



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

JOÃO LUCAS VITÓRIO RIBEIRO CARVALHO

**PEGANDO CARONA: Fungos transportados por ectoparasitos de morcegos
cavernícolas**

Recife
2022

JOÃO LUCAS VITÓRIO RIBEIRO CARVALHO

**PEGANDO CARONA: Fungos transportados por ectoparasitos de morcegos
cavernícolas**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia de Fungos
da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Biologia de Fungos.
Área de concentração: Biologia básica

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Maria de Souza Motta

Coorientador: Prof. Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra

Recife

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Carvalho, João Lucas Vitório Ribeiro

Pegando carona: fungos transportados por ectoparasitos de morcegos cavernícolas / João Lucas Vitório Ribeiro Carvalho. – 2022.

55 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Cristina Maria de Souza Motta

Coorientador: Jadson Diogo Pereira Bezerra

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Fungos 2. Moscas 3. Morcegos I. Motta, Cristina Maria de Souza (orient.) II. Bezerra, Jadson Diogo Pereira (coorient.) III. Título

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -029

JOÃO LUCAS VITÓRIO RIBEIRO CARVALHO

PEGANDO CARONA: Fungos transportados por ectoparasitos de morcegos cavernícolas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos. Área de concentração: Biologia Básica.

Aprovado em: 17/02/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Cristina Maria de Souza Motta (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dr. Eder Silva Barbier (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Vânia Aparecida Vicente (Examinadora Externa)
Universidade Federal do Paraná - UFPR

A meus amados pais, Ricardo e Angela, a minha amada esposa, Letícia,
dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor Jesus Cristo, por toda sabedoria, saúde, vida, coragem, força, meus primeiros agradecimentos, pois sem Ele, nada seria possível.

A minha esposa Letícia por todo carinho e companheirismo durante os últimos anos.

Aos meus pais, Ricardo e Angela, pelo total apoio e confiança nas minhas decisões, e pelas palavras de sabedoria que me proporcionaram durante toda a vida.

Aos meus amigos e orientadores de mestrado, Profa. Dra. Cristina e Prof. Dr. Jadson, pela confiança e os maravilhosos ensinamentos, e a oportunidade de executar esse trabalho.

Aos meus colegas Joenny, Laura, Vitória, Rafa, Eder, Narjara, e todos os outros que me ajudaram e contribuíram para a minha formação e os resultados desse trabalho.

Aos meus professores e colegas de turma de mestrado em Biologia de Fungos da UFPE.

Aos membros da banca, profa. Dra. Vânia Vicente, Dr. Eder Barbier, Dr. Diogo Xavier e Dr. Renan Barbosa, pela disponibilidade, aceite e as grandes contribuições que enriqueceram esse trabalho.

A FACEPE pelo financiamento do projeto de mestrado.

A toda equipe que compõe o Departamento de Micologia da UFPE.

RESUMO

A mais de 100 anos, estudos buscam identificar fungos associados a moscas ectoparasitas de morcegos. Essas moscas hematófagas normalmente referidas como bat flies são exclusivamente associadas aos morcegos. A maioria dos estudos envolvendo fungos em bat flies tem considerado a identificação de fungos parasitas da ordem Laboulbeniales, todavia, faltam estudos que as avaliam como vetores de propágulos fúngicos não parasitas aos morcegos. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi conhecer a diversidade de fungos associados as moscas ectoparasitas de morcegos coletadas em uma caverna localizada no domínio Caatinga, no Parque Nacional do Catimbau, estado de Pernambuco. Para isso, 98 moscas foram coletadas de dez morcegos capturados na caverna Furna do Morcego, no município de Ibimirim. A fim de se conhecer a comunidade fúngica associada a esses ectoparasitas, foram utilizadas cinco metodologias de isolamento em três meios de cultura. Foram obtidos 37 isolados pertencentes a cinco ordens em Ascomycota (Pleosporales, Eurotiales, Capnodiales, Hypocreales, Microascales), e um isolado da ordem Tremellales em Basidiomycota. A riqueza total dos fungos associados as moscas foram de 13 táxons. Com base em análises morfológicas e filogenéticas, duas novas espécies de Ascomycota foram descritas. Também foi construída uma lista mundial de estudos que identificaram fungos associados as moscas ectoparasitas, demonstrando que esses insetos podem ser um grupo especioso de vetores para fungos e enfatizando a necessidade de avaliar a diversidade fúngica associada a esses ectoparasitas.

Palavras-chave: moscas ectoparasitas; isolamento; taxonomia; caatinga.

ABSTRACT

For over 100 years, studies have sought to identify fungi associated with ectoparasitic bat flies. These bloodsucking flies are exclusively associated with bats. Most studies involving fungi in bat flies have considered the identification of parasitic fungi of the order Laboulbeniales, however, there is a gap of studies that evaluate them as vectors of non-parasitic fungal propagules to bats. Therefore, the objective of the present study was to know the diversity of fungi associated with bat flies collected in a cave located in the Caatinga domain, in the Catimbau National Park, state of Pernambuco. For this, 98 flies were collected from ten bats captured in the Furna do Morcego cave, in the municipality of Ibimirim. In order to know the fungal community associated with these ectoparasites, five isolation methodologies were used in three culture media. We obtained 37 isolates belonging to five orders in Ascomycota (Pleosporales, Eurotiales, Capnodiales, Hypocreales, Microascales), and one isolate of the order Tremellales in Basidiomycota. The total richness of fungi associated with bat flies was 13 taxa. Based on morphological and phylogenetic analyses, two new species of Ascomycota were described. A world list of studies was also built that identified fungi associated with bat flies, demonstrating that these insects may be a specious group of vectors for fungi and emphasizing the need to assess the fungal diversity associated with these ectoparasites.

Keywords: bat flies; isolation; taxonomy; caatinga.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	FUNGOS EM AMBIENTES CAVERNÍCOLAS	13
2.2	MOSCAS ECTOPARASITAS DE MORCEGOS E SUAS ADAPTAÇÕES	14
2.3	FUNGOS EM MOSCAS ECTOPARASITAS	15
3	OBJETIVOS	18
3.1	OBJETIVO GERAL	18
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4	MÉTODOS	19
4.1	ÁREA DE COLETA	19
4.2	COLETA DOS ECTOPARASITOS	20
4.3	ISOLAMENTO DOS FUNGOS DAS MOSCAS ECTOPARASITAS	21
4.4	IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS	22
4.4.1	<i>Caracterização morfológica</i>	22
4.4.2	<i>Extração, amplificação de fragmentos do DNA e sequenciamento</i>	23
4.4.3	<i>Alinhamento das sequencias e análises filogenéticas</i>	24
4.5	ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS	24
4.6	LISTA DE ESTUDOS SOBRE FUNGOS ASSOCIADOS A MOSCAS ECTOPARASITAS	25
5	RESULTADOS	26
5.1	ABUNDÂNCIA DE FUNGOS NAS MOSCAS ECTOPARASITAS	27
5.2	RIQUEZA DE FUNGOS ASSOCIADOS COM AS MOSCAS ECTOPARASITAS	27
5.3	NOVAS ESPÉCIES PARA CIÊNCIA	30
5.4	TAXONOMIA	31
5.5	LISTA DE ESTUDOS SOBRE FUNGOS ENCONTRADOS ASSOCIADOS A MOSCAS ECTOPARASITAS	37
6	DISCUSSÃO	44
7	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos que descrevem fungos associados a moscas ectoparasitas de morcegos foram realizados a mais de 100 anos (ver Thaxter, 1901). Essas moscas hematófagas normalmente referidas como bat flies, estão organizadas nas famílias Nycteribiidae e Streblidae que junto com duas outras famílias (Hippoboscidae e Glossinidae) formam a superfamília Hippoboscoidea dentro da ordem Diptera. Enquanto as demais moscas hipoboscoideas são parasitas hematófagos de uma ampla diversidade de vertebrados (mamíferos, pássaros, répteis), as moscas ectoparasitas estão exclusivamente associadas aos morcegos (Allen, 1967; Haelewaters *et al.*, 2018).

Os morcegos (Mammalia: Chiroptera) são reconhecidos por habitarem diferentes lugares e utilizarem diversas estruturas para repouso, desde tendas de folhas efêmeras a cavernas e minas (Patterson *et al.*, 2007). Sua ecologia e biologia contribuem para o fato de serem parasitados por diferentes linhagens de organismos. Esses parasitos estão distribuídos entre as ordens Siphonaptera (pulgas), Diptera (moscas hematófagas), Hemiptera (percevejos), Dermaptera (tesourinhas) e Acari (ácaros e carrapatos) (Whitaker, 1998; Naegle *et al.*, 2016; Reeves *et al.*, 2016; Haelewaters *et al.*, 2018).

Atualmente são conhecidas aproximadamente 687 espécies de insetos ectoparasitas de morcegos distribuídos em seis famílias taxonômicas, dos quais as moscas ectoparasitas (Diptera: Hippoboscoidea, Nycteribiidae e Streblidae) são as mais frequentemente registradas e relativamente bem estudadas (Marshall, 1982; Frank *et al.*, 2014; Haelewaters *et al.*, 2018; Szentiványi *et al.*, 2019). A maioria das espécies são encontradas em regiões tropicais e subtropicais, com poucas espécies encontradas em regiões temperadas (Whitaker, 1988). No Brasil, foram registradas 68 espécies pertencentes a 20 gêneros de Streblidae e 25 espécies de dois gêneros de Nycteribiidae (Gracioli *et al.*, 2007; 2008; 2010).

A maior parte dos estudos sobre fungos em moscas ectoparasitas é direcionado apenas a identificação dos fungos ectossimbiontes pertencentes a ordem Laboulbeniales (Ascomycota: Laboulbeniomycetes) (Walker *et al.*, 2018; Haelewaters *et al.*, 2017; 2018; De Groot *et al.*, 2020). No Brasil, Gracioli e Aguiar (2002) coletaram duas fêmeas de *Aspidoptera falcata* (Diptera: Streblidae) parasitadas por uma espécie de fungo Laboulbeniomycetes. Esses fungos

associados a uma diversidade de artrópodes não formam hifas, desenvolvendo apenas um talo formado a partir de um predeterminado número de divisões mitóticas (Walker *et al.*, 2018).

O entendimento da comunidade de fungos presentes nas moscas ectoparasitas é de grande importância, visto que artrópodes que parasitam vertebrados muitas vezes desempenham um papel importante na transmissão de uma variedade de patógenos, incluindo agentes de muitas doenças emergentes (Tan *et al.*, 1997; Parola *et al.*, 2005; Forster *et al.*, 2007; Beugnet *et al.*, 2009).

Na República Tcheca, Lučan *et al.* (2016) detectaram a presença de propágulos de *Pseudogymnoascus destructans* (Ascomycota: Pseudeurotiaceae), o fungo causador da síndrome do nariz branco (SNB) em ácaros hematófagos ectoparasitas do gênero *Spinturnix* (Arachnida: Spinturnicidae) coletados nas membranas das asas dos morcegos. SNB é uma doença fúngica virulenta que está devastando populações de morcegos na América do Norte durante o período de hibernação (Foley *et al.*, 2011; Turner *et al.*, 2015). O fungo se desenvolve no hospedeiro infectando-o através de pequenas lesões cutâneas causadas pelos ácaros, e se desenvolve na pele e nas membranas das asas dos morcegos. Por conta da morfologia dos esporos de *P. destructans* acredita-se que sua transmissão e propagação entre morcegos dificilmente ocorre pelo ar, sua disseminação geralmente ocorre por meio de contato físico direto com indivíduos infectados ou por meio de vetores como os ácaros (Puechmaille *et al.*, 2011; Lindner *et al.*, 2011).

Apesar dos avanços recentes na interação entre moscas ectoparasitas e fungos, há uma lacuna no conhecimento sobre as moscas como vetores de espécies fúngicas parasitas não obrigatórias. Portanto, o presente estudo concentrou-se na riqueza cultivável de fungos associados a moscas ectoparasitas de morcegos em uma caverna na floresta seca da Caatinga do Nordeste do Brasil, como nossa unidade de amostragem. Como resultado, foram descritas duas novas espécies de Ascomycota isoladas dessas moscas e preparado um checklist mundial de estudos focados na descoberta de fungos associados a moscas ectoparasitas de morcegos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FUNGOS EM AMBIENTES CAVERNÍCOLAS

De acordo com Vanderwolf *et al.* (2013) a partir de uma revisão realizada sobre os estudos que identificaram fungos em ambientes cavernícolas, isolados pertencentes ao filo Ascomycota obtiveram maior recorrência (69,1%), seguido de Basidiomycota (20%) e dos demais filos. Atualmente, cerca de 2000 espécies de fungos foram registradas em ambientes cavernícolas em todo mundo (Vanderwolf *et al.*, 2013a, b; Chen *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017a; b; 2021; Cunha *et al.*, 2020).

Os gêneros mais frequentemente relatados em estudos sobre micologia de cavernas são: *Absidia*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Botrytis*, *Candida*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Coprinus*, *Cunninghamella*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Histoplasma*, *Humicola*, *Isaria*, *Laboulbenia*, *Microsporum*, *Mortierella*, *Mucor*, *Mycena*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Phoma*, *Rhachomyces*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, *Verticillium*, sendo que a maioria das espécies comumente isoladas em cavernas são saprófitos oportunistas associados ao solo, materiais vegetais ou insetos (Vanderwolf *et al.*, 2013a; Cunha *et al.*, 2020).

Alguns fungos isolados em laboratório provenientes de amostras coletadas em ambientes cavernícolas podem não crescer nesse ambiente. Muitas vezes, os esporos coletados podem ter sido transportados do exterior para caverna pela água, correntes de ar, animais ou insetos (Stephenson *et al.*, 2007; Jurado *et al.*, 2010). Além disso, os métodos utilizados para o isolamento desses fungos podem gerar uma tendência a se obter esses resultados, visto que basidiomicetos, por exemplo, são mais difíceis de cultivar e identificar em laboratório quando comparado aos ascomicetos (Vanderwolf *et al.*, 2013a).

Embora estudos micológicos estejam sendo realizados nesses ambientes, o conhecimento sobre a riqueza e diversidade ainda está longe de ser completa. Registros como o de Zhang *et al.* (2017a; b; 2020) que em seus estudos mais recentes descreveram 55 novas espécies de fungos isolados de cavernas na China,

pertencentes a 28 gêneros no filo Ascomycota, reforça a alta diversidade de fungos ainda desconhecida nas cavernas.

Cunha *et al.* (2020) registraram a riqueza e a diversidade de fungos cultiváveis isolados do corpo e do guano dos morcegos e do ar em uma caverna no ecossistema Caatinga no nordeste do Brasil. Foram encontrados 59 táxons pertencentes a 37 gêneros entre os filos Ascomycota, Basidiomycota e Mucoromycota. O gênero *Aspergillus* foi o mais representativo no filo Ascomycota e seus representantes foram isolados tanto do ar quanto do guano e do corpo dos morcegos. Outros gêneros como *Cladosporium*, *Penicillium* e *Fusarium* também foram registrados.

Dickson (1975) e Stephenson *et al.* (2007) observaram que os insetos também podem atuar como vetores de esporos e fragmentos fúngicos, transportando-os do ambiente externo para o interior das cavernas. Algumas espécies fúngicas podem utilizar insetos que habitam as cavernas como fonte de nutrientes (*e.g.*, *Isaria*, *Beauveria*, *Laboubenia*, *Rhachomyces*). Fungos infecciosos também foram isolados de insetos utilizando-os como vetor para transmissão em cavernas (*e.g.*, *Pseudogymnoascus destructans*) (Boyer Lefevre, 1965; 1966; Dickson, 1975; Stephenson *et al.*, 2007; Vanderwolf *et al.*, 2013a; Lučan *et al.*, 2016; Haelewaters *et al.*, 2018).

2.2 MOSCAS ECTOPARASITAS DE MORCEGOS E SUAS ADAPTAÇÕES

Por serem ectoparasitas obrigatórios e altamente especializados, as moscas ectoparasitas apresentam características apomórficas que os diferencia dos demais dípteros, como viviparidade adenotrófica, ou seja, todos os estágios larvais se desenvolvem inteiramente dentro da câmara genital da fêmea, onde as larvas são nutridas. As moscas ectoparasitas depositam suas larvas em substratos onde seus hospedeiros quirópteros utilizam para o repouso diurno como galhos, folhas, cascas e cavidades ocas em árvores, edifícios, minas e cavernas (Kunz e Lunsdem, 2003), e empupam imediatamente após deixar a câmara genital (Bequart, 1940; Paterson *et al.*, 2007). Após a larviposição, as fêmeas retornam ao hospedeiro. Quando os descendentes emergem, eles procuram ativamente por seus hospedeiros morcegos. Essas adaptações contribuem para o seu sucesso como parasita (Dick *et al.*, 2006; Haelewaters *et al.*, 2018).

Os Streblidae apresentam uma maior variação morfológica, as asas podem ser normais, reduzidas ou oblíquas, os olhos podem ser pequenos ou ausentes, o corpo pode ser achatado lateralmente ou dorso-ventralmente, as pernas podem variar de curto e forte a longo e fino (Whitaker, 1988). Cerca de 70% das espécies ocorrem nos trópicos e subtrópicos americanos (Haelewaters *et al.*, 2018). Já os Nycteribiidae ocorrem principalmente no Velho Mundo com pouco mais de 80% das espécies ocorrendo nos trópicos e subtrópicos do hemisfério oriental. Eles apresentam um alto grau de especialização, diferindo muito de outros dípteros tanto na morfologia quanto no comportamento (Guimarães e D'Andretta, 1956; Haelewaters *et al.*, 2018). Não possuem asas e os músculos de voo são atrofiados, resultando em um tórax pequeno em comparação com o abdômen, e as pernas e a cabeça apresentam inserções dorsais no tórax (Peterson e Wenzel, 1987). Os indivíduos de ambas as famílias são hematófagos encontrados obrigatoriamente parasitando a pele ou a membrana das asas de morcegos (Marshall, 1982).

De acordo com Fritz (1983), o conhecimento sobre os ectoparasitas dos morcegos oferece informações importantes para entender os aspectos sistemáticos, biológicos e filogenéticos dos hospedeiros, também, esclarecem aspectos epidemiológicos da transmissão de algumas doenças entre morcegos. Grande parte dos estudos nessa área buscam avaliar padrões de especificidade, proporções e vieses sexuais, estrutura populacional e associações entre características funcionais de morcegos e o parasitismo por moscas ectoparasitas (Haelewaters *et al.*, 2018).

2.3 FUNGOS EM MOSCAS ECTOPARASITAS

A maior parte dos estudos relacionados a identificação de fungos em moscas ectoparasitas busca descrever um segundo nível de parasitismo, muitas vezes citado como hiperparasitismo, dentro da relação morcegos-bat flies, e objetivam identificar novas espécies que possam compor essa relação tritrófica (Walker *et al.*, 2018; De Groot *et al.*, 2020). Essa interação chama a atenção dos pesquisadores pelo alto grau de especificidade entre os parasitas e os hospedeiros envolvidos, e as numerosas características comportamentais e ecológicas.

Szentiványi *et al.* (2019) realizaram uma revisão dos estudos que identificavam os microparasitas isolados das moscas ectoparasitas de várias regiões do mundo. O resultado que obtiveram foi que entre os microparasitas estudados, os

fungos foram o segundo grupo mais frequentemente observado, sendo as bactérias o primeiro grupo mais observado associado a esses ectoparasitas. Todas as espécies de fungos associados às moscas ectoparasitas pertenciam a ordem Laboulbeniales e estavam distribuídos entre os gêneros *Arthrorhynchus* spp. (o gênero mais frequentemente observado), *Gloeandromyces* spp. e *Nycteromyces* spp. Uma revisão sobre a ordem Laboulbeniales publicada por Haelewaters *et al.* (2018) mostra esse mesmo resultado, além de abordar a história natural da relação parasita-hospedeiro.

Pesquisas envolvendo o isolamento de microrganismos mostram que as moscas ectoparasitas podem servir de vetores para bactérias (e.g., *Bartonella*), parasitas do sangue (e.g., *Polychromophilus*), protozoários (e.g., *Nycteria*) e vírus, e transmiti-los para e entre os morcegos (Gardner *et al.*, 1988; Billeter *et al.*, 2008; Maia da Silva *et al.*, 2009; Morse *et al.*, 2012; Brook *et al.*, 2015; Judson *et al.*, 2015; Schaer *et al.*, 2015; Witsenburg *et al.*, 2014, 2015; Van Vuren *et al.*, 2016, 2017; Feng *et al.*, 2017; Goldberg *et al.*, 2017; Abundes-Gallegos *et al.*, 2018; Moskaluk *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019).

Além das moscas, outros hospedeiros ectoparasitas já foram identificados como vetores de bactérias, fungos e outros patógenos em morcegos. O carrapato *Carios kelleyi* (Arachnida: Argasidae) foi observado em morcegos no Egito servindo de vetor para uma série de bactérias patogênicas (e.g., *Rickettsia*, *Borrelia* e *Bartonella*) (Loftis *et al.*, 2005). O percevejo *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae) foi identificado como vetor do *Trypanosoma* (Schizorypanum) spp. em morcegos no Canadá (Paterson e Woo, 1984). Ácaros ectoparasitas do gênero *Spinturnix* (Arachnida: Spinturnicidae) foram identificados como vetores do fungo *Pseudogymnoascus destructans* (Ascomycota: Pseudeurotiaceae) causador da síndrome do nariz branco, uma doença fúngica virulenta que devasta populações de morcegos na América do Norte durante o período de hibernação (Lučan *et al.*, 2016).

Essas moscas apesar de serem ectoparasitas hematófagos de morcegos, diferem-se dos demais parasitas pela sua especificidade com o hospedeiro, modo de vida e reprodução. A biologia, ecologia e comportamento dos seus hospedeiros quirópteros como a amplitude alimentar, formação de colônias, capacidade de migração e amplitude de locais para repouso torna-os um reservatório de esporos e fragmentos fúngicos ainda desconhecido. Diante disso, existe uma grande

possibilidade de as moscas ectoparasitas servirem de vetores de propágulos fúngicos entre seus hospedeiros.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Isolar e registrar fungos associados as moscas ectoparasitas de morcegos em uma caverna tropical no Nordeste do Brasil.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Isolar fungos provenientes de moscas ectoparasitas de morcegos de uma caverna na Caatinga pernambucana;

Caracterizar taxonomicamente os isolados pela análise morfológica e por meio de técnicas de biologia molecular;

Identificar a posição taxonômica das espécies por meio de análises filogenéticas;

Verificar a abundância e a riqueza de fungos cultiváveis associados as moscas;

Prospectar novas espécies de fungos associados as *bat flies*;

Registrar uma diversidade de fungos ainda desconhecida associada a esses ectoparasitas.

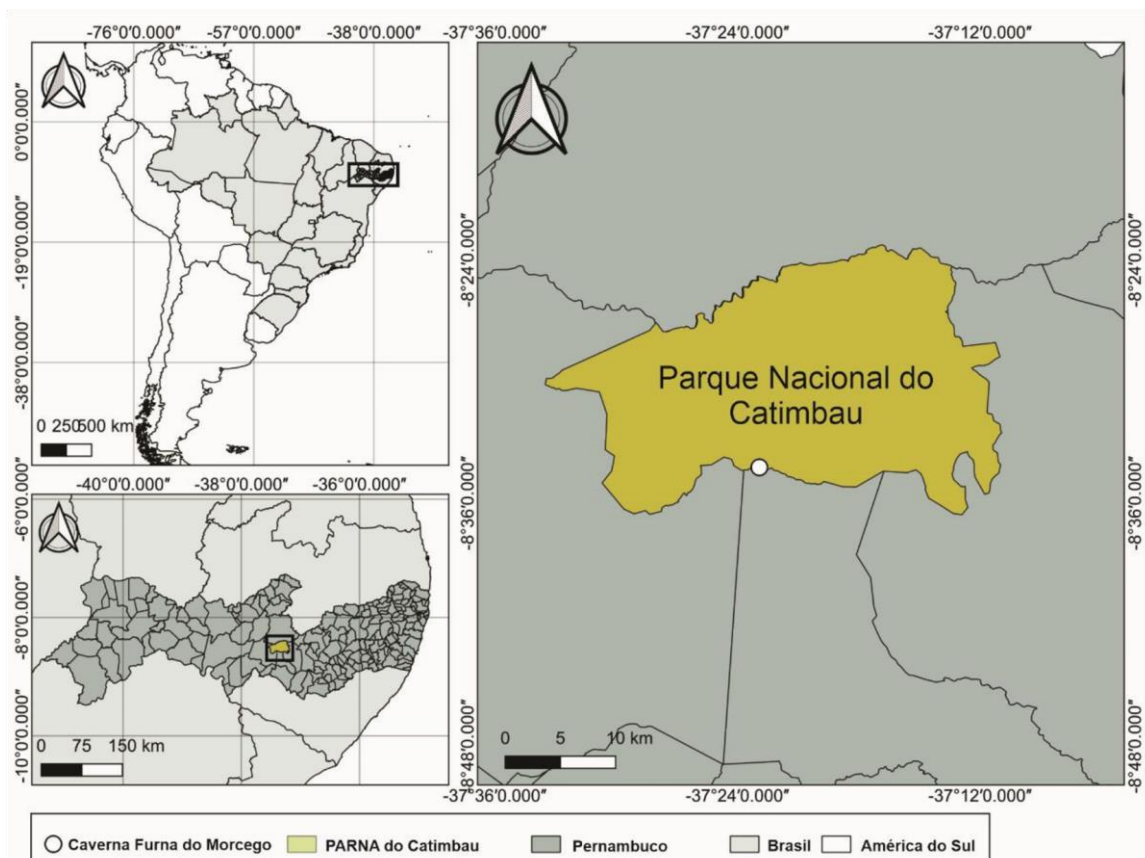
4 MÉTODOS

4.1 ÁREA DE COLETA

O Parque Nacional do Catimbau (IUCN Categoria II) (8°24'00" e 8°36'35" S; 37°0'30" e 37°1'40" W) está inserido no domínio Caatinga, a maior e mais rica região de floresta tropical seca da América do Sul (da Silva *et al.*, 2017; Rito *et al.*, 2017; Cunha *et al.*, 2020). Ocupando 62.294 ha, o Parque compreende partes dos municípios de Buíque, Tupanatinga e Ibimirim, no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil (Leal e Bernard, 2021). A vegetação local é composta por um mosaico com estratos herbáceos (altura <2 m), arbustivos (2–5 m) e arbóreos (8–12 m), além de floresta sazonal, enclaves de floresta úmida e campos rochosos (Sidalc, 2002; Gomes *et al.*, 2006; Rito *et al.*, 2017). O clima da região é classificado como semiárido quente (Bsh, de acordo com a classificação Köppen-Geiger), com temperatura média anual de 23°C e apresentando chuvas sazonais com precipitação média anual variando de 486 a 975 mm, concentradas entre março e julho (SNE, 2002; Specht *et al.*, 2019).

Furna do Morcego (37°22'55" S e 8°34'14" W; 557 m acima do nível do mar) é uma caverna de arenito localizada no extremo sul do Parque Nacional do Catimbau (município de Ibimirim), na fronteira com a Terra Indígena Kapinawá (Figura 1). Com cerca de 44 m de comprimento, a caverna possui entrada única e área de 200 m² e uma temperatura média anual de 30°C (Leal e Bernard, 2021).

Figura 1 – Localização geográfica da caverna da Furna do Morcego, no Parque Nacional do Catimbau, Brasil.



Fonte: O autor (2022)

4.2 COLETA DOS ECTOPARASITOS

Uma coleta em campo foi realizada no mês de outubro de 2020. Para a coleta dos ectoparasitos, dez morcegos foram capturados e identificados em colaboração com a equipe do Laboratório de Ciência Aplicada à Conservação da Biodiversidade do Departamento de Zoologia da Universidade Federal de Pernambuco, sob as licenças MMA/ICMBio/SISBIO 68992-3 e CEUA/UFPE 114/2019. A captura dos morcegos foi realizada utilizando uma armadilha de harpa (1.50 m x 1.50 m) instalada na entrada da caverna antes da saída dos morcegos para o forrageio. Esta foi constantemente inspecionada durante o período de captura para remover os morcegos. Uma vez capturados, os morcegos foram colocados em sacos de tecido para processamento que incluiu a identificação da espécie, sexo, idade e condição reprodutiva do indivíduo, e a medição do comprimento do antebraço e massa corporal (ver Gardner, 2007; Díaz *et al.*, 2016).

Para a coleta dos ectoparasitos, realizou-se uma análise visual em cada morcego capturado utilizando-se dos mesmos métodos citados por Barbier e Bernard (2017) com alterações no processo de armazenamento dos espécimes. Com uma pinça metálica esterilizada, 98 moscas foram removidas dos hospedeiros e armazenadas individualmente em tubos de microcentrifuga de 2 mL. Dos 98 tubos utilizados, metade continha água destilada e a outra metade continha água destilada + glicerol, ambos os conteúdos autoclavados. Durante a coleta das moscas ectoparasitas a pinça utilizada foi constantemente desinfetada com álcool 70% entre a manipulação de cada mosca, a fim de evitar a transmissão cruzada de propágulos fúngicos entre as amostras. Todo material coletado foi devidamente identificado e encaminhado para o isolamento fúngico no Laboratório de Taxonomia e Biotecnologia Utilizando Fungos da Micoteca URM, Departamento de Micologia, Centro de Biociências, UFPE.

4.3 ISOLAMENTO DOS FUNGOS DAS MOSCAS ECTOPARSITAS

Para isolamento dos fungos foram utilizados cinco métodos a fim de obter o máximo de isolados fúngicos provenientes das moscas.

O método 1 consistiu em inocular a mosca ectoparasita na superfície dos meios de cultura Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC), Ágar Infusão Cérebro-Coração (BHI) acrescido de Cloranfenicol (100 mg/L^{-1}) e Ágar Sabouraud (AS) acrescido de Cloranfenicol (100 mg/L^{-1}), vertidos em placas de Petri (90 mm de diâmetro) contendo separadamente 20 mL de cada meio. Para obter o máximo de isolados fúngicos das moscas ectoparasitas, de cada morcego foram selecionadas seis moscas e cada uma delas foi inoculada sobre os meios DRBC, BHI e AS. Ao final, 60 moscas foram utilizadas. Em seguida, as placas foram incubadas a 27°C na *Biological Oxygen Demand* (BOD) no escuro, até que as colônias de fungos se desenvolvessem. A cada constatação do crescimento, as colônias foram purificadas em placas de Petri contendo o mesmo meio do isolamento.

O método 2 consistiu em verter o conteúdo (1,5 mL de água destilada) do tubo de microcentrifuga em que estava armazenada a mosca sobre os meios de cultura DRBC e AS vertidos em placas de Petri. Foram selecionadas duas amostras de moscas de cada morcego, totalizando dez moscas. As placas foram incubadas a

27 °C na BOD no escuro, por um período de sete dias. Em seguida foram quantificadas as Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) e cada colônia de fungo foi purificada em placas de Petri contendo o mesmo meio do isolamento.

O método 3 utilizou seis amostras de moscas e consistiu em agitar os tubos de coleta (usando um mixer vortex) contendo água destilada + mosca, e verter sobre AS em placas de Petri, a fim de isolar propágulos fúngicos que estivessem presentes tanto na mosca quanto no conteúdo em que foram armazenadas. As placas foram incubadas a 27 °C na BOD no escuro, por um período de sete dias. Em seguida foram quantificadas as UFCs e cada colônia foi purificada em placas de Petri contendo o mesmo meio do isolamento.

O método 4 consistiu em incubar dez moscas ectoparasitas em câmaras úmidas para observação de estruturas fúngicas que pudessem se desenvolver sobre o corpo do hospedeiro. Placas de Petri com papel filtro umedecido com água destilada esterilizada foram utilizadas. Com o auxílio de uma pinça desinfetada, cada mosca foi retirada do tubo de coleta e incubada nas placas sobre o papel filtro, e mantidas em um ambiente escuro à 27 °C por um período de trinta dias. Após os primeiros quinze dias, foram realizadas observações periódicas em cada amostra com a placa fechada, utilizando um estereomicroscópio a fim de acompanhar o desenvolvimento fúngico nas amostras. Trinta dias após a incubação as placas foram abertas e uma busca minuciosa em cada mosca foi realizada.

No método 5, um exame direto em doze moscas ectoparasitas foi realizado um dia após coletadas em campo. Um estereomicroscópio foi utilizado para identificar a presença de fungos ectossimbiontes da ordem Laboulbeniales.

Isolados representativos e culturas *ex-type* foram depositadas na coleção de culturas da Micoteca URM Profa. Maria Auxiliadora Cavalcanti, WDCM 604. Holótipos (como preparações de lâmina permanente) no Herbário URM Pe. Camille Torrend na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brasil. Além disso, os isolados foram depositados na coleção de trabalho do Laboratório de Taxonomia e Biotecnologia utilizando Fungos/UFPE, Recife, Brasil.

4.4 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

4.4.1 Caracterização morfológica

A caracterização morfológica dos isolados fúngicos foi realizada com base na observação das características micro e macroscópicas das colônias (ver Samson *et al.*, 2014; Seifert *et al.*, 2011). Os isolados foram subcultivados para observar as estruturas somáticas e reprodutivas, e as culturas em meio de cultura SAB também foram usadas para a análise das características macroscópicas das colônias (por exemplo, aparência, superfície, presença ou ausência de exsudato, pigmentação do meio, cor e diâmetro da colônia). Estruturas reprodutivas, quando presentes, também foram observadas e comparadas com a literatura especializada (ver Samson *et al.*, 2014; Seifert *et al.*, 2011). Os isolados identificados como possíveis novas espécies também foram subcultivados em Ágar Extrato de Malte (MEA), Ágar Aveia (AA), Ágar Batata Dextrose (BDA) e incubados a 27°C durante sete dias no escuro. A cartela de cores de Rayner (1970) foi utilizada para avaliar as cores das colônias.

4.4.2 Extração, amplificação de fragmentos do DNA e sequenciamento

A extração do DNA fúngico foi realizada utilizando culturas isoladas após sete dias de crescimento cultivadas em Ágar Batata Dextrose (BDA) ou Ágar Extrato de Malte (MEA) a 27 °C na BOD no escuro (Cunha *et al.*, 2020), no Laboratório de Biologia Molecular da Micoteca URM do Departamento de Micologia, Centro de Biociências, UFPE, seguindo as recomendações do fabricante do kit de extração *Wizard Genomic DNA Purification* Kit. Reações de PCR foram realizadas de acordo com as condições e primers determinados em estudos prévios e dependendo do grupo de fungos a ser estudado. Os primers ITS5/ITS4 (White *et al.*, 1990), ACT512F/ACT-783R (Carbone e Kohn, 1999), Bt2a/Bt2b (Glass e Donaldson, 1995), CMD5/CMD6 (Hong *et al.*, 2005), EF-728F/EF-986R (Carbone e Kohn, 1999), ou RPB2-5f2/fRPB2-7cR (Liu *et al.*, 1999; Sung *et al.*, 2007) foram usados para amplificar a região ITS, parte dos genes actina, β -tubulina, calmodulina, tef, e uma fração do gene que codifica a DNA polimerase (rpb2), respectivamente. As amplificações por PCR foram realizadas nas condições descritas por Bezerra *et al.* (2017a, b) ou Samson *et al.* (2014). Os produtos de PCR obtidos foram purificados com EXO + SAP (Fosfatase Alcalina/Exonuclease I) (Cellco, Brasil) e enviados para sequenciamento na Plataforma do Centro de Biociências da Universidade Federal

de Pernambuco (Recife, Brasil). Os mesmos pares de primers foram usados para sequenciamento de amplicons com um Kit de sequenciamento de ciclo de terminação BigDye v.3.1, seguindo as instruções do fabricante.

4.4.3 Alinhamento das sequências e análises filogenéticas

As análises filogenéticas foram realizadas recuperando sequências de referência de espécies relacionadas às sequências obtidas neste estudo, utilizando a ferramenta BLASTn no banco de dados GenBank do NCBI, juntamente com outras sequências seguindo artigos publicados anteriormente (ver de Gruyter *et al.*, 2010; Houbraken *et al.*, 2020; Hou *et al.*, 2020). As sequências foram alinhadas usando a ferramenta online MAFFT v.7 (Katoh *et al.*, 2013) e editadas manualmente no software MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016). Para as análises das sequências fúngicas, foram construídos 10 alinhamentos de acordo com cada gênero fúngico e realizado uma análise baseada na Máxima Verossimilhança (ML), seguindo as instruções de Bezerra *et al.* (2017a). Para a inferência filogenética de gêneros com novas espécies, as análises de Inferência Bayesiana (BI) e ML foram conduzidas com MrBayes v 3.2.7a (Ronquist *et al.*, 2003) em XSEDE e RAxML-HPG BlackBox v 8.2.12 (Stamatakis *et al.*, 2014), respectivamente, no CIPRES Science Gateway (Miller *et al.*, 2010). A análise de BI foi realizada com 1×10^6 gerações, um valor de queima de 25%, e as cadeias foram amostradas a cada 1.000 gerações. A análise de ML foi realizada com 1.000 réplicas de *bootstrap*. O melhor modelo de nucleotídeos para a análise de BI foi estimado usando o software MrModelTest v.2.3 (Nylander, 2004). O modelo GTR + I + G foi usado para todas as análises de ML. As árvores filogenéticas resultantes foram visualizadas no software FigTree (Rambaut, 2010). Valores iguais ou superiores a 0,95 BI de probabilidade posterior (BPP) e 70% de suporte a *bootstrap* ML (ML-BS) são mostrados próximos aos nós. As novas sequências foram depositadas no GenBank e os alinhamentos foram depositados no TreeBASE.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS ECOLÓGICOS

A abundância (ab) foi definida como o número total de isolados obtidos para cada espécie e a abundância relativa (ar) foi obtida pelo ab de cada espécie dividido

pelo total de isolados e multiplicado por 100 ($ar = ab/\text{total de isolados} \times 100$). Para avaliar a suficiência do esforço amostral, a riqueza total (observada) foi comparada com a riqueza estimada usando o Chao de primeira e segunda ordem (Chao 1 e 2), o Jackknife de primeira e segunda ordem (Jackknife 1 e 2), e os estimadores *bootstrap* usando o software EstimateS versão 9.1.0 (Colwell, 2014). A abundância das espécies fúngicas mais frequentes foi testada para se obter a significância estatística em comparação com as demais espécies. Para tanto, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis (*H*) seguido de um teste post-hoc de Dunn para comparações múltiplas pareadas usando o software SigmaPlot versão 14.0 (Systat Software, San Jose, CA) com nível de significância de $P \leq 0,05$.

4.6 LISTA DE ESTUDOS SOBRE FUNGOS ASSOCIADOS A MOSCAS ECTOPARASITAS

Estudos publicados sobre fungos associados a moscas ectoparasitas foram revisados através de plataformas de busca de trabalhos acadêmicos (e.g., Periódicos Capes, Scopus, Google Acadêmico...) utilizando as palavras chave *bat flies*, *fungi*, *Laboulbeniales*, *fungi-bat flies*. Todos os estudos encontrados foram organizados em uma tabela por espécie do fungo, espécie da mosca ectoparasita hospedeira, localização geográfica onde foi encontrada a associação e referência bibliográfica.

5 RESULTADOS

Foi observado que a espécie de morcego mais frequente na caverna no dia da coleta era *Pteronotus gymnonotus* (Mormopidae). Essa espécie de morcego insetívoro foi utilizada nesse estudo para a coleta das moscas ectoparasitas. Foram capturados dez morcegos, desses, 98 moscas pertencentes ao gênero *Trichobius* sp. (Streblidae) foram coletadas (Figura 2), dentre as quais, 76 moscas foram utilizadas para o isolamento fúngico em meio de cultura (métodos 1, 2 e 3), 10 foram incubadas em câmaras úmidas (método 4) e 12 utilizadas para visualização no estereomicroscópio (método 5).

Figura 2 – Coleta de ectoparasitos (Streblidae: *Trichobius* sp.) de morcegos (Mormoopidae: *Pteronotus gymnonotus*) capturados na caverna Furna do Morcego localizada no Parque Nacional do Catimbau, Brasil. **a** Entrada da Caverna. **b** Armadilha de harpa instalada na entrada da caverna. **c, f** Coleta das moscas ectoparasitas de morcegos. **d, e** Vista superior e lateral da mosca ectoparasita.



Fonte: O autor (2022).

5.1 ABUNDÂNCIA DE FUNGOS NAS MOSCAS ECTOPARASITAS

O número de colônias variou de acordo com o método utilizado, sendo a transferência do líquido de armazenamento total do tubo de coleta das moscas ectoparasitas para a superfície dos meios de cultura DRBC e SAB (método 2, UFC = 434), e a agitação dos tubos e transferência do conteúdo em placas de Petri com meio de cultura SAB (método 3, UFC = 237), resultaram no maior número de colônias. Trinta e cinco isolados foram obtidos por inoculação nos meios DRBC, BHI e SAB (método 1), e nenhum isolado fúngico foi obtido por incubação em câmara úmida (método 4) e exame direto em estereomicroscópio (método 5). Dentre essas colônias, 38 isolados foram selecionados para identificação fúngica.

5.2 RIQUEZA DE FUNGOS ASSOCIADOS COM MOSCAS ECTOPARASITAS

Trinta e oito isolados de fungos foram obtidos e identificados em 10 gêneros com base em suas características morfológicas e análise filogenética de sequências ITS do gene DNA ribossomal (DNAr). Os fungos associados as moscas ectoparasitas pertencem a cinco ordens em Ascomycota (Pleosporales, Eurotiales, Capnodiales, Hypocreales e Microascales) e uma em Basidiomycota (Tremellales). A riqueza total de fungos associados as moscas ectoparasitas foram de 13 táxons, sendo 12 pertencentes a Ascomycota e um a Basidiomycota (*Hannaella* cf. *siamensis*). Trinta e sete isolados pertencem a Ascomycota distribuídos entre os gêneros *Allophoma*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pyrenochaetopsis*, *Stagonosporopsis* e *Yunnania*.

As espécies mais abundantemente isoladas pertenceram aos gêneros *Aspergillus* (ar = 47,4%) e *Cladosporium* (ar = 15,8%). Outros gêneros como *Fusarium* (ar = 7,9%), *Penicillium* (ar = 7,9%), *Pyrenochaetopsis* (ar = 5,3%), *Yunnania* (ar = 5,3%), *Stagonosporopsis* (ar = 2,6%), *Allophoma* (ar = 2,6%), *Alternaria* (ar = 2,6%) e *Hannaella* (ar = 2,6%) tiveram baixa frequência absoluta (< 4 isolados) (Tabela 1). O gênero *Aspergillus* apresentou o maior número de táxons (três), seguido de *Cladosporium* (dois), sendo *A. penicillioides* a espécie mais frequentemente isolada das *bat flies*, estando presente em quase todos os morcegos amostrados.

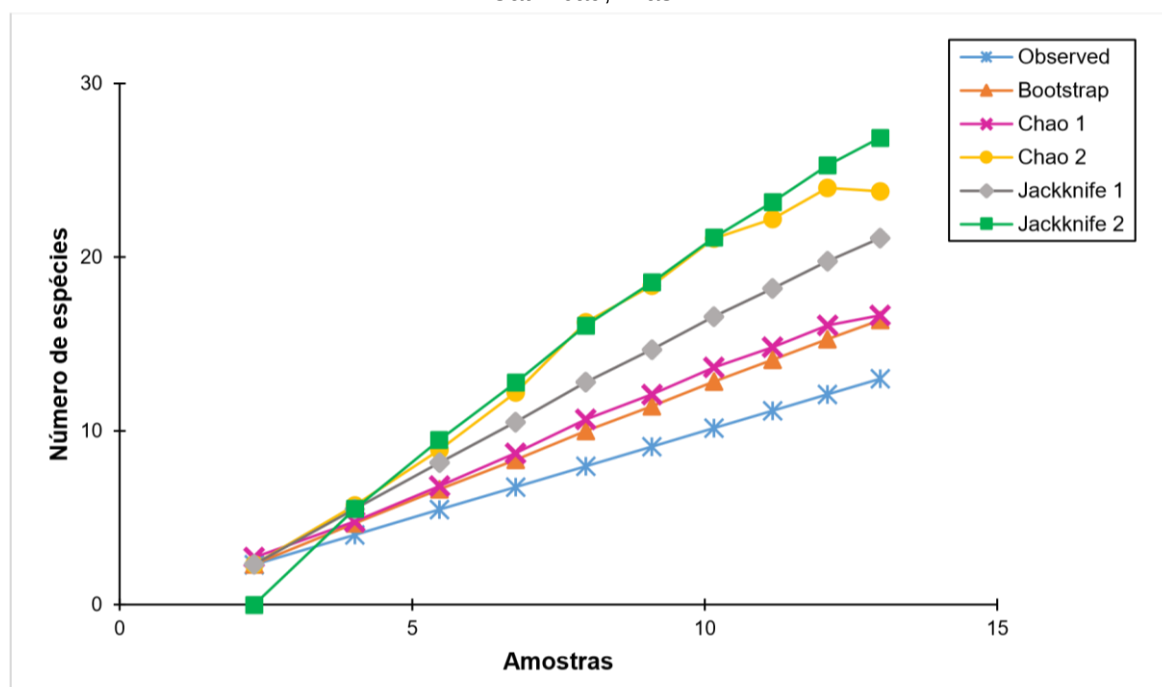
A riqueza de espécies observada não foi totalmente recuperada baseado nos estimadores (Figura 3). As curvas de acumulação de espécies de fungos nas moscas ectoparasitas não atingiram uma assíntota. Entretanto, por exemplo, usando o estimador Bootstrap, o esforço amostral foi suficiente para recuperar 81% das espécies estimadas, seguido por Chao 1 (76%) e Jackknife 1 (62%). Por outro lado, com base em Chao 2 e Jackknife 2 encontramos 54% e 48%, respectivamente, das espécies estimadas. A análise dos táxons fúngicos obtidos das moscas ectoparasitas mostraram diferenças significativas entre as espécies mais frequentes, como *Aspergillus penicillioides*, e as demais na comunidade fúngica ($H = 26,51$, $P = 0,009$).

Tabela 1 – Abundância absoluta (ab) e relativa (ar), número de isolados e riqueza (S) de espécies de fungos cultiváveis isoladas de ectoparasitos (Streblidae: *Trichobius* sp.) de morcegos (Mormoopidae: *Pteronotus gymnonotus*) capturados na caverna Furna do Morcego localizada no Parque Nacional do Catimbau, Brasil.

Morcego	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	ab	ar (%)
Nº Moscas ectoparasitas	6	9	9	6	6	8	9	9	6	8	76	
<i>Allophoma</i> sp.								1			1	2,6
<i>Alternaria alternata</i>							1				1	2,6
<i>Aspergillus austroafricanus</i>	1										1	2,6
<i>Aspergillus penicillioides</i>	2	2	1			4	2	2		2	15	39,5
<i>Aspergillus sydowii</i>								1	1		2	5,3
<i>Cladosporium halotolerans</i>			1								1	2,6
<i>Cladosporium subuliforme</i>			1			3		1			5	13,2
<i>Fusarium equiseti</i>		3									3	7,9
<i>Hannaella</i> cf. <i>siamensis</i>						1					1	2,6
<i>Penicillium citrinum</i>			1					2			3	7,9
<i>Pyrenochaetopsis</i> sp.						2					2	5,3
<i>Stagonosporopsis citruli</i>						1					1	2,6
<i>Yunnaniana</i> sp.			2								2	5,3
Número de isolados	3	5	6			11	3	7	1	2	38	
Riqueza (S)	2	2	5			5	2	5	1	1	13	

Fonte: O autor (2022).

Figura 3 – Curvas de acumulação de espécies de fungos cultiváveis observadas e estimadas (Bootstrap, Chao 1, Chao 2, Jackknife 1 e Jackknife 2) em associação com moscas ectoparasitas coletadas de morcegos capturados na caverna Furna do Morcego localizada no Parque Nacional do Catimbau, Brasil.



Fonte: O autor (2022).

5.3 NOVAS ESPÉCIES PARA CIÊNCIA

Pesquisas utilizando a ferramenta BLASTn e no banco de dados GenBank do NCBI mostraram que uma sequência do isolado URM 8453/URM 8454 estava relacionada a *Allophoma* spp. e duas sequências dos isolados URM 8455 e URM 8456 foram relacionadas a *Pyrenochaetopsis* spp. A matriz de sequências de *Allophoma* foi composta por 16 espécies e o alinhamento combinado continha 1667 caracteres (ITS = 494, rpb2= 622 e Bt2= 551), incluindo lacunas. Para *Pyrenochaetopsis*, foram utilizadas sequências de 22 espécies e o alinhamento combinado continha 935 caracteres (ITS = 554 e Bt2 = 381), incluindo lacunas.

Árvores filogenéticas foram construídas para as matrizes combinadas e conjuntos de dados individuais. O melhor modelo de nucleotídeo para análise de BI foi SYM + G para ITS, GTR + G para Bt2 e SYM + G para rpb2. O isolado URM 8453 foi colocado como uma linhagem independente tendo *Allophoma anatii* como espécie irmã (ML-BS = 100 e BPP = 1) e os isolados URM 8455 e URM 8456 foram colocados como um clado único e bem suportado (ML-BS = 90 e BPP = 0,99) tendo

Pyrenochaetopsis indica como espécie irmã e ambos compartilham clado com *P. confluens* e *P. decipiens*. Os três isolados das duas espécies filogeneticamente desconhecidas são descritos abaixo como novas espécies.

5.4 TAXONOMIA

No presente estudo, foram realizadas as descrições morfológicas de duas novas espécies de fungos para a ciência, pertencentes aos gêneros *Allophoma* e *Pyrenochaetopsis*, isolados de moscas ectoparasitas coletadas de morcegos que habitam a caverna Furna dos Morcegos, no Parque Nacional do Catimbau, Ibimirim, Pernambuco.

Pleosporales, Didymellaceae

***Allophoma* sp.** J.L.V.R. Carvalho, J.D.P. Bezerra e Souza-Motta, sp. nov. (Figura 4).

Tipo: Brasil, estado de Pernambuco, município de Ibimirim, Parque Nacional do Catimbau, caverna Furna do Morcego, 37°22'55"S e 8°34'14"W, isolado de uma mosca ectoparasita de morcegos (*Trichobius* sp.), 6 out. 2020, J.L.V.R. Carvalho (cultura *ex-type* URM 8453).

Descrição: Conidioma do tipo picnídio, solitários ou agregados, globosos a subglobosos, com um único ostíolo, sem papilas ou pescoço evidentes, castanhos, glabros, superficiais ou semi-imersos em meio de cultura, 65–75(–120) × (49–)61 – 65(–82) µm; parede do conidioma pseudoparenquimatosa, textura angularis. Células conidiogênicas fialídicas, hialinas, de paredes lisas, ampuliformes, 10,5–15 × 10–11 µm. Conídios oblongos, ápices arredondados, paredes lisas e finas, hialinos, asseptados, sem guttulas, (1,8–)3,2–3,7(–4,5) × (1,3–)1,4–1,7(–2) µm.

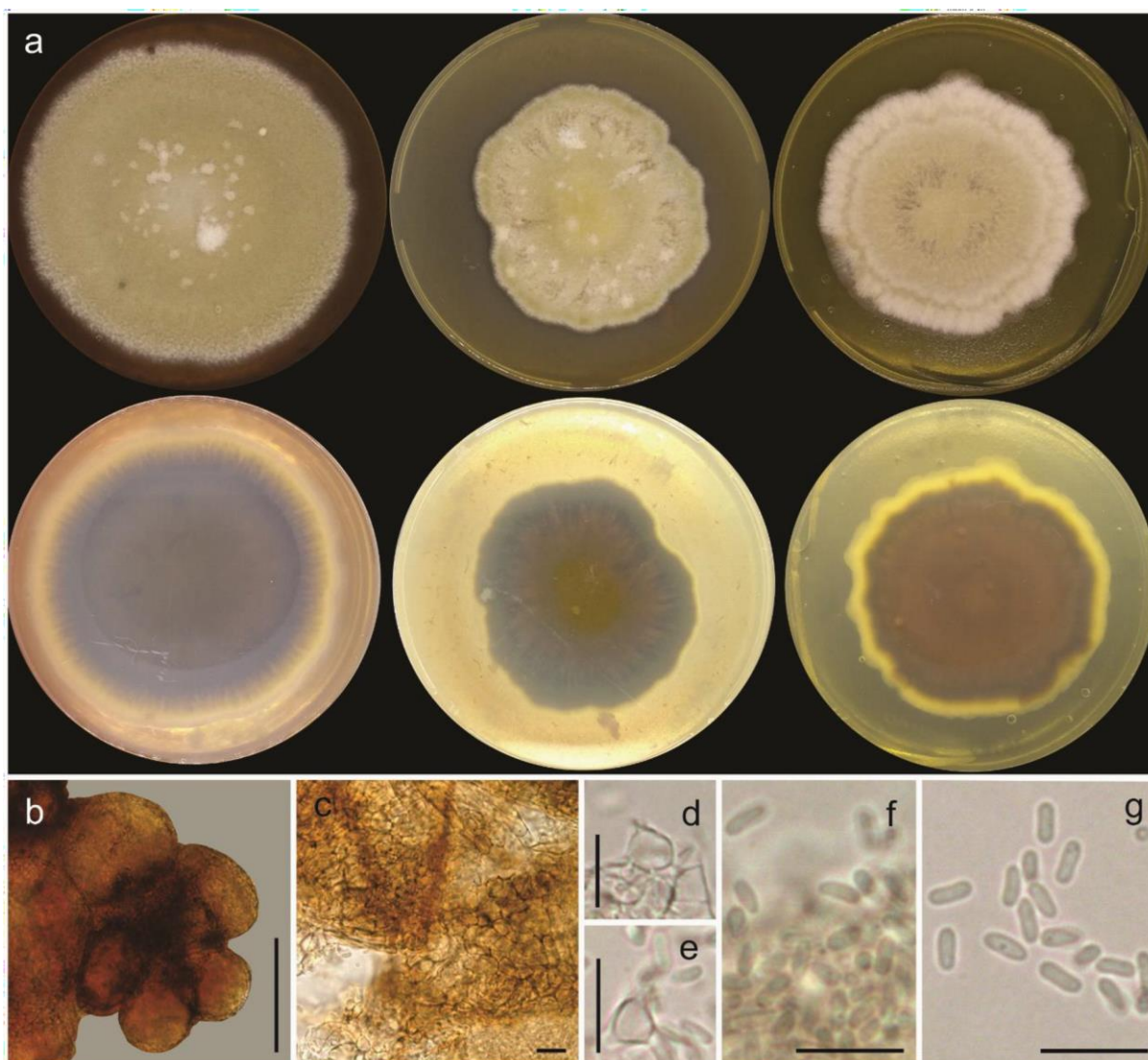
Características da cultura (27°C, 7 dias, no escuro): Colônias em AA: 58,8 mm de diâmetro, margem plana, ondulada, cor amarelo-claro no centro, amarelo-oliva na margem; reverso cor de avelã no centro e cinza na margem. Colônias em MEA: 60,8 mm diâmetro, margem plana, ondulada, cor amarelada, branca próxima às margens; reverso cor de tijolo escuro, margem amarela. Colônias em BDA: 78,6 mm diâmetro, plana, margem inteira, cor amarelada, branca próxima à margem; reverso cinza arroxado, prímula perto da margem. Sem crescimento a 36°C.

Outros materiais analisados: Brasil, estado de Pernambuco, município de Ibimirim, Parque Nacional do Catimbau, caverna Furna do Morcego, 37°22'55"S e 8°34'14"W, isolado de uma mosca ectoparasita de morcego (*Trichobius* sp.), 6 out. 2020, J.L.V.R. Carvalho (URM 8454).

Notas: *Allophoma* sp. URM 8453 é filogeneticamente relacionado a *A. anataiae* (Figura 5). *Allophoma anataiae* [como '*anatii*'] foi descrito por Hou *et al.* (2020) de *Acropora formosa* (Acroporidae, um coral) na Austrália. *Allophoma* sp. URM 8453, difere de *A. anataiae* por apresentar picnídios solitários, levemente elipsoidais e maiores ((90–)130–400(–460) × (75–)120–370 µm em *A. anataiae* vs. 65–75(–120) × (49–)61–65(–82) µm em *Allophoma* sp. URM 8453). Os conídios em *A. anataiae* possuem gutulas e são maiores que os encontrados em *Allophoma* sp. URM 8453

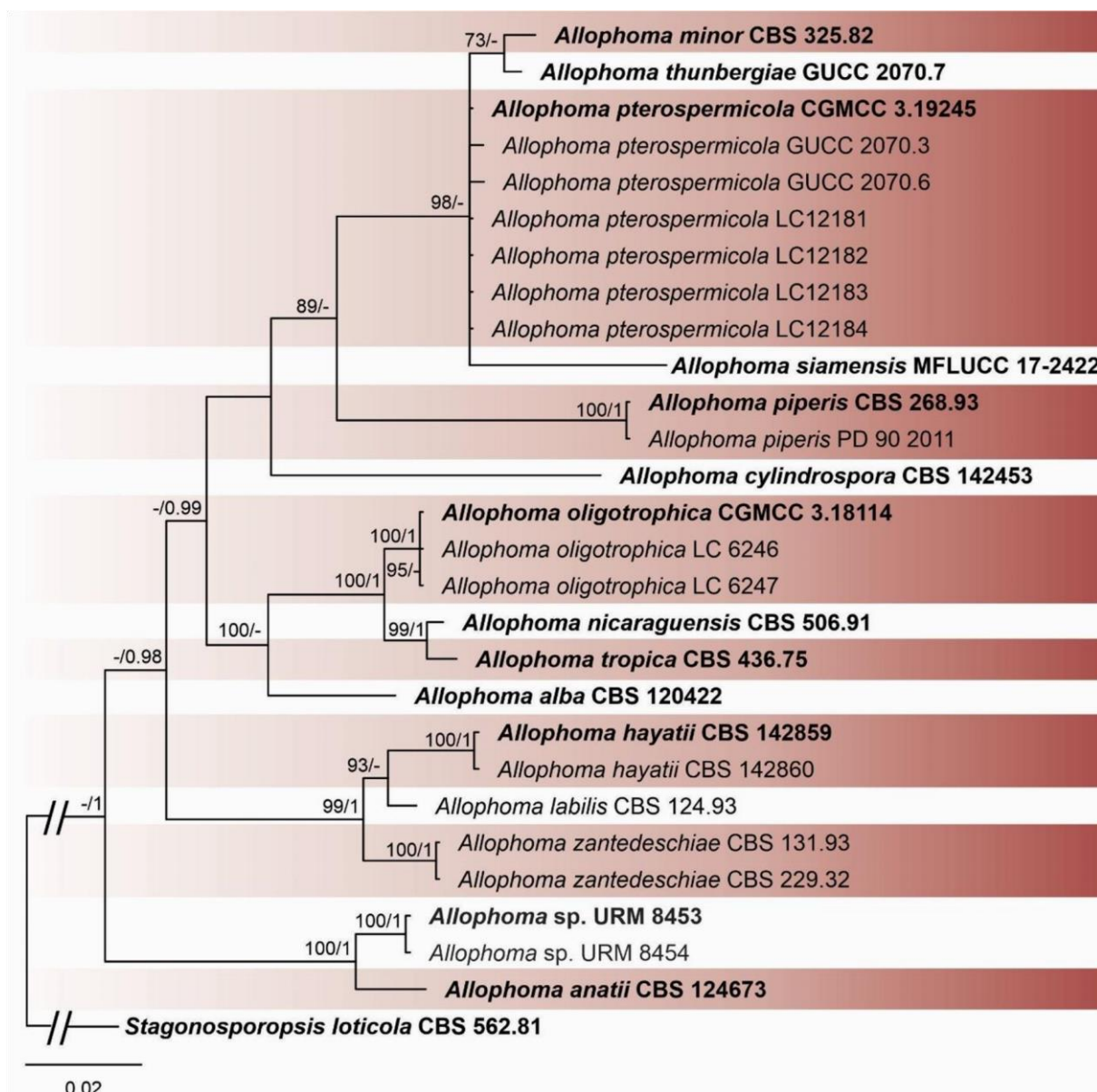
(3,5–5,5 × 2–3 µm em *A. anataiae* vs. (1,8–)3,2–3,7(–4,5) × (1,3–)1,4–1,7 (–2) µm em *Allophoma* sp. URM 8453). Colônias de *Allophoma* sp. URM 8453 em AA apresentam coloração amarelada no centro e amarelo-oliva na margem, margem ondulada e baixa produção de picnídios, enquanto *A. anataiae* possui colônias cor de canela pálida com margem regular e produção abundante de picnídios. Em MEA e BDA as colônias de *A. anataiae* apresentam margem regular e micélios aéreos esparsos (Hou *et al.*, 2020).

Figura 4 – *Allophoma* sp. URM 8453, ex-type. **a** Colônias em BDA, AA e MEA (verso e reverso). **b** Picnídios agregados. **c** Detalhes da parede do picnídio. **d–e** Células conidiogênicas e conídios. **f–g** Conídios. Barras de escala: **b** = 100 µm e **c–g** = 10 µm.



Fonte: O autor (2022).

Figura 5 – Árvore filogenética bayesiana usando sequências de ITS, rpb2 e Bt2 do gênero *Allophoma*. As cepas do ex-type estão em negrito. Valores para ML-BS $\geq 70\%$ (com 1.000 réplicas de bootstrap) e BPP $\geq 0,95$ são incluídos perto dos nós. A árvore foi enraizada em *Stagonosporopsis loticola* CBS 562.81.



Pleosporales, Cucurbitariaceae

***Pyrenochaetopsis* sp.** J.L.V.R. Carvalho, J.D.P. Bezerra e Souza-Motta, sp. nov. (Figura 6).

Tipo: Brasil, estado de Pernambuco, município de Ibimirim, Parque Nacional do Catimbau, caverna Furna do Morcego, 37°22'55"S e 8°34'14"W, isolado de uma mosca ectoparasita de morcego (*Trichobius* sp.), 6 out. 2020, J.L.V.R. Carvalho (cultura ex-type URM 8455).

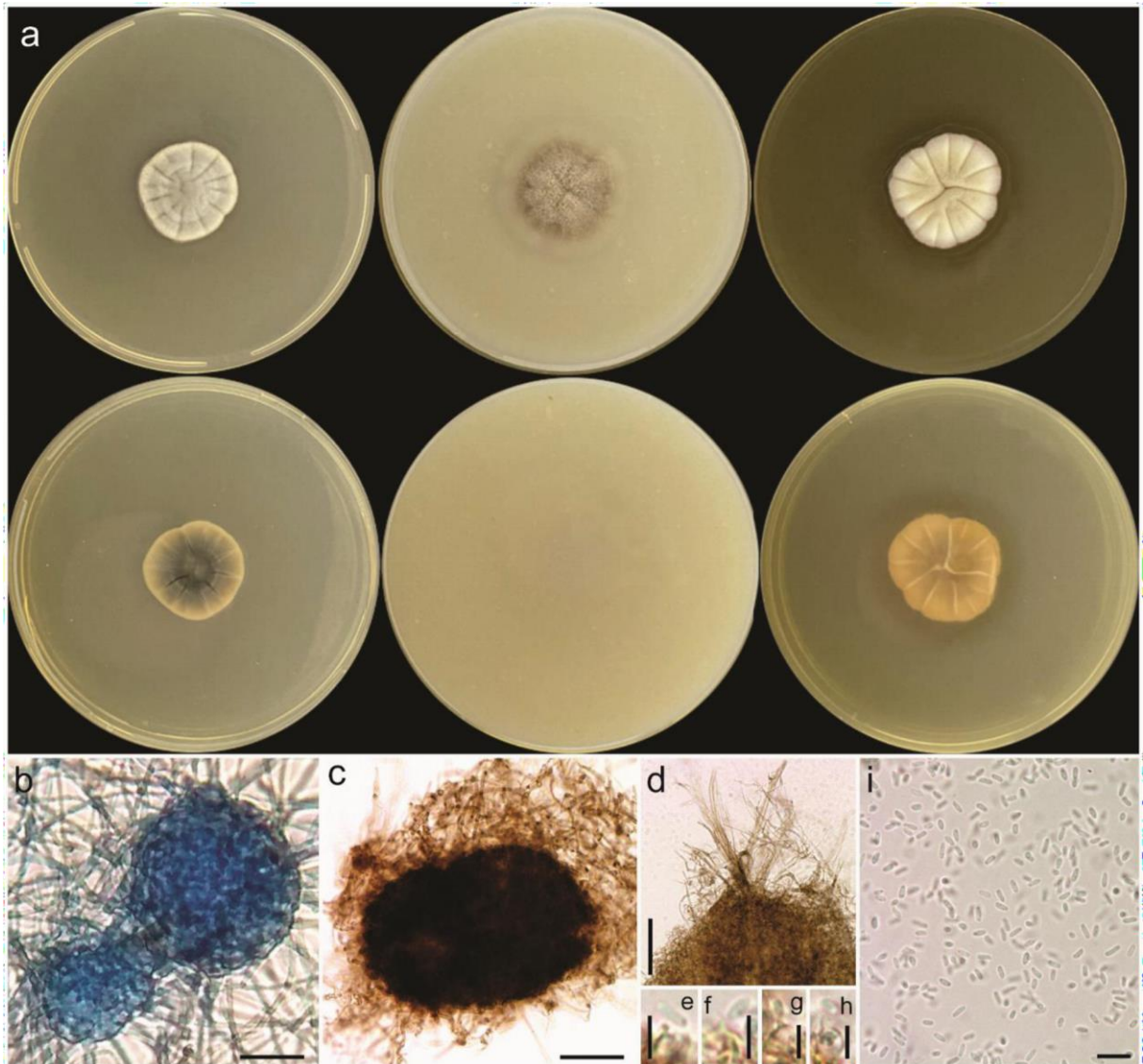
Descrição: Conidioma do tipo picnídio, pardos, solitários ou agregados, superficiais ou semi-imersos em meios de cultura, globosos a subglobosos, cerdosos, glabros a levemente pilosos, ostiolados, 325–365 × 236–327 μm. Células conidiogênicas

fialídicas, hialinas, de paredes lisas, ampuliformes, $3,5-4,5(-6) \times 2-4 \mu\text{m}$. Conídios hialinos, asseptados, cilíndricos a alantóides, com 2 gutulas, $(1,2-2,6-3,7(-4,1) \times (1-1,2-1,4(-2) \mu\text{m}$.

Características da cultura (27°C, 10 dias, no escuro): Colônias em BDA atingindo 24 mm de diâmetro, elevação umbonada, margem inteira, cor branca; reverso cinza oliváceo pálido no centro e branco na margem. Colônias em MEA atingindo 28 mm de diâmetro, margem elevada, ondulada, cor branca; reverso cor de mel. Colônias em AA atingindo 25 mm de diâmetro, elevada, micélios aéreos, superfície cor cinza-fumo no centro e cinza-olivácea nas margens. Sem crescimento a 36°C. Outros materiais analisados: Brasil, estado de Pernambuco, município de Ibimirim, Parque Nacional do Catimbau, caverna Furna do Morcego, 37°22'55"S e 8°34'14"W, isolado de uma mosca ectoparasita de morcego (*Trichobius* sp.), 6 out. 2020, J.L.V.R. Carvalho (URM 8456).

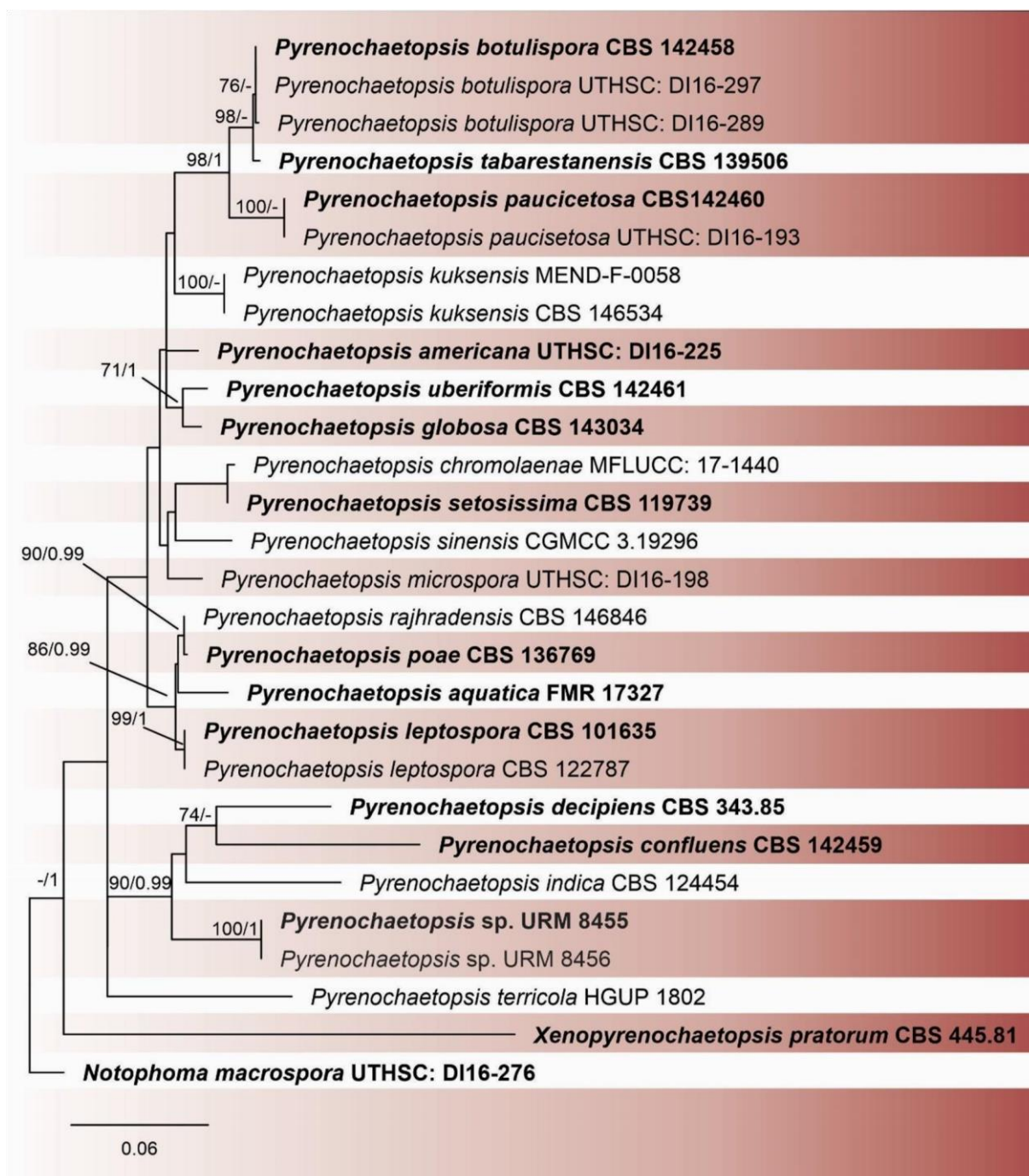
Notas: *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455 e URM 8456 são filogeneticamente relacionadas a *P. indica* (Figura 7). *Pyrenochaetopsis indica* foi introduzida por de Gruyter *et al.* (2010) com base em *Pyrenochaeta indica* isolada de folhas de *Saccharum officinarum* na Índia (Viswan, 1957). *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455 e URM 8456 apresentam picnídios maiores do que *P. indica* ($325-365 \times 236-327 \mu\text{m}$ em *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455 e URM 8456 vs. $55-240 \mu\text{m}$ em *P. indica*) e conídios menores ($(1,2-2,6-3,7(-4,1) \times (1-1,2-1,4(-2) \mu\text{m}$ em *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455 e URM 8456 vs. $4-5,5 \times 1,5-2,5 \mu\text{m}$ em *P. indica*). Clamidósporos foram observados em *P. indica*, mas não em *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455 e URM 8456. Além disso, as colônias de *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455 e URM 8456 crescendo em AA são elevadas, coloração cinza-fumo no centro e cinza-oliva nas margens, enquanto *P. indica* possui colônia regular e superfície olivácea. Em MEA, *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455 e URM 8456 possui uma colônia elevada com margem ondulada, superfície branca e coloração mel no reverso, diferente de *P. indica* que possui uma colônia regular com coloração acinzentada a cinza-oliva próxima à margem (Gruyter e Boerema, 2002).

Figura 6 – *Pyrenochaetopsis* sp. URM 8455, ex-type. **a** Colônias em BDA, AA e MEA (verso e reverso). **b–c** Picnídios. **d** Detalhes de picnídio cerdoso. **e–h** Células conidiogênicas e conídios. **e** Conídios. Barras de escala: = **b–c** = 10 μm , **d–i** = 10 μm e **e–h** = 5 μm .



Fonte: O autor (2022).

Figura 7 – Árvore filogenética bayesiana usando sequências de ITS e Bt2 do gênero *Pyrenochaetopsis*. As cepas *ex-type* estão em negrito. Valores para ML-BS $\geq 70\%$ (com 1.000 réplicas de bootstrap) e BPP $\geq 0,95$ são incluídos perto dos nós. A árvore foi enraizada em *Notophoma macrospora* UTHSC: DI16-276.



Fonte: O autor (2022).

5.5 LISTA DE ESTUDOS SOBRE FUNGOS ENCONTRADOS ASSOCIADOS AS MOSCAS ECTOPARASITAS

Trinta e cinco estudos relataram fungos associados as moscas ectoparasitas de morcegos em todo o mundo (Tabela 2). Aproximadamente 39% desses estudos foram realizados em países Europeus, enquanto apenas três foram encontrados

para o Brasil. Incluindo os resultados deste trabalho, 39 táxons de fungos foram recuperados, dos quais 30 foram identificados em nível de espécie, dois em nível de gênero e 16 em nível de ordem. A maioria dos táxons de fungos foram Ascomycota da ordem Laboubeniales, e neste estudo foi relatado um Basidiomycota.

Tabela 2 – Lista mundial de estudos que identificaram fungos associados as moscas ectoparasitas (adaptado de Haelewaters *et al.*, 2017).

Fungo	Mosca ectoparasita	Local	Referência
Ordem Capnodiales			
<i>Cladosporium halotolerans</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
<i>Cladosporium subuliforme</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
			Pereira <i>et al.</i> (2022)
Ordem Eurotiales			
<i>Aspergillus austroafricanus</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
<i>Aspergillus penicillioides</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
<i>Aspergillus sydowii</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
Ordem Hypocreales			
<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
Ordem Laboubeniales			
<i>Arthrorhynchus acrandros</i>	<i>Phthiridium biarticulatum</i>	Itália	Merola (1952)
<i>Arthrorhynchus cyclopodiae</i>	<i>Cyclopodia macrura</i>	Papua Nova Guiné	Balazuc (1971) Thaxter (1901)
<i>Arthrorhynchus eucampsipodae</i>	<i>Eucampsipoda hyrtl</i>	Egito	Speiser (1901) Balazuc (1971) Thaxter (1901)
			Speiser (1901) Balazuc (1971) Blackwell (1980a)
	<i>Eucampsipoda hyrtl</i>	Israel	Blackwell (1980a) Blackwell (1980b)
	<i>Eucampsipoda hyrtl</i>	Myanmar	Speiser (1901) Thaxter (1901) Balazuc (1971)
	<i>Nycteribia kolenatii</i>	Inglaterra	Blackwell (1980a)

<i>Arthrorhynchus nichteribiae</i>	<i>Nycteribia</i>	França	Blackwell (1980b)
	<i>pedicularia</i>		Blackwell (1980a)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	Itália	Blackwell (1980a)
	<i>Nycteribia vexata</i>	Tunísia	Blackwell (1980a)
			Blackwell (1980b)
	<i>Eucampsipoda</i>	Serra Leoa	Blackwell (1980a)
	<i>africana</i>		Balazuc (1971)
	<i>Nycteribia schmidlii</i>	Gabão Quênia	Blackwell (1980a)
	<i>Basilia pumila</i>	Índia	Blackwell (1980a)
	<i>Eucampsipoda</i>	Tailândia	Blackwell (1980a)
	<i>inermis</i>		Blackwell (1980b)
	<i>Cyclopodia ferrarii</i>	Malásia	Blackwell (1980a)
			Blackwell (1980b)
	<i>Nycteribia parvula</i>	Taiwan	Blackwell (1980a)
			Blackwell (1980b)
	<i>Nycteribia</i>	Indonésia	Balazuc (1971)
	<i>progressa</i>		
	<i>Penicillidia</i>	Austrália	Blackwell (1980a)
	<i>conspicua</i>		Blackwell (1980a)
	<i>Penicillidia dufourii</i>		Blackwell (1980a)
	<i>Penicillidia oceanica</i>	Austrália	Blackwell (1980a)
	<i>Nycteribia vexata</i>	Áustria	Peyritsch (1871)
	<i>Penicillidia</i>	Bulgária/ Eslováquia	Samsinakova (1960)
	<i>conspicua</i>		
	<i>Nycteribia</i> sp.	Europa Central	Peyritsch (1871)
			Speiser (1901)
			Thaxter (1908)
	<i>Nycteribia</i> sp.	França	Picard (1913)
	<i>Nycteribia schmidii</i>	França	Balazuc (1971)
			Blackwell (1980a)
			Blackwell

<i>Nycteribia schmidii</i>	Hungria	(1980b) Haelewaters et al. (2017)
<i>Nycteribia schmidii</i>	Sérvia	Bechet (1970) Balazuc (1971)
<i>Penicillidia conspicua</i>	França	Blackwell (1980a) Balazuc (1971)
<i>Penicillidia conspicua</i>	Hungria	Moesz (1931)
<i>Penicillidia conspicua</i>	Suíça	Balazuc (1971) Haelewaters et al. (2017) Balazuc (1971)
<i>Penicillidia conspicua</i>	Sérvia	Bernasconi (1961) Bechet (1970)
<i>Penicillidia conspicua</i>	Espanha	Balazuc (1971) Balcells (1954)
<i>Nycteribia pedicularia</i>	Dinamarca	Balcells (1955) Balazuc (1971) Ryberg (1947)
<i>Nycteribia pedicularia</i>	Suécia	Ryberg (1947)
<i>Nycteribia vexata</i>	República Tcheca	Kolenati (1857)
<i>Nycteribia blasii</i>	Países Baixos	Speiser (1901) Thaxter (1908)
<i>Nycteribia blasii</i>	Rússia	Balazuc (1971) Speiser (1901) Thaxter (1908) Balazuc (1971)
<i>Nycteribia latreillei</i>	França	Balazuc (1971)
<i>Nycteribia kolenatii</i>	Polônia	Nosawad (1973)
<i>Phthiridium biarticulatum</i>	Itália	Blackwell (1980a)
<i>Phthiridium biarticulatum</i>	França	Blackwell (1980a)
<i>Penicillidia conspicua</i>	Sérvia	Kolenati (1857)
<i>Penicillidia conspicua</i>	Romênia	Balazuc (1971) Speiser (1901) Blackwell (1980a) Haelewaters et

	<i>Penicillidia conspicua</i>	Europa Central	<i>al.</i> (2017) Kolenati (1857)
	<i>Penicillidia conspicua</i>	Checoslováquia	Speiser (1901) Balazuc (1971) Balazuc (1971)
	<i>Penicillidia conspicua</i>	Croácia	Kolenati (1857)
	<i>Penicillidia fulvida</i>	Quênia	Speiser (1901) Balazuc (1971) Blackwell (1980a) Blackwell (1980b)
	<i>Penicillidia pachymela</i>	Zâmbia	Blackwell (1980a)
	<i>Phthiridium phillipsi</i>	Sri Lanka	Blackwell (1980a)
	<i>Phthiridium ceylonicum</i>	Sri Lanka	Blackwell (1980a) Blackwell (1980b)
	<i>Penicillidia jenynsii</i>	Sri Lanka	Thaxter (1931) Balazuc (1971)
	<i>Penicillidia indica</i>	Sri Lanka	Blackwell (1980a)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	Bulgária/ Eslováquia	Samsinakova (1960)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	Europa Central	Peyritsch (1871) Speiser (1901) Thaxter (1908)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	Checoslováquia	Balazuc (1971)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	França	Balazuc (1971)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	Romênia	Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	Espanha	Santamaría (2006)
	<i>Penicillidia dufourii</i>	Europa	Thaxter (1908) Blackwell (1980a)
	<i>Nycteribia schmidlii</i>	Hungria	Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
	<i>Phthiridium biarticulatum</i>	França	Blackwell (1980a)
<i>Arthrorhynchus</i> sp.	<i>Nycteribia parvula</i>	Índia	Balazuc (1971)
<i>Dimeromyces capensis</i>	<i>Nycteribosca africana</i>	África do Sul	Dogonniuck et <i>al.</i> (2019).
<i>Dimeromyces</i>	<i>Nycteribosca</i>	Filipinas	Dogonniuck et

<i>streblidarum</i>	<i>amboinensis</i>		<i>al.</i> (2019).
<i>Gloeandromyces dickii</i>	<i>Trichobius joblingi</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
		Nicarágua	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
	<i>Trichobius longipes</i>	Equador	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
<i>Gloeandromyces hilleri</i>	<i>Mastoptera guimaraesi</i>	Panamá	Liu et <i>al.</i> (2020)
<i>Gloeandromyces nycteribiidarum</i>	<i>Megistopoda aranea</i>	Granada	Thaxter (1931)
	<i>Trichobius yunkeri</i>	Costa Rica	Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
<i>Gloeandromyces pageanus</i>	<i>Trichobius dugesioides</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
			Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
<i>Gloeandromyces pageanus</i> f. <i>alarum</i>	<i>Trichobius joblingi</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
	<i>Trichobius dugesioides</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2018)
	<i>Trichobius joblingi</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
		Trindade e Tobago	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
	<i>Trichobius dugesioides</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
<i>Gloeandromyces streblae</i>	<i>Strebla wiedemanni</i>	Venezuela	Thaxter (1931)
	<i>Trichobius joblingi</i>	Panamá	Kolenati (1856)
			Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
	<i>Trichobius dugesioides</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
	<i>Trichobius yunkeri</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
<i>Gloeandromyces streblae</i> f. <i>sigmomorphus</i>	<i>Trichobius joblingi</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
		Gamboa	Haelewaters et <i>al.</i> (2019)
<i>Gloeandromyces streblae</i> f. <i>streblae</i>	<i>Trichobius dugesioides</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2018)
	<i>Trichobius joblingi</i>		Haelewaters et <i>al.</i> (2018)
<i>Nycteromyces orientalis</i>	<i>Nycteribosca alluaudi</i>	Tanzânia	Dogonniuck et <i>al.</i> (2019).
	<i>Trichobius joblingi</i>	Panamá	Haelewaters et <i>al.</i> (2017)
<i>Nycteromyces streblidinus</i>	<i>Strebla wiedemanni</i>	Venezuela	Thaxter (1917)
	<i>Trichobius joblingi</i>	Panamá	Thaxter (1924)
			Haelewaters et

	<i>Trichobius costalimai</i>		<i>al.</i> (2017)
	<i>Megistopoda aranea</i>		Haelewaters et <i>al.</i> (2018)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Speiseria ambigua</i>	Costa Rica	Haelewaters et <i>al.</i> (2018)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Strebla guajiro</i>	Costa Rica	Fritz (1983)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Trichobius joblingi</i>	Costa Rica	Fritz (1983)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Trichobius uniformis</i>	Brasil	Graciolli e Coelho (2001)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Trichobius dugesii</i>	Brasil	Graciolli e Coelho (2001)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Megistopoda proxima</i>	Brasil	Bertola et <i>al.</i> (2005)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Anatrichobius passosi</i>	Brasil	Bertola et <i>al.</i> (2005)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Megistopoda aranea</i>	Brasil	Bertola et <i>al.</i> (2005)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Exastinion clovisi</i>	Brasil	Bertola et <i>al.</i> (2005)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Paratrichobius longicrus</i>	Brasil	Bertola et <i>al.</i> (2005)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Cyclopodia inflatipes</i>	Nova Guiné	Maa (1962)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Basilina nana</i>	Espanha	Balcells (1955)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Nycteribia vexata</i>	Espanha	Falcoz (1923)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Penicillidia conspicua</i>	Espanha	Balcells (1955)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Nycteribiaeuxesta</i>	Sri Lanka	Falcoz (1923)
Laboulbeniales gen. e sp. indet.	<i>Nycteribia phillipsi</i>	Sri Lanka	Scott (1936)
Ordem Microascales			
<i>Yunnania</i> sp.	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Scott (1936)
Ordem Pleosporales			
<i>Allophoma</i> sp.	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
<i>Pyrenochaetopsis</i> sp.	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
<i>Stagonosporopsis citruli</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo
Ordem Tremellales			
<i>Hannaella</i> cf. <i>siamensis</i>	<i>Trichobius</i> sp.	Brasil	Esse estudo

Fonte: O autor (2022), adaptado de Haelewaters et al. (2017).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro a isolar fungos cultiváveis associados a moscas ectoparasitas de morcegos. Cerca de 80% dos morcegos capturados na Furna do Morcego, uma caverna no semiárido do Nordeste do Brasil, apresentavam fungos associados a seus ectoparasitos, e um total de 13 espécies foram registradas. Dentre os isolados, Ascomycota foi o filo mais representativo (oito gêneros) e *Aspergillus* o gênero que apresentou maior número de táxons (três espécies). Durante várias décadas, pesquisas foram realizadas com o objetivo de identificar fungos ectossimbiontes da ordem Laboulbeniales em associação com moscas ectoparasitas (Haelewaters *et al.*, 2017; de Groot *et al.*, 2020). Haelewaters (2017) identificou fungos parasitando moscas ectoparasitas na Hungria e Romênia. Seus resultados mostram que de 1.494 indivíduos de 11 espécies, esses fungos foram encontrados parasitando apenas cerca de 3% das moscas ectoparasitas analisadas (Haelewaters *et al.*, 2017). No entanto, há uma lacuna em nosso conhecimento sobre a riqueza de fungos cultiváveis associados a esses ectoparasitas. Não foi observado fungos Laboulbeniales neste estudo; por outro lado, foram encontrados espécies de fungos comumente isoladas de amostras de ar, substratos encontrados em cavernas e também isolados do corpo de morcegos (Johnson *et al.*, 2013; Vanderwolf *et al.*, 2013a; Cunha *et al.*, 2020; Visagie *et al.*, 2020, 2021).

Os resultados deste estudo sugerem que as moscas ectoparasitas podem atuar como um grupo especioso de vetores para espécies de fungos entre os morcegos, e enfatiza a necessidade de melhor avaliar a diversidade fúngica associada a esses ectoparasitas. Esta descoberta mostra que as moscas ectoparasitas também estão associadas a outras espécies de fungos (não apenas Laboulbeniales) e também podem atuar como dispersores de propágulos de fungos devido ao seu estilo de vida intimamente relacionado com o corpo dos morcegos (Dick *et al.*, 2006; Haelewaters *et al.*, 2017, 2018). Esse tipo de dispersão de propágulos fúngicos mediada por ectoparasitas de morcego foi observado para ácaros do gênero *Spinturnix*, que se mostrou um potencial vetor, tendo uma relação positiva entre a quantidade de infecção fúngica em morcegos e a carga fúngica presente nos ácaros (Lučan *et al.*, 2016). Considerando que as moscas ectoparasitas do gênero *Trichobius* possuem uma superfície corporal muito maior

que os ácaros spinturnicídeos, ocorrem frequentemente em maior abundância, além de possuírem marcada capacidade de locomoção dentro do abrigo de seus hospedeiros, seu papel como potenciais carreadores mecânicos de propágulos fúngicos entre os morcegos seriam ainda mais importantes que os dos ácaros, por exemplo. No entanto, isso ainda precisa ser investigado. Estudos futuros devem investigar se os morcegos mais parasitados por moscas apresentam maior diversidade e/ou abundância de fungos do que os menos parasitados.

Foi observado uma comunidade fúngica cultivável semelhante entre morcegos e moscas ectoparasitas. Por exemplo, Cunha *et al.* (2020) isolaram fungos de morcegos que vivem em uma caverna no ecossistema Caatinga no Brasil, e mostraram o gênero *Aspergillus* como o mais representativo entre os isolados obtidos do corpo de morcegos. Nos EUA, Johnson *et al.* (2013) estudaram fungos de asas de morcegos e observaram que a maioria dos isolados fúngicos eram espécies de *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Mortierella*, *Penicillium* e *Trichosporon*. Outros estudos isolando fungos de morcegos também mostraram que o pelo e a pele desses animais podem abrigar uma maior diversidade fúngica quando comparados ao chão da caverna; esse fato pode ser explicado pelo movimento dos morcegos (e suas moscas anexadas) entre os ambientes epígeo e hipógeo (Vanderwolf *et al.*, 2013a, b; Ogórek *et al.*, 2020; Cunha *et al.*, 2020). Nesse estudo, *Aspergillus penicillioides* foi a espécie mais frequentemente isolada, e também encontramos duas espécies de *Cladosporium* (*C. halotolerans* e *C. subuliforme*) (ver Pereira *et al.*, 2022) e uma espécie de *Penicillium* (*P. citrinum*) nas moscas ectoparasitas, mostrando que as moscas possuem fungos que também estão presentes no corpo dos morcegos e podem contribuir (pois seu modo de vida, reprodução e hospedeiros mudam) com a dispersão de espécies fúngicas.

A espécie mais abundantemente encontrada, *A. penicillioides*, foi introduzida como um fungo encontrado primeiramente em folhas de *Saccharum officinarum* na Argentina (Spegazzini, 1896) e é relatada como uma das mais xerofílicas da seção *Restricti* de *Aspergillus* (Sklenář *et al.*, 2017; Houbraken *et al.*, 2020). A seção *Restricti* é composta por espécies xerofílicas e halofílicas que crescem principalmente em substratos com baixa atividade de água e em ambientes extremos (Sklenář *et al.*, 2017). *Aspergillus penicillioides* foi relatado em vários substratos/hospedeiros (e.g., pele humana, em tecidos, sementes de cereais, no ar interno, milho seco, etc.) em todo o mundo, incluindo o Brasil (Sklenář *et al.*, 2017).

Em um levantamento mundial de fungos da poeira doméstica, *A. penicilliioides* foi uma OTU (unidade taxonômica operacional) comum identificada (Amend *et al.*, 2010) e também foi encontrada em cavernas (Vanderwolf *et al.*, 2013a). As cepas desta espécie são capazes de crescer a 37 °C e também são relatadas produzindo vários exometabólitos (e.g., asperglaucida e ácido micofenólico) (Sklenář *et al.*, 2017), descritos como verdadeiros halófilos (Nazareth e Gonsalves, 2014), com potencial para ser utilizado na biorremediação de metais pesados e atividade antibacteriana (Paria e Chakraborty, 2019; Chi *et al.*, 2021), e como produtor de enzimas (Ali *et al.*, 2015). Por outro lado, *A. penicilliioides* também é registrado como agente etiológico oportunista causador de infecções humanas (de Hoog *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2016; León *et al.*, 2018; Machowicz-Matejko *et al.*, 2018).

Curiosamente, entre as 13 espécies de fungos identificadas neste estudo, duas (15%) foram descritas como espécies novas nos gêneros *Allophoma* e *Pyrenochaetopsis*. Recentemente, novas espécies de fungos foram descritas de diferentes substratos/hospedeiros de cavernas na China (53 espécies, Zhang *et al.*, 2017, 2020) e Cunha *et al.* (2020) no Brasil apontaram que entre os 59 táxons relatados em seu estudo cerca de 15 (25%) poderiam ser descritos como espécies novas. Além disso, outras novas espécies dos gêneros *Malassezia* e *Geosmithia* foram introduzidas para isolados de fungos obtidos do corpo de morcegos (Lorch *et al.*, 2018; Crous *et al.*, 2018). Espécies dos gêneros *Allophoma* e *Pyrenochaetopsis* são relatadas principalmente em associação com plantas (Valenzuela-Lopez *et al.*, 2018; Marin-Felix *et al.*, 2019). Em uma caverna tropical de morcegos no Brasil, Cunha *et al.* (2020) relataram fungos de morcegos que também são relatados principalmente em associação com plantas (também como patógenos) ou podem ser patógenos oportunistas de animais (e.g., *Deniquelata*, *Fusarium*, *Nothopoma*, entre outros). Outras pesquisas também relataram esses gêneros de fungos em cavernas da China (Zhang *et al.*, 2017, 2021). Portanto, pesquisas como as que foram desenvolvidas neste estudo são importantes para fornecer evidências de uma maior amplitude de adaptações e uso de habitat de espécies de fungos conhecidas e desconhecidas. Além disso, nossos resultados também lançam luz sobre partes enigmáticas e pouco conhecidas da biodiversidade e também podem contribuir para uma melhor estimativa da diversidade fúngica nacional e global.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo sobre fungos associados a moscas ectoparasitas de morcegos, foi descoberto uma diversidade fúngica ainda desconhecida associada a esses ectoparasitas. As moscas ectoparasitas podem ser uma forma dos fungos “pegar carona” junto com seus hospedeiros (morcegos) e podem contribuir com a dispersão do fungo no ambiente da caverna.

Análises morfológicas e filogenéticas dos isolados fúngicos revelaram que espécies de fungos ainda desconhecidas para ciência estão associadas as moscas ectoparasitas, essas foram descritas e incluídas no conhecimento sobre fungos associados a esses ectoparasitos. Esta novidade de associação de fungos cultiváveis com moscas ectoparasitas poderia iniciar uma discussão sobre a importância ecológica desses insetos no modo de vida de várias espécies de fungos.

Esses resultados reforçam a importância de proteger o ambiente da caverna, juntamente com seus habitantes (*e.g.*, microrganismos, plantas, animais, entre outros).

REFERÊNCIAS

- ABUNDES-GALLEGOS, Judith *et al.* **Detection of dengue virus in bat flies (Diptera: Streblidae) of common vampire bats, *Desmodus rotundus*, in Progreso, Hidalgo, Mexico.** Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2018.
- ALI, Imran *et al.* **Purification and characterization of a polyextremophilic α -amylase from an obligate halophilic *Aspergillus penicillioides* isolate and its potential for souse with detergents.** BioMed research international, 2015.
- ALLEN, G. M. **The parasites of bats.** Cambridge: Museum of Comparative Zoology, 1967.
- AMEND, Anthony S.; SEIFERT, Keith A.; BRUNS, Thomas D. **Quantifying microbial communities with 454 pyrosequencing: does read abundance count?** Molecular ecology, 2010.
- BALAZUC, Jean. Notes sur les Laboulbéniales: III. **Rectifications, synonymies et mises au point (suite).** Publications de la Société Linnéenne de Lyon, 1971.
- BALCELLS ROCAMORA, Enrique *et al.* **Quirópteros de cuevas catalanas: Campaña de 1952-53,** 1954.
- BALCELLS ROCAMORA, Enrique *et al.* **Datos para el estudio de la fauna pupípara de los quirópteros en España,** 1955.
- BECHET, M, BECHET I. **Un champignon rare, *Arthrorhynchus nyeteribiae* (Peyr.) Thaxt., parasite des Diptères Pupipares (Insecta).** In: Orghidan T, editor. **Livre du Centenaire Emile G. Racovitza 1868-1968.** Académie de la République Socialiste de Roumanie, 1970.
- BEQUAERT, J. **Moscas parasitas pupiparas de Colombia y Panama.** Acad Colombiana Cienc Exac Fis Nat, 1940.
- BERNASCONI, R. **Note sur la flore mycologique cavernicole de Suisse.** Bulletin Suisse de Mycologie, 1961.
- BERTOLA, Patrícia Beloto *et al.* **Bat flies (Diptera: Streblidae, Nycteribiidae) parasitic on bats (Mammalia: Chiroptera) at Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, Brazil: parasitism rates and host-parasite associations.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2005.
- BEUGNET, Frederic; MARIE, Jean-Lou. **Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe.** Veterinary parasitology, 2009.
- BEZERRA, Jadson DP *et al.* **Bezerromycetales and Wiesneriomycetales ord. nov. (class Dothideomycetes), with two novel genera to accommodate endophytic fungi from Brazilian cactus.** Mycological Progress, 2017a.

BEZERRA, Jadson DP *et al.* **New endophytic *Toxicocladosporium* species from cacti in Brazil, and description of *Neocladosporium* gen. nov.** IMA fungus, 2017b.

BEZERRA, Rayanna Hellem Santos. **Ectoparasitas de morcegos (Mammalia: Chiroptera) em fragmento de Mata Atlântica**, 2015.

BILLETER, S. A. *et al.* **Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission.** Medical and veterinary entomology, 2008.

BLACKWELL, Meredith. **Developmental morphology and taxonomic characters of *Arthrorhynchus nycteribiae* and *A. eucampsipodae* (Laboulbeniomycetes).** Mycologia, 1980a.

BLACKWELL, Meredith. **Incidence, host specificity, distribution, and morphological variation in *Arthrorhynchus nycteribiae* and *A. eucampsipodae* (Laboulbeniomycetes).** Mycologia, 1980b.

BROOK, Cara E. *et al.* ***Bartonella* spp. in fruit bats and blood-feeding ectoparasites in Madagascar.** PLoS Neglected Tropical Diseases, 2015.

CARBONE, Ignazio; KOHN, Linda M. **A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes.** Mycologia, 1999.

COLWELL, Robert K.; ELSSENHOHN, Johanna E. **EstimateS turns 20: statistical estimation of species richness and shared species from samples, with non-parametric extrapolation.** Ecography, 2014.

CHI, Lu-Ping *et al.* **A new steroid with 7 β , 8 β -epoxidation from the deep sea-derived fungus *Aspergillus penicillioides* SD-311.** Journal of Asian Natural Products Research, 2021.

CROUS, P. W. *et al.* **Fungal Planet description sheets: 785–867.** Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 2018.

CUNHA, Aline OB *et al.* **Living in the dark: Bat caves as hotspots of fungal diversity.** PLoS one, 2020.

DA SILVA, F. Maia *et al.* ***Trypanosoma rangeli* isolates of bats from Central Brazil: genotyping and phylogenetic analysis enable description of a new lineage using spliced-leader gene sequences.** Acta Tropica, 2009.

DE GROOT, Michiel D. *et al.* **On the Fly: Tritrophic Associations of Bats, Bat Flies, and Fungi.** Journal of Fungi, 2020.

DE GRUYTER, Johannes *et al.* **Systematic reappraisal of species in Phoma section Paraphoma, Pyrenochaeta and Pleurophoma.** Mycologia, 2010.

DE HOOG, G. S. *et al.* **Atlas of Clinical Fungi**, 2009.

DÍAZ, M. Mónica *et al.* **Clave de identificación de los murciélagos de Sudamérica/Chave de identificação dos morcegos da América do Sul.** Publicación Especial Nro, 2016.

DICK, Carl W.; PATTERSON, Bruce D. **Bat flies: obligate ectoparasites of bats.** In: Micromammals and macroparasites, 2006.

DOGONNIUCK, Alexander E.; SQUIRES, Timothy J.; WEIR, Alex. Studies on Dimorphomycetaceae: I. New species of *Nycteromyces* and *Dimeromyces* (Laboulbeniales) on bat flies (Streblidae). **Mycologia**, 2019.

EGER, J. L.; GARDNER, A. L. Mammals of South America Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats, 2008.

FALCOZ, L. **Pupipara (Dipteres) (première série).** Biospeologica XLIX. Arch Zool Exp Gen, 1923.

FENG, Yun *et al.* **Isolation of Kaeng Khoi virus (KKV) from *Eucampsipoda sundaica* bat flies in China.** Virus Research, 2017.

FOLEY, Janet *et al.* **Investigating and managing the rapid emergence of white-nose syndrome, a novel, fatal, infectious disease of hibernating bats.** Conservation biology, 2011.

FÖRSTER, Maïke *et al.* **Pilot study on synanthropic flies (e.g., *Musca*, *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Fannia*, *Lucilia*, *Stomoxys*) as vectors of pathogenic microorganisms.** Parasitology research, 2007.

FRANK, Raphael *et al.* **Macroparasites of Microchiroptera: bat ectoparasites of Central and South America.** Bats (Chiroptera) as vectors of diseases and parasites, 2014.

FRITZ, Gary N. **Biology and ecology of bat flies (Diptera: Streblidae) on bats in the genus *Carollia*.** Journal of Medical Entomology, 1983.

GARDNER, R. A.; MOLYNEUX, D. H. ***Polychromophilus murinus*: a malarial parasite of bats: life-history and ultrastructural studies.** Parasitology, 1988.

GLASS, N. Louise; DONALDSON, Gary C. **Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes.** Applied and environmental microbiology, 1995.

GOLDBERG, Tony L. *et al.* **Kanyawara virus: a novel rhabdovirus infecting newly discovered nycteribiid bat flies infesting previously unknown pteropodid bats in Uganda.** Scientific Reports, 2017.

GOMES, Ana Paula de Souza; RODAL, Maria Jesus Nogueira; MELO, André Laurênio de. **Florística e fitogeografia da vegetação arbustiva subcaducifolia da Chapada de São José, Buíque, PE, Brasil.** Acta Botanica Brasilica, 2006.

GRACIOLLI, Gustavo; COELHO, Daniela Cunha. **Streblidae (Diptera, Hippoboscoidea) sobre morcegos filostomídeos (Chiroptera, Phyllostomidae) em cavernas do distrito Federal Brasil**. Revista Brasileira de Zoologia, 2001.

GRACIOLLI, Gustavo; AGUIAR, Ludmilla S. **Ocorrência de moscas ectoparasitas (Diptera, Streblidae e Nycteribiidae) de morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Cerrado de Brasília, Distrito Federal, Brasil**. Revista Brasileira de Zoologia, 2002.

GRACIOLLI, Gustavo; AUTINO, Analía G.; CLAPS, Guillermo L. **Catalogue of American Nycteribiidae (Diptera, Hippoboscoidea)**. Revista Brasileira de Entomologia, 2007.

GRACIOLLI, G. *et al.* **Artrópodos ectoparasitos de morcegos no Brasil**. SM Pacheco, RV Marques, CEL Esbérard, Morcegos do Brasil: biologia, sistemática, ecologia e conservação, Armazém Digital, Porto Alegre, 2008.

GRACIOLLI, Gustavo; ZORTÉA, Marlon; CARVALHO, Luiz Felipe Alves da Cunha. **Bat flies (Diptera, Streblidae and Nycteribiidae) in a Cerrado area of Goiás state, Brazil**. Revista Brasileira de Entomologia, 2010.

GUPTA, Kirti *et al.* **Fatal Disseminated *Aspergillus Penicilliioides* Infection in a 3-Month-Old Infant with Suspected Cystic Fibrosis: Autopsy Case Report with Review of Literature**. Pediatric and Developmental Pathology, 2016.

HAELEWATERS, Danny *et al.* **Parasites of parasites of bats: Laboulbeniales (Fungi: Ascomycota) on bat flies (Diptera: Nycteribiidae) in central Europe**. Parasites & Vectors, 2017.

HAELEWATERS, Danny; PFISTER, D. H. **Morphological species of *Gloeandromyces* (Ascomycota, Laboulbeniales) evaluated using single-locus species delimitation methods**. Fungal Systematics and Evolution, 2019.

HAELEWATERS, Danny; HILLER, Thomas; DICK, Carl W. **Bats, bat flies, and fungi: A case of hyperparasitism**. Trends in Parasitology, 2018.

HAELEWATERS, Danny *et al.* **Mortality of native and invasive ladybirds co-infected by ectoparasitic and entomopathogenic fungi**. PeerJ, 2020.

HAELEWATERS, Danny *et al.* **New and interesting Laboulbeniales from Panama and neighboring areas**. Nova Hedwigia, 2017.

HONG, Seung-Beom *et al.* **Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species**. Mycologia, 2005.

HOU, L. W. *et al.* **The phoma-like dilemma**. Studies in mycology, 2020.

HOUBRAKEN, J. *et al.* **Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species**. Studies in mycology, 2020.

JANSEN VAN VUREN, Petrus *et al.* **Isolation of a novel fusogenic orthoreovirus from *Eucampsipoda africana* bat flies in South Africa.** Viruses, 2016.

JOHNSON, Lynnaun JAN *et al.* **Psychrophilic and psychrotolerant fungi on bats and the presence of *Geomyces* spp. on bat wings prior to the arrival of white nose syndrome.** Applied and Environmental Microbiology, 2013.

JUDSON, S. D.; FRANK, H. K.; HADLY, E. A. **Bartonellae are prevalent and diverse in Costa Rican bats and bat flies.** Zoonoses and Public Health, 2015.

KATOH, Kazutaka; STANDLEY, Daron M. **MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability.** Molecular biology and evolution, 2013.

KOKUREWICZ, Tomasz *et al.* **Bats increase the number of cultivable airborne fungi in the “Nietoperek” bat reserve in Western Poland.** Microbial Ecology, 2016.

KOLENATI, F. A. **Epizoa der Nycteribien.** Wien Entomol Monatsschr, 1857.

KUMAR, Sudhir; STECHER, Glen; TAMURA, Koichiro. **MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets.** Molecular biology and evolution, 2016.

KUNZ, Thomas H.; LUMSDEN, Linda F.; FENTON, M. B. **Ecology of cavity and foliage roosting bats.** Bat ecology, 2003.

LEAL, Edson Silva Barbosa; BERNARD, Enrico. **Mobility of bats between caves: ecological aspects and implications for conservation and environmental licensing activities in Brazil.** Studies on Neotropical Fauna and Environment, 2021.

LINDNER, Daniel L. *et al.* **DNA-based detection of the fungal pathogen *Geomyces destructans* in soils from bat hibernacula.** Mycologia, 2011.

LIU, Jingyu *et al.* **A new species of *Gloeandromyces* from Ecuador and Panama revealed by morphology and phylogenetic reconstruction, with a discussion of secondary barcodes in Laboulbeniomyces taxonomy.** Mycologia, 2020.

LOFTIS, Amanda D. *et al.* **Detection of *Rickettsia*, *Borrelia*, and *Bartonella* in *Carios kelleyi* (Acari: Argasidae).** Journal of Medical Entomology, 2005.

LORCH, Jeffrey M. *et al.* ***Malassezia vespertilionis* sp. nov.: a new cold-tolerant species of yeast isolated from bats.** Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 2018.

LUČAN, Radek K. *et al.* **Ectoparasites may serve as vectors for the white-nose syndrome fungus.** Parasites & Vectors, 2016.

MAA, T. C. **Records and descriptions of Nycteribiidae and Streblidae (Diptera).** Pacific Insects, 1962.

MACHOWICZ-MATEJKO, Eulalia; FURMAŃCZYK, Agnieszka; ZALEWSKA, Ewa Dorota. ***Aspergillus penicillioides* Speg. implicated in keratomycosis**. Polish Journal of Microbiology, 2018.

MARSHALL, Adrian G. **Ecology of insects ectoparasitic on bats**. Ecology of bats, 1982.

MARIN-FELIX, Yasmina *et al.* **Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3**. Studies in mycology, 2019.

MEROLA, A. **Interessante ritrovamento di labulbeniologia cavernicola: *Arthrorhynchus acrandros* n. sp. (con considerazioni sul gen. *Arthrorhynchus*)**. Bol Soc Nat Napoli, 1952.

MILLER, Mark A.; PFEIFFER, Wayne; SCHWARTZ, Terri. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees**. In: 2010 gateway computing environments workshop (GCE), 2010.

MOESZ, G. **Mykológiai közlemények VIII. Mykologische Mitteilungen VIII**. Bot Közl, 1931.

MORSE, Solon F. *et al.* **Global distribution and genetic diversity of *Bartonella* in bat flies (Hippoboscoidea, Streblidae, Nycteribiidae)**. Infection, Genetics and Evolution, 2012.

MOSKALUK, Alexandra E. *et al.* **Molecular detection of *Bartonella* species in blood-feeding bat flies from Mexico**. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2018.

NAEGLE, Michael A. *et al.* **Reassessing the phylogenetic position of the epizoic earwigs (Insecta: Dermoptera)**. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2016.

NAZARETH, Sarita W.; GONSALVES, Valerie. **Halophilic *Aspergillus penicillioides* from athalassohaline, thalassohaline, and polyhaline environments**. Frontiers in Microbiology, 2014.

NOWOSAD, A. ***Arthrorhynchus nycteribiae* (Peyritsch) Thaxter (Ascomycetes, Laboulbeniales) w Polsce**. Polskie pismo entomologiczne. Bulletin entomologique de la Pologne, 1973.

NYLANDER, J. A. A. **MrModeltest (version 2.2)**, 2004. Disponível em: <http://www.abc.se/~nylander/>. Acesso em: 20 abr. 2021.

OGÓREK, Rafał; VIŠŇOVSKÁ, Zuzana; TANČINOVÁ, Dana. **Mycobiota of underground habitats: case study of Harmanecká Cave in Slovakia**. Microbial Ecology, 2016.

PAROLA, Philippe; DAVOUST, Bernard; RAOULT, Didier. **Tick-and flea-borne rickettsial emerging zoonoses**. Veterinary research, 2005.

PARIA, Kishalay; CHAKRABORTY, Susanta Kumar. **Eco-potential of *Aspergillus penicillioides* (F12): bioremediation and antibacterial activity**. SN Applied Sciences, 2019.

PATERSON, W. Brockley; WOO, Patrick TK. **The development of the culture and bloodstream forms of three *Trypanosoma* (Schizotrypanum) spp. (Protista: Zoomastigophorea) from bats in *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae)**. Canadian journal of zoology, 1984.

PATTERSON, Bruce D.; DICK, Carl W.; DITTMAR, Katharina. **Roosting habits of bats affect their parasitism by bat flies (Diptera: Streblidae)**. Journal of Tropical Ecology, 2007.

PAULA, Caio CP DE *et al.* **High cellulolytic activities in filamentous fungi isolated from an extreme oligotrophic subterranean environment (Catão cave) in Brazil**. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 2019.

PEREIRA, Mayara *et al.* **Richness of *Cladosporium* in a tropical bat cave with the description of two new species**. Mycol Prog, 2022.

PEYRITSCH, Johann. **Ueber einige Pilze aus der Familie der Laboulbenien: Mit 2 farbigen Tafeln. Separ.-Abdr. ad 64. Bd. d. Sitzb. dk Akad. d. Wiss. Staatsdruckerei**, 1871.

PICARD, François. **Contribution a l'etude des Laboulbeniacees d'Europe et du nord de l'Afrique**. Bull. Soc. Mycol. France, 1913.

PUECHMAILLE, Sébastien J. *et al.* **Pan-European distribution of white-nose syndrome fungus (*Geomyces destructans*) not associated with mass mortality**. PloS one, 2011.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. **FigTree v1. 3.1** Institute of Evolutionary Biology. University of Edinburgh, 2010.

RAYNER, Ronald William *et al.* **A mycological colour chart**. A mycological colour char, 1970.

REEVES, Will K. *et al.* **Ecology of bats, their ectoparasites, and associated pathogens on Saint Kitts Island**. Journal of Medical Entomology, 2016.

RITO, Kátia F. *et al.* **Precipitation mediates the effect of human disturbance on the Brazilian Caatinga vegetation**. Journal of Ecology, 2017.

RODRIGUES, André *et al.* **Terrestrial filamentous fungi from Gruta do Catão (São Desidério, Bahia, Northeastern Brazil) show high levels of cellulose degradation**, 2016.

RONQUIST, Fredrik; HUELSENBECK, John P. **MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models**. Bioinformatics, 2003.

- RYBERG, Olaf. **Studies on bats and bat parasites**. Svensk Natur, 1947.
- SAMSINAKOVA, A. **Prispevek k poznání entomofytních hub na muchulovitých (Nycteribiidae)**. Zool List, 1960.
- SANTAMARIA, Sergi. **New or interesting Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) from Spain, V**. Nova Hedwigia, 2006.
- SAMSON, Robert A. *et al.* **Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus***. Studies in mycology, 2014.
- SCHAER, Juliane *et al.* **Nycteria parasites of Afrotropical insectivorous bats**. International journal for parasitology, 2015.
- SCOTT, Hugh. **Descriptions and records of Nycteribiidae (Diptera Pupipara), with a discussion of the genus *Basilia***. Zoological Journal of the Linnean Society, 1936.
- SEIFERT, Keith A.; GAMS, W. **The genera of Hyphomycetes–2011 update**. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 2011.
- SIDALC, BDAGBAMB. **Biodiversidade brasileira: avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. P. imprensa, 2002.
- SILVA, José Maria Cardoso da *et al.* **The Caatinga: understanding the challenges**. In: Caatinga, 2017.
- SKLENÁŘ, F. *et al.* **Phylogeny of xerophilic aspergilli (subgenus *Aspergillus*) and taxonomic revision of section Restricti**. Studies in mycology, 2017.
- SPECHT, Maria Joana *et al.* **Socioeconomic differences among resident, users and neighbour populations of a protected area in the Brazilian dry forest**. Journal of environmental management, 2019.
- SPEGAZZINI, Carlos. **Hongos de la caña de azúcar**. Sola, Sesé y Comp., 1896.
- SPEISER, P. **Zur kenntnis der geographischen verbreitung der Ascomyceten-gattung Helminthophana Peyritsch**, 1900.
- STAMATAKIS, Alexandros. **RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies**. Bioinformatics, 2014.
- SUNG, Gi-Ho *et al.* **A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach**. Molecular phylogenetics and evolution, 2007.
- SZENTIVÁNYI, Tamara; CHRISTE, Philippe; GLAIZOT, Olivier. **Bat flies and their microparasites: current knowledge and distribution**. Frontiers in Veterinary Science, 2019.

TAN, James S. **Human zoonotic infections transmitted by dogs and cats**. Archives of Internal Medicine, 1997.

TAYLOR, Erika Linzi Silva *et al.* **Cave entrance dependent spore dispersion of filamentous fungi isolated from various sediments of iron ore cave in Brazil: a colloquy on human threats while caving**. Ambient Science, 2014.

TAYLOR, Erika Linzi Silva; RESENDE STOIANOFF, Maria Aparecida de; LOPES FERREIRA, Rodrigo. **Mycological study for a management plan of a neotropical show cave (Brazil)**. International Journal of Speleology, 2013.

THAXTER, Roland. **Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. III. In: Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences**. American Academy of Arts & Sciences, 1901.

THAXTER, Roland. **Contribution Toward a Monograph of the Laboulbeniaceae**. EW Wheeler, 1908.

THAXTER, Roland. **New Laboulbeniales, chiefly dipterophilous American species. In: Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences**. American Academy of Arts & Sciences, 1917.

THAXTER, Roland. **Contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae**. Memoirs of the American Academy of Arts and Sciences, 1924.

THAXTER, Roland. **Contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae. Part V**. Memoirs of the American Academy of Arts and Sciences, 1931.

TURNER, James M. *et al.* **Conspecific disturbance contributes to altered hibernation patterns in bats with white-nose syndrome**. Physiology & Behavior, 2015.

URICH, F. W. *et al.* **Note on the Dipterous Bat-parasite, *Cydopodia greeffi*, Karsch, and on a new Species of Hymenopterous (Chalcid) Parasite bred from it**. Proceedings of the Zoological Society, 1922.

VALENZUELA-LOPEZ, N. *et al.* **Coelomycetous Dothideomycetes with emphasis on the families Cucurbitariaceae and Didymellaceae**. Studies in mycology, 2018.

VAN VUREN, Petrus Jansen *et al.* **Isolation of a novel orthobunyavirus from bat flies (*Eucampsipoda africana*)**. The Journal of general virology, 2017.

VANDERWOLF, Karen J. *et al.* **A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves**. International Journal of Speleology, 2013.

VISAGIE, C. M. *et al.* ***Penicillium* diversity in Canadian bat caves, including a new species, *P. speluncae***. Fungal Systematics and Evolution, 2020.

VISAGIE, C. M.; GOODWELL, M.; NKWE, D. O. ***Aspergillus* diversity from the Gcwihaba Cave in Botswana and description of one new species.** Fungal Systematics and Evolution, 2021.

VISWANATHAN, T. S. A NEW SPECIES OF PYRENOCHAETA FROM SUGARCANE IN INDIA. Current Science, 1957.

WALKER, Melissa J. *et al.* **A tripartite survey of hyperparasitic fungi associated with ectoparasitic flies on bats (Mammalia: Chiroptera) in a neotropical cloud forest in Panama.** Parasite, 2018.

WHITAKER JR, J. O. **Collecting and preserving ectoparasites for ecological study,** 1988.

WHITE, Thomas J. *et al.* **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.** PCR protocols: a guide to methods and applications, 1990.

WITSENBURG, F. *et al.* **How a haemosporidian parasite of bats gets around: the genetic structure of a parasite, vector and host compared.** Molecular Ecology, 2015.

WITSENBURG, Fardo; SCHNEIDER, Franziska; CHRISTE, Philippe. **Epidemiological traits of the malaria-like parasite *Polychromophilus murinus* in the Daubenton's bat *Myotis daubentonii*.** Parasites & vectors, 2014.

XU, Ziqian *et al.* **Isolation and Identification of a highly divergent Kaeng Khoi virus from bat flies (*Eucampsipoda sundaica*) in China.** Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2019.

ZHANG, Z. F. *et al.* **Culturable mycobiota from Karst caves in China, with descriptions of 20 new species.** Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 2017.

ZHANG, Zhi-Feng *et al.* **Culturable mycobiota from Karst caves in China II, with descriptions of 33 new species.** Fungal Diversity, 2021.