base na filogenia

multigênica, as espécies *Aspergillus paradoxus*, *A. crystallinus* e *A. malodoratus* são intimamente relacionadas ao gênero *Penicillium*, apesar da semelhança com os conidióforos de *Aspergillus*. Similarmente, várias espécies de *Penicillium* foram transferidas para outros gêneros, mesmo apresentando conidióforos com o formato típico de pincel (VISAGIE et al., 2014b)

A abordagem polifásica consiste em uma importante ferramenta que visa integrar diferentes informações na descrição de uma espécie. Assim, dados morfológicos, fisiológicos, moleculares e filogenéticos são indispensáveis para delimitar uma espécie (SAMSON et al., 2014). Recentemente com a revisão da Ordem *Eurotiales*, o gênero *Penicillium* foi dividido em 32 seções (*Alfrediorum*, *Aspergilloides*, *Brevicompecta*, *Canescentia*, *Charlesia*, *Chysogena*, *Cinnamopururea*, *Citrina*, *Crypta*, *Digitata*, *Eladia*, *Eremophila*, *Exilicaulis*, *Fasciculata*, *Formosana*, *Fracta*, *Griseola*, *Inusitata*, *Lanata-divaricata*, *Lasseniorum*, *Ochrsalmonea*, *Penicillium*, *Paradoxa*, *Ramigera*, *Ramosa*, *Roquefortorum*, *Sclerotiora*, *Stolkia*, *Thrysanophora*, *Torulomyces*, *Turbatae*) e 89 series de acordo com abordagem polifásica (HOUBRAKEN et al., 2020). Atualmente, o gênero abriga 483 espécies aceitas.

2.2. Importância ambiental e biotecnológica

Penicillium é um gênero fúngico bem conhecido que desempenha vários papéis em ecossistemas naturais, agricultura e em processos biotecnológicos (VISAGIE et al., 2014a). A baixa exigência nutricional e a elevada diversidade metabólica conferem às espécies do gênero a capacidade de colonizar uma gama de ambientes distintos (PITT, 1991). Ocorrem em uma diversa variedade de habitats, do solo à vegetação, no ar, água, associados a plantas e animais e em materiais em decomposição (VISAGIE et al., 2014a; VISAGIE et al., 2014b; VISAGIE et al., 2014c; BARBOSA et al., 2018; CHOI et al., 2021;). *Penicillium* é também encontrado em diferentes ambientes extremos (temperatura, salinidade, ácidos, alcalinos e habitats com deficiência de água) (YADAV et al., 2018; CHOI et al., 2021; RODRÍGUEZ-ANDRADE; STCHIGEL & CANO-LIRA., 2021). Os representantes do gênero participam ativamente dos ciclos biogeoquímicos atuando na manutenção e equilíbrio ecológico (PITTI & HOCKING, 2009; FRISVAD & SAMSON, 2004). Espécies de *Penicillium* apresentam elevada atividade saprofítica em ambientes terrestres, são fundamentais na ciclagem de elementos

essenciais, mineralização, acúmulo de substâncias tóxicas e desintoxicação do habitat (YADAV et al., 2018).

As espécies participam da dinâmica de reciclagem da matéria orgânica promovendo a entrada de íons no sistema biótico, afetando tanto a produtividade da cadeia alimentar como a qualidade do solo (JOUTEY et al., 2013). A degradação da matéria orgânica é realizada por enzimas extracelulares, secretadas no substrato, que degradam polímeros complexos de cadeias longas como celulose, hemiceluloses, lignina, pectinas, quitinas, além de outros compostos como açúcares solúveis em água, aminoácidos, ácidos alifáticos, éter e álcool, gorduras solúveis, ceras, resinas, queratinas e pigmentos (AZZAZ et al., 2012; ACHARYA; CHAUDHARY, 2012; RAVEENDRAN et al., 2018). A decomposição da matéria orgânica é condicionada por fatores físico-químicos do subsolo e também da natureza da matéria orgânica (QIAO et al., 2016).

Na natureza, muitas espécies de *Penicillium* são capazes de solubilizar fosfato, produzir sideróforos, cianeto de hidrogênio, amônia, e fitohormônios como o ácido indol acético e giberelinas que auxiliam a modular o crescimento e desenvolvimento de plantas (WHITELAW; HARDEN; BENDER, 1997; KHAN et al., 2015; YADAV et al., 2018).

Espécies de *Penicillium* apresentam importância industrial, ecológica e biotecnológica. As espécies de *Penicillium* produzem uma grande variedade de metabólitos secundários que podem ser usados como novos compostos bioativos e antibióticos (FRISVAD et al., 2004; ASHRAF et al., 2015). Além disso, algumas espécies sintetizam substâncias anticâncer, antimicrobianas e biorremediadoras de metais pesados ou metalóides em solos contaminados (JOURDA et al. 2016; CHAN et al. 2016; ZHANG et al. 2019). Espécies de *Penicillium* também podem ser patógenos oportunistas em plantas e animais, causando deterioração de alimentos e produzindo uma variedade de micotoxinas potentes, como ocratoxina A e patulina (PERRONE & SUSCA, 2017). Enzimas extracelulares, como celulasas, amilases e proteases são utilizadas em etapas na indústria têxtil, alimentícia e também em produtos sanitários (WANG et al., 2013; MEENA et al., 2018)

O efeito antibacteriano da penicilina foi descoberto por Alexander Fleming em 1929, após observar que um mofo esverdeado formou um halo de inibição de crescimento sob culturas bacterianas de *Staphylococcus*. A substância antimicrobiana recebeu o nome de penicilina, pois o fungo contaminante foi

identificado como *Penicillium notatum* (GAYNES, 2017). A penicilina age sob as cadeias de peptidoglicano recém-sintetizadas das bactérias, levando a perda de rigidez da parede celular e lise osmótica (HERNÁNDEZ-ROCAMORA et al., 2021). A penicilina é largamente utilizada no tratamento de infecções bacterianas de *Streptococcus*, *Meningococcus* e *Corynebacterium diphtheriae* (CHAIN et al., 1940; DOMINGO et al., 2019). A penicilina possibilitou a descoberta de outras biomoléculas com atividade antibacteriana, além de estimular pesquisas acerca da fisiologia dos fungos e o desenvolvimento de cepas geneticamente modificadas para produção de antibióticos (ASHRAF et al., 2015). Os fungos filamentosos são responsáveis por 22% dos quase 12.000 antibióticos que eram conhecidos até 1955. Houve 415.000 moléculas baseadas na penicilina que foram feitas por semissíntese ou por síntese total (DEMAIN & MARTENS, 2017). Por volta da década de 1990, 160 antibióticos estavam disponíveis no mercado (BROWN, 1996). O mercado financeiro em 2000 faturou 35 bilhões de dólares com a produção de penicilina e seus derivados (DEMAIN & MARTENS, 2017).

Os policeteídeos compreendem uma classe de compostos bioativos com atividade anticâncer, que são naturalmente produzidos por isolados de *Penicillium* (JOURDA et al., 2016). A compactina é um metabólito policeteídeo derivado do metabolismo de *P. solitum*, *P. hirsutum* e *P. citrinum* que inibe seletivamente a proliferação de células cancerígenas de leucemia mielóide aguda (FRISVAD; FILTENBORG, 1989; LARSEN et al., 2007; BLADT et al., 2013). Muitos isolados de *Penicillium* ainda não identificados em nível de espécie produzem metabólitos como penicicolina e fumagilina que inibem células cancerígenas do pulmão, e fudecadione A que combate o câncer de mama e fígado (INGBER et al., 1990; WANG et al., 2012; BLADT et al., 2013). As espécies *P. marinum*, *P. expansum*, *P. buchwaldii* e *P. rivulorum* produzem comuninas, um alcalóide natural policíclico que apresenta elevada atividade antitumoral em pacientes com leucemia (GE et al., 2008; SHAO et al., 2010)

A biorremediação baseada no uso de espécies de *Penicillium* é uma tecnologia promissora para o tratamento de solos e cursos d'água contaminados por metais pesados e hidrocarbonetos (ZAFAR; NADEEM; HANIF, 2007). A capacidade da maioria dos fungos de produzir enzimas extracelulares que degradam uma diversidade de materiais sem hidrólise prévia torna possível a degradação de uma ampla gama de poluentes (LEITÃO, 2009). A imobilização in

situ de metais pesados por remediação microbiana é mais ecológica e economicamente eficiente do que os métodos químicos convencionais (XU et al., 2015). *Penicillium chrysogenum* consegue tolerar altas concentrações de cádmio e mobilizar esse metal pesado em solos contaminados (XU et al., 2015). *Penicillium* spp. produzem enzimas peroxidases que quebram ligações carbono-hidrogênio que mantém os hidrocarbonetos unidos, desse modo, são empregados como biorremediadores de áreas contaminadas por petróleo (LEITÃO, 2009; ZEHRA et al., 2018)

Espécies de *Penicillium* são responsáveis pela destruição quando atuam como agentes patogênicos pré e pós-colheita, acelerando o apodrecimento dos alimentos e conseqüentemente acarretando em prejuízos à indústria de alimentos e ao setor agrícola (BAZIOLI et al., 2019). O bolor verde, causado por *Penicillium digitatum*, é a principal fonte de decomposição pós-colheita de frutas cítricas em todo o mundo (COSTA et al., 2019). Já *P. allii*, *P. hirsutum* e *P. viridicatum*, são as espécies patogênicas responsáveis pelas perdas na colheita de alho devido à podridão do bolor azul (VALDEZ et al., 2009) *Penicillium expansum* é uma espécie prevalente em podridões pós-colheita de maçãs e geram perdas estimadas entre 50-250 milhões de dólares a cada ano (LUCIANO-ROSÁRIO; KELLER; JURICK, 2020). Embora seja um grande problema econômico em maçãs, este patógeno de planta pode ocasionar a deterioração de pêras, morangos, tomates, milho e arroz (LUCIANO-ROSÁRIO, KELLER; JURICK, 2020; FELIZIANI & ROMANAZZI, 2016). A espécie também produz o metabólito carcinogênico patulina, uma neurotoxina prejudicial quando presente no suco de maçã e outros produtos derivados da fruta (SYDENHAM et al., 1995).

Penicillium roqueforti é um fungo saprofítico cosmopolita que é comumente usado na confecção de queijo Roquefort e de outras variedades de queijo azul (SAMSON; ECKARDT; ORTH, 1977). *P. roqueforti* possui baixa demanda de oxigênio e cresce vigorosamente em temperaturas baixas (4 °C), além de produzir enzimas proteolíticas e lipolíticas que atuam no amadurecimento do queijo (VALLONE; GIARDINI; SONCINI, 2014). A inoculação do leite com culturas puras de *P. roqueforti* é essencial para a obtenção dos sabores e aromas característicos desse queijo, devido à forte atividade lipolítica dos bolores e à produção de ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, butírico, caprílico e capróico) (CARON et al., 2021). Os ácidos graxos são oxidados e convertidos em metilcetona, que melhora

o sabor do queijo (CARON et al, 2021). Para queijos do tipo Coulommier e Camembert, o mofo branco, *P. camemberti*, é usado para dar um feltro branco na superfície do queijo. O bolor é adicionado ao queijo como uma suspensão de esporos na cuba ou pulverizado no final da fabricação do queijo (BAUQUIS et al., 2002; ROPARS et al., 2020).

Espécies de *Penicillium* produzem compostos com propriedades tensoativas utilizados na indústria farmacêutica e cosmética (NITSCHKE & SILVA, 2018). Esses compostos são conhecidos como biossurfactantes, apresentam natureza anfipática devido aos grupos funcionais hidrofílicos e lipofílicos presentes na molécula (GAUTAM et al., 2014). Por apresentarem essa flexibilidade molecular, os biossurfactantes são utilizadas em inúmeras aplicações (NITSCHKE & SILVA, 2018). As propriedades dos biossurfactantes são semelhantes às dos surfactantes sintéticos; possuem aplicações industriais em relação a detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade de formação de espuma, solubilidade e fases de dispersão (GUSAKOV; SINITSYN, 2012; NITSCHKE & SILVA, 2018; NIKOLOVA; GUTIERREZ, 2021). *Penicillium* spp. isolados de solos da Mata Atlântica produziram biossurfactante capaz de emulsinar o tolueno, hidrocarboneto aromático que é amplamente empregado como matéria-prima industrial e solvente (CELESTINO et al., 2014). Biossurfactantes encontrados em espécies de *Penicillium* apresentam algumas vantagens em relação aos surfactantes sintéticos, são biodegradáveis, atóxicos e apresentam maior eficácia em condições físico-químicas extremas (temperatura, pH e salinidade) (GAUTAM et al., 2014; CELESTINO et al., 2014).

Penicillium é um táxon relevante para bioprospecção de cepas ou novas espécies que produzem muitas substâncias de valor econômico, incluindo enzimas de interesse industrial, metabólitos com atividade farmacológica, e pigmentos naturais (DEMAIN & MARTENS, 2017). O gênero apresenta elevado potencial para bioprospecção de recursos genéticos e bioquímicos comercialmente valiosos para a economia e conservação. O acesso a biodiversidade do gênero permite conhecer novos reservatórios de recursos e características individuais ainda inexploradas.

2.3. Taxonomia

A Taxonomia é o ramo da biologia que tem como objetivo classificar, agrupar

e descrever os seres vivos. A taxonomia faz parte da prática científica conhecida como sistemática, que envolve as relações evolutivas entre os diferentes organismos. Possui um importante papel para a descrição da biodiversidade fúngica, pois permite conhecer o processo evolutivo das espécies que habitaram a Terra no passado bem como as atuais espécies viventes (KATOCH & KAPOOR, 2015; RAJA et al., 2017).

Os fungos são organismos eucarióticos, heterotróficos, unicelulares ou pluricelulares pertencentes ao Reino *Fungi*. Abrange uma enorme diversidade de táxons com ecologia, morfologia e estratégias de ciclo de vida variadas (KATOCH & KAPOOR, 2015). São divididos em 18 filos, 23 subfilos, 74 classes, 215 ordens, 731 famílias e 5377 gêneros (TEDERSOO et al., 2018). No entanto, pouco se sabe sobre a verdadeira biodiversidade do Reino *Fungi*, que foi estimado em cerca de 1,5 a 5,1 milhões de espécies e apenas 100,000 foram devidamente classificadas (JONES, 2013; RAJA et al., 2017).

Dentre os 5377 gêneros fúngicos, o gênero *Penicillium* foi e continua sendo constantemente classificado por taxonomistas. A taxonomia clássica do gênero *Penicillium* é baseada na observação de caracteres fenéticos das espécies (PITT, 1979). A morfologia possui um importante papel na caracterização de novas espécies de *Penicillium*. A morfologia é a arquitetura física na qual um organismo opera e se adapta ao seu ambiente, contudo, algumas características podem modificar ou sofrer interferência por sinais externos do ambiente (VISAGIE et al., 2014c). As colônias de *Penicillium* em sua maioria são formadas por micélio produzido em abundância e variam em tonalidades como verde, verde amarelado, laranja, verde azulado, oliva, verde-acinzentado, ou com menor frequência apresentam tons: incolor, branco, marrom, salmon, avermelhado, amarelo arroxeadado, além de outros tons. O reverso das colônias pode ser incolor, ou geralmente amarelo, verde, marrom, vermelho e laranja (FRISVAD & SAMSON, 2004). As colônias apresentam variação quanto a forma e geometria, sua aparência pode ser plana, côncava, convexa, crateriforme, elevada no centro, conter sulcos radiais, concêntricos ou irregulares (FRISVAD & SAMSON, 2004; VISAGIE et al 2014c). Algumas espécies de *Penicillium* produzem pigmentos solúveis e difusíveis em meios de cultura alterando a coloração do meio em torno da colônia. Algumas colônias ainda apresentam pequenas ou amplas gotas de exudato de diversas cores (RAPER & THOM, 1949; FRISVAD & SAMSON, 2004).

A caracterização morfofisiológica das espécies de *Penicillium* é avaliada em diferentes meios de cultura e condições de incubação que são estritamente padronizados para comparação a *posteriori* com a espécie filogeneticamente mais próxima (VISAGIE et al., 2014). As colônias são incubadas à 25 °C, entretanto o crescimento em temperaturas adicionais que variam de 5 à 37 °C permitem avaliar espécies que crescem apenas nessas faixas de temperatura ou que apresentam plasticidade fisiológica (RAPER & THOM, 1949; VISAGIE et al., 2014c). As espécies de *Penicillium* se desenvolvem consumindo uma grande diversidade de glicídios, álcoois e ácidos como única fonte de carbono. A trealose e o manitol, são substâncias frequentemente armazenados nas suas hifas e esporos (RAPER & THOM, 1949). Embora a taxa de crescimento de muitas espécies de *Penicillium* seja acelerada com o acréscimo de peptona, as espécies do gênero também crescem na presença de nitrato como única fonte de nitrogênio. Além dos elementos carbono e nitrogênio, outras fontes inorgânicas também são eventualmente mobilizadas. A maioria das espécies de gênero não necessitam de vitaminas complexas para promoção de seu crescimento (RAPER & THOM, 1949)

Meios de cultura específicos fornecem condições necessárias para o desenvolvimento de caracteres distintos, que por muitos anos foram utilizados como critério na separação de espécies (VISAGIE et al., 2014c). Dois meios de cultura são considerados padrões para o reconhecimento de espécies de *Penicillium*, o ágar de autolisado de levedura de Czapek (CYA) e o ágar extrato de malte (MEA), ambos fornecem valiosas informações sobre a taxa de crescimento, grau de esporulação, coloração e textura das colônias (PITT, 1991). A coloração bem como a textura da colônia são caracteres passíveis a mudanças ao decorrer do tempo, assim, a padronização dos métodos de avaliação dos caracteres morfológicos deve ser seguida com rigor (FRISVAD & SAMSON, 2004). Meios adicionais ou secundários são frequentemente usados pois fornecem maior variedade de caracteres para identificação (VISAGIE et al., 2014c). Os meios de cultura ágar de Czapeck (CZ) e o ágar de Blakeslee MEA (MEAbI) foram utilizados em muitas descrições de fungos por Raper & Thom (1949) e tradicionalmente ainda são utilizados na comparação de espécies. O ágar creatina-sacarose (CREA) é um meio de cultura de coloração roxa, que se torna amarelo ao redor das colônias após a produção de ácidos por algumas espécies, por ser uma característica fisiológica é fundamental na separação de espécies próximas (SAMSON et al., 2014). Os

meios de cultivo CYA com NaCl a 5% (CYAS) e ágar dicloran 18% de glicerol (DG-18) estimulam o crescimento de espécies que apresentam baixa atividade de água (FRISVAD & SAMSON, 2004; VISAGIE et al., 2014c). Já os meios de cultura ágar de sacarose e extrato de levedura (YES) e CYA são necessários para a produção de metabólitos secundários, denominados extrólitos (SAMSON et al., 2014). Em meio YES, as cores do reverso das colônias são particularmente bem pronunciadas (VISAGIE et al., 2014c). O ágar Czapek (CZ) é um meio quimicamente definido e pobre em nutrientes que favore o rápido crescimento micelial de algumas espécies que não requerem compostos orgânicos complexos (RAPER & THOM, 1949). O meio de cultura ágar de aveia (OA) estimula a rápida produção de estruturas sexuais como o cleistotécio em muitas espécies de *Penicillium* (VISAGIE et al., 2014).

Microscopicamente, as espécies do gênero possuem hifas septadas, anastomosadas e sem pigmento nas paredes (PITT, 1991). Os conidióforos surgem perpendicular ao substrato a partir de ramificações do micélio. A estrutura do conidióforo é composta por uma estipe que varia de estreita a larga, as paredes da estipe podem ser classificadas em lisa, espessa ou rugosa, levemente ou fortemente enrugada (PITT, 1991; FRISVAD & SAMSON, 2004). No ápice do estipe surgem as células conidiogênicas, denominadas fiálides. As fiálides podem surgir diretamente na estipe ou em células estéreis de suporte denominadas métulas e ramos. Algumas espécies apresentam o râmulo, uma ramificação adicional localizada entre a métula e o ramo. (ONIONS; BRADY, 1987; PITT, 1991) (Figura 2).

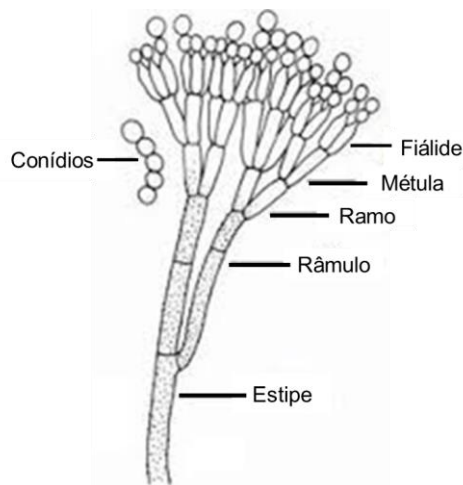


Figura 2. Nome dos componentes do conidióforo de *Penicillium*.

As fiálides são as células responsáveis pela produção de conídios. Em *Penicillium* os conídios são formados em cadeia de forma basípeta, ou seja, o conídio mais velho ocupa o topo da cadeia a medida que os mais novos encontram-se ligados as fiálides na base (RAPER; THOM, 1949). A forma das fiálides se assemelha a uma âmpola ou garrafa que se estreita no ápice, esse estreitamento é denominado “collula”. Em *P. digitatum*, *P. ulaiense* e *P. italicum*, a forma cilíndrica é mais pronunciada e as fiálides são mais alongadas. Em *P. griseofulvum* e *P. dipodomycicola* as fiálides são tipicamente curtas (FRISVAD & SAMSON, 2004)

Os conídios são estruturas assexuadas unicelulares com um único núcleo, hialinos e pequenos. As formas variam de globosa, subglobosa, elipsóide, e cilíndrica. De acordo com a espécie, a parede pode ser lisa, rugosa, fortemente rugosa ou espiculada. Algumas espécies de *Penicillium* produzem esclerócio, uma estrutura multicelular de resistência formada por um emaranhado de hifas, que permanece latente por longos períodos até as condições do meio tornarem-se favoráveis ao seu desenvolvimento (FRISVAD & SAMSON, 2004).

O padrão de ramificação dos conidióforos foi por muito tempo um importante carácter para classificação subgenérica de *Penicillium* (PITT, 1979). Essas estruturas podem apresentar padrões simples ou complexos, com uma variedade de estágios de ramificações simétricos ou assimétricos. Para classificação, os ramos dos conidióforos devem ser contados de cima para baixo, levando em consideração o tipo de conidióforo predominante (ONIONS; BRADY, 1987). De acordo com os padrões de ramificação, os conidióforos são classificados em: fiálides solitárias, monoverticilados, biverticilados, divaricados, terverticilados e quaterverticilados (Figura 3) (PITT, 1979). As fiálides solitárias são conidióforos que surgem diretamente da hifa vegetativa ou de uma curta métula (Figura 3A) (VISAGIE et al., 2014). De acordo com PITT (1979), os conidióforos monoverticilados possuem apenas um verticilo terminal de fiálides em seu ápice (Figura 3B), e em alguns casos, a célula terminal do conidióforo se expande em forma de vesícula. Os conidióforos biverticilados apresentam dois verticilos no ápice, um conjunto de duas ou mais métulas entre o final da estirpe e as fiálides (Figura 3C). As métulas de um mesmo conidióforo podem apresentar comprimento distinto e forma variada (vesiculada a clavada). Os conidióforos divaricados também são conhecidos como irregulares e apresentam um padrão de ramificação

simples a complexo, com métulas e ramos subterminais de tamanho divergente em relação ao eixo do conidióforo (Figura 3D). Os conidióforos terverticilados possuem outro nível de ramificação entre a estipe e as metúlas denominado ramo (Figura 3E). Enquanto os conidióforos quaterverticilados são produzidos por poucas espécies e apresentam dois níveis de ramificação entre o ápice da estirpe, métulas e fiáldes (Figura 3F) (PITT, 1979).

A textura das colônias é determinada pela disposição dos conidióforos sob o meio de cultura. Segundo Raper & Thom (1949), as texturas podem variar de flocosa, velutinosa, fasciculada e sinematosa. Colônias com textura flocosa possuem uma massa felpuda de hifas ramificadas e entrelaçadas com micélio aéreo flocoso acima do meio de cultura. Na textura velutinosa os conidióforos são produzidos individualmente e formam uma camada densa e uniforme que dão as colônias aspecto aveludado. A textura fasciculada ocorre quando os conidóforos surgem em um feixe vertical e paralelo, são agrupados formando pequenos tufos, sendo encontrados principalmente na borda das colônias (RAPER & THOM, 1949). As colônias com textura sinematosa raramente são encontradas em espécies de *Penicillium* e são caracterizados por possuírem conidióforos com um talo e uma cabeça bem definidos, encontrados principalmente nas espécies *P. vulpinum*, *P. clavigerum*, *P. coprobium* e *P. formosanum* (FRISVAD; SAMSON, 2004).

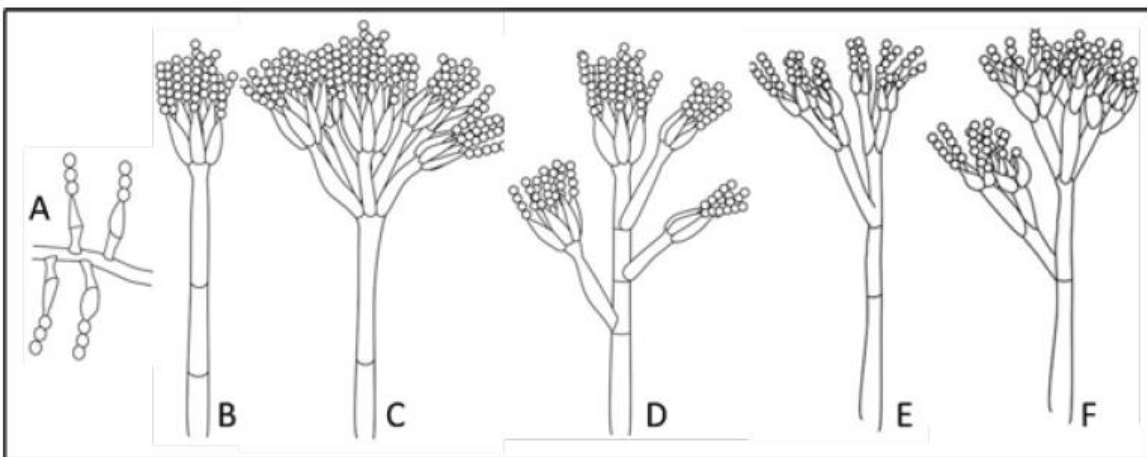


Figura 3. Padrões de ramificação de conidióforos em *Penicillium*. A. Conidióforos com fiáldes solitárias. B. Monovertecilado. C. Bivertecilado. D. Divaricado. E. Terverticilado. F. Quaterverticilado.

As espécies sexuais e assexuadas em fungos eram tradicionalmente

nomeadas e identificadas separadamente sob o conceito de nomenclatura dupla. Com o advento do sequenciamento de DNA e a capacidade de combinar formas sexuais e assexuadas por meio de dados de sequência, essa abordagem não era mais necessária e a nomenclatura dupla foi substituída pelo conceito de "um fungo, um nome" (TAYLOR, 2011; LÜCKING et al., 2020). O uso de dados moleculares na taxonomia mostrou ser uma poderosa ferramenta na identificação de espécies de *Penicillium* (SKOUBOE et al., 1999; HOUBRAKEN & SAMSON, 2011; SCHOCH et al., 2012). A partir da década de 1990, o sequenciamento do DNA possibilitou aos taxonomistas inferir relações entre as espécies sem a necessidade de padronização de métodos de cultivo de crescimento (VISAGIE et al., 2014c). O uso de sequências de DNA para identificar as espécies fúngicas é uma ferramenta que apresenta maior acuracidade, pois permite analisar a mudança das características genéticas nas populações ao longo do tempo a partir da distância evolutiva entre duas ou mais sequências (XU, 2016). Outra vantagem é o grande número de caracteres analisados: enquanto as matrizes de fenótipo podem, na melhor das hipóteses, conter algumas centenas de caracteres, os dados de sequência variam de várias centenas (marcador único) a milhares (multilocus) de sítios (LÜCKING et al., 2020). Assim, a identificação de espécies baseada em uma sequência curta de DNA foi amplamente consolidada entre os taxonomistas.

A região ITS é considerada como *barcode* oficial para identificação de *Penicillium* e de outros gêneros fúngicos (SCHOCH et al., 2012). A região ITS faz parte do óperon dos RNAs ribossomais, estrutura relacionada com a transcrição e síntese protéica, processos conservados em todos os seres vivos. O gene do RNAr 5.8S é separado dos genes dos RNAr 18S e 28S pelas sequências espaçadoras internas 1 e 2, respectivamente (*Internal Transcribed Sequence* - ITS1 e ITS2) (XU, 2016). Os marcadores moleculares são sequências de nucleotídeos que revelam polimorfismos entre indivíduos geneticamente relacionados (LÜCKING et al., 2020). Apesar da região ITS ter servido como alicerce para resolver muitos dos problemas da classificação e taxonomia de *Penicillium*, atualmente muitos estudos apontam que a região não é variável o suficiente para distinguir todas as espécies intimamente relacionadas (SKOUBOE et al., 1999; SEIFERT et al., 2007; SCHOCH et al., 2012) Porém, o marcador molecular funciona bem para colocar isolados em um complexo de espécies ou em uma das 32 seções do gênero e, às vezes, fornece identificação a nível de espécie. (HOUBRAKEN et al., 2020; VISAGIE et al., 2014a).

Devido as limitações de resolução da região ITS para distinção das espécies dentro de *Penicillium*, um marcador secundário de identificação é recomendado para identificar isolados a nível de espécie (VISAGIE et al., 2014). Os marcadores secundários que melhor refletem a genealogia do grupo e que apresentam potencial de discriminar com acuracidade as espécies de *Penicillium* incluem as regiões dos genes da β -tubulina (*BenA*), calmodulina (*CaM*) e da segunda subunidade maior da RNA polimerase II (*RPB2*) (TAYLOR et al., 2000; SAMSON et al., 2014).

Os genes da β -tubulina codificam as proteínas que constituem os microtúbulos, estruturas responsáveis pela formação do citoesqueleto celular. Executam diferentes funções nas células eucarióticas como transporte citoplasmático, motilidade e divisão celular (DUMONTET, 1999). As sequências de *BenA* na maioria dos casos são fáceis de amplificar e possuem resolução suficiente para distinguir espécies próximas (RIVERA et al., 2012; VISAGIE et al., 2014b; HOUBRAKEN et al., 2012). Outra vantagem é que o conjunto de dados de referência para o gene é atualizado e representativo para a maioria das espécies, garantindo maior robustez na estimativa e análise de parentesco entre os organismos (VISAGIE et al., 2014c).

Outras opções de marcadores secundários possíveis incluem *CaM* e *RPB2*. Ambos os genes têm poder discriminatório semelhante ao *BenA* (VISAGIE et al., 2014c). Os éxons 2 e 5 do gene da calmodulina são altamente conservados e, portanto, ótimos locais para a ligação de *primers*, enquanto os íntrons entre os éxons servem como a principal fonte de variação da sequência (WANG; ZHUANG, 2007). Como resultado, as sequências que contém éxons e íntrons fornecem variações em diferentes níveis para a delimitação de espécies (WANG; ZHUANG, 2007; TSANG et al., 2018). Já o gene *RPB2* tem a vantagem adicional de não ter íntrons, permitindo alinhamentos robustos e fáceis quando usado para filogenias, mas às vezes é laborioso de amplificar e o banco de dados com sequências disponíveis ainda está incompleto para muitas espécies (VISAGIE et al., 2014c)

Atualmente, a taxonomia de *Penicillium* dá ênfase a uma abordagem genealógica, integrando filogenias de genes únicos ou multi-genes concatenados que refletem concordância genealógica (LÜCKING et al., 2020). Com intuito de integrar diferentes conjuntos de dados para delimitação de espécies, a abordagem polifásica foi proposta como análise padrão para identificação de novas espécies

(SAMSON et al., 2014). As análises filogenéticas permitem avaliar com melhor exatidão a descontinuidade dos caracteres hereditários entre as espécies, enquanto os caracteres fenotípicos são postos a *posteriori* em um contexto evolutivo, sendo empregados para caracterização das espécies (LÜCKING et al., 2020; HOUBRAKEN et al., 2020).

REFERÊNCIAS

AMORIM, P. K.; BATALHA, M. A. Soil characteristics of a hyperseasonal cerrado compared to a seasonal cerrado and a floodplain grassland: implications for plant community structure. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 661-670, 2006.

ACHARYA, S.; CHAUDHARY, A. Bioprospecting thermophiles for cellulase production: a review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 844-856, 2012.

ASHRAF, Z.; BAIS, A.; MANIR, M. M.; NIAZI, U. Novel penicillin analogues as potential antimicrobial agents; Design, synthesis and docking studies. **PloS one**, v. 10, n. 8, p. e0135293, 2015.

AZZAZ, H. H.; MURAD, H. A.; KHOLIF, A. M.; HANFY, M. A.; GAWAD, M. A. Optimization of culture conditions affecting fungal cellulase production. **Research Journal of Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 23, 2012.

BARBOSA, R. N.; BEZERRA, J. D.; SOUZA-MOTTA, C. M.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A.; OLIVEIRA, N. T.; HOUBRAKEN, J. New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and nests of stingless bees. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 111, n. 10, p. 1883-1912, 2018.

BAZIOLI, J. M.; BELINATO, J. R.; COSTA, J. H.; AKIYAMA, D. Y.; PONTES, J. G. D. M.; KUPPER, K. C.; FILL, T. P. Biological control of citrus postharvest phytopathogens. **Toxins**, v. 11, n. 8, p. 460, 2019.

BAUQUIS, A. C.; RAYNAUD, V.; LE TUAL, A. G.; EPPERT, I.; BERCETCHE, J. C.; ROUSTAN, G. Appearance and flavour of traditional mould ripened soft cheese influenced by selected combinations of primary and secondary cultures. **Sciences des Aliments (France)**, 2002.

BENJAMIN, C. R. Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium*. **Mycologia**, v. 47, n. 5, p. 669-687, 1955.

BLADT, T. T.; FRISVAD, J. C.; KNUDSEN, P. B.; LARSEN, T. O. Anticancer and antifungal compounds from *Aspergillus*, *Penicillium* and other filamentous fungi. **Molecules**, v. 18, n. 9, p. 11338-11376, 2013.

BOZZINI, A. C. Do verde às cinzas: análise das normas jurídico-ambientais que regulamentam a exploração de madeira do bioma cerrado para a produção de carvão. **Holos Environment**, v. 3, n. 1, p. 1-14, 2003.

BREFELD, O. **Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. heft 2: Die Entwicklungsgeschichte von *Penicillium***. Felix, 1874.

BROWN, K. S. Pharmaceutical and biotech firms taking on drug-resistant microbes. **The Scientist**, v. 10, p. 8-9, 1996.

BIOURGE, P. Les moisissures du groupe *Penicillium* Link. **Cellule**, v. 33, p. 7–331, 1923.

BUOL, S. W. Soils and agriculture in central-west and north Brazil. **Scientia Agricola**, v. 66, p. 697-707, 2009.

BUSTAMANTE, M. M. C.; NARDOTO, G. B.; PINTO, A. D. S.; RESENDE, J. C. F.; TAKAHASHI, F. S. C.; VIEIRA, L. C. G. Potential impacts of climate change on biogeochemical functioning of Cerrado ecosystems. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, p. 655-671, 2012.

CASTRO, A. A. J. F.; MARTINS, F. R.; TAMASHIRO, J. Y.; SHEPHERD, G. J. How rich is the flora of Brazilian cerrados? **Annals of the Missouri Botanical Garden**, p. 192-224, 1999.

CARON, T.; PIVER, M. L.; PÉRON, A. C.; LIEBEN, P.; LAVIGNE, R.; BRUNEL, S.; CHASSARD, C. Strong effect of *Penicillium roqueforti* populations on volatile and metabolic compounds responsible for aromas, flavor and texture in blue cheeses. **International Journal of Food Microbiology**, p. 109174, 2021.

CELESTINO, R. J.; DE CARVALHO, L. E.; DA PAZ LIMA, M.; LIMA, A. M.; OGUSKU, M. M.; DE SOUZA, J. V. B. Bioprospecting of Amazon soil fungi with the potential for pigment production. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 4, p. 569-575, 2014.

CHAIN, E.; FLOREY, H. W.; GARDNER, A. D.; HEATLEY, N. G.; JENNINGS, M. A., ORR-EWING, J.; SANDERS, A. G. *Penicillin* as a chemotherapeutic agent. **The lancet**, v. 236, n. 6104, p. 226-228, 1940.

CHAN, W. K.; WILDEBOER, D.; GARELICK, H.; PURCHASE, D. Mycoremediation of heavy metal/metalloid-contaminated soil: current understanding and future prospects. In: **Fungal applications in sustainable environmental biotechnology**. Springer, Cham, 2016. p. 249-272.

CHOI, D. H.; YOU, Y. H.; LEE, I. S.; HONG, S. B.; JUNG, T. Y.; KIM, J. G. *Penicillium ulleungdoense* sp. nov. from Ulleung Island in Korea. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 46-53, 2021.

COLLI, G. R.; BASTOS, R. P.; ARAUJO, A. F. B. 12. The character and dynamics of the cerrado herpetofauna. In: **The Cerrados of Brazil**. Columbia University Press, 2002. p. 223-241.

COLLI, G. R.; VIEIRA, C. R.; DIANESE, J. C. Biodiversity and conservation of the

Cerrado: recent advances and old challenges. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, n. 5, p. 1465-1475, 2020.

COUTINHO, L. M. O conceito de bioma. **Acta botanica brasílica**, v. 20, p. 13-23, 2006.

COSTA, J. H.; BAZIOLI, J. M.; DE MORAES, J. G. P.; FILL, T. P. *Penicillium digitatum* infection mechanisms in citrus: What do we know so far? **Fungal biology**, v. 123, n. 8, p. 584-593, 2019.

DE ARAUJO, A. S. F.; BEZERRA, W. M.; DOS SANTOS, V. M.; NUNES, L. A. P. L.; FIGUEIREDO, M. D. V. B.; & MELO, V. M. M. Fungal diversity in soils across a gradient of preserved Brazilian Cerrado. **Journal of Microbiology**, v. 55, n. 4, p. 273-279, 2017.

DE CASTRO, A. P.; QUIRINO, B. F.; PAPPAS, G.; KUROKAWA, A. S.; NETO, E. L.; KRÜGER, R. H. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields. **Archives of Microbiology**, v. 190, n. 2, p. 129-139, 2008.

DE CASTRO, A. P.; SILVA, S. M. R. S.; QUIRINO, B. F.; BUSTAMANTE, C. M. M.; KRÜGER, R. H. Microbial diversity in Cerrado biome (neotropical savanna) soils. **PLoS One**, v. 11, n. 2, p. e0148785, 2016.

DEMAIN, L.; MARTENS, E. Production of valuable compounds by molds and yeasts. **The Journal of antibiotics**, v. 70, n. 4, p. 347-360, 2017.

DOMINGO, P.; POMAR, V.; MAURI, A.; BARQUET, N. Standing on the shoulders of giants: two centuries of struggle against meningococcal disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 8, p. e284-e294, 2019.

DIERCKX, R. P. Un essai de revision du genre *Penicillium* Link. In: **Annales de la Société Scientifique Bruxelles**, p. 83-89, 1901.

DUMONTET, C.; DURÁN, G. E.; STEGER, K. A.; MURPHY, G. L.; SUSSMAN, H. H.; SIKIC, B. I. Differential expression of tubulin isoforms during the cell cycle. **Cell motility and the cytoskeleton**, v. 35, n. 1, p. 49-58, 1996.

EITEN, G. The cerrado vegetation of Brazil. **The Botanical Review**, v. 38, n. 2, p. 201-341, 1972.

ENGELN, B.; MEINKEN, K.; VON WINTZINGERODE, F.; HEUER, H.; MALKOMES, H. P.; BACKHAUS, H. Monitoring impact of a pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprinting in addition to conventional testing procedures. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 8, p. 2814-2821, 1998.

FELIZIANI, E.; ROMANAZZI, G. Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology, and disease management. **Journal of Berry Research**, v. 6, n. 1, p. 47-63, 2016.

FRANÇOSO, R. D.; BRANDÃO, R.; NOGUEIRA, C. C.; SALMONA, Y. B.; MACHADO, R. B.; COLLI, G. R. Habitat loss and the effectiveness of protected areas in the cerrado biodiversity hotspot. **Natureza & Conservação**, v. 13, n. 1, p. 35-40, 2015.

FRĄC, M.; HANNULA, S. E.; BEŁKA, M.; JEĐRYCZKA, M. Fungal biodiversity and their role in soil health. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 707, 2018.

FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. Terverticillate penicillia: chemotaxonomy and mycotoxin production. **Mycologia**, v. 81, n. 6, p. 837-861, 1989.

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**, v. 49, n. 1, p. 1-174, 2004.

FURLEY, P. A.; RATTER, J. A.; GIFFORD, D. R. Observations on the vegetation of eastern Mato Grosso, Brazil. III. The woody vegetation and soils of the Morro de Fumaça, Torixoreu. **Proceedings of the Royal society of London. Series B. Biological sciences**, v. 235, n. 1280, p. 259-280, 1988.

GARCIA, W. M.; ZAGO, B. W.; DA SILVA NUNES, J. R.; DE CARVALHO, Í. F. Diversity of filamentous fungi in cerrado soil under native vegetation. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 4, 2015.

GAUTAM, G.; MISHRA, V.; VERMA, P.; PANDEY, A. K.; NEGI, S. A cost effective strategy for production of bio-surfactant from locally isolated *Penicillium chrysogenum* SNP5 and its applications. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 4, n. 6, p. 1, 2014.

GAYNES, R. The discovery of penicillin – new insights after more than 75 years of clinical use. **Emerging infectious diseases**, v. 23, n. 5, p. 849, 2017.

GE, H. M.; SHEN, Y.; ZHU, C. H.; TAN, S. H.; DING, H.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. Penicidones A–C, three cytotoxic alkaloidal metabolites of an endophytic *Penicillium* sp. **Phytochemistry**, v. 69, n. 2, p. 571-576, 2008.

GUSAKOV, A. V.; SINITSYN, A. P. Cellulases from *Penicillium* species for producing fuels from biomass. **Biofuels**, v. 3, n. 4, p. 463-477, 2012.

HOUBRAKEN, J.; KOCSUBÉ, S.; VISAGIE, C. M.; YILMAZ, N.; WANG, X. C.; MEIJER, M.; FRISVAD, J. C. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Studies in mycology**, v. 95, p. 5-169, 2020.

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

HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; SEIFERT, K. A.; OVERY, D. P.; TUTHILL, D.

M.; VALDEZ, J. G.; SAMSON, R. A. New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section *Chrysogena*. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 29, p. 78, 2012.

HENRIQUES, R. P. B. Influência da história, solo e fogo na distribuição e dinâmica das fitofisionomias no bioma do Cerrado. **Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação (JC Souza Silva & JM Felfili, eds.)**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, p. 73-92, 2005.

HERNÁNDEZ-ROCAMORA, V. M.; V. M., BARANOVA, N.; PETERS, K.; BREUKINK, E.; LOOSE, M.; VOLLMER, W. Real-time monitoring of peptidoglycan synthesis by membrane-reconstituted penicillin-binding proteins. **Elife**, v. 10, p. e61525, 2021.

HIETZ, P. T; TURNER, B. L; WANEK, W; RICHTER, A; NOCK, C; WRIGHT, S. J. A. Long-term change in the nitrogen cycle of tropical forests. **Science**, v. 334, n. 6056, p. 664-666, 2011.

HÖLKER, U.; HÖFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 64, n. 2, p. 175-186, 2004.

IUCN. IUCN red list of threatened species. Version 2013.2. 2013.

JOHNSEN, K.; JACOBSEN, C. S.; TORSVIK, V.; SØRENSEN, J. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils—a review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 33, n. 6, p. 443-453, 2001.

JONES, N. Planetary disasters: It could happen one night. *Nature*, v. 493, p.154–156. 2013.

JOUDA, J. B.; MAWABO, I. K.; NOTEDJI, A.; MBAZOA, C. D.; NKENFOU, J.; WANDJI, J.; NKENFOU, C. N. Anti-mycobacterial activity of polyketides from *Penicillium* sp. endophyte isolated from *Garcinia nobilis* against *Mycobacteriumsmegmatis*. **International journal of mycobacteriology**, v. 5, n. 2, p. 192-196, 2016.

JOUTEY, N. T; BAHAFID, W.; SAYEL, H.; EL GHACHTOULI, N. Biodegradation: involved microorganisms and genetically engineered microorganisms. **Biodegradation-life of science**, v. 1, p. 289-320, 2013.

KATOCH, A.; KAPOOR, P. Recent concepts in fungal taxonomy: a review. Research and Reviews: **Journal of Agriculture and Allied Sciences**, v. 3, p. 23-35, 2014.

KHAN, A. L.; WAQAS, M.; HUSSAIN, J.; AL-HARRASI, A.; HAMAYUN, M.; LEE, I. J. Phytohormones enabled endophytic fungal symbiosis improve aluminum phytoextraction in tolerant *Solanum lycopersicum*: An example of *Penicillium janthinellum* LK5 and comparison with exogenous GA3. **Journal of hazardous materials**, v. 295, p. 70-78, 2015.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian cerrado. **Conservation biology**, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

LINK, H. F. Observationes in ordines plantarum naturales. **Ges Naturf Freunde Berlin Mag Neuesten Entdeck Gesammten Naturk**, v. 3, n. 1, p. 3–42. 1809.

LARSEN, T. O. L.; SCHNORR, K.; STENDER, S.; FRISVAD, J. Solistatinol, a novel phenolic compactin analogue from *Penicillium solitum*. **Tetrahedron Letters**, v. 48, n. 7, p. 1261-1264, 2007.

LOPES, A. S. Soils under Cerrado: a success story in soil management. **Better Crops International**, v. 10, n. 2, p. 10, 1996.

LOPES, A. S.; COX, F. R. Cerrado Vegetation in Brazil: An Edaphic Gradient 1. **Agronomy Journal**, v. 69, n. 5, p. 828-831, 1977.

LEHMANN, C. E. R.; ANDERSON, T. M.; SANKARAN, M.; HIGGINS, S. I.; ARCHIBALD, S.; HOFFMANN, W. A.; BOND, W. J Savanna vegetation-fire-climate relationships differ among continents. **Science**, v. 343, n. 6170, p. 548-552, 2014.

LEITÃO, A. L. Potential of *Penicillium* species in the bioremediation field. **International journal of environmental research and public health**, v. 6, n. 4, p. 1393-1417, 2009.

LUCIANO-ROSARIO, D.; KELLER, N. P.; JURICK, W. M. *Penicillium expansum*: Biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mould of pome fruit. **Molecular Plant Pathology**, v. 21, n. 11, p. 1391-1404, 2020.

LÜCKING, R. AIME, M. C.; ROBBERTSE, B.; MILLER, A. N.; ARIYAWANSA, H. A.; AOKI, T.; SCHOCH, C. L. Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding? **IMA fungus**, v. 11, n. 1, p. 1-32, 2020.

LUDWIG, F. *Eupenicillium*. **Lehrbuch der niederen Krypogamen**. Stuttgart, 1892.

MACHOLZ, R. Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components, Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. v. 40. 444 Seiten. WHO, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1986.

MARINHO-FILHO, J. S.; RODRIGUES, F. H. G.; JUAREZ, K. M. The Cerrado mammals: diversity, ecology and natural history, p. 266-284. **The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna (PS Oliveira e RJ Marquis, eds.)**. Columbia University Press, New York, EUA, 2002.

MARTINS, L. P.; ARAUJO, E. D. C.; MARTINS, A. R. P.; COLINS, M. S.; ALMEIDA, G. C. F.; AZEVEDO, G. G. Butterflies of amazon and cerrado remnants of Maranhão, Northeast Brazil. **Biota Neotropica**, v. 17, p. 3-17, 2017.

- MONTEIRO, M.C.P.; PASSAMANI, F. R. F.; TERRA, M. F.; SILVA, D. M.; CIRILLO, M. A.; BATISTA, L. R. Soilborne fungi of the *Aspergillus* and *Penicillium* genera in a preserved region of the Brazilian Cerrado biome, **Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 1, p. 14-22, 2016.
- MAYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.
- NEWSHAM, K. K.; FITTER, A. H.; WATKINSON, A. R. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 10, n. 10, p. 407-411, 1995.
- NITSCHKE, M.; SILVA, S. S. E. Recent food applications of microbial surfactants. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 4, p. 631-638, 2018.
- PERRONE, G.; SUSCA, A. *Penicillium* species and their associated mycotoxins. **Mycotoxigenic fungi**, v. 1, p. 107-119, 2017.
- NIKOLOVA, C.; GUTIERREZ, T. Biosurfactants and their applications in the oil and gas industry: current state of knowledge and future perspectives. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, 2021.
- ONIONS, A. H. S.; BRADY, B. L. Taxonomy of *Penicillium* and *Acremonium*. In: **Penicillium and Acremonium**. Springer, Boston, MA, 1987. p. 1-36.
- PITT, J. I. A laboratory guide to common *Penicillium* species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. **Food Research Laboratory. NSW, Australia**, 1991.
- PITT, J. I. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. London: Academic Press; 1979.
- PITT, JOHN I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. New York: Springer, 2009.
- PROCÓPIO, L. Changes in microbial community in the presence of oil and chemical dispersant and their effects on the corrosion of API 5L steel coupons in a marine-simulated microcosm. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 6397-6411, 2020.
- PROCÓPIO, L.; BARRETO, C. The soil microbiomes of the Brazilian Cerrado. **Journal of Soils and Sediments**, v. 21, p. 2327-2342, 2021.
- PIRES, C. S. S.; SILVEIRA, F. A.; CARDOSO, C. F.; SUJII, E. R.; PAULA, D. P.; FONTES, E. M. G.; ANDOW, D. A. Selection of bee species for environmental risk assessment of GM cotton in the Brazilian Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 573-586, 2014.

QIAO, N.; XU, X.; HU, Y.; BLAGODATSKAYA, E.; LIU, Y.; SCHAEFER, D.; KUZUYAKOV, Y. Carbon and nitrogen additions induce distinct priming effects along an organic-matter decay continuum. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.

KANASHIRO, A. M.; AKIYAMA, D. Y.; KUPPER, K. C.; & FILL, T. P. *Penicillium italicum*: an underexplored postharvest pathogen. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, 2020.

RAJA, H. A.; MILLER, A. N.; PEARCE, C. J.; OBERLIES, N. H. Fungal identification using molecular tools: A primer for the natural products research community. **Journal of Natural Products**, v. 80 n. 3, p. 756-770, 2017.

RAMIREZ, C. Manual and atlas of the *Penicillia*. **Elsevier Biomedical Press**. Amsterdam, 1982.

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. Analysis of the floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Edinburgh journal of botany**, v. 60, n. 1, p. 57-109, 2003.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of botany**, v. 80, n. 3, p. 223-230, 1997.

RAPER, K. B. Nomenclature in *Aspergillus* and *Penicillium*. **Mycologia**, v. 49, n. 5, p. 644-662, 1957.

RAPER, K. B.; THOM, C. A manual of the *Penicillia*. **A manual of the *Penicillia***, 1949.7

RAVEENDRAN, S.; PARAMESWARAN, B.; BEEVI UMMALYMA, S.; ABRAHAM, A.; KURUVILLA MATHEW, A.; MADHAVAN, A.; PANDEY, A. Applications of microbial enzymes in food industry. **Food technology and biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 16-30, 2018.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. **Cerrado: ecologia e flora**, v. 1, p. 151-212, 2008.

RIVERA, K. G.; DÍAZ, J.; CHAVARRÍA-DÍAZ, F.; GARCIA, M.; URB, M.; THORN, R. G.; SEIFERT, K. A. *Penicillium mallochii* and *P. guanacastense*, two new species isolated from Costa Rican caterpillars. **Mycotaxon**, v. 119, n. 1, p. 315-328, 2012.

RODRÍGUEZ-ANDRADE, E.; STCHIGEL, A. M.; CANO-LIRA, J. F. New xerophilic species of *Penicillium* from soil. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 126, 2021.

ROPARS, J.; DIDOT, E.; DE LA VEGA, R. C. R.; BENNETOT, B.; COTON, M.; POIRIER, E.; GIRAUD, T. Domestication of the emblematic white cheese-making fungus *Penicillium camemberti* and its diversification into two varieties. **Current Biology**, v. 30, n. 22, p. 4441-4453, 2020.

RUGGIERO, P. G. C.; PIVELLO, V. R.; SPAROVEK, G.; TERAMOTO, E.; PIRES

NETO, A. G. Relação entre solo, vegetação e topografia em área de cerrado (Parque Estadual de Vassununga, SP): como se expressa em mapeamentos? **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 383-394, 2006.

SAMSON, R. A.; VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J.; HONG, S. B.; HUBKA, V.; KLAASSEN, C. H.; FRISVAD, J. C. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in mycology**, v. 78, p. 141-173, 2014.

SANO, S. M.; DE ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008.

SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; HUHDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J. L.; LEVESQUE, C. A. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SEIFERT, K. A.; SAMSON, R. A.; DEWAARD, J. R.; HOUBRAKEN, J.; LÉVESQUE, C. A.; MONCALVO, J. M.; HEBERT, P. D. Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 10, p. 3901-3906, 2007.

SHAO, C. L.; WANG, C. Y.; GU, Y. C.; WEI, M. Y.; PAN, J. H.; DENG, D. S.; LIN, Y. C. Penicoline, a new pyrrolyl 4-quinolinone alkaloid with an unprecedented ring system from an endophytic fungus *Penicillium* sp. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 20, n. 11, p. 3284-3286, 2010.

SHARY, S.; RALPH, S. A.; HAMMEL, K. E. New insights into the ligninolytic capability of a wood decay ascomycete. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 20, p. 6691-6694, 2007.

SKOUBOE, P.; FRISVAD, J. C., TAYLOR, J. W., LAURITSEN, D., BOYSEN, M., & ROSSEN, L. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species. *Mycological Research*, v. 103, n. 7, p. 873-881, 1999.

SMIT, E.; LEEFLANG, P.; GLANDORF, B.; DIRK VAN ELSAS, J.; WERNARS, K. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNA and temperature gradient gel electrophoresis. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 6, p. 2614-2621, 1999.

SILVA, J. M. C. Endemic bird species and conservation in the Cerrado Region, South America. **Biodiversity & Conservation**, v. 6, p. 435-450, 1997.

STOLK, A. C.; SAMSON, R. A. The genus *Talaromyces*. Studies on *Talaromyces* and related genera II. **Studies in Mycology**, v. 2, p. 1-65, 1972.

STRASSBURG, B. B. N.; BROOKS, T.; FELTRAN-BARBIERI, R.; IRIBARREM, A.; CROUZEILLES, R.; LOYOLA, R.; BALMFORD, A. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 4, p. 1-3, 2017.

SYDENHAM, E. W.; VISMER, H. F.; MARASAS, W. F.; BROWN, N.; SCHLECHTER, M.; VAN DER WESTHUIZEN, L.; & RHEEDER, J. P. Reduction of patulin in apple juice samples—influence of initial processing. **Food Control**, v. 6, n. 4, p. 195-200, 1995.

TAYLOR, J. W. One fungus= one name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR. **IMA fungus**, v. 2, n. 2, p. 113-120, 2011.

TAYLOR, JOHN W.; JACOBSON, D. J.; KROKEN, S.; KASUGA, T.; GEISER, D. M.; HIBBETT, D. S.; FISHER, M. C. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. **Fungal genetics and biology**, v. 31, n. 1, p. 21-32, 2000.

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

THOM, C.; CHURCH, M. B.; MAY, O. E.; RAINES, M. A. **The penicillia**. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 1-644, 1930.

THOM, C. The evolution of species concepts in *Aspergillus* and *Penicillium*. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 60, n. 1, p. 24-34, 1954.

THOM, C. Fungi in cheese ripening: Camembert and Roquefort. U.S. **Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry** – Bulletin, v. 82, p. 1–39, 1906.

TSANG, C. C.; TANG, J. Y.; LAU, S. K.; WOO, P. C. Taxonomy and evolution of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* in the omics era—Past, present and future. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 16, p. 197-210, 2018.

VALDEZ, J.; MAKUCH, M. A.; ORDOVINI, A. F.; FRISVAD, J. C.; OVERY, D. P.; MASUELLI, R. W.; PICCOLO, R. J. Identification, pathogenicity and distribution of *Penicillium* spp. isolated from garlic in two regions in Argentina. **Plant pathology**, v. 58, n. 2, p. 352-361, 2009.

VALENTINI, C. M. A.; SANCHES, L.; DE PAULA, S. R.; VOURLITIS, G. L.; DE SOUZA NOGUEIRA, J.; PINTO, O. B.; DE ALMEIDA L. Soil respiration and aboveground litter dynamics of a tropical transitional forest in northwest Mato Grosso, Brazil. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 113, n. 1, 2008.

VALDUJO, P. H.; SILVANO, D. L.; COLLI, G.; MARTINS, M. Anuran species composition and distribution patterns in Brazilian Cerrado, a Neotropical hotspot. **South American Journal of Herpetology**, v. 7, n. 2, p. 63-78, 2012.

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

VISAGIE, C. M.; HIROOKA, Y.; TANNEY, J. B.; WHITFIELD, E.; MWANGE, K.; MEIJER, M.; SAMSON, R. A. *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 63-139, 2014a.

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

VISAGIE, C. M.; SEIFERT, K. A.; HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A.; JACOBS, K. Diversity of *Penicillium* section *Citrina* within the fynbos biome of South Africa, including a new species from a *Protea repens* infructescence. **Mycologia**, v. 106, n. 3, p. 537-552, 2014b.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. **Cerrado: ecologia e flora**, v. 1, p. 151-212, 2008.

WANG, B.; CHENG, F.; LU, Y.; GE, W.; ZHANG, M.; YUE, B. Immobilization of pectinase from *Penicillium oxalicum* F67 onto magnetic cornstarch microspheres: Characterization and application in juice production. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 97, p. 137-143, 2013.

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

WANG, Y.; XU, L.; REN, W.; ZHAO, D.; ZHU, Y.; WU, X. Bioactive metabolites from *Chaetomium globosum* L18, an endophytic fungus in the medicinal plant *Curcuma wenyujin*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 3-4, p. 364-368, 2012.

WHITELAW, M. A.; HARDEN, T. J.; BENDER, G. L. Plant growth promotion of wheat inoculated with *Penicillium radicum* sp. nov. **Soil Research**, v. 35, n. 2, p. 291-300, 1997.

XU, J. Fungal DNA barcoding. **Genome**, v. 59, n. 11, p. 913-932, 2016.

XU, X.; XIA, L.; ZHU, W.; ZHANG, Z.; HUANG, Q.; CHEN, W. Role of *Penicillium chrysogenum* XJ-1 in the detoxification and bioremediation of cadmium. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1422, 2015.

YADAV, A. N.; VERMA, P.; KUMAR, V.; SANGWAN, P.; MISHRA, S.; PANJIAR, N.; SAXENA, A. K. Biodiversity of the genus *Penicillium* in different habitats. In: **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. Elsevier, 2018. p. 3-18.

YAMADA, T. The Cerrado of Brazil: a success story of production on acid soils. **Soil Science & Plant Nutrition**, v. 51, n. 5, p. 617-620, 2005.

ZAFAR, M. N.; NADEEM, R.; HANIF, M. A. Biosorption of nickel from protonated rice bran. **Journal of hazardous materials**, v. 143, n. 1-2, p. 478-485, 2007.

ZEHRA, A.; DUBEY, M. K.; MEENA, M.; AAMIR, M.; PATEL, C. B.; UPADHYAY, R. S. Role of *Penicillium* species in bioremediation processes. In: **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. Elsevier, 2018. p. 247-260.

ZHANG, S.; FANG, H.; YIN, C.; WEI, C.; HU, J.; ZHAN, Y. Antimicrobial metabolites produced by *Penicillium mallochii* CCH01 isolated from the gut of *Ectropis oblique*, cultivated in the presence of a histone deacetylase inhibitor. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 2186, 2019.

CAPÍTULO 1

**REGISTRO DE OCORRÊNCIA E DESCRIÇÃO DE NOVAS
ESPÉCIES DE *Penicillium* DO CERRADO BAIANO**

Mycologia

Registro de ocorrência e descrição de novas espécies de *Penicillium* isoladas do cerrado baiano

Five new *Penicillium* species isolated from the cerrado biome in Brazil

Harisson Guimarães de Souza^{1,6}, Cristiane Nascimento Figueiredo^{2,6}, Jackeline Pereira Andrade^{3,6}, Jorge Teodoro de Souza^{4,7}, Phellippe Arthur Santos Marbach^{5,6}

¹Souza, HG. E-mail: harisson.hgs@gmail.com

²Figueiredo, CN. E-mail:

cristianefigueiredoo@gmail.com

³Andrade, JP. E-mail:

⁴Souza, JT. E-mail:

⁵Marbach, PAS. E-mail:

¹¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Rua Rui Barbosa, 710, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Brasil.

¹⁰Universidade Federal de Lavras – UFLA, Aqueça Sol S/N, 37200-900, Lavras, MG, Brasil.

Resumo

Penicillium é um gênero com distribuição mundial que ocorre em substratos distintos, incluindo o ar, água, alimentos e principalmente o solo. O cerrado compreende uma ecoregião única que abriga um vasto reservatório de biodiversidade. Portanto este trabalho teve como objetivo registrar a ocorrência e identificar novas espécies de *Penicillium* oriundas de amostras de solos do bioma cerrado no estado da Bahia. O isolamento dos morfotipos foi realizado em meio de cultivo contendo como única fonte de carbono a celulose microcristalina. As análises filogenéticas da β -tubulina, calmodulina e da segunda maior subunidade da RNA polimerase revelaram cinco espécies filogeneticamente distintas e não descritas pertencentes às seções *Citrina* (3), *Sclerotiorum* (1) e *Lanata-Divaricata* (1). Além de posição taxonômica única, as espécies apresentam diferenças macroscópicas e microscópicas em relação às espécies próximas. A nova espécie da seção *Lanata-Divaricata* não produziu microesturas assexuais em diferentes meios de cultura padrões. *Penicillium shearii* é também descrito neste estudo como registro de ocorrência para o bioma cerrado. Os resultados apontam a diversidade e o potencial do bioma para bioprospecção de novas espécies de diferentes seções do gênero *Penicillium*.

Palavras-chave: *Citrina*, diversidade, *Lanata-Divaricata*, *Sclerotiorum*, solo

1. Introdução

O território brasileiro detém mais de 20% do número total de espécies conhecidas na Terra, com uma vasta diversidade de animais, plantas e fungos (ALHO, 2010). O país exibe diferentes zonas climáticas devido sua extensão de 8,5 milhões de Km² que abrange o Trópico de Capricórnio e do equador. As diferenças climáticas acarretam em grandes variações ecológicas resultando na formação de biomas distintos, como Amazônia (abrange 49% do território), Cerrado (23,9%), Mata Atlântica (13%), Caatinga (9,9%), Pampas (2%) e Pantanal (1,7%) (RATTER, BRIDGEWATER, RIBEIRO, 2003).

O bioma Cerrado é considerado a maior região de savana da América do Sul, ocupando uma área de 2.036.448 km², encontra-se localizado no centro do Brasil, delimitado pela floresta amazônica a noroeste e pela Mata Atlântica ao sudeste (RATTER, BRIDGEWATER, RIBEIRO, 2003). A fitofisionomia do Cerrado é composta por formações florestais, savanas, planato de bosques, galerias, florestas secas e campos (KLINK & MACHADO, 2005). Seus solos são intemperizados, ácidos, geralmente pobre em nutrientes e com elevado teor de argila e alumínio (BUSTAMANTE et al., 2012). Sob essas condições, o bioma apresenta um ecossistema ímpar que pode abrigar um reservatório de diversidade fúngica que ainda é pouco conhecido.

O bioma abriga muitas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção, por isso, é considerado um dos 34 *hotspots* mundiais para conservação da biodiversidade. Expectativas apontam que o Cerrado abriga em torno de 60 a 100 mil espécies de fungos, representando 5 a 7% da micobiota do globo (GARCIA et al., 2015). Apesar da considerável biodiversidade encontrada no Brasil, são poucos os esforços para descrever a diversidade micológica no bioma, resultando em uma lacuna de desconhecimento sobre o tema (MONTEIRO et al., 2016). O bioma apresenta uma comunidade diversificada de espécies de *Penicillium*, que em grande parte permanece não descrita (MONTEIRO et al., 2016)

O gênero *Penicillium* foi primeiramente introduzido por Link em 1809 com a inserção das

espécies *P. candidum*, *P. glaucum*, e *P. expansum*. Desde sua criação, mais de 1000 nomes foram acrescentados ao gênero, muitos atualmente invalidados pelos critérios modernos de classificação (VISAGIE et al., 2014). O gênero pertence a família *Aspergilaceae* e possui dois subgêneros: *Aspergiloides* e *Penicillium* (HOUBRAKEN et al., 2011). Recentemente com a revisão da Ordem *Eurotiales*, o gênero *Penicillium* foi dividido em 32 seções e 89 series com base em abordagem filogenética, geralmente suportada com dados fenotípicos, fisiológicos e perfil de extrólitos (HOUBRAKEN et al. 2020). Em 2014, Visagie et al. forneceram uma lista nomenclatural com 354 espécies de *Penicillium* aceitas, após seis anos 129 novas espécies de *Penicillium* foram descritas, representando aumento de 36 % (Houbraken et al. 2020). Até a realização do presente estudo, 14 novas espécies de *Penicillium* foram descobertas (O'CALLAHAN et al. 2020; CHOI et al. 2021; LIANG et al., 2021; VISAGIE et al., 2020; RODRÍGUEZ-ANDRADE, STCHIGEL & CANO-LIRA, 2021; RAMOS et al., 2021), totalizando 497 espécies aceitas.

Este estudo teve como objetivo estudar a diversidade taxonômica do gênero *Penicillium* em amostras de solos do cerrado baiano e, assim, contribuir para ampliar o conhecimento sobre a diversidade fúngica deste bioma.

2. Materiais e métodos

2.1. Isolamento

As cepas de *Penicillium* foram isoladas de amostras de solo do bioma Cerrado. Amostras de solo foram coletadas no estado da Bahia em cinco municípios: Cocos (S 14° 11' 02" O 44° 32' 02"), Correntina (S 13° 20' 34" O 44° 38' 13"), Igaporã (S 13° 46' 22" O 42° 42' 50"), Livramento (S 13° 38' 36" O 41° 50' 32") e Licínio de Almeida (S 14° 40' 58" O 42° 30' 27"). Para o isolamento dos fungos, foi adotada a Técnica das Diluições Seriadas, até a diluição 10^{-3} . Alíquotas de 0,5 mL dessa diluição foram transferidas para placas de Petri em triplicata contendo meio seletivo de celulose (Breccia et al. 1995) (g/L): NaNO_3 (1,2), KH_2PO_4 (3,0), K_2HPO_4 (6,0), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2), $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,05), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,001), $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01), Extrato de Levedura (3,0), ágar (15), Clorafenicol (0,05) e Celulose como única fonte de carbono (10). As placas foram incubadas em BOD à 28 °C, por 10 dias. Em seguida foi realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) e observação de morfotipos de *Penicillium*. Cada morfotipo distinto foi transferido para duas placas de Petri contendo Agar Extrato de Malte (20 %) (g/L): Extrato de Malte (6) e Ágar (15) e incubados por 10 dias a 28 °C, depois foram fotografados e armazenados pela técnica de Castellani (1967).

2.2. Análise Morfológica

A caracterização morfológica dos isolados de *Penicillium* foi realizada seguindo os métodos padronizados definidos por Visagie et al. (2014). Suspensões de esporos em solução ágar-água dos isolados foram transferidos para os meios de cultivo autolisado de levedura Czapek (CYA), malte de Blakeslee extrato de ágar (MEAbI), ágar de extrato de levedura (YES), ágar de Czapek (CZ), ágar de extrato de levedura sacarose (YES), , ágar dicloran 18% glicerol (DG18), CYA suplementado com 5% NaCl (CYAS), ágar aveia (OA) e ágar creatina sacarose (CREA). As placas foram incubadas a 25 °C, no escuro por 7 dias. Placas

adicionais de CYA foram incubadas à 5 °C, 30 °C, 35 °C e 37 °C por 7 dias no escuro. Após crescimento, características das colônias foram avaliadas, como diâmetro, grau de esporulação, textura e coloração do verso e reverso das colônias, produção de pigmento solúvel, exsudato e esclerócio. Os nomes e códigos de cores usados nas descrições referem-se ao *Methuen Handbook of Color* (KORNERUP & WANSCHER 1967). As características microscópicas foram avaliadas pela técnica de microculturas em placas de Petri. As cepas foram cultivadas em meio MEAbI a 25°C entre 7 a 10 dias. O ácido lático foi usado como fluido de montagem para as lâminas (VISAGIE et al., 2014). 90 conidióforos de cada isolado foram caracterizados usando microscópio composto Zeiss Axio Imager A2, acoplado a uma câmera AxioCam MRc5.

2.3. Extração de DNA, PCR e sequenciamento

O DNA foi extraído de culturas cultivadas em meio de ágar batata dextrose (BDA) por 7 dias usando o método descrito por Doyle & Doyle (1990) com algumas modificações. O nitrogênio líquido foi usado para quebrar a parede celular do micélio. A biomassa foi transferida para tubos que continham 1 ml do tampão de extração CTAB (2% CTAB, 1,4 M NaCl, 100 mM Tris/HCl, 20 mM EDTA, 1% PVP MW 10.000) e incubados por 30 min a 65 °C. Após o término da incubação, os tubos foram centrifugados a 14.000 rpm e o DNA foi extraído por clorofórmio: álcool isoamílico (CIA-24:1). O sobrenadante foi então precipitado em duas etapas consecutivas utilizando isopropanol e etanol 70%. O sedimento foi ressuspensão em 49 µl de tampão TE (1 M Tris/HCl, 0,5 M EDTA) mais 1 µl de ribonuclease (RNase 10 mg mL⁻¹) em cada tubo e então armazenado a -20 °C.

A amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada de acordo com os métodos descritos por Visagie et al (2014c). As reações tiveram um volume final de 25 µL. *Primers* usados para amplificação das regiões *ITS*, *BenA*, *CaM* e *RPB2*, reações e as condições dos programas da PCR estão incluídos nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Os

produtos da PCR foram purificados utilizando o *Kit GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification (GE Healthcare)*. O sequenciamento foi realizado pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. (Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS) utilizando o seqüenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer armado com capilares de 50 cm e polímero POP7 (Applied Biosystems). As seqüências nucleotídicas foram editadas no programa Chromas 2.6.2 (*Technelysium DNA Sequencing Software*).

Tabela 1. *Primers* utilizados nas ampliações da PCR.

Locus	Nome do primer	Sentido	Seqüência do primer (5'-3')
Espaçador transcrito interno (ITS)	ITS1	<i>Forward</i>	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
	ITS4	<i>Reverse</i>	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC
β -tubulina (<i>BenA</i>)	Bt _{2a}	<i>Forward</i>	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC
	Bt _{2b}	<i>Reverse</i>	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC
Calmodulin (<i>CaM</i>)	CMD5	<i>Forward</i>	CCG AGT ACA AGG ARG CCT TC
	CMD6	<i>Reverse</i>	CCG ATR GAG GTC ATR ACG TGG
	5F	<i>Forward</i>	GAY GAY MGW GAT CAY TTY GG
RPB2	7CR	<i>Reverse</i>	CCC ATR GCT TGY TTR CCC AT

Tabela 2. Reações da PCR.

Reagentes	ITS	benA	CmD	RPB2
Tampão 5X (μ L)	2,5	2,5	2,5	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	2,5	2	2	2
dNTPs (2,5 mM)	2	2	2	2
Taq Polimerase (5 U/ μ L)	0,2	0,4	0,2	0,2
<i>Primer forward</i> (10 pmol/ μ L)	0,7	0,75	5	1
<i>Primer reverse</i> (10 pmol/ μ L)	0,7	0,75	5	1
DNA (μ L)	2	2	2	2
Água (μ L)	11,4	14,6	12,3	14,3

Tabela 3. Programação dos ciclos térmicos da PCR.

Regiões gênicas	Desnaturação inicial	Ciclos	Desnaturação	Anelamento	Alongação	Extensão final
<i>ITS, benA e CaM</i>	94 °C, 2 min	38	93 °C, 30 s	50-55 °C, 30 s	72 °C, 60 s	72 °C, 10 min
	94 °C, 5 min	5	94 °C, 45 s	48 °C, 45 s	72 °C, 60 s	
RPB2		5	94 °C, 45 s	50 °C, 45 s	72 °C, 60 s	
		30	94 °C, 45 s	52 °C, 45 s	72 °C, 60 s	72 °C, 7 min

2.4. Análises Filogenéticas

As sequências nucleotídicas obtidas foram comparadas com sequências depositadas no banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI) utilizando o programa BLASTN (ALTSCHUL, et al., 1997). Em seguida, as sequências nucleotídicas dos genes selecionados de cepas fúngicas ainda não identificadas e dos isolados tipo das espécies mais próximas aos nossos isolados foram recuperados. O alinhamento múltiplo das sequências nucleotídicas foi feito no MAFFT (KATO; ROZEWICKI; YAMADA, 2019). A edição das sequências, o melhor modelo evolutivo bem como as análises de máxima verossimilhança (MV) foram realizadas no programa MEGA 6.0 (TAMURA et al., 2013) com 1000 bootstraps. As árvores filogenéticas de MV foram construídas com as regiões ITS, BenA, CaM e RPB2 separadas e concatenadas. A região ITS não foi incluída durante a construção das árvores devido a baixa resolução que o marcador apresenta. As árvores filogenéticas geradas foram visualizadas e editadas no programa Archaeopterix (HAN; ZMASEK, 2009).

3. Resultados

3.1. Isolamento e Identificação

Dentre os 56 isolados obtidos em solo, foram encontrados 10 perfis genéticos distintos por meio de BOX-PCR (Anexo 1). A sequência de bases de um fragmento do gene *benA* de pelo menos um isolado de cada perfil genético obtido foi comparada com sequências homólogas depositadas na bases de dados do NCBI. Esta análise indicou que 5 linhagens não puderam ser atribuídas a nenhuma espécie tipo conhecida via BLASTn (Tabela 4), e 4 correspondem a espécies já descritas. O isolado 24.1 oriundo do solo do ecossistema restinga foi incluído no sequenciamento e na taxonomia polifásica neste estudo.

Table 4. Resultado do BLASTn após sequenciamento da região gênica *benA*

Isolados	Espécies disponíveis no NCBI	Identidade com <i>benA</i> (%)	Tipo das espécies	Identidade com <i>benA</i> (%) Tipo
AMSO37 24.1	<i>P. maxima</i> SFC20151014-M14	97,64 97,86	<i>P. maxima</i> NRRL2060	97,09
AM1SO59	<i>P. maxima</i> KMG408	98,57		
AMSO2		100		
AMSO52 AMSO 44	<i>P. sumatrense</i> CV0179	99,77 99,77	n.a	n.a
AMSO6 AMSO7		91,89 91,65		
AMSO10 AMSO34 AM9SO67	<i>P. anaticum</i> CBS 47866	90,93 92,29 91,65	n.a	n.a
AMSO5	<i>P. anaticum</i> CBS47866	99,76	n.a	n.a
AMSO19	<i>P. globosum</i> NN072388	99,76	<i>P. globosum</i> NN072354	99,04
AM5SO64	<i>P. shearii</i> CV0499	100	n.a	n.a
AMSO56 (+37)	<i>P. citrinum</i> SFC20160805M12	100	<i>P. citrinum</i> CBS 139.45	99,75
AMSO1 AMSO11	<i>P. wotroi</i> CBS 118171	99,78	<i>P. wotroi</i> CBS 126217	99,75

Legenda: Em negrito estão os isolados que são novas espécies; n.a – não disponível.

Os isolados AMSO37, 24.1 e AM1SO59 possuem percentual de identidade distinto em relação a espécie mais próxima *Penicillium maxima* (Tab. 4), por isso, podem representar uma nova espécie de *Penicillium* da seção *Sclerotiorum*.

Embora os isolados AMSO2 e AMSO52 possuem 100 % e 99,77 % de identidade com o isolado de *P. sumatrense* CV0179 respectivamente, essa cepa não corresponde ao tipo da espécie. As sequências tipo de *P. sumatrense* para o gene *BenA* não estão disponíveis nos bancos de dados do NCBI. Porém, o BLASTn com sequências do gene calmodulina, o tipo *P. sumatrense* CBS 281.36 apresenta 97,8 % de identidade com os isolados AMSO2 e AMSO52, portanto podem representar uma nova espécie de *Penicillium* da seção *Citrina*. Os isolados AMSO6, AMSO7, AMSO10, AMSO34, AMSO34 e AM9SO67 são próximos da cepa *P. anatolicum* CBS 47866 e todos apresentam identidade inferior a 93%, portanto podem ser uma nova espécie de *Penicillium* da seção *Citrina*. Todos os isolados próximos a *P. anatolicum* foram descritos utilizando a taxonomia polifásica com o intuito de contribuir com o máximo de características fenotípicas e genéticas da provável nova espécie.

O isolado AMSO5 possui 99,75 % de identidade com a cepa *P. anatolicum* CBS47866, porém as sequências para o gene *benA* do tipo *P. anatolicum* também não estão disponíveis no NCBI. As sequências do gene calmodulina do tipo da espécie *P. anatolicum* CBS 479.66 possui 98 % de identidade com o isolado AMSO5, representando uma provável nova espécie.

O isolado AMSO19 apresenta 99,76 % de identidade com a cepa *P. globosum* NN073388 e 99,04% com o tipo de *P. globosum* NN072354. O BLASTn realizado com a sequência parcial do gene calmodulina do isolado AMSO19 apresentou 97,78% de identidade com o tipo de *P. globosum* NN072354. Portanto, o isolado AMSO19 pode corresponder a uma nova espécie de *Penicillium* pertencente a seção *Lanata-Divaricata*.

Os isolado AM5SO64 apresenta 100% de identidade com a cepa *P. shearii* CV0499. O BLASTn com outros genes como RPB2 (99,25%), ITS (99,65%) e CaM (99,81) apresentaram identidade muito semelhante ao tipo de *P. shearii* CBS 290.48, sendo descrita neste estudo como um registro de ocorrência da espécie para o cerrado baiano.

O isolado AMSO56 e outros 37 isolados coletados apresentaram entre 99,75 a 100%

de identidade com o tipo de *P. citrinum* CBS 139.45. Já os isolados AMSO1 e AMSO11 possuem 99,75% de identidade com o tipo da espécie *P. wotroi* CBS 126217. Os isolados próximos aos tipo das espécies *P. citrinum* e *P. wotroi* foram identificados apenas com o marcador molecular *benA*, portanto, não foram descritos como registros de ocorrência por meio de taxonomia polifásica.

3.2. Análise Filogenética

Foram realizadas análises filogenéticas individuais com sequências, *BenA*, *CaM* e *RPB2* para resolver a posição taxonômica de nossas cepas usando as sequências dos isolados tipo das espécies aceitas de *Penicillium* nas seções *Sclerotiorum*, *Citrina* e *Lanata-Divaricata*. Foram recuperadas também sequências de cepas que no BLASTn apresentaram identidade próxima aos dos isolados deste estudo. As sequências da região ITS foram amplificadas para a maioria dos isolados, porém não foram incluídas nas análises filogenéticas tendo em vista a baixa resolução da região em distinguir espécies próximas em *Penicillium*. As informações dos conjunto de dados e o modelo de substituição mais ideal é fornecida na Tabela 5. As árvores filogenéticas de cada gene e concatenadas são apresentadas abaixo.

Tabela 5. Conjuntos de dados de cada gene e modelos usados nas análises filogenéticas

Seção	<i>benA</i> (nº de sítios)	Nº de sequências	Modelo de substituição	<i>CaM</i> (nº de sítios)	Nº de sequências	Modelo de substituição	<i>RPB2</i> (nº de sítios)	Nº de sequências	Modelo de substituição
<i>Sclerotiorum</i>	466	46	K2 (G+I)	821	47	TN (G+I)	868	34	TN (G+I)
<i>Citrina</i>	442	106	K2 (G+I)	735	99	K2 (G+I)	847	58	TN (G+I)
<i>Lanata Di-varicata</i>	514	89	K2 (G+I)	685	78	K2 (G+I)	n.a	n.a	n.a

Legenda: G – Gama; I – Invariáveis; K2 – Kimura 2 parâmetros; TN – Tamura-Nei; n.a – não disponível.

3.2.1. Seção *Sclerotiorum*

Os resultados da análise filogenética utilizando sequências parciais do gene *BenA* e *CaM* indicam que os isolados AMSO37, 24.1 e AM1SO59 pertencem a uma nova espécie de *Penicillium* da seção *Sclerotiorum*. Os isolados formaram um clado distinto e filogeneticamente relacionado com o tipo da espécie *Penicillium maximae* NRRL2060 (Figura 1 e Figura 2). Ambas as árvores apresentam concordância filogenética para os isolados. Além disso, nas duas árvores, os isolados AMSO37 e 24.1 são intimamente mais relacionados entre si que em relação ao isolado AM1SO59 (Figuras 1 e 2).

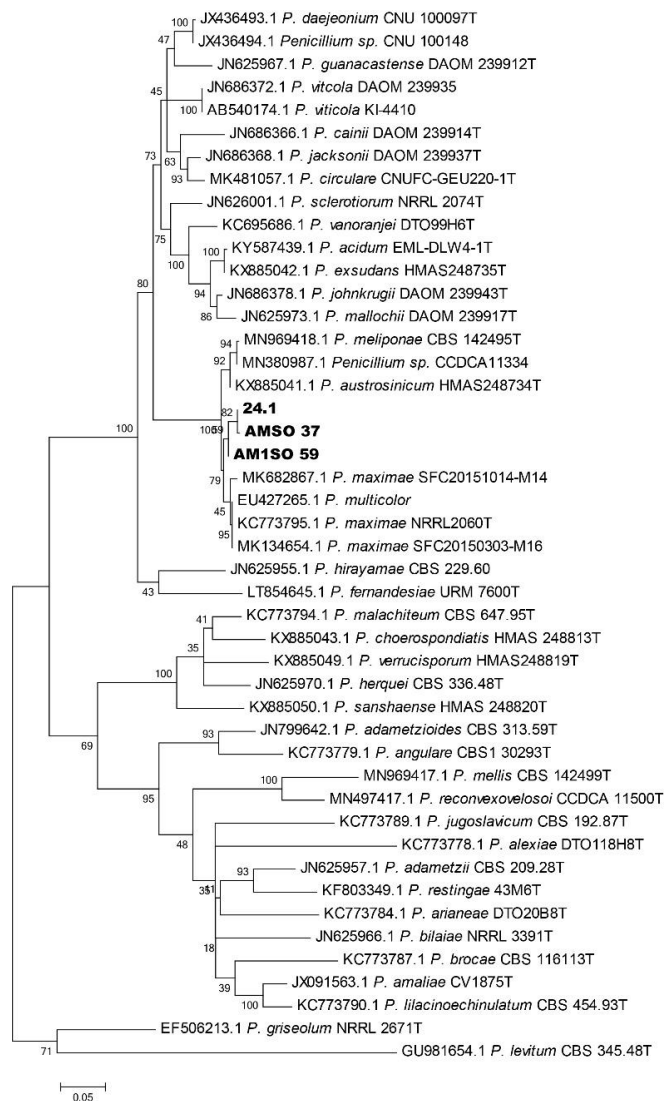


Figura 1. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Sclerotiorum* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *BenA*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam a nova espécie. *P. levitum*^T e *P. griseolum*^T foram utilizados como grupo externo. Os tipos das espécies são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com n° de replicações de 100 *bootstraps*.

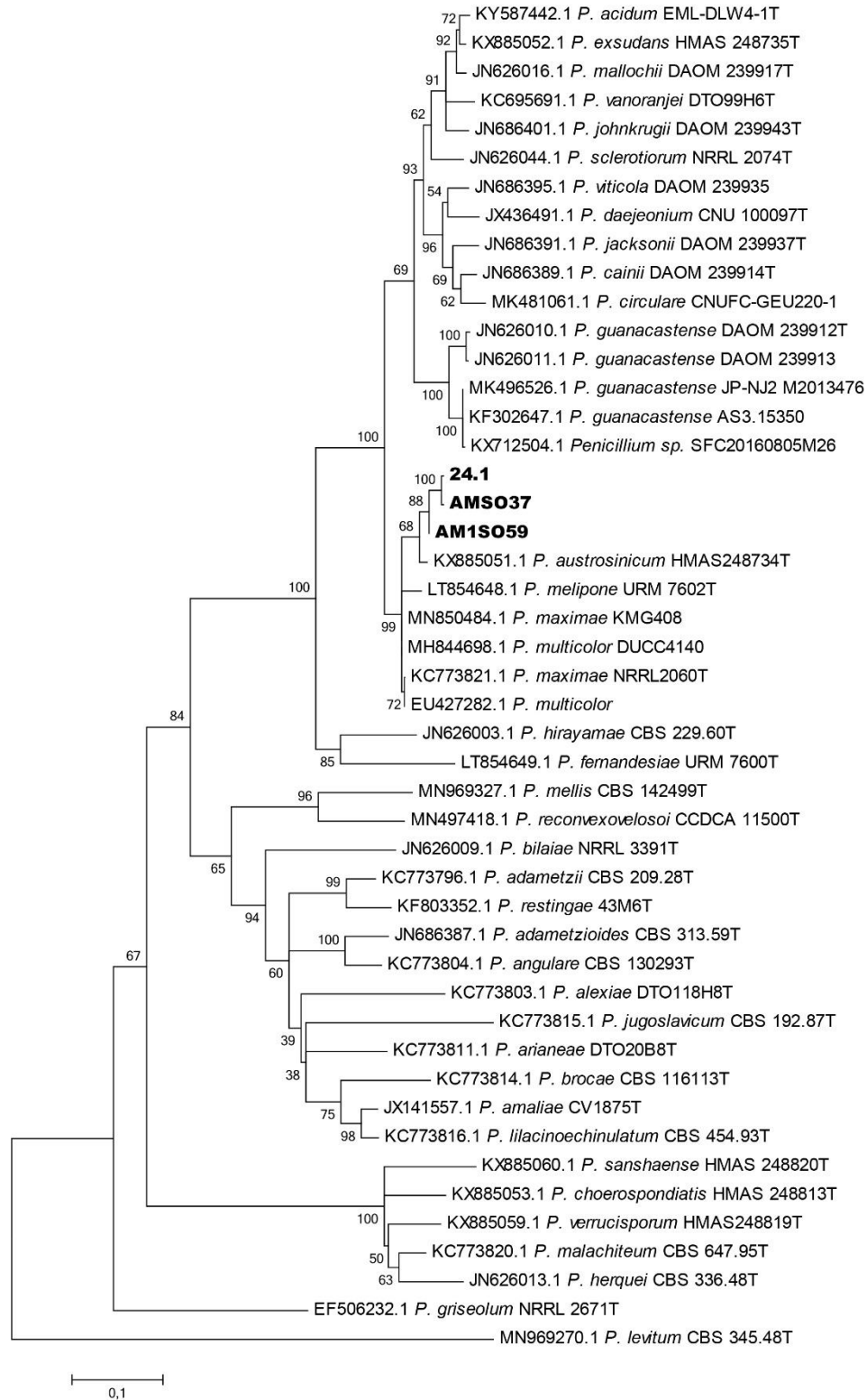


Figura 2. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Sclerotiorum* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *CaM*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam a nova espécie. *P. levitum*^T e *P. griseolum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com n° de replicações de 100 *bootstraps*.

A topologia da árvore do gene RPB2 não apresentou congruência com as análises filogenéticas dos genes *benA* e *CaM*. Os isolados AM1SO59 e 24.1 é filogeneticamente relacionado com o tipo da espécie de *P. austrosinicum* HMAS248734, entretanto formam um clado distinto (Figura 3). Em contrapartida, o isolado AMSO37 está inserido no mesmo clado da espécie *P. austrosinicum* (Figura 3).

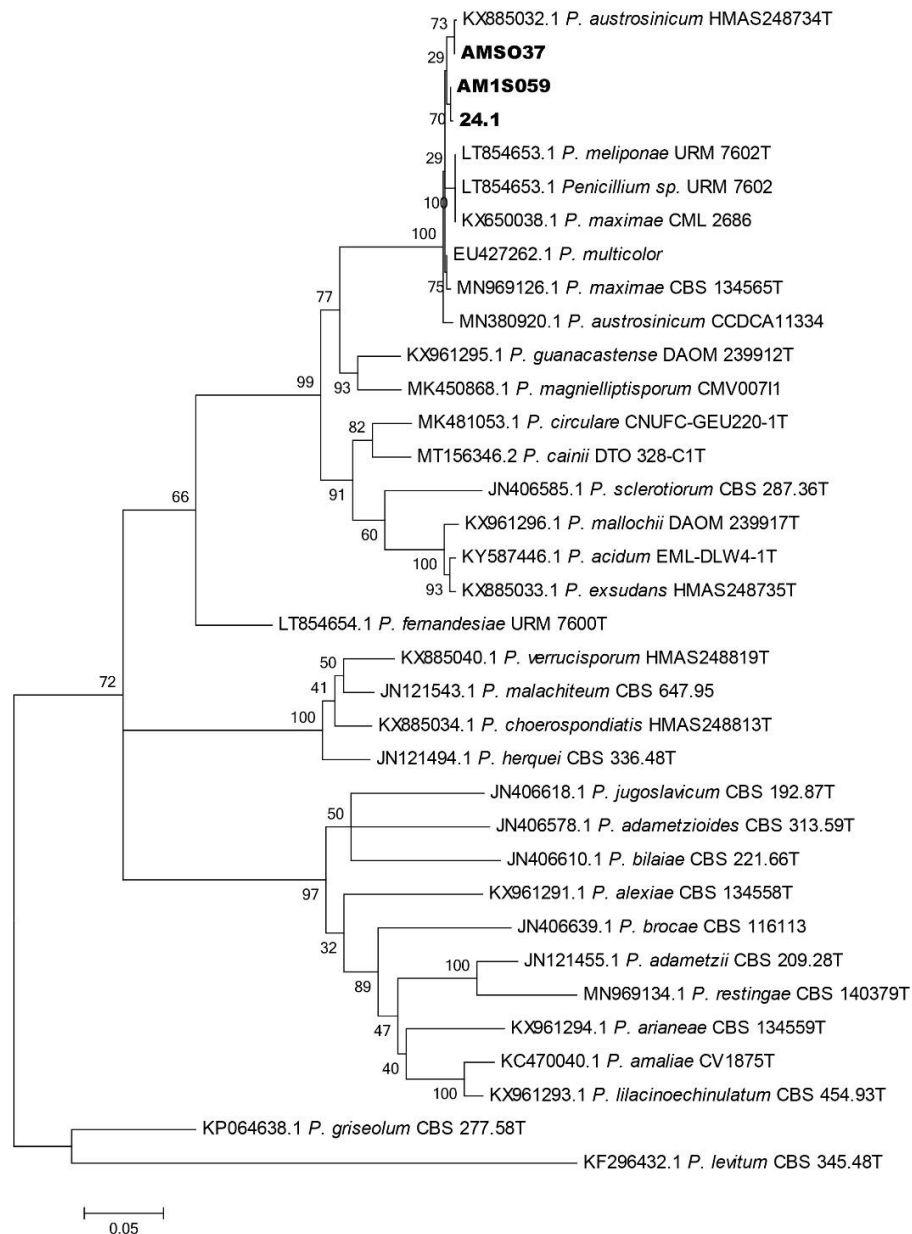


Figura 3. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Sclerotiorum* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *RPB2*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam a nova espécie. *P. levitum*^T e *P. griseolum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com n° de replicações de 100 *bootstraps*.

3.2.2. Seção Citrina

A relação filogenética dos isolados AMSO2, AMSO6, AMSO7, AMSO10, AMSO34, AMSO52, AM5SO64 e AM9SO67 com as espécies da seção *Citrina* de *Penicillium* foi analisada utilizando as sequências parciais do genes *benA*, *CaM* e *RPB2*. De acordo com a filogenia molegenia moléculara de ambos os genes, os isolados AMSO6, AMSO7, AMSO10, AMSO34 e AM9SO67 formam uma uma linhagem filogeneticamente distinta com o clado de *P. anaticum* CBS 47966, *P. argentinense* CBS 130371, *P. euglaucum* CBS 323.71 e AMSO5 (Figuras 5, 6 e 7). As filogenias de ambos os genes resolveram de forma consistente que esse grupo de isolados representam uma nova espécie distinta das descritas anteriormente.

Em ambas as árvores de *benA* e *CaM* (Figuras 4 e 5), o isolado AMSO5 é filogeneticamente próximo de *P. anaticum*, porém forma um clado distinto. Os isolados AMSO2 e AMSO52 agrupam com o tipo de *P. sumatraense*, entretanto, também formam um clado distinto em ambas as árvores (Figuras 4 e 5). Com base na concordância de ambas as árvores, o isolado AMSO5 representa uma nova espécie de *Penicillium*, e os isolados AMSO2 e AMSO52 representam outra espécie nova para o gênero. Em concordância com as árvores de *BenA* e *CaM*, o isolado AMSO52 foi agrupado em um clado com cepas identificadas nos bancos de dados como *P. meleagrinum* var. *viridiflavum* e *P. sumatraense*, mas distinto do clado com o tipo das espécies *P. roseopurpureum* CBS 266.29, *P. sanguifluum* CBS 127032, e *P. gallaicum* CBS 167.81 nas análises com o gene *RPB2*.(Figura 6). Os isolado AMSO2 e AMSO5 não foram incluídos na filogenia do gene *RPB2*, pois a região não foi amplificada via PCR e o sequenciamento gerou sequência curta, respectivamente.

O isolado AM5SO64 é filogeneticamente agrupado com *P. shearii* nas análises realizadas com as sequências parciais de *BenA*, *CaM* e *RPB2* (Figuras 4, 5 e 6), portanto, foi

descrito neste estudo como um novo registro de ocorrência da espécie.

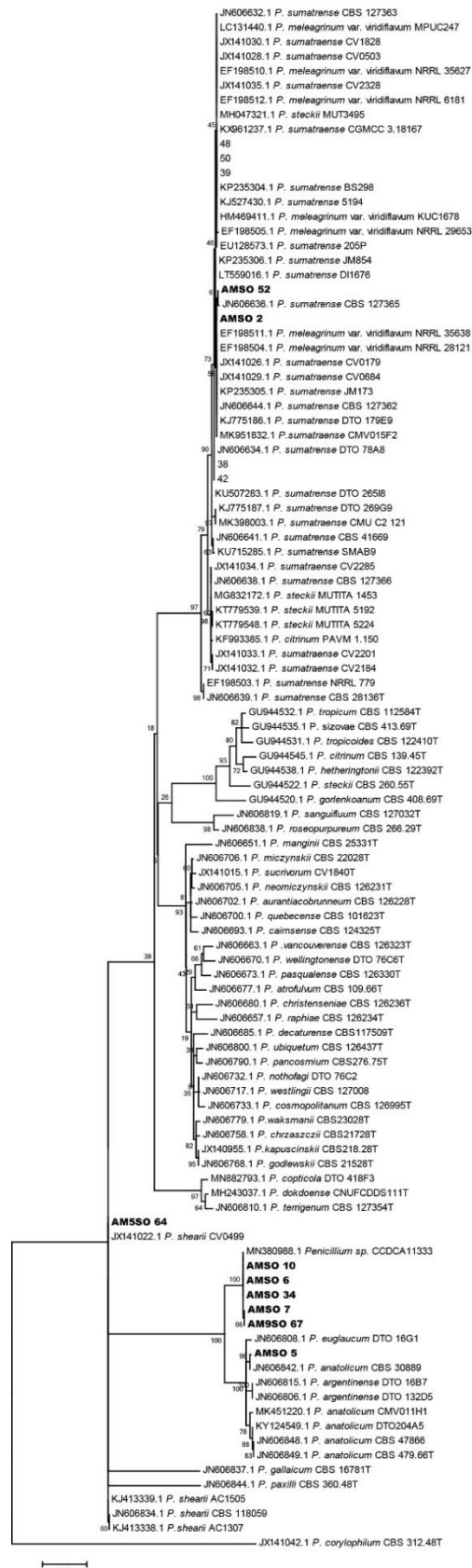


Figura 4. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Citrina* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *BenA*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. corylophilum*^T foi utilizado como grupo

externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.

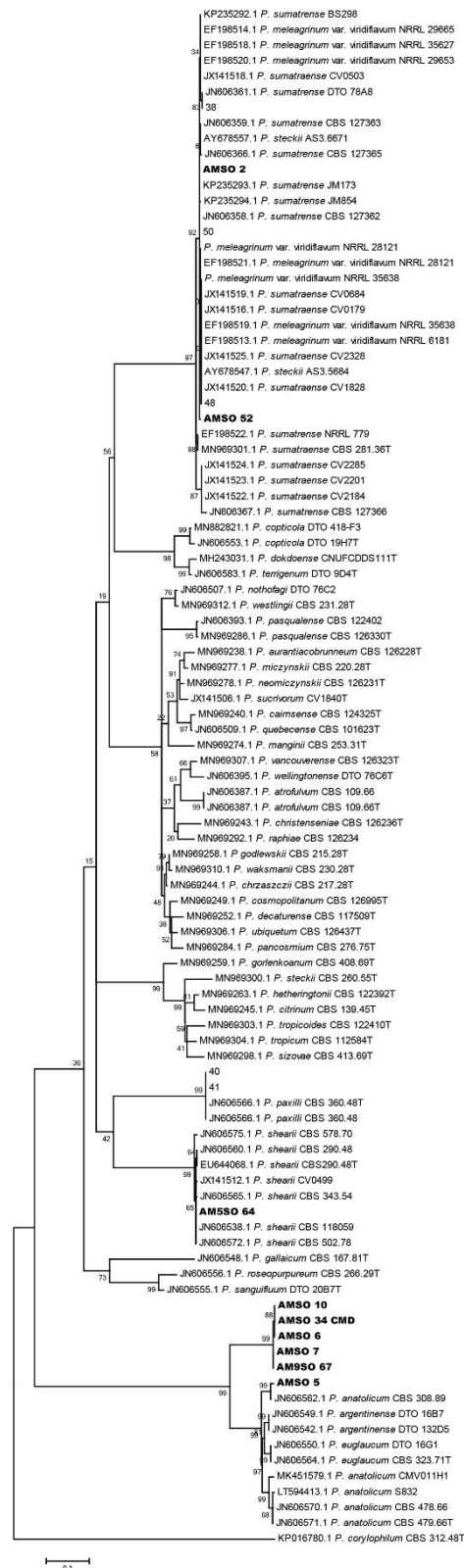


Figura 5. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Citrina* de *Penicillium* inferida a partir das seqüências do gene *CaM*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. corylophilum*^T foi utilizado como grupo

externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.

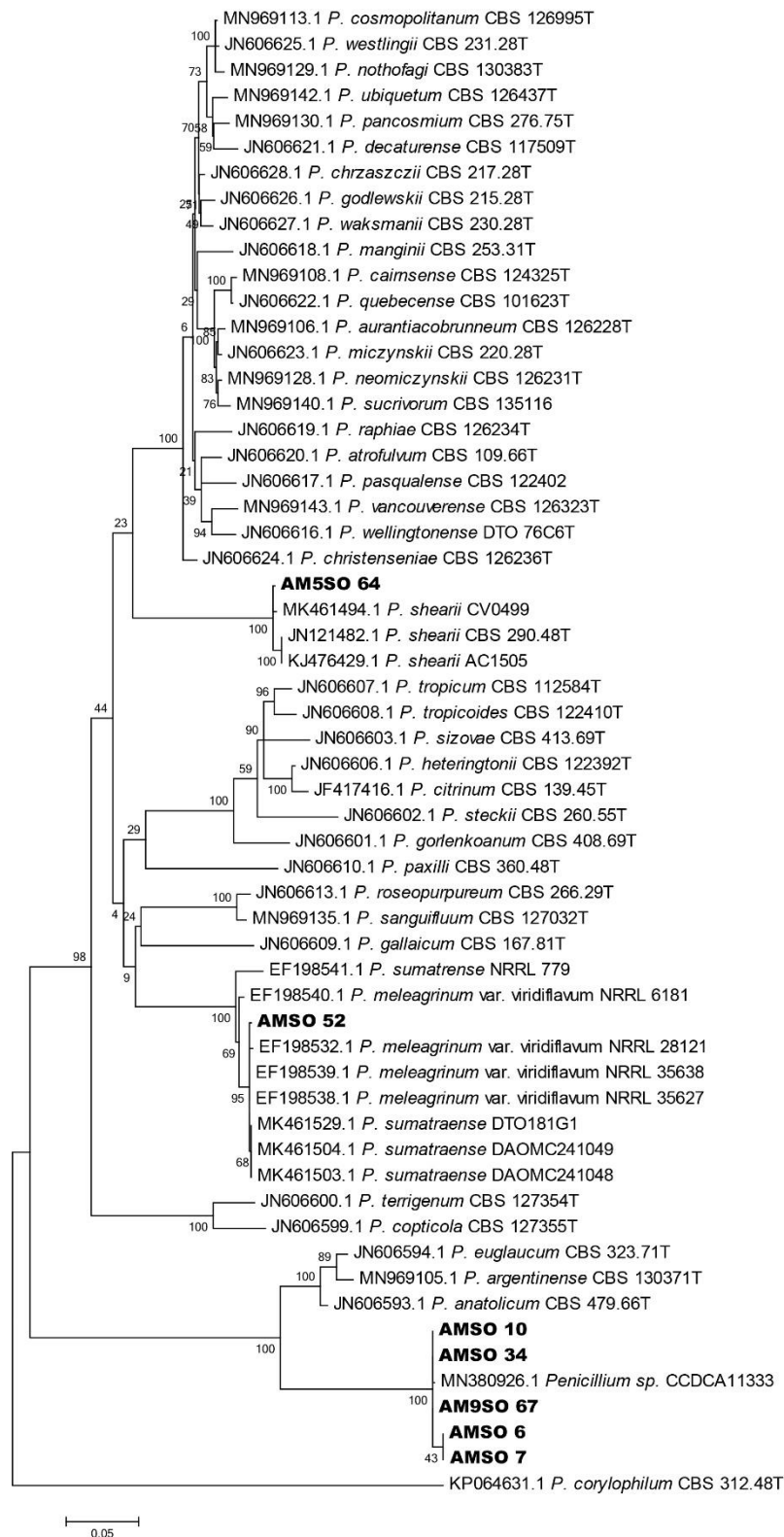


Figura 6. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Citrina* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *RPB2*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. corylophilum*^T foi utilizado como grupo

externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.

3.2.3. Seção *Lanata-Divariicata*

Os resultados das análise filogenéticas construídas a partir dos conjuntos de dados de *benA* e *CaM* indicam que o isolado AMSO19 é relacionado filogeneticamente com o tipo de *P. globosum* NN072354, porém forma um clado distinto em ambas as árvores (Figuras 7 e 8).

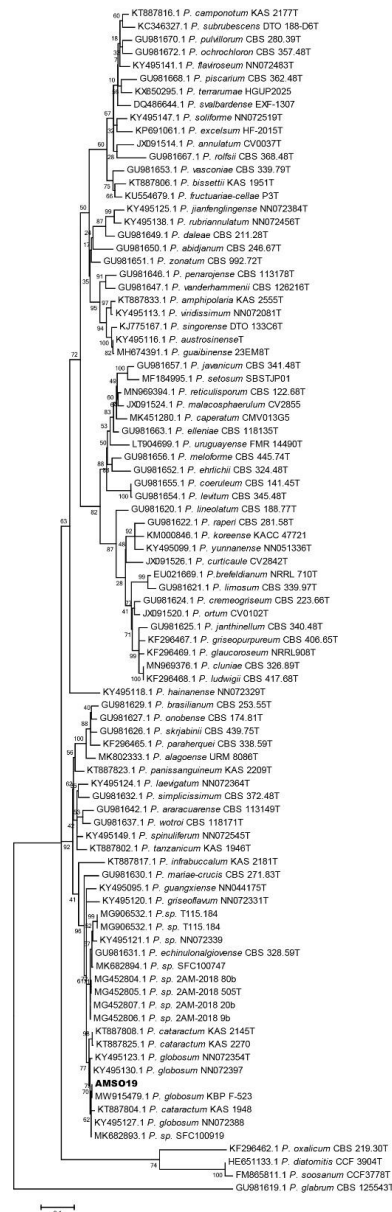


Figura 7. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Lanata-Divariicata* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *BenA*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécies e o registro de ocorrência. *P. glaucum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com nº de replicações de 100 *bootstraps*.

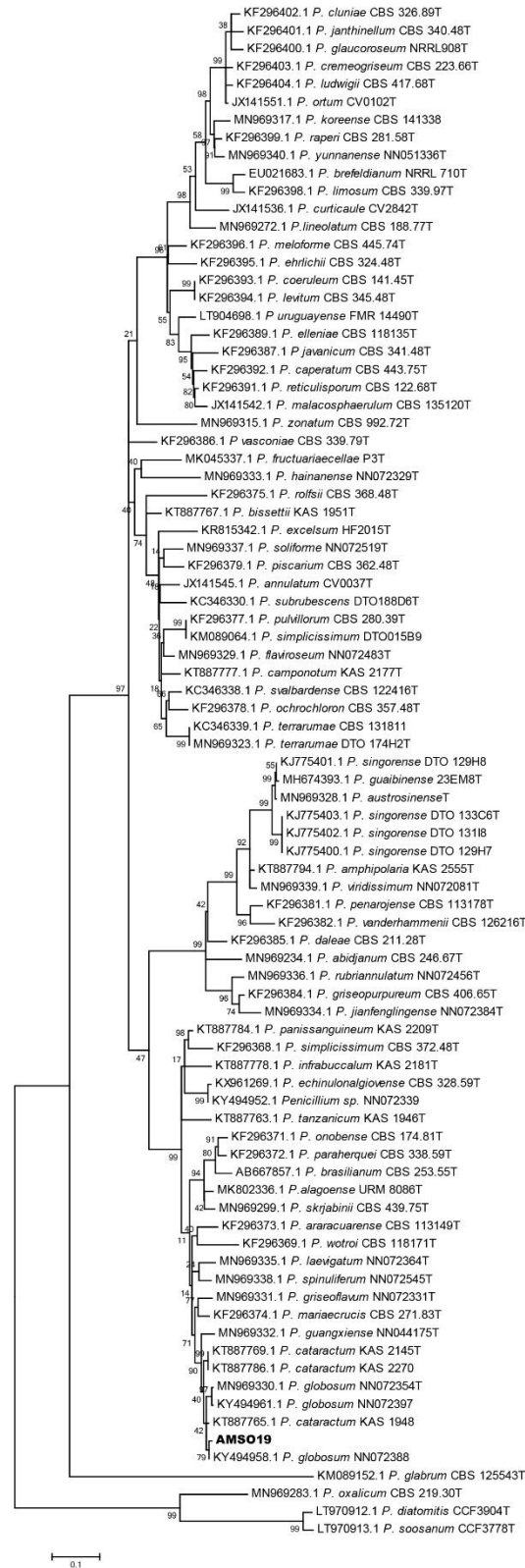


Figura 8. Árvore filogenética de máxima verossimilhança da seção *Lanata-Divariata* de *Penicillium* inferida a partir das sequências do gene *BenA*. A escala representa o número de substituições por sítio. Nomes em negrito indicam isolados que representam novas espécie e o registro de ocorrência. *P. glaucum*^T foi utilizado como grupo externo. Os tipo das espécie são designados com a letra T ao final da identificação. Árvore gerada com n° de replicações de 100 *bootstrap*

3.3. Taxonomia

Com base nas análises filogenéticas os isolados AMSO2, AMSO5, AMSO6, AMSO7, AMSO10, AMSO19, AMSO34, AMSO52, AM9SO67 representam novas espécies de *Penicillium*. Os isolados também apresentam características morfofisiológicas distantes das espécies próximas. Foram descritas 5 espécies novas e 1 registro de ocorrência com base na taxonomia polifásica. Abaixo, encontra-se a descrição morfológica, microscópica e fisiológica das espécies.

Descrição morfológica de *Penicillium* sp. ISAMSO37, *Penicillium* sp. ISAM1SO59, *Penicillium* sp. IS24.1, seção *Sclerotiorum* (Figura 9).

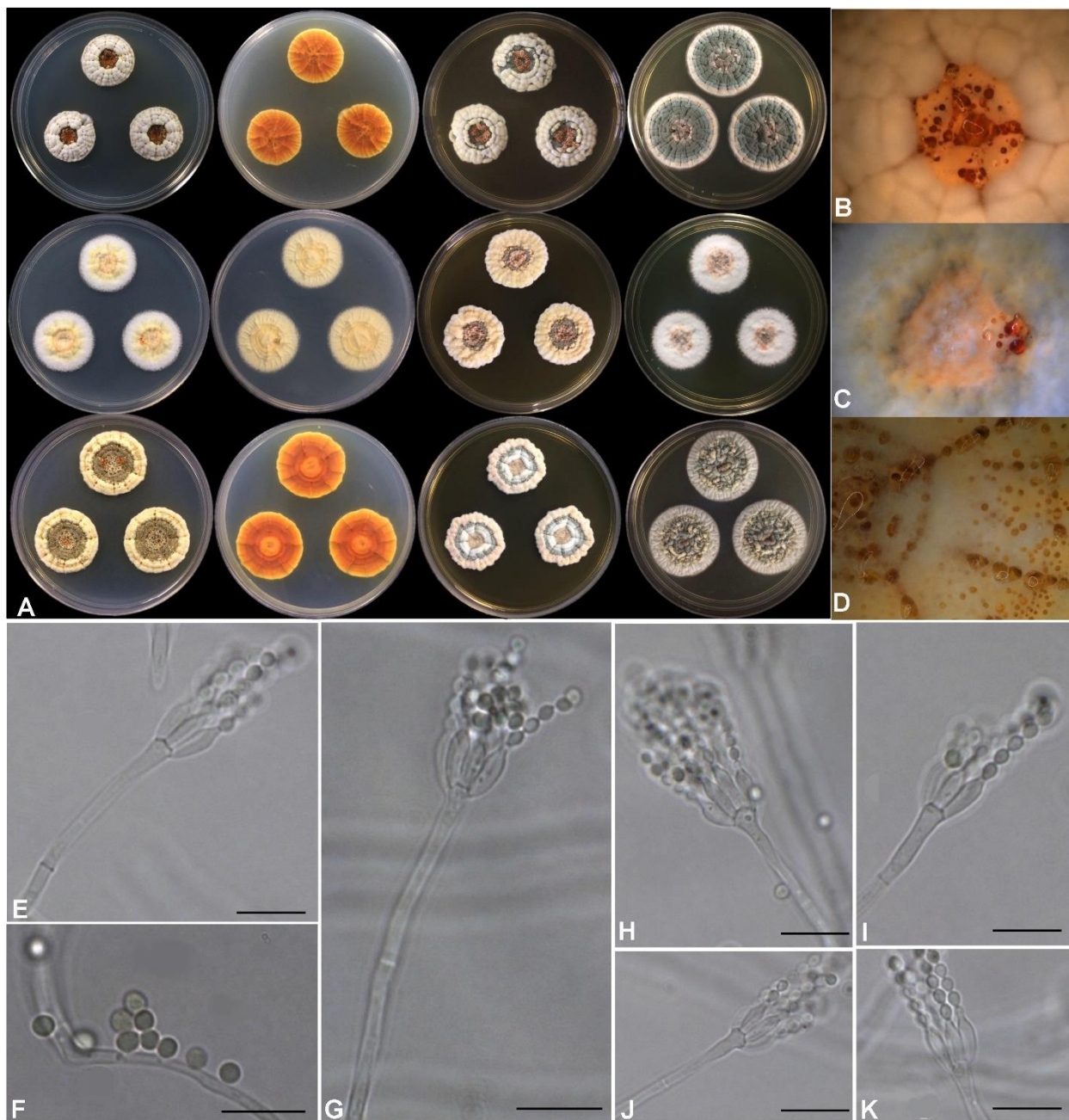


Figura 9. A. Colônias da esquerda para a direita: CYA, CYA reverso, MEA, MEA reverso, YES; linha superior: isolado 24,1; linha do meio isolado AMSO37; linha inferior isolado AM1SO59; B. textura em CYA 24,1; C. textura em CYA AMSO37; D. textura em CYA AM1SO59; E. conidióforo; F. conídios; G-K. conidióforos. – Barras de escala: E – K = 10 μ m.

Diâmetro das colônias, 7 d (em mm): CYA: 23–29; CYA 30 °C: 32–37; CYA 5 e 37°C: crescimento ausente; MEA: 24–29; MEAbl: 21–25 (–34); YES: 28–34; DG-18: 22–24 ;

CREA: 10–14 (–17); ; OA: 28–32; CYAS: 22–27 CZ: 18–24 (–28).

Caracteres das colônias: **CYA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, aleatoriamente, concentricamente e radialmente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-3 mm), irregularmente, às vezes inteiras; micélio branco; textura flocosa e aveludada; esporulação esparsa a moderada, conídios em massa amarelo pálido acinzentado (3A3), amarelo acinzentado (4B3-4B4), amarelo pastel (2A4) na margem e verde fosco (27E4), laranja acinzentado (5B6-5B4), azul acinzentado a laranja (21C4-5A6) no centro; exsudato laranja e amarelo claro a vermelho alaranjado, pigmentos de pigmento solúvel laranja claro a amarelo claro, às vezes ausentes; reverso laranja (5A7), laranja claro (5A4) e amarelo fosco (3B3) na margem e amarelo dourado (5B7), laranja acastanhado (6C8) para laranja avermelhado (7A8) no centro. **CYA** 30 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radial e concentricamente sulcadas, crateriformes; margens baixas, estreitas (1-2 mm) irregularmente, às vezes inteiras; micélio branco; textura velutinoso e flocosa, esporulação esparsa a moderada, conídios em massa laranja (5A7), verde acinzentado (1D3), amarelo acinzentado a azeitona (2C4-2D4) e laranja claro (6A1) no centro e verde pastel (26A4) na margem; exsudato as vezes presente claro, laranja e amarelo claro, pigmento solúvel as vezes presente laranja claro inconspícuo; reverso castanho (6D8), vermelho alaranjado (8A8), laranja claro (5B7) no centro e laranja avermelhado (7A8), amarelo pastel (3A4), amarelo claro (4A5) na margem. **MEA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radial, concentricamente e aleatoriamente sulcadas, crateriformes; margens baixas, estreitas (1-2 mm) irregulares; micélio branco a branco alaranjado; textura flocosa com áreas velutinosas; esporulação moderada; conídios em massa verde escuro a acinzentado (27F4- 28C4), laranja a laranja acinzentado (5A4-5B3), amarelo acinzentado (4B3) e oliva (2E3) no centro e laranja acinzentado (6B3) na margem; exsudato presente às vezes amarelo claro a vermelho alaranjado, pigmentos solúveis ausentes; verso laranja claro (5A4), marrom a laranja avermelhado (7D6-7A8) no centro e amarelo acinzentado (4B3) e laranja avermelhado (7A8) nas margens. **YES** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radialmente e às vezes concentricamente e aleatoriamente sulcadas, às vezes crateriformes, margens baixas, estreitas (1-2 mm), irregulares e inteiras; micélio branco; textura flocosa e aveludada; esporulação esparsa a densa; conídios em massa de laranja a laranja acinzentado (6A8-6B5), oliva (2F3), amarelo a cinza oliva (4B3-3E2), cinza acastanhado (5D2); ausência de exsudato e pigmento solúvel; reverso laranja claro (5A4), laranja avermelhado (6A7-7A8), laranja (6B7) no centro e amarelo claro para amarelo claro (4A4-4A3), laranja claro (5A4) na margem. **CREA** 25 °C, 7 d: colônias com crescimento fraco a moderado. Fraca produção

de ácido. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas (2-3 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada com área flocosa; esporulação moderada a densa; conídios em massa castanho azeitona (4E3), azeitona (1E4-1F4), verde opaco (8A7-30E4) no centro e laranja (6A7) na margem; ausência de exsudato, pigmento solúvel presente às vezes incospícuo laranja acastanhado. **DG18** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, às vezes crustosas, elevadas no centro, radialmente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-3 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa a funiculosa; esporulação moderada a densa, conídios em massa verde claro (27A5), branco (1A1), turquesa acinzentada (24D5) e verde acinzentado (27C4) na margem e laranja claro (5A5) a laranja (6A7) no centro; exsudato presente às vezes laranja claro a vermelho, ausência de pigmento solúvel; reverso laranja avermelhado a vermelho alaranjado (7A8-8A8), cinza esverdeado (19B2) no centro e amarelo claro (4A3-4A4), amarelo acinzentado (1B5) na margem. **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, crateriformes, radial e aleatoriamente sulcadas; margens baixas, estreitas (2 mm), irregulares e inteiras; micélio branco; textura flocosa e velutinosa a funiculosa; esporulação esparsa a densa; conídios em massa laranja (5A7-5B8) e azul opaco a amarelo acinzentado (22E4-4B6); exsudado de laranja claro a laranja, pigmento solúvel às vezes amarelo claro incospícuo; reverso amarelo pálido (1A3), laranja avermelhado (7A8), amarelo pastel (3A4), laranja acastanhado (6C8) no centro e amarelo laranja a acinzentado (5A7-1B4) na margem. **CZ** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas (1-3 mm), irregulares; micélio amarelo acinzentado; textura aveludada; esporulação esparsa, conídios em massa laranja (5A6-5A7-6B7), amarelo acinzentado (3C3)); ausência de exsudato e pigmento solúvel; reverso amarelo claro (4A5-4B6) a laranja (6B7) no centro e cinza amarelado (2C2) na margem.

Micromorfologia AM1SO59, AMSO37 e 24.1: esclerócio ausente. *Conidióforos* estritamente monovérticilados; *estipes* lisas, septadas, 28–181 (–264) × 1,5–3 µm, às vezes vesiculadas 2–4 × 3–4 (–5) µm; *fiálides* ampuliformes, 6–12 (–13) × 1,5–3 µm; *conídios* subglobosos a globosos com paredes levemente rugosas, visivelmente conectados, 2–3 × 2–3 µm.

As principais características morfológicas que distingue os isolados AMSO37, AM1SO59 e 24.1 da espécie *P. maximae* são apresentadas abaixo na Tabela 6, em negrito.

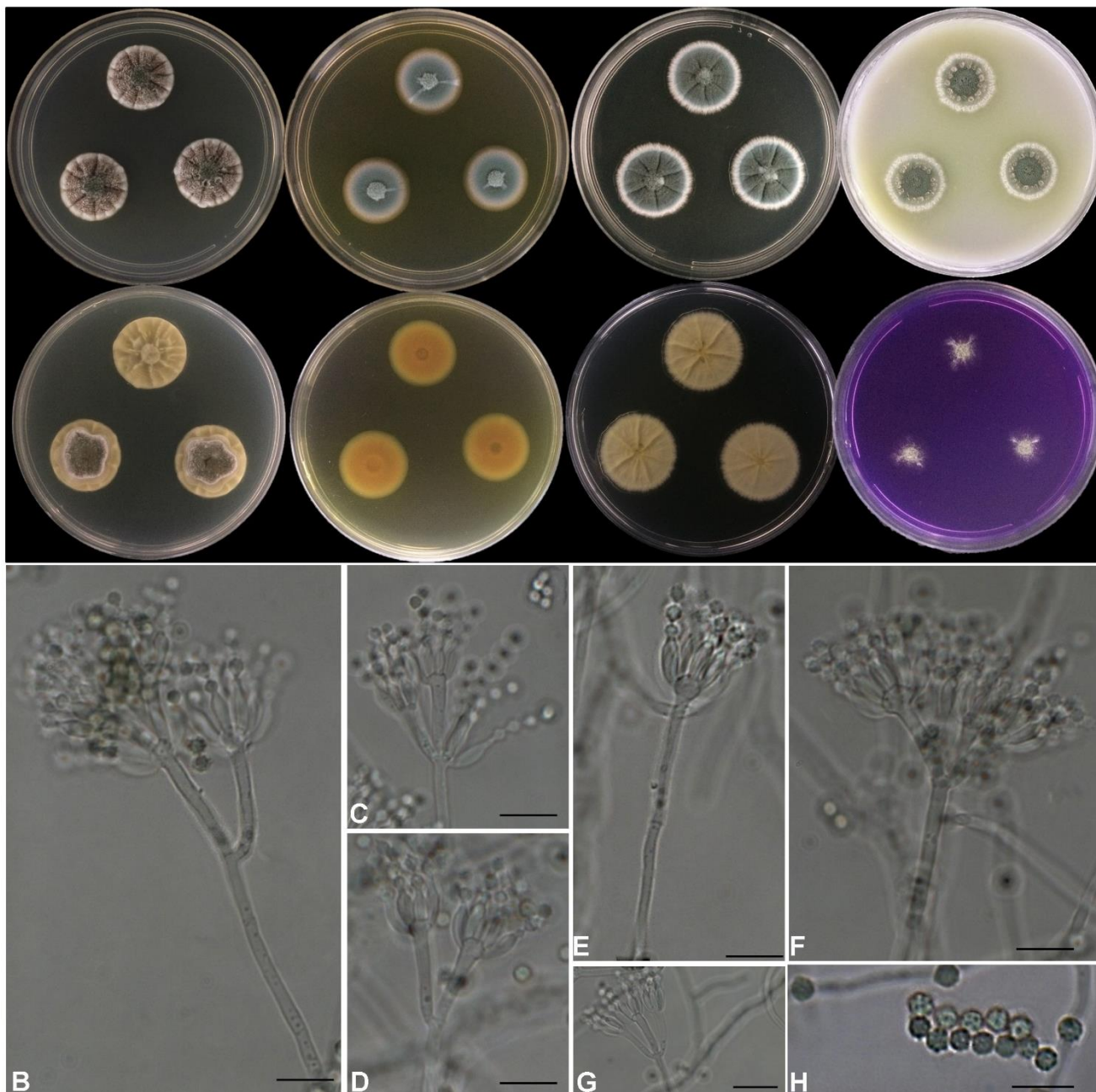
Tabela 6. Comparação de *Penicillium* ISAMSO37, ISAM1SO59 e IS24.1 com *Penicillium maximimae*

	Espécies	<i>Penicillium</i> AMSO37, AM1SO59 e 24.1	<i>Penicillium maximimae</i> CBS 134565
	CYA25°C	23–29	34–37
Crescimento radial (diam após 7 dias, em mm)	MEAbI	21–25 (–34)	
	CYA30°C	20–26	32–37
	CYA37 °C	germinou	não cresceu
	CYA5°C	germinou	não cresceu
	YES	28–34	40–43
	DG18	22–24	15–22
	CYAS	22–27	27–30
	OA	28–32	n.a
	CZ	18–24 (–28)	n.a
	CREA	10–14 (–17)	12–15.
	Acido em CREA	ausente ou fraco	ausente
Características das colônias	Pigmento solúvel em CYA	laranja claro, às vezes ausente	laranja
Caracteres microscópicos	Forma do conidióforo	estritamente monoverticilado	monoverticilado, menor proporção biverticilado
	Textura da estipe	lisas	lisa
	Comprimento/largura da estipe (µm)	28–181 (–264) × 1,5– 3	45–150 × 2–3
	Vesícula	2–4 × 3–4	n.a
	Forma da fiálide	ampuliforme	ampuliforme
	Nº de fiálides		
	Comprimento/largura da fiálide (µm)	6–12 (–13) × 1,5–3	6.5–10 × 2.5–3
	Textura do conídio	levemente rugoso	liso
	Forma do conídio	subgloboso a globoso	elipsoidal
	Comprimento/largura do conídio (µm)	2–3 × 2–3	3–3.5 × 2.5–3
	Esclerócio	ausente	n.a

Legenda: n.a – não disponível

Descrição morfológica de *Penicillium* sp. ISAMSO6, *Penicillium* sp. ISAMSO7, *Penicillium* sp. ISAMSO10, *Penicillium* sp. ISAMSO34 e *Penicillium* sp. ISAM9SO67, seção *Citrina* (Figura 10).

Figura 10. A. *Penicillium* sp. ISAMSO10 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda



para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, DG-18, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–G. Conidióforos. H. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.

Diâmetro das colônias, 7 d (em mm): CYA: 19–23; CYA 30 °C: 8–22; CYA 5 e 37°C: crescimento ausente; MEAbI: 20–24; YES: (13–) 20–25 ; DG-18: 21–25 ; CREA: 14–16 ;

OA: 21–25; CYAS: 19–22

Caracteres das colônias: **CYA** 25 °C, 7 d: Colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, às vezes crateriformes, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada e flocosa no centro; esporulação moderada a densa, conídios em massa marrom acinzentado (6D3), lilás acinzentado (15B2), oliva (1F5-1E3), verde acinzentado (27D4) a verde (28A7) na margem e verde fosco (29E3), verde profundo (27E8), cinza a cinza acastanhado (5C1-5C2), rosa acinzentado a verde escuro (12B3-28F5) no centro; exudar claro, às vezes gotas grandes grandes, pigmento solúvel às vezes amarelo claro imperceptível a amarelo vivo, reverso louro escuro a amarelo acinzentado (3C3-5D4), verde acinzentado a amarelo acinzentado (30B3-1B4) no centro e verde acinzentado a amarelo acinzentado (1C6-3C3) e verde pastel (26A4) na margem. **CYA** 30 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, às vezes crateriformes, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada a flocosa; esporulação moderada a densa, conídios em massa verde acinzentado (27E5-27C7) e laranja claro (5A4) na margem e cinza avermelhado (12B2), cinza (3C1), verde acinzentado a verde amarelado (28E6-30A7) no centro; exsudato as vezes presente amarelo claro, pigmento solúvel as vezes presente amarelo vivo, amarelo claro a amarelo esverdeado; reverso amarelo (3B8), laranja claro (5A5), amarelo fosco (3B3), amarelo acinzentado e oliva (2B4-2D5). **MEAbl** 25 °C, 7 d: colônias baixas, às vezes moderadamente profundas, ligeiramente elevadas no centro, concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras, micélio branco; textura aveludada com área flocosa; esporulação moderada a densa, conídios em massa turquesa acinzentada a verde escuro (24D3-27F5), laranja acinzentado (5B3), verde acinzentado (28D5) e verde escuro (26F6) na margem e verde escuro a verde fosco (26F4-26E3), cinza claro (1C1) no centro; exsudato ausente, pigmento solúvel presente às vezes amarelo claro a amarelo vívido imperceptível, reverso amarelo acinzentado a marrom oliva (3C4-4D5), cinza amarelado a louro (3C2-4C4) e amarelo pálido (2A3), amarelo acinzentado (3C3), marrom claro (6D6) **YES** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, crateriformes, radialmente e concentricamente sulcadas às vezes irregulares; margens baixas, estreitas (1-3 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação esparsa a moderada, conídios em massa verde acinzentado a cinza esverdeado (30B5-30D2), verde escuro (28F5), verde opaco a verde amarelado (29D3-30A7) e verde pálido (26A3); ausência de exsudato, pigmento solúvel presente às vezes amarelo dourado a amarelo acinzentado; reverso louro (4C4), amarelo acinzentado (4B5) laranja amarelado (4B7). **CREA** 25 °C, 7 d: colônias com pouco

crescimento, produção de ácido ausente. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas (2 mm), inteiras, às vezes irregulares; micélio branco; textura flocosa, às vezes velutinosa no centro e fasciculada na margem; esporulação moderada a densa, às vezes esparsa; conídios em massa cinza azulado (21D3), cinza esverdeado a verde escuro (26E2-26F4), cinza laranja (28F7-6B2) e cinza púrpura (13B2); exsudato ausente, pigmento solúvel claro, verde amarelado a amarelo acinzentado. **DG18** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, radialmente e concentricamente e irregularmente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada a flocosa; esporulação moderada a densa, conídios em massa verde a verde claro (28A6-26A5), verde (25C5), verde pastel acinzentado (25A4), cinza (2D1) com feixes brancos, exsudato ausente, pigmento solúvel amarelo às vezes laranja claro imperceptível; reverso verde amarelado (30A8-30B6), amarelo esverdeado (1A7-29A6). **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radial, concêntrica e aleatoriamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada a flocosa; esporulação esparsa, às vezes moderada a densa, conídios em massa verde acinzentado a cinza (27B6-15B1), turquesa claro (24A4), verde (28A6) e branco (25A1) na margem; cinza (25B1-24C1) no centro; exsudato presente às vezes amarelo claro, pigmento solúvel presente às vezes amarelo vivo a amarelo esverdeado; reverso verde amarelado (30A8), laranja acinzentado a amarelo acinzentado (6B4-4C5) e amarelo a azeitona (2A7-2D4).

Micromorfologia AMSO10 e AMSO34: esclerócio ausente. *Conidióforos* predominantemente biverticilados, 35 % monoverticilados, raramente divaricados ou terverticilados; *estipes* lisas, septadas 14–245 × 2–2,5 µm, vesícula em conidióforos monoverticilados 2–6 × 3–6 µm, ocasionalmente em biverticilados 3 × 3 µm; *ramos* laterais raramente presente 16–74 × 2 µm; *métulas* em vértice de 2–3, desiguais em tamanho 5–28 (–31) × 2 µm, frequentemente vesiculadas 2–5 (–6) × 3–5 (–6) µm; *fiálides* ampuliformes, de 3–12 por mételua/estipe, 6–9 × 2–2,5; *conídios* globosos, em menor proporção subglobosos, rugosos e espiculados, 2–3 × 2–3 µm.

As principais características morfológicas que distingue o isolado AMSO10 do isolado AMSO5 e da espécie *Penicillium anaticum* são apresentadas abaixo na Tabela 7, em negrito.

Tabela 7. Comparação de *Penicillium ISAMSO10* com *Penicillium ISAMSO5*, *Penicillium anaticum*, *Penicillium argentinense* e *P. euglaucum*

Espécies	<i>Penicillium</i> AMSO10	<i>Penicillium</i> AMSO5	<i>P.</i> <i>anaticum</i> CBS 479.66T	<i>P. argentinense</i> CBS H-20641	<i>P.</i> <i>euglaucum</i> CBS 323.71	
CYA25°C	19–23	19–20	18–30	21–27	23–29	
CYA30°C	18–22	21–22	23–32	22–30	21–30	
Taxa de crescimento (7d, mm)	CYA37 °C crescimento ausente	crescimento ausente	0–5	crescimento ausente	(0–)5–15	
	CYA5°C não cresceu	não cresceu	n.a	n.a	n.a	
	YES (13–) 20–25	20–22	23–30	22–29	23–30	
	DG18 21–25	24–26	20–30	14–20	23–29	
	CYAS 19–22	20–22	n.a	n.a	n.a	
	AO 21–25	21–24	n.a	n.a	n.a	
	CREA 14–16	15–17	11–18	8–14	8–16	
Características das colônias	Ácido em CREA ausente	ausente	fraco ou ausente	fraco	fraco	
	Pigmento solúvel em CYA amarelo claro a amarelo vívido	amarelo claro	amarelo forte	ausente	forte produção, amarelo	
	Forma do conidióforo	biverticilado, menor proporção monoverticilado	biverticilado, menor proporção monoverticilado	biverticilado	monoverticilado ou biverticilado	biverticilado
	Textura da estipe	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
	Comprimento/largura da estipe (µm)	14–245 × 2–2,5	(–19) 30–250 × 1,5–2	20–200 × 2–3	30–200 × 1,5–2,5	5–60 (–100)
	Vesícula (µm)	expandida no ápice 3–6	expandida no ápice	expandida no ápice	expandida no ápice 2.0–4.0	expandida no ápice 2.5–5.0
	Nº de métulas	2–3	2–3 (–4)	2–3 (–4)		2–3 (–4)
	Comprimento/largura da métula (µm)	5–28 (–31) × 2	8–26 × 2–3	10–20 × 2.0–4.0	10–20 × 1.5–3.0	10–20 × 1.5–3.0
Caracteres microscópicos	Comprimento/largura do ramo (µm)	16–74 × 2	10–45 × 2	n.a	presente	n.a
	Forma da fiálide	ampuliforme	ampuliforme	ampuliforme	ampuliforme	ampuliforme
	Nº de fiálides	3–12	3–14	n.a	n.a	n.a
	Comprimento/largura da fiálide (µm)	6–9 × 2–2,5	6–8 (–9) × 2–2,5	6.0–8.0 × 2–3	7.0–9.0 × 2–3	7.0–9.0 × 2–3
	Textura do conídio	rugoso e espiculoso	rugoso e espiculoso	levemente rugoso	liso	levemente rugoso
	Forma do conídio	globoso a subgloboso	globoso a subgloboso	globoso	globoso	globoso
	Comprimento/largura do conídio (µm)	2–3 × 2–3	2–3 × 2–3	2.3–2.8	2.0–2.5	2.0–2.5
	Esclerócio	ausente	ausente	n.a	n.a	n.a

Legenda: n.a – não disponível

Descrição morfológica de *Penicillium* sp. ISAMSO5, seção *Citrina*, (Figura 11).

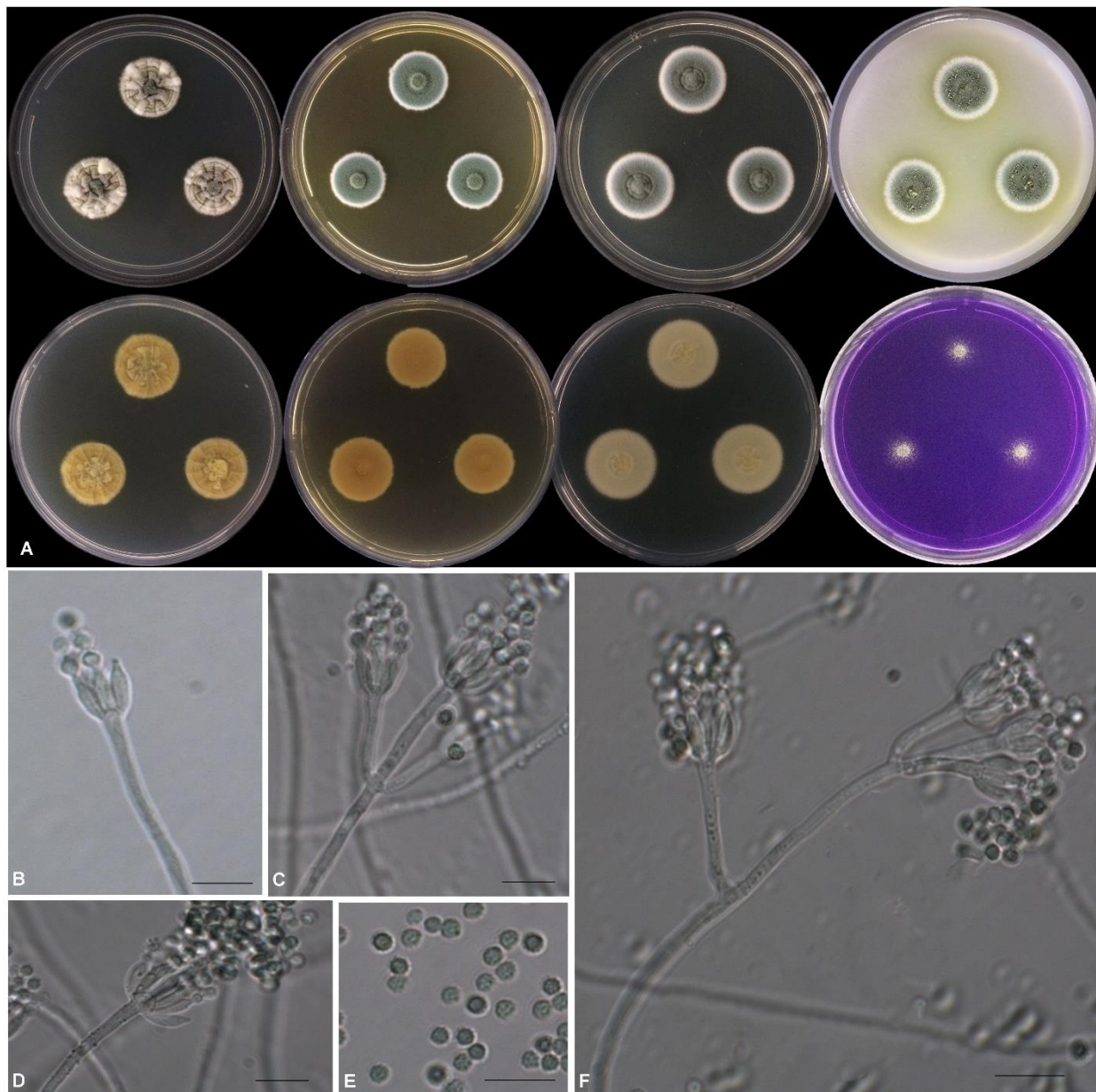


Figura 11. A. *Penicillium* sp. ISAMSO5 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, DG-18, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–D. Conidióforos. E. Conídios. F. Conidióforo com ramo. Barras de escalas = 10 μm.

Diâmetro das colônias, 7 d (em mm): CYA: 19–20; CYA 30 °C: 21–22; CYA 5 e 37°C: crescimento ausente; MEAbI: 19–22 ; YES: 20–22; DG-18: 24–26; CREA: 15–17; OA: 21–24; CYAS: 20–21.

Caracteres das colônias: **CYA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro; margens baixas, estreitas (1-2 mm) inteiras; micélio branco; textura velutinosa; esporulação moderada; conídios em massa verde acinzentado a verde amarelado (30C5-30A7) na margem e verde escuro (27F3) no centro; exsudato claro; pigmento solúvel amarelo claro, reverso amarelo claro a amarelo acinzentado (1A5-1B3). **CYA** 30 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro; margens baixas, estreitas (1-2 mm) inteiras; micélio branco; textura velutinosa com áreas flocosa no centro; esporulação moderada; conídios em massa cinza púrpura (13C2) e verde profundo (26D8) na margem e verde acinzentado (27E7) no centro; grandes gotas claras de exsudado; pigmento solúvel amarelo claro inconspícuo; reverso amarelo opaco (3B3), branco (1A1), cinza pastel (1C1) e verde escuro (27F3). **MEAbI** 25 °C, 7 d: colônias planas; elevada no centro, margens baixas, estreitas (1 mm) inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação moderada a densa; conídios em massa verde escuro (26F4-26F5); exsudato ausente, pigmento solúvel amarelo acinzentado; reverso amarelo acinzentado a marrom oliva (4C5-4D5). **YES** 25 °C, 7 d: colônias profundas, aleatoriamente sulcadas, margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação moderada; conídios em massa verde amarelado (30B7) na margem e cinza esverdeado (28D2) no centro; exsudato ausente; pigmento solúvel amarelo acinzentado (1A8); reverso amarelo (4B8). **DG-18** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas; elevadas no centro, radiais e concentricamente sulcadas, margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada com áreas floculada no centro elevado; esporulação moderada, conídios em massa verde acinzentado a cinza esverdeado (25C5-25B2); exsudato ausente, pigmento solúvel amarelo claro, reverso amarelo acinzentado (2B5-2C5). **CREA** 25 °C, 7 d: crescimento fraco, sem produção de ácido. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas (2 mm), inteiras; micélio branco; textura velutinosa no centro e fasciculada na margem; esporulação moderada a densa; conídios em massa verde escuro a verde acinzentado (28F7-28D6) e cinza púrpura (13B2); exsudato abundante claro e amarelo claro, pigmento solúvel verde amarelado. **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, às vezes elevadas no centro, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação moderada, conídios em massa cinza esverdeado a verde (27B6-27A6); exsudato ausente e pigmento solúvel inconspícuo amarelo claro; reverso verde amarelado (30A7).

Micromorfologia AMSO5: esclerócio ausente. *Conidióforos* predominantemente

biverticilados, em menor proporção monoverticilados às vezes vesiculados $3-5 \times 3-5 \mu\text{m}$, *estipes* lisas, septadas, variáveis em comprimento (–19) $30-250 \times 1,5-2 \mu\text{m}$; *ramos* laterais ocasionalmente presentes $10-45 \times 2 \mu\text{m}$; *métulas* em números 2–3 (–4), ligeiramente infladas no ápice, desiguais em comprimento, $8-26 \times 2-3 \mu\text{m}$; *fiálides* de 3-14, ampuliformes, $6-8$ (–9) $\times 2-2,5 \mu\text{m}$.; *conídios* globosos a subglobosos, rugosos e espiculados $2-3 \times 2-3 \mu\text{m}$.

As principais características morfológicas que distingue o isolado AMSO5 de *Penicillium anaticum* são apresentados abaixo na Tabela 8, em negrito.

Tabela 8. Comparação de *Penicillium ISAMSO5* com *Penicillium anaticum* CBS 476.66

Espécies	<i>Penicillium</i> AMSO5 sp. nov.	<i>P. anaticum</i> CBS 479.66 ^T
CYA25°C	19–20	18–30
CYA30°C	21–22	23–32
CYA37 °C	não cresceu	0–5
CYA5°C	não cresceu	n.a
YES	20–22	23–30
DG18	24–26	20–30
CYAS	20–22	n.a
OA	21–24	n.a
CREA	15–17	11–18
Acido em CREA	ausente	fraco ou ausente
Pigmento solúvel em CYA	amarelo claro	amarelo forte
	biverticilado, menor proporção monoverticilado	biverticilado
Forma do conidióforo		
Textura da estipe	lisa	lisa
Comprimento/largura da estipe (μm)	(–19) $30-250 \times 1,5-2$	$20-200 \times 2-3$
Vesícula	expandida no ápice	expandida no ápice
Nº de métulas	2–3 (–4)	2–3 (–4)
Comprimento/largura da métula (μm)	$8-26 \times 2-3$	$10-20 \times 2.0-4.0$
Comprimento/largura do ramo subterminal (μm)	$10-45 \times 2$	n.a
Forma da fiálide	ampuliforme	ampuliforme
Nº de fiálides	3–14	n.a
Comprimento/largura da fiálide (μm)	$6-8$ (–9) $\times 2-2,5$	$6.0-8.0 \times 2-3$
Textura do conídio	rugoso e espiculoso	levemente rugoso
Forma do conídio	globoso a subgloboso	globoso
Comprimento/largura do conídio (μm)	$2-3 \times 2-3$	$2.3-2.8$
Esclerócio	ausente	n.a

Legenda: n.a – não disponível

Descrição morfológica de *Penicillium* sp. ISAMSO2 e AMSO52, seção *Citrina* (Figura 12).

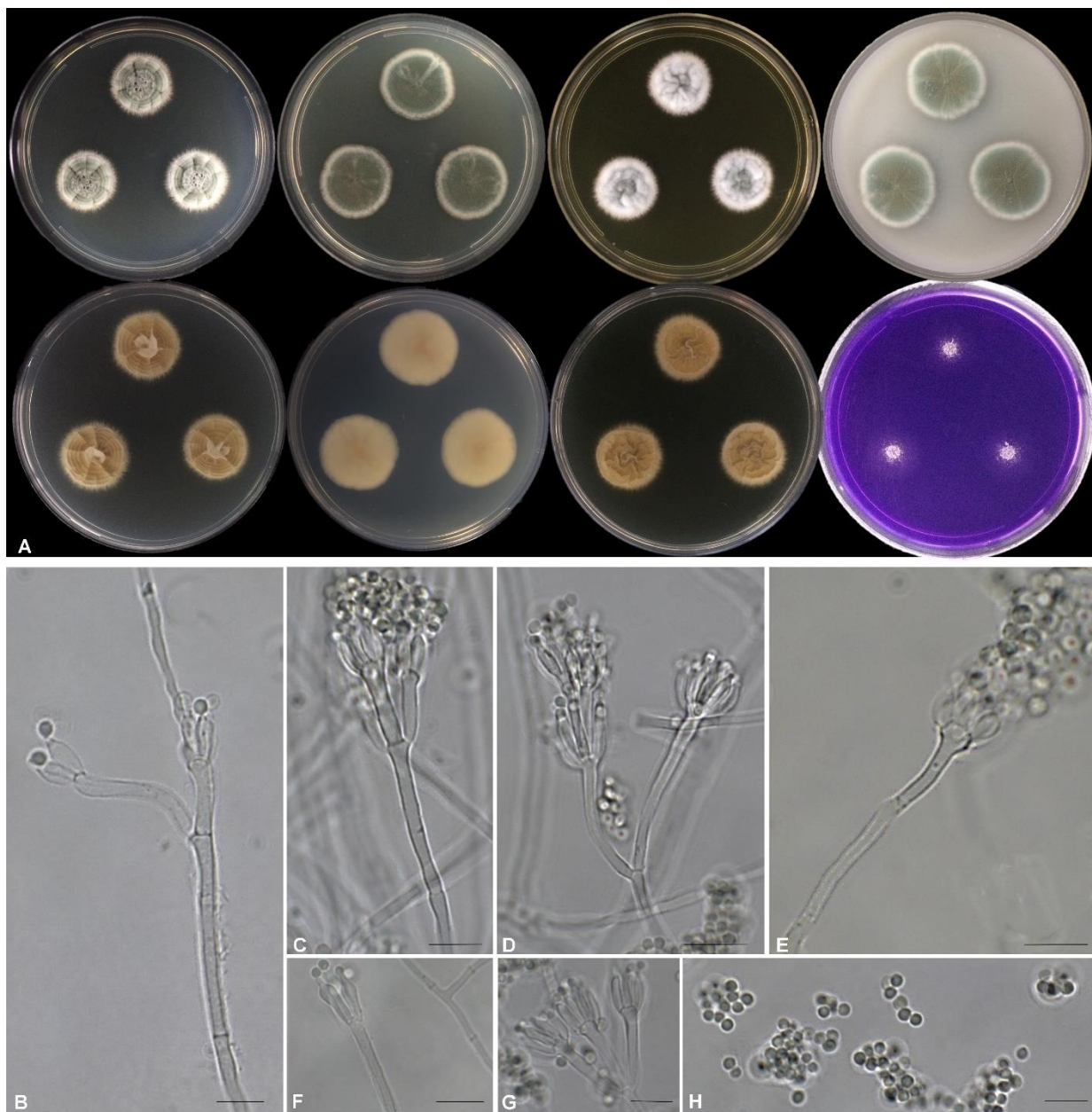


Figura 12. A. *Penicillium* sp. ISAMSO2 e ISAMSO52 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–G. Conidióforos. H. Conídios. F. Barras de escalas = 10 µm.

Diâmetro das colônias, 7 d (em mm): CYA: 21–28 (–34); CYA 30°C: 20–25; CYA 5 e 37°C: crescimento ausente; MEAbI: 25–28 ; YES: 23–31 (–34); DG-18: 16–26; CREA: 18–21; OA: 21–24; CYAS: 24–29;

Caracteres das colônias: **CYA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, radial e concentricamente sulcadas; às vezes elevadas no centro; margens baixas, estreitas (1-3 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada, às vezes com áreas flocosas na periferia; esporulação moderada a densa, conídios em massa verde acinzentado a verde fosco (26B3-27E4) na margem e amarelo acinzentado (3C3), cinza amarelado (3B2) e cinza esverdeado (27D3) no centro; exsudato as vezes presente claro, pigmento solúvel ausente, reverso marrom claro a louro claro (5D5-4C3) e laranja acastanhado (5C4). **CYA** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, crateriformes, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada .; esporulação moderada a densa, conídios em massa verde acinzentado (27C4) na margem e cinza esverdeado (27D2) no centro; exsudato às vezes presente, pigmento solúvel laranja acinzentado, reverso laranja acastanhado (5C4). **MEAbI** 25 °C, 7: colônias baixas, ligeiramente elevadas no centro; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras, micélio branco; textura velutinoso com áreas flocosa; esporulação moderada a densa, conídios em massa verde opaco a cinza esverdeado (27E4-26D2), às vezes verde fosco (27E4); ausência de exsudato e pigmento solúvel, reverso amarelo acinzentado ao verde acinzentado (4C3-29B3). **YES** 25 °C, 7 d: colônias crateriformes, moderadamente profundas, irregularmente sulcadas, algumas vezes elevadas no centro, margens baixas, estreitas (2-3 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação densa, conídios em massa verde escuro (26F4) e verdes opacos (25E3-); exsudato e pigmento solúvel ausente, reverso laranja claro (5A5) e amarelo acinzentado (4B3). **DG-18** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas; elevadas no centro, radial e concentricamente sulcado, margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura velutinoso; esporulação esparsa, conídios em massa amarelo pálido (1A3) e verde acinzentado (27C5) na margem e verde (26B8) no centro; ausência de exsudato, pigmento solúvel às vezes presente laranja claro inconspícuo, reverso amarelo acinzentado a branco amarelado (2B3-1A2), as vezes amarelo pálido (1A3). **CREA** 25 °C, 7 d: crescimento moderado sem produção de ácido. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco a laranja acastanhado; textura velutinoso; esporulação moderada a densa; conídios em massa verde pálido (26A3) a verde acinzentado (28C6); exsudato e pigmento solúvel ausente. **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, as vezes crateriforme ou elevada no centro, sulcos radiais, concêntricos e aleatórios; margens baixas, estreitas (1-3 mm), inteiras; micélio branco; textura velutinoso com área flocosa no centro; esporulação moderada a densa, conídios em massa cinza acinzentado a verde claro (27C6-27A5); exsudato ausente, pigmento solúvel às

vezes presente laranja claro inconspícuo; reverso amarelo pálido a acinzentado (4A3-4B4). *Micromorfologia* AMSO2 e AMSO52: esclerócio ausente. *Conidióforos* predominantemente biverticilados, 37% monoverticilados e raramente divaricados (7%); *estipes* septadas, lisas a finamente rugosa, 30–340 (–475) × 2–2,5 (–3) µm; *métulas* em verticilos de 2–4 por estipe, vesiculadas 2–4 × 3–5 µm, desiguais em comprimento 8–21 × 2–4 (–4,5) µm; *fiálides* ampuliformes, 3–9 por métula, 6–10 × 2–3,0 µm; *conídios* globosos, levemente elipsoidais e subglobosos, paredes lisas a finamente rugosas, 2–3 × 2–3 µm.

As principais características morfológicas que distingue os isolados AMSO2 e AMSO52 de *Penicillium sumatraense* são apresentados abaixo na Tabela 9, em negrito.

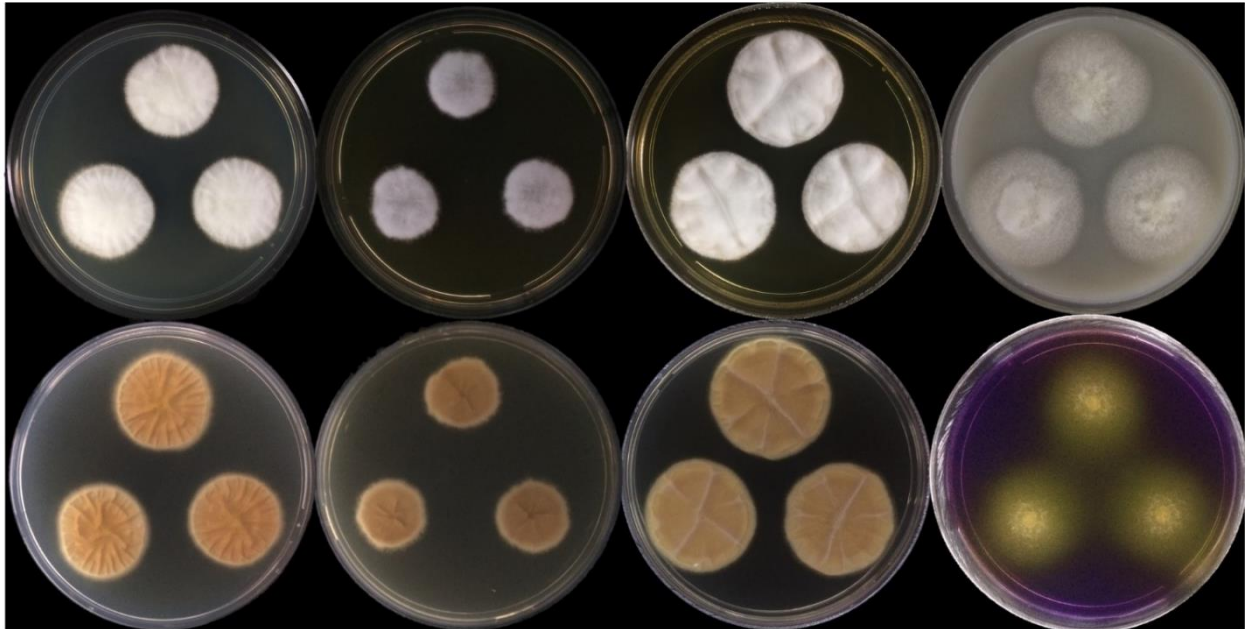
Tabela 9. Comparação de *Penicillium* AMSO2 e AMSO52 com *P. sumatraense* CBS 281.36.

	Espécies	<i>Penicillium</i> AMSO2 e AMSO52 sp.	<i>P. sumatraense</i> CBS 281.36 ^T
Crescimento radial (diam após 7 dias, em mm)	CYA25°C	21–28 (–34)	33–42
	CYA30°C	20–25	(10–) 15–25
	CYA37 °C	não cresceu	não cresceu
	CYA5°C	não cresceu	n.a
	YES	23–31	(26–) 32–42 (–47)
	DG18	16–26	(20–) 25–34
	CYAS	24–29	n.a
	OA	21–24	n.a
Características das colônias	CREA	18–21	15–23
	Acido em CREA	ausente	ausente
	Pigmento solúvel em CYA	ausente	ausente, raramente marrom claro
Caracteres microscópicos	Forma do conidióforo	biverticilado e monoverticilado	biverticilado
	Textura da estipe	lisa a finamente rugosa	lisa a finamente rugosa
	Comprimento/largura da estipe (µm)	30–340 (–475) × 2–2,5	até 200 × 2.0–3.
	Vesícula		n.a
	Nº de métulas	2–4	3–6
	Comprimento/largura da métula (µm)	8–21 × 2 – 4 (–4,5)	(10–) 12–16 × 2.0–3.0
	Comprimento/largura do ramo subterminal (µm)	ausente	presente
	Forma da fiálide	ampuliforme	ampuliforme
	Nº de fiálides	3–9	n.a
	Comprimento/largura da fiálide (µm)	6–10 × 2–3	8.0–10 × 2–3.5
	Textura do conídio	liso a levemente rugoso	lisa
	Forma do conídio	globoso, lev. elipsoidal e subgloboso	subgloboso a elipsoidal
	Comprimento/largura do conídio (µm)	2–3 × 2–3	2.0–2.5
Esclerócio	ausente	n.a	

Legenda: n.a – não disponível

Descrição morfológica de *Penicillium* sp. AMSO19, seção *Lanata-Divaricata* (Figura 13).

Figura 13. A. Isolado de *Penicillium* sp. ISAMSO19 após 7 dias em meios de cultura a 25 °C,



da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, YES, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA.

Diâmetro das colônias, 7 d (em mm): CYA: 31–34; CYA 5 e 37°C: crescimento ausente; MEAbI: 21–24 ; YES: 26–28; DG-18: 14–16; CREA: 24–28 ; OA: 34–37; CYAS: 19–20.

Caracteres das colônias: **CYA 25 °C, 7 d:** colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, radial, concêntrica e aleatoriamente sulcadas; margens baixas, largas (3-7 mm), inteiras; micélio branco; textura de lanose a flocosa; esporulação esparsa, conídios em massa branco (1A1); exsudato ausente, pigmento solúvel inconspícuo, reverso laranja acinzentado (5B5). **CYA 30 °C, 7 d:** colônias moderadamente profundas, ligeiramente elevadas no centro, radialmente sulcadas; margens baixas, estreitas (1-2,5 mm), inteiras; micélio branco; textura lanosa a flocosa; esporulação esparsa, conídios em massa branco (1A1); pequenas gotículas de exsudato claro, pigmento solúvel inconspícuo laranja claro, reverso laranja acinzentado a vermelho pastel (5B4-7A5). **MEAbI 25 °C, 7 d:** colônias moderadamente profundas, radialmente sulcadas; margens baixas, estreitas (2 mm), inteiras; micélio branco; textura de lanose a flocosa; esporulação esparsa, conídios em massa cinza claro (1B1); exsudato e pigmento solúvel ausente, reverso laranja acinzentado (5B6). **YES 25 °C, 7 d:**

colônias moderadamente profundas, radialmente sulcadas, margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação esparsa; conídios em massa cinza azulado (22B3); exsudato ausente; pigmento solúvel inconspícuo; reverso amarelo acinzentado (4B4).. **DG18** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, ligeiramente elevadas no centro, radialmente sulcadas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação esparsa a levemente moderada, conídios em massa turquesa claro (24A4) e verde pastel (28A4); exsudato e pigmento solúvel ausente; reverso amarelo claro a verde claro (3A3-29A5). **CREA** 25 °C, 7 d: bom crescimento com abundante produção de ácido. **OA** 25 °C, 7 d: colônias baixas, elevadas no centro; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação esparsa a levemente moderada; conídios em massa amarelo pastel (1A4); exsudato e pigmento solúvel ausente. **CYAS** 25 °C, 7 d: colônias moderadamente profundas, às vezes elevadas no centro, radialmente sulcadas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação esparsa, conídios em massa verde acinzentado (25C3) e branco (25A1); ausência de exsudato e pigmento solúvel; reverso amarelo claro a amarelo opaco (3A3-3B3).

As principais características morfológicas que distingue o isolado AMSO19 de *Penicillium globosum* são apresentados abaixo na Tabela 10, em negrito.

Tabela 10. Comparação de *Penicillium* sp. AMSO19 com a espécie próxima *P. globosum*

	Espécies	<i>Penicillium</i> AMSO19	<i>Penicillium globosum</i>
Crescimento radial (diam após 7 dias, em mm)	CYA25°C	31–34	21–22
	MEAbl	21–24	n.a
	CYA30°C	27–28	27–37
	CYA37 °C	não cresceu	3–7
	CYA5°C	não cresceu	n.a
	YES	26–28	17–19
	DG18	14–16	14–15
	CYAS	19–20	14–15
	OA	34–37	n.a
	CREA	24–28	17–20
Características das colônias	Acido em CREA	forte	moderado
	Pigmento solúvel em CYA	inconspícuo	ausente
	Exudato em CYA	ausente	claro
	Conidio em massa	branco, cinza e tuquesa claro	verde opaco a acinzentado e cinza esverdeado
	Grau de esporulação em CYA, MEA e DG-18	esparsa	moderada a densa

Legenda: n.a – não disponível.

Descrição morfológica de *Penicillium* AM5SO64, seção *Citrina* (Figura 14)

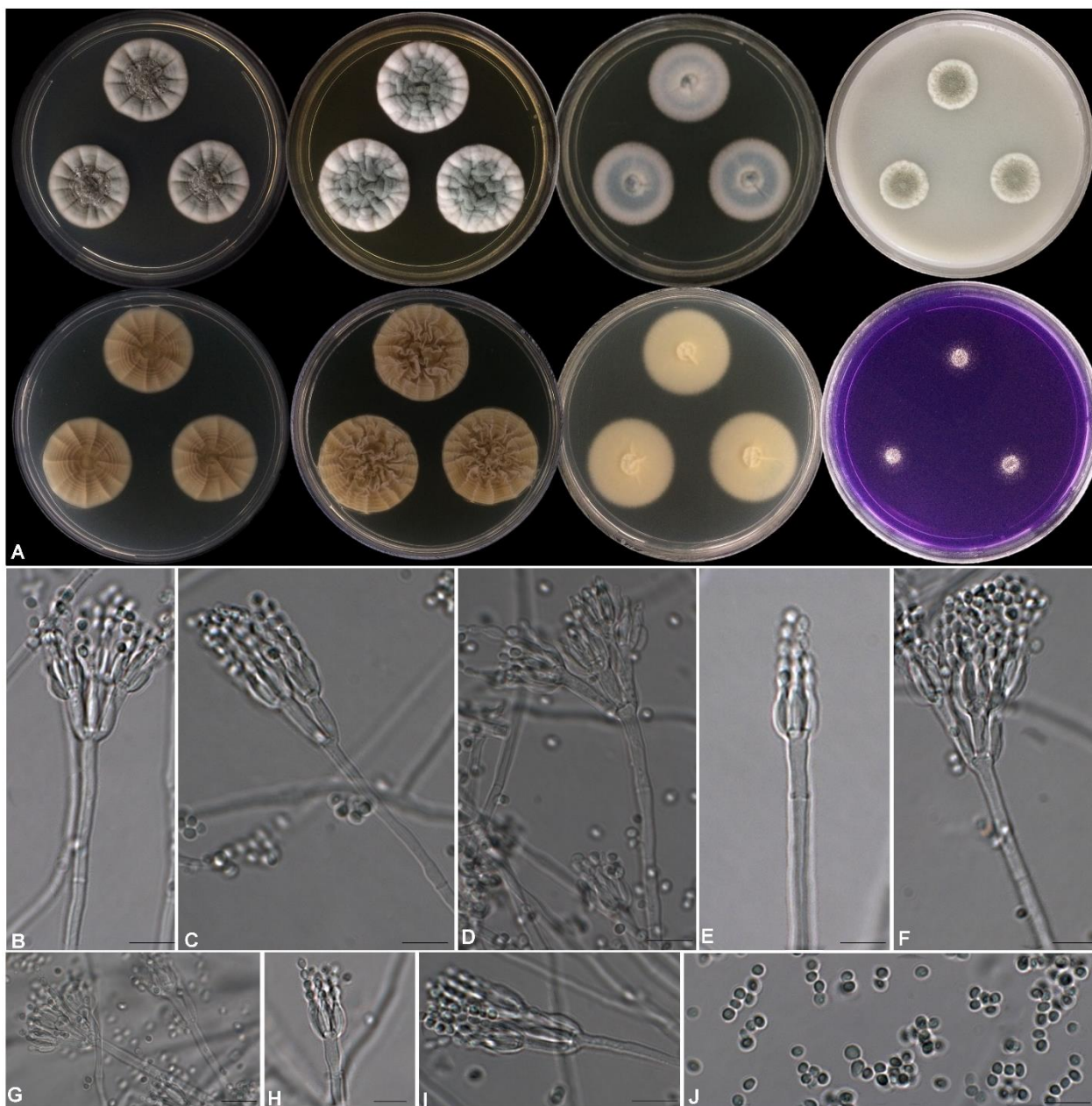


Figura 14. A. Isolados *Penicillium* sp. ISAM5SO64 *Penicillium* sp. após 7 dias em meios de cultura a 25 °C, da esquerda para direita, primeira fila, todos em verso CYA, MEAbI, DG-18, OA; segunda fila, reverso de CYA, reverso de MEAbI, reverso de YES e verso de CREA. B–I. Conidióforos. J. Conídios. Barras de escalas = 10 µm.

Diâmetro das colônias, 7 d (em mm): CYA: 25–27 ; CYA 30 °C: 25–29; CYA 5 e 37°C: crescimento restrito 2–7; MEAbI: 18-19 ; YES: 28–30 ; DG-18: 29–33 ; CREA: 13–15; OA: CYAS: 24–28

Caracteres das colônias: **CYA 25 °C**, 7 d: colônias profundas, às vezes elevadas no centro, crateriformes, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio imperceptível; textura aveludada; esporulação esparsa a moderada, conídios em massa verde claro a verde acinzentado (27A5-27C5); exsudato claro, às vezes abundante; pigmento solúvel ausente; reverso amarelo opaco (3B3). **CYA 30 °C**, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, radial, concêntrica e aleatoriamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio inconspícuo; textura aveludada; esporulação esparsa a moderada, conídios em massa verde claro a verde acinzentado (26D5); pequenas gotículas de exsudato de cor clara ou amarela clara; pigmento solúvel inconspícuo amarelo claro; reverso amarelo opaco (3B3). **MEAbI 25 °C**, 7 d: colônias baixas, ligeiramente elevadas no centro; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras, micélio branco; textura flocosa; esporulação densa, conídios em massa verde fosco (26D4-26D3); ausência de exsudato e pigmento solúvel, laranja claro reverso (5A5). **YES 25 °C**, 7 d: colônias moderadamente profundas, elevadas no centro, radial, concêntrica e aleatoriamente sulcadas; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada; esporulação moderada, conídios em massa verde claro a verde acinzentado (27B5); ausência de exsudato e pigmento solúvel; reverso amarelo acinzentado (4B5). **DG-18 25 °C**, 7 d: colônias moderadamente profundas, radial e concentricamente sulcadas; margens baixas, estreitas (2 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa; esporulação densa, conídios em massa verde opaco a verde acinzentado (25C5-25E5); ausência de exsudato e pigmento solúvel, reverso verde acinzentado (30B4). **CREA 25 °C**, 7d: crescimento fraco, sem produção de ácido. **OA 25 °C**, 7d: colônias baixas, planas; margens baixas, estreitas (1-2 mm), inteiras; micélio branco; textura aveludada com áreas flocosa no centro; esporulação esparsa a moderada; conídios em massa verde acinzentado (28D7) no centro e verde claro (25A3) na margem; exsudato claro, pigmento solúvel ausente. **CYAS 25 °C**, 7d: colônias profundas, crateriformes, às vezes elevadas no centro, sulcos radiais, concêntricos e aleatórios; margens baixas, estreitas (1 mm), inteiras; micélio branco; textura flocosa a velutinosa; esporulação densa, conídios em massa verde fosco (25D4-25D3); ausência de exsudato e pigmento solúvel, reverso amarelo pálido (2A3).

Micromorfologia AM5SO64: conidióforos biverticilados, raramente monoverticilados e terverticilados; ocasionalmente com ramos adicionais; *estipes* de (26-) 43–424 µm de comprimento, paredes lisas, 2,0–3,0 µm de largura; *métulas* em vértices de 2–5, desiguais em comprimento, 8–18 (–21) × 2,0–3,0 µm; *fialides* ampuliforme, de 2–9 por métula, 7,0–

9,0 (-10) × 2–3 µm; *conídios* levemente elipsoidais, subglobosos a globosos, lisos a levemente rugosos, 2,0–3,0 × 2–2,5 µm.

As principais características morfológicas do registro de ocorrência AM5SO64 e do tipo da espécie *Penicillium shearii* CBS 290.48 são apresentados abaixo na Tabela 11. Diferenças encontradas estão em negrito.

Tabela 11. Comparação entre o registro de ocorrência *Penicillium* AM5SO64 e *P. shearii* CBS 290.48

	Espécies	<i>Penicillium</i> AM5SO64	<i>Penicillium shearii</i> CBS 290.48
Crescimento radial (diam após 7 dias, em mm)	CYA25°C	25–27	28–40
	CYA30°C	25–29	n.a
	CYA37 °C	2-7	(0–) 5–19
	CYA5°C	não cresceu	n.a
	YES	28–30	25–37
	DG18	29–33	28–37
	CYAS	24–28	n.a
	OA	17–18	n.a
	CREA	13–15	10–20
Características das colônias	Acido em CREA	ausente	ausente
	Pigmento solúvel em CYA	ausente	ausente
	Forma do conidióforo	biverticilado	biverticilado
Caracteres microscópicos	Textura da estipe	lisa	lisa
	Comprimento/largura da estipe (µm)	(26–) 43–424	100–500
	Nº de métulas	2–5	2–5 (-8)
	Comprimento/largura da métula (µm)	8–18 (-21)	10–14 × 2.0–3.0
	Forma da fiálide	ampuliforme	ampuliforme
	Nº de fiálides	2–9	n.a
	Comprimento/largura da fiálide (µm)	7,0–9,0 (-10) × 2–3	7.0–9.0 × 2–3
	Textura do conídio	liso, raramente levemente rugoso	liso
	Forma do conídio	levemente elipsoidal, subgloboso a globoso	subgloboso e elipsoidal
	Comprimento/largura do conídio (µm)	2,0–3,0 × 2–2,5	2.5–3.0 × 1.8–2.5

Legenda: n.a – não disponível

4. Discussão

O cerrado é a savana que apresenta maior riqueza em diversidade botânica do mundo e serve de lar para muitas espécies de plantas e animais endêmicos que estão ameaçados de extinção (KLINK; MACHADO, 2005). O bioma é considerado um *hotspot* para políticas de conservação que abriga uma reserva de biodiversidade constantemente ameaçada de destruição pela expansão da fronteira agropecuária e ocupação humana (biodiversidade (MAYERS et al., 2000). Apesar da considerável biodiversidade relatada para as espécies botânicas e de animais que ocorrem no bioma, poucos esforços foram feitos para descrever a diversidade micológica do ecossistema. Com solos altamente intemperizados, ácidos, e combinados com altas concentrações de alumínio tornam essas savanas ecorregiões únicas para prospecção de novas espécies fúngicas (CASTRO et al., 2016). Neste estudo, foram identificadas cinco novas espécies de *Penicillium* das seções *Citrina*, *Lanata-Divaricata* e *Screrotiorum* e um registro de ocorrência da espécie *Penicillium shearii*.

As espécies de *Penicillium* são notoriamente conhecidas pela sua importância biotecnológica e ambiental. As espécies são utilizadas na indústria alimentícia e de medicamentos, além de produzir enzimas com valor comercial (CARON et al, 2021; DEMAIN & MARTENS, 2017). Na natureza, decompõem principalmente a celulose, pectinas e quitinas presentes no solo, garantindo a ciclagem da matéria orgânica (CORONADO-RUIZ et al., 2018). As espécies descritas neste estudo foram isoladas em meio de cultivo de celulose como única fonte de carbono e podem apresentar enzimas com potencial para bioprospecção na degradação do biopolímero.

Citrina é uma das seções de *Penicillium* com maior número de espécies descritas (42), seus membros são abundantes em muitos locais e apresentam ampla distribuição mundial (VISAGIE et al., 2014a; HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2010) A maioria das espécies descritas na seção foram isoladas em solos, assim como as novas espécies descritas neste estudo. Embora frequentemente habitem o solo, representantes de *Citrina* possuem distribuição ubíqua e são encontrados em serapilheira, alimentos e ambientes internos (HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2010; HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2011; SAMSON et al., 2019).

Os isolados pertencentes a seção *Citrina* apresentaram posicionamento taxonômico único nas árvores filogenéticas geradas com os genes *benA*, *CaM* e *RPB2* (Figura 1, 2 e 3). Em *Penicillium*, clados bem suportados gerados por análises filogenéticas das regiões *BenA*,

CaM e *RPB2*, geralmente indicam grupos naturais de espécies que podem ser agrupados em um subgênero, seção ou série (VISAGIE et al., 2014). Portanto, a classificação baseada em séries é valiosamente útil para inferir possíveis caracteres funcionais que a espécie pode conter (HOUBRAKEN et al., 2020). Os isolados AMSO2 e AMSO52 pertencem a série *Sumatraensia*, e representam a segunda espécie incluída na série. A série *Sumatraensia* pode ser filogeneticamente diagnosticada pertencendo ao subgênero *Aspergilloides*, seção *Citrina*, e relacionada com a série *Copticolorum*. Em relação a morfologia e fisiologia, apresenta colônias com crescimento moderado ou rápido; conídio em massa verde azulado, verde fosco a verde escuro; os conidióforos são predominantemente biverticilados e com paredes lisas; conídios subglobosos a amplamente elípticos, finamente rugosos; não crescem a 37 °C. A morfologia sexual da série é desconhecida; escleródios ausentes (HOUBRAKEN et al., 2020). Os isolados AMSO2 e AMSO52 também apresentam colônias com crescimento rápido a moderado, conídio em massa verde acizentado, verde fosco e amarelo acizentado (Figura 12), diferem de *P. sumatraense*, pois apresentam colônias menores em CYA, YES e DG-18; conidióforos biverticilados e 1/3 monoverticilados, sem ramificações (Tabela 9).

O conjunto de dados obtidos mostram que *Penicillium anatolicum* e o isolado AMSO5 estão intimamente relacionados e ambas as espécies são filogeneticamente distintas. O isolado AMSO5 está junto em um ramo bem suportado estatisticamente (benA=100%; CaM=99%) com as espécies *Penicillium euglaucum*, *P. anatolicum* e *P. argentinense* (Figuras 4 e 5). Esse clado refere-se a recém implementada série *Euglauca* que permanece com relação filogenética dentro da seção ainda não resolvida (HOUBRAKEN et al., 2020). Assim como as demais espécies desta série, o isolado AMSO5 apresenta colônias com crescimento rápido a restrito, possui conidióforos biverticilados e monoverticilados e conídios globosos a subglobosos. O isolado é o primeiro da série a apresentar conídios estritamente rugosos e espiculados. A espécie *Penicillium anatolicum* apresenta colônias maiores em CYA (25 °C e 30 °C) e YES (HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2011) em relação ao isolado AMSO5. Além disso, *P. anatolicum* apresenta estipe e métulas mais largas e conídios lisos.

Recentemente, *Penicillium vascosobrinhoui*, fungo endofítico isolado de *Melocactus zehntneri* do bioma Caatinga foi introduzido a série *Euglauca* por BARBOSA et al. (2020). Embora a espécie faça parte da série *Euglauca*, suas sequências não foram utilizadas nas análises filogenéticas neste estudo devido a espécie possuir identidade inferior a demais espécies de outras séries após BLASTn de *CaM* e *BenA*, evidenciando um erro de incorporação das sequências na plataforma NCBI. Além disso, a espécie consta identificada

como *Penicillium citrinum* na base de dados.

Com excessão de *P. vascosobrinhous*, o solo parece ser o principal habitat para as espécies da série *Euglauca*. *Penicillium argentinense* e *Penicillium euclaucum* foram isolados de solos na Argentina, enquanto *Penicillium anaticum* foi documentado em solos da Túrquia, EUA e África do Sul (HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2011). O isolado AMSO5 foi isolado de solos do Cerrado do oeste baiano. As espécies da série *Euglauca*, portanto, estão distribuídas em quatro continentes do globo.

Um grupo de isolados de *Penicillium* (AMSO6, AMSO7, AMSO10, AMSO34, AM9SO67) não pode ser atribuído a qualquer espécie descrita de acordo com as análises de *benA*, *CaM* e *RPB2*. Os isolados são filogeneticamente relacionados, mas distinto das espécies da série *Euglauca* e do isolado AMSO5. O isolado AMSO10 é distinto de *Penicillium anaticum* nas seguintes características: possui colônias menores em CYA a 25 e 30 °C, não cresce a 37 °C, apresenta conidióforos bi e monoverticilados, métulas com menor e maior amplitude de crescimento e conídios rugosos e espiculados. Em relação a *Penicillium argentinense*, difere na taxa de crescimento em CYA 30 °C apresentando colônias menores, e em DG-18 e CREA as colônias são mais amplas em diâmetro, microscopicamente difere no tamanho da vesícula da do conidióforo e na textura do conídio. Comparado a *Penicillium euclaucum* apresenta colônias menores em CYA e não cresce a 37 °C, possui conidióforos monoverticilados e com estipes maiores. (Tabela 7). Nas filogenias de *BenA* e *CaM*, o grupo de isolados de *Penicillium* agrupam em um mesmo clado com a cepa *Penicillium* sp. CCDCA11333. Esta cepa está descrita como *Penicillium sulcatus* na tese de SOUZA (2018), porém não publicada. A cepa *Penicillium* sp. CCDCA11333 possui micromorfologia muito semelhante ao grupo de isolados descritos neste estudo diferindo basicamente na textura dos conídios que são lisos em *Penicillium* sp. CCDCA11333 e rugosos a espiculado para as cepas AMSO6, AMSO7, AMSO10, AMSO34 e AM9SO67. A cepa *Penicillium* sp. CCDCA11333 apresenta diâmetro em CYA 25°C: 24-26; YES 25°C 47-51; CREA: 17-19 enquanto nossos isolados possuem em CYA 25°C: 19-23; YES 20-25 e CREA: 14-16. Essas diferenças morfológicas podem estar atreladas as diferentes condições de adaptação dos isolados visto que a cepa *Penicillium* sp. CCDCA11333 foi isolada de solos de canga (afloramentos intemperizados de rochas ferruginosas) (SOUZA, 2018). Esses dados apontam a plasticidade fisiológica da nova espécie e sua distribuição em diferentes ecossistemas.

Morfologicamente os isolados AMSO6, AMSO7, AMSO10, AMSO34, AM9SO67 não apresentam características significativamente distinta do isolado AMSO5 e podem

representar espécies crípticas em *Penicillium*. AMSO5 apresenta ramos subterminais do conidióforo menores em comprimento em relação ao grupo de isolados. Porém o carácter comprimento de ramos é filogeneticamente pouco informativo para as espécies de *Citrina* (HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2011).

O isolado AM5SO64 representa um registro de ocorrência para a espécie *Penicillium shearii* de acordo com as árvores filogenéticas geradas com *BeA*, *CaM* e *RPB2* (Figuras 4, 5 e 6). A espécie *Penicillium shearii* pode ser diagnosticada pela produção de abundante produção de cleistotécio cinza escuro, apresenta crescimento a 37 °C e produz ascósporos após longo período de incubação (HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2011). *Penicillium shearii* ocorre em ramo único e a relação com outros membros da seção *Citrina* permanece incerta. A espécie sozinha compõe a série *Sheariorum* (HOUBRAKEN et al., 2020). *P. shearii* é filogeneticamente relacionado a *Penicillium paxilli*, mas possui algumas diferenças pois cresce em CYA 15, 30 e 37 °C, as colônias são maiores em YES. O isolado AM5SO64 é similar a *P. shearii* na maioria dos caracteres morfológicos, diferindo apenas no crescimento em CYA 25 °C: 25-27 mm, enquanto *P. shearii* possui em CYA 25 °C: 28-40 mm. Na micromorfologia, o comprimento do conidióforo de AM5SO64 varia de (26–) 43–424 µm, já em *P. shearii* varia de 100–500 µm. (HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2011). A espécie apresenta amplamente distribuída e foi isolada principalmente em solos da Tanzânia, Malásia, Portugal, Honduras, México, Papua-Nova Guiné, em campos de mandioca na Colômbia e em mel, pólen e coméia de abelhas no Brasil (HOUBRAKEN; FRISVAD & SAMSON, 2011; BARBOSA et al., 2018; HOUBRAKEN et al., 2020).

De acordo com a filogenia dos genes *BenA* e *CaM*, os isolados AM1SO59, AMSO37 e 24.1 representam uma nova espécie para a seção *Sclerotiorum*. Em ambas as árvores, o isolado AMSO37 oriundo do cerrado é filogeneticamente mais próximo ao isolado 24.1 oriundo da restinga. A provável nova espécie portanto está distribuída e adaptada em dois ecossistemas que diferem em condições climáticas, fatores edáficas, físicos e químicos do solo. Contudo o isolado AM1SO59 na filogenia do gene *RPB2* agrupou filogeneticamente com a espécie *Penicillium austrosinicum*. Situação similar dentro da seção ocorre com a espécie *Penicillium nodositatum* que compartilha sequências parciais idênticas de *RPB2* com *Penicillium bilaiiae* e podem representar espécies coespecíficas. Em contrapartida, Alinhamentos oriundos de conjuntos de dados de *CaM* e *BenA* contém um alto número de indels com importante sinal filogenético (HOUBRAKEN et al., 2020). Além disso, os bancos de dados disponíveis para β -tubulina e calmodulina são muito maiores e abrangem um espectro mais amplo da diversidade em *Sclerotiorum*.

Houbraken & Samson (2011) introduziram a seção *Sclerotiora* em *Penicillium* para o 'clado 2' formado com base em filogenia multigênica e aceitaram 17 espécies. As colônias dos membros da seção são pigmentadas em tons de amarelo e / ou laranja, e reverso em tons de amarelo, laranja ou vermelho. Escleródios e cleistotécios quando presentes apresentam cores brilhantes. Os caracteres morfológicos são particularmente informativos para a seção sendo possível a identificação das espécies utilizando apenas a morfologia (VISAGIE et al., 2013). A seção é bem suportada filogeneticamente e possui três grandes clados que correspondem as séries *Adametziorum*, *Herqueorum* e *Sclerotiorum*. Com frequência as características microscópicas são filogeneticamente precisas, os membros da série *Herqueorum* possuem conidióforos biverticilados, em contraste com as demais espécies das séries *Sclerotiorum* e *Adametziorum*, que são monoverticiladas (HOUBRAKEN et al., 2020). Os isolados AMSO37, 24.1 e AMISO59 pertencem a série *Sclerotiorum* e assim como as demais espécies da série produzem conidióforos monoverticilados, colônias em cores laranja, ausência de pigmento solúvel, exudato vermelho a alaranjado em diferentes meios, conídios subglobosos a globosos com parede levemente enrugada, além de germinar a 5 °C e 37 °C. Os isolados apresentam algumas diferenças com a espécie filogeneticamente relacionada, *Penicillium maximae* (VISAGIE et al., 2013), tais como: colônias em menor diâmetro em CYA 25 °C, CYA 30 °C, YES e CYAS e maiores em DG-18; conidióforos estritamente monoverticilados e maiores, além de diferir na textura e forma do conídio (Tabela 6).

No Brasil foram descritas 7 novas espécies de *Penicillium* da seção *Sclerotiorum*: *Penicillium restingae* isolado do solo do ecossistema restinga na Bahia (CROUS et al., 2014), *Penicillium fernandesiae*, *Penicillium mellis*, *Penicillium meliponae* são oriundos de mel, pólen e ninhos de abelhas sem ferrão (BARBOSA et al., 2018), *Penicillium reconxoveloosi* de material de serrapilheira (CROUS et al., 2019) *Penicillium barbosa* e *Penicillium limae* de solo de canaviais em área desmatada de Mata Atlântica de Pernambuco (RAMOS et al., 2021). As espécies pertencentes a seção ocorrem regularmente e são abundantes em substratos expostos ao solo. A região Nordeste pode representar um local prevalente para a ocorrência e distribuição de espécies de *Sclerotiorum*.

A seção *Lanata-divaricata* é uma seção rica em espécies em *Penicillium* com 76 representantes descritos. A nova espécie da seção *Lanata-Divaricata* apresentada nesse estudo pertence a série *Simplicissima* (HOUBRAKEN et al., 2020). As análises filogenéticas geradas com *BenA* e *CaM* indicam o isolado AMSO19 corresponde a uma nova espécie de *Penicillium* próxima a *Penicillium globosum*. O isolado AMSO19 difere nas seguintes

características morfológicas: apresentam colônias maiores em CYA 25 °C, YES, CYAS e CREA e menor diâmetro em CYA 30 °C (Tabela 10). *P. globosum* apresenta crescimento em CYA a 37 °C, produz ácido em CREA moderado, produz exudato e a esporulação varia de moderada a densa (DIAO et al., 2018), enquanto o isolado AMSO19 possui forte produção de ácido, não apresenta exudato e o grau de esporulação é esparsa. As características microscópicas não foram comparadas pois o isolado AMSO19 não produziu estruturas assexuadas nos meios padrões CYA e Meabl. Recentemente, a nova espécie descrita *Penicillium sexuale* da seção Crypta também não apresenta produção de estruturas assexuadas em diversos meios de cultura avaliados, reproduzindo-se apenas sexualmente após três meses (RODRÍGUEZ-ANDRADE; STCHIGEL & CANO-LIRA., 2021)

DIAO et al (2018), introduziram 11 (incluir nome das espécies) novas espécies na seção *Lanata-divaricata* que preferem ou toleram ambientes ácidos. As espécies foram coletadas de solos ácidos (pH 4-6,5) em regiões tropicais e subtropicais da China. Os solos do cerrado do oeste baiano apresentam pH (4-6,4) (FONTANA et al., 2016) bastante similar ao solo das espécies descritas por DIAO et al (2018). É provável que o isolado AMSO19 também tolere ambientes ácidos, já que os solos do Cerrado apresentam pH baixo. A cepa pode possuir provável potencial biotecnológico já que foi isolado em meio celulolítico e pode compartilhar a característica de tolerar ou preferir ambientes ácidos assim como a espécie próxima mais próxima.

Em apenas seis anos 129 espécies novas foram incluídas ao gênero *Penicillium*. Esse acréscimo pode estar relacionado ao acesso a biodiversidade por meio de novos ambientes com singularidades ecológicas que potencialmente apresentam espécies desconhecidas. *Penicillium vascosobrinhou* foi descrita recentemente como uma nova espécie endofítica da seção *Citrina* isolada do bioma caatinga, região com temperaturas elevadas e ciclo de chuvas irregulares (BARBOSA et al., 2020). *Penicillium excelsum* da seção *Lanata-Divaricata* foi isolado do ecossistema de castanha-do-pará na Bacia Amazônica (TANIWAKI et al., 2015). *Penicillium ulleungdoense*, da seção *Sclerotiorum* também representa uma nova espécie endofítica isolada na ilha vulcânica Ulleung, na Coreia do Sul (CHOI et al., 2021). Além de 13 novas espécies oriundas de solos ácidos da China e 4 espécies novas xerofílicas da Espanha foram incluídas na seção *Lanata-Divaricata* (DIAO et al., 2018; RODRÍGUEZ-ANDRADE; STCHIGEL; CANO-LIRA, 2021).

5. Conclusão

O bioma cerrado confirmou ser um ambiente que abriga diferentes espécies de *Penicillium* provenientes de distintas seções. Neste trabalho foram identificadas cinco novas espécies das seções *Citrina*, *Lanata-Divaricata* e *Sclerotiora* e um registro de ocorrência da espécie *Penicillium shearii*. O bioma apresenta um potencial local para a descrição de novas espécies fúngicas.

6. Referências

- ALHO, C. J. The value of biodiversity. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, p.1115–1118, 2008.
- ANDRADE, E. R.; STCHIGEL, A. M.; LIRA, J. F. C. New xerophilic species of *Penicillium* from soil. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 126, 2021.
- ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T. L.; SCHÄFFER, A. A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic acids research**, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.
- BARBOSA, R. N.; SOUZA-MOTTA, C. M.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A.; OLIVEIRA, N. T.; HOUBRAKEN, J. New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and nests of stingless bees. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 111, n. 10, p. 1883-1912, 2018.
- BARBOSA, R. D. N.; BEZERRA, J. D. P.; SANTOS, A. C. D. S.; MELO, R. F. R.; HOUBRAKEN, J.; OLIVEIRA, N. T.; SOUZA-MOTTA, C. M. D. Brazilian tropical dry forest (Caatinga) in the spotlight: an overview of species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* (Eurotiales) and the description of *P. vascosobrinhou* sp. nov. **Acta Botanica Brasílica**, v. 34, p. 409-429, 2020.
- BRECCIA, J. D.; CASTRO, G. R.; BAIGORI, M. D.; SENERIZ, F. Screening of xylanolytic bacteria using a colour plate method. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 78, n. 5, p. 469-472, 1995.
- BUSTAMANTE, M. M. D. C.; NARDOTO, G. B.; PINTO, A. D. S.; RESENDE, J. C. F.; TAKAHASHI, F. S. C.; VIEIRA, L. C. G. Potential impacts of climate change on biogeochemical functioning of Cerrado ecosystems. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, p. 655-671, 2012.
- CASTELLANI, A. A. Maintenance na cultivation of the common pathogenic fungi of man. In sterile distilled water. Further researches. **Journal of Tropical Medicine**, v. 70, p. 181-184, 1967.
- CASTRO, A. P.; SARTORI DA SILVA, M. R. S.; QUIRINO, B. F.; DA CUNHA BUSTAMANTE, M. M.; KRÜGER, R. H. Microbial diversity in Cerrado biome

(neotropical savanna) soils. **PLoS One**, v. 112, p. e0148785, 2016.

CHOI, D. H.; YOU, Y. H.; LEE, I. S.; HONG, S. B.; JUNG, T. Y.; KIM, J. G. *Penicillium ulleungdoense* sp. nov. from Ulleung Island in Korea. **Mycobiology**, v. 49, n. 1, p. 46-53, 2021.

CORONADO-RUIZ, C.; CORONADO-RUIZ, C.; AVENDAÑO, R.; ESCUDERO-LEYVA, E.; CONEJO-BARBOZA, G.; CHAVERRI, P.; CHAVARRÍA, M. Two new cellulolytic fungal species isolated from a 19 th-century art collection. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018.

CROUS, P. W. et al. Fungal Planet description sheets: 214–280. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 32, p. 184, 2014.

CROUS, Pedro W. et al. Fungal Planet description sheets: 868–950. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 42, p. 291, 2019.

DEMAIN, L.; MARTENS, E. Production of valuable compounds by molds and yeasts. **The Journal of antibiotics**, v. 70, n. 4, p. 347-360, 2017.

DIAO, Y. Z.; CHEN, Q.; JIANG, X. Z.; HOUBRAKEN, J.; BARBOSA, R. N.; CAI, L.; WU, W. P. *Penicillium* section *Lanata-divaricata* from acidic soil. **Cladistics**, v. 35, n. 5, p. 514-549, 2019.

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

FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G.; BALIEIRO, F. D. C.; MOURA, T. P. A. D.; MENEZES, A. R. D.; SANTANA, C. I Características e atributos de latossolos sob diferentes usos na região Oeste do Estado da Bahia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 1457-1465, 2016.

GARCIA, W. M.; ZAGO, B. W.; NUNES, J. R. S.; CARVALHO, I. F. Diversity of filamentous fungi in Cerrado soil under native vegetation. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 13, n. 4, p. 245-249, 2015.

HAN, M. V.; ZMASEK, C. M. phyloXML: XML for evolutionary biology and comparative genomics. **BMC bioinformatics**, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2009.

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

HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Taxonomy of *penicillium* section *Citrina*. **Studies in mycology**, v. 70, p. 53-138, 2011a.

HOUBRAKEN, J. A. M. P.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. **Fungal Diversity**, v. 44, n. 1, p. 117-133, 2010.

HOUBRAKEN, J.; KOCSUBÉ, S.; VISAGIE, C. M.; YILMAZ, N.; WANG, X. C.; MEIJER, M.; KRAAK, B.; HUBKA, V.; BENSCH, K.; SAMSON, R. A.; FRISVAD, J. C.

Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Studies in mycology**, v. 95, p. 5-169, 2020.

KATO, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in bioinformatics**, v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian cerrado. **Conservation biology**, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

KORNERUP, A.; WANSCHER, J. H. Methuen handbook of colour. **Methuen handbook of colour.**, 1967.

LIANG, L. J.; JEEWON, R.; DHANDEVI, P.; DURAIRAJAN, S. S. K.; LI, H.; LIN, F. C.; WANG, H. K. A Novel Species of *Penicillium* with inhibitory effects against *Pyricularia oryzae* and fungal pathogens inducing citrus diseases. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 923, 2021.

MAYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

MONTEIRO, M. C. P.; PASSAMANI, F. R. F.; TERRA, M. F.; SILVA, D. M.; CIRILLO, M. A.; BATISTA, L. R. Soilborne fungi of the *Aspergillus* and *Penicillium* genera in a preserved region of the Brazilian Cerrado biome. **Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 1, p. 14-22, 2016.

O'CALLAHAN, D.; VAIDYA, A.; DONALDSON, L.; SINGH, T. *Penicillium rotoruae*, a new Species from an In-Ground Timber Durability Test Site in New Zealand. **Current Microbiology**, v. 77, n. 12, p. 4129-4139, 2020.

RAMOS, S. M. S.; CRUZ, R.; BARBOSA, R. N.; HOUBRAKEN, J.; MACHADO, A. R.; MOTTA, C. M. S.; OLIVEIRA, N. T. Two new *Penicillium* section *Sclerotiorum* species from sugarcane soil in Brazil. **Mycological Progress**, v. 20, n. 6, p. 823-835, 2021.

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. Analysis of the floristic composition of the Brazilian cerrado vegetation III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Edinburgh journal of botany**, v. 60, n. 1, p. 57-109, 2003.

SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J., THRANE, U., FRISVAD, J. C., & ANDERSEN, B. Food and indoor fungi. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, 2019.

SOUZA, S. C. Diversidade de espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces* isolados do solo de canga do Quadrilátero Ferrífero. 2018. 138 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola)—Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.

TANIWAKI, M. H.; PITT, J. I.; IAMANAKA, B. T.; MASSI, F. P.; FUNGARO, M. H. P.; FRISVAD, J. C. *Penicillium excelsum* sp. nov from the Brazil Nut Tree Ecosystem in the Amazon Basin'. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0143189, 2015.

VELJOVIĆ, Sonja P. et al. Infection capacity of the pathogens *Penicillium italicum* and *P. expansum* in orange during storage. *Food and Feed research*, v. 44, n. 1, p. 31-38, 2017.

VISAGIE, C. M.; FRISVAD, J. C.; HOUBRAKEN, J.; VISAGIE, A.; SAMSON, R. A.; JACOBS, K. A re-evaluation of *Penicillium* section *Canescentia*, including the description of five new species. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v.46, p. 163-187, 2020.

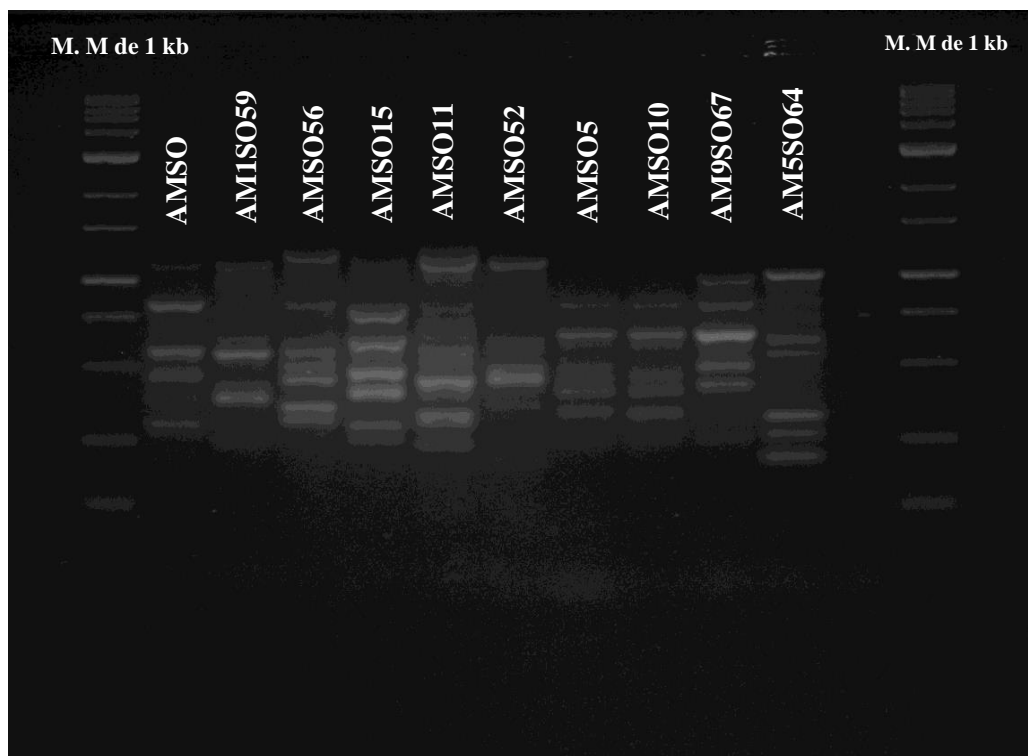
VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; HONG, S. B.; KLAASSEN, C. H. W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K. A.; VARGA, J.; YAGUCHI, T.; SAMSON, R. A. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies in Mycology**, v. 78, p. 343–371, 2014b.

VISAGIE, C. M.; SEIFERT, K. A.; HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A.; JACOBS, K. Diversity of *Penicillium* section *Citrina* within the fynbos biome of South Africa, including a new species from a *Protea repens* infructescence. *Mycologia*, 106(3), 537-552, 2014a.

VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J.; RODRIQUES, C.; PEREIRA, C. S.; DIJKSTERHUIS, J.; SEIFERT, K. A.; SAMSON, R. A. Five new *Penicillium* species in section *Sclerotiora*: a tribute to the Dutch Royal family. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 31, p. 42, 2013.

APÊNDICE 1

A técnica BOX-PCR foi usada para diminuir o número de isolados a serem sequenciados. As reações para BOX-PCRs tiveram um volume final de 25 μ L que continha 2 μ L de template de DNA, 1 x de solução tampão de PCR, 0.71 mM l^{-1} dNTP mix, 12 mM l^{-1} MgCl₂, 2 pmol/ μ L do *primer* BOXA1R (5'-CTA CGG CAA GGC GAC GCT GAC G-3') e 0.08 pmol of Taq DNA polimerase (Invitrogen, 5 U/ μ L). As condições de ciclagem para PCR foram: uma primeira etapa de desnaturação a 95 ° C por 5 min, seguida por 10 ciclos de 94 ° C por 1 min, 40 ° C por 30s e 72 ° C por 1 min e 30 ciclos de 90 ° C por 1 min, 48 ° C por 30s e 72 ° C por 1 min e, em seguida, uma etapa de extensão final a 72 ° C por 10 min. Os produtos da BOX-PCR foram fracionados em géis de agarose a 2% seguido de visualização com brometo de etídio sob luz ultravioleta (Apêndice 1).



Apêndice 1. Gel Box-PCR simplificado mostrando 10 perfis genéticos obtidos dos 58 isolados de *Penicillium* oriundos do cerrado.

