



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

VITÓRIA CRISTINA SANTIAGO ALVES

**RIQUEZA DE FUNGOS ANEMÓFILOS DA CAVERNA ABRIGO DO LETREIRO DO
PARQUE NACIONAL DA FURNA FEIA – RN.**

Recife
2022

VITÓRIA CRISTINA SANTIAGO ALVES

**RIQUEZA DE FUNGOS ANEMÓFILOS DA CAVERNA ABRIGO DO LETREIRO DO
PARQUE NACIONAL DA FURNA FEIA – RN.**

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: Taxonomia e Ecologia de Fungos.

Orientador: Jadson Diogo Pereira Bezerra

Coorientadora: Cristina Maria de Souza-Motta

Recife

2022

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Alves, Vitória Cristina Santiago.

Riqueza de fungos anemófilos da Caverna Abrigo do Letreiro do Parque Nacional da Fuma Feia - RN. /
Vitória Cristina Santiago Alves . – 2022.

75 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Jadson Diogo Pereira Bezerra.

Coorientadora: Cristina Maria de Souza - Motta.

.

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

Inclui referências.

1. Ambiente cavernícola. 2. Fungos do ar. 3. Caatinga. I. Bezerra, Jadson Diogo Pereira (Orient.). II.
Souza - Motta, Cristina Maria de (Coorient.). III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-050

VITÓRIA CRISTINA SANTIAGO ALVES

**RIQUEZA DE FUNGOS ANEMÓFILOS DA CAVERNA ABRIGO DO LETREIRO DO
PARQUE NACIONAL DA FURNA FEIA – RN.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 10/03/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra (Orientador)
Universidade Federal de Goiás

Prof. Dr. André Luiz Firmino (Examinador Externo)
Universidade Federal de Uberlândia

Dr. Diego de Medeiros Bento (Examinador externo)
CECAV/ICMBio

Dr. Rafael José Vilela de Oliveira (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. André Wilson Campos Rosado (Examinador externo)
Universidade Federal de Viçosa

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente, sem ele não conseguiria chegar até aqui. A minha mãe Edinalva e aos meus familiares que me apoiaram sempre para realização dos meus estudos. Ao meu esposo Carlos Alberto por tanto apoio, pelos artigos pesquisados, e pelas horas de ensaio antes das apresentações. Agradeço também as amizades conquistadas durante esses dois anos (Jailma Alves, Marília Melo, Mayara Correia e Victória Souza) e a turma de mestrado 2020 por todo auxílio durante as disciplinas, pelos trabalhos realizados em conjunto e todas as aulas compartilhando conhecimentos.

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida para a realização da minha pesquisa. À Universidade Federal de Pernambuco, aos professores e a todos que fazem parte do Departamento de Micologia (UFPE) que, apesar das dificuldades encontradas devido a inesperada pandemia da Covid-19, durante esses dois anos, fizeram o possível para que o curso não parasse.

Em especial, agradeço ao meu orientador o professor Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra por todas as orientações, correções, sugestões, reuniões, tudo isso para que fosse possível a realização deste trabalho. Os agradecimentos especiais também se estendem à professora Dra. Cristina Maria de Souza-Motta, minha coorientadora, por todo apoio antes mesmo da minha entrada no curso de mestrado, por todos os puxões de orelhas construtivos, noites decidindo os próximos passos e por ter me acolhido no seu grupo de pesquisa.

Agradeço demasiadamente à Joenny Maria, Rafaela Alves, João Lucas e Laureana Sobral por terem me acolhido nos primeiros dias de trabalho em laboratório, pela paciência em ensinar e por compartilhar bons momentos de risadas e trabalho duro. Um ambiente de trabalho leve e tranquilo é capaz de melhorar o rendimento de uma equipe.

Deixo aqui registrada a minha gratidão também à professora Dra. Norma Buarque de Gusmão por ter aberto as portas do seu laboratório ainda na minha graduação, pois, grande parte dos conhecimentos adquiridos nesse período eu pude utilizar para realização do mestrado. Estendo minha gratidão à Dra. Emanuella Maria da Conceição que me acompanhou de perto, ensinou as metodologias de laboratório, cuidou das minhas asas para que hoje eu possa voar sozinha. Á todos meus mais sinceros agradecimentos.

“O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano”. (ISAAC NEWTON, 1687).

RESUMO

As cavernas são cavidades naturais subterrâneas acessíveis ao ser humano, que abrigam uma grande biodiversidade. São ecossistemas frágeis e delicados, caracterizados pela ausência parcial ou total de luz. Apesar de suas características excepcionais, como baixa disponibilidade de nutrientes e temperatura e umidade estáveis, as cavernas abrigam uma riqueza de organismos capazes de sobreviver em tais condições, como os fungos. Diante disso, este estudo teve como objetivo identificar as espécies de fungos presentes no ar da Caverna Abrigo do Letreiro, que faz parte de um complexo de cavernas da Caatinga, localizada no Parque Nacional da Furna Feia – RN. Além disso, fornecer dados micológicos para a elaboração do plano de manejo da caverna. A caverna foi tratada como uma única câmara com três pontos de coleta a partir da entrada principal: ponto 1 (distante 5,7m da entrada), ponto 2 (5,2m) e ponto 3 (9,1m). Os fungos foram isolados por meio da exposição de placas de Petri com meio de cultura e posterior incubação a 28 °C durante 7-14 dias no escuro. Após isso, foi contabilizado o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e as colônias selecionadas foram isoladas. A identificação foi realizada utilizando dados morfológicos e análise filogenética de sequências de rDNA (ex. ITS, LSU, TEF1- α , ACT, CAL e β -TUB). No total, foram obtidas 526 UFC, sendo o ponto 3o que apresentou mais colônias (UFC = 261), seguido pelos pontos 1 (UFC = 146) e 2 (UFC = 119). Foram selecionados 40 isolados, que foram identificados como pertencentes a 13 gêneros do filo Ascomycota e um gênero de Basidiomycota (*Sympodiomyopsis*). O gênero *Aspergillus* foi o mais comumente relatado (nove espécies), seguido por *Cladosporium* (três espécies). A maior riqueza de fungos foi observada no ponto 1. Do total de isolados (40), foram identificadas 25 espécies, das quais, cinco foram consideradas como possíveis novidades taxonômicas dos gêneros *Aspergillus*, *Lecanicillium*, *Malbranchea*, *Pseudohumicola* e *Talaromyces*. Este estudo demonstra o potencial das cavernas da Caatinga para a descoberta de uma riqueza de fungos (conhecidos ou não), e contribui para que dados micológicos sejam incluídos no plano de manejo das cavernas que também podem ser consideradas um “hotspots” da diversidade de fungos no Brasil.

Palavras-chave: Ambiente cavernícola. Fungos do ar. Caatinga.

ABSTRACT

Caves are natural underground cavities accessible to humans, which harbor a great biodiversity; these ecosystems are fragile and delicate, being characterized by the partial or total absence of light. Despite their exceptional characteristics, such as low nutrient availability and stable temperature and humidity, caves harbour a richness of organisms capable of surviving in such conditions, such as fungi. Therefore, this study aimed to identify airborne fungal species in the Abrigo do Letreiro Cave, which is part of a complex of Caatinga caves, located in the Furna Feia National Park - RN. In addition, this study also provide mycological data for the elaboration of the cave management plan. The cave was treated as a single chamber with three collection points from the main entrance: point 1 (distant 5,7m from the entrance), point 2 (5,2m) and point 3 (9,1m). Fungi were isolated by exposing Petri dishes whit culture medium and then incubating at 28 °C for 7-14 days in the dark. After that, the number of Colony Forming Units (CFUs) was counted and the selected colonies were isolated. Identification was performed by using morphological data and phylogenetic analysis of rDNA sequences (e.g., ITS, LSU, TEF1- α , ACT, CAL and β -TUB). In total, 526 CFU were obtained, with point 3 showing the greatest number of colonies (CFU = 261), followed by points 1 (CFU = 146) and 2 (CFU = 119). We selected 40 isolates which were identified as belonging to 13 genera of the phylum Ascomycota and one genus of Basidiomycota (*Sympodiomyces*). The genus *Aspergillus* was the most commonly reported (nine species), followed by *Cladosporium* (three species). The greatest richness of fungi was observed at point 1. From the total of isolates (40), 25 species were identified, of which five (20%) were considered as possible taxonomic novelties of the genera *Aspergillus*, *Lecanicillium*, *Malbranchea*, *Pseudohumicola* and *Talaromyces*. This study demonstrates the potential of Caatinga caves for the discovery of a richness of fungi (known or unknown), and contributes to mycological data being included in the management plan of caves that can also be considered a hotspots of diversity of fungi in Brazil.

Keywords: Cave environment. Airborne fungi. Caatinga.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDA	Batata Dextrose Ágar
CREA	Creatine Sucrose Ágar
CYA	Czapeck Yeast Autolysate Ágar
CYAs	Czapeck Yeast Autolysate Ágar com 5% de NaCl
CZ	Czapeck's Ágar
DG18	Dichloran 18% Glicerol Ágar
MEA	Malt Extract Ágar
PCR	Polimerase Chain Reaction
OA	Oatmeal Ágar
SNA	Sacarose Nutriente Ágar
YES	Yeast Extract Sucrose Ágar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.2	OBJETIVOS	13
1.2.1	<i>Objetivo Geral</i>	13
1.2.2	<i>Objetivos Específicos</i>	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	Ambiente cavernícola	14
2.1.1	<i>Cavernas no Brasil</i>	16
2.2	Fungos anemófilos	22
2.3	Fungos em cavernas	25
2.3.1	<i>Fungos em cavernas no Brasil</i>	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1	Área de estudo	33
3.2	Coleta	37
3.3	Isolamento, purificação e identificação dos fungos	39
3.4	Extração de DNA, amplificação e sequenciamento	40
3.5	Alinhamento das sequências e análise filogenética	41
4	RESULTADOS	43
4.1	Abundância de fungos anemófilos da Caverna Abrigo do Letreiro	43
4.2	Riqueza de fungos anemófilos da Caverna Abrigo do Letreiro	43
4.3	Taxonomia	48
5	DISCUSSÃO	59
6	CONCLUSÕES	63
	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

As cavernas são formações geológicas subterrâneas que possuem características extremas para o desenvolvimento da vida (NORTHUP & LAVOIE, 2001). Apresentam uma vasta comunidade biótica bem como elementos climáticos, geológicos e paleontológicos característicos, o que as tornam visualmente atrativas para visitas e principalmente para a realização de estudos científicos (LOBO & BOGGIANI, 2013).

Os fatores abióticos como a ausência de luz e baixos níveis de carbono e componentes orgânicos disponíveis geralmente são estáveis no interior das cavernas, possuindo assim, poucos organismos fotossintetizantes, sendo assim, os recursos orgânicos, geralmente, são de origem secundária (HOWARTH, 1983; FERREIRA *et al.*, 2007; SCHNEIDER *et al.*, 2011; SOUZA-SILVA *et al.*, 2012). Apesar das condições limitantes desses tipos de ambientes, diversos microrganismos conseguem se desenvolver nesses locais e podem estar envolvidos em vários processos geológicos que vão desde a deposição de espeleotemas ao alargamento das cavernas (BARTON, 2006).

Os fungos são considerados organismos cosmopolitas, habitando ambientes aquáticos e terrestres (PEAY, 2016), e também são capazes de colonizar habitats que apresentam condições consideradas extremas para alguns organismos, como as cavernas. Fungos possuem um papel fundamental na ecologia cavernícola (FERREIRA *et al.*, 2000; NIEVES-RIVERA, 2003; NOVÁKOVÁ, 2009), participam da ciclagem de nutrientes, além de serem fontes de recursos orgânicos para outros organismos. De modo geral, as cavernas são consideradas como ambientes oligotróficos típicos (BASTIAN *et al.*, 2009) e conseqüentemente nesses locais há o desenvolvimento de fungos oligotróficos (JIANG *et al.*, 2017). O ambiente cavernícola apresenta poucas variações de temperatura e umidade, favorecendo o desenvolvimento de fungos psicrófilos, como o *Pseudogymnoascus destructans*, responsável pela “white-nose syndrome”, doença que acomete algumas espécies de morcegos deixando-os com o nariz esbranquiçado pela colonização fúngica (NJUS, 2014).

Nas cavernas, os esporos de diversos fungos podem ser levados de fora para dentro ou o inverso pelas correntes de ar, até mesmo transportados pelos morcegos e visitantes transitórios que podem levar consigo propágulos fúngicos de uma caverna

a outra. Além disso, pesquisadores que visitam cavernas para realização de estudos, podem carregar propágulos através dos equipamentos utilizados (ZHELIAZKOVA *et al.*, 2020). Contudo, a principal forma de dispersão dos fungos é pelo ar, já que esses organismos são grandes produtores de esporos que são carregados pela corrente de ar e permanecem ativos no ambiente por longos períodos (LOBATO, 2009). Esses organismos são chamados de fungos anemófilos pois apresentam dispersão aérea e pertencem a diferentes espécies (FLORES & ONOFRE, 2010). A corrente de ar é o principal mecanismo que influencia no número e composição de espécies de fungos no ambiente cavernícola, sendo responsável por trazer do ambiente externo propágulos que se desenvolvem no ambiente hipógeo (OGÓREK *et al.*, 2013).

Alguns esporos de fungos que ficam em suspensão no ar, se porventura forem inalados, podem causar doenças oportunistas ou até mesmo micose sistêmica como a histoplasmose (TAYLOR *et al.*, 2009; VICENTINI *et al.*, 2012). Sendo assim, o estudo da micobiota é indispensável no ambiente cavernícola para que seja elaborado um plano de manejo que serve de guia para que outras atividades sejam realizadas nesse local, A resolução do CONAMA 347/2004 define o conceito de cavidades naturais subterrâneas, bem como o conceito de plano de manejo e quais são as autoridades responsáveis pela sua elaboração. O plano de manejo deve possuir informações como a geologia, paleontologia, hidrografia, microclimatologia do local, além de dados bióticos como a flora, fauna e organismos patógenos e nocivos, onde podem estar incluídos os fungos (CECAV, 2008).

Devido à grande importância que esses fungos apresentam, não apenas na ecologia cavernícola, mas também na micologia médica, diversos estudos foram realizados sobre a micobiota de cavernas por todo o mundo (VANDERWOLF *et al.*, 2013). Mesmo possuindo um número representativo de cavernas, o Brasil possui poucos estudos publicados sobre a micobiota desses ambientes. O primeiro registro de fungos cavernícolas no Brasil foi em 1963, com a identificação de leveduras do solo de uma caverna no Rio de Janeiro (ROGERS & BENEKE, 1963). Com o passar dos anos, outras cavernas em estados brasileiros também foram estudadas quanto à presença de fungos, revelando um potencial de diversidade fúngica nesses ambientes (CASTRILLÓN *et al.*, 1976; FERREIRA *et al.*, 2000; PEDRO & BONONI, 2007; TAYLOR *et al.*, 2009; TAYLOR *et al.*, 2013; TAYLOR *et al.*, 2014; PAULA *et al.*, 2016; FONSECA *et al.*, 2017; HORNICK, 2017; CUNHA *et al.*, 2020).

O estudo mais recente publicado sobre fungos cavernícolas no Brasil foi desenvolvido na Caatinga, onde foram isolados fungos do guano, ar e corpo de morcegos da caverna Meu Rei, localizada no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco (CUNHA *et al.*, 2020). Foram identificados fungos dos gêneros *Aplosporella*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Candida*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Deniquelata*, *Diaporthe*, *Fusarium*, *Geosmithia*, *Gymnoascus*, *Humicola*, *Hypoxyton*, *Meyerozyma*, *Myceliophthora*, *Nodidymella*, *Nothophoma*, *Ochroconis*, *Paecilomyces*, *Paraconiothyrium*, *Paraphaeosphaeria*, *Penicillium*, *Phaeosphaeria*, *Polyschema*, *Pupureocillium*, *Rhinocladiella*, *Sorocladium*, *Talaromyces*, *Rhodotorula*, *Sakaguchia*, *Schizophyllum*, *Trametes* e *Rhizopus* (CUNHA *et al.*, 2020). Esses resultados foram essenciais para tornar público o conhecimento dos diferentes fungos que habitam cavernas da Caatinga.

O nosso estudo objetivou investigar a riqueza de fungos cultiváveis no ar da caverna Abrigo do Letreiro, localizada no município de Baraúna/RN, no Parque Nacional da Furna Feia – RN, e também fornecer dados para futura elaboração do plano de manejo para visitação turística do local. Diante disso, nossa hipótese é de que a caverna Abrigo do Letreiro abriga espécies raras de fungos ou ainda não descritas para a ciência, considerando que as cavernas da Caatinga ainda são pouco exploradas quanto à micobiota (ver CUNHA *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2022).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 *Objetivo Geral*

Caracterizar morfológica e filogeneticamente os fungos presentes no ar da Caverna Abrigo do Letreiro localizada no Parque Nacional da Furna Feia – RN e fornecer dados micológicos para a estruturação do plano de manejo espeleológico.

1.2.2 *Objetivos específicos*

- Avaliar a riqueza de fungos cultiváveis presentes no ar da Caverna Abrigo do Letreiro – Baraúna/RN;
- Caracterizar os isolados com base na morfologia e utilizando técnicas de biologia molecular;
- Posicionar filogeneticamente os isolados obtidos;
- Fornecer informações micológicas para a inclusão no plano de manejo da caverna.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Ambiente cavernícola

O termo caverna vem do Latim *cavus* que na tradução livre significa buraco. Sendo assim, o conceito mais difundido para definir esses ambientes é que as cavernas são cavidades naturais em rochas abaixo da superfície do terreno que permitam o acesso de seres humanos (PILÓ & AULER, 2013). Apesar de ser uma definição superficial em relação à complexidade que esses locais oferecem, esse conceito é o mais utilizado. Na ótica científica, o conceito de caverna é um resultado de diversas informações, incluindo desde a gênese até as características geológicas (TRAVASSOS, 2019).

As cavernas podem ser classificadas de acordo com suas características físicas e essa classificação pode variar de acordo com os aspectos analisados. Para Bögli (1980) a classificação acontece de acordo com a gênese (formação), características geológicas, tamanho e características proeminentes. Na classificação pela formação, as cavernas podem ser primárias ou secundárias, sendo as primárias formadas simultaneamente com as rochas e as secundárias são formadas por forças externas e internas. A classificação geológica é baseada de acordo com o tipo de rocha em que se desenvolvem, sendo observados os fatores de solubilidade, dureza e resistência ao intemperismo e erosão. A classificação pelo tamanho é baseada pelo mapeamento de sua estrutura, sendo uma consequência da exploração científica. A classificação de acordo com características proeminentes está relacionada a acontecimentos naturais, por exemplo, cavernas que alagam ou não (BÖGLI, 1980).

Independentemente do tipo de caverna, sabe-se que esses ambientes são habitados há milhões de anos, seja por animais, plantas ou microrganismos. Os seres humanos também apresentam um histórico significativo com as cavernas, e desde a pré-história há registros de vestígios humanos que utilizavam o ambiente cavernícola como abrigo ou esconderijo (MONTEIRO *et al.*, 2019). Os primeiros homínídeos deixaram registros de expressões das suas ideias através de pinturas rupestres, que ser observadas dentro das cavernas, sendo esses locais as primeiras formas primitivas de assentamentos humanos (CERVANTES, 2007).

A partir do surgimento das primeiras civilizações, as cavernas deixaram de ser abrigos para seres humanos e tornaram-se refúgios temporários em ocasiões

esporádicas. Algumas religiões utilizavam ou ainda utilizam as cavernas como ambiente para realização de cultos (GUIMARÃES *et al.*, 2011). O ambiente cavernícola possui vários atrativos com potencial turístico, tais como os diversos tipos de espeleotemas, pinturas rupestres, presença de fósseis e outros elementos arqueológicos (NOVAKOVA *et al.*, 2012). Apesar de serem atrativos para movimentação turística e econômica local, as visitas nas cavernas podem causar alterações na biodiversidade e no ambiente cavernícola e suas interações (TRAJANO, 2000; JURADO, 2010).

As cavernas, de forma geral, apresentam um ambiente característico com poucas variações de condições abióticas como luminosidade, temperatura e umidade relativa do ar, entre outras condições (LOBO & BOGGIANI, 2013). Os organismos que são específicos desses locais são denominados troglóbios, ocorrendo exclusivamente em ambientes subterrâneos e geralmente apresentando especializações adquiridas ao longo da evolução em decorrência do seu isolamento geográfico nesse ambiente (ZAMPAULO, 2015). Existem ainda os organismos troglófilos, que possuem populações estabelecidas tanto no ambiente hipógeo (subterrâneo) quanto no epígeo (meio externo ou superfície), não sendo exclusivos de cavernas. Outros organismos são os troglógenos, que usam o ambiente subterrâneo como abrigos temporários e necessitam do ambiente externo para completar seu ciclo de vida (HOLSINGER & CULVER, 1988; MONTEIRO *et al.*, 2019). Existe ainda uma quarta categoria que são os organismos acidentais. Estes, não são capazes de estabelecer populações no hipógeo, penetrando involuntariamente esses ambientes seja por forma ativa (quedas ou através das entradas) ou passiva (correntes de água ou vento), não sendo considerados efetivamente cavernícolas, porém desempenham papéis importantes na ecologia desse ambiente (ZAMPAULO, 2015).

A bioespeleologia busca conhecer os organismos que vivem no ambiente subterrâneo, com intuito de verificar como eles conseguem sobreviver nesses ambientes, quais suas características importantes e, sobretudo, busca a proteção e preservação desses organismos/ecossistemas (TRAJANO & BICHUETTE, 2006). Para uma melhor compreensão das particularidades do ecossistema subterrâneo é necessário conhecer as diferenças entre o ambiente hipógeo e epígeo. O ambiente hipógeo é dividido em três zonas, denominadas zona de entrada, penumbra e afótica. Esta divisão é determinada pela distância em relação ao ambiente epígeo, considerando a diminuição gradativa da luminosidade e das flutuações de

temperatura, além da distribuição da diversidade de organismos (TRAJANO & BICHUETTE, 2006).

Em relação aos recursos alimentares, geralmente os nutrientes que entram nas cavernas são mais abundantes na zona de entrada em comparação às zonas mais profundas, o que favorece o desenvolvimento de uma maior diversidade biológica (DODONOV *et al.*, 2013). A zona de penumbra ou disfótica apresenta incidência menor de luz e temperatura em relação à zona de entrada, mesmo assim, ainda possui alguns organismos fotossintetizantes. A zona escura ou afótica apresenta ausência total de luz e estabilidade ambiental, geralmente a diversidade biológica é menor quando comparada às demais zonas (MONTEIRO *et al.*, 2019).

Apesar das dificuldades encontradas para se desenvolver nos ambientes cavernícolas, muitos microrganismos ainda sobrevivem nesses locais e são considerados agentes-chave na dinâmica de fluxo de nutrientes (SIMON *et al.*, 2007). Além disso, as cavernas ainda guardam importantes informações sobre nossos antepassados e sobre a geografia. Portanto, além da importância ecológica e espeleológica, apresentam importância arqueológica e paleontológica, necessitando de estudos voltados à sua conservação (RUCHKYS, 2007).

2.1.1 Cavernas no Brasil

O Brasil possui uma das maiores extensões territoriais, e é reconhecido como um dos países mais diversos do mundo (LEWINSSOHN & PRADO, 2005; MITTERMEIER *et al.*, 1998). Por todo seu território podemos encontrar diferentes características de fauna e flora que são relacionadas aos biomas que fazem parte de sua biogeografia, possui clima predominantemente tropical, onde as estações do ano não são bem definidas (COUTINHO, 2016).

Os ambientes naturais, de forma geral, possuem alguns fatores bióticos e abióticos que são característicos da região onde estão inseridos. Assim também se estende aos locais onde são encontradas formações cavernícolas, sendo os elementos bióticos e abióticos essenciais na composição espeleológica. Em relação aos fatores bióticos, algumas cavernas apresentam influências direta do ambiente externo, tendo em vista que a superfície desses locais possui diferenças na vegetação e composição da fauna visitante. Em relação à dinâmica trófica, geralmente as cavernas tropicais apresentam uma maior disponibilidade de nutrientes para suportar

uma maior diversidade de espécies, permitindo uma rede trófica mais complexa (SILVA *et al.*, 2011).

A relação carbono e nitrogênio disponível no ambiente hipógeo e epígeo é um parâmetro determinante nas condições extremas, e geralmente em cavernas temperadas a diferença na proporção de carbono e nitrogênio desses dois ambientes é muito maior que em cavernas tropicais, sendo mais facilmente observadas condições oligotróficas (PAULA, 2018). Além disso, não há estudos suficientes sobre a energia e nutrientes em cavernas tropicais correlacionando com a superfície, e deve-se tomar cuidado ao classificar as cavernas tropicais como oligotróficas (PAULA, 2018).

Em relação aos fatores abióticos, destacam-se principalmente as bacias hidrográficas, solos, biomas, geomorfologia e geologia. Esses fatores estão ligados à formação de cavernas e vão influenciar diretamente nesses ambientes (JANSEN & PEREIRA, 2014).

No Brasil, cerca de 9.997 cavernas estão localizadas no bioma Cerrado o que corresponde a mais de 46% das cavernas conhecidas no território brasileiro (Tabela 1), a Mata Atlântica e a Caatinga também se destacam no número de cavernas. Por outro lado, o Pampa e o Pantanal são os biomas que apresentam o menor número (CECAV, 2020).

Tabela 1: Número de cavernas por biomas brasileiros.

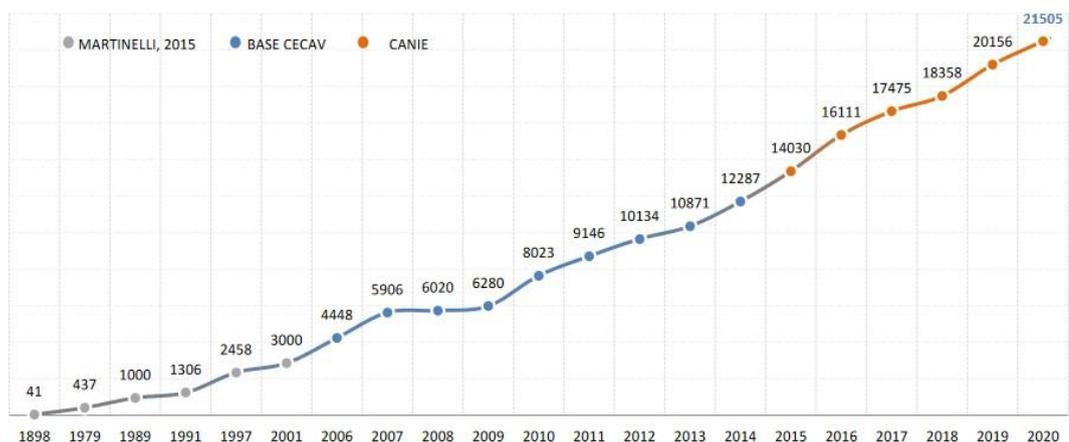
Biomas	Número de cavernas
Cerrado	9.997
Mata atlântica	4.416
Caatinga	3.935
Amazônia	2.999
Pampa	37
Pantanal	12
Costeiro	109

Fonte: CECAV (2020).

Grande parte do território brasileiro é composto por terrenos que são propícios para a formação de cavernas, o que mostra a importância do patrimônio espeleológico no Brasil (JANSEN *et al.*, 2012). É possível observar uma grande diversidade de rochas, como as siliciclásticas, ferruginosas, calcárias entre outras. De acordo com dados do CECAV (2020) das 15 unidades de rochas categorizadas, as carbonáticas se destacam possuindo o maior número de cavernas com mais de 50% da base de dados.

Os registros de cavernas no território brasileiro datam de 1898 com 41 cavernas listadas, desde então os números de descobertas vêm aumentando consideravelmente (Gráfico 1). Atualmente o Brasil possui cerca de 21.505 cavernas registradas segundo um compilado de dados do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas (CECAV) sendo Minas Gerais o estado com maior número de cavernas conhecidas (45,41%), seguido pelo Pará (12,76%), Bahia (7,88%) e Rio Grande do Norte (5,97%), todos os estados com potencial para aumento desses números (CECAV, 2020).

Gráfico 1: Número de cavernas registradas no Brasil de 1898-2020.



Fonte: CECV, 2020.

A região Nordeste possui cerca de 4.165 cavernas conhecidas, sendo a maior parte localizada na Bahia (1694) e no Rio Grande do Norte (1284). O Nordeste é uma região com diversas cavidades naturais subterrâneas, as principais cavernas de

importância turística ocorrem na região da Chapada Diamantina. Outras cavernas se destacam devido ao seu tamanho, por exemplo, a Toca da Boa Vista é considerada a maior caverna do país com 114 km de projeção horizontal, seguida pela Toca da Barriguda (35 km), ambas localizadas em Campo Formoso/BA, além de outras como a Lapa Doce (Iraquara/BA) e a Gruta do Padre (Santana e Santa Maria da Vitória/BA) (Rubbioli *et al.*, 2019). Segundo Auler e Zogbi (2005), o Nordeste é uma região favorável à descoberta de novas cavidades.

O Nordeste é caracterizado principalmente pela predominância do bioma Caatinga que faz parte da chamada Diagonal seca da América do Sul, sendo reconhecida como uma das florestas secas mais diversas do mundo (SILVA *et al.*, 2017a). Na região Nordeste podemos encontrar a maioria das *Bat caves*, que são cavernas colonizadas por milhares de morcegos (OTÁLORA-ARDILA *et al.*, 2019) onde, conseqüentemente, a disponibilidade de matéria orgânica é mais elevada devido à deposição do guano.

No Rio Grande do Norte são observadas diversas formações cavernícolas, com destaque para os municípios de Felipe Guerra (cavernas com potenciais atrações turísticas), Mossoró e Baraúna onde está localizado o Parque Nacional (Parna) da Furna Feia, contendo cerca de 206 cavernas catalogadas até o último levantamento (ICMBio, 2020).

A caverna Abrigo do Letreiro faz parte do complexo de cavernas localizadas no Parna Furna Feia, que protege um dos maiores remanescentes de Caatinga no Rio Grande do Norte, possui um elevado grau de conservação do bioma sendo uma área significativa para o equilíbrio do ecossistema regional. Além disso, o Parna Furna Feia é responsável por proteger uma importante concentração de cavernas que há milhares de anos se encontram em constante processo de formação, guardando uma grande diversidade de espeleotemas (ICMbio, 2020). A caverna Abrigo do Letreiro (Figura 1) é uma das várias cavernas do Parna Furna Feia que estão sendo avaliadas/estudadas para visitação turística. Ao longo do caminho para a caverna, pode-se observar diversas espécies nativas do bioma Caatinga, demonstrando a relevância da paisagem cárstica em termos de valor ecológico (PEREIRA, 2006).

Figura 1: Caverna Abrigo do Letreiro, Parna Furna Feia, Rio Grande do Norte, Brasil



Fonte: A autora (2022); Fotos de Bento (2020)

Essa caverna possui um atrativo diferencial, que são as pinturas rupestres nas paredes e em algumas partes do teto formando um letreiro, que justifica o nome da caverna (Figura 2). As pinturas rupestres retratam um pouco da vida humana em um período onde as cavernas serviam de abrigo para os seres da antiguidade, acrescentando à caverna Abrigo do Letreiro uma importância arqueológica. Ainda não há estudos detalhados, mas acredita-se que essas pinturas estejam associadas à Tradição Agreste, com possível variedade, tipo ou tendência geométrica (ALVES & MEDEIROS, 2020). A Tradição Agreste está fortemente presente na região Nordeste do Brasil, e os grupos humanos dessa tradição estão associados a caçadores-coletores, que partilhavam de um clima semelhante ao atual, há cerca de 5.000 anos (MARTIN, 2005).

Figura 2: Pinturas rupestres presentes nas paredes e no teto da caverna Abrigo do Letreiro, Parna Furna Feia, Rio Grande do Norte, Brasil



Fonte: A autora (2022)

Para que seja possível a visitação, estão previstas algumas intervenções na caverna Abrigo do Letreiro para viabilizar o acesso do público, até mesmo das pessoas com necessidades especiais de locomoção. Vale ressaltar que todas as intervenções são pautadas em um planejamento que minimize os impactos ambientais (ALVES & MEDEIROS, 2020).

A paisagem cárstica brasileira pode apresentar aspectos cênicos, paleontológicos, arqueológicos e geomorfológicos que se tornam atrativos para visitação (MONTEIRO *et al.*, 2019), porém, as cavernas necessitam de um estudo elaborado e um plano de manejo que torne a experiência da visitação turística e segurança, inclusive do ponto de vista biológico.

2.2 Fungos anemófilos

Bioaerossóis são partículas de origem biológica que ficam suspensas no ar e que podem ser de diversos organismos como vírus, bactérias, cistos de protozoários, pólen, fungos, entre outros (CAVINATTO, 1991). A origem dos bioaerossóis pode ser natural ou em decorrência de atividades antrópicas no meio ambiente (GODISH, 2004). Podem variar em tamanho, morfologia, massa, composição química, densidade e propriedades químicas e físicas (ESMANHOTO, 2010).

Os fungos filamentosos se destacam entre os “poluentes” biológicos atmosféricos. Esses microrganismos possuem diversas formas de disseminação de esporos, seja de forma ativa ou passiva, com propágulos reprodutivos dispersos principalmente por correntes de ar e que se mantêm viáveis por longos períodos (STRAUSZ, 2001). Os esporos são carregados desde poucos centímetros a até quilômetros de distância e ao encontrar condições favoráveis, dão origem a um novo indivíduo. Estima-se que cerca de 20% das emissões primárias de aerossol orgânico sejam de partículas fúngicas (ELBERT *et al.*, 2007; HEALD & SPRACKLEN, 2009).

Os fungos que são encontrados no ar são conhecidos como “fungos anemófilos” e alguns possuem importância médica, sendo a causa principal de alergias ou infecções fúngicas em hospedeiros imunocompetentes e imunocomprometidos (LIN *et al.*, 2001; PITMAN *et al.*, 2011). Os esporos fúngicos são abundantes no ar atmosférico e alguns são aeroalérgenos que, quando são inalados podem desencadear alterações respiratórias, tais como asma, rinite e sinusite (ARAÚJO *et al.*, 1999; BELMIRO, 2012). Além disso, podem causar micoses sistêmicas, como a histoplasmose, que afeta os pulmões e é ocasionada pela inalação de elevadas quantidades de esporos do fungo *Histoplasma capsulatum* (TAYLOR *et al.*, 2009; VICENTINI *et al.*, 2012). Por outro lado, algumas espécies podem causar alergias (ex. *Cladosporium* spp.) ou infecções oportunistas (ex. *Aspergillus* spp.) (ZOPPAS *et al.*, 2012; SILVA, *et al.*, 2017b). Todavia, a manifestação das doenças pela exposição a esses propágulos depende de diversos fatores, tais como composição química, quantidade de partículas inaladas e o local onde se depositam no sistema respiratório (PANTOJA *et al.*, 2007).

Entre os principais fungos filamentosos encontrados no ar estão os dos gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Neurospora*

(CABRAL, 2010; MARTINS, 2016). Estes fungos, além de terem potencial como causadores de doenças (animais e plantas), contaminarem alimentos e outros substratos e atuarem na decomposição da matéria orgânica, também possuem espécies relatadas com potencial biotecnológico (VIRIATO, 2014; VISAGIE *et al.*, 2014). *Alternaria* é considerado fungo saprofítico ou fitopatogênico, apresenta hifas demáceas, septadas e com numerosos conídios (SIDRIM *et al.*, 2004). Além de ser um fungo de importância alergênica, há relatos desse fungo como agente causal de lesões cutâneas, doenças pulmonares e infecções no septo nasal (ZOPPAS, 2005). O gênero *Aspergillus* é comumente encontrado no ar de diversos ambientes e é conhecido por causar processos alérgicos, principalmente as espécies *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* e *A. oryzae* (HAWKSWORTH, 2011). Esses fungos produzem uma grande quantidade de conídios que penetram facilmente nos seios paranasais e no sistema respiratório, podendo desencadear alergias ou infecções principalmente em pacientes com o sistema imunológico afetado (SIDRIM & ROCHA, 2004). Espécies do gênero *Cladosporium* são uma das mais citadas em estudos de monitoramento de fungos anemófilos, esses fungos são facilmente dispersos pelo ar devido aos seus conídios serem de tamanho reduzido (MARTINS, 2016). Geralmente são fungos saprofíticos, mas, são relatados em associação com plantas e, em alguns casos, como agentes causadores de micoses (GUGNANI *et al.*, 2006; MARTINEZ-HERRERA *et al.*, 2015).

Fungos do gênero *Curvularia* possui uma larga distribuição, mas são principalmente encontrados em países tropicais e subtropicais, são naturalmente saprofíticos, mas algumas espécies já foram relatadas como oportunistas e podem causar sinusites, micetomas e feohifomicoses (SIDRIM *et al.*, 2004). *Fusarium* é um gênero de fungo relatado principalmente como fitopatógeno, além disso, *Fusarium moliniforme* produz uma micotoxina no milho que, ao ser consumido por animais podem causar sérias danos, inclusive a morte (MARTINS, 2016). Representantes desse gênero podem causar micoses, atingindo tecidos superficiais e profundos (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Os fungos pertencentes ao gênero *Penicillium* são ubíquos, encontrados em diversos substratos e hospedeiros com distintas condições ambientais. Apresentam um rápido crescimento e produção de muitos conídios semelhantes aos fungos do gênero *Aspergillus*. Raramente, espécies de *Penicillium* estão associadas a patologias

clínicas, no entanto, são altamente contaminantes e produtores de micotoxinas, afetando por exemplo a produção de frutos cítricos (YAHYAZADEH *et al.*, 2008). Outros fungos do gênero *Neurospora* são considerados saprofiticos e a espécie mais conhecida é *Neurospora crassa* devido ao seu uso em estudos genéticos, bioquímicos e fisiológicos (MAGALHÃES, 2004). São organismos que geralmente não são patogênicos aos animais ou plantas (RADORF, 2004).

Apesar da importância médica que os fungos anemófilos apresentam, cerca de 87% dos propágulos presentes no ar não causam patologias ao ser humano, 10% são oportunistas e dependem das condições do hospedeiro para o desenvolvimento de uma doença e apenas 3% são considerados patogênicos (BROOKS *et al.*, 1998). Esses fungos filamentosos são conhecidos por produzirem uma gama de metabólitos secundários além das micotoxinas, que são substâncias químicas que podem causar doenças em outros organismos (HENDRY & COLE, 1993).

De forma geral, há uma preocupação de se verificar a presença de fungos anemófilos em ambientes com grande trânsito de pessoas (RÊGO & SANTOS, 2015). Algumas cavernas, por exemplo, apesar de não serem um ambiente com alto fluxo de pessoas, esporadicamente recebem visitantes e pesquisadores que acabam se expondo a potenciais riscos existentes devido à probabilidade de haver fungos patogênicos ou causadores de doenças oportunistas (VICENTINI *et al.* 2012). A ocorrência de fungos anemófilos no ambiente pode também ser usada como indicador microbiológico do grau de contaminação desse local, tornando o conhecimento da micobiota anemófila indispensável (MELO *et al.*, 2004).

A presença de fungos anemófilos em um ambiente é fortemente influenciada pelas condições abióticas como temperatura, umidade relativa do ar, iluminação, precipitação pluviométrica, direção e velocidade das correntes de ar, pressão barométrica e estações climáticas que podem mudar a composição da aeromicobiota de um determinado local (SIDRIM, 2004;). Nas cavernas podemos observar poucas variações de condições abióticas ao longo do ano, sendo assim, é de extrema relevância a investigação da aeromicobiota de um ambiente com essa característica.

2.3 Fungos em cavernas

Os fungos são relatados em cavernas desde 1741 (DOBAT, 1967), mas o conhecimento limitado não permitia a compreensão da diversidade fúngica e os papéis desempenhados por eles nos ambientes subterrâneos. Os microrganismos que conseguem se desenvolver no ambiente hipógeo possuem adaptações metabólicas que compactuam com as características abióticas das cavernas (ZAMPAULO, 2010). As especializações adquiridas para a sobrevivência nesse habitat podem ser fatores limitantes para o isolamento e manejo desses organismos *in vitro*, conseqüentemente o conhecimento e documentação se torna um desafio (KOCH, 2001) que tem sido minimizado com a utilização de técnicas moleculares para o estudo de microrganismos no ambiente cavernícola (ORTIZ *et al.*, 2014).

Apesar das dificuldades encontradas na identificação e no estudo dos fungos cavernícolas, alguns dados foram publicados revelando a sua especial microbiota (VANDERWOLF *et al.*, 2013). Foram investigadas várias cavernas em diversos países, com destaque para a China, que nas últimas décadas tem realizado um número significativo de estudos para a investigação da microbiota cavernícola e descrição de novas espécies (ZHANG *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2021). Em outros países, por exemplo, foram isolados fungos tolerantes à alcalis em cavernas no Japão (NAGAI, 1998), e diversas cavernas foram investigadas na Índia (KOILRAJ *et al.*, 1999) e na Eslováquia (NOVÁKOVÁ, 2009).

O ambiente cavernícola em diversos países tem sido amplamente investigado quanto à sua microbiota, o que tem mostrado um alto potencial de diversidade fúngica com cerca de 2.000 espécies agrupadas em mais de 550 gêneros (VANDERWOLF *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2017; CUNHA *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2021) que recentemente foram conhecidos como originados do ambiente externo (ZHANG *et al.*, 2018). Na revisão realizada por Vanderwolf *et al.* (2013), os autores mostraram alguns exemplos de fungos que foram isolados exclusivamente de cavernas (Tabela 2).

Táxon	Referência
<i>Aspergillus baeticus</i>	Novakova <i>et al.</i> (2012)
<i>Aspergillus spelunceus</i>	Raper & Fennell, 1965; Marvanova <i>et al.</i> (1992)
<i>Aspergillus thesauricus</i>	Novakova <i>et al.</i> (2012)
<i>Chrysosporium chiropterorum</i>	Beguín <i>et al.</i> (2005)
<i>Chrysosporium speluncarum</i>	Novakova & Kolarik (2010)
<i>Microascus caviariformis</i>	Malloch & Hubart (1987); Vanderwolf <i>et al.</i> (2013)
<i>Mucor troglophilus</i>	Gunde-Cimerman <i>et al.</i> (1998)
<i>Ochroconis anomala</i>	Martín-Sánchez <i>et al.</i> (2012)
<i>Ochroconis lascauxensis</i>	Martín-Sánchez <i>et al.</i> , 2012
<i>Ombrophila speluncarum</i>	Lagarde, 1913
<i>Trichosporon akiyoshidainum</i>	Sugita <i>et al.</i> (2005)
<i>Trichosporon cavernicola</i>	Sugita <i>et al.</i> (2005)
<i>Trichosporon chiropterorum</i>	Sugita <i>et al.</i> (2005)
<i>Trichosporon chiropterorum</i>	Sugita <i>et al.</i> (2005)

Fonte: A autora, adaptado de Vanderwolf *et al.* (2013)

Outros fungos, por exemplo, *Acaulium caviariforme*, *Aspergillus baeticus* e *Aspergillus thesauricus*, possuem suspeitas de serem fungos troglóbios obrigatórios, ou seja, com adaptações para sobrevivência exclusiva no ambiente cavernícola, porém são necessárias mais investigações para determinar a origem evolutiva desses fungos (ZHANG *et al.*, 2018).

Apesar de o Brasil possuir um vasto patrimônio espeleológico, os estudos da microbiota fúngica nesses ambientes ainda são escassos e relativamente recentes (FERREIRA *et al.*, 2000; TAYLOR *et al.*, 2009; TAYLOR *et al.*, 2013; PAULA *et al.*, 2016). Um dos mais recentes estudos de fungos em cavernas no Brasil foi realizado por Cunha *et al.* (2020), que estudaram uma *bat cave* em área de Caatinga no Parque Nacional do Catimbau. Os autores relataram 59 táxons distribuídos em Ascomycota (50 táxons), Basidiomycota (oito táxons) e Mucoromycota (um táxon), sendo uma riqueza de 23 táxons no ar (especialmente *Aspergillus* spp.) (CUNHA *et al.*, 2020).

Os fungos cavernícolas podem ser transitórios ou residentes. Os residentes se alimentam dos nutrientes que estão dispostos nas cavernas e os transitórios se desenvolvem a partir da disponibilidade de outras fontes de nutrientes oriundas do ambiente epígeo (PAULA, 2014). Os compostos orgânicos entram nas cavernas através de fatores externos como correntes de ar, fluxo de água, seres humanos e outros animais que frequentam o local (BARTON & NORTHUP, 2007; ENGEL, 2007) trazendo consigo detritos orgânicos e folhas dos vegetais que se tornam disponíveis, além de carcaças de animais em decomposição.

Nas *bat caves*, o guano presente, a depender da alimentação desses mamíferos, se torna fonte de nutrientes para o desenvolvimento de fungos (OGÓREK, 2016). No estudo de CUNHA *et al.* (2020) foi demonstrado um maior número de UFCs (Unidade Formadora de Colônias) fúngicas no guano não fresco de morcegos insetívoros e hematófagos enquanto que no guano fresco de morcegos frugívoros o número de UFCs foi menor. No entanto, nem todos os fungos conseguem assimilar os nutrientes do guano. Além disso, outro dado preocupante é o isolamento de fungos do guano que são considerados patogênicos e causadores de micoses sistêmicas em seres humanos a partir da inalação de esporos (*ex. Histoplasma capsulatum*) (TAYLOR *et al.*, 2009; VICENTINI *et al.*, 2012). Outro exemplo, é a “síndrome do nariz branco” causada pelo fungo *Pseudogymnoascus destructans* (BLEHERT & GARGAS) (MINNIS & D.L. LINDNER) que afeta morcegos e traz danos para a comunidade cavernícola e conseqüentemente para o ambiente natural principalmente em cavernas temperadas (NJUS, 2014).

Geralmente são relatados no ambiente cavernícola espécie dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Chrysosporium*, *Laboulbenia*, *Rhizopus*, *Chaetomium* e *Cunninghamella* (VANDERWOLF *et al.*, 2013). Além desses e daqueles fungos de importância médica, já foram isoladas espécies dos gêneros *Cladosporium*, *Curvularia*, *Neurospora* e *Geotrichum* (NIEVES-RIVERA *et al.*, 2009). Em carcaças de morcegos já foram encontradas espécies dos gêneros *Fusarium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Neocosmospora* e *Trichoderma* (KARUNARATHNA *et al.*, 2020).

A distribuição dos fungos no ambiente cavernícola não ocorre de forma uniforme, pois é altamente influenciada pela susceptibilidade dos hospedeiros e presença de substratos, além das condições abióticas, como por exemplo a

disponibilidade de água, umidade, temperatura, correntes de ar e animais (VANDERWOLF *et al.*, 2013). Geralmente, os fungos cavernícolas podem ser encontrados em diversos substratos, como o guano de morcegos, cadáveres de pequenos mamíferos ou animais que adentram as cavernas e morrem, espeleotemas, rochas e minerais, água e vestígios vegetais (NOVAKOVA, 2009; SOUZA-SILVA *et al.*, 2012; VANDERWOLF *et al.*, 2013; PROUS *et al.*, 2015).

O papel dos fungos no ambiente cavernícola não difere muito do que se pode observar no ambiente externo. No ambiente hipógeo, os fungos realizam ciclagens de nutrientes, servem como fonte nutricional para outros organismos e participam de forma crucial na cadeia alimentar desse ambiente (PEDRO & BONONI, 2007). Além do seu papel na rede trófica das cavernas, os fungos podem ser considerados como agentes causadores de mudanças geológicas em cavidades naturais subterrâneas devido à sua capacidade de biodeterioração de rochas e minerais (BURFORD *et al.*, 2003).

Apesar dos esforços dos grupos de pesquisa, devido à grande quantidade de cavernas existentes em todo o mundo, a compreensão da microbiota presente nas cavernas ainda é limitada, necessitando de mais investigações com foco nos fungos que habitam esses locais.

2.3.1 Fungos cavernícolas no Brasil

Os primeiros fungos isolados de cavernas brasileiras datam da década de 1960, limitando-se a poucos organismos isolados do solo de uma caverna no Rio de Janeiro (ROGERS & BENEKE, 1963). Anos depois, Castrillón *et al.*, (1976) estudaram o solo de uma gruta em Manaus e relataram a presença de alguns gêneros de fungos, incluindo um fungo dermatófito raro (*Microsporium amazonicum*, atualmente *Arthroderma amazonicum* (MORAES, BORELLI & FEO) Y. GRÄSER & de HOOG), sendo este o primeiro registro desse fungo isolado de solo.

A partir dos anos 2000, outros estudos foram realizados para tomar conhecimento dos fungos habitantes de cavernas no Brasil. Grande parte dos estudos foram realizados na região Sudeste do país, principalmente em Minas Gerais e São

Paulo, e poucos realizados na região Nordeste (Tabela 3) (FERREIRA *et al.*, 2000; PEDRO & BONONI, 2007; TAYLOR *et al.*, 2013; TAYLOR *et al.*, 2014; PAULA *et al.*, 2016; FONSECA *et al.*, 2017; HORNICK, 2017; CUNHA *et al.*, 2020).

Tabela 3: Fungos isolados em cavernas no Brasil.

Fungo	Local	Substratos/Hospedeiros	Referências
<i>Candida albicans</i> , <i>C. neoformans</i>	Rio de Janeiro	Solo	Rogers & Beneke 1963
<i>Cephalosporium</i> sp., <i>mycelia sterilia</i> , <i>Penicillium</i> sp., <i>Verticillium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Cunninghamella</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Geotrichum</i> sp., <i>Microsporum amazonicum</i>	Amazonas	Solo	Castrillón <i>et al.</i> (1976)
<i>Candida blankii</i> , <i>Candida rugosa</i> , <i>Candida krusei</i> e 43 fungos filamentosos não citados	Minas Gerais	Guano	Ferreira <i>et al.</i> (2000)
<i>Tomentella</i> sp., <i>Marasmius</i> sp., <i>Schizophora paradoxa</i> , <i>Hydnopoliporus palmatus</i> , <i>Hypochnicium punctulatum</i> , <i>Clavaria</i> sp., <i>Tremella</i> sp., <i>Hypochnicium analagum</i>	São Paulo	Diversos	Pedro & Bononi, 2007
<i>Aspergillus caespitosus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. clavatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. japonicus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. niveus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. restrictus</i> , <i>A. sclerotiorum</i> , <i>A. sydowii</i> , <i>A. ustus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. wentii</i> , <i>Calcarisporium</i> sp., <i>Chaetomium</i> sp., <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>C. herbarum</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Emericella rugulosa</i> , <i>Eurotium amstelodani</i> ,	Minas Gerais	Ar e guano	Taylor <i>et al.</i> (2013)

<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>Geotrichum</i> sp., <i>Gliocladium</i> <i>roseum</i> , <i>Purpureocillium</i> <i>lilacinum</i> , <i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Penicillium brevicompactum</i> , <i>P.</i> <i>chrysogenum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P.</i> <i>decumbens</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P.</i> <i>glabrum</i> , <i>P. griseofulvum</i> , <i>P.</i> <i>islandicum</i> , <i>P. oxalicum</i> , <i>P.</i> <i>pinophilum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. simplicissimum</i> , <i>P. solitum</i> , <i>P.</i> <i>thomii</i> , <i>P. variable</i> , <i>Trichoderma</i> <i>viride</i> , <i>Mucor</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp.				
<i>Acremonium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Geotrichum</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Purpureocillium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Torula</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i>	Minas Gerais, Brasil	Solo		Taylor <i>et al.</i> (2014)
<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Scopulariopsis</i> , <i>Talaromyces</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Purpureocillium</i>	Bahia, Brasil	Solo		Paula <i>et al.</i> (2016)
<i>Amphoromorpha</i> / <i>Basidiobolus</i>	São Paulo, Brasil	Centipedes (Geophilomorpha, Geophilidae)		Fonseca <i>et al.</i> (2017)
<i>Sagenomella stratispora</i>	Minas Gerais, Brasil	Cavernas ferruginosas		Hornick, 2017
<i>Aplosporella</i> , <i>Aspergillus</i> <i>bertholletiae</i> , <i>Aspergillus</i> cf. <i>sesamicola</i> , <i>Aspergillus</i> cf. <i>tubingensis</i> , <i>Aspergillus</i> cf. <i>wentii</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus sydowii</i> , <i>Aspergillus</i> <i>westerdijkiae</i> , <i>Beauveria</i> <i>bassiana</i> , <i>Candida orthopsilosis</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , complexo	Pernambuco	Ar, guano e corpo de morcegos		Cunha <i>et al.</i> (2020)

Cladosporium C.
sphaerospermum, complexo
Cladosporium C.
cladosporioides, Curvularia sp.,
Deniquelata quercina, Diaporthe
sp., Fusarium sp., complexo F.
fujikuroi, Geosmithia carolliae,
Gymnoascus dankaliensis,
Humicola cf. seminuda,
Hypoxylon sp., Meyerozyma cf.
caribbica, Myceliophthora sp.,
Neodidymella thailandicum,
Nothophoma sp., Ochroconis cf.
musae, Paecilomyces cf.
formosus, Paraconiothyrium
archidendri,
Paraphaeosphaeria, Penicillium
citrinum, Penicillium
guaibinense, Penicillium sp. 1
seção Lanata-Divaricata,
Penicillium sp. 3 seção
Brevicompacta, Phaeosphaeria
musae, Polyschema sp.,
Purpureocillium cf. lilacinum,
Rhinocladiella similis,
Sarocladium terricola,
Talaromyces allahabadensis,
Talaromyces section
Talaromyces, "Chondrostereum
sp.", Irpex cf. lacteus, Kwoniella
cf. dendrophila, Rhodotorula cf.
mucilaginoso, "Rigidoporus sp.",
Sakaguchia sp., Schizophyllum
commune, Trametes villosa,
Rhizopus arrhizus

<i>Cladosporium pernambucoense,</i>			
<i>Cladosporium cavernicola,</i>			
<i>Cladosporium austrohemisphaericum,</i>			
<i>Cladosporium parahalotolerans,</i>	Pernambuco	Ar	Pereira <i>et al.</i>
<i>Cladosporium puris,</i>			(2022)
<i>Cladosporium sphaerospermum,</i>			
<i>Cladosporium subuliforme,</i>			
<i>Cladosporium tenuissimum</i>			

Fonte: A autora (2022)

Apesar da existência desses relatos em cavernas no país, os estudos relacionados à micobiota cavernícola no Brasil ainda são escassos, tendo em vista a quantidade de cavernas existentes no território brasileiro. É necessário investigar a riqueza fúngica nas cavernas brasileiras para repensar sua conservação, tendo em vista que diversas cavernas são pontos turísticos e acabam sofrendo impactos antrópicos (TAYLOR *et al.*, 2013). Entre os possíveis impactos que podem ser gerados no ambiente cavernícola podemos destacar o enriquecimento do ambiente com matéria orgânica e inorgânica gerada pelos visitantes; pisoteamento da fauna, flora e microbiota compactação do solo e alteração da composição da biodiversidade cavernícola (PULIDO-BOSCH *et al.*, 1997; BARTON, 2006; BARTON & NORTHUP, 2007; TAYLOR *et al.*, 2013).

No Brasil, principalmente na região Nordeste do país, há poucas informações sobre fungos que habitam as cavernas (CUNHA *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2022), necessitando de mais estudos para a compreensão da diversidade fúngica nesses ambientes e também para ressaltar a riqueza de organismos que podem ser encontrados nas cavernas. Através de estudos micológicos também é possível justificar a importância da conservação desses ambientes no Brasil.

mm (ICMBio, 2020). Por estar localizado em região semiárida, o Parna Furna Feia possui vegetação de Caatinga hiperxerófila caducifólia que tem como característica possuir vegetação de porte menor e predominantemente arbustiva e, que num certo momento do ano, perde suas folhas. Quanto à fauna, no Parna Furna Feia foram identificadas 31 espécies de mamíferos, 176 de aves e 16 de invertebrados troglóbios (exclusivamente subterrâneos), sendo 14 endêmicos. Existem outros organismos que foram identificados no Parque e que estão ameaçados de extinção, como os rivulídeos (peixes de água doce), felinos e os morcegos *Furipterus horrens* e *Natalus macrourus* (ICMBio, 2020).

O Parna Furna Feia possui um complexo de cavidades naturais frágeis e delicadas com 206 cavernas mapeadas até o momento, sendo a Furna Feia a maior de todas e que deu origem ao nome do Parque (ICMBio, 2020). Além da maior caverna do Parque, existem outras de grande importância ecológica e espeleológica, como a caverna Abrigo do Letreiro.

A caverna Abrigo do Letreiro (05°02'57"S e 37°32'17"W) está localizada no Parque Nacional da Furna Feia, Rio Grande do Norte, e, mesmo sendo chamada de abrigo (quando a altura da entrada da cavidade é maior que seu desenvolvimento), a formação é de uma caverna pois apresenta um desenvolvimento maior que a altura da entrada (ALVES & MEDEIROS, 2020). Essa caverna não possui áreas totalmente afóticas, recebendo influência do ambiente externo em praticamente todo seu comprimento (Figura 4); seu hipógeo é caracterizado por um largo salão no qual há passagens de correntes de ar. Ao lado da entrada principal, a caverna apresenta um salão anexo de menor dimensão onde abriga uma pequena comunidade de morcegos.

Figura 4: Visão do centro da caverna Abrigo do Letreiro com a observação da luminosidade do ambiente externo.



Fonte: A autora (2022)

A caverna Abrigo do Letreiro possui um destaque especial que é a presença de uma espécie vegetal, o mulungu (*Erythrina velutina* Willd.), muito comum em áreas de Caatinga. O mulungu pode ser observado ao centro da caverna pois se desenvolveu numa porção onde há uma claraboia, que ficou conhecida como claraboia do mulungu (Figura 5), essa estrutura nada mais é que uma fenda no teto da caverna que proporciona ao hipógeo uma maior incidência de luz e conexão com o epígeo. Além da importância ecológica e espeleológica, possui vários painéis de pintura rupestre com tradição geométrica e estilo simbolista distribuídos ao longo de paredes e teto da caverna (BENTO, 2013).

Figura 5: Visão geral da caverna Abrigo do Letreiro, da claraboia do mulungu e *Erythrina velutina* Willd. (mulungu)



Fonte: Autora (2022)

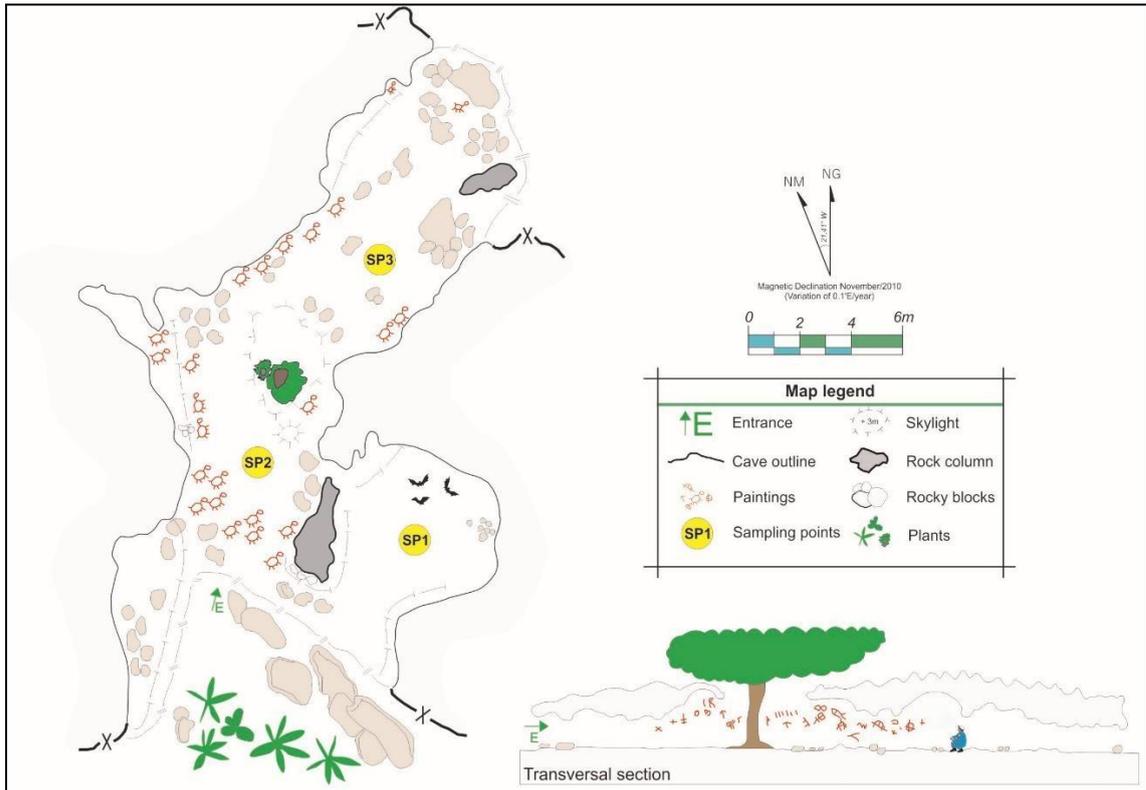
A caverna é formada por uma única cavidade de aproximadamente 64 m de projeção horizontal e desnível total de 0,6 m, altitude de 154 m, litologia de calcário, possui duas entradas em suas extremidades com uma claraboia próxima ao centro (SOBRINHO *et al.*, 2016). A morfologia da caverna Abrigo do Letreiro facilita o fluxo de ar com o meio externo, indicando que é uma cavidade de alto nível de energia (HEATON, 1986).

As cavernas da região, assim como a Abrigo do Letreiro, fazem parte do surgimento da plataforma carbonática Jandaíra, com o posterior processo de diluição de carbonatos mais suscetíveis em seu interior, deram origem à sua formação (ALVES & MEDEIROS, 2020). Sendo assim, a caverna Abrigo do Letreiro apresenta alto valor científico por demonstrar processos da evolução cárstica de superfícies em excelentes condições de observação.

3.2 Coleta

A coleta dos fungos foi realizada utilizando a metodologia de sedimentação em meio de cultura contidos em placas de Petri (*gravity settling culture plate method*). O ambiente da caverna foi considerado uma única câmara, a distância dos pontos foi determinada em relação à entrada da caverna e indo em direção ao fundo, para observação da comunidade fúngica em toda extensão da câmara. A câmara única da caverna foi dividida em três pontos (Figura 6): o primeiro próximo da entrada (5,7 m) um ambiente anexo mais isolado do restante da caverna; o segundo (5,2 m da entrada); e o terceiro ponto mais ao fundo da caverna (9,1 m da entrada).

Figura 6: Mapa topográfico da caverna Abrigo do Letreiro com a representação dos pontos de coleta. Sendo os códigos SP01, SP02 e SP03 representando os pontos de coleta.



Fonte: Bento *et al.* (2020)

Em cada ponto foram abertas três placas de Petri de 90 mm contendo meio de cultura Ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol (80 mg/L). As placas foram posicionadas equidistantes umas das outras (Figura 5), a 1 metro do chão da caverna por 20 minutos (CUNHA *et al.*, 2020).

Figura 7: Pontos de coleta na câmara da caverna. a. Ponto 1, b. Ponto 2, c. Ponto 3. As placas foram posicionadas cerca de 1 metro de distância uma da outra.



Fonte: A autora (2022); Fotos de Bento (2020).

Após a exposição, as placas foram fechadas, identificadas e embaladas, em seguida foram levadas ao laboratório. As placas foram incubadas a 28 °C por até 14 dias no escuro, sendo observadas todos os dias para a verificação do surgimento das colônias fúngicas.

3.3 Isolamento, purificação e identificação dos fungos

As colônias fúngicas que surgiram foram contadas, sendo determinado o número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) por placa. As colônias que

apresentaram morfologias distintas, foram subcultivadas usando o meio Ágar Sabouraud acrescidos com cloranfenicol (80 mg/L) para restringir o crescimento de bactérias e incubadas nas mesmas condições anteriores. Após a confirmação da pureza, fragmentos das colônias fúngicas foram retirados e transferidos separadamente para tubos de preservação com capacidade de 2 mL contendo 1,8 mL de solução de glicerol a 30% para preservação dos isolados.

Para análise das características macroscópicas das colônias, os isolados foram cultivados em meios de cultura específicos a depender do gênero de acordo com a literatura. De forma geral, os meios de cultura utilizados foram BDA, CZ, CYA, CYAs, DG18, CREA, MEA, AO, SNA e YES. As placas foram incubadas por até 14 dias, a 28 °C no escuro e após o crescimento, foi observado: aspecto, superfície, presença ou ausência de exsudato e pigmentos solúveis, cores do anverso, reverso e diâmetro das colônias. Para análise das características microscópicas, observadas em microscopia de luz, foram realizadas cultura em lâmina, onde os isolados foram cultivados por sete dias a 28 °C em meio de cultura específico para cada gênero. A análise das características morfológicas baseou-se em literatura especializada, Pitt (1991), Domsch & Gams (1993), Samson & Frisvald (2004), Bensch, Braun & Crous (2012), Damm, Cannon & Crous (2012). A partir dessa etapa, de acordo com os gêneros de fungos identificados, foi possível estabelecer os marcadores moleculares (incluindo primers) para serem utilizados na amplificação e sequenciamento do rDNA.

3.4 Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

Para a realização das inferências filogenéticas utilizando sequências de rDNA, a biomassa dos isolados foi obtida a partir do cultivo dos isolados em placas de Petri com meio de cultura Ágar Sabouraud mantidas a 28 °C por até cinco dias no escuro. O micélio foi transferido para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de quatro esferas de vidro com 3 mm de diâmetro e 600 µl da solução Nuclei Lysis Solution do Kit de extração de DNA genômico da Promega (Wizard Genomic DNA Purification Kit) para melhor maceração das células fúngicas, utilizando o equipamento L-Beater 6 (Loccus), os passos seguintes foram de acordo com o protocolo do fabricante do kit.

Para a amplificação dos marcadores específicos do DNA foram utilizados os primers ITS1 e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990) para ITS rDNA, Bt2a e Bt2b (GLASS & DONALDSON, 1995) para tubulina (TUB2), CMD5 e CMD6 (HONG *et al.* 2006) para calmodulina (CAL), EF-728F e EF-986R (CARBONE & KOHN, 1999) para fator de alongamento da tradução (TEF1), ACT-512F e ACT-783R (CARBONE & KOHN, 1999) para actina (ACT) e RPB2-5f2/fRPB2-7cR (LIU *et al.*, 1999; SUNG *et al.*, 2007) para subunidade da RNA polimerase II (RPB2), a depender dos gêneros conforme a indicação da literatura (ex. Bt2a e Bt2b juntamente com CMD5 e CMD6 para os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*; EF-728F e EF-986R juntamente com ACT-512F e ACT-783R para o gênero *Cladosporium*).

Os produtos da amplificação por PCR foram analisados em gel de agarose a 1% preparado em tampão TAE 1X. Em microtubos foram misturados 2 µL do produto da extração ou da PCR com 2,0 µL de Gel Green (Biotium) e, então, aplicados nos poços do gel. Para a estimativa do tamanho dos fragmentos de DNA, as amostras foram analisadas ao lado do marcador de tamanho 1 kb. A eletroforese foi conduzida a 100V, 500 mA por 20 minutos em solução TAE 1X. Os géis foram analisados e fotografados em transiluminador de luz UV.

Os produtos de PCR foram purificados com as enzimas EXO + SAP (Alkaline Phosphatase/Exonuclease I) (Cellco, Brasil) conforme as orientações do fabricante e encaminhados para sequenciamento na Plataforma Multiusuária de Sequenciamento de DNA do Centro de Biociências da UFPE utilizando os mesmos primers utilizados durante a amplificação (PCR).

3.5 Alinhamento das sequências e análises filogenéticas

As sequências obtidas das amostras foram editadas no programa MEGA v.7 (KATOY & STANDLEY, 2013) e as sequências consenso comparadas utilizando a ferramenta BLASTn do banco de dados GenBank do NCBI. As análises filogenéticas foram realizadas utilizando as sequências obtidas neste estudo juntamente com as sequências de referência obtidas na base de dados GenBank, seguindo os artigos com tratamento taxonômico de cada gênero (ex. SARROCCO *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2019; HOUBRAKEN *et al.*, 2020; PONIZOVSKAYA *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2021). As sequências selecionadas foram alinhadas com as obtidas neste estudo

usando a ferramenta online MAFFT v.7 e editadas manualmente usando MEGA v.7. Inicialmente, para inferir uma relação filogenética para as sequências obtidas, o banco de dados foi organizado por grupos de fungos (ex. gênero, gêneros da mesma família/ordem ou seções de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Talaromyces*) gerando 26 alinhamentos de sequências, que foram analisados independentemente usando análise de máxima verossimilhança (ML) (dados não mostrados). Com base nas análises iniciais e para mostrar a relação filogenética das sequências geradas, o alinhamento geral de sequências de ITS do rDNA foi utilizado para construir a árvore ML utilizando sequências do GenBank (ITS = 52) e as sequências obtidas neste estudo (ITS = 19, representando os gêneros identificados) utilizando o programa RAxML-HPC BlackBox (8.2.12) (STAMATAKIS, 2014) na plataforma CIPRES Science Gateway (MILLER *et al.*, 2010) utilizando as configurações estabelecidas. Sequências de outros genes foram analisadas para grupos específicos de fungos (ex. actina para *Cladosporium* – dados não mostrados). A árvore filogenética resultante foi visualizada no software FigTree (RAMBAUT, 2009). As sequências obtidas estão sendo depositadas no GenBank e alinhamento no TreeBASE.

4. RESULTADOS

4.1 Abundância de fungos anemófilos da Caverna Abrigo do Letreiro

A abundância de fungos anemófilos da caverna Abrigo do Letreiro foi determinada com base no número de Unidades Formadoras de Colônias em cada ponto amostral (Tabela 4).

Tabela 4 - Unidades formadoras de colônias obtidas em cada ponto (P1, P2 e P3) da câmara da caverna Abrigo do Letreiro, RN-Brasil.

UFCs DO AR DA CAVERNA ABRIGO DO LETREIRO			
	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Ponto 1	56	53	37
Ponto 2	28	38	53
Ponto 3	61	100	100

Fonte: A autora (2022)

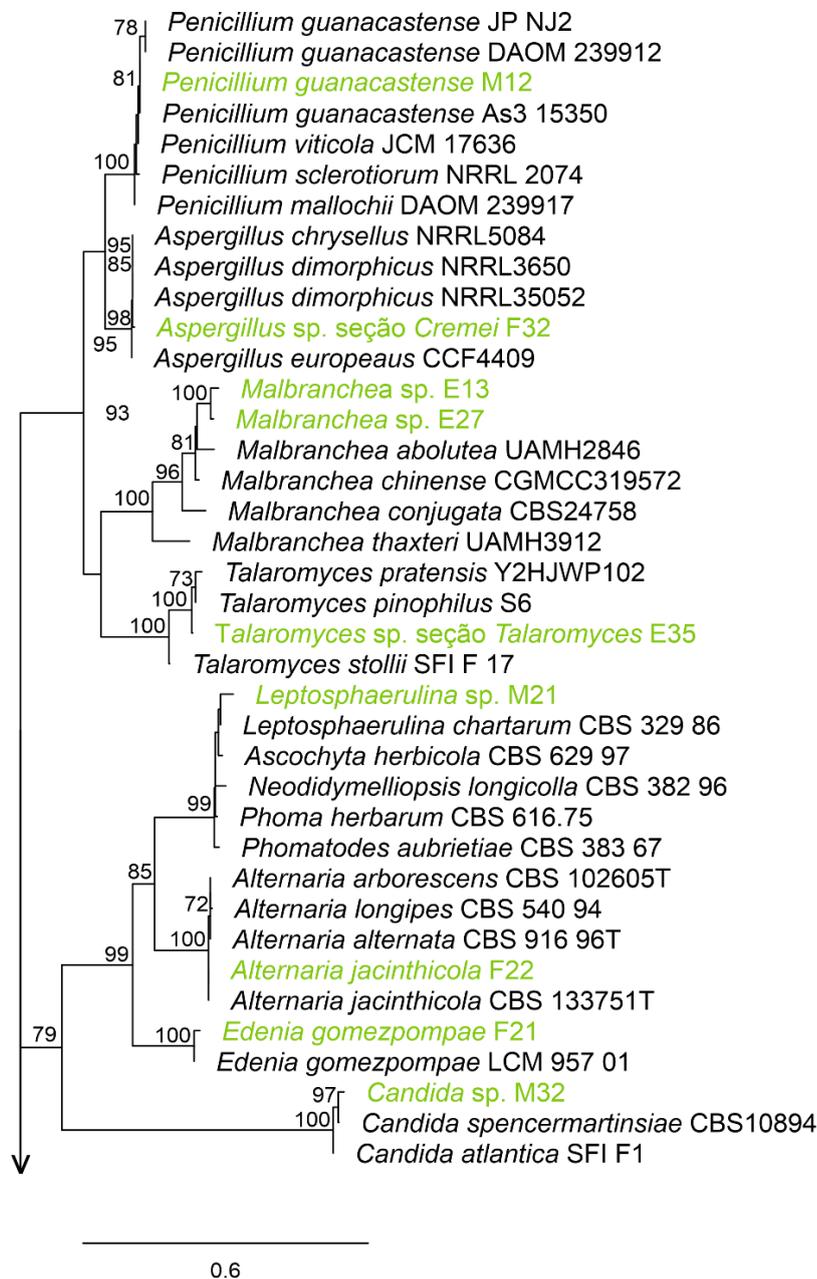
Das amostras coletadas do ar da caverna, foram obtidas 526 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) sendo o ponto 3 o que apresentou o maior número, onde as placas 2 e 3 apresentaram pouco mais de 100 UFC. Desse total, foram isolados 40 fungos que apresentaram morfologias distintas nas placas de Petri, sendo 38 fungos filamentosos e duas leveduras.

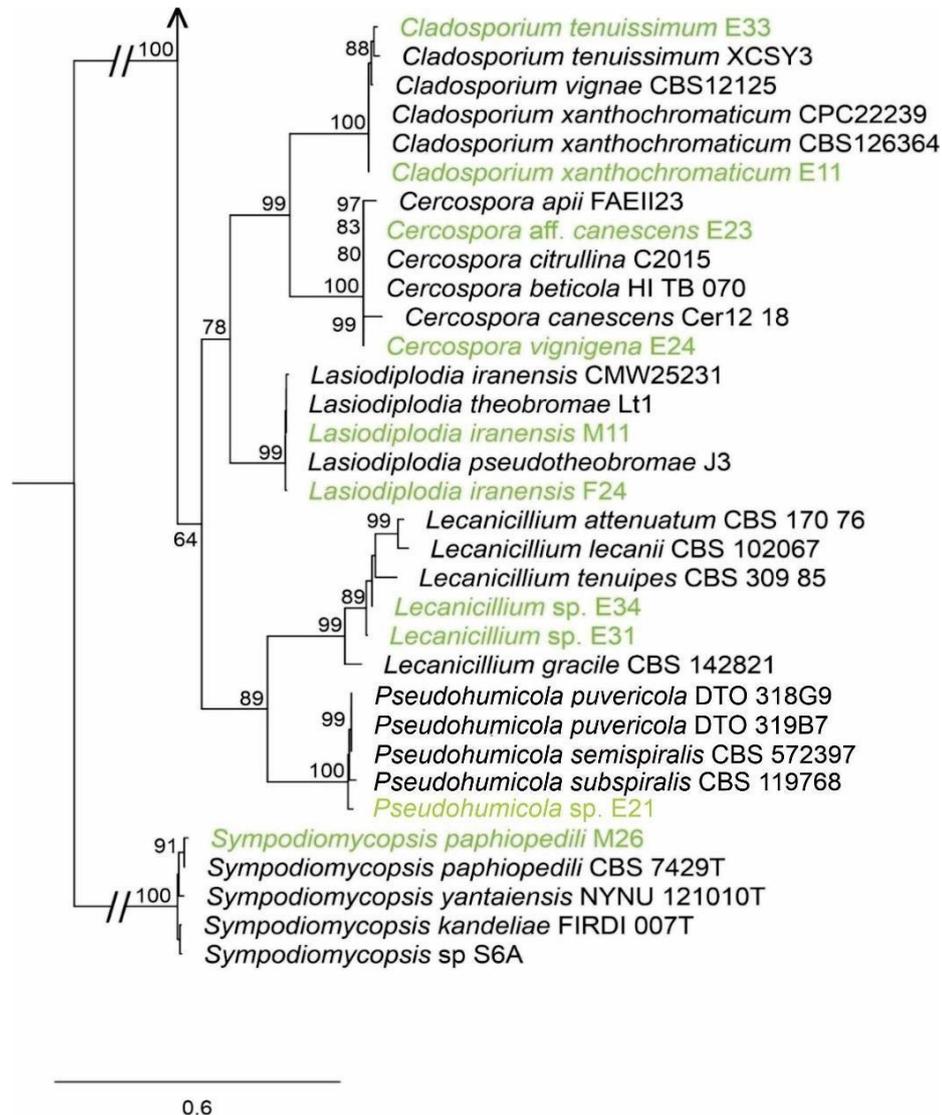
4.2 Riqueza de fungos anemófilos da Caverna Abrigo do Letreiro

Com base na identificação morfológica e na análise filogenética das sequências de DNA, os isolados foram agrupados em 14 gêneros pertencentes a 2 filos (Ascomycota e Basidiomycota), sendo o filo Ascomycota o mais abundante. A análise das sequências de DNA obtidas da região ITS do rDNA dos isolados foi utilizada para verificação do posicionamento filogenético das espécies, porém, outros marcadores também foram utilizados (ex. β -tubulina, Calmodulina, LSU, TEF1, Actina e RPB2).

Após a edição das sequências, comparação no banco de dados GenBank do NCBI (National Center for Biotechnology Information) e análises filogenéticas (Figura 8) foi possível identificar os 40 isolados como pertencentes a 25 espécies (Tabela 4). O ponto 1 apresentou uma riqueza de 12 táxons, seguidos pelo ponto 3 (sete táxons) e o ponto 2 (seis).

Figura 8: Árvore de máxima verossimilhança obtida utilizando sequências de ITS do rDNA de representantes de fungos anemófilos isolados da caverna Abrigo do Letreiro - RN, Brasil. Valores de suporte maiores que 85% são mostrados próximo dos nós. Representantes de *Sympodiomyopsis paphiopedili* foram utilizados como grupo externo. Isolados obtidos nesse estudo estão na cor verde.





Fonte: A autora (2022)

O gênero *Aspergillus* foi o mais representativo do filo Ascomycota com nove espécies, estando presente em todos os pontos amostrais, seguido pelo gênero *Cladosporium* (3 espécies). O filo Basidiomycota foi representado apenas por um táxon (*Sympodiomyces paphiopedili*). Outros gêneros que são normalmente relatados como fungos anemófilos em cavernas também foram obtidos (ex. *Penicillium* e *Talaromyces*).

Além dos gêneros citados, também foram encontrados isolados da família Cordycipitaceae (também relatado como fungo entomopatogênico), fungos fitopatogênicos (*Cercospora* e *Lasiodiplodia*) e fungos queratinofílicos (*Malbranchea*). No ponto 2 também foi isolado um representante de *Candida*, uma levedura de importância médica. No ponto 3 foi encontrado um representante de

Edenia que é principalmente associado com plantas e possui importância biotecnológica (Tabela 5).

Tabela 5: Riqueza das espécies [presença (P) e ausência (A)] de fungos anemófilos da caverna Abrigo do Letreiro, RN, Brasil.

Gêneros de fungos	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
Ascomycota			
<i>Alternaria jacinthicola</i>	A	A	P
<i>Aspergillus brunneoviolaceus</i>	A	A	P
<i>Aspergillus</i> sp. seção <i>Cremeri</i>	A	A	P
<i>Aspergillus</i> cf. <i>niger</i>	A	P	A
<i>Aspergillus dimorphicus</i>	A	P	A
<i>Aspergillus germanicus</i>	A	P	A
<i>Aspergillus neoniger</i>	P	A	A
<i>Aspergillus stellatus</i>	P	A	A
<i>Aspergillus sydowii</i>	P	A	A
<i>Aspergillus tubingensis</i>	A	P	A
<i>Candida</i> sp.	A	P	A
<i>Cercospora vignigena</i>	P	A	A
<i>Cercospora</i> aff. <i>Canescens</i>	P	A	A
<i>Cladosporium oxysporum</i>	P	A	A
<i>Cladosporium tenuissimum</i>	A	A	P

<i>Cladosporium xanthochromaticum</i>	P	A	A
<i>Edenia gomezpompae</i>	A	A	P
<i>Lasiodiplodia iranensis</i>	A	P	P
<i>Lecanicillium</i> sp.	P	A	A
<i>Leptosphaerulina</i> sp.	A	P	A
<i>Malbranchea</i> sp.	P	A	A
<i>Penicillium guanacastense.</i>	A	P	A
<i>Pseudohumicola</i> sp.	P	A	A
<i>Talaromyces</i> sp. Seção <i>Talaromyces</i>	P	A	A
Basidiomycota			
<i>Sympodiomycesopsis paphiopedili</i>	P	A	A

Fonte: A autora (2022)

Dentre os 40 isolados obtidos neste estudo, cerca de 20% estão sendo descritos como possíveis novas espécies; estas cinco espécies pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Lecanicillium*, *Malbranchea*, *Pseudohumicola* e *Talaromyces*, demonstrando o potencial da área estudada para a descoberta e descrição de novidades taxonômicas.

4.3 Taxonomia

Nesta seção estão incluídas as descrições morfológicas de cinco possíveis novas espécies de fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Lecanicillium*, *Malbranchea*, *Pseudohumicola* e *Talaromyces*, que foram obtidas durante o estudo de fungos anemófilos da Caverna Abrigo do Letreiro, RN, Brasil. As cores das colônias foram avaliadas usando os gráficos de Rayner (1970). Ácido láctico (60-80%) foi usado como fluido de montagem das lâminas e etanol 96% foi usado para remover o excesso de conídios. Para a análise microscópica, pelo menos 15-30 estruturas reprodutivas foram analisadas para a descrição de cada nova espécie.

***Aspergillus* sp.** Figura 9.

Material examinado: **Brasil**, estado do Rio Grande do Norte, Parque Nacional de Furna Feia, caverna Abrigo do Letreiro, 5°4'14.88"S e 37°32'1.51"W, como fungo aéreo, 5 de março de 2020, V.C.S. Alves e D. M. Bento. Isolado F32.

Características das culturas (25°C, 7 dias no escuro):

MEA: 26–27 mm diâmetro; micélio branco a “Buff” (45); colônias centralmente elevadas, não sulcadas, colônias de textura algodonosa, margens inteiras, ausência de esclerócios, esporulação pobre, conídios em massa indeterminada, exsudatos e pigmento solúveis ausentes; reverso cor “Saffron” (10). CYA: 27–28 mm diâmetro; micélio cor branco a “Buff” (45), centro ligeiramente elevado, radialmente sulcado, colônias de textura algodonosa, margens inteiras e regulares, escleródios ausentes, esporulação pobre, conídios em massa indeterminada, exsudatos e pigmento solúveis ausentes; reverso cor “Primrose” (66). YES: 39–41 mm de diâmetro; micélio branco, colônias centralmente crateriformes, radialmente sulcadas, colônias de textura algodonosa, margens inteiras e regulares, ausência de esclerócios, esporulação esparsa, conídios em massa determinada cor “Cinnamon” (62), exsudatos e pigmento solúveis ausentes, reverso cor “Ochreous” (44). OA: 14–15 mm de diâmetro; micélio branco a “Buff” (45), colônias centralmente elevadas (convexa), não sulcadas, colônias de textura algodonosa, margens inteiras e regulares, ausência de esclerócios, esporulação pobre, conídios em massa indeterminada, exsudato e pigmentos solúveis ausentes; reverso cor “Primrose” (66). CYAS: 39–40 mm de

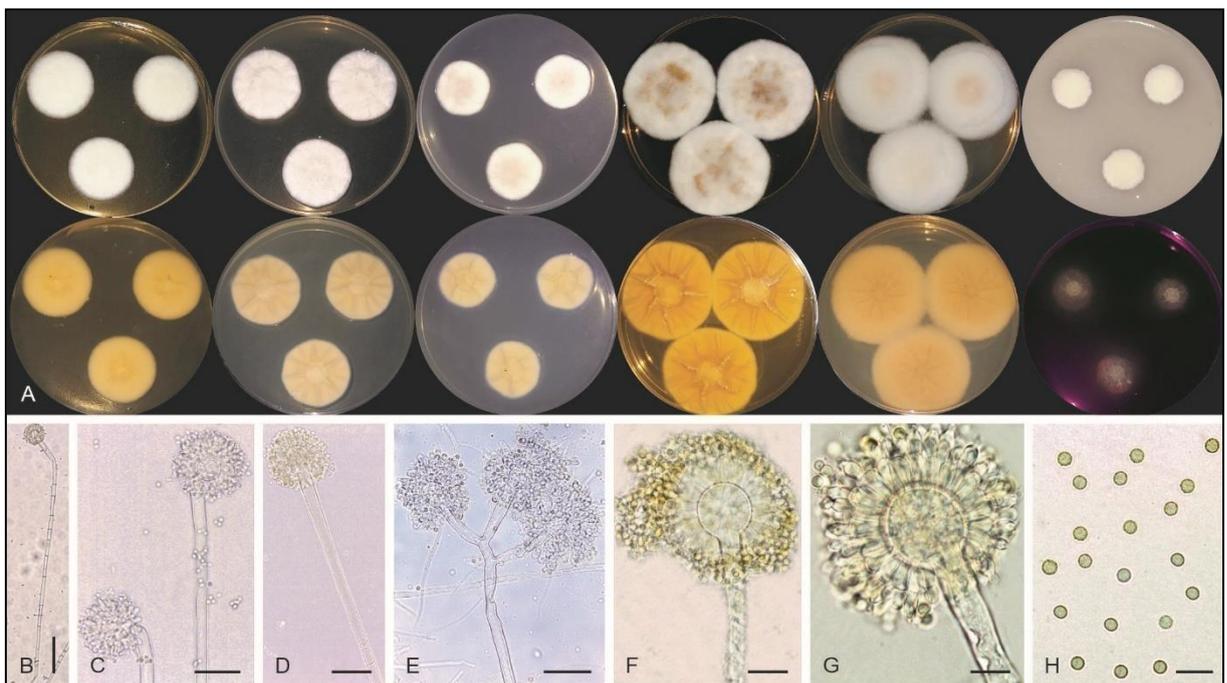
diâmetro; micélio branco, colônias elevadas (convexas), não sulcadas, colônias de textura algodonosa, margens inteiras e regulares, ausência de esclerócios, esporulação esparsa, conídios em massa determinada cor “Buff” (45), exsudatos e pigmentos solúveis ausentes; reverso cor “Saffron” (10). CREA: ligeiramente positivo para produção de ácido. Colônias a 30 °C, 7 dias no escuro: MEA: 20–21 mm de diâmetro; CYA: 22–23 mm de diâmetro; nenhum crescimento foi observado a 37 °C e 10 °C.

Conidióforos bisseriados, estipes hialinos, de parede lisa, asseptado às vezes septados, ocasionalmente mais longos, 558–604,5(930) × 8–13,5 µm; vesícula globosa (algumas vezes subglobosa) 16–40,5 µm; métulas em forma de cunha ocasionalmente septadas 13,5–16 × 5–5,5 µm; fiálides ampuliforme (7,5) 8–8,5 × (4,5) 5–5,5 µm. Conídios globosos, pigmentados de amarelo a amarelo-marrom, com paredes lisas a rugosas 2,5–4,5 µm. Células de Hülle e escleródios ausentes. Morfologia sexuada não observada.

Notas: Sequências de ITS, TUB2, CAL e RPB2 do isolado *Aspergillus* sp. F32 apresentou 97–98% de identidade com *Aspergillus europeus* (HUBKA *et al.*, 2016) nas buscas via BLASTn e nas análises filogenéticas, também apresentou proximidade com outras espécies de *Aspergillus* seção *Cremeri*. *Aspergillus* sp. F32 difere macromorfolologicamente de *A. europeus* por apresentar colônias de textura algodonosa, esporulação pobre, reverso das colônias de cor “Saffron”, e ausência de pigmentos solúveis em MEA, enquanto que em *A. europaeus*, as colônias têm uma textura granular, a esporulação ocorre em quase toda a superfície da colônia, o reverso das colônias é amarelo a amarelo brilhante e há produção de pigmentos solúveis amarelos. Já no meio CYA, as colônias de *Aspergillus* sp. F32 apresentaram baixo crescimento (27–28 mm de diâmetro) e textura algodonosa, enquanto as colônias de *A. europaeus* eram maiores (32–45 mm de diâmetro) e texturas aveludadas a flocosas. Além disso, *Aspergillus* sp. F32 apresenta fraca produção de compostos ácidos no CREA, enquanto *A. europeus* apresenta uma produção intensiva (Hubka *et al.* 2016). Micromorfolologicamente, *Aspergillus* sp. F32 difere de *A. europaeus* por apresentar estipes maiores (300–750 × 7–15 µm em *A. europeus* e 558–604,5 × 8–13,5 µm em *Aspergillus* sp. F32). A vesícula em *A. europeus* é piriforme ou globosa, enquanto que em *Aspergillus* sp. F32 é globosa e

ocasionalmente subglobosa. Os conídios em *Aspergillus* sp. são globosos, pigmentados e ligeiramente menores (2,5–4,5 µm) e em *A. europaeus* os conídios são de formas variáveis, incolores quando jovens e pigmentados com a idade, além de serem ligeiramente maiores (3,5-5 × 3–4,5 µm).

Figura 9: Culturas de *Aspergillus* sp., isolado F32. A 25°C no escuro por 7 dias nos meios de cultura MEA, CYA, CZ, YES e CYAs, verso e reverso; OA e CREA (A). Conidióforos (B-G); conídios (H). Escalas: B = 100 µm, C-E = 50 µm, F-G = 25 µm, H = 10 µm.



Fonte: A autora (2022)

***Lecanicillium* sp.** Figura 10.

Material examinado: **Brasil**, estado do Rio Grande do Norte, Parque Nacional de Furna Feia, caverna Abrigo do Letreiro, 5°4'14.88"S e 37°32'1.51"W, como fungo aéreo, 5 de março de 2020, V.C.S. Alves e D. M. Bento. Isolado E34.

Características da cultura (25°C, 2 semanas, no escuro):

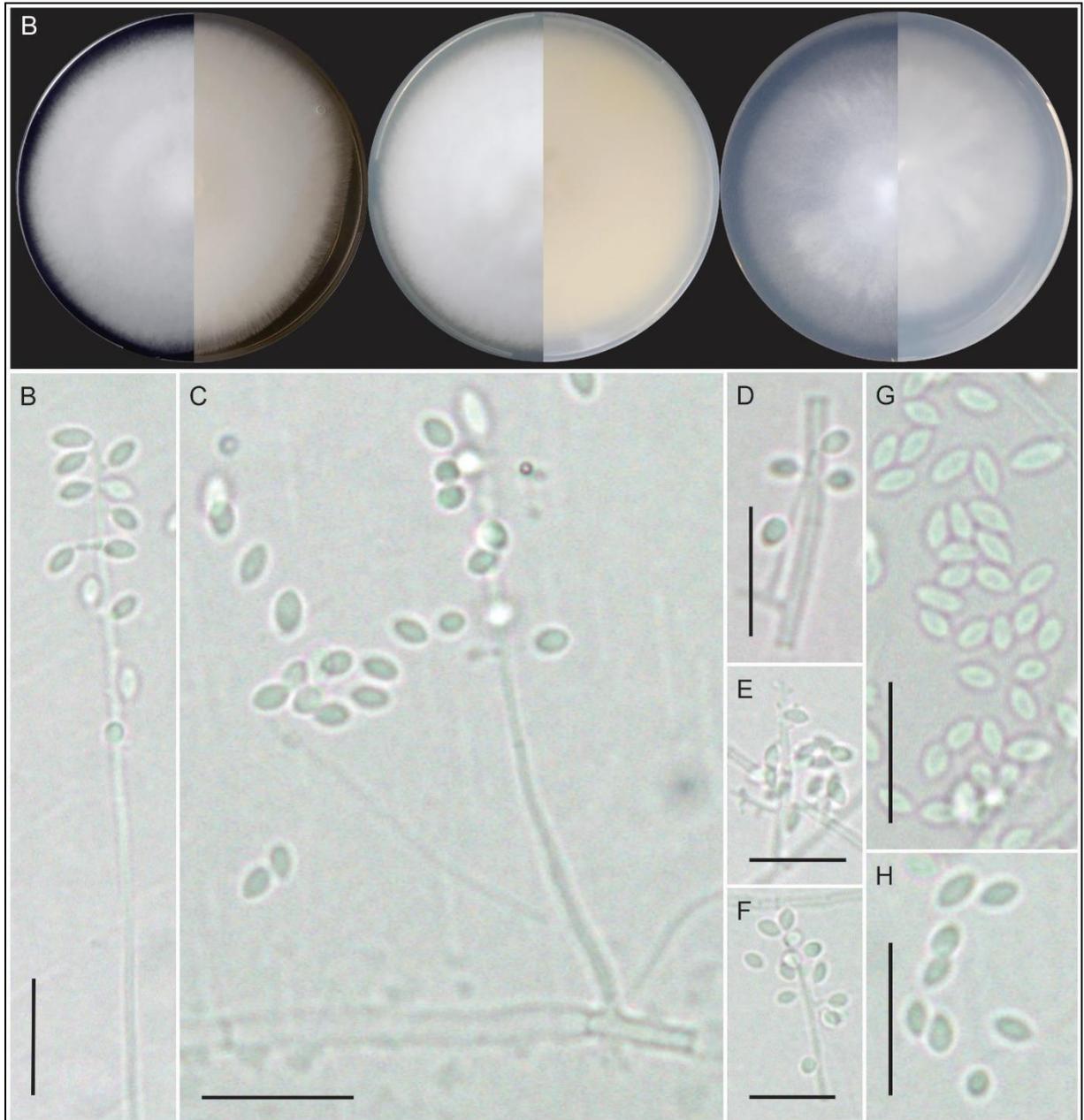
BDA: 74–76 mm de diâm., micélio de cor branca, colônias centralmente elevadas, não sulcadas, textura algodoadosa, margens inteiras e regulares, exsudatos e pigmentos solúveis ausentes. Reverso branco a creme. OA: 70–72 mm de diâm.,

micélio de cor branca, colônias centralmente elevadas, não sulcadas, textura algodonosa, margens inteiras e regulares, exsudatos e pigmentos solúveis ausentes. Reverso de cor creme para “Straw” (46). SNA: 74–76 mm de diâm., micélio de cor branca, colônias centralmente elevadas, não sulcadas, textura algodonosa, margens inteiras e regulares, exsudatos e pigmentos solúveis ausentes. Reverso branco a creme. Esporulação em 7-10 dias.

Hifas septadas, hialinas e lisas, 1–2 μm . Conidióforos longos, retos, mais largos na base e afinando em direção à ponta, semimacronematoso ou pouco diferenciado com células conidiogênicas dispostas solitárias ou em 2–4 verticilos. Células conidiogênicas fialídicas, discretas, mais largas na base e afinando gradualmente em direção à ponta, reto a ligeiramente flexuosa, terminal e lateralmente nos conidióforos, mono ou polifialídica, proliferando simpodialmente, e formando uma estrutura tipo raque na região superior, com múltiplos dentículos, produzindo cadeias solitárias ou curtas de conídios, 10–18,5 \times 1,0–1,5 μm . Conídios secos, elipsoides a ligeiramente fusiformes, ápices agudos, lisos, asseptados, hialinos, 2–4,5 \times 1,5–2 μm .

Notas: Sequências de ITS, TEF1 e RPB2 do isolado *Lecanicillium* sp. E34 apresentaram 94,8–98% de identidade, via BLASTn, com *Lecanicillium psalliotae*. (ZARE & GAMS, 2001). Morfologicamente, *Lecanicillium* sp. E34 difere de *L. psalliotae* por não apresentar macroconídios e possuir apenas microconídios menores (2–4,5 \times 1,5–2 μm em *Lecanicillium* sp. E34 e 2,7–3,7 \times 1–1,5 μm em *L. psalliotae*). Além disso, *Lecanicillium* sp. E34 apresenta maior crescimento em meio de cultura (ex. BDA: 74–76 mm de diâm. para *Lecanicillium* sp. E34 e 24-47 mm de diâm. para *L. psalliotae*).

Figura 10: *Lecanicillium* sp. Isolado E34. A 25°C no escuro por 14 dias nos meios de cultura BDA, OA e SNA verso e reverso (A). Conidióforos com conídios (B-F); conídios (G, H). Escala 10 μm .



Fonte: A autora (2022)

***Malbranchea* sp.** Figura 11.

Material examinado: **Brasil**, estado do Rio Grande do Norte, Parque Nacional de Furna Feia, caverna Abrigo do Letreiro, 5°4'14.88"S e 37°32'1.51"W, como fungo aéreo, 5 de março de 2020, V.C.S. Alves e D. M. Bento. Isolado E27.

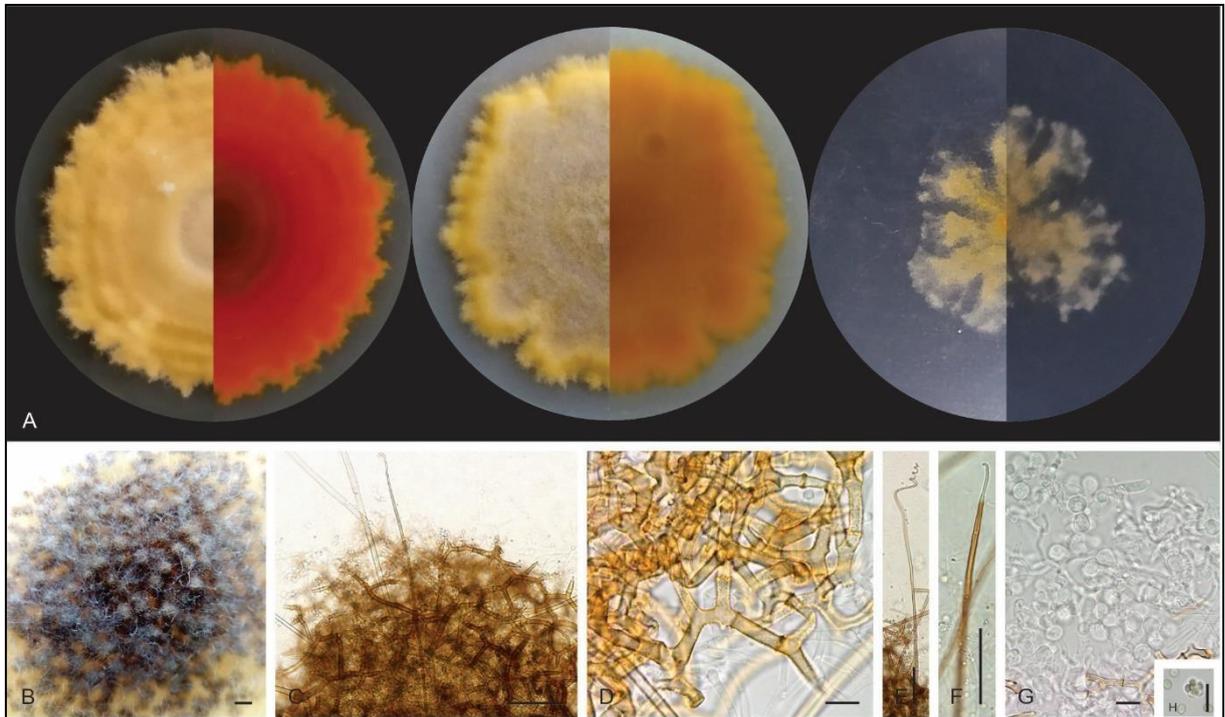
Característica das culturas (25°C, 4 semanas no escuro):

BDA: 65–67 mm diâm., micélio de cor “Ochreous” (44), colônias centralmente elevadas, não sulcadas, textura aveludada, margens lobadas e irregulares, nenhum exsudato e pigmentos solúveis observados. Reverso cor “scarlet” (5) para laranja (7). OA: 63–65 mm de diâmetro, micélio cor “Ochreous” (44) a “Apricot” (42), colônias planas, não sulcadas, textura aveludada, margens lobadas e irregulares, exsudato hialino e abundante, pigmentos solúveis ausentes. Reverso cor “sienna” (8) para laranja (7). SNA: 29–30 mm de diâmetro, micélio de cor “Ochreous” (44) a “Saffron” (10), colônias planas, não sulcadas, textura algodonosa, margens lobadas e rizoides, nenhum exsudato e pigmentos solúveis observados. Reverso cor “Saffron” (10) para “Ochreous” (44). Esporulação em 10-14 dias.

Hifas hialinas, septadas, 1–1,5(–2,0) μm de largura. Teleomorfo: Ascoma abundante, solitário ou em aglomerados, globoso, branco no início e tornando-se marrom-alaranjado na maturidade, (232)251–325(335) μm de diâmetro. Hifas peridiais ásperas, de paredes espessas, septadas, marrom-pálidas, ramificadas formando um reticuloperidium, terminadas por uma projeção em forma de espinho, com 2,0–6,5 μm de largura. Apêndices com ponta curva, lisos, asseptados, 456–576(688) \times 3,0–4,5 μm . Asco com 8 esporos, globoso, hialino, 5,5–6,5 μm . Ascósporos globosos a subglobosos, de paredes lisas a rugosas, 2,5–3,5 \times 2,0–2,5 μm . Morfologia assexuada não observada.

Notas: Sequências de ITS, LSU, TUB2, TEF1 e RPB2 de *Malbranchea* sp. E27 apresentam 92–96% de identidade, via BLASTn, com *Malbranchea chinense* (ZHANG *et al.*, 2021) com o qual também apresentou relação filogenética. *Malbranchea* sp. E27 difere morfológicamente de *M. chinense* por apresentar maior crescimento das colônias nos meios de cultura testados (BDA: 18–23; OA: 18–23; SNA: 21–25 mm de diâm. em *M. chinense*; e em *Malbranchea* sp. E27: BDA: 65–67; OA: 63–65; SNA: 29–30 mm de diâmetro). Além disso, em *M. chinense* foi observado apenas a morfologia assexuada, enquanto que em *Malbranchea* sp. E27 foi observada apenas a morfologia sexuada.

Figura 11: *Malbranchea* sp. E27. 25°C no escuro por 4 semanas nos meios de cultura BDA, OA, SNA verso e reverso (A). Ascomas (B); Ascoma gimnotécio (C); Reticuloperidium de parede áspera com espinhos terminais (D); apêndice (E, F); ascos com ascospóros (G); ascospóros (H). Escalas: B = 300 µm, C = 50 µm, D = 10 µm, E-F = 50 µm. G-H = 10 µm.



Fonte: A autora (2022)

***Pseudohumicola* sp.** Figura 12.

Material examinado: **Brasil**, estado do Rio Grande do Norte, Parque Nacional de Furna Feia, caverna Abrigo do Letreiro, 5°4'14.88"S e 37°32'1.51"W, como fungo aéreo, 5 de março de 2020, V.C.S. Alves e D. M. Bento. Isolado E21.

Características das culturas (25°C, 2 semanas no escuro):

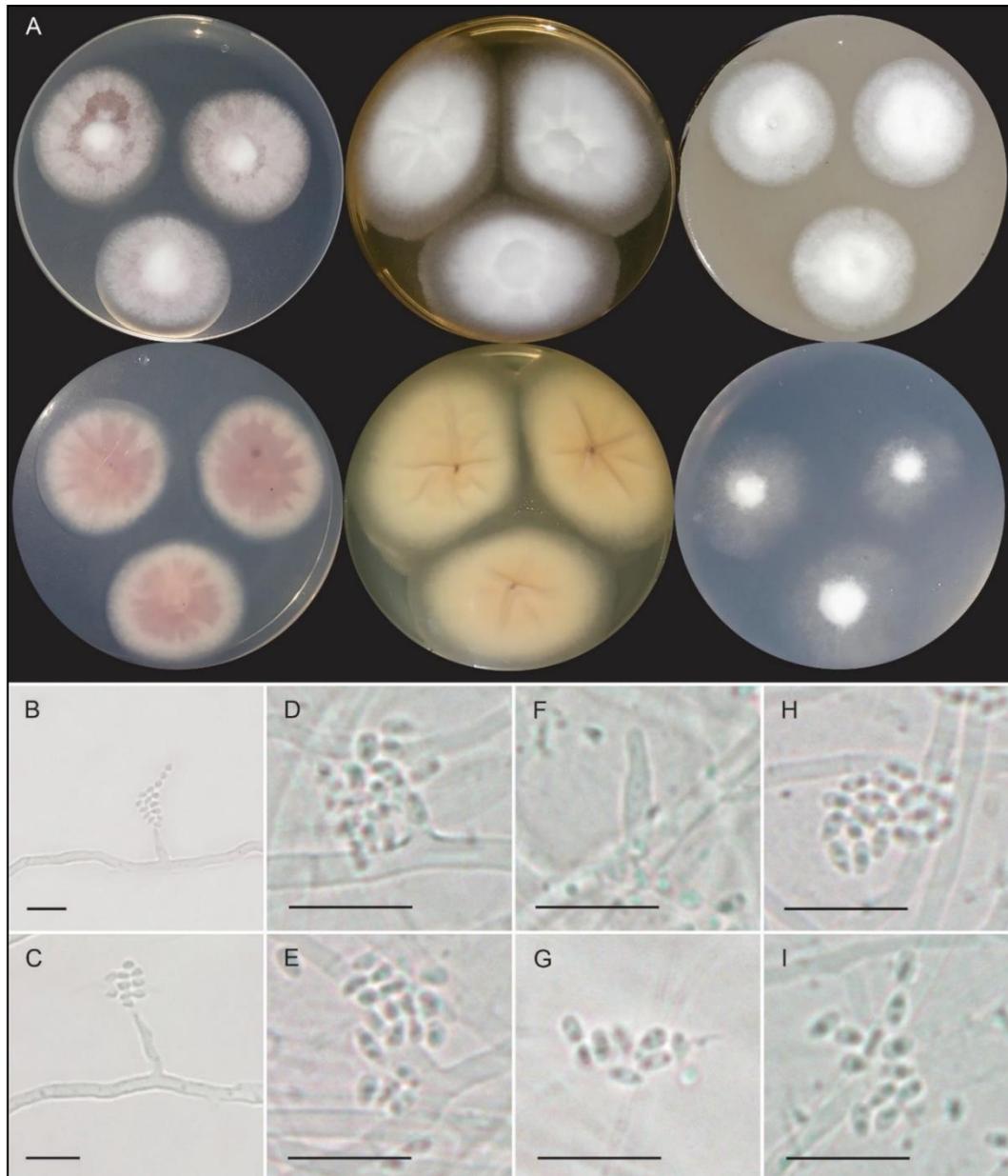
BDA: 34-35 mm de diâm., micélio branco a “Rosy vinaceous” (58), colônias elevadas centralmente, sulcadas radialmente, textura algodoadosa, margens inteiras e regulares, exsudatos e pigmentos solúveis ausentes. Reverso “Rosy vinaceous” (58) a “Buff” (45). OA: 29-30 mm de diâm., micélio de cor branca, colônias centralmente crateriformes, não sulcadas, textura algodoadosa, margens inteiras e regulares, exsudato e pigmentos solúveis ausentes. Reverso cor “Saffron” (10). SNA: (25)30–32 mm de diâm., micélio de cor branca, colônias centralmente elevadas, não sulcadas,

textura algodonosa, margens filiformes, exsudatos hialinos, pigmentos solúveis ausentes. Reverso cor “Buff” (45).

Hifas de hialinas, septadas, ramificadas e tortuosas, 1,0–3,0 μm de largura. Células conidiogênicas fialídicas cilíndrica a ampuliforme, 4,5–7,5 \times 1,5–3,0 μm . Conídios globosos a subglobosos, em cadeias ou cabeças limosas, gutulados, 2,0–3,0 \times 1,0–1,5(2,0) μm . Clamidósporos globosos ocasionalmente subglobosos, intercalar e terminal, ocasionalmente em cadeias, 5–7 μm . Morfologia sexuada não observada.

Notas: Baseado nas buscas BLASTn, sequências de ITS, TUB2 e RPB2 de *Pseudohumicola* sp. E21 apresentaram 87–97% de identidade com *Humicola subspiralis* e *Humicola artrobrunnea* que recentemente foram introduzidas em um novo gênero denominado *Pseudohumicola* (Wang et al., 2022). Filogeneticamente, *Pseudohumicola* sp. está relacionada com *Pseudohumicola pulvericola* e *Pseudohumicola semispiralis*. Macromorfologicamente, *Pseudohumicola* sp. E21 difere de *P. pulvericola* por ter um maior crescimento no meio de cultura OA (51–57 mm de diâmetro) e MEA (46–52 mm de diâmetro) e de *P. semispiralis* (OA: 36–42 mm de diâmetro, produzindo um pigmento solúvel de cor “Ochreous” a “Umber”; MEA: 39–45 mm de diâmetro, produzindo um pigmento solúvel). Micromorfologicamente, *Pseudohumicola* sp. difere de *P. pulvericola* que tem conídios maiores e de paredes espessas (2,5–4 \times 1–2(–2,5) μm) e conidióforos/células conidiogênicas maiores (13–30 \times 1–3 μm). *Pseudohumicola* sp. difere principalmente de *P. semispiralis* por seu único morfo sexual conhecido e produção de conídios geralmente laterais nas hifas (Wang et al. 2019).

Figura 12: *Pseudohumicola* sp. E21. A 25°C no escuro por 7 dias nos meios de cultura BDA e MEA verso e reverso; OA e SNA (A). Conidióforos com conídios (B-F); conídios (G-I). Escala 10 µm.



Fonte: A autora (2022)

***Talaromyces* sp.** Figura 13.

Material examinado: **Brasil**, estado do Rio Grande do Norte, Parque Nacional de Furna Feia, caverna Abrigo do Letreiro, 5°4'14.88"S e 37°32'1.51"W, como fungo aéreo, 5 de março de 2020, V.C.S. Alves e D. M. Bento. Isolado E35.

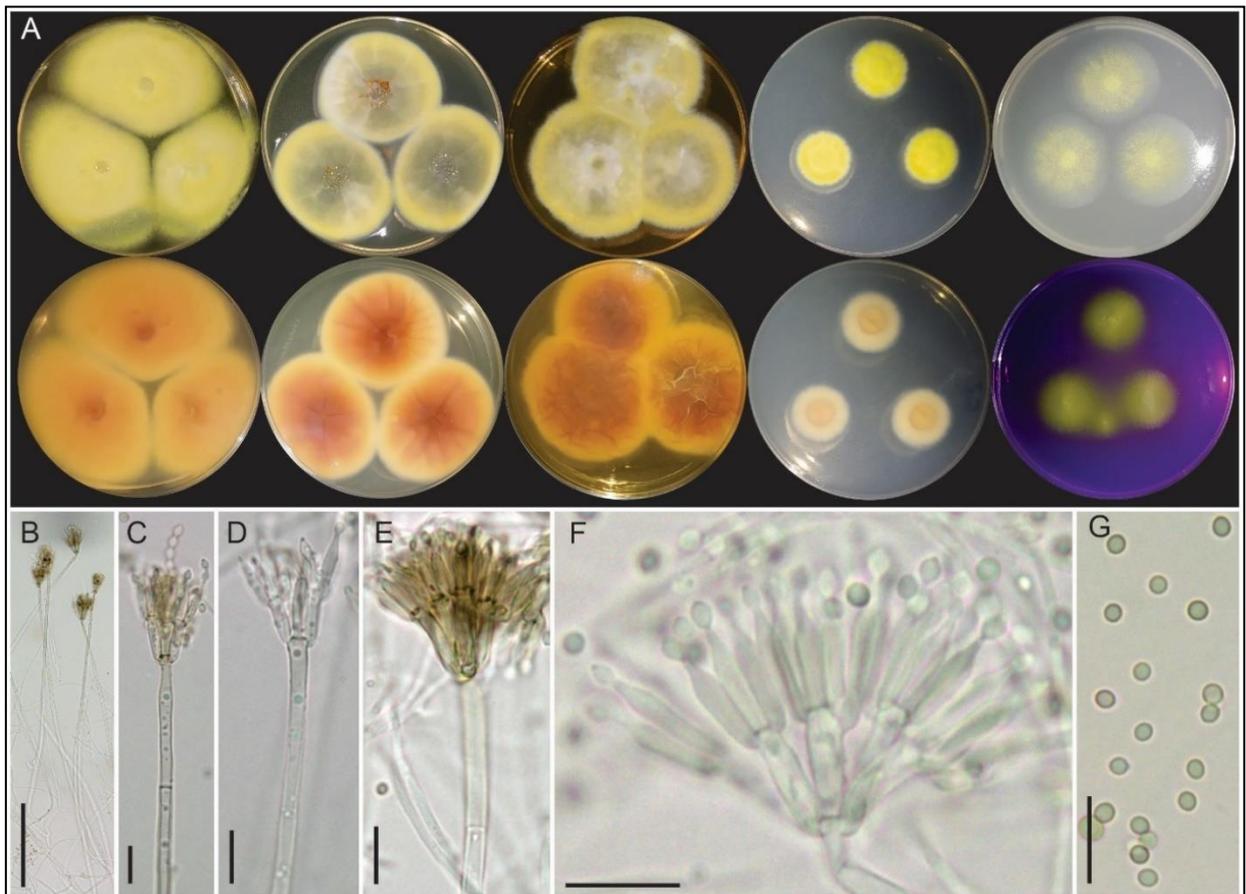
Características da cultura (25°C, 7 dias, no escuro):

MEA: 35–41 mm de diâm., micélio de cor “Pure yellow” (14) a “Greenish yellow” (16), colônias ligeiramente elevadas no centro, não sulcadas, textura aveludada, margens inteiras e regulares, esclerócios ausentes. Grau de esporulação regular, conídios em massa determinada de coloração “Greyish green” (50), exsudatos incolores em pequenas gotículas, pigmentos solúveis ausentes. Reverso cor “Umber” (9) para “Ochreous” (44). CYA: 31–35 mm de diâm., micélio de cor “Pure yellow” (14) a “Yellow green” (71), colônias planas, sulcadas radialmente, textura aveludada, margens inteiras e regulares, esclerócios ausentes. Grau de esporulação regular, conídios em massa determinada cor “Yellow green” (71), exsudatos de pequenas a grandes gotículas de hialinos a “Cinnamon” (62), pigmentos solúveis ausentes. Reverso cor “Sienna” (8) para “Ochreous” (44). CZ: 18–19 mm de diâm., micélio de cor “Pure yellow” (14), colônias centralmente elevadas, sulcadas radialmente, textura aveludada, margens inteiras e regulares, esclerócios ausentes. Esporulação pobre, conídios em massa indeterminada, exsudatos incolores e em pequenas gotículas, pigmentos solúveis ausentes. Reverso cor “Saffron” (10) para o “Salmon” (41). YES: (40–)45–47 mm de diâm., micélio de cor “Pure yellow” (14) a “Yellow green” (71), colônias ligeiramente elevadas no centro, não sulcadas, textura algodonosa, margens inteiras e regulares, esclerócios ausentes. Grau de esporulação regular, conídios em massa determinada com “Yellow green” (71), pigmentos solúveis e exsudatos ausentes. Reverso cor “Sienna” (8) para “Ochreous” (44). OA: 24–28 mm de diâm., micélio de cor “Citrine green” (67) a “Yellow green” (71), colônias planas, não sulcadas, textura algodonosa a granular, margens inteiras e regulares, esclerócios ausentes. Esporulação pobre, conídios em massa indeterminada, exsudatos em pequenas gotículas de coloração amarelada, pigmentos solúveis ausentes. Reverso cor “Primrose” (66). DG18: 4–7 mm de diâm., micélio de cor branca, colônias centralmente elevadas, não sulcadas, textura algodonosa, margens inteiras e regulares, esclerócios ausentes. Esporulação pobre, conídios em massa indeterminada, pigmentos solúveis e exsudato ausentes. Reverso cor “Saffron” (10) para “Umber” (9). CREA: pouco positivo para produção de ácido. Esporulação em 7-10 dias.

Conidióforo biverticilado, estipes septados, hialinos a pigmentados, lisas a rugosas, geralmente longos, 21–420 × 2,7–5,0 µm. Métulas 3–5, medindo 8–10 × 2,5–3,5 µm; fiálides 2–4, acerosas, 8–9 × 2–4 µm. Conídios pigmentados globosos a subglobosos, ornamentados e ocasionalmente lisos, 2 × 1,5–2 µm.

Notas: Buscas via BALSTn utilizando sequências de ITS, TUB2, CAL e RPB2 do isolado *Talaromyces* sp. E35 apresentaram 96–98% de identidade com espécies da seção *Talaromyces* e filogeneticamente é relacionada com *Talaromyces pinophilus* e *Talaromyces pratensis*. *Talaromyces* sp. E35 difere de *T. pratensis* pois apresenta maior diâmetro de crescimento da colônia em MEA e CYA (35–41 e 31–35 mm para *Talaromyces* sp. E35 e 34–36 e 20–22 mm para *T. pratensis*). Além disso, estipes de *Talaromyces* sp. E35 são em sua maioria longas (chegando a 420 μm) enquanto que em *T. pratensis* estipes são menores e ocasionalmente longos (PETERSON & JURJEVIC, 2019). As métulas e fiálides de *T. pratensis* são levemente maiores e mais largas (8–12(–16) x 2,5–4 μm e (3–)5–11(–14) μm do que em *Talaromyces* sp. E35 (7,8–9,9 x 2,3–3,3 μm e 8–8,7 x 1,9–4 μm).

Figura 13: *Talaromyces* sp. E35. A 25°C no escuro por 7 dias nos meios de cultura MEA, CYA, YES e CZ verso e reverso; OA e CREA (A). Conidióforos (B-F); conídios (G). Escalas: 100 μm (B) e 10 μm (C-G).



Fonte: A autora (2022)

5 DISCUSSÃO

Em vários continentes, cada vez mais vêm aumentando o número de estudos sobre a microbiota cavernícola (ZHANG *et al.*, 2021). Apesar disso, no Brasil poucos estudos foram realizados, sobretudo na Caatinga, demonstrando uma lacuna no conhecimento dos fungos presentes nesses ambientes (CUNHA *et al.*, 2020). Neste estudo foi observada a riqueza de 25 espécies de fungos na caverna Abrigo do Letreiro, sendo 20% potencialmente desconhecidas. Diferente de outras cavernas, a caverna Abrigo do Letreiro (RN, Brasil) é fortemente influenciada pelo ambiente externo, sendo considerada de alto fluxo de energia (HEATON, 1986).

A abundância de fungos foi menor no ponto 2 e o de maior abundância foi o ponto 3 que fica mais distante da entrada principal da caverna. Resultados diferentes foram obtidos em uma caverna em Minas Gerais, onde a maior abundância de fungos do ar foi observada próximo à entrada principal, no entanto, a caverna era altamente visitada como atração turística (TAYLOR *et al.*, 2013). Resultados semelhantes foram obtidos por Cunha *et al.* (2020) com o ponto de coleta mais distante da entrada da *bat cave* apresentando a maior abundância de fungos. Os autores justificaram que este fato pode ser possível por conta da grande presença e movimentação de morcegos nesse ponto amostral da caverna (CUNHA *et al.*, 2020).

A riqueza de táxons na caverna Abrigo do Letreiro foi maior no ponto 1 (11 táxons), próximo à entrada principal da caverna, e menor em direção ao seu interior. Estudando uma caverna brasileira, Paula *et al.* (2016) observaram um resultado oposto ao deste estudo, pois o número de fungos foi maior em direção ao fundo da caverna do que próximo à entrada. A maior riqueza fúngica no ponto 1 pode estar associada com a maior circulação de correntes de ar e com a presença de uma pequena comunidade de morcegos fixa nesse ponto e, conseqüentemente, maior deposição de guano, o que aumenta a disponibilidade de nutrientes orgânicos disponíveis. Resultados semelhantes foram obtidos por Cunha *et al.* (2020) que afirmaram que os morcegos podem influenciar diretamente na dispersão de propágulos fúngicos no ar do ambiente cavernícola.

Fungos (ex. *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*) que comumente são os mais relatados no ar em cavernas por todo o mundo, também foram encontrados na caverna Abrigo do Letreiro, com *Aspergillus* sendo o mais frequente. Resultados semelhantes foram obtidos por Zhang *et al.* (2017) em cavernas cársticas na China e

por Kokurewicz et al. (2016) na Polônia. Espécies desses gêneros são relatadas em diversos estudos realizados tanto em cavernas tropicais como subtropicais e também em países europeus (VANDERWOLF *et al.*, 2013). No Brasil, espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* também foram mais abundantes em amostras do ar (TAYLOR *et al.*, 2013; CUNHA *et al.* 2020) e em diferentes substratos (CASTRILLÓN *et al.*, 1976; PAULA *et al.*, 2016).

Estudando uma *bat cave* da Caatinga, Cunha *et al.* (2020) obtiveram o maior número de táxons (12) do gênero *Aspergillus*, cinco do gênero *Penicillium* e três do gênero *Cladosporium* obtidos de diferentes substratos/hospedeiros da caverna Meu Rei (Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco); o gênero *Aspergillus* foi o mais representativo no ar da caverna Meu Rei, semelhante aos resultados obtidos neste estudo. Além disso, Cunha *et al.* (2020) também relataram fungos associados a plantas (*Diaporthe* sp. e *Aplosporella* sp.) e entomopatogênicos (*Beauveria bassiana*) e que, apesar de serem de gêneros distintos aos encontrados neste estudo (*Edenia* e *Lecanicillium*, por exemplo), podem desempenhar papéis similares no ambiente cavernícola.

Recentemente, Pereira *et al.* (2022) relataram a riqueza de espécies de *Cladosporium* na caverna Furna do Morcego, localizada na Caatinga - Parque Nacional do Catimbau. Os autores demonstraram uma riqueza de 15 espécies de *Cladosporium* isolados do ar e de moscas ectoparasitas de morcegos, com a descrição de duas novas espécies para esse gênero. Esses estudos ressaltam o potencial de cavernas da Caatinga para o isolamento e descrição de novas espécies fúngicas.

Os gêneros de fungos isolados mais frequente na caverna Abrigo do Letreiro são conhecidos como possíveis patógenos oportunistas em pessoas com o sistema imunológico comprometido. Por exemplo, espécies de *Aspergillus* foram relatadas como causadores de aspergilose, que é uma infecção fúngica oportunista muito comum no mundo (BEISSWENGER *et al.*, 2012). Casos mais graves de aspergiloses (invasivas) também têm sido relatados (RAJA & SINGH, 2006).

O agente etiológico responsável por mais de 90% dos casos de aspergiloses invasivas é *Aspergillus fumigatus* (ARAÚJO *et al.*, 2005), outras espécies como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus* também podem causar aspergiloses (JIANG *et al.*, 2013). Apesar disso, para que ocorra o desenvolvimento da infecção, alguns fatores, por exemplo, a carga de

esporos presentes no ar e a condição imunológica do indivíduo, podem influenciar no desenvolvimento da doença (PANTOJA *et al.*, 2007). No entanto, nenhuma dessas espécies tradicionalmente relatadas como potenciais causadoras de infecções oportunistas do gênero *Aspergillus* foram observadas no ar da caverna Abrigo do Letreiro. Apesar disso, outras espécies de *Aspergillus*, como *A. sydowii* que foi encontrada no nosso estudo, têm emergido com patógenos oportunistas causadores de aspergilose (NAGARAJAN *et al.*, 2014). Outro fato importante é que os esporos podem não ter sido recuperados durante a coleta pela ausência verdadeira no ambiente ou baixa concentração de propágulos no ar, podendo ser verificada por uma amostragem mais ampla com repetições ao longo do ano (ex. PANTOJA *et al.*, 2007).

Cladosporium é outro gênero com espécies conhecidas como agentes etiológicos oportunistas de algumas micoses (SAN MIGUEL *et al.*, 2003). Normalmente, espécies de *Cladosporium* são conhecidas por sua associação com plantas, (BENSCH *et al.*, 2012). As principais espécies de *Cladosporium* relatadas como agentes etiológicos de micoses *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *C. oxysporum* e *C. sphaerospermum* (de HOOG *et al.*, 2011) sendo principalmente associadas à rinite e asma alérgica (CHEN *et al.*, 2014; VICENDESE *et al.*, 2015), além de alguns quadros de feohifomicoses superficiais e profundas (GUGNANI *et al.*, 2006; MARTINEZ-HERRERA *et al.*, 2015), mas raramente podem causar infecções disseminadas (SANDOVAL-DENIS *et al.*, 2015). Neste estudo, foi encontrada apenas uma espécie (*C. oxysporum*) considerada potencial agente etiológico oportunista. Apesar de ser encontrada como patógeno oportunista, *C. oxysporum* normalmente é saprofítica e associada como contaminantes de culturas vegetais (ZHENG *et al.*, 2014).

Outro fungo encontrado na caverna Abrigo do Letreiro e que possui uma importância médica foi um isolado de *Candida*. Os fungos pertencentes a esse gênero são considerados como oportunistas causando infecções que podem ser superficiais ou invasivas, no entanto, esses fungos são encontrados naturalmente na microbiota humana, afetando principalmente os indivíduos imunodeprimidos (PAPPAS *et al.*, 2018). De forma geral, os fungos encontrados na caverna Abrigo do Letreiro são comumente encontrados no ar de outros ambientes, alguns podem ser considerados como patógenos oportunistas, mas dependem de outros fatores para a manifestação; no nosso estudo não foram encontrados fungos verdadeiramente patogênicos como *Histoplasma capsulatum*.

Durante o nosso estudo não foram encontrados na caverna Abrigo do Letreiro espécies de fungos troglóbios, ou seja, fungos exclusivos do ambiente cavernícola que possuem diferenciações morfológicas adaptadas a esse ambiente. A micobiota em cavernas possui um padrão de distribuição distinto que pode ser influenciado por fatores bióticos e abióticos como as aberturas que as cavernas podem possuir, correntes de ar, presença de morcegos e conseqüentemente da deposição do guano. Esse fato pode ser verificado com os achados fúngicos que são normalmente encontrados também no ambiente externo em associações com plantas ou com insetos, por exemplo, e que foram verificados também no ambiente cavernícola. Locais com maior deposição de guano e matéria orgânica são os pontos que podemos observar um maior desenvolvimento de fungos, como observado na caverna Abrigo do Letreiro. Em relação às possíveis espécies novas que foram tratadas taxonomicamente, por não apresentarem características exclusivas de ambientes subterrâneos, não podem ser consideradas exclusivas de cavernas, necessitando de estudos mais específicos para confirmação. Os estudos sobre fungos em cavernas tratam, geralmente, esses organismos como oriundos do ambiente externo, por exemplo, Zhang *et al.* (2017) descreveram 20 novas espécies e, através da estimativa do tempo de divergência em comparação com a idade geológica das cavernas, os autores mostraram que os fungos tiveram origem do ambiente externo (ZHANG *et al.*, 2018).

Por ser um ambiente pouco explorado quanto aos estudos da micobiota, a caverna Abrigo do Letreiro apresentou uma alta riqueza de fungos anemófilos quando comparada a outras cavernas estudadas no Brasil, considerando que 20% das espécies obtidas têm a possibilidade de serem novidades taxonômicas. Isso demonstra que as cavernas da Caatinga possuem um potencial para a descoberta de uma grande riqueza fúngica (CUNHA *et al.*, 2020) incluindo novas espécies, podendo ser consideradas como *hotspots* da diversidade fúngica no Brasil.

6 CONCLUSÕES

A caverna Abrigo do Letreiro apresentou uma notável riqueza de fungos anemófilos cultiváveis, incluindo táxons desconhecidos. Grande parte da micobiota encontrada nessa caverna também foi encontrada em outras cavernas estudadas no Brasil e no mundo, isso pode estar relacionado às metodologias empregadas para a obtenção dos propágulos fúngicos ou até mesmo com a condição cosmopolita que os fungos apresentam. Apesar de ser uma caverna diferente das convencionais, sofrendo grande influência do ambiente externo, a caverna Abrigo do Letreiro não apresentou uma micobiota tão distinta das normalmente encontradas em outros estudos.

Apesar do pequeno grau de amostragem do ar da caverna, foi encontrada uma taxa significativa de possíveis novas espécies, além de um possível novo gênero de fungos, mostrando que as cavernas da caatinga possuem bom potencial para descobertas de novos fungos.

Portanto, ambientes pouco explorados como as cavernas podem abrigar muitos organismos ainda não conhecidos pela ciência, necessitando de mais investimentos para estudos científicos com o objetivo de documentar e conservar esses organismos e o ambiente cavernícola. Outros estudos estão sendo realizados para a investigação da micobiota fúngica presente em outros substratos da caverna Abrigo do Letreiro, com isso será possível compreender a diversidade de fungos que habitam essa caverna. Além disso, outros estudos estão em desenvolvimento investigando a presença de fungos em diversas cavernas da Caatinga brasileira, o que ajudará na compreensão da comunidade fúngica, fornecerá dados micológicos para a elaboração do plano de manejo de cada caverna e também contribuirá para a estimativa nacional e global de fungos, aumentando o apelo pela conservação de cavernas, sobretudo de cavernas da Caatinga.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, E.; ANSEMI, F.; LEIRIA, T.L.L.; RICHTER, V.T.; PIRES, L.M. Sinusite fúngica: uma análise clínica em nosso meio. **Revista HCPA**, Rio Grande do Sul, v. 19, n. 2, p. 177–185, 1999.
- ARAUJO, R.; PINA-VAZ, C.E.; RODRIGUES, A.G. Surveillance of airborne *Aspergillus* in a Portuguese University Hospital. **Mycoses**, v. 48, n. 2, p. 45, 2005.
- ALVES, J.; MEDEIROS, W. Inventariação do património geomorfológico cárstico do Parque Nacional da Furna Feia (RN, Brasil) como proposta para uso geoturístico. **Revista Eletrônica Centro de Estudos de Geografia e Ordenamento do Território**, n. 20, p. 122–148, 2020. dx.doi.org/10.17127/got/2020.20.006
- AULER, A.; ZOGBI, L. **Espeleologia: noções básicas**. 1a. ed., São Paulo: Redespeleo Brasil, 2005.
- BARTON, H.A. Introduction to cave microbiology a review the non-specialist. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 68, p. 43–54, 2006.
- BARTON, H.A.; NORTHUP, D.E. Geomicrobiology in cave environments: past, current and future perspectives. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 69, p. 163–178, 2007.
- BASTIAN, F.; ALABOUVETTE, C.; SAIZ-JIMENEZ, C. The impact of arthropods on fungal community structure in Lascaux Cave. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, p. 1456–1462, 2009.
- BEISSWENGER, C.; HESS, C.E.; BALS, R. *Aspergillus fumigatus* conidia induce interferon- γ signalling in respiratory epithelial cells. **European Respiratory Journal**, v. 39, p. 411–418, 2012.
- BELMIRO, C.C.L. **Identificação da microbiota fúngica anemófila presente em sala de arquivos e três bibliotecas de uma universidade pública da Paraíba**. 2012. 23f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.
- BENTO, D.M.; CRUZ, J.B.; SANTOS, D.J.; FREITAS, J.I.M.; CAMPOS, U.P.; SOUZA, R.F.R. Parque Nacional da Furna Feia – o parque nacional com a maior quantidade de cavernas do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPELEOLOGIA, 32., 2013, Barreiras - BA. **Anais eletrônicos...** Campinas: SBE, p. 31-43. Disponível em: https://www.cavernas.org.br/wp-content/uploads/2021/07/32cbe_031-043.pdf. Acesso em: 21/12/2021.
- BENSCH, K.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P.W. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology**, v. 72, p. 1–401, 2012.
- BRASIL. Decreto de 5 de junho de 2012. Dispõe sobre a criação do Parque Nacional da Furna Feia, nos municípios de Baraúna e Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 jun. 2012.

BROOKS, G.S.; BUTEL, J.S.; ORNSTON, L.N. **Microbiologia Médica**. 20.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998.

BÖGLI, A. **Karst hydrology and physical speleology**. Berlin, Springer-Verlag, 1980.

BURFORD, E.; FOMINA, M.; GADD, G. Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rocks and minerals. **Mineralogical Magazine**, v. 67, n. 6, p. 1127–1155, 2003.

CABRAL, J.P. Can we use indoor fungi as bioindicator of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. **Sci. Total Environ**, v. 408, p. 4285–4295, 2010.

CARBONE, I.; KOHN, L.M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia**, v. 91, p. 553–556, 1999.

CASTRILLÓN, A.L.; MORAES, M.A.P.; FURTADO, M.S.S. Isolamento de *Microsporum amazonicum* do solo do estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 6, p. 487–490, 1976.

CAVINATTO, V. M. **Influência de fatores ambientais na dispersão de partículas originadas em um sistema de tratamento biológico de esgotos em valos de oxidação**. 1991. 123f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1991.

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS (ICMBIO/CECAV). **Anuário estatístico do patrimônio espeleológico brasileiro 2020**. Brasília, 2020. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cecav/images/stories/downloads/Anuario/CECAV_-_Anuario_estatistico_espeleol%C3%B3gico_2020.pdf. Acesso em: 20/11/2021

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS (ICMBIO/CECAV). **Termo de Referência para o plano de manejo espeleológico de cavernas com atividades turísticas**. Brasília, 2008.

CERVANTES, C.A.E. **La función social de las grutas**. México, 2007.

CHEN, B.Y.; CHAO, H.J.; WU, C.F.; HONDA, Y.; GUO, Y.L. High ambient *Cladosporium* spores were associated with reduced lung function in schoolchildren in a longitudinal study. **Science of the Total Environment**, v. 481, p. 370–376, 2014.

COUTINHO, L.M. **Biomass brasileiros**. Oficina de Textos, São Paulo, 2016.

CUNHA, A.O.B. et al. Living in the dark: Bat caves as hotspots of fungal diversity. **PLoS ONE**, v. 15, n. 12, e0243494, 2020.

DE HOOG, G.S.; GUARRO, J.; GENE, J. et al. **Atlas de fungos clínica**. CD-ROM versão 3.1. CBS-KNAW fúngica Centro de Biodiversidade, Utrecht, Holanda, 2011.

DOBAT, K. Ein bisher unveröffentlichtes botanisches manuskript Alexander von Humboldts: *Plantae subterraneae Europ. 1794 cum Iconibus*. **Akademie Der Wissenschaften und der Literatur**, v. 6, p. 16–19, 1967.

DODONOV, P.; FREITAS, J.R.; TEZORI, R.F.F.; BICHUETTE, M.E. Avaliação in situ do aporte de alimento nas diferentes zonas de uma caverna: estudo de caso e recomendações metodológicas. **Revista da Biologia**, v. 10, p. 8–12, 2013.

DUBREUIL, V.; FANTE, K.P.; PLANCHON, O. The types of annual climates in Brazil: an application of the classification of Koppen from 1961 to 2015. **Confins Revue Franco-bresilienne de Geographie**, v. 37, p. 23, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4000/confins.15738>.

ELBERT, W.; TAYLOR, P.E.; ANDREAE, M.O.; PÖSCHL, U. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates and inorganic ions. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 7, p. 4569–4588, 2007.

ENGEL, A.S. Observations on the biodiversity of sulfidic karst habitats. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 69, p. 187–206, 2007.

FERREIRA, R.L.; MARTINS, R.P.; YANEGA, D. Ecology of bat guano arthropod communities in a Brazilian dry cave. **Ecotropica**, v. 6, p. 105–115, 2000.

FERREIRA, R.L.; NONAKA, E.; ROSA, C.A. Riqueza e abundância de fungos associados ao guano de morcegos hematófagos na Gruta da Lavoura. **O Carste**, v. 12, p. 46–51, 2000.

FERREIRA, R.L.; MARTINS, R.P.; PROUS, X. Structure of bat guano communities in a dry Brazilian cave. **Tropical Zoology**, v. 20, n. 1, p. 55–74, 2007.

FLORES, L.H.; ONOFRE, S.B. Determinação da presença de fungos anemófilos e leveduras em unidade de saúde da cidade de São Francisco Beltrão – PR. **Revista Saúde e Biologia**, v. 9, p. 50–55, 2010.

FONSECA, R.M.P.; PAULA, C.C.P.; BICHUETTE; CHAGAS-JÚNIOR A. First record of Amphoromorpha/Basidiobolus fungus on centipedes (Geophilomorpha, Geophilidae) from Brazilian caves. **Subterranean Biology**, v. 32, p. 61–67, 2019.

GLASS, N.L.; DONALDSON, G.C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and environmental microbiology**, v.61, n. 4, 1323–1330, 1995.

GUGNANI, H.C.; RAMESH, V.; SOOD, N.; GUARRO, J.; MOIN-UL-HAQ; PALIWAL-JOSHI, A.; SINGH, B. Cutaneous phaeohyphomycosis caused by *Cladosporium oxysporum* and its treatment with potassium iodide. **Medical Mycology**, v. 44, p. 285–288, 2006.

GUIMARÃES, R.L.; TRAVASSOS, L.E.P.; GÓIS, A.J.; VARELLA, I. D. Cavernas e Religião: Os rituais de matriz Africana na Gruta da Macumba e na Gruta do Feitiço, Lagoa Santa, Minas Gerais. **Ra'Ega**, v. 23, p. 263–288, 2011.

HAWKSWORTH, D.L. Naming *Aspergillus* species: progress towards one name for each species. **Medical Mycology**, v. 49, p. 70–76, 2011.

HEALD, C.L.; SPRACKLEN, D.V. Atmospheric budget of primary biological aerosol particles from fungal spores. **Geophysical Research Letters**, v. 39, p. 806, 2009.

HEATON, T. Caves: a tremendous range in energy environments on earth. **National Speleological Society News**, v. 44, p. 301–4, 1986.

HENDRY, K. M.; COLE, E. C. A review of mycotoxins in indoor air. **Journal Toxicol Environ Health**, v. 38, p. 183–198, 1993.

HOLSINGER, J.R.; CULVER, D.C. The invertebrate cave fauna of Virginia and a part of Eastern Tennessee: zoogeography and ecology. **Museum of Natural Sciences**, North Carolina: State, 164 p.1988.

HONG, S.B.; CHO, H.S.; SHIN, H.D. et al. Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 56, p. 477–485, 2006.

HORNICK, B.L. Fungal iron oxidation in Brazilian iron caves. **Honors Research Projects**, v. 432, 2017.

HOUBRAKEN, J.; KOCSUBÉ, S.; VISAGIE, C.M.; et al. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. **Studies in Mycology**, v. 95, p. 5–169, 2020.

HOWARTH, F.G. Ecology of cave arthropods: *Annual Review of Entomology*, v. 28, p. 365–389, 1983. doi:10.1146/annurev.en.28.010183.002053

HUBKA, V.; NOVÁKOVÁ, A.; SAMSOM, R.A. et al. *Aspergillus europaeus* sp. nov., a widely distributed soil-borne species related to *A. wentii* (section *Cremeri*). **Plant Systematics and Evolution**, v. 302, p. 641–650, 2016.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). **Plano de manejo do Parque Nacional na Furna Feia**. Brasília – DF, 2020.

JANSEN, D.C.; CAVALCANTI, L.F.; LAMBLÉM, H.S. Mapa de potencialidade de ocorrência de cavernas no Brasil, na escala 1:2.500.000. **Revista Brasileira de Espeleologia**, Brasília: CECAV, v. 2, n. 1, p. 42–57, 2012.

JANSEN, D.C.; PEREIRA, K.N. Distribuição e caracterização das cavernas brasileiras segundo a base de dados do CECAV. **Revista Brasileira de Espeleologia – RBEsp**, v. 2, n. 4, p. 47–70, 2014.

JIANG, J.R.; CAI, L.; LIU, F. Oligotrophic fungi from a carbonate cave, with three new species of *Cephalotrichum*. **Mycology**, v. 8, n. 3, p. 164–177, 2017.

JIANG, Z., WANG, Y., JIANG, Y., XU, Y. E MENG, B. Vertebral osteomyelitis and epidural abscess due to *Aspergillus nidulans* resulting in spinal cord compression: Case report and literature review, **Journal of International Medical Research**, v. 41, n. 2, p. 502–510, 2013.

JURADO, V. et al. Patogenic and opportunistic microorganisms in caves. **International Journal of Speleology**, v. 39, p. 15–24, 2010.

KARUNARATHNA, S.C. et al. Discovery of novel fungal species and pathogens on bat carcasses in a cave in Yunnan Province, China. **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, p. 1554–1566, 2020.

KATOH, K.; STANDLEY, D.M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, p. 772–780, 2013.

KOCH, A.L. Oligotrophs versus copiotrophs. **BioEssays**, v. 23, p. 657–661, 2001.

KOILRAJ, A.J.; MARIMUTHU, G.; NATARAJAN, K.; SARAVANAN, S.; MARAN, P.; HSU, M.J. Fungal diversity inside caves of southern India. **Current Science**, v. 77, p. 1081–1084, 1999.

KOKUREWICZ, T.; OGÓREK, R.; PUSZ, W.; MATKOWSKI, K. Bats increase the number of cultivable airborne fungi in the “Nietoperek” bat reserve in Western Poland. **Microb Ecol.**, v.72, p. 36–48, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0763-3>

LEWINSOHN, T.M.; FREITAS, A.V.L.; PRADO, P.I. Conservação de invertebrados terrestres e seus habitats no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, p. 62–69, 2005.

LIN, S.J.; SCHRANZ, J.; TEUTSCH, S.M. Aspergillosis case fatality rate: systematic review of the literature. **Clin Infect Dis**, v. 32, p. 358–366, 2001.

LIU, Y.J.; WHELEN, S.; HALL, B. Phylogenetic relationship among Ascomycetes: Evidence from na RNA Polymerase II Subunit. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, p. 1779–1808, 1999.

LOBATO, R.C.; VARGAS, V.S.; SILVEIRA, E.S. Sazonalidade e prevalência de fungos anemófilos em ambiente hospitalar no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 11, p. 21–28, 2009.

LOBO, H.A.S.; BOGGIANI, P.C. Cavernas como patrimônio geológico. **Boletim Paranaense de Geociências**, v. 70, p. 190–199, 2013.

Magalhães, R.P. **Metabolismo do glicogênio em *Neurospora crassa*. Um estudo molecular e bioquímico e análise de interação proteína-proteína** (Tese de Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2004.

- MARTIN, G. **Pré-História do Nordeste do Brasil**. 4. ed., Recife: Ed. Universitária – UFPE. p.253-275, 2005.
- MARTINS, O.A. **Fungos anemófilos e leveduras isolados em ambientes de laboratórios de microbiologia em Instituição de Ensino Superior**. 2016. 64f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.
- MARTINEZ-HERRERA, E.O.; ARROYO-CAMARENA, S.; TAJADA-GARCIA, D.L.; PORRAS-LOPEZ, F.; ARENAS, R. Onychomycosis due to opportunistic molds. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 90, n. 3, p. 334–337, 2015.
- MELO, S.C.O.; OLIVEIRA, R.C.B.W.; ARAÚJO, M.R.B. Isolamento e identificação de fungos oportunistas em unidades hospitalares nas cidades de Patos de Minas e de Paracatu - MG. **Revista Eletrônica Perquirere**, v. 1, n. 1, p. 1–13, 2004.
- MILLER, M.A.; PFEIFFER, W.; AND SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**, New Orleans, LA p. 1–8, 2010.
- MITTERMEIER, R.A. et al. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: approaches to setting conservation priorities. **Conservation Biology**, p. 516–520, 1998.
- MONTEIRO, F.A.D.; MONTEIRO, J.F.N.; MOURA, P. E. F. Que riquezas podemos encontrar nas cavernas? In: Zampaulo, R. A. (org.) Congresso Brasileiro De Espeleologia, 35., 2019, Bonito. **Anais eletrônicos...** Campinas: SBE, 2019. p.430–438.
- NAGAI, K.; SUZUKI, K.; OKADA, G. Studies on the distribution of alkalophilic and alkali-tolerant soil fungi II: Fungal flora in two limestone caves in Japan. **Mycoscience**, v. 39, p. 293–298, 1998.
- NAGARAJAN, C.; THAYANIDHI, P.; KINDO, A. J.; RAMARAJ, V.; MOHANTY, S.; ARUNACHALAM, R. Fungal Rhinosinusitis: Report of uncommon *Aspergillus* species as etiological agents. **International Journal of Case Reports and Images**, v. 5, n. 1, p.13–17, 2014.
- NIEVES-RIVERA, A. M. Mycological Survey of Río Camuy Caves Park, Puerto Rico. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 65, p. 23–28, 2003.
- NJUS, K. Molecular Techniques for the Identification of comensal fungal populations on cave roosting bats. **University of Akron**, 2014.
- NORTHUP, D.E.; LAVOUIE, K.H. Geomicrobiology of Caves: A review. **Geomicrobiology Journal**, v. 18, p. 199–222, 2001.

NOVÁKOVÁ, A. Microscopic fungi isolated from the Domica Caves system (Slovak Karst National Park, Slovakia). A review. **International Journal of Speleology**, v. 38, p. 71–82, 2009.

NOVÁKOVÁ, A.; HUBKA, V.; SAIZ-JIMENEZ, C.; KOLARIK, M. *Aspergillus baeticus* sp. nov. and *Aspergillus thesauricus* sp. nov., two species in section Usti from Spanish caves. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, p. 2778–2785, 2012.

OGÓREK, R.; LEJMAN, A.; MATKOWSKI, K. The fungi isolated from the Niedźwiedzia Cave in Kletno (Lower Silesia, Poland). **International Journal of Speleology**, v. 42, p. 161–166, 2013.

OGÓREK, R.; VISŇOVSKÁ, Z.; TANČINOVÁ, D. Mycobiota of underground habitats: case study of Harmanecká cave in Slovakia. **Microbiology Ecology**, v. 71, p. 87–99, 2016.

ORTIZ, M.; LEGATZKI, A.; NEILSON, J.W.; FRYSLIE, B.; NELSON, W.M.; WING, R.A.; SODERLUND, C.A.; PRYOR, B.M.; MAIER, R.M. Making a living while starving in the dark: metagenomic insights into the energy dynamics of a carbonate cave. **The ISME Journal**, v. 8, p. 478–491, 2014.

OLIVEIRA, E.P.; ANDRADE, F.S.; LIMA-NETO, R.G. Ocorrência de micoses superficiais em um centro de saúde pública localizado na cidade de Patos – PB, Brasil. **Rev. Bras. An. Clin.** v. 49, n. 3 Set./Out. 2017.

OTÁLORA-ARDILA, A.; TORRES, J. M.; BARBIER, E.; PIMENTEL, N.T.; LEAL, E. S.B.; BERNARD, E. Thermally-assisted monitoring of bat abundance in an exceptional cave in Brazil's Caatinga drylands. **Acta Chiropterol.** v. 21, p. 411–423, 2019.

PANTOJA, L.D.M.; COUTO, M.S.; PAIXÃO, G.C. Diversidade de bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um campus universitário. **Biológico**, São Paulo, v.69, n.1, p.41-47, 2007.

PAPPAS, P.G.; LIONAKIS, M.S.; ARENDRUP, M.C.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; KULLBERG, B.J. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, 18026, 2018.

PAULA, C.C.P. **Estudo da microbiota edáfica da área cárstica de São Desidério – BA e avaliação do seu potencial celulolítico para possíveis aplicações em microbiologia ambiental.** 2014. 110 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

PAULA, C.C.P.; MONTOYA, Q.V.; RODRIGUES, A.; BICHUETTE, M.E.; SELEGHIM, M.H.R. Terrestrial filamentous fungi from Gruta do Catão (São Desidério, Bahia, Northeastern Brazil) show high levels of cellulose degradation. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 78, p. 208–217, 2016.

PAULA, C.C.P. **Dinâmica e diversidade das comunidades microbianas em cavernas tropicais do Brasil Central**. 2018. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2018.

PEAY, K.; KENNEDY, P.; TALBOT, J. Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. **Nat Rev Microbiol**, v. 14, p. 434–447, 2016.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.59>

PEDRO, E.G.; BONONI, V.L.R. Cave fungi of the karst region of the State Touristic Park of the Upper Ribeira Valley (PETAR) in the state of São Paulo in Brazil. **Focus**, v. 1, n. 2, p. 6578, 2007.

PEREIRA, P.J.S. **Patrimônio geomorfológico: conceituação, avaliação e divulgação. Aplicação ao Parque Natural de Montesinho**. 2006. Tese (Doutorado em Patrimônio geológico e Geoconservação) – Universidade do Minho, Escola de Ciências, Braga, 2006.

PEREIRA, M.L.S.; CARVALHO, J.L.V.R.; LIMA, J.M.S. et al. Richness of Cladosporium in a tropical bat cave with the description of two new species. **Mycological Progress**, v. 21, p. 345–357, 2022.

PETERSON, S.W.; JURJEVIC, Z. The Talaromyces pinophilus species complex, **Fungal Biology**, v. 123, 2019.

PILÓ, L.B.; AULER, A. Introdução à Espeleologia. In: Curso de Espeleologia e Licenciamento Ambiental. Brasília, **ICMBio**, p. 7–23, 2013.

PITMAN, S.K.; DREW, R.H.; PERFECT, J.R. Addressing current medical needs in invasive fungal infection prevention and treatment with new antifungal agents, strategies and formulations. **Expert Opin Emerg Drugs**, v. 16, p. 559–586, 2011.

PONIZOVSKAYA, V.B.; GRUM-GRZHIMAYLO, A.A.; GEORGIEVA, M.L.; KOKAEVA, L.Y.; BILANENKO, E.N. *Lecanicillium gracile* (Cordycipitaceae), a new species isolated from mineral building materials. **Phytotaxa**, v. 443, n. 3, p. 265–278, 2020.

PROUS, X.; FERREIRA, R. L.; JACOBI, C.M. The entrance as a complex ecotone in a Neotropical cave. **International Journal of Speleology**, v. 44, p. 177–189, 2015.

PULIDO-BOSCH, A. Impacto humano em uma caverna cárstica turística (Aracena, Espanha). **Geologia ambiental**, v. 31, n. 3, p. 142–149, 1997.

RAJA, N.S.E.; SINGH, N.N. Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host, **Journal Microbiol Immunol Infect**, v. 39, n. 1, p. 73–77, 2006.

RADFORD, A. Metabolic highways of Neurospora crassa revisited. *Advances in genetics*, v. 52, p. 165–207, 2004.

RAMBAUT, A. FigTree v1.3.1. **Institute of Evolutionary Biology**,

University of Edinburgh, Edinburgh, 2009.

RAYNER, R.W. **A mycological colour chart**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 1970.

RÊGO, C. M.; SANTOS, F. S. Ocorrência de fungos anemófilos e sua relação com fatores abióticos em Barreiras, Bahia. **Rev. Bras. Bioci.** v.13, n. 4, p. 265–271, 2015.

ROGERS, A.L.; BENEKE, E.S. Human pathogenic fungi recovered from brasilian soil. **Mycopathologia et mycologia applicate**, v. 22, p. 15–20, 1963.

RUCHYKYS, U.A. **Patrimônio geológico no quadrilátero ferrífero, Minas Gerais: Potencial para a criação de um Geoparque da UNESCO**. Tese de Doutorado, Instituto de Geociências da UFMG, p. 211, 2007.

RUBBIOLI, E.; AULER, A.; MENIN, D.; BRANDI, R. **Cavernas-Atlas do Brasil Subterrâneo**. Brasília, ICMBio/CECAV, P. 370. 2019.

SAN MIGUEL, M. M.; CISTERÓ, A.B. Utilidad de los alérgenos recombinantes de hongos en la práctica diaria. **Alergol Inmunol Clin**, v. 18, n. 3, p. 117–21, 2003.

SANDOVAL-DENIS, M.; SUTTON, D.A.; MARTIN-VICENTE, A.; CANO-LIRA, J.F.; WIEDERHOLD, N.; GUARRO, J.; GENÉ, J. Cladosporium species recovered from clinical samples in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 9, p. 2990–3000, 2015.

SARROCCO, S.; DIQUATTRO, S.; BARONCELLI, R.; CIMMINO, A.; EVIDENTE, A.; VANNACI, G.; DEVERI, F. A polyphasic contribution to the knowledge of *Auxarthron* (Onygenaceae). **Mycol. Progress**, v. 14, p. 112, 2015.

SCHNEIDER, K.; CHRISTMAN, M.C.; FAGAN, W.F. The influence of resource subsidies on cave invertebrates: results from an ecosystem level manipulation experiment, **Ecology**, v. 92, n. 3, p. 765–776, 2011. doi:10.1890/10-0157.1.

SIDRIM J.J.C., ROCHA M.F.G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004

SIDRIM J.J., PAIXÃO G.C., BRILHANTE R.S., ROCHA M.F. Principais fungos contaminantes em rotina de micologia médica. In: **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. Sidrim JJ, Rocha MF. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 318–326, 2004.

SILVA, J.M.C.; LEAL, I.R.; TABARELLI, M. Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America. 1st ed. Cham, Switzerland: **Springer International Publishing**, 2017a.

SILVA, L.B.; POZZER, B.S.; ECKER, C.C.; XAVIER, M.O. Monitoramento da microbiota fúngica anemófila em unidade de terapia intensiva. **Rev. Saúde e biologia**, v. 11, n. 3, p. 27–34, 2017b.

SILVA M.S.; NICOLAU J.C.; FERREIRA R.L. Comunidades de invertebrados terrestres de três cavernas quartzíticas no Vale do Mandembe, Luminárias, MG. **Espeleo-tema**, v. 22, n. 1, p. 155–167, 2011.

SIMON, K.S.; PIPAN, T.; AND CULVER, D.C. Conceptual model of the flow and distribution of organic carbon in caves. **Journal of Cave and Karst Studies**, v. 69, n. 2, p. 279–284, 2007.

SOBRINHO, J.E.; SILVA, S.T.A.; RIBEIRO, G.B.; COSTA, L.L.M.; LUNARDI, D.G. **Monitoramento do microclima e análise da contribuição de visitas sobre seus parâmetros, em cavernas do Parque Nacional da Fuma Feia**. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Centro de Engenharias / Centro De Ciências Agrárias. Mossoró – RN, 2016.

SOUZA-SILVA, M.; BERNARDI, L.F.O.; MARTINS, R.P.; FERREIRA, R.L. Transport and consumption of organic detritus in a neotropical limestone cave: **Acta Carsologica**, v. 41, no. 1, p.139–150, 2012.

STAMATAKIS, A. **RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies**. **Bioinformatics**, 2014.

STRAUSZ, M.C. **Análise de um acidente fúngico na Biblioteca Central de Mangunhos: um caso de Síndrome do Edifício Doente**. Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública: Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.

SUNG, G.H.; SUNG, J.M.; HYWEL-JONES, N.L. et al. A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, p. 1204–1223, 2007.

TAYLOR, E.L.S.; FERREIRA, R.L.; SILVA, D.; CANESTRI, G.B.; BATISTA, L.R. Levantamento e distribuição mínima de fungos filamentosos em cavernas da caatinga brasileira. In: III CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ECOLOGIA. 2009, Minas Gerais. **Anais eletrônicos...** 2009.

TAYLOR, E.L.S.; RESENDE-STOIANOFF, M.A.; FERREIRA, R.L. Mycological study for a management plan of a Neotropical show cave (Brazil). **International Journal of Speleology**, v. 42, p. 267–277, 2013.

TRAJANO, E. Cave fauna in the Atlantic tropical rain Forest: composition, ecology and conservation. **Biotropica**, v. 32, p. 882–893, 2000.

TRAJANO, E.; BICHUETTE, M. E. **Biologia Subterrânea – Introdução**. São Paulo, Redespeleo Brasil, 2006.

TRAVASSOS, L.E.P. A geomorfologia cárstica subterrânea. In: Princípios de Carstologia e Geomorfologia Cárstica. Brasília, **ICMBio**, p. 133–161, 2019.

VANDERWOLF, K.J.; MALLOCH, D.; MCALPINE, D.F.; FORBES, G.J. A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves. **International Journal of Speleology**, v. 42, p. 77–96, 2013.

VICENTINI, A.P.; PASSOS, A.N.; SILVA, D.F.; BARRETO, L.C.; ASSIS, C.M.; FREITAS, R.S. Histoplasmosse: um risco ocupacional entre pesquisadores que realizam trabalho de campo? **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, p. 747–752, 2012.

VICENDESE, D.; DHARMAGE, S.C.; TANG, M.L.; OLENKO, A.; ALLEN, K.J.; ABRAMSON, M.J.; ERBAS, B. Bedroom air quality and vacuuming frequency are associated with repeat child asthma hospital admissions. *Journal Asthma: Official Journal of the Association for the Care of Asthma*, p. 1–17, 2015.

VIRIATO, A. Terpenoides com atividade antifúngica para *Candida Berkhout*, causadoras de infecções hospitalares. **O Mundo da Saúde**. v. 38, n. 1, p. 40–50, 2014.

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

WANG, X.W.; YANG, F.Y.; MEIJER, M.; KRAAK, B.; SUN, B.D.; JIANG, Y.L.; WU, Y.M.; BAI, F.Y.; SEIFERT, K.A.; CROUS, P.W.; SAMSON, R.A.; HOUBRAKEN, J. Redefining *Humicola sensu stricto* and related genera in the Chaetomiaceae. **Studies in Mycology**, v. 93, p. 65–153, 2019.

WANG, X.W.; HAN, P.J.; BAI, F.Y. et al. Taxonomy, phylogeny and identification of Chaetomiaceae with emphasis on thermophilic species. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 121–243, 2022.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *A Guide to Molecular Methods and Applications* (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White JW, eds). **Academic Press**, New York, p. 315–322, 1990.

YAHYAZADEH, M. et al. Effect of some essential oils on mycelial growth of *Penicillium digitatum* Sacc. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 1445–1450, 2008.

ZAMPAULO, R.A. **Diversidade de invertebrados cavernícolas na Província Espeleológica de Arcos, Pains, Doresópolis (MG) – Subsídios para a determinação de áreas prioritárias para conservação**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2010.

ZAMPAULO, R.A. Diversidade de espécies troglóbias em cavidades ferríferas do Parque Estadual da Serra do Rola Moça (PESRM), Minas Gerais. In: RASTEIRO, M.A.; SALLUN FILHO, W. (orgs.) CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPELEOLOGIA, 33, 2015. Eldorado. **Anais...** Campinas: SBE, 2015. p.87-97. Disponível em: <http://www.cavernas.org.br/anais33cbe/33cbe_087-097.pdf>. Acesso em: 03/01/2022.

ZARE, R.; GAMS, W.; EVANS, H. C. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. V. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. **Nova Hedwigia**, v. 73, p. 51–58, 2001.

ZHANG, Z.F.; LIU, F.; ZHOU, X.; LIU, X.Z.; LIU, S.J.; CAI, L. Culturable mycobiota from Karst caves in China, with descriptions of 20 new species. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 39, p. 1–31, 2017.

ZHANG, Z.F.; ZHAO, P.; CAI, L. Origin of cave fungi. **Front. Microbiol.** v. 9, p. 1407, 2018.

ZHANG, Z.F.; ZHOU, S.Y.; EURWILAICHITR, L.; INGSRISWANG, S.; RAZA, M. Culturable mycobiota from Karst caves in China II, with descriptions of 33 new species. **Fungal Diversity**, v. 106, p. 29–136, 2021.

ZHELYAZKOVA, V.; HUBANCHEVA, A.; RADOSLAVOV, G.; TOSHKOVA, N.; PUECHMAILLE, S.J. Did you wash your caving suit? Cavers' role in the potential spread of *Pseudogymnoascus destructans*, the causative agent of White-Nose Disease. **International Journal of Speleology**, v. 49, n. 2, p.149-159, 2020.

ZHENG, C.; LIU, Z.H.; TANG, S.S.; LU, D.; HUANG, X.Y. First Report of Leaf Spot Caused by *Cladosporium oxysporum* on Greenhouse Eggplant in China. **Plant Disease**, v. 98, n. 4, p. 566, 2014.

ZOPPAS, B.C.A. et al. Distribuição de esporos de *Cladosporium* spp no ar atmosférico de Caxias do Sul, RS, Brasil, durante dois anos de estudo. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 34, n. 2, p. 55–58, 2012.