

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

---

**DIVERSIDADE DE FUNGOS DE SOLOS ANTÁRTICOS E PROSPECÇÃO DE  
ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS**

**LIA COSTA PINTO WENTZEL**

**Orientadora:** Profa. Dra. Lara Durães Sette

**Co-orientador:** Prof. Dr. André Rodrigues

**Rio Claro – SP**

**2017**

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(MICROBIOLOGIA APLICADA)**

---

**DIVERSIDADE DE FUNGOS DE SOLOS ANTÁRTICOS E PROSPECÇÃO  
DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS**

**LIA COSTA PINTO WENTZEL**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada)

**Orientadora: Profa. Dra. Lara Durães Sette**

**Co-orientador: Prof. Dr. André Rodrigues**

**Rio Claro – SP**

**2017**

589.2   Wentzel, Lia Costa Pinto  
W481d    Diversidade de fungos de solos antárticos e prospecção de  
          enzimas ligninolíticas / Lia Costa Pinto Wentzel - Rio Claro,  
          2017  
          138 f. : il., figs., tabs., quadros

          Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
          Instituto de Biociências de Rio Claro  
          Orientador: Lara Durães Sette  
          Coorientador: André Rodrigues

          1. Fungos. 2. Microbiologia polar. 3. Antártica. 4. Fungos  
          adaptados ao frio. 5. Lacase. I. Título.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Diversidade de fungos de solos antárticos e prospecção de enzimas ligninolíticas

**AUTORA:** LIA COSTA PINTO WENTZEL

**ORIENTADORA:** LARA DURÃES SETTE

**COORDENADOR:** ANDRE RODRIGUES

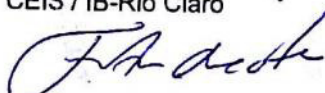
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. LARA DURÃES SETTE  
Departamento de Bioquímica e Microbiologia / IB Rio Claro



Prof. Dr. FERNANDO CARLOS PAGNOCCA  
CEIS / IB-Rio Claro



Prof. Dr. FERNANDO DINI ANDREOTE  
Departamento de Ciência do Solo / ESALQ

Rio Claro, 02 de maio de 2017

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Lara Sette, por me acolher em Rio Claro, por todos os ensinamentos, confiança e entendimento, e por sua amizade! Muito obrigada por ter me possibilitado conhecer e contribuir com o conhecimento da biodiversidade deste lugar fascinante chamado Antártica.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. André Rodrigues, por todos os ensinamentos e proveitosas discussões.

Aos amigos do LAMAI, Davi, Fábio, Gabi, Igor, Ju, Lídia, Marina, Pedro e Vivi, por todo o companheirismo, e por tornarem a árdua rotina laboratorial mais leve e divertida.

Aos amigos do LAMAB, em Goiânia, em especial Ariana, Bruno, Marcus e Renan, pelo incentivo desde o final da graduação para entrar no mestrado e pela amizade, mesmo à distância.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

À Fapesp e ao CNPq pelo financiamento dos projetos aos quais meu trabalho está vinculado.

Ao Programa Antártico Brasileiro, por viabilizar o presente projeto, oferecendo toda a logística, através da Aeronáutica e Marinha brasileiras, para o acesso à Antártica.

À Lídia, pela amizade e pelo acolhimento em sua casa no início do mestrado.

Aos amigos do LESF, Irina, Lorena e Quimi, pelas conversas e risadas.

Ao amigo Fábio, por toda a ajuda nas análises de solo e pelo companheirismo desde o início do mestrado.

Ao amigo Quimi, por seu contagiante entusiasmo com os fungos, e pelos valiosos ensinamentos sobre filogenia.

À minha amiga querida Juliana Santos, por todas as aventuras antárticas compartilhadas, por toda a ajuda nos momentos difíceis e por todos os cafezinhos juntas.

Às aminhas amigas Isis, Mariel e Ana Cláudia, por sempre me apoiarem, mesmo distantes.

Ao meu amado namorado Marcos, por todo o apoio, companheirismo, paciência e amor.

À minha família, especialmente aos meus pais Nelson e Lígia e à minha irmã Sarah, por todo o amor, por sempre acreditarem em mim, e por todo o apoio, dedicação e compreensão.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

O estudo de ambientes extremos, como o antártico, pode resultar na descoberta de novos micro-organismos e novos produtos naturais de origem microbiana, visto que ainda pouco se sabe sobre a diversidade e os recursos genéticos presentes nesses locais. Estudos anteriores de prospecção microbiana antártica têm demonstrado que estes organismos representam um nicho potencial de descoberta de novas enzimas, as quais podem apresentar propriedades de interesse em diversos setores de importância sócio-econômica. Nesse contexto, este projeto teve como objetivos avaliar as comunidades de fungos presentes em diferentes amostras de solos antárticos e solos associados às raízes de *Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica*, as duas únicas plantas vasculares que ocorrem na Antártica marítima, bem como selecionar novos recursos genéticos produtores de enzimas ligninolíticas. Foram obtidos das seis amostras estudadas, 891 isolados de fungos nas duas temperaturas de incubação utilizadas (5°C e 15 °C), sendo 141 provenientes de solos e 750 provenientes de solos associados às raízes das duas plantas. Do total, 399 foram leveduras e 492 foram fungos filamentosos. O maior número de isolados foi obtido a partir de uma amostra de solo associado à raiz de *C. quitensis*. Do total de micro-organismos, 35 apresentaram potencial para a produção de lacase, e 3 apresentaram atividade enzimática  $\geq 1 \text{ U L}^{-1}$  para a enzima lignina peroxidase. Os resultados revelaram a presença de 39 diferentes taxa, com representantes dos filos Ascomycota, Basidiomycota e "Zygomycota", sendo os gêneros mais frequentes *Pseudogymnoascus* e *Leucosporidium*. As amostras de solo associado às raízes das duas plantas apresentaram alta riqueza de espécies e alta diversidade em comparação com as amostras de solo, e a diversidade beta da região estudada foi alta, dado que diferentes locais apresentaram um menor compartilhamento de espécies. A composição das comunidades microbianas foi fortemente influenciada por seus locais de coleta. Fatores como a textura do solo e teor de carbono parecem ter influência na composição das comunidades. A temperatura foi um fator significativo na composição das comunidades microbianas, com um maior número de isolados e de diferentes taxa obtidos a 15 °C e a presença de cobertura vegetal no solo pareceu influenciar na diversidade observada. O presente projeto permitiu a ampliação do conhecimento da diversidade de fungos que habitam o ecossistema antártico, bem como possibilitou a obtenção de fungos provavelmente desconhecidos pela ciência (novas espécies e/ou gêneros), além de ter propiciado o isolamento de fungos produtores de enzimas ligninolíticas a baixas temperaturas.

## ABSTRACT

The study of extreme environments, such as the Antarctic, is a potential source for the discovery of new microorganisms and new natural products, since little is known yet about the diversity and the genetic resources present in these sites. Previous studies related to microbial prospecting of antarctic fungi have been showing that these organisms represent a potential niche for the discovery of new enzymes, which can present properties of interest in several important social-economic sectors. In this context, the aim of this work was to evaluate the fungi communities from different soil and root-associated soil samples of *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica*, the only two species of vascular plants to occur in the maritime Antarctica, as well as to select new genetic resources capable of producing ligninolytic enzymes. From the six samples studied, it was obtained 891 isolates on both employed isolation temperatures (5°C and 15 °C), where 141 came from soil and 750 came from root-associated soil. Three hundred and ninety-nine of the total were yeasts and 492 were filamentous fungi. The highest number of isolates obtained was from a root-associated soil sample of *C. quitensis*. From all isolates, 35 showed laccase production potential, and 3 presented enzymatic activity  $\geq 1 \text{ U L}^{-1}$  for the enzyme lignin peroxidase. It was obtained 39 different taxa with representatives of the phyla Ascomycota, Basidiomycota and "Zygomycota", where the most frequent genera were *Pseudogymnoascus* and *Leucosporidium*. The root-associated soil samples showed high species richness and diversity in comparison to the soil samples, and the beta diversity of the studied region was high, given that different sites showed less species sharing. The microbial communities' composition was strongly influenced by their sampling locations, and factors like soil texture and carbon content seemed to influence this composition. Temperature was significant regarding microbial communities' composition, with a high number of isolates and different taxa obtained at 15 °C, and the presence of vegetation cover in soil seemed to influence on the observed diversity. The present study allowed to broaden the knowledge on the diversity of fungi that inhabit the antarctic ecosystem, made possible the acquisition of fungi probably unknown by science (new species and/or new genera), as well as made possible the isolation of ligninolytic enzymes producing fungi at low temperatures.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Pontos de coleta das amostras de solo e solo associado às raízes de <i>C. quitensis</i> e <i>D. antarctica</i> durante a fase IV da OPERANTAR XXXIII.....	33
Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos dos 6 solos estudados (valores em mg L <sup>-1</sup> ) (CDB Al e Fe: quantidades de Al e Fe extraídas pelo método CDB; Ox. Al e Fe: quantidades de Al e Fe extraídas pelo método do oxalato de amônia; Piro Al e Fe: quantidades de Al e Fe extraídas pelo método do pirofosfato; TC: teor de carbono total). .....	45
Tabela 3 - Parâmetros químicos (quantidade de metais) dos 6 solos estudados (valores em mg L <sup>-1</sup> ). .....	45
Tabela 4 - Textura e classificação dos 6 solos analisados.....	45
Tabela 5 - Identificação dos taxa e sua distribuição nas amostras .....	48
Tabela 6 - Índices de diversidade alfa e riqueza (S) observada para os diferentes solos estudados .....	53
Tabela 7 - Índice de diversidade beta (Bray-Curtis) observado para os diferentes solos estudados .....	54
Tabela 8. - Isolados com potencial para produção de lacase verificado através do teste de placa com guaiacol. Temperatura de isolamento a 15 °C, exceto os marcados com * (5 °C).....	55
Tabela 9 - Média das duplicatas de cada isolado das atividades enzimáticas para lignina peroxidase e lacase (após 7 dias de cultivo a 15°C e 150 rpm) .....	56



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização e limites da região antártica (FPA, Frente Polar Antártica). ..	19
Figura 2 - Ilhas Shetland do Sul, com ilha Rei George à direita. ....	20
Figura 3 - Ilha Rei George, com Área Antártica Especialmente Gerenciada em destaque.....	21
Figura 4 - Plantas vasculares da Antártica: <i>Deschampsia antarctica</i> (A) e <i>Colobanthus quitensis</i> (B). ....	23
Figura 5 - Estrutura de uma molécula de lignina e suas moléculas precursoras (álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico.....	26
Figura 6 - Atividade dependente da temperatura. Atividade de enzimas psicrófilas (pontos vazios e linhas azuis) e mesófilas (pontos cheios) verificada em diferentes temperaturas ilustra uma das principais propriedades das enzimas adaptadas a baixas temperaturas: a alta atividade específica a baixas temperaturas. ....	28
Figura 7 - Locais de coleta das amostras durante a fase IV da OPERANTAR XXXIII (verão 2015). Os pontos 1, 2 e 3 representam os locais de coleta. 1-Punta Plaza, 2-Yellow Point e 3-Punta Hennequin.....	34
Figura 8 - Exemplos de alguns dos diferentes perfis genéticos obtidos.....	46
Figura 9 - Análise de correspondência entre a abundância de espécies em relação aos locais de coleta. Os pontos azuis representam os taxa isolados e os quadrados coloridos representam as seis amostras de solos e solos associados às raízes de <i>C. quitensis</i> e <i>D. antarctica</i> . ....	50
Figura 10 - Relação entre composição taxonômica das amostras e parâmetros físico-químicos dos solos analisados por escalonamento multidimensional não-métrico. Note o valor de <i>stress</i> no canto inferior direito do gráfico .....	51
Figura 11 - Inferência da similaridade entre as amostras estudadas .....	53
Figura 12 - Isolados com potencial atividade de lacase (presença de coloração marrom escura sob e ao redor do micélio).....	55

## LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz). .....	80
Apêndice B - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz). .....	81
Apêndice C - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz). .....	82
Apêndice D - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz). .....	83
Apêndice E - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz). .....	84
Apêndice F - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz). .....	85
Apêndice G – Exemplos de alguns dos morfotipos obtidos de MA2% a 15 °C. ....	86
Apêndice H - Morfotipos de MA2% a 15 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular.....	87
Apêndice I - Morfotipos de PDA a 15 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular .....	94
Apêndice J - Morfotipos de MA2% a 5 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular. ....	96

Apêndice K - Morfotipos de PDA a 5 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular.....	100
Apêndice L - Perfis genéticos das leveduras estudadas, seus locais de origem e sua identificação molecular.....	101
Apêndice M - Identificação molecular dos micro-organismos isolados no trabalho e sua similaridade com sequências depositadas no banco de dados (GenBank).....	111
Apêndice N - Árvore filogenética inferida para o fungo ANI1, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (68 - Código de extração de DNA do fungo ANI1).....	116
Apêndice O - Árvore filogenética inferida para os fungos ANI2 e ANI3, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (65 e 54 - Códigos de extração de DNA do fungo ANI2; M30P – Código de extração do DNA do fungo ANI3).....	117
Apêndice P - Árvore filogenética inferida para o fungo ANI4, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M6M, M5M, 50 - Códigos de extração de DNA do fungo ANI4).....	118
Apêndice Q - Árvore filogenética inferida para o fungo ANI5, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M10M, M29M - Códigos de extração de DNA do fungo ANI5).....	119
Apêndice R - Árvore filogenética inferida para a levedura ANI6, baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (410 - Código de extração de DNA da levedura ANI6).....	120
Apêndice S - Árvore filogenética inferida para os fungos <i>Antarctomyces</i> sp. e <i>Thelebolus</i> sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M2M, M16P, M1M, 35 - Códigos de extração de DNA do fungo <i>Antarctomyces</i> sp.; M44M – Código de extração de DNA do fungo <i>Thelebolus</i> sp.).....	121

Apêndice T - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Cadophora luteo-olivacea</i> , baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M61M - Código de extração de DNA do fungo <i>Cadophora luteo-olivacea</i> ). .....	122
Apêndice U - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Cladosporium</i> sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M14M, M15M, 93 - Códigos de extração de DNA do fungo <i>Cladosporium</i> sp.). .....	123
Apêndice V - Árvore filogenética inferida para os fungos <i>Cosmospora</i> sp.1, sp.2 e sp.3, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M9M, 23, 21, 19, 20 - Códigos de extração de DNA do fungo <i>Cosmospora</i> sp.1; 66 - Código de extração de DNA do fungo <i>Cosmospora</i> sp.2; 22 - Código de extração de DNA do fungo <i>Cosmospora</i> sp.3). .....	124
Apêndice W - Árvore filogenética inferida para os fungos <i>Fusarium avenaceum</i> species complex e <i>Fusarium oxysporum</i> species complex, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (12, 52, 9, 84, 53, 25, 18, 17, 15, 14, M2P, M25P, M17P, M59M - Códigos de extração de DNA do fungo <i>Fusarium avenaceum</i> species complex; 33 – Código de extração de DNA do fungo <i>Fusarium oxysporum</i> species complex). .....	125
Apêndice X - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Laetinaevia carneoflavida</i> , baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (89 – Código de extração de DNA do fungo <i>Laetinaevia carneoflavida</i> ). .....	126
Apêndice Y - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Leptosphaeria</i> sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M15P – Código de extração de DNA do fungo <i>Leptosphaeria</i> sp.). .....	127
Apêndice Z - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Microdochium lycopodium</i> , baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (51, 45, 44, M46M, M1P – Códigos de extração de DNA do fungo <i>Microdochium lycopodium</i> ). .....	128

Apêndice AA - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Oidiodendron</i> sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (96, M60M – Códigos de extração de DNA do fungo <i>Oidiodendron</i> sp.).....	129
Apêndice AB - Árvore filogenética inferida para o <i>Pochonia</i> sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (79 – Código de extração de DNA do fungo <i>Pochonia</i> sp.).....	130
Apêndice AC - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Pseudogymnoascus</i> sp.1, sp.2, sp.3, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M7P – Código de extração de DNA do fungo <i>Pseudogymnoascus</i> sp.1; M21M – Código de extração de DNA do fungo <i>Pseudogymnoascus</i> sp.2; 11, 36, M31P, M41M, M11M, M45M – Códigos de extração de DNA do fungo <i>Pseudogymnoascus</i> sp.3).....	131
Apêndice AD - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Purpureocillium lilacinum</i> , baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (80, 34 – Códigos de extração de DNA do fungo <i>Purpureocillium lilacinum</i> ). .....	132
Apêndice AE - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Trichoderma</i> sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M14 – Código de extração de DNA do fungo <i>Trichoderma</i> sp.).....	133
Apêndice AF - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Varicosporium</i> sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (91, 55, M49M, M52M, M65M – Códigos de extração de DNA do fungo <i>Varicosporium</i> sp.).....	134
Apêndice AG - Árvore filogenética inferida para o fungo <i>Mortierella</i> sp.1 e sp.2, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (72, 8, 71, 4, 7, 6, M13M, M8P – Códigos de extração de DNA do fungo <i>Mortierella</i> sp.1; 32 – Código de extração de DNA do fungo <i>Mortierella</i> sp.2). .....	135
Apêndice AH - Árvore filogenética inferida para as leveduras <i>Naganishia</i> sp., <i>Goffeauzyma gastrica</i> e <i>G. gilvescens</i> , baseada em suas sequências da região	

D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (12, 39, 148, 138, 101 –Códigos de extração de DNA da levedura <i>Naganishia</i> sp.; 325, 308 – Códigos de extração de DNA da levedura <i>G. gastrica</i> ; 4, 401, 251, 94, 7, 61, 327 – Códigos de extração de DNA da levedura <i>G. gilvescens</i> ).....	136
Apêndice AI - Árvore filogenética inferida para as leveduras <i>Leucosporidium</i> sp., <i>Leucosporidium fragarium</i> e <i>Cystobasidium laryngis</i> , baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (346, 366, 350, 277, 315, 265, 303, 328, 306 –Códigos de extração de DNA da levedura <i>Leucosporidium</i> sp.; 150, 51, 17 – Códigos de extração de DNA da levedura <i>L. fragarium</i> ; 137, 13, 157, 199, 22, 71, 14 – Códigos de extração de DNA da levedura <i>C. laryngis</i> ). .....	137
Apêndice AJ - Árvore filogenética inferida para a levedura <i>Mrakia</i> sp., baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (279, 382, 387, 409, 6 - Códigos de extração de DNA da levedura <i>Mrakia</i> sp.).....	138
Apêndice AK - Árvore filogenética inferida para as leveduras <i>Holtermanniella wattica</i> , <i>H. festucosa</i> e <i>Vishniacozyma victoriae</i> , baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (331, 363, 36, 311, 257, 239, 198, 162, 107, 222, 195, 235 - Códigos de extração de DNA da levedura <i>H. wattica</i> ; 362, 5 – Códigos de extração de DNA da levedura <i>H. festucosa</i> ; 336, 37 – Códigos de extração de DNA da levedura <i>V. victoriae</i> ).....	139

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 A região antártica .....	18
2.2 Fungos de ambiente antártico .....	21
2.3 Aplicação biotecnológica de micro-organismos da Antártica .....	25
2.4 Ligninases .....	25
2.5 Enzimas adaptadas ao frio .....	27
2.6 O solo como ambiente para a vida microbiana .....	29
3 OBJETIVOS.....	32
3.1 Objetivos específicos .....	32
3.1.1 Avaliação da diversidade de fungos filamentosos e leveduras.....	32
3.1.2 Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico.....	32
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	33
4.1 Avaliação da diversidade de fungos filamentosos e leveduras .....	33
4.1.1 Isolamento de micro-organismos de solos antárticos .....	33
4.1.2 Caracterização físico-química das amostras de solos.....	35
4.1.3 Extração de DNA.....	37
4.1.4 Fingerprinting genético – microssatélite (MSP-PCR).....	38
4.1.5 Sequenciamento de marcadores taxonômicos do DNA ribossomal .....	39
4.1.6 Correlação da composição taxonômica com a caracterização físico-química das amostras de solos.....	40
4.1.7 Análise da diversidade alfa e beta das amostras.....	40
4.2 Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico .....	41
4.2.1 Triagem qualitativa de fungos produtores de ligninases .....	41
4.2.2 Triagem quantitativa de fungos produtores de ligninases.....	41
5 RESULTADOS .....	44
5.1 Avaliação da diversidade de fungos filamentosos e leveduras .....	44
5.1.1 Isolamento de micro-organismos de solos antárticos .....	44
5.1.2 Caracterização físico-química das amostras de solos.....	44
5.1.3 Sequenciamento de DNA ribossomal .....	46

5.1.4	Correlação da composição taxonômica com a caracterização físico-química das amostras de solos .....	50
5.1.5	Análise da diversidade alfa e beta das amostras.....	53
5.2	Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico .....	54
5.2.1	Triagem qualitativa de fungos produtores de ligninases .....	54
5.2.2	Triagem quantitativa de fungos produtores de ligninases.....	55
6	DISCUSSÃO.....	57
6.1	Isolamento de micro-organismos de solos antárticos.....	57
6.2	Fungos filamentosos e leveduras em solos da Antártica .....	58
6.3	Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico.....	66
7	CONCLUSÕES.....	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	69
	APÊNDICES .....	80



## 1 INTRODUÇÃO

A Antártica é o mais inalterado e o mais extremo dos continentes, e como tal, abriga uma biodiversidade adaptada e diversificada. Os micro-organismos geralmente compreendem a maioria da biomassa e da biodiversidade em ecossistemas antárticos aquáticos e terrestres, particularmente em condições climáticas mais extremas, sob as quais organismos superiores não conseguem sobreviver (COWAN et al., 2010).

Nos últimos anos tem crescido o interesse por fungos do ambiente antártico, principalmente por pouco se conhecer sobre sua diversidade, o que torna possível a busca por novas espécies, e pelo potencial biotecnológico que os mesmos apresentam. Os fungos que habitam o ecossistema antártico representam um reservatório potencial de descoberta de novas enzimas, justamente por apresentarem adaptações fisiológicas ao ambiente extremo em que vivem, as quais podem apresentar propriedades de interesse em diversos setores de importância sócio-econômica.

A península Antártica é uma das regiões que registra o maior aumento de temperatura na terra, em consequência do aquecimento global, com um aumento de 0,56°C por década desde 1950 (ROYLES et al., 2013). Esse aumento de temperatura pode provocar perturbações nos ecossistemas antárticos, podendo levar à perda de micro-organismos endêmicos e à mudanças na biodiversidade. Dessa maneira, faz-se necessário conhecer tanto quanto possível a diversidade de micro-organismos nesse ambiente, para prever o impacto das mudanças climáticas globais.

O presente projeto está associado aos projetos Fapesp 2013/19486-0 coordenado pela Profa. Dra. Lara Sette (UNESP/Rio Claro) e PROANTAR CNPq 407816/2013-5 coordenado pela Prof. Vivian Pellizari (IO/USP) e objetivou a avaliação da diversidade de fungos filamentosos e leveduras presentes nos diferentes solos estudados, bem como a seleção de novos recursos microbianos antárticos produtores de ligninases.

Cabe destacar que a presente proposta de projeto se encaixa no Programa 2 “Biocomplexidade dos ecossistemas Antárticos, suas conexões com a América do Sul e as mudanças climáticas” proposto no documento “Ciência Antártica para o

Brasil - plano de ação 2013-2022” elaborado pelo Comitê Nacional de Pesquisas Antárticas (CONAPA) do Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). O plano de ação traz como missão “Desenvolver programa de pesquisa em excelência sobre a região antártica e suas conexões com o oceano Atlântico e a América do Sul, contribuindo para assegurar a permanência do Brasil como membro consultivo do tratado da Antártica”. Para tanto, cinco programas de pesquisa foram propostos visando investigar questões científicas de relevância regional e/ou global e que interagem entre si. O atendimento aos objetivos desses programas poderá levar ao aprimoramento da qualidade da produção intelectual relacionada aos estudos brasileiros da Antártica, adquirindo no processo um maior protagonismo nos fóruns antárticos internacionais, em especial no SCAR (Scientific Committee on Antarctic Research).

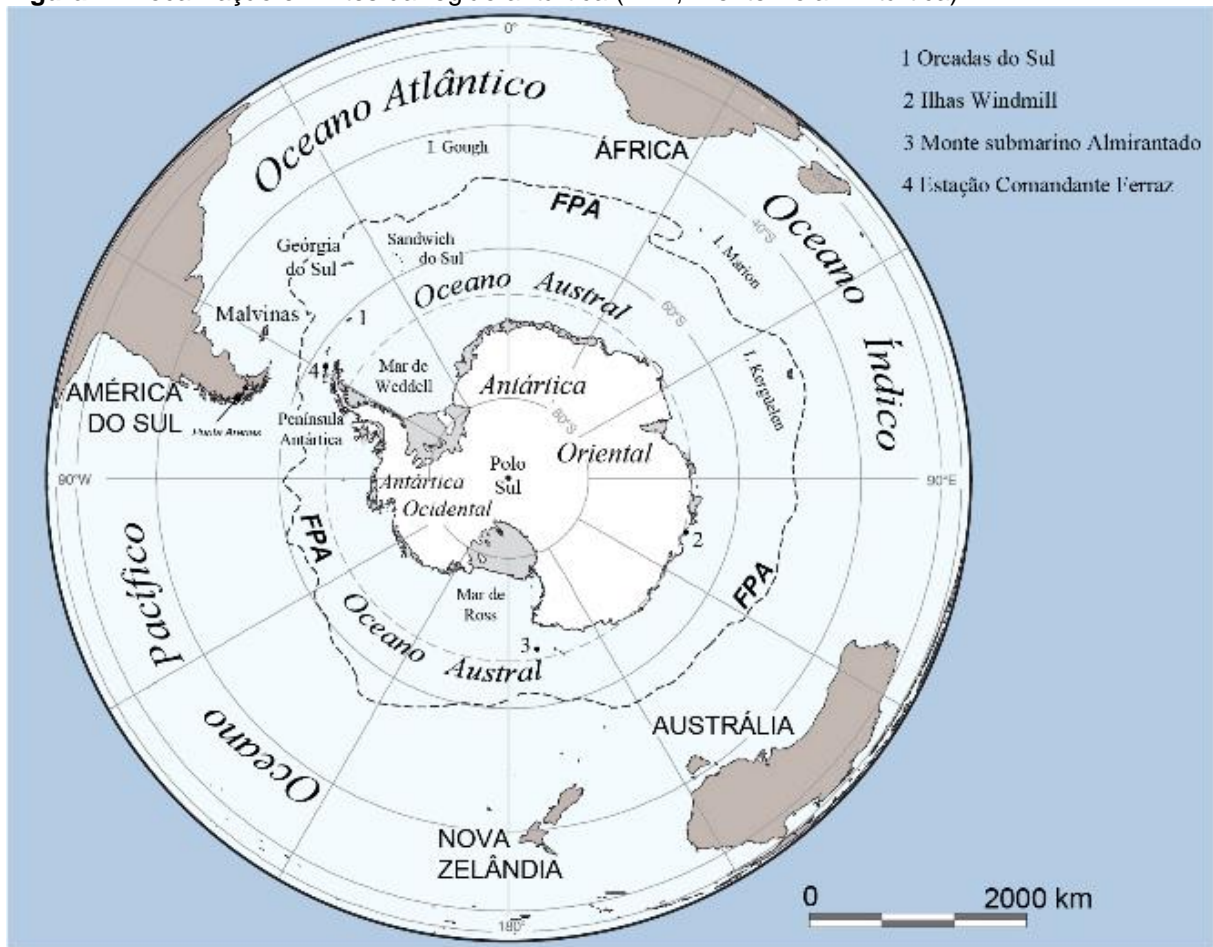
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 A região antártica

No dia primeiro de dezembro de 1959, doze nações (África do Sul, Argentina, Austrália, Bélgica, Chile, Estados Unidos, França, Japão, Nova Zelândia, Noruega, Reino Unido e Rússia) assinaram o Tratado Antártico, que entrou em vigor em 23 de junho de 1961. Com o tratado, a região antártica passou a ser uma reserva natural dedicada exclusivamente à paz, à liberdade para a pesquisa científica e à cooperação internacional, e sua militarização, bem como sua utilização para explosões nucleares e depósito de dejetos radioativos são terminantemente proibidos. Desde 1959, o número de países signatários do tratado aumentou, e em 2011 já eram 49 países participantes (BRITISH ANTARCTIC SURVEY, 2012). O Brasil aderiu ao tratado em 16 de maio de 1975, e passou a ser membro consultivo, com poder de voto em reuniões, em 27 de setembro de 1983 (ANTARCTIC TREATY SECRETARIAT, 2011).

A região antártica localiza-se abaixo do paralelo 60 °S e pode ser dividida em três sub-regiões: a Antártica continental, a Antártica marítima e a zona subantártica (Figura 1). A Antártica continental, um domo coberto de gelo que chega a atingir alturas de até 4.250 metros, impõe as mais rigorosas condições de vida. É neste continente que se encontram as menores temperaturas registradas na terra. Sua vegetação inclui algas, líquens e musgos. A Antártica marítima, zona que abrange a península Antártica e ilhas vizinhas (South Orkney, South Shetlands e ilha South Sandwich), apresenta clima mais ameno do que no continente, maior precipitação, e possui verões mais longos e mais quentes do que o continente. Nesta zona se desenvolvem, além de algas, líquens e musgos, duas espécies de angiospermas. Por fim, a zona subantártica, incluindo ilhas espalhadas por uma vasta extensão de oceano, suficientemente ao norte para ser livre de blocos de gelo durante o inverno, é conseqüentemente mais quente durante todo o ano (BÖLTER et al., 2002).

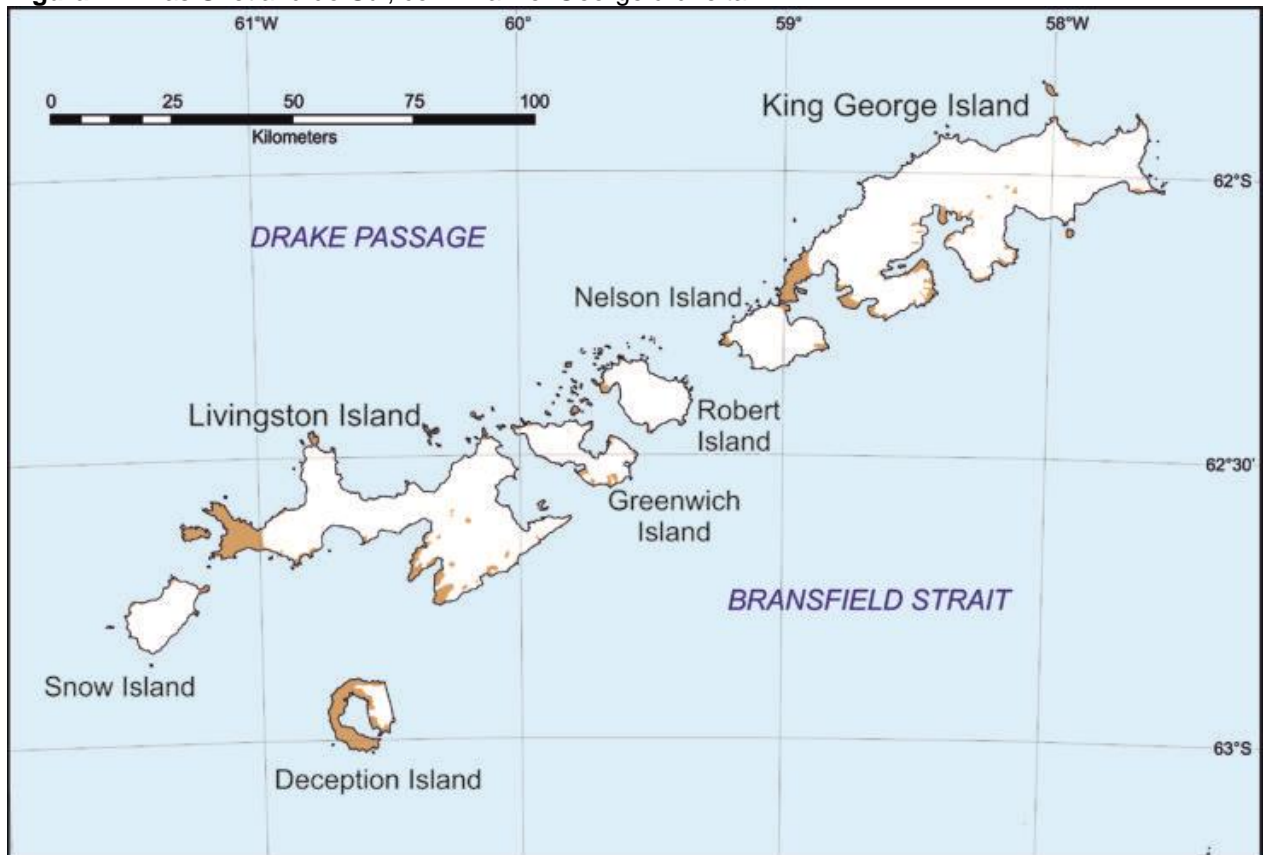
**Figura 1** - Localização e limites da região antártica (FPA, Frente Polar Antártica).



Fonte: Simões, 2011.

A Baía do Almirantado (região onde foram coletadas as amostras utilizadas no presente trabalho), está localizada na parte central da ilha Rei George. Esta ilha faz parte do arquipélago das Shetland do Sul (sendo a maior delas), que está situado a 130 km a noroeste da península Antártica, entre as latitudes  $61^{\circ}$  e  $63^{\circ}30'$  S e longitudes  $53^{\circ}55'$  e  $62^{\circ}50'$  W (Figura 2).

**Figura 2** - Ilhas Shetland do Sul, com ilha Rei George à direita.



Fonte: British Antarctic Survey, 2015

A ilha Rei George possui uma área de 1250 km<sup>2</sup>, entre as coordenadas 61°50' e 62°15' S e 57°30' e 59°00' W (NETO, 2001). A Baía do Almirantado configura uma “Área Antártica Especialmente Gerenciada” (Figura 3). O objetivo específico dessas áreas é de auxiliar no planejamento e coordenação das atividades científicas e logísticas, evitar possíveis conflitos, melhorar a cooperação entre os países que atuam na mesma área geográfica e minimizar os impactos ambientais (SCIENTIFIC COMMITTEE ON ANTARCTIC RESEARCH, 1993).



exclusivamente formadas por micro-organismos, como nos solos minerais dos desertos frios e em porções mais profundas de gelo glacial (VINCENT, 2000). Os micro-organismos são o componente dominante da biomassa em ecossistemas antárticos (POINTING et al., 2009; WYNN-WILLIAMS, 1996), desempenhando um papel fundamental no transporte de energia e matéria orgânica e muitas vezes constituem a base do funcionamento dos ecossistemas terrestres e aquáticos na Antártica (CLARKE, 2003). Apesar disso, pouco é estudado sobre o papel dos fungos de solo antártico como decompositores.

As comunidades microbianas antárticas são tema de grande interesse por estarem sujeitas a longos períodos de isolamento com baixos níveis de perturbação. Entretanto, pouco é conhecido sobre os níveis de endemidade dentro dos diversos grupos microbianos na Antártica, ou mesmo da presença ou adaptações dentro da população de espécies invasoras. Estudos de diversidade microbiana da Antártica ainda são escassos (COWAN et al., 2014), e a diversidade microbiana nos solos antárticos é pouco documentada (TEIXEIRA et al., 2010). Os fungos ocupam diferentes nichos ecológicos na Antártica, e seu significado nesses nichos é pouco compreendido (BRIDGE; SPOONER, 2012).

Os pólos terrestres estão vivenciando uma rápida mudança climática que possui implicações significativas, porém potencialmente diferentes, para a diversidade do solo e o funcionamento do ecossistema nos respectivos pólos de cada hemisfério. Na Antártica, as mudanças climáticas resultarão potencialmente na perda de ecossistemas microbianos de solos, causada por mudanças na temperatura e precipitação, bem como mudanças a longo prazo nos perfis edáficos (SCHUUR et al., 2008).

O conhecimento da diversidade fúngica e o potencial biotecnológico destes micro-organismos são de extrema relevância e estratégicos para o conhecimento da dinâmica dos ecossistemas antárticos e para a obtenção de compostos naturais de valor agregado (RAGUÉNÈS et al., 1997). Apesar disso, poucas pesquisas sobre bioprospecção de novos compostos têm focado em fungos presentes em ambientes únicos e/ou pouco explorados. Sendo assim, a busca por fungos extremófilos na Antártica pode representar uma estratégia para encontrar novas rotas metabólicas em eucariotos, e conseqüentemente, novos compostos naturais, incluindo os bioativos (SANTIAGO et al., 2012).

Em toda a região antártica ocorrem somente duas espécies de plantas vasculares (Figura 4; PEAT et al., 2007), *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl (Caryophyllaceae) e *Deschampsia antarctica* E. Desv. (Poaceae). Sua ocorrência é restrita à Antártica marítima, onde as temperaturas são mais quentes e há maior disponibilidade de água em comparação à Antártica continental (VICTORIA et al., 2013). Dado que a cobertura vegetal normalmente influencia a diversidade microbiana no solo, para entender e conhecer essa diversidade na região da Antártica marítima, faz-se necessário coletar informações sobre a diversidade associada ao solo adjacente às raízes das duas únicas plantas vasculares autóctones (TEIXEIRA et al., 2010).

**Figura 4** - Plantas vasculares da Antártica: *Deschampsia antarctica* (A) e *Colobanthus quitensis* (B).



Fonte: Elaborado pela autora.

Existem alguns estudos sobre fungos endofíticos de *D. antarctica* e *C. quitensis* (MÖLLER; DREYFUSS, 1996; ROSA et al., 2009; ROSA et al., 2010; VAZ et al., 2011; UPSON et al., 2009), porém, poucos relatam a diversidade microbiana presente em solos associados às suas raízes (GONÇALVES et al., 2015; VAZ et al. 2011 – rizosfera de *D. antarctica*) com predominância para a diversidade de bactérias (BARRIENTOS-DÍAZ et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2013;) e fungos associados à raiz das duas plantas (UPSON, 2009).

Fungos filamentosos têm sido isolados de vários substratos na antártica, como macroalgas (GODINHO et al., 2013; FURBINO et al., 2014), solos (ARENZ et



al., 2006; CONNELL et al., 2006; COWAN et al., 2014; GODINHO et al., 2015), solos ornitogênicos (GONÇALVES et al., 2015), madeira (ARENZ et al., 2006), musgos (MCRAE et al., 1999; TOSI et al., 2002), neve (DE MENEZES et al., 2017), folhas de *C. quitensis* e *D. antarctica* (SANTIAGO et al., 2012), fundo de lagos (BRUNATI et al., 2009), sedimentos marinhos (INFORSATO, 2017), ninhos de skuas, petréis e penguins de Adélia (MCRAE et al., 1999), líquens (SANTIAGO et al., 2015), salpa e ossos de baleia (NOBRE, 2012), água do mar (VAZ et al., 2011) e esponjas (HENRÍQUEZ et al., 2014).

Os fungos filamentosos da Antártica são em sua maioria ascomicetos, e os gêneros *Pseudogymnoascus* e *Mortierella* têm sido frequentemente reportados (BRUNATI et al., 2009; GODINHO et al., 2013; DING et al., 2016; GODINHO et al., 2015; TSUJI et al., 2016; ARENZ ; BLANCHETTE, 2011). Outros gêneros reportados no ambiente antártico são *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Arthrobotrys*, *Phoma*, *Hormoconis*, *Dacrymyces*, *Exidia*, *Chaetomium*, *Stemphylium*, *Curvularia*, *Memnoniella*, *Paecilomyces*, *Alternaria*, *Beauveria*, *Botrytis*, *Thelebolus*, *Antarctomyces*, *Engyodontium*, *Eurotium*, *Cadophora*, *Peniphora*, *Trametes* e *Cosmospora* (SINGH et al., 2006; SHARMA et al., 2000; ARENZ et al., 2006; BRUNATI et al., 2009; GODINHO et al., 2013; GONÇALVES et al., 2015).

Quanto às leveduras, ao contrário dos fungos filamentosos, a maioria das que ocorre na Antártica são basidiomicetos. As leveduras também têm sido isoladas de uma vasta gama de substratos, como fundo de lagos (BRUNATI et al, 2009), solos (ARENZ et al, 2006; THOMAS-HALL et al, 2010; ARENZ; BLANCHETTE, 2011; CARRASCO et al, 2012; VIANNA, 2016), lagos subglaciais (PETIT et al, 2005), macroalgas (FURBINO et al, 2014; DUARTE et al, 2016; GODINHO et al, 2013), musgos (TOSI et al, 2002), folhas de *D. antarctica* e *C. quitensis* (SANTIAGO et al, 2017), líquens (SANTIAGO et al, 2015; DUARTE et al, 2016), esponjas (DUARTE et al, 2013; VACA et al, 2013) e água do mar (VAZ et al, 2011).

Um gênero de leveduras muito comumente reportado na Antártica é *Cryptococcus* (ARENZ et al., 2006, BUZZINI et al., 2012; CONNELL et al., 2008; FURBINO et al, 2014; LUDLEY; ROBINSON, 2008; SANTIAGO et al, 2017). Outros gêneros reportados são *Leucosporidium*, *Debaryomyces*, *Dipodascus*, *Malassezia*, *Sporidiobolus*, *Rhodotorula*, *Bullera*, *Candida*, *Sporobolomyces*, *Holtermanniella*,

*Tremella*, *Cystofilobasidium*, *Guehomyces*, *Metschnikowia*, *Meyerozyma* e *Mrakia* (ARENZ et al., 2006; DI MENNA, 1960; DUARTE et al, 2013; MARÍA et al., 2005; RAY et al., 1989; TURKIEWICZ et al., 2005).

Em estudos recentes realizados pelo grupo de pesquisa da Profa. Lara Sette, fungos filamentosos representantes dos gêneros *Acremonium*, *Cadophora*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Cosmospora*, *Pseudogymnoascus*, *Trichoderma*, *Oidiodendron*, *Penicillium*, *Pseudeurotium* e *Thelebolus* (BARATO, 2014), e leveduras dos gêneros *Bulleromyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Cystofilobasidium*, *Guehomyces*, *Leucosporidium*, *Malassezia*, e *Rhodotorula* (VIANNA, 2016) foram recuperados de amostras marinhas e terrestres da Antártica.

### **2.3 Aplicação biotecnológica de micro-organismos da Antártica**

A exploração da diversidade biológica de forma sustentável pode resultar em benefícios para a humanidade, incluindo avanços no tratamento de doenças, desenvolvimento de novos produtos e processos, melhoria de alimentos, recuperação e tratamento de áreas impactadas por compostos poluentes, entre outros.

Ambientes extremos como o da Antártica podem conter micro-organismos de importância biotecnológica, visto que tais organismos estão adaptados ao frio e são fontes potenciais de enzimas com atividade em temperaturas brandas (JOSEPH et al., 2007). A aplicação destas enzimas pode acarretar economia para o setor industrial devido à diminuição do consumo de energia elétrica (GERDAY et al., 2000).

A descoberta de novos produtos a partir de micro-organismos psicrófilos/psicrótróficos pode movimentar a bioeconomia. As enzimas estudadas no presente projeto possuem aplicações potenciais nos setores alimentício, químico, agrícola, têxtil, papelero, ambiental e de biocombustíveis.

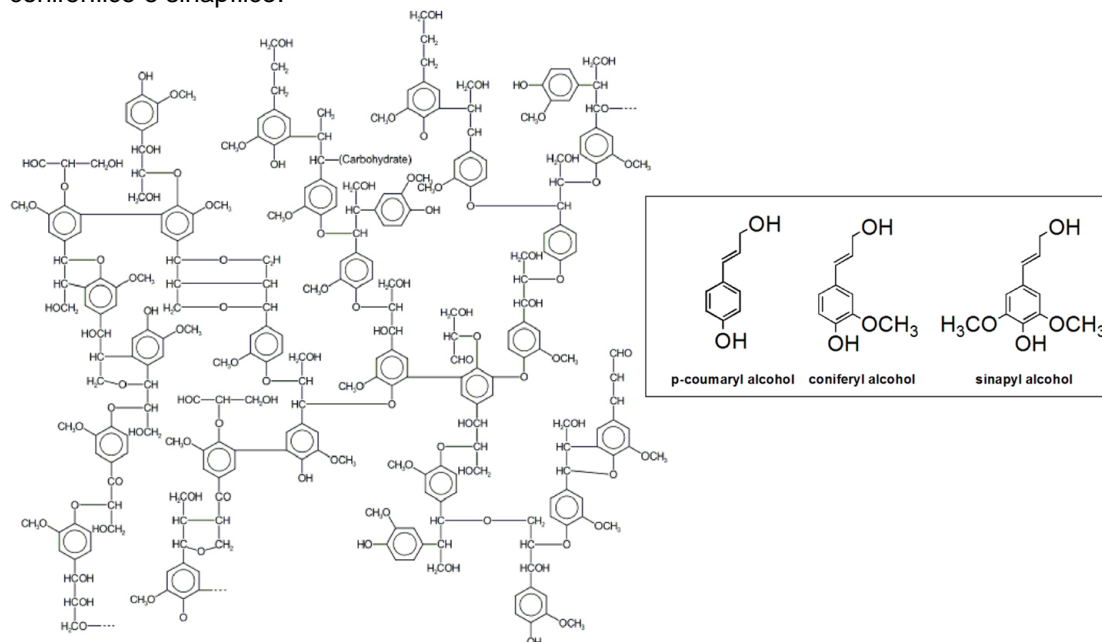
### **2.4 Ligninases**

As ligninases ou enzimas ligninolíticas pertencem ao grupo das oxidases e peroxidases e são responsáveis pela quebra das estruturas aromáticas e das

ligações entre as unidades básicas da lignina (Figura 5). Dentre as enzimas ligninolíticas, três se destacam pela participação na degradação da lignina e pela aplicação biotecnológica em diversos setores industriais (MACIEL et al., 2010): lignina peroxidase (EC 1.11.1.14 – LiP), manganês peroxidase (EC 1.11.1.13 - MnP) e lacase (EC 1.10.3.2 - Lac). Em adição, por não serem específicas, estas enzimas são capazes de oxidar uma ampla variedade de poluentes ambientais de difícil degradação, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), os corantes têxteis e os agrotóxicos (SETTE et al., 2008).

As lignina peroxidases podem ser usadas na indústria de alimentos como fontes de compostos aromáticos naturais e para a produção de vanilina; na indústria papelreira como descolorantes da polpa de celulose e no tratamento de efluentes de fábricas; na indústria têxtil como descolorante de corantes; podem ser utilizadas para a síntese de compostos funcionais na indústria farmacêutica e no desenvolvimento de produtos cosméticos (MACIEL et al., 2010).

**Figura 5** - Estrutura de uma molécula de lignina e suas moléculas precursoras (álcoois p-cumarílico, coniferílico e sinapílico).



Fonte: Christopher et al, 2014.

As manganês peroxidases podem ser utilizadas na produção de aromas naturais aromáticos, no branqueamento da polpa de celulose, na degradação de corantes, na biorremediação de DDT, PCB e TNT, na polimerização de acrilamida, entre outras aplicações na área de nanotecnologia (MACIEL et al., 2010).

As lacases apresentam uma vasta gama de aplicações industriais, como na indústria alimentícia, por sua capacidade de polimerizar moléculas, sendo utilizada para melhorar ou modificar a aparência da cor de alimentos ou bebidas, e pela eliminação de compostos fenólicos indesejados, responsáveis por escurecer sucos de frutas. Também possuem papel importante na indústria papeleira, por ser capaz de despolimerizar a lignina e deslignificar a polpa da madeira no processo de biopolpação. Da mesma forma, as lacases vêm sendo utilizadas no setor farmacêutico, participando da síntese de anestésicos, sedativos e anti-inflamatórios (PANNU KAPOOR, 2014). Além das aplicações citadas anteriormente, as lacases são igualmente empregadas na degradação de xenobióticos, descoloração de corantes, tratamento de efluentes e como biosensores (VISWANATH et al., 2014).

## **2.5 Enzimas adaptadas ao frio**

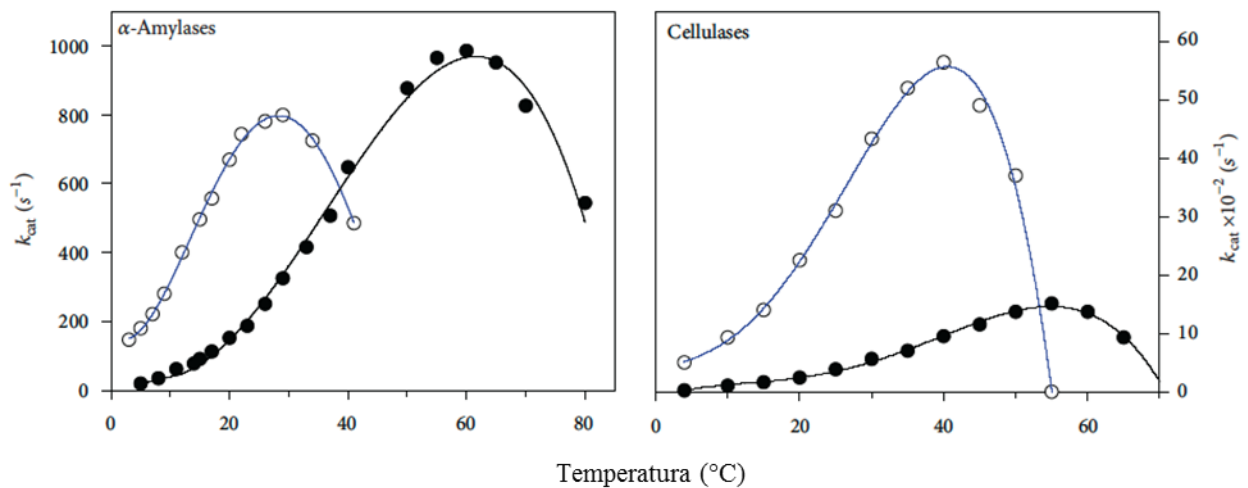
Baixas temperaturas inibem fortemente as taxas das reações químicas, e o principal desafio enfrentado pelos micro-organismos psicrófilos é manter uma taxa apropriada para reações catalizadas por enzimas que estão envolvidas em processos celulares essenciais. Isso é alcançado através da síntese de enzimas ativas a baixas temperaturas, chamadas de enzimas psicrófilas (GERDAY et al., 1997), porém termolábeis, com uma atividade até dez vezes superior em baixas temperaturas em comparação com as suas homólogas mesófilas (Figura 6). Essa é a principal adaptação fisiológica em nível enzimático que esses micro-organismos apresentam (FELLER; GERDAY, 2003).

Estudos comparativos de vários modelos de proteínas e estruturas cristalinas mostraram que as enzimas psicrófilas tendem a exibir uma atenuação da força e do número de fatores estruturais conhecidos para estabilizar as moléculas de proteína. As substituições de aminoácidos acarretam mudanças nas características estruturais que ocorrem em enzimas adaptadas a baixas temperaturas, como diminuições nos resíduos de prolina, interações aromáticas e pares de íons, uma redistribuição de resíduos que facilitam a interação com o solvente e a redução de aminoácidos hidrofóbicos (HUSTON, 2008).

Muitas enzimas psicrófilas são caracterizadas por uma flexibilidade aumentada de pelo menos uma parte de sua estrutura, permitindo a alta atividade a

baixas temperaturas (COLLINS et al., 2008). A atividade específica das enzimas psicrófilas é maior do que a de seus pares mesófilos a temperaturas entre 0-30°C (GERDAY et al., 2000). Em enzimas psicrófilas, a cavidade catalítica é geralmente maior e mais acessível aos ligantes do que em enzimas mesófilas, o que possibilita a acomodação do substrato a um baixo custo energético, e também facilita a liberação e a saída dos produtos da reação (FELLER; GERDAY, 2003).

**Figura 6** - Atividade dependente da temperatura. Atividade de enzimas psicrófilas (pontos vazios e linhas azuis) e mesófilas (pontos cheios) verificada em diferentes temperaturas ilustra uma das principais propriedades das enzimas adaptadas a baixas temperaturas: a alta atividade específica a baixas temperaturas.



Fonte: Feller; Gerday, 2013.

Essas propriedades fazem com que as enzimas psicrófilas possuam alto potencial de aplicação biotecnológico. Como exemplos pode-se citar a  $\alpha$ -amilase, usada na fabricação de pães e cerveja, têxteis e detergentes, as celulases e as ligninases, usadas na indústria têxtil e na indústria de polpa e papel, a  $\beta$ -galactosidase, que elimina a lactose do leite, lipases, proteases e xilanases (CAVICCHIOLI et al., 2002).

Além de apresentar potencial biotecnológico, as enzimas adaptadas ao frio funcionam em ambientes frios e durante o inverno, possibilitando um maior rendimento nas reações e minimizando reações químicas indesejáveis que podem ocorrer a altas temperaturas (FELLER, 2013).

## 2.6 O solo como ambiente para a vida microbiana

O solo constitui um sistema biológico dinâmico e é considerado o principal reservatório da biodiversidade. Nele é possível observar uma estreita rede de inter-relações dos organismos presentes, sendo essa rede essencial para a manutenção da ciclagem de nutrientes neste ambiente complexo, o qual apresenta características que o tornam único na biosfera (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

O solo se estrutura de maneira descontínua e heterogênea, o que possibilita a ocorrência de micro-habitats que variam entre si em função de suas características físico-químicas e de sua disponibilidade de nutrientes. Essa variação também pode ser temporal e espacial. A formação desses micro-habitats se encontra associada com a formação de agregados de solo. Estes agregados são constituídos por diferentes proporções de areia, argila e silte, que agem como um suporte físico para a aderência microbiana e propiciam diferentes condições de aeração e disponibilidade de nutrientes aos micro-organismos. Por estas razões há a coexistência de milhares de micro-organismos nessas regiões, os quais apresentam metabolismos diversos (CARDOSO; ANDREOTE, 2016).

A heterogeneidade do solo também é vista quanto à disponibilidade de nutrientes. Em geral, o solo é um ambiente oligotrófico, porém apresenta “hot spots”, zonas que possuem uma alta atividade biológica devido à presença de fontes nutricionais biodisponíveis. Exemplos de “hot spots” do solo são as regiões de acúmulo de matéria orgânica e as frações do solo mais próximas à raiz das plantas, conhecidas como rizosfera (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). A rizosfera é a porção do solo onde processos mediados por micro-organismos estão sob a influência do sistema radicular da planta; solo a dois milímetros de distância da raiz (informação verbal)<sup>1</sup>.

As raízes e o solo proximalmente associado a elas formam um ambiente distinto do solo e propiciam um microhabitat onde micro-organismos do solo e das raízes se sobrepõem (JUMPPONEN et al., 2003). O conhecido e bem estudado “efeito rizosfera” descreve o fenômeno no qual, em comparação com o solo (“bulk soil”), a atividade e a biomassa microbianas sofrem um aumento como resultado da

---

<sup>1</sup> Informação fornecida pelo Dr. Fernando Andreote, membro da banca de defesa de dissertação da autora.

liberação de exsudatos pelas raízes das plantas (Quadro 1; SØRENSEN, 1997; RAAIJMAKERS et al., 2009). Dessa forma, a quantidade de micro-organismos na rizosfera e no solo associado à raiz pode ser mais de mil vezes maior que no solo sem presença radicular (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007).

A maioria dos micro-organismos da rizosfera fazem parte de uma complexa cadeia alimentar que utiliza a grande quantidade de nutrientes liberada pela planta. Dado que esses rizodepósitos são uma importante força motriz na regulação da diversidade microbiana e sua atividade nas raízes das plantas, Cook et al. (1995) postularam que as plantas possivelmente modulam o microbioma da rizosfera em seu benefício, seletivamente estimulando micro-organismos com características que são benéficas para o crescimento e a saúde da planta (MENDES et al., 2013). Outros autores argumentam que os exsudatos são passivamente liberados pelas plantas (DENNIS et al., 2010; JONES et al., 2009).

As interações que ocorrem na rizosfera podem ser de natureza comensal, passando pelas associações proto cooperativas e amensais, até as simbioses, que podem ser de natureza mutualista ou parasita. Uma das associações simbióticas mais estudadas entre plantas e micro-organismos são as micorrizas, associações mutualísticas que se estabelecem quando o fungo penetra no sistema radicular, invadindo o córtex inter e/ou intracelularmente, estabelecendo relações tróficas com a planta (ANTONIOLLI; KAMINSKI, 1991). Existem 3 principais tipos de micorrizas: micorrizas arbusculares (formadas por fungos do filo Glomeromycota), ectomicorrizas e micorrizas ericóides (formadas por fungos dos filos Ascomycota e Basidiomycota) (BERBARA et al., 2006; SOUZA et al., 2004). Dessa maneira, várias interações ecofisiológicas ocorrem no ambiente da rizosfera e o que se observa como crescimento e produção vegetal é o resultado dessas interações, favorecendo ou prejudicando a plena expressão do potencial genético da planta (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007)

**Quadro 1** - Compostos orgânicos, inorgânicos e enzimas de origem vegetal encontrados na rizosfera de várias espécies de plantas.

Ácidos orgânicos	Açúcares	Vitaminas	Purinas, nucleosídeos	Enzimas	Aminoácidos	Íons inorgânicos e gases
cítrico	glicose	biotina	adenina	fosfatases	todos os 20 aminoácidos	HCO <sub>3</sub>
oxálico	frutose	tiamina	guanina	ácidas e alcalinas		OH <sup>-</sup>
málico	galactose	niacina	citidina			H <sup>+</sup>
fumárico	maltose	pantotenato	uridina	invertase		CO <sub>2</sub>
succínico	ribose	riboflavina		amilase		H <sub>2</sub>
acético	xilose			protease		
butírico	ramnose					
valérico	arabinose					
glicólico	rafinose					
pirúvico	desoxirribose					
fórmico	oligossacarídeos					
aconítico						
lático						
pirúvico						
glutárico						
malônico						
aldônico						
eritrônico						
tetrônico						

Fonte: Cardoso; Nogueira, 2007.

A rizosfera, por abrigar uma grande quantidade de micro-organismos, possui um potencial biotecnológico muito grande, devido aos mais diversos tipos de metabolismo que esses micro-organismos apresentam. Alguns representantes da microbiota da rizosfera de várias plantas podem atuar como agentes de controle biológico, como o fungos do gênero *Trichoderma*, produzindo enzimas e metabólitos secundários de interesse. Existem também os micro-organismos que atuam como promotores de crescimento vegetal, como por exemplo bactérias do gênero *Pseudomonas* e fungos do gênero *Trichoderma*, além de linhagens não patogênicas de *Fusarium oxysporum*. Estes, por atuarem como biofertilizantes, oferecem uma oportunidade de substituir fertilizantes químicos e pesticidas (HALDAR; SENGUPTA, 2015).



### **3 OBJETIVOS**

Avaliar as comunidades de fungos presentes em diferentes amostras de solos (solos e solos associados às raízes de *C. quitensis* e *D. antarctica*) da Antártica e acessar seu potencial biotecnológico.

#### **3.1 Objetivos específicos**

##### *3.1.1 Avaliação da diversidade de fungos filamentosos e leveduras*

- a) Caracterizar a diversidade e a estrutura das comunidades de fungos dos solos antárticos;
- b) Correlacionar as características físico-químicas dos solos com a diversidade das amostras.

##### *3.1.2 Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico*

- a) Seleção de fungos filamentosos e leveduras produtores de lacase, manganês-peroxidase e/ou lignina-peroxidase.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Avaliação da diversidade de fungos filamentosos e leveduras

#### 4.1.1 Isolamento de micro-organismos de solos antárticos

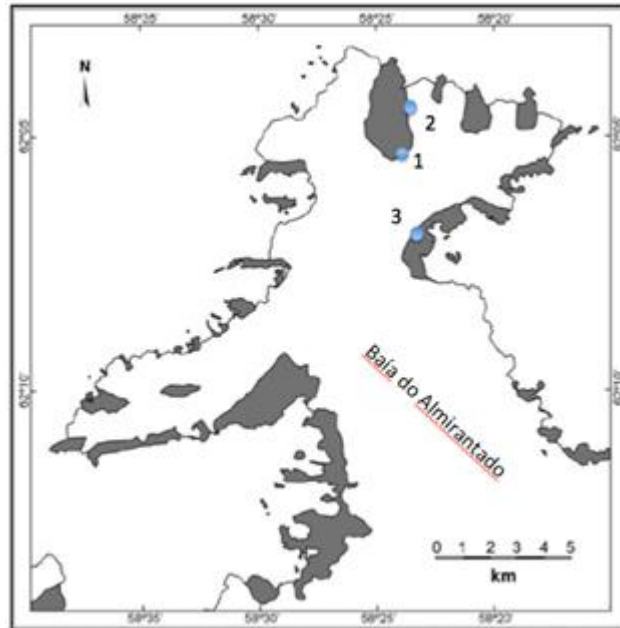
Foram isolados e estudados micro-organismos provenientes de amostras de solo da Antártica e solo associado às raízes das plantas *Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica*. As coletas foram feitas pela Profa. Dra. Lara Sette em janeiro de 2015, durante a fase IV da OPERANTAR XXXIII na região da Baía do Almirantado, Ilha Rei George (Tabela 1; Figura 7). Foram coletadas três amostras de cada ponto de coleta (5 cm de profundidade para as amostras de solo; raiz com aproximadamente 5 cm de solo agregado para as duas plantas). Para os solos associados às raízes das plantas, foram coletadas três plantas de cada espécie (*Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica*) por local de coleta. Todas as amostras foram colocadas em sacos plásticos estéreis e armazenadas sob refrigeração (4°C) durante dois meses até o processamento das mesmas para o isolamento. Para esta etapa, para cada local de coleta as três amostras foram misturadas entre si para formar amostras compostas.

**Tabela 1** - Pontos de coleta das amostras de solo e solo associado às raízes de *C. quitensis* e *D. antarctica* durante a fase IV da OPERANTAR XXXIII

Local da coleta	Data	Tipo de amostra	Coordenada geográfica	Temperatura (°C)
Yellow Point (Amostra 1)	17/01/15	Solo amarelado	62° 04.479'S; 58° 23.726'W	3,6
Yellow Point (Amostra 2)	17/01/15	Solo escuro	62° 04.479'S; 58° 23.726'W	2,5
Punta Hennequin (Amostra 3)	21/01/15	Solo associado à raiz de <i>Colobanthus quitensis</i>	62° 07.216'S; 58° 23.677'W	3,6
Punta Hennequin (Amostra 4)	21/01/15	Solo associado à raiz de <i>Deschampsia antarctica</i>	62° 07.216'S; 58° 23.677'W	3,5
Punta Plaza (Amostra 5)	18/01/15	Solo associado à raiz de <i>Deschampsia antarctica</i>	62° 05.363'S; 58° 24.691'W	6,4
Punta Plaza (Amostra 6)	18/01/15	Solo associado à raiz de <i>Colobanthus quitensis</i>	62° 05.363'S; 58° 24.691'W	6,3

Fonte: Elaborado pela autora.

**Figura 7** - Locais de coleta das amostras durante a fase IV da OPERANTAR XXXIII (verão 2015). Os pontos 1, 2 e 3 representam os locais de coleta. 1-Punta Plaza, 2-Yellow Point e 3-Punta Hennequin.



Fonte: Adaptado de Simões et al. (2004).

Para o isolamento foram adicionados, separadamente, 12,5 gramas de solo e 6,25 gramas de solo associado às raízes das duas plantas em *Erlenmeyers* contendo 112,5 mL de meio mínimo de Savitha ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  7  $\text{g.L}^{-1}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2  $\text{g.L}^{-1}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1,5  $\text{g.L}^{-1}$ , extrato de levedura 1  $\text{g.L}^{-1}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,1  $\text{g.L}^{-1}$ ,  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0,008  $\text{g.L}^{-1}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,0001  $\text{g.L}^{-1}$ , tartarato de amônio 1,5  $\text{g.L}^{-1}$ ). Como fonte extra de carbono foram adicionados às amostras 0,2% de palha de arroz e bagaço de cana esterilizados, em experimentos realizados separadamente. Os doze *Erlenmeyers* (seis contendo as seis amostras com bagaço de cana e seis contendo as seis amostras com palha de arroz) foram colocados sob agitação em shaker a 140 rpm e incubados em duas temperaturas diferentes, 5°C e 15°C, durante uma semana. Após esse período, 200  $\mu\text{L}$  de cada amostra, com diluições de  $10^{-1}$  e  $10^{-3}$ , foram utilizados para isolamento em placas de Petri pelo método de espalhamento.

Foram utilizados quatro meios de cultura sólidos: MA2%: extrato de malte 20  $\text{g.L}^{-1}$ , ágar 15  $\text{g.L}^{-1}$ ; MA2% 10x diluído: extrato de malte 2  $\text{g.L}^{-1}$ , ágar 15  $\text{g.L}^{-1}$ ; BSA (*Basidiomycete-select agar*) (adaptado de ARENZ et al., 2006): extrato de malte 15  $\text{g.L}^{-1}$ , extrato de levedura 2  $\text{g.L}^{-1}$ , ágar 15  $\text{g.L}^{-1}$ , ácido láctico 2  $\text{g.L}^{-1}$  (adicionado após autoclavagem) e B&K: glicose 10  $\text{g.L}^{-1}$ , peptona 2  $\text{g.L}^{-1}$ , extrato de levedura 1  $\text{g.L}^{-1}$ , ágar 20  $\text{g.L}^{-1}$ , acrescido de guaiacol 4mM após autoclavagem. Foram adicionados estreptomicina (0,01  $\text{g.L}^{-1}$ ) e cloranfenicol (0,1  $\text{g.L}^{-1}$ ) a todos os meios, após a

autoclavagem dos mesmos. O período de incubação das placas foi de dois meses para as duas temperaturas acima mencionadas.

Os isolados obtidos foram purificados e preservados utilizando dois métodos distintos: ultracongelamento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  (em glicerol 10%) e Castellani (preservação em água esterilizada a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

#### *4.1.2 Caracterização físico-química das amostras de solos*

As amostras coletadas de solos e solos associados às raízes das duas plantas foram submetidas à análises de pH, granulometria e mineralogia em colaboração com a Prof. Dra. Nádia Regina do Nascimento (Laboratório de Análises de Formações Superficiais (LAFS) IGCE/UNESP de Rio Claro) e a Prof. Dra. Célia Regina Montes (Núcleo de Pesquisa em Geoquímica e Geofísica da Litosfera – NUPEGEL, ESALQ/USP, Piracicaba).

##### 4.1.2.1 Granulometria

O método da pipeta de Robinson adaptado por Camargo et. al. (2009) foi utilizado para as análises de granulometria. Os seguintes intervalos granulométricos foram considerados: 2-0,05 mm – areia; 0,05-0,002 mm – silte, e menor que 0,002 mm – argila. Para remover a matéria orgânica presente nas amostras, foi realizado um pré-tratamento com peróxido de hidrogênio em banho maria a  $40^{\circ}\text{C}$ . A classe textural de cada amostra foi determinada de acordo com o triângulo proposto pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) (CAMARGO et al., 2009).

##### 4.1.2.2 Determinação do teor de ferro e alumínio

Três métodos distintos foram utilizados para a determinação dos teores de ferro (Fe) e alumínio (Al) nos solos amostrados: método do citrato-ditionito-bicarbonato (CDB), método do pirofosfato de sódio e método do oxalato de amônia.

O método do citrato-ditionito-bicarbonato extrai o ferro e alumínio ativos ou livres no solo, ou seja, óxidos de ferro/alumínio cristalinos e de baixa cristalinidade e/ou não cristalinos (WOLTER, 2010). Para realizar a determinação dos teores de

ferro e alumínio por este método, o reativo da extração foi preparado através da dissolução de 78,42g de tricitrato de sódio e 9,34g de bicarbonato de sódio em 1L de água miliQ. Foram colocados 50 mL de reativo e 1g de solo previamente triturado em tubos tipo *falcon*. Os tubos foram deixados em banho maria a 80°C por 15 minutos e agitados manualmente em intervalos de 5 minutos. Seguidamente, um grama de ditionito de sódio foi adicionado e os tubos foram novamente deixados em banho maria a 80°C por 30 minutos (agitados manualmente em intervalos de 5 minutos). Subsequentemente, a centrifugação dos tubos foi realizada durante 6 minutos a 4200 rpm. O sobrenadante foi filtrado e transferido para um balão volumétrico de 100 mL. Os resíduos que ficaram no fundo dos tubos foram lavados com 25 mL de água miliQ, e estes foram novamente centrifugados (6 minutos, 4.200 rpm), filtrados e transferidos para o balão volumétrico. O volume do balão foi ajustado para 100 mL. As extrações foram armazenadas em tubos plásticos opacos sob refrigeração.

O método do pirofosfato de sódio extrai preferencialmente os óxidos de Fe e Al ligados à matéria orgânica presente no solo (VENDRAME et al., 2011). O reativo dessa extração foi preparado através da dissolução de 44,6g de pirofosfato de sódio em 1L de água miliQ. Foram adicionados 0,5g de solo triturado em tubo (envolto por papel alumínio) contendo 50 mL do reativo e este foi colocado sob mesa agitadora por 12 horas. Após a agitação, a solução foi centrifugada a 18.000 rpm por 20 minutos, filtrada e transferida para um balão volumétrico de 100 mL. Vinte e cinco mililitros de água miliQ foram adicionados ao resíduo no fundo do tubo, e este foi novamente centrifugado (18.000 rpm, 20 minutos). Seguidamente, o sobrenadante foi filtrado e transferido para o balão volumétrico. Este teve seu volume completado até 100 mL com água miliQ. As extrações foram armazenadas em tubos plásticos opacos sob refrigeração.

O Fe e o Al que constituem óxidos de baixa cristalinidade são extraídos pelo método do oxalato de amônia (VENDRAME et al., 2011). Para essa extração, o reativo foi preparado através da dissolução de 16,11g de oxalato de amônia e 10,92g de ácido oxálico em 1L de água miliQ, formando uma solução de 0,2M. Um grama de solo foi adicionado em tubo tipo *falcon* contendo 40 mL da solução com o reativo. Como a reação era fotossensível, os tubos foram envoltos em papel alumínio e colocados sob mesa agitadora por 4 horas. Posteriormente, a solução foi

centrifugada (4.200 rpm, 6 minutos). As extrações foram armazenadas em tubos plásticos opacos sob refrigeração.

Os outros metais (cálcio (Ca), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr), magnésio (Mg), manganês (Mn), níquel (Ni) e zinco (Zn)) foram quantificados no laboratório da Prof. Dra. Célia Montes, utilizando espectrofotômetro por emissão óptica ICP – Horiba, modelo Ultima 2 ICP.

#### 4.1.3 Extração de DNA

A extração de DNA dos fungos filamentosos foi feita de acordo com Möller et al (1992) e Gerardo et al (2004), com modificações. Foram adicionados 500 µL de tampão de lise (TES, Tris 100mM, EDTA 10mM e SDS 2%, pH 8, esterilização por filtração) e duas espátulas cheias de esferas de vidro (425-600 µm) a microtubos tipo *ependorf*. Em seguida, as amostras de fungos filamentosos foram adicionadas aos microtubos, assim como 5 µL de proteinase K (20 mg.mL<sup>-1</sup>), e estes foram agitados em vórtex por 4 minutos.

Os microtubos foram incubados a 65°C durante 30 minutos, e em seguida agitados em vórtex por 4 minutos. Após esta etapa de lise, foram adicionados 140 µL de NaCl 5M e 64 µL de CTAB 10%. Os microtubos foram invertidos 25 vezes e incubados a 65°C por 60 minutos. Após o período de incubação, estes foram agitados em vórtex durante 4 minutos e centrifugados a 10.000 rpm por 30 segundos. Em seguida foram adicionados 600 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (proporção 24:1) e os microtubos foram invertidos 25 vezes.

Após a agitação, os microtubos foram centrifugados por 10 minutos, a 12.000 rpm, e o sobrenadante (aproximadamente 450 µL) recolhido. Foram adicionados 300 µL de isopropanol 100% gelado e 50 µL de acetato de sódio 3M, pH 5,2, e os microtubos novamente invertidos 25 vezes. Estes foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 minutos, e o isopropanol foi removido por inversão única. Subsequentemente, foram adicionados 600 µL de etanol 70% gelado e os microtubos centrifugados a 10.000 rpm durante 10 minutos. O etanol foi removido por inversão única e os tubos foram deixados em repouso para completa evaporação do etanol. O material foi ressuscitado com 30 µL do tampão TE (Tris 10 mM, EDTA 1 mM) e estocado a -20°C até a sua utilização.

O DNA dos isolados de leveduras foi extraído de acordo com protocolo modificado de Sampaio et al. (2001) e Almeida et al. (2005). Para tanto, 500 µL de solução de lise (Tris 50 mM, EDTA 50 mM, NaCl 250 mM, SDS 0,3%, pH 8, esterilização por filtração) e duas espátulas cheias de esferas de vidro foram adicionados a microtubos tipo *ependorf*. As amostras de leveduras foram adicionadas aos microtubos, estes foram agitados em vórtex por 4 minutos e incubados em banho maria por uma hora a 65°C. Após o período de incubação, os microtubos foram centrifugados a 13.000 rpm durante 15 minutos, e a fase aquosa (aproximadamente 400 µL) foi recuperada. O DNA bruto foi estocado a -20°C até a sua utilização.

#### 4.1.4 *Fingerprinting* genético – microssatélite (MSP-PCR)

A técnica de microssatélite (*fingerprinting* genético) foi aplicada apenas para as leveduras isoladas dos diferentes solos da Antártica. Para as reações de microssatélite foi utilizado o método adaptado de Meyer et al. (1993). Desse modo, o DNA foi diluído na proporção 1:750. Em tubos tipo *ependorf* de 0,5 mL foram adicionados 20 µL de uma solução mix anteriormente preparada: 4 µL de dNTPs 1,25mM cada; 5 µL de *buffer* 5x (tampão da Taq); 2 µL de MgCl<sub>2</sub> 25mM; 1,5 µL do *primer* (GTG)<sub>5</sub> 10 µM; 7,3 µL de água miliQ; 0,2 µL de Taq (5U) e 5 µL do DNA previamente diluído. Para a reação foi utilizado o programa “MSP-PCR” (95°C/3 minutos; seguido de 40 ciclos a 93°C/45 segundos, 50°C/1 minuto, 72°C/1 min e extensão final de 72°C/6 minutos, 10°C/∞). Para confirmação dos produtos formados na reação foi preparado um gel de agarose 1,4% em TBE 0,5%, acrescido de 5µL do corante Nancy 520 DNA Gel Stain (Sigma), para 100 mL de gel. Como padrão de peso molecular foi utilizado o DNA Ladder 1kb (Promega). A corrida eletroforética foi realizada sob as seguintes condições: 90V por 3 horas e 30 minutos, em tampão TBE 1X (Tris 10,8 g.L<sup>-1</sup>, ácido bórico 5,5 g.L<sup>-1</sup>, EDTA 0,83 g.L<sup>-1</sup>, pH 8,2).

Os diferentes *fingerprints* obtidos foram considerados como diferentes unidades taxonômicas, e *fingerprints* iguais foram considerados como uma única unidade taxonômica. Um representante de cada perfil genético foi aleatoriamente selecionado para o sequenciamento.

#### 4.1.5 Sequenciamento de marcadores taxonômicos do DNA ribossomal

Para os estudos de diversidade dos fungos filamentosos foi realizado o sequenciamento da região ITS1-5.8S-ITS2 (*internal transcribed spacer*), usando os *primers* ITS4 e ITS5 (GELFAND et al., 1990). Os isolados obtidos foram separados em morfotipos nos meios MA2% e PDA (*potato dextrose agar*). Os isolados obtidos em meio MA2% foram repicados em meio PDA e aqueles obtidos nos meios B&K, BSA e MA2%10x diluído foram repicados em MA2%, a fim de facilitar sua separação de acordo com a morfologia. O critério utilizado para separar os morfotipos foi a macromorfologia das colônias (observação do micélio e conidióforo) em microscópio estereoscópico (Leica EZ4). Um representante de cada um dos morfotipos foi aleatoriamente selecionado para a identificação molecular. Para as leveduras foi realizado o sequenciamento da região D1/D2 da subunidade maior do rRNA, utilizando os *primers* NL1 e NL4 de acordo com Kurtzman e Robnett (1998).

Como apenas um representante de cada morfotipo (no caso dos fungos filamentosos) e de cada *fingerprint* (no caso das leveduras) foram sequenciados, inferiu-se que os outros isolados agrupados juntamente com cada representante dos diferentes morfotipos e *fingerprints* possuem a mesma identidade, portanto, sendo a mesma espécie.

O método de sequenciamento utilizado foi o método de Sanger. Foram preparadas duas soluções *mix* diferentes, uma com o *primer forward* e outra com o *primer reverse*. As soluções consistiram de 0,5 µL de Big Dye 3.1, 2 µL de buffer 5x, 0,32 µL de *primer* F/R (10µM – 3,2 pmol), 1 µL de DNA (previamente amplificado por reação de PCR e purificado com as enzimas *Exo I* e *Fast AP*) e 6,18 µL de água miliQ. O programa de amplificação utilizado foi o “BigDye” (95°C/1 minuto seguido de 28 ciclos a 95°C/15 segundos, 50°C/45 segundos, 60°C/4 minutos, 10°C/∞).

A reação foi purificada utilizando 25 µL de etanol 100%, 1 µL de solução de acetado de sódio 3M e 1 µL de solução EDTA 125 mM. Após secagem, os produtos da amplificação foram sequenciados em sequenciador ABI Applied Biosystems 3500.

As sequências obtidas foram editadas no software BioEdit versão 7.2.5 e os *contigs* alinhados no programa MAFFT (versão 7, online). Após o alinhamento, os *contigs* foram curados nos programas BioEdit e utilizados para buscar sequências



similares no banco de dados do NCBI – GenBank. Foi feito o *download* das sequências similares aos *contigs* e seu alinhamento com estes para a montagem das árvores filogenéticas. As árvores foram montadas no *software* MEGA7 pelo método de *Neighbour Joining*, com modelo de substituição Kimura 2 parâmetros (KIMURA, 1980), com valor de *bootstrap* calculado a partir de 1000 réplicas.

#### 4.1.6 *Correlação da composição taxonômica com a caracterização físico-química das amostras de solos*

A análise de correspondência (CA) entre os locais de coleta de cada amostra e a abundância das espécies encontradas foi realizada. Os dados da caracterização química e física dos solos foram relacionados com o perfil da composição de espécies de cada amostra utilizando uma análise de escalonamento multidimensional não métrico (NMDS). A mesma matriz de dados utilizada para fazer a análise de NMDS foi utilizada para construir um dendograma de similaridade utilizando o algoritmo UPGMA e o índice de similaridade de Jaccard.

O teste de análise de similaridade (ANOSIM) foi realizado utilizando uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis, para verificar se houve diferença entre grupos de amostras (solos associados às raízes de *C. quitensis* – solos associados às raízes de *D. antarctica*). Também foi realizado o teste de porcentagem de similaridade (SIMPER), utilizando a mesma matriz de dissimilaridade do ANOSIM. O SIMPER estima a porcentagem de contribuição de variáveis individuais à dissimilaridade entre objetos, ou grupos, numa matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis (BUTTIGIEG; RAMETTE, 2014). Para verificar se houve diferença entre as duas temperaturas de isolamento em relação à composição das comunidades nas amostras, foi realizado um ANOSIM, separando-se as amostras por 2 grupos de temperatura. Todas as análises foram realizadas no *software* Past v. 2.17c (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

#### 4.1.7 *Análise da diversidade alfa e beta das amostras*

Para avaliar e comparar as diferenças na diversidade alfa das amostras, foram calculados os índices de diversidade de Shannon, que mede o grau de

incerteza em prever a que espécie pertencerá um indivíduo escolhido, ao acaso, de uma amostra com S espécies e N indivíduos, e o inverso de Simpson, que reflete a probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso na mesma comunidade pertencerem à mesma espécie (URAMOTO et al., 2005). Além disso, para estimar a riqueza de espécies foi calculado o estimador de riqueza Chao-1, que possibilita estimar o número total de espécies em uma determinada comunidade a partir dos dados das amostras. O compartilhamento das espécies (diversidade beta) foi analisado calculando o índice de Bray-Curtis. Este é uma modificação do índice de Sørensen, baseado em dados de abundância, e não somente de presença e ausência (CHAO et. al., 2005).

Todos os índices foram calculados no programa EstimateS v.9.1.0 (COLWELL, 2013).

## **4.2 Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico**

### *4.2.1 Triagem qualitativa de fungos produtores de ligninases*

Durante as etapas de isolamento, foi realizada uma primeira triagem da produção de enzimas ligninolíticas (isolamento seletivo) em meio sólido (meio B&K acrescido de guaiacol 4mM) utilizando a metodologia descrita por Verma et. al. (2010). A presença de uma intensa cor marrom sobre e ao redor do micélio nesse meio de cultura suplementado com guaiacol indica a presença de provável atividade da lacase. Os isolados que apresentaram estas características foram selecionados para os testes quantitativos.

### *4.2.2 Triagem quantitativa de fungos produtores de ligninases*

Os fungos ligninolíticos selecionados de acordo com o item 4.2.1 foram cultivados em meio MA2% e, após o crescimento, dois cilindros de 5 mm de diâmetro da margem das colônias dos isolados foram transferidos para Erlenmeyers de 150 mL contendo 50 mL de meio MB2% (*Malt Broth*, ou caldo malte; 2% de extrato de malte e 50 mL de água destilada). Os ensaios foram incubados a 15°C por 7 dias a 150 rpm, em duplicata. A avaliação da produção das enzimas lignina

peroxidase (LiP), manganês peroxidase (MnP) e lacase foi realizada a partir do caldo enzimático obtido dos cultivos. Para a obtenção dos caldos enzimáticos, o meio líquido de cultivo foi centrifugado a 10.000 rpm por 30 min a 4 °C, após o período de incubação.

A partir do caldo enzimático bruto, a atividade enzimática foi determinada em triplicata e utilizando diferentes substratos enzimáticos, de acordo com a metodologia abaixo descrita:

Uma unidade enzimática (U) é definida como a quantidade de enzima necessária para oxidar 1  $\mu\text{mol}$  de substrato por minuto. A atividade enzimática foi expressa em  $\text{U L}^{-1}$  do caldo enzimático e os cálculos realizados a partir da Equação 1, derivada da Lei de Lambert-Beer.

$$U \text{ L}^{-1} = \Delta A \times V \times 10^6 / \epsilon \times R \times t \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

$\Delta A$	Diferença entre a absorvância final e a inicial
V	Volume da reação (0,001L em todos os casos)
$10^6$	Converte os mols do $\epsilon$ para $\mu\text{mols}$
$\epsilon$	Coeficiente de extinção ( $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
R	Quantidade de caldo enzimático (L)
t	Tempo de reação (min)

#### 4.2.2.1 Lignina Peroxidase (LiP)

A atividade da lignina peroxidase foi avaliada por espectrofotometria UV/VIS a partir do aldeído veratrílico produzido ( $\epsilon_{310\text{nm}} = 9.300 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) na oxidação do álcool veratrílico utilizado como substrato. A mistura foi composta por 0,2 mL de álcool veratrílico (2,0 mM) em tampão tartarato de sódio (0,4 M; pH 4,5), 0,2 mL de peróxido de hidrogênio (2 mM) e 0,6 mL do caldo enzimático. A reação foi iniciada adicionando o peróxido de hidrogênio, e o aparecimento do aldeído veratrílico foi determinado lendo-se a absorvância a 310 nm, logo após a adição do substrato e após 10 minutos de reação, em temperatura ambiente (adaptado de ARORA; GILL, 2001).

#### 4.2.2.2 Manganês Peroxidase (MnP)

A atividade de MnP foi quantificada pelo método modificado de Wariishi et. al. (1992) com a adição de 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2 mM) em 0,8 mL de tampão malonato de sódio (50 mM; pH 4,5), 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{MnSO}_4$  (10 mM), e 0,1 mL de caldo enzimático. A reação foi iniciada adicionando o peróxido de hidrogênio e a formação do complexo  $\text{Mn}^{+3}$ -malonato foi acompanhada pela leitura da absorbância a 270 nm ( $\epsilon = 11590 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) após a adição do substrato e após 5 minutos de reação, em temperatura ambiente.

#### 4.2.2.3 Lacase

A atividade da lacase foi determinada através do método adaptado de Buswell et al. (1995), pela leitura da absorbância durante a oxidação do substrato ABTS a 420 nm ( $\epsilon = 36.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) após 10 minutos de reação a 37°C. A mistura da reação foi composta por 0,3 mL de tampão acetato de sódio (0,1 M; pH 5,0), 0,6 mL de caldo enzimático e 0,1 mL de solução ABTS (0,5 mM).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Avaliação da diversidade de fungos filamentosos e leveduras

#### 5.1.1 Isolamento de micro-organismos de solos antárticos

Um total de 891 isolados foi obtido das amostras estudadas, sendo 141 provenientes de solos e 750 provenientes de solos associados às raízes das duas plantas (Apêndices A-F). Destes, 399 eram leveduras e 492 eram fungos filamentosos. A temperatura de incubação de 15°C resultou em um maior número de isolados (58,5%), enquanto que à temperatura de 5°C o número de isolados foi de 41,5%. A 5°C, um maior número de isolados ( $n=134$ ) foi recuperado do meio BSA, enquanto que a 15°C foi o meio B&K que apresentou um maior número de isolados ( $n=174$ ). A amostra 4 (solo associado à raiz de *D. antarctica* - Punta Hennequin) possibilitou o isolamento de um maior número de leveduras ( $n=98$ ), enquanto que da amostra 6 (solo associado à raiz de *C. quitensis* - Punta Plaza) foram isolados mais fungos filamentosos ( $n=126$ ). Esta mesma amostra proporcionou o maior número de micro-organismos (fungos filamentosos e leveduras), totalizando 203 isolados. A partir das amostras 1 e 6 (Apêndices A e F) foram obtidas mais leveduras do que fungos filamentosos, da amostra 2 foi obtido o mesmo número de fungos filamentosos e de leveduras, e com as outras amostras ocorreu o contrário. Somadas todas as amostras, o número de leveduras isoladas a 5°C ( $n=193$ ) foi ligeiramente maior do que o número de fungos filamentosos na mesma temperatura ( $n=177$ ), ocorrendo o contrário a 15°C (leveduras,  $n=206$ ; fungos filamentosos,  $n=315$ ).

#### 5.1.2 Caracterização físico-química das amostras de solos

Os valores obtidos dos parâmetros físico-químicos analisados das amostras estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4.

**Tabela 2** - Parâmetros físico-químicos dos 6 solos estudados (valores em mg L<sup>-1</sup>) (CDB Al e Fe: quantidades de Al e Fe extraídas pelo método CDB; Ox. Al e Fe: quantidades de Al e Fe extraídas pelo método do oxalato de amônia; Piro Al e Fe: quantidades de Al e Fe extraídas pelo método do pirofosfato; TC: teor de carbono total).

Amostra	pH	CDB Al	Ox. Al	CDB Fe	Ox Fe	Piro Al	Piro Fe	TC (%)
A1	4,48	320,29	244,22	175,51	141,97	4,21	2,54	0,06556
A2	8,10	153,05	60,61	91,74	44,76	1,35	0,80	0,07421
A3	4,73	129,46	137,93	73,64	73,91	20,76	11,65	14,50
A4	5,41	100,27	65,55	59,06	45,80	1,12	0,71	0,10181
A5	5,77	109,11	142,92	65,11	4,32	17,26	10,16	10,81
A6	5,89	3,09	150,37	1,90	97,84	20,44	12,16	11,59

Fonte: Elaborado pela autora.

**Tabela 3** - Parâmetros químicos (quantidade de metais) dos 6 solos estudados (valores em mg L<sup>-1</sup>).

Amostra	Ca	Cd	Cr	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
A1	3,431	0,007	0,052	6,397	1,054	0,019	0,019	0,297
A2	18,178	0,007	0,034	7,269	4,493	0,022	0,028	0,174
A3	5,676	0,001	0,047	11,767	0,985	0,023	-0,051	0,248
A4	19,108	0,001	0,039	9,544	1,469	0,018	-0,042	0,447
A5	4,480	0,002	0,028	5,262	0,401	0,011	-0,019	0,210
A6	1,315	0,004	0,016	0,641	0,041	0,003	0,003	0,055

Fonte: Elaborado pela autora.

**Tabela 4** - Textura e classificação dos 6 solos analisados.

Amostra	Areia (%)	Silte (%)	Argila (%)	Classificação segundo a textura
A1	47,65	36,50	15,85	Argilo-arenosa
A2	54,40	28,60	17,00	Franco-argilo-arenosa
A3	40,00	37,00	23,00	Franca
A4	27,00	44,00	29,00	Franco argilosa
A5	43,50	36,00	20,50	Franca
A6	25,00	44,00	31,00	Franco-argilosa

Fonte: Elaborado pela autora.

As amostras 3 e 4, e 5 e 6 apresentaram valores de pH próximos, enquanto as amostras 1 e 2 apresentaram valores muito díspares, apesar de terem sido coletadas no mesmo local. As quantidades de alumínio e ferro na amostra 1 foram consideravelmente maiores em relação às outras amostras. O teor de carbono orgânico presente nas amostras de solo associado às raízes foi notadamente maior (com exceção da amostra 4) do que o teor verificado nas amostras de solo. Com exceção do cálcio e magnésio, os outros metais apresentaram valores muito baixos.

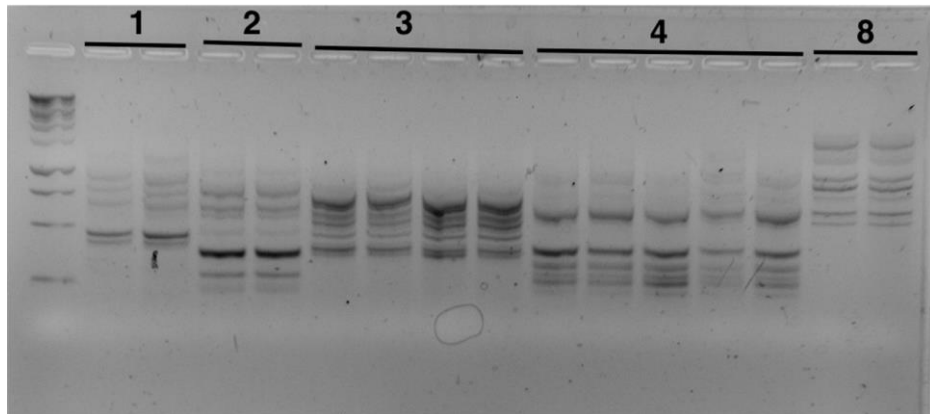
O maior teor de argila (grãos microscópicos) obtido foi da amostra 6, o maior teor de areia (grãos grossos, médios e finos, todos visíveis a olho nu) foi verificado na amostra 2, enquanto que os maiores teores de silte (grãos intermediários entre argila e areia) foram observados nas amostras de solo associado às raízes 4 e 6.

### 5.1.3 Sequenciamento de DNA ribossomal

Devido ao grande número de isolados obtidos, todos os isolados de fungos filamentosos foram separados em morfotipos nos meios MA2% e PDA. Foram obtidos 40 morfotipos em meio MA2% e 26 em meio PDA, a 15°C, e 63 morfotipos em meio MA2% e 22 em meio PDA, a 5°C (Apêndices G-K).

Com relação às leveduras, as mesmas foram separadas em diferentes perfis genéticos. Foram obtidos 114 diferentes *fingerprints* (Figura 8, Apêndice L).

**Figura 8** - Exemplos de alguns dos diferentes perfis genéticos obtidos



Fonte: Elaborado pela autora.

Dos 891 isolados obtidos inicialmente, 667 foram utilizados para as análises de diversidade, por terem sido os isolados possíveis de se identificar. Foram obtidos 39 diferentes taxa de fungos filamentosos e leveduras, conforme demonstrado na Tabela 5. Todas as árvores filogenéticas estão listadas nos Apêndices N-AK.

Três filos de fungos estão representados nas amostras, sendo 27 taxa do filo Ascomycota, 10 taxa do filo Basidiomycota e 2 do filo "Zygomycota". Não foi isolado nenhum fungo filamentoso pertencente ao grupo dos basidiomicetos, sendo todos ascomicetos e zigomicetos. A maioria das leveduras obtidas pertence ao filo

Basidiomycota, sendo apenas uma pertencente ao filo Ascomycota (ANI6). Cinco taxa de fungos filamentosos e um táxon de levedura do grupo dos ascomicetos não foram possíveis de ser identificados, mesmo após a construção de árvores filogenéticas, e foram denominados ANIx (ascomiceto não identificado; sendo “x” para anotar uma espécie não identificada = 1,2,3,4,5 e 6). Estes podem representar novas espécies ou até mesmo novos gêneros.

O gênero mais abundante de leveduras foi *Leucosporidium*, representando 44,4% das leveduras isoladas e utilizadas para os estudos de diversidade, seguido da levedura ANI6 (21,4%), *Holtermanniella wattica* (10,2%) e *Goffeauzyma gilvescens* (9,9%). *Pseudogymnoascus* foi o gênero mais abundante de fungos filamentosos (31,7%), seguido do fungo filamentoso ANI2 (5,1%) e *Mortierella* sp. 1 (4,5%).

As espécies *Goffeauzyma gastrica*, *Leucosporidium fragarium*, *Holtermanniella festucosa* e *Vishniacozyma victoriae* foram as menos predominantes nas leveduras, com apenas 4 (*G. gastrica* e *L. fragarium*) e 2 (*H. festucosa* e *V. victoriae*) isolados. Quanto aos fungos filamentosos, houve mais taxa com abundância reduzida, como *Cadophora luteo-olivacea*, *Cosmospora* sp. 3, *Laetinaevia carneoflavida*, *Thelebolus* sp., *Mortierella* sp. 2 e ANI3, todas com apenas 1 isolado cada.

Todas as amostras compartilharam os taxa *Pseudogymnoascus* sp. 1 e sp. 3, ANI6, *Goffeauzyma gilvescens*, *Holtermanniella wattica* e *Leucosporidium* sp. O isolado *Mortierella* sp. 2 ocorreu exclusivamente em amostra de solo (amostra 2). Os taxa *Cadophora luteo-olivacea*, *Oidiodendron* sp., *Thelebolus* sp. e *Holtermanniella festucosa* ocorreram exclusivamente em amostra de solo associado à raiz de *D. antarctica* (amostra 5), enquanto *Cosmospora* sp. 3, *Laetinaevia carneoflavida* e *Purpureocillium lilacinum* ocorreram exclusivamente em amostra de solo associado à raiz de *C. quitensis* (amostra 6). Houve ainda taxa que apresentaram ocorrência restrita aos locais de coleta, como *Trichoderma* sp., *Leucosporidium fragarium*, *Cosmospora* sp. 2 e *Pochonia* sp. em Punta Plaza (amostras 5 e 6), e *Varicosporium* sp. em Punta Hennequin (amostras 3 e 4). As amostras 3 e 6 (solo associado à raiz de *C. quitensis*) não apresentaram espécies exclusivas às duas, assim como as amostras 4 e 5 (solo associado à raiz de *D. antarctica*), mostrando que não houve espécies exclusivas de acordo com o tipo de planta.



Os taxa *Trichoderma* sp., *Varicosporium* sp., *Cystobasidium laryngis*, *L. fragarium*, *Mrakia* sp., *Vishniacozyma victoriae*, *Cosmospora* sp. 1 e sp. 2, *Microdochium lycopodium*, *Pochonia* sp., *Pseudogymnoascus* sp. 2, ANI2, ANI4, ANI5, *Fusarium avenaceum* species complex e *Fusarium oxysporum* species complex ocorreram exclusivamente nas amostras de solo associado à raiz, além dos taxa com ocorrência exclusiva já citadas nas amostras 3, 5 e 6. Representantes de *Mortierella* sp. 2 foram exclusivos em amostra de solo. *Pseudogymnoascus* e *Leucosporidium* foram os gêneros dominantes tanto em solos quanto em solos associados às raízes das duas plantas.

**Tabela 5** - Identificação dos taxa e sua distribuição nas amostras

TÁXON	Am1	Am2	Am3	Am4	Am5	Am6	TOTAL
<b>Ascomycota</b>							
ANI1	0	2	3	0	2	1	8
ANI2	0	0	4	4	6	11	25
ANI3	0	0	1	0	0	0	1
ANI4	0	0	2	2	4	3	11
ANI5	0	0	2	0	1	1	4
ANI6	3	2	12	23	18	11	69
<i>Antarctomyces</i> sp.	1	0	11	2	2	3	19
<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	0	0	0	0	1	0	1
<i>Cladosporium</i> sp.	0	1	0	0	6	1	8
<i>Cosmospora</i> sp1	0	0	1	1	1	6	9
<i>Cosmospora</i> sp2	0	0	0	0	3	5	8
<i>Cosmospora</i> sp3	0	0	0	0	0	1	1
<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	0	0	1	1	8	4	14
<i>Fusarium oxysporum</i> species complex	0	0	0	1	2	1	4
<i>Laetinaevia carneoflavida</i>	0	0	0	0	0	1	1
<i>Leptosphaeria</i> sp.	0	1	0	1	0	12	14
<i>Microdochium lycopodium</i>	0	0	1	6	1	3	11
<i>Oidiodendron</i> sp.	0	0	0	0	2	0	2
<i>Penicillium</i> sp.	1	0	2	1	1	0	5
<i>Pochonia</i> sp.	0	0	0	0	1	1	2
<i>Pseudogymnoascus</i> sp1	4	9	25	7	15	6	66
<i>Pseudogymnoascus</i> sp2	0	0	1	4	2	3	10
<i>Pseudogymnoascus</i> sp3	1	13	17	19	13	17	80
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	0	0	0	0	0	3	3
<i>Thelebolus</i> sp.	0	0	0	0	1	0	1
<i>Trichoderma</i> sp.	0	0	0	0	7	3	10
<i>Varicosporium</i> sp.	0	0	2	2	0	0	4

TÁXON	Am1	Am2	Am3	Am4	Am5	Am6	TOTAL
<b>Basidiomycota</b>							
<i>Cystobasidium laryngis</i>	0	0	3	0	3	4	10
<i>Goffeauzyma gastrica</i>	0	2	2	0	0	0	4
<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	1	2	4	21	1	3	32
<i>Holtermanniella festucosa</i>	0	0	0	0	2	0	2
<i>Holtermanniella wattica</i>	1	5	5	5	10	7	33
<i>Leucosporidium fragarium</i>	0	0	0	0	1	3	4
<i>Leucosporidium sp.</i>	29	23	20	23	16	28	139
<i>Mrakia sp.</i>	0	0	2	3	2	6	13
<i>Naganishia sp.</i>	7	4	1	1	0	1	14
<i>Vishniacozyma victoriae</i>	0	0	1	0	1	0	2
<b>Zygomycota</b>							
<i>Mortierella sp.1</i>	1	7	0	0	10	4	22
<i>Mortierella sp.2</i>	0	1	0	0	0	0	1
TOTAL DE ISOLADOS	49	72	123	127	143	153	667
TOTAL DE TAXA	10	13	23	19	30	29	

Os taxa ANI1, ANI2, *Cosmospora sp. 2* e *sp. 3*, *F. oxysporum* species complex, *L. carneoflavida*, *Penicillium sp.*, *Pochonia sp.*, *P. lilacinum*, *Trichoderma sp.*, *Mortierella sp. 2* e *G. gastrica* ocorreram exclusivamente a 15°C, enquanto ANI3, ANI5, *C. luteo-olivacea*, *Thelebolus sp.* e *L. fragarium* ocorreram exclusivamente a 5°C.

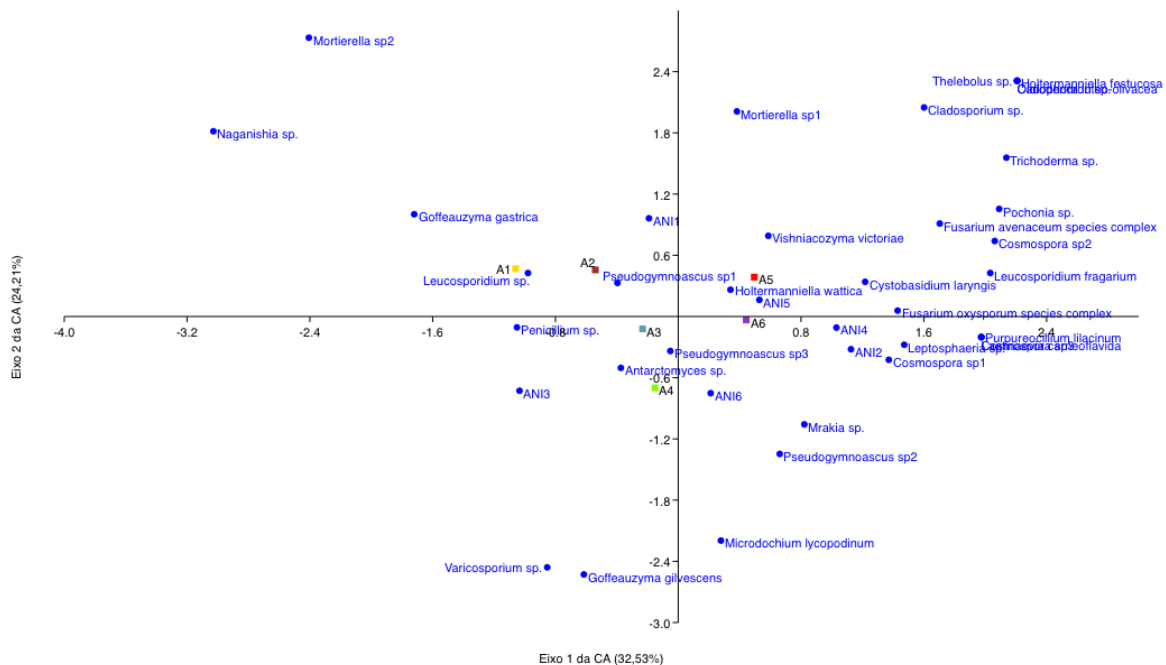
Como foi verificado que na temperatura de 15°C foi obtido um maior número de isolados, um teste de análise de similaridade (ANOSIM), utilizando o índice de similaridade de Bray-Curtis foi aplicado para verificar se a diferença entre as duas temperaturas de isolamento foi realmente significativa em relação à composição da comunidade de fungos nas amostras estudadas. Dessa maneira, foi utilizada uma matriz de dados de abundância de espécies por locais, dividindo as amostras por grupos de temperatura de isolamento: grupo 5 (isolamento a 5°C) e grupo 15 (isolamento a 15°C).

Os valores de R e p foram 0,478 e 0,006, respectivamente. Analisando os valores obtidos, pode-se dizer que há diferença significativa entre as duas temperaturas. Entretanto, apenas o fator temperatura não é capaz de explicar totalmente a diferença entre os grupos e contribui com um efeito pequeno para essa diferença, devido ao baixo valor de R obtido.

#### 5.1.4 Correlação da composição taxonômica com a caracterização físico-química das amostras de solos

Os dados de abundância dos taxa em relação à origem dos mesmos (amostras) foram utilizados para a realização de análise de correspondência (CA). Os resultados estão apresentados na (Figura 9).

**Figura 9** - Análise de correspondência entre a abundância de espécies em relação aos locais de coleta. Os pontos azuis representam os taxa isolados e os quadrados coloridos representam as seis amostras de solos e solos associados às raízes de *C. quitensis* e *D. antarctica*.



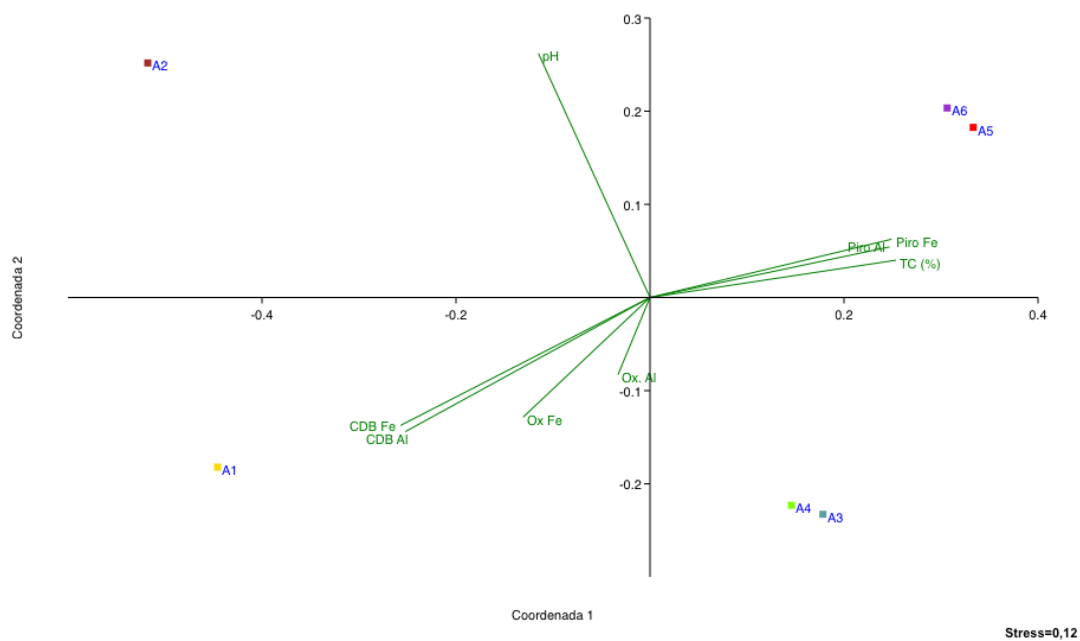
Fonte: Elaborado pela autora.

As amostras A5 e A6 (Punta Plaza) se agrupam e são separadas do restante das amostras ao longo do primeiro eixo. O segundo eixo separa as amostras de Punta Hennequin (3 e 4) e a amostra 6 das amostras de solo de Yellow Point (1 e 2) e da amostra 5. É possível verificar no gráfico que há mais espécies presentes nas amostras 5 e 6, seguido das amostras 3 e 4. Os taxa com apenas uma ocorrência, como *Mortierella sp. 2* (amostra 2), ANI3 (amostra 3), *C. luteo-olivacea*, *Oidiodendron sp.*, *Thelebolus sp.* e *H. festucosa* (amostra 5), e *Cosmospora sp. 3*, *L. carneoflavida* e *P.lilacinum* (amostra 6) se separam da mesma forma que os locais de origem dos mesmos. Os taxa remanescentes são arranjados mais para o centro

do espaço de ordenação do gráfico e de acordo com sua abundância em cada amostra. *Goffeauzyma gilvescens*, apesar de compartilhada por todas as amostras, é encontrada com mais abundância na amostra 4, e por isso se encontra mais afastada do centro do gráfico.

Os parâmetros listados na Tabela 2, juntamente com a composição taxonômica de cada amostra foram utilizados na construção do gráfico de escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) (Figura 10). Não foram mostrados os ordenamentos realizados com os dados das Tabelas 3 e 4, pois eles apresentaram o mesmo resultado do ordenamento realizado com os dados da Tabela 2.

**Figura 10** - Relação entre composição taxonômica das amostras e parâmetros físico-químicos dos solos analisados por escalonamento multidimensional não-métrico. Note o valor de *stress* no canto inferior direito do gráfico



Fonte: Elaborado pela autora.

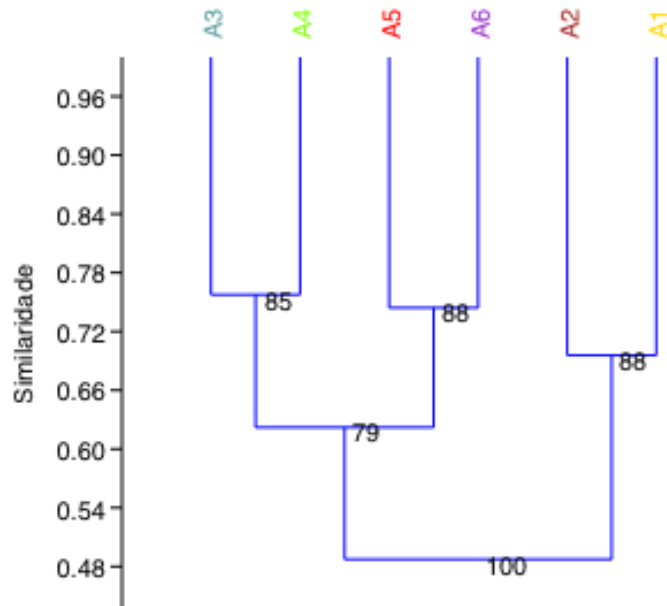
Analisando o gráfico, é possível observar uma separação das amostras por local de coleta (Amostras 3 e 4 – Punta Hennequin, amostras 5 e 6 – Punta Plaza). As amostras 1 e 2, apesar de provenientes do mesmo local, apresentam características físico-químicas completamente distintas, exceto pelo teor de carbono, como mostrado na Tabela 2, e se mostram distantes no gráfico, sendo o pH e as quantidades de ferro e alumínio as características que provavelmente contribuem

para essa distância. Os principais fatores que agruparam as amostras 5 e 6 foram o teor de carbono e a quantidade de Fe a Al (Piro). De acordo com o gráfico, não há separação das amostras por tipo (e.g. amostras 3 e 6, solos associados à raiz de *C. quitensis*, formando um agrupamento), e sim por local de coleta.

Para verificar se houve diferença entre os grupos de amostras “solos associados à raiz de *C. quitensis*” e “solos associados à raiz de *D. Antarctica*”, foi realizado um teste de análise de similaridade (ANOSIM), utilizando o índice de similaridade de Bray-Curtis. Desse modo, uma matriz de dados de abundância de espécies por locais foi utilizada, dividindo as amostras por grupos: grupo 1 (amostras 3 e 6, solos associados às raízes de *C. quitensis*) e grupo 2 (amostras 4 e 5, solos associados às raízes de *D. antarctica*). Os valores de R e p obtidos foram -1 e ,1, respectivamente. Observando os valores das estatísticas obtidas no teste, pode-se dizer que não há diferença significativa entre os grupos, e que o fator “tipo de planta” (solo associado à raiz de *C. quitensis* ou de *D. antarctica*) não é significativo, não sendo fundamental para explicar os padrões observados na Figura 10.

Uma evidência adicional ao resultado do ANOSIM, foi feito o teste de porcentagem de similaridade (SIMPER). A média total de dissimilaridade para os 2 grupos foi de 36,2%, ou seja, os dois grupos são apenas 36,2% diferentes entre si. O táxon *G. gilvescens* contribui com 10,38% dessa diferença e *Pseudogymnoascus* sp.1 com 9,91%.

Também foi realizada uma análise de agrupamento por UPGMA com as amostras, como mostra a Figura 11. O dendograma foi construído com a mesma matriz de dados utilizada para construir o gráfico de NMDS, e é possível observar que as amostras novamente se agrupam de acordo com os locais de coleta. As amostras 3 e 4, 5 e 6 (solos associados às raízes das duas plantas ) estão mais próximas entre si e formam um grupo à parte em relação às amostras 1 e 2 (solo).

**Figura 11** - Inferência da similaridade entre as amostras estudadas

Fonte: Elaborado pela autora.

#### 5.1.5 Análise da diversidade alfa e beta das amostras

De acordo com os resultados dos índices aplicados à medida de riqueza e diversidade (Tabela 6), as amostras mais ricas e mais diversas são as amostras 5 e 6 (maiores índices), seguidas das amostras 3, 4 e 2, sendo a amostra 1 a menos rica e menos diversa (menores índices). O índice utilizado para medir a diversidade  $\beta$  está listado na Tabela 7.

**Tabela 6** - Índices de diversidade alfa e riqueza (S) observada para os diferentes solos estudados

Amostra	Shannon	Simpson Inv.	Chao 1	S
Amostra 1	1,44	2,61	24,69	10
Amostra 2	2,08	5,84	13,59	13
Amostra 3	2,55	8,98	25,98	23
Amostra 4	2,36	7,95	22,72	19
Amostra 5	2,93	14,29	35,59	30
Amostra 6	2,93	13,23	56,82	29

Fonte: Elaborado pela autora.

**Tabela 7** - Índice de diversidade beta (Bray-Curtis) observado para os diferentes solos estudados

	<b>Amostra 1</b>	<b>Amostra 2</b>	<b>Amostra 3</b>	<b>Amostra 4</b>	<b>Amostra 5</b>	<b>Amostra 6</b>
<b>Amostra 1</b>	-	0,612	0,384	0,409	0,302	0,406
<b>Amostra 2</b>	-	-	0,574	0,543	0,521	0,524
<b>Amostra 3</b>	-	-	-	0,664	0,632	0,601
<b>Amostra 4</b>	-	-	-	-	0,570	0,621
<b>Amostra 5</b>	-	-	-	-	-	0,635
<b>Amostra 6</b>	-	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora.

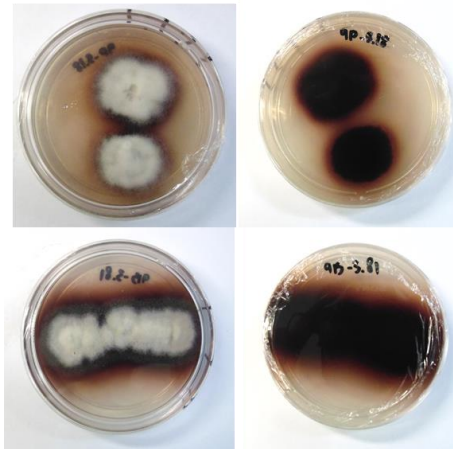
As amostras com maior similaridade de espécies entre si são as amostras 3 e 4, que compartilham 66,4% de espécies, seguido das amostras 5 e 6 (63,5%), 3 e 5 (63,2%), 4 e 6 (62,1%), e 1 e 2 (61,2%). Aquelas com a menor similaridade são as amostras 1 e 5, compartilhando 30,2% das espécies, 1 e 3, com 38,4% de espécies em comum, e a amostra 1 em relação às amostras 4 e 6, que são 40% similares.

## **5.2 Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico**

### *5.2.1 Triagem qualitativa de fungos produtores de ligninases*

Um total de 35 isolados apresentaram uma intensa cor marrom sobre e ao redor do micélio no meio de cultura B&K suplementado com guaiacol, o que indicou a presença de atividade da lacase (Figura 12). Dos 35 isolados, apenas um é de amostra de solo (amostra 2, Yellow Point – solo escuro); o restante é proveniente de solos associados às raízes das duas plantas, amostras 3, 4, 5 e 6, das quais foram obtidos 6, 6, 6 e 16 isolados, respectivamente (Tabela 8). Apenas 2 do total de isolados com potencial de produção de lacase foram isolados a 5°C (amostras 5 e 6).

**Figura 12** - Isolados com potencial atividade de lacase (presença de coloração marrom escura sob e ao redor do micélio)



Fonte: Elaborado pela autora.

**Tabela 8.** - Isolados com potencial para produção de lacase verificado através do teste de placa com guaiacol. Temperatura de isolamento a 15 °C, exceto os marcados com \* (5 °C)

Isolado	Origem
8P-1.8	Yellow Point (solo escuro, amostra 2)
9P-1.3	
9P-1.9	
9P-3.15	Punta Hennequin – solo associado à raiz de <i>C. quitensis</i> ,
9P-1.3A	amostra 3
9P-3.19	
9B-3.10	
10P-3.18	
10B-3.18	
10B-1.4	Punta Hennequin – solo associado à raiz de <i>D. antarctica</i> ,
10P-3.10	amostra 4
10P-1.12	
10P-3.15	
11B-3.12	
11P-3.10	
11P-3.3	Punta Plaza – solo associado à raiz de <i>D. antarctica</i> , amostra
11P-1.10	5
11B-3.7	
11B-3.8*	
12P-1.13	
12P-1.17	
12P-3.12	
12P-1.16	
12B-3.21	
12B-3.28	
12P-1.15	Punta Plaza – solo associado à raiz de <i>C. quitensis</i> , amostra
12P-3.11	6
12P-1.18	
12P-3.10A	
12P-3.10B	
12B-3.24	
12B-3.23	
12P-3.1	
12P-3.5*	

Fonte: Elaborado pela autora.

### 5.2.2 Triagem quantitativa de fungos produtores de ligninases

Todos os 35 isolados positivos no teste qualitativo foram cultivados em meio líquido e tiveram a quantificação das enzimas LiP, MnP e lacase avaliadas. Dentre



os isolados testados, 3 apresentaram atividade enzimática com valor igual ou superior a 1 U L<sup>-1</sup> para uma das 3 enzimas analisadas (Tabela 9). Esses 3 fungos foram isolados a 15°C e provenientes das amostras 3 e 6. A enzima MnP não foi detectada nas condições estudadas. Os isolados apresentaram uma melhor produção de LiP, e uma produção de lacase muito baixa. Nenhum dos 2 fungos isolados a 5°C apresentou atividade enzimática com valor igual ou superior a 1 U L<sup>-1</sup>.

**Tabela 9** - Média das duplicatas de cada isolado das atividades enzimáticas para lignina peroxidase e lacase (após 7 dias de cultivo a 15°C e 150 rpm)

<b>Isolado</b>	<b>Média LiP (U L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Média Lac (U L<sup>-1</sup>)</b>
9P-1.9	5,416	0,027
12P-3.10B	1,702	0,169
9P-3.19	1,000	0

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Isolamento de micro-organismos de solos antárticos

Segundo Onofri et al. (2004), grande parte dos fungos filamentosos da Antártica são mesófilos tolerantes ao frio ou psicotróficos, ao invés de psicrófilos. Del Frate e Caretta (1990), estudando solos da região de *Victoria Land*, no continente antártico, também obtiveram um maior número de isolados com temperatura de crescimento ótima perto de 15°C, e prevalência de fungos filamentosos em solos, especialmente quando musgos também estavam presentes. Yergeau et al. (2007) também observaram um aumento no número de isolados em relação à temperatura (foram utilizadas 3 temperaturas de incubação, 4, 12 e 20°C).

Arenz et al. (2006), ao isolarem fungos de solos da região do mar de Ross, também obtiveram um número maior de isolados de fungos filamentosos em relação ao número de leveduras. Arenz e Blanchette (2011) obtiveram 455 isolados de 169 amostras de solo de diferentes regiões da península Antártica, da ilha Ross e dos *Dry Valleys* antárticos. Resultados similares foram reportados por Connell et al. (2006), onde um número superior de isolados de fungos filamentosos em relação a leveduras foi obtido a partir de solos do *Taylor Valley*, no continente antártico. Em adição, Godinho e colaboradores (2015) também obtiveram um número maior de isolados capazes de crescer a 15°C.

As leveduras são capazes de crescer em vários tipos de solo de diversas áreas geográficas, desde o ártico aos trópicos (VAZ et al., 2011). Segundo Connell e colaboradores (2006), a presença de um maior número de leveduras no solo pode ser associada à sua capacidade de utilizar uma ampla variedade de habitats, enquanto que o maior número de isolados de fungos filamentosos em solos associados às raízes de *C. quitensis* e *D. antarctica* pode ser devido aos exsudatos das plantas ou a algum benefício que as plantas propiciam a estes organismos.

O aumento do número e da atividade microbiana nos solos associados à raízes comparado aos dos solos não associados à raízes se deve principalmente à liberação de carbono orgânico pelas raízes das plantas (HARTMANN et al., 2009). Possivelmente, por esta razão, encontrou-se um maior número de isolados nos solos associados às raízes de *C. quitensis* e *D. antarctica*. Além disso, sabe-se que os

micro-organismos presentes em solos associados às raízes possuem um papel relevante no ciclo biogeoquímico de macronutrientes, os quais são importantes para o desenvolvimento das plantas. De acordo com Berríos e colaboradores (2013), alguns micro-organismos da rizosfera de *D. antarctica* podem desempenhar um papel significativo na sobrevivência e adaptação desta planta ao ambiente antártico. Ainda de acordo com Ozerskaya et al (2009), é concebível que substratos de plantas e seus derivados sejam crioprotetores naturais, o que possibilita a alguns gêneros de fungos condições vantajosas sob temperaturas muito baixas.

## 6.2 Fungos filamentosos e leveduras em solos da Antártica

De acordo com Ruisi et al. (2007), o filo mais comumente encontrado na Antártica é o Ascomycota, em estágios assexuados (formadores de conídios). Arenz e colaboradores (2006) obtiveram um resultado semelhante. No presente trabalho também foram isolados em maior abundância representantes do filo Ascomycota. Trabalhando com solos, madeira e outros artefatos, eles obtiveram 74% de ascomicetos filamentosos, 21% de leveduras basidiomicetas, 1% de leveduras ascomicetas e 1% de zigomicetos, de um total de 284 sequências de fungos identificadas. Os referidos autores reportaram que o gênero mais frequentemente isolado das amostras de solo da Antártica foi o *Cadophora*, seguido por *Cryptococcus* e *Geomyces/Pseudogymnoascus*. Arenz e Blanchette (2011), trabalhando com solos de regiões da península Antártica, verificaram que o gênero *Geomyces* foi o que apresentou um maior número de UFCs. No presente trabalho este gênero também apresentou um maior número de isolados sugerindo ser os seus representantes comuns neste ambiente.

*Pseudogymnoascus*, a fase sexuada de *Geomyces*, é um gênero comumente encontrado na Antártica, tendo sido isolado de diversos substratos, como talos de macroalgas endêmicas da região (FURBINO et al., 2014), talos de líquens (SANTIAGO et al., 2015), solos (DING et al., 2016; GODINHO et al., 2015), musgos (TOSI et al., 2002), folhas de *C. quitensis* (ROSA et al., 2010), lagos da península Antártica (GONÇALVES et al., 2012) e sedimento marinho (INFORSATO, 2017). Gonçalves e colaboradores (2015) isolaram espécies de *Pseudogymnoascus* do solo

de rizosfera de *D. antarctica*, no entanto, a abundância reportada pelos autores foi muito aquém do que a observada no presente trabalho.

O gênero *Mortierella* também é comumente encontrado na região antártica, sendo reportado também em Svalbard (TSUJI et al., 2016) e Spitsbergen (KUREK et al., 2007), no ártico. Arenz e Blanchette (2011) isolaram representantes desse gênero em solos da península Antártica, Furbino e colaboradores (2014) encontraram o gênero em macroalgas, e uma das espécies mais isoladas a partir de musgos da Antártica por Tosi et al. (2002) foi *Mortierella antarctica*.

Estudando solos da Península Fildes (Ilha Rei George), Ding e colaboradores (2016) também observaram uma prevalência dos gêneros *Pseudogymnoascus* e *Mortierella* nas amostras. De acordo com Hayes (2012), espécies do gênero *Pseudogymnoascus* possuem uma distribuição global e são comuns em ambientes frios, tendendo a ser psicrófilicas e queratinófilicas. Arenz et al. (2006) sugerem que o gênero participa dos processos de decomposição e ciclagem de nutrientes na Antártica, e que espécies de *Pseudogymnoascus* são capazes de crescer em diferentes fontes de carbono. Reynolds e Barton (2014) sugerem que as espécies desse gênero podem funcionar como decompositores generalistas, ao invés de ter um nicho específico, dado a variedade de locais em que são encontradas. Considera-se que o gênero *Pseudogymnoascus* pode desempenhar um papel considerável em processos de decomposição e degradação de matéria orgânica (DING et al., 2016). No presente estudo, *Pseudogymnoascus* foi o gênero mais dominante nas amostras 3, 4 e 5, mas especialmente na amostra 3, que apresentou o maior teor de carbono orgânico entre as 6 amostras estudadas.

O gênero de leveduras *Leucosporidium* já foi reportado em geleiras dos alpes (TURCHETTI et al., 2013) e também no ártico (KOH et al., 2015). Brunati et al. (2009) encontraram o gênero no fundo de lagos da Antártica. Vaz e colaboradores (2011) também isolaram representantes do gênero a partir de solos e solo de rizosfera de *D. antarctica* na ilha Rei George. Ao contrário do verificado no presente estudo, Vianna (2016), ao analisar isolados de solos de diferentes ilhas do arquipélago das Shetland do Sul, verificou que o gênero *Leucosporidium* foi um dos menos abundantes. Duarte et al. (2016) também verificaram a presença do gênero em macroalgas marinhas nas ilhas Shetland do Sul (reportado como *Leucosporidiella*, renomeado para *Leucosporidium* segundo de García et al. (2015).

De acordo com Sampaio (2011), o gênero *Leucosporidium* deve ser considerado psicrotolerante, pois, com exceção de algumas linhagens de *L. scottii* capazes de crescer a 30°C, as outras espécies do gênero são incapazes de crescer a essa temperatura. Com ampla distribuição em ambientes polares e alpinos, leveduras do gênero *Leucosporidium* apresentam adaptações para o crescimento a baixas temperaturas, como um maior número de ácidos graxos insaturados na membrana plasmática (KEREKES; NAGY, 1980) e a produção de moléculas crioprotetoras, como por exemplo a acumulação de trealose no citoplasma, como estratégia para reduzir o ponto de congelamento do fluido intracelular (DEEGENAARS; WATSON, 1998). *Leucosporidium* apresentou abundâncias similares nas 6 amostras aqui estudadas, sugerindo que as espécies desse gênero são generalistas, capazes de crescer em ambientes com diferentes teores de carbono e nutrientes.

O gênero *Holtermanniella* já foi encontrado em geleiras dos alpes (TURCHETTI et al., 2013), no deserto do Atacama (PULSCHEN et al., 2015), em solos hipersalinos do Irã (MOKHTARNEJAD et al., 2016), em macroalgas antárticas (DUARTE et al., 2016) e no ártico (ZHANG et al., 2016). Carrasco et al. (2012) isolaram a espécie *Holtermanniella wattica* de solos da ilha Rei George. Este mesmo grupo também reportou a presença da espécie *Goffeauzyma gilvescens* em solos desta ilha. *G. gilvescens* foi isolada a partir de líquens da ilha Elefante (arquipélago das Shetland do Sul) (SANTIAGO et al. 2015), de geleiras dos alpes italianos (TURCHETTI et al., 2008) e do ártico (BUTINAR et al., 2007). No presente trabalho representantes desses gêneros foram obtidos de todas as amostras estudadas.

*Holtermanniella wattica* e *Holtermanniella festucosa* eram classificadas como *Cryptococcus watticus* e *C. festucosus*, respectivamente. Nos últimos anos, o gênero polifilético *Cryptococcus* teve muitas espécies renomeadas para outros gêneros, como as duas previamente citadas (WUCZKOWSKI et al., 2011). Liu e colaboradores (2015) relataram 2 novos gêneros para acomodar as espécies *Cryptococcus gastricus*, *C. gilvescens* e *C. victoriae*: os gêneros *Goffeauzyma* e *Vishniacozyma*. Desse modo, as espécies agora se chamam *Goffeauzyma gastrica*, *G. gilvescens* e *Vishniacozyma victoriae*, respectivamente.

Apesar do gênero *Penicillium* ser cosmopolita e comumente encontrado na antártica (MCRAE et al. 1999), no presente estudo esse gênero ocorreu em baixa

abundância nas amostras estudadas (presente em 4 das 6 amostras, porém com poucos indivíduos, n=5). O gênero *Cladosporium*, com ocorrência predominante em vários estudos na Antártica (ARENZ et al., 2006; BLANCHETTE et al., 2010; DING et al., 2016; GODINHO et al., 2015) também apresentou uma baixa abundância neste estudo, com apenas 8 isolados distribuídos em 3 amostras.

O ascomiceto não identificado 1 (ANI1) mostrou proximidade com o gênero *Rhizoscyphus* (Apêndice N), apresentando 99% de similaridade com a sequência disponível no banco de dados GenBank. No entanto, devido a apenas 87% de cobertura da sequência do banco de dados com a sequência gerada neste trabalho, o fungo foi considerado como não identificado. Este ascomiceto pode representar uma nova espécie, ou até mesmo um novo gênero, pois na árvore filogenética ficou distante das duas únicas espécies descritas do gênero *Rhizoscyphus*, *R. monotropae* (anteriormente *Hymenoscyphus monotropae*) e *R. ericae* (ZHANG; ZHUANG, 2004). Este gênero ocorre normalmente em raízes de plantas adaptadas ao frio, e é comum nas raízes de *C. quitensis* e *D. antarctica*, estando dentro do grupo conhecido como *dark septate endophytes* (fungos endofíticos negros septados) (UPSON et al., 2009).

Os ascomicetos não identificados 2 e 3 (ANI2 e ANI3) foram assim classificados pois os valores de *bootstrap* observados na árvore filogenética (Apêndice O) foram baixos. Além disso, o ANI2, apesar de apresentar 99% de similaridade com a sequência depositada no GenBank, teve apenas 86% das regiões entre as duas sequências comparadas.

Para o ANI4 foi observado baixos valores de *bootstrap* na árvore filogenética (Apêndice P). Além disso, as sequências do ANI4 apresentaram similaridade com dois gêneros distintos, *Pseudeurorium* e *Leuconeurospora*, quando comparadas às sequências disponíveis no GenBank. Desse modo, pode-se inferir que apenas o marcador ITS não é capaz de resolver a filogenia desse grupo, sendo necessário o uso de outros marcadores em estudos futuros.

Ao comparar as sequências do ANI5 com as sequências disponíveis no GenBank, foi obtida uma similaridade de 93% com a sequência de *Urceolella carestiana*, e 97% de cobertura da sequência de ANI5. Ao construir a árvore filogenética, foi observado que o ANI5 ficou muito distante de *U. carestiana*, podendo representar um novo gênero.

O ANI6 apresentou 100% de similaridade e cobertura de sequência tanto com sequências de *Candida davisiana* quanto com sequências do gênero *Leuconeurospora*. Como os isolados de ANI6 eram leveduras, e a filogenia de *Candida davisiana* não é bem resolvida, estes isolados foram considerados como não identificados.

Os isolados identificados como *Oidiodendron* sp. podem se tratar de espécies ainda desconhecidas pela ciência. Observando a árvore filogenética inferida para os isolados (Apêndice AA), é possível verificar que estes estão distantes das outras espécies de *Oidiodendron* presentes na árvore, e que a espécie mais próxima é *O. echinulatum*, apesar do baixo valor de *bootstrap*.

Todos os gêneros de fungos isolados neste estudo já foram reportados na Antártica, no entanto, alguns gêneros, como *Varicosporium*, *Laetinaevia* e *Pochonia* são pouco encontrados. *Varicosporium* é um gênero que comporta fungos hifomicetos com distribuição aquática e terrestre (BANDONI, 1972), foi reportado por apenas um estudo (GONÇALVES et al., 2012) dentre todos os estudos reportados na literatura consultada relacionada à Antártica. Espécies do gênero *Laetinaevia* crescem saprofiticamente sob plantas herbáceas (HEIN, 1976), e algumas sobre algas em decomposição (BARAL; RÄMÄ, 2015). Para esse gênero foi encontrado apenas um relato da ocorrência de uma espécie, *L. colobanathi*, em folhas e caule de *C. quitensis* na península Antártica (proximidades da base argentina de Primavera) (GAMUNDÍ; SPINEDI, 1988).

Para o gênero *Pochonia*, comumente isolado de solos e conhecido por parasitar nematódeos (NONAKA et al., 2013), foi observado, do mesmo modo, apenas um relato na literatura consultada sobre a ocorrência do gênero na Antártica (ARENZ; BLANCHETTE, 2011). Pelo exposto acima, considera-se que o conhecimento sobre a diversidade de espécies de fungos presentes na Antártica ainda é pequeno, mesmo com inúmeros estudos sobre o tema, e que estudos baseados em métodos independentes de cultivo podem contribuir ainda mais para o descobrimento de novas taxa para a ciência.

Poucos são os estudos sobre a microbiota presente no solo associado às raízes das duas únicas angiospermas que habitam a Antártica. Vaz e colaboradores (2011) isolaram 26 fungos partindo de 21 amostras de rizosfera de *D. antarctica*, compreendendo 12 taxa diferentes: *Candida sake*, *Cryptococcus antarcticus*,

*Cryptococcus victoriae* (hoje *Vishniacozyma victoriae*), *Debaryomyces hansenii*, *Dioszegia aurantiaca*, *D. crocea*, *D. hungarica*, *Dioszegia* sp., *Leucosneurospora* sp., *Leucosporidium creatinivorum*, *L. fragarium* e *L. muscorum*. Dois dos 10 locais de coleta de *D. antarctica* no estudo mencionado correspondem a dois locais de coleta no presente trabalho (Punta Plaza e Punta Hennequin). A diferença observada entre a composição das comunidades fúngicas no trabalho de Vaz e colaboradores e no presente trabalho, e o considerável menor número de isolados obtidos no trabalho de Vaz et al. (2011) podem ser devido às diferentes estratégias de isolamento. Vaz e colaboradores utilizaram apenas um meio de cultura e uma temperatura de isolamento, enquanto no trabalho em questão foram utilizados 4 diferentes meios de cultura e 2 temperaturas de isolamento.

Gonçalves et al. (2015), trabalhando similarmente com 21 amostras de solo de rizosfera de *D. antarctica*, obtiveram 40 isolados, totalizando 9 gêneros: *Pseudogymnoascus*, *Penicillium*, *Peniophora*, *Mortierella*, *Pestalotiopsis*, *Cosmospora*, *Simplicillium*, *Trichoderma* e *Gibberella*. A considerável diferença na riqueza de espécies e na composição das comunidades fúngicas entre o estudo de Gonçalves et al. e o presente trabalho também podem estar relacionadas às diferentes abordagens no isolamento dos micro-organismos e aos diferentes locais de coleta das plantas. Além de utilizar exclusivamente um meio de cultura e uma temperatura de incubação, o estudo citado empregou apenas uma diluição seriada.

Um dos fatores responsáveis por moldar as comunidades microbianas nos solos associados às raízes é o tipo de planta, e conseqüentemente, o tipo de exsudatos que ela libera (HAICHAR et al., 2008; HARTMANN et al., 2009; YAO; WU, 2010). Sendo assim, esperava-se que as duas espécies de plantas, *C. quitensis* e *D. antarctica*, teriam pelo menos uma pequena influência na seleção das comunidades fúngicas de seus solos adjacentes às raízes, mas foi observado que a estrutura da comunidade foi similar para o caso de amostras coletadas no mesmo local, independente da espécie vegetal, estando mais relacionada às características do solo do local do que à espécie de planta.

Santos-Gonzalez et al. (2011), Andrew et al. (2012) e De Ridder-Duine et al. (2005) consideram, no entanto, que os fatores abióticos do solo é que moldam as comunidades microbianas do solo associado às raízes das plantas. Glynou e colaboradores (2016), estudando fungos endofíticos da raiz de plantas do gênero



*Microthlaspi*, concluíram que os fatores que melhor descrevem a estrutura da comunidade microbiana estudada são fatores climáticos e espaciais, observados numa escala continental, e que as propriedades do solo parecem ter um efeito local restrito. Segundo Yergeau et al. (2007), a estrutura das comunidades microbianas no solo parece ser determinada pela localidade e/ou pelas condições ambientais específicas dependentes da localização. No presente trabalho não foram observadas grandes diferenças na composição da microbiota entre solos associados às raízes de *C. quitensis* e *D. antarctica*. Resultados similares foram reportados por Teixeira et al. (2010). Entretanto, foi observado no presente trabalho que na presença das plantas a comunidade fúngica variou entre os locais de coleta. As amostras 5 e 6 (solos associados às raízes das plantas *C. quitensis* e *D. Antarctica* – Punta Plaza) apresentaram comunidades mais ricas do que as das amostras 3 e 4 (solos associados às raízes das plantas *C. quitensis* e *D. Antarctica* – Punta Hennequin). Em adição, essas amostras apresentaram comunidades mais ricas do que as encontradas nos solos sem plantas (amostras 1 e 2). De acordo com Teixeira et al. (2013), a presença de plantas vasculares em solos da baía do Almirantado, na Antártica marítima, desempenha um papel importante na estrutura das comunidades bacterianas de solos antárticos.

Possíveis explicações para este fato podem ser o efeito rizosfera e propriedades do solo com maior influência que resultam na estrutura das comunidades fúngicas observadas. Um exemplo destes fatores é o teor de carbono presente nas amostras estudadas, sendo muito maior nas amostras de solos associados às raízes das plantas do que nas amostras de solo (com exceção da amostra 4, que contrariamente ao esperado, apresentou um baixo teor de carbono). A microbiota do solo, composta principalmente por micro-organismos heterotróficos, depende da oferta de carbono oferecida pelas raízes ao ambiente da rizosfera como fonte de energia, assim como fontes de nutrientes para seu crescimento e desenvolvimento (HARTMANN et al., 2009). As propriedades do solo que influenciaram a diferença de composição da comunidade observada foram as quantidades de alumínio e ferro, além do pH.

Um fator ambiental relacionado à composição da comunidade fúngica nos solos estudados foi a temperatura. Um maior número de isolados foi obtido a 15°C do que a 5°C, e o teste de análise de similaridade mostrou que houve diferença

significativa entre a composição das comunidades nas duas temperaturas. No entanto, o teste mostrou que o fator temperatura não foi suficientemente forte ( $R=0,476$ ) para influenciar, isoladamente, a diferença entre as comunidades observadas, o que sugere que apenas esse fator não explica as diferenças observadas, sendo necessário considerar outros fatores.

Dennis et al. (2012), estudando comunidades de solo ao longo de um transecto de várias ilhas na península Antártica, verificaram que a composição das comunidades fúngicas por eles estudadas não estava associada à latitude, sugerindo que a temperatura não é um fator chave na composição da comunidade fúngica de solos ao longo da península Antártica. Comparando os resultados de Dennis et al. (2012) com os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se inferir que a temperatura seja um fator significativo apenas em nível local (visto que os locais de coleta deste estudo estão todos localizados na mesma ilha e em torno da mesma baía), e que à medida que se analisa comunidades de solo em uma maior escala, esse fator passa a ser menos significativo.

Siciliano et al. (2014) verificaram que a fertilidade do solo (quantidade de matéria orgânica, nitrogênio e cloretos) desempenha um grande papel na determinação da riqueza e da equitabilidade das comunidades fúngicas em solos polares, e que o pH exerce uma menor influência nos fungos do que outros fatores edáficos. No presente trabalho observou-se que o teor de matéria orgânica, juntamente com a textura do solo, parecem exercer um efeito maior sobre a diversidade fúngica nos solos analisados, e que o pH exerce uma menor influência, o que está de acordo com os resultados reportados por Siciliano et al. (2014).

A presença de altos teores de ferro na amostra 1, obtidos através dos métodos de extração CDB e oxalato, pode explicar sua coloração amarelada. Os baixos valores de Fe e Al encontrados nas amostras 1 e 2 através da extração com pirofosfato podem ser devido ao fato de que este método extrai o Fe e Al que estão ligados à matéria orgânica, e como o teor de carbono presente nessas amostras é muito baixo, infere-se que a quantidade de matéria orgânica também o é, e portanto, seus teores variam em função da quantidade deste material nos solos (PARFITT; CHILDS, 1988). O maior teor de carbono orgânico encontrado nas amostras de solos associados às raízes das plantas é possivelmente explicado pelo fato de que as plantas liberam exsudatos ricos em carbono em sua rizosfera.

As amostras de solos (1 e 2) apresentaram as maiores frações de areia em relação às outras amostras, e estas foram as amostras com menor diversidade dentre as amostras estudadas. As amostras 3 e 5 apresentaram frações semelhantes de areia e silte, enquanto as amostras 4 e 6 apresentaram maiores frações de silte e silte/argila, respectivamente. Estas quatro amostras foram as que apresentaram as maiores diversidades dentre as seis amostras estudadas. Outros estudos apresentaram resultados similares. Sessitsch et al. (2001) verificaram que a estrutura da comunidade microbiana de solos foi significativamente afetada pelo tamanho das partículas, resultando numa maior diversidade microbiana em frações menores (silte e argila) do que em frações mais grosseiras (areia). Zhang et al. (2007) observaram o mesmo efeito estudando solos de arrozais na China. Estes autores verificaram que a maior riqueza de espécies e a maior diversidade nas frações menores do solo foi devido à proximidade entre os micro-organismos, ao acesso de fontes de carbono fora dos microagregados, e ao fato de que o menor tamanho dos poros serviu como agente protetor e ambiente mais adequado para os micro-organismos.

A heterogeneidade espacial vista na Antártica, imposta sobre fortes gradientes ambientais (CONVEY et al., 2014), parece também ser verdadeira em escala local. A composição e a diversidade das comunidades fúngicas encontradas neste trabalho variaram de acordo com a sua distribuição espacial, isto é, comunidades provenientes de amostras coletadas no mesmo local são mais semelhantes entre si do que entre amostras coletadas em locais diferentes, mostrando que existe uma alta diversidade beta na região analisada (Figura 11).

### **6.3 Obtenção de micro-organismos com potencial biotecnológico**

A grande maioria dos isolados considerados positivos na triagem qualitativa (em meio sólido) foram isolados a 15°C e são provenientes de solos associados às raízes das duas plantas. Embora neste estudo não tenha sido observada uma provável atividade de lacase para nenhuma das leveduras isoladas, Vishniac (1996) reportou que linhagens de *Cryptococcus* isoladas da Antártica são produtoras de lacase, dentre outras enzimas. Em estudo conduzido com 160 fungos filamentosos isolados de diferentes substratos antárticos (madeira, estrela-do-mar, sedimento

marinho, líquen, alga), Barato (2014) verificou que 29 possuíam provável atividade de lacase, utilizando o mesmo método de triagem do presente estudo. Baublis et al. (1991) isolaram um fungo ligninolítico predominantemente tropical, *Pycnoporus coccineus*, em um cadáver de pinguim mumificado em um dos *Dry Valleys* antárticos.

Ainda são poucos os trabalhos que tentam acessar o potencial enzimático de fungos da Antártica. Loperena et al. 2012, trabalhando com bactérias, fungos filamentosos e leveduras, verificaram seu potencial de proteases, lipases, amilases, pectinases, celulases, xilanases, sendo a produção de ligninases (MnP, LiP e lacase) verificada somente para bactérias. Em adição, Duncan e colaboradores (2008) reportaram o potencial celulolítico de fungos isolados da ilha Ross.

De acordo com a literatura consultada há apenas um relato da produção de enzimas ligninolíticas por fungos da Antártica. A maior atividade de LiP em fungos da Antártica reportada por Barato (2014) foi de 2,25 U L<sup>-1</sup> (produzida por um fungo filamentoso isolado de amostra de osso de baleia, identificado como *Cosmospora* sp.). A maior atividade de lacase (3,68 U L<sup>-1</sup>) foi obtida por um isolado proveniente de amostra de madeira, identificado como *Cadophora malorum*. Ao contrário dos resultados obtidos no presente estudo, a enzima com as maiores atividades no estudo de Barato (2014) foi a MnP. Até o presente momento, não foi encontrado na literatura nenhum estudo reportando triagem e produção de enzimas ligninolíticas em solos associados às raízes de *D. antarctica* e *C. quitensis*.

## 7 CONCLUSÕES

A metodologia utilizada para o isolamento dos fungos de solos antárticos foi satisfatória, sendo possível recuperar um alto número de isolados das amostras estudadas. A temperatura de isolamento na qual foi possível recuperar o maior número de isolados foi a de 15°C, e o maior número de isolados obtidos foi de fungos filamentosos. O isolamento seletivo resultou na obtenção de 35 isolados com potencial para a produção de lacase. Dentre esses, 3 isolados apresentaram atividade enzimática para a enzima LiP, com valores iguais e/ou maiores que 1 U.L<sup>1</sup>.

Os 667 isolados estudados foram separados em 39 diferentes taxa, e os gêneros mais frequentes foram *Pseudogymnoascus* e *Leucosporidium*. As amostras de solo associado às raízes das duas plantas apresentaram alta riqueza de espécies e alta diversidade em comparação com as amostras de solo. A diversidade beta da região foi considerável, dado que diferentes locais apresentaram um menor compartilhamento de espécies.

As análises multivariadas mostraram um claro padrão de agrupamento da composição taxonômica das comunidades dos solos com relação aos seus locais de coleta, sendo a textura dos solos e seus teores de carbono possíveis fatores chaves na determinação dessas comunidades. Outro fator que pareceu ser determinante para a diversidade fúngica nos solos amostrados foi o fator rizosfera. Surpreendentemente, não houve diferença significativa entre as comunidades microbianas em relação ao tipo de planta, indicando que parecem ser as condições locais e o tipo de solo que influenciam na composição da comunidade. Houve diferença significativa das comunidades de micro-organismos em relação à sua temperatura de isolamento, no entanto, este fator não apresentou uma grande relevância para explicar a diferença observada.

No presente trabalho foram isoladas possíveis novas espécies e novos gêneros de fungos, que poderão ser descritos em estudos futuros, aumentando o conhecimento sobre a diversidade de fungos antárticos, além de permitir a exploração de novos compostos de interesse que estes fungos podem produzir.

Visto que o ambiente antártico é uma rica fonte de recursos genéticos, a coleção de fungos obtida no presente trabalho poderá ser utilizada em estudos futuros para a obtenção de compostos com possível aplicação biotecnológica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, J. M. G. C. F. Yeast community survey in the Tagus estuary. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 53, n. 2, p. 295-303, 2005.
- ANDREW, D. R.; FITAK, R. R.; MUNGUÍA-VEGA, A.; RACOLTA, A.; MARTINSON, V. G.; DONTSOVA, K. Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 21, p. 7527-7537, 2012.
- ANTARCTIC TREATY SECRETARIAT. **Parties**, 2011. Disponível em <[www.ats.aq/devAS/ats\\_parties.aspx?lang=e](http://www.ats.aq/devAS/ats_parties.aspx?lang=e)>. Acesso em: 28 de março de 2017.
- ANTONIOLLI, Z. I.; KAMINSKI, J. Micorrizas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 21, n. 3, p. 441-455, 1991.
- ARENZ, B.E., HELD, B.H., JURGENS, J.A., FARRELL, R.L., BLANCHETTE, R.A. Fungal diversity in soils and historic wood from the Ross Sea Region of Antarctica. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 38, n. 10, p. 3057–3064, 2006.
- ARENZ, B. E.; BLANCHETTE, R. A. Distribution and abundance of soil fungi in Antarctica at sites on the Peninsula, Ross Sea Region and McMurdo Dry Valleys. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 43, p. 308-315, 2011.
- ARORA, D. S.; GILL, P. K. Comparison of two assay procedures for lignin peroxidase. **Enzyme and Microbial Technology**, Nova Iorque, v. 28, n. 7-8, p. 602-605 2001.
- BANDONI, R. J. Terrestrial occurrence of some aquatic hyphomycetes. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 50, n. 11, p. 2283-2288, 1972.
- BARAL, H. O.; RĂMĂ, T. Morphological update on *Calycina marina* (Pezizellaceae, Helotiales, Letiomycetes), a new combination for *Laetinaevia marina*. **Botanica Marina**, Hamburgo, v. 58, n. 6, p. 523-534, 2015.
- BARATO, M. B. **Fungos derivados da Antártica: biodiversidade e produção de enzimas lignocelulósicas a baixas e médias temperaturas**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2014.
- BARRIENTOS-DÍAZ, L.; GIDEKEL, M.; GUTIÉRREZ-MORAGA, A. Characterization of rhizospheric bacteria isolated from *Deschampsia antarctica* Desv. **World Journal of Microbial Biotechnology**, Kanpur, v. 24, p. 2289-2296, 2008.
- BAUBLIS, J. A.; WHARTON JR., R. A.; VOLZ, P- A. Diversity of micro-fungi in an Antarctic dry valley. **Journal of Basic Microbiology**, Weinheim, v. 31, n. 1, p. 3-12, 1991.
- BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa:, SBCS, 2006. 85p.
- BERRÍOS, G.; CABRERA, G.; GIDEKEL, M.; GUTIÉRREZ-MORAGA, A. Characterization of a novel Antarctic plant growth-promoting bacterial strain and its interaction with Antarctic hair grass (*Deschampsia antarctica* Desv). **Polar Biology**, Järfälla, v. 36, n. 3, p. 349-362, 2013.
- BLANCHETTE, R. A.; HELD, B. W.; ARENZ, B. E.; JURGENS, J. A.; BALTES, N. J.; DUNCAN, S. M.; FARRELL, R. L. An Antarctic hot spot for fungi at Shackleton’s historic hut on Cape Royds. **Microbial Ecology**, Nova Iorque, v. 60, n. 1, p. 29-38, 2010.

- BÖLTER, M.; BEYER, L.; STONEHOUSE, B. Antarctic Coastal Landscapes: Characteristics, Ecology and Research. In: BEYER, L.; BÖLTER, M. **Geocology of Antarctic Ice-free coastal landscapes**. Berlin: Springer-Verlag, 2002. p. 154-194.
- BRIDGE, P. D.; SPONER, B. M. Non-lichenized Antarctic Fungi: transient visitors or members of a cryptic ecosystem? **Fungal Ecology**, Londres, v. 5, n. 4, p. 381-394, 2012.
- BRITISH ANTARCTIC SURVEY. **The Antarctic Treaty**, 2015. Disponível em <<http://www.antarctica.ac.uk>>. Acesso em 28 de março de 2017.
- BRUNATI, M.; ROJAS, J. L.; SPONGA, F.; CICILIATO, I.; LOSI, D.; GÖTTLICH, E.; DE HOOG, S.; GENILLOUD, O.; MARINELLI, F. Diversity and pharmaceutical screening of fungi from benthic mats of Antarctic lakes. **Marine Genomics**, Amsterdã, v. 2, n. 1, p. 43-50, 2009.
- BUSWELL, J. K., CAI, Y. J.; CHANG, S.T. Effect of nutrient nitrogen on manganese peroxidase and lacase production by *Lentinula (Lentinus) edodes*. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdã, v.128, n. 1, p.81-87, 1995.
- BUTTIGIEG, P. L.; RAMETTE, A. A guide to statistical analysis in microbial ecology: a community-focused, living review of multivariate data analyses. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 90, n. 3, p. 543–550, 2014.
- BUTINAR, L.; SPENCER-MARTINS, I.; GUNDE-CIMERMAN, N. Yeasts in high Arctic glaciers: the discovery of a new habitat for eukaryotic microorganisms. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdã, v. 91, n. 3, p. 277-289, 2007.
- BUZZINI, P.; BRANDA, E.; GORETTI, M.; TURCHETTI, B. Psychrophilic yeasts from worldwide glacial habitats: diversity, adaptation strategies and biotechnological potential. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 82, n. 2, p. 217-241, 2012.
- CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física dos Solos do Instituto Agronômico de Campinas. **Boletim Técnico n° 106**. Campinas: Instituto Agronômico, 2009. 77 p.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. 221 p.
- CARDOSO, E. J. B. N.; NOGUEIRA, M. A. A rizosfera e seus efeitos na comunidade microbiana e na nutrição de plantas. In: SILVEIRA, A.P.D.; FREITAS, S. S. (Eds.). **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007.
- CARRASCO, M.; ROZAS, J. M.; BARAHONA, S.; ALCAÍÑO, J.; CIFUENTES, V.; BAEZA, M. Diversity and extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from King George Island, the sub-Antarctic region. **BMC Microbiology**, Londres, v, 12, n. 251, 2012.
- CAVICCHIOLI, R.; SIDDIQUI, K. S.; ANDREWS, D.; SOWERS, K. R. Low-temperature extremophiles and their applications. **Current Opinion in Biotechnology**, Londres, v. 13, n. 3, p. 253-261, 2002.
- CHAO, A.; CHAZDON, R. L.; COLWELL, R. K.; SHEN, T-J. A new statistical approach for assessing similarity of species composition with incidence and abundance data. **Ecology Letters**, Oxford, v. 8: 148-159, 2005.
- CLARKE, A. Evolution, Adaptation And Diversity: Global Ecology In An Antarctic Context. In: HUISKES, A. H. L.; GIESKES, W. W. C.; ROZEMA, J.; SCHORNO, R. M. L.; VAN DER VIES, S. M.; WOLFF, W. J. (Eds.). **Antarctic Biology in a Global Context**, Leiden: Backhuys Publishers, 2003.p. 3-17, 2003.
- COLLINS, T.; ROULLING, F.; PIETTE, F.; MARX, J. C.; FELLER, G.; GERDAY, C.; D'AMICO, S. Fundamentals of cold-adapted enzymes. In: MARGESIN, R.; SCHINNER, F.; MARX, J. C.; GERDAY,

C. (Eds.). **Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology**. Berlím: Springer Verlag, 2008. p. 211-227.

COLWELL, R. K. **Estimate S: Statistical estimation of species richness and shared species from samples**. Version 9. Persistent URL <purl.oclc.org/estimates>, 2013.

CONNELL, L.; REDMAN, R.; CRAIG, S.; RODRIGUEZ, R. Distribution and abundance of fungi in the soils of Taylor Valley, Antarctica. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 38, n. 10, p. 3083-3094, 2006.

CONNELL, L.; REDMAN, R.; CRAIG, S.; SCORZETTI, G.; ISZARD, M.; RODRIGUEZ, R. Diversity of soil yeasts isolated from South Victoria Land, Antarctica. **Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 56, n. 3, p. 448-459, 2008.

CONVEY, P.; CHOWN, S. L.; CLARKE, A.; BARNES, D. K. A.; BOKHORST, S.; CUMMINGS, V.; DUCKLOW, H. W.; FRATI, F.; GREEN, T. G. A.; GORDON, S.; GRIFFITHS, H. J.; HOWARD-WILLIAMS, C.; HUISKES, A. H. L.; LAYBOURN-PARRY, J.; LYONS, W. B.; MCMINN, A.; MORLEY, S. A.; PECK, L. S.; QUESADA, A.; ROBINSON, S. A.; SCHIAPARELLI, S.; WALL, D. H. The spatial structure of Antarctic biodiversity. **Ecological Monographs**, Lawrence, v. 84, n. 2, p. 203-244, 2014.

COOK, R. J.; THOMASHOW, L. S.; WELLER, D. M.; FUJIMOTO, D.; MAZZOLA, M.; BANGERA, G.; KIM, D. S. Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 92, p. 4197-4201, 1995.

COWAN, D. A.; KHAN, N.; POINTING, S.; CARY, S. C. Diverse hypolithic refuge communities in the McMurdo Dry Valleys. **Antarctic Science**, Oxford, v. 22, n. 6, p. 714-720, 2010.

COWAN, D. A.; MAKHALANYANE, T. P.; DENNIS, P. G.; HOPKINS, D. W. Microbial ecology and biogeochemistry of continental antarctic soils. **Frontiers in Microbiology**, Lausana, v. 5, n. 154, p. 1-10, 2014.

DEEGENAARS, M. L.; WATSON, K. Heat-shock response in psychrophilic and psychrotrophic yeast from Antarctica. **Extremophiles**, Tóquio, v. 2, n. 1, p. 41-49, 1998.

DE GARCÍA, V.; COELHO, M. A.; MAIA, T. M.; ROSA, L. H.; VAZ, A. M.; ROSA, C. A.; SAMPAIO, J. P.; GONÇALVES, P.; VAN BROOCK, M.; LIBKIND, D. Sex in the cold: taxonomic reorganization of psychrotolerant yeasts in the order Leucosporidiales. **FEMS Yeast Research**, Amsterdã, v. 15, n. 4, p. 1-12 (fov019), 2015.

DE MENEZES, G. C. A.; GODINHO, V. M.; PORTO, B. A.; GONÇALVES, V. N.; ROSA, L. H. *Antarctomyces pellizariae* sp. nov., a new, endemic, blue, snow resident psychrophilic ascomycete fungus from Antarctica. **Extremophiles**, Tóquio, v. 21, n. 2, p. 259-269, 2017.

DENNIS, P. G.; MILLER, A. J.; HIRSCH, P. R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 72, n. 3, p. 313-327, 2010.

DENNIS, P. G.; RUSHTON, S. P.; NEWSHAM, K. K.; LAUDUCINA, V. A.; ORD, V. J.; DANIELL, T. J.; O'DONNELL, A. G.; HOPKINS, D. W. Soil fungal community composition does not alter along a latitudinal gradient through the maritime and sub-Antarctic. **Fungal Ecology**, Londres, v. 5, n. 4, p. 403-408, 2012.

DE RIDDER-DUINE, A. S.; KOWALCHUK, G. A.; GUNNEWIEK, P. J. A. K.; SMANT, W.; VAN VEEN, J. A.; DE BOER, W. Rhizosphere bacterial community composition in natural stands of *Carex arenaria* (sand sedge) is determined by bulk soil community composition. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 37, n. 2, p. 349-357, 2005.

DEL FRATE, G.; CARETTA, G. Fungi isolated from Antarctic material. **Polar Biology**, Järfälla, v. 11, n. 1, p. 1-7, 1990.



- DENNIS, P. G.; RUSHTON, S. P.; NEWSHAM, K. K.; LAUDUCINA, V. A.; ORD, V. J.; DANIELL, T. J.; O'DONNELL, A. G.; HOPKINS, A. G. Soil fungal community does not alter along a latitudinal gradient through the maritime and sub-Antarctic. **Fungal Ecology**, Londres, v. 5, n. 4, p. 403-408, 2012.
- DI MENNA, M. E. Yeasts from Antarctica. **Journal of General Microbiology**, Londres, v. 23, 295-300. 1960.
- DING, Z.; LI, L.; CHE, Q.; LI, D.; GU, Q.; ZHU, T. Richness and bioactivity of culturable soil fungi from the Fildes Peninsula, Antarctica. **Extremophiles**, Tóquio, v. 20, n. 4, p. 425-435, 2016.
- DUARTE, A. W. F.; DAYO-OWOYEMI, I.; NOBRE, F.S.; PAGNOCCA, F. C.; CHAUD, L. S. C.; PESSOA JR, A.; FELIPE, M. G. A.; SETTE, L. D.; Taxonomic assessment and enzymes production by yeasts isolated from marine and terrestrial Antarctic samples. **Extremophiles**, Tóquio, v. 17, n. 6, p. 1023-1035, 2013.
- DUARTE, A. W. F.; PASSARINI, M. R. Z.; DELFORNO, T. P.; PELLIZZARI, F. M.; CIPRO, C. V. Z.; MONTONE, R. C.; PETRY, M. V.; PUTZKE, J.; ROSA, L. H.; SETTE, L. D. Yeasts from macroalgae and lichens that inhabit the South Shetland Islands, Antarctica. **Environmental Microbiology Reports**, Sussex do Oeste, v. 8, n. 5, p. 874-885, 2016.
- DUNCAN, S. M.; MINASAKI, R.; FARRELL, R. L.; THWAITES, J. M.; HELD, B. W.; ARENZ, B. E.; JURGENS, J. A.; BLANCHETTE, R. A. Screening fungi isolated from historic *Discovery* Hut on Ross Island, Antarctica for cellulose degradation. **Antarctic Science**, Oxford, v. 20, n. 5, p. 463-470, 2008.
- FELLER, G. Psychrophilic enzymes: from folding to function and biotechnology. **Scientifica**, Nova Iorque, v. 2013, p. 1-28, 2013.
- FELLER, G.; GERDAY, C. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v.1, p. 200-208, 2003.
- FURBINO, L. E.; GODINHO, V. M.; SANTIAGO, I. F.; PELLIZARI, F. M.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; JUNIOR, P. A. S.; ROMANHA, A. J.; CARVALHO, A. G. O.; GIL, L. H. V. G.; ROSA, C. A.; MINNIS, A. M.; ROSA, L. H. Diversity patterns, ecology and biological activities of fungal communities associated with the endemic macroalgae across the Antarctic Peninsula. **Microbial Ecology**, Nova Iorque, v. 67, p. 775-787, 2014.
- GAMUNDÍ, I. J.; SPINEDI, H. A. Ascomycotina from Antarctica. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 33, 467-482, 1988.
- GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Eds.). **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**. Nova Iorque: Academic Press, 1990. 482p.
- GERARDO, N. M.; MUELLER, U. G.; PRICE, S. L.; CURRIE, C. R. Exploiting a mutualism: parasite specialization on cultivars within the fungus-growing ant symbiosis. **Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences**, Edimburgo, v. 271 n. 1550, p. 1791-1798, 2004.
- GERDAY, C., AITTALEB, M., BENTAHIR, M., CHESSA, J., CLAVERIE, P., COLLINS, T., D'AMICO, S., DUMONT, J., GARSOUX, G., GEORLETTE, D., HOYOUX, A., LONHIENNE, T., MEUWIS, M., FELLER, G. Cold adapted Enzymes: from fundamentals to biotechnology. **Trends in Biotechnology**, Amsterdã, v. 18, n. 3, p. 103-107, 2000.
- GERDAY, C.; AITTALEB, M.; ARPIGNY, J. L.; BAISE, E.; CHESSA, J. P.; GARSOUX, G.; PETRESCU, I.; FELLER, G. Psychrophilic enzymes: a thermodynamic challenge. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology**, Amsterdã, v. 1342, n. 3, 119-131, 1997.
- GLYNOU, K.; ALI, T.; BUCH, A. K.; KIA, S. H.; PLOCH, S.; XIA, X.; ÇELIK, A.; THINES, M.; MACIÁ-VICENTE, J. G. The local environment determines the assembly of root endophytic fungi at a continental scale. **Environmental microbiology**, Washington, v. 18, n. 8, p. 2418-2434, 2016.

- GODINHO, V. M.; FURBINO, L. E.; SANTIAGO, I. F.; PELLIZZARI, F. M.; YOKOYA, N. S.; PUPO, D.; ALVES, T. M. A.; JUNIOR, P. A. S.; ROMANHA, A. J.; ZANI, C. L.; CANTRELL, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity and bioprospecting of fungal communities associated with endemic and cold-adapted macroalgae in Antarctica. **The ISME Journal**, Londres, v. 7, n. 7, p. 1434-1451, 2013.
- GODINHO, V. M.; GONÇALVES, V. N.; SANTIAGO, I. F.; FIGUEREDO, H. M.; VITORELI, G. A.; SCHAEFER, C. E. G. R.; BARBOSA, E. C.; OLIVEIRA, J. G.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; JUNIOR, P. A. S.; MURTA, S. M. F.; ROMANHA, A. J.; KROON, E. G.; CANTRELL, C. L.; WEDGE, D. E.; DUKE, S. O.; ALI, A.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity and bioprospection of fungal community present in oligotrophic soil of continental Antarctica. **Extremophiles**, Tóquio, v. 19, n. 3, p. 585-596, 2015.
- GONÇALVES, V. N.; CARVALHO, C. R.; JOHANN, S.; MENDES, G.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; JUNIOR, P. A. S.; MURTA, S. M. F.; ROMANHA, A. J.; CANTRELL, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Antibacterial, antifungal and antiprotozoal activities of fungal communities present in different substrates from Antarctica. **Polar Biology**, Järfälla, v. 38, n. 8, p. 1143-1152, 2015.
- GONÇALVES, V. N.; VAZ, A. B. M.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Diversity and distribution of fungal communities in lakes of Antarctica. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 82, n. 2, p. 459-471, 2012.
- HAICHAR, F. E. Z.; MAROL, C.; BERGE, O.; RANGEL-CASTRO, J. I.; PROSSER, J. I.; BALESSENT, J.; HEULIN, T.; ACHOUAK, W. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. **The ISME Journal**, Londres, v. 2, n. 12, p. 1221-1230, 2008.
- HALDAR, S.; SENGUPTA, S. Plant-microbe cross-talk in the rhizosphere: insight and biotechnological potential. **The Open Microbiology Journal**, Bussum, v. 9, p. 1-7, 2015.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, Columbia, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.
- HARTMANN, A.; SCHMID, M.; VAN TUINEN, D.; BERG, G. Plant-driven selection of microbes. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 321, n. 1, p. 235-257, 2009.
- HAYES, M. A. The *Geomyces* Fungi: ecology and distribution. **BioScience**, Washington, v. 62, n. 9, p. 819-823, 2012.
- HEIN, B. Revision der Gattung *Laetinaevia* Nannf. (Ascomycetes) und Neuordnung der Naevioideae. **Willdenowia**, Berlin, v. 9, p. 5-136, 1976.
- HENRÍQUEZ, M.; VERGARA, K.; NORAMBUENA, J.; BEIZA, A.; MAZA, F.; UBILLA, P.; ARAYA, I.; CHÁVEZ, R.; SAN MARTÍN, A.; DARIAS, J.; DARIAS, M. J.; VACA, I. Diversity of cultivable fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 30, n. 1, p. 65-76, 2014.
- HUSTON, A. L. Biotechnological aspects of cold-adapted enzymes. In: MARGESIN, R.; SCHINNER, F.; MARX, J. C.; GERDAY, C. (Eds.). **Psychrophiles: from biodiversity to biotechnology**. Berlin, Springer Verlag, 2008. p. 347-363.
- INFORSATO, F.J. **Fungos de sedimentos marinhos da Antártica: diversidade e prospecção de enzimas**. 2017. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2017.
- JONES, D. L.; NGUYEN, C.; FINLAY, R. D. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 321, n. 1, p. 5-33, 2009.

JOSEPH, B., RAMTEKE, P.W., THOMAS, G., SHRIVASTAVA, N. Standard review cold-active microbial lipases: a versatile tool for industrial applications. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, Lagos, v. 2, n. 2, p. 39-48, 2007.

JUMPPONEN, A.; NEWSHAM, K. K.; NEISES, D. J. Filamentous ascomycetes inhabiting the rhizoid environment of the liverwort *Cephaloziella varians* in Antarctica are assessed by direct PCR and cloning. **Mycologia**, Nova lorque, v. 95, n. 3, 457-466, 2003.

KEREKES, R.; NAGY, G. Membrane lipid composition of a mesophilic and psychrophilic yeast. **Acta Alimentaria**, Budapeste, v. 9 p. 93-98, 1980.

KIMURA, M. A simple model for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, Nova lorque, v. 16, n. 2, p. 111-120, 1980.

KOH, H. Y.; LEE, J. H.; HAN, S. J.; PARK, H.; LEE, S. G. Effect of the Antifreeze Protein from the Arctic Yeast *Leucosporidium* sp. AY30 on Cryopreservation of the Marine Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 175, n. 2, 677-686, 2015.

KUREK, E.; KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA, T.; SŁOMKA, A.; MELKE, J. Characteristics of soil filamentous fungi communities isolated from various micro-relief forms in the high Arctic tundra (Bellsund region, Spitsbergen). **Polish Polar Research**, Varsóvia, v. 28, n. 1, p. 57-73, 2007.

KURTZMAN, C. P.; ROBNETT, C. J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdã, v. 73, n. 4, p. 331-371, 1998.

LIU, X. Z.; WANG, Q. M.; GÖKER, M.; GROENEWALD, M.; KACHALKIN, A. V.; LUMBSCH, H. T.; MILLANES, A. M.; WEDIN, M.; YURKOV, A. M.; BOEKHOUT, T.; BAI, F. Y. Towards an integrated phylogenetic classification of the *Tremellomycetes*. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 81, p. 85-147, 2015.

LOPERENA, L.; SORIA, V.; VARELA, H.; LUPO, S.; BERGALLI, A.; GUIGOU, M.; PELLEGRINO, A.; BERNARDO, A.; CALVIÑO, A.; RIVAS, F.; BATISTA, S. Extracellular enzymes produced by microorganisms isolated from maritime Antarctica. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 28, n. 5, p. 2249-2256, 2012.

LUDLEY, K. E.; ROBINSON, C. H. 'Decomposer' Basidiomycota in Arctic and Antarctic ecosystems. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 40, n. 1, p. 11-29, 2008.

MACIEL, M. J. M.; SILVA, A. C.; RIBEIRO, H. C. T. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso, v. 13, n. 6, p.1-13, 2010.

MARÍA, P.D., CARBONI-OERLEMANS, C., TUIN, B., BARGEMAN, G., MEER, A., GEMERT, R. Biotechnological applications of *Candida antarctica* lipase A: State-of-the-art. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdã, v. 37, n. 1-6, p. 36-46, 2005.

MCRAE, C. F.; HOCKING, A. D.; SEPPELT, R. D. *Penicillium* species from terrestrial habitats in the Windmill Islands, East Antarctica, including a new species, *Penicillium antarcticum*. **Polar Biology**, Järfälla, v. 21, n. 2, p. 97-111, 1999.

MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdã, v. 37, n. 5, p. 634-663, 2013.

MEYER, W.; MITCHELL, T. G.; FREEDMAN, E. Z.; VILGALYS, R. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 31, n. 9, 2274-2280, 1993.

- MOKHTARNEJAD, L.; ARZANLOU, M.; BABAI-AHARI, A.; DI MAURO, S.; ONOFRI, A.; BUZZINI, P.; TURCHETTI, B. Characterization of basidiomycetous yeasts in hypersaline soils of the Urmia Lake National Park, Iran. **Extremophiles**, Tóquio, v. 20, n. 6, p. 915-928, 2016.
- MÖLLER C.; DREYFUSS M.M. Microfungi from Antarctic lichens, mosses and vascular plants. **Mycologia**, Nova Iorque, n. 88, p. 922-933. 1996.
- MÖLLER, E. M.; BAHNWEIG, G.; SANDERMANN, H.; GEIGER, H. H. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 20, n. 22, p. 6115-6116, 1992.
- NETO, J. A. **Determinação e interpretação de características glaciológicas e geográficas com sistema de informações geográficas na Área Antártica Especialmente Gerenciada Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Antártica**. 2001. 98p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- NOBRE, F.S. **Atividade lipolítica e biodiversidade de fungos filamentosos derivados da Antártica**, 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- NONAKA, K.; OMURA, S.; MASUMA, R. KAIFUCHI, S.; MASUMA, R. Three new *Pochonia* taxa (Clavicipitaceae) from soils in Japan. **Mycologia**, Nova Iorque, v. 105, n. 5, 1202-1218, 2013.
- ONOFRI, S.; SELBMANN, L.; ZUCCONI, L.; PAGANO, S. Antarctic microfungi as models for exobiology. **Planetary and Space Science**, Elmsford, v. 52, n. 1-3, p. 229-237, 2004.
- OZERSKAYA, S.; KOCHKINA; IVANUSHKINA, N.; GILICHINSKY, D. A. Fungi in permafrost. In: MARGESIN, R. (Ed.). **Permafrost Soils**. Berlim: Springer-Verlag, 2009. pp. 85-95. (Soil Biology, v. 16).
- PANNU, J. S.; KAPOOR, R. K.; Microbial laccases: a mini-review on their production, purification and applications. **International Journal of Pharmaceutical Archive**, Mandsaur, v. 3, n. 12, p. 528-536, 2014.
- PARFITT, R. L.; CHILDS, C. W. Estimation of forms of Fe and Al: a review, and analysis of contrasting soils by dissolution and Moessbauer methods. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne, v. 26, n. 1, 121-144, 1988.
- PEAT, H. J.; CLARKE, A.; CONVEY, P. Diversity and biogeography of the Antarctic flora. **Journal of Biogeography**, Oxford, v.34, n. 1, p. 132-146, 2007.
- PETIT, J. R.; ALEKHINA, I.; BULAT, S. Lake Vostok, Antarctica: Exploring a subglacial lake and searching for life in an extreme environment. In: GARGAUD, M. et al. **Lectures in Astrobiology**. Vol. 1. Nova Iorque: Springer, 2005. p. 227-288. (Advances in Astrobiology and Biogeophysics).
- PHILIPPOT, L.; RAAIJMAKERS, J. M.; LEMANCEAU, P.; VAN DER PUTTEN, W. H. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. **Nature Reviews: Microbiology**, Londres, v. 11, p. 789-799, 2013.
- POINTING, S. B., CHAN, Y., LACAP, D. C., LAU, M. C., JURGENS, J. A., FARRELL, R. L. Highly specialized microbial diversity in hyper-arid polar desert. **Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 106, n. 47, p. 19964–19969, 2009.
- PULSCHEN, A. A.; RODRIGUES, F.; DUARTE, R. T. D.; ARAUJO, G. G.; SANTIAGO, I. F.; PAULINO-LIMA, I. G.; ROSA, C. A.; KATO, M. J.; PELLIZARI, V. H.; GALANTE, D. UV-resistant yeasts isolated from a high-volcanic area on the Atacama Desert as eukaryotic models for astrobiology. **MicrobiologyOpen**, Sussex do Oeste, v. 4, n. 4, p. 574-588, 2015.

- RAAIJMAKERS, J. M.; PAULITZ, C. T.; STEINBERG, C.; ALABOUVETTE, C.; MOENNE-LOCCOZ, Y. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 321, n. 1, p. 341-361, 2009.
- RAGUÉNÈS, G., CHRISTEN, R., GUEZENNEC, J., PIGNET, P., BARBIER, G. *Vibrio diabolicus* sp. nov., a new polysaccharide-secreting organism isolated from a deep-sea hydrothermal vent polychaete annelid, *Alvinella pompejana*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Londres, v. 47, n. 4, p. 989-995, 1997.
- RAY, M.K., SHIVAJI, S., SHYAMAIA-RAO, N., BHARGAVA, P.M. Yeast strains from the Schirmacher Oasis Antarctica. **Polar Biology**, Järfälla, v. 9, n. 5, p. 305-309, 1989.
- REYNOLDS, H. T.; BARTON, H. A. Comparison of the white-nose syndrome agent *Pseudogymnoascus destructans* to cave-dwelling relatives suggests reduced saprotrophic enzyme activity. **PLOS ONE**, São Francisco, v. 9, n. 1, p. e86437, 2014.
- ROSA, L. H.; VAZ, A. B. M.; CALIGIORNE, R. B.; CAMPOLINA, S.; ROSA, C. A. Endophytic fungi associated with the Antarctic grass *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae). **Polar Biology**, Järfälla, v. 32, n. 2, p.161-167, 2009.
- ROSA, L. H.; VIEIRA, M. L. A.; SANTIAGO, I. F.; ROSA, C. A. Endophytic fungi community associated with the dicotyledonous plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae) in Antarctica. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 73, n. 1, p. 178-189, 2010.
- ROYLES, J.; AMESBURY, M. J.; CONVEY, P.; GRIFFITHS, H.; HODGSON, D. A.; LENG, M. J.; CHARMAN, D. J. Plants and soil microbes respond to recent warming on the Antarctic Peninsula. **Current Biology**, Londres, v. 23, n. 17, p. 1702-1706, 2013.
- RUISI, S., BARRECA, D.; SELBMANN, L.; ZUCCONI, L.; ONOFRI, S. Fungi in Antarctica. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, Amsterdã, v. 6, 127–141, 2007.
- SAMPAIO, J. P. *Leucosporidium* Fell, Statzell, I. L. HUNTER-PHAFF (1969). In: KURTZMAN, C.P., FELL, J.; BOEKHOUT (Eds.). **The Yeasts: a taxonomic study**. 5 ed. Amsterdã: Elsevier, 2011. p. 1485–1494. (v. 3, parte vb).
- SAMPAIO, J. P.; GADANHO, M.; SANTOS, S.; DUARTE, F. L.; PAIS, C.; FONSECA, A.; FELL, J. W. Polyphasic taxonomy of the basidiomycetous yeast genus *Rhodosporidium*: *Rhodosporidium kratochvilovae* and related anamorphic species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, p. 687-697, 2001.
- SANTIAGO, I. F.; ALVES, T. M. A.; RABELLO, A.; SALES-JUNIOR, P. A.; ROMANHA, A. J.; ZANI, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Leishmanicidal and antitumoral activities of endophytic fungi associated with the Antarctic angiosperms *Deschampsia antarctica* Desv. and *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. **Extremophiles**, Tóquio, v. 16, n.1, p. 95-103, 2012.
- SANTIAGO, I. F.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Endophytic symbiont yeasts associated with the Antarctic angiosperms *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*. **Polar Biology**, Järfälla, v. 40, n. 1, p. 177-183, 2017.
- SANTIAGO, I. F.; SOARES, M. A.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. Lichensphere: a protected natural microhabitat of the non-lichenised fungal communities living in extreme environments of Antarctica. **Extremophiles**, Tóquio, v.19, n. 6: 1087-1097, 2015.
- SANTOS-GONZALEZ, J. C.; NALLANCHAKRAVARTHULA, S.; ALSTRÖM, S.; FINLAY, R. D. Soil, but not cultivar, shapes the structure of arbuscular mycorrhizal fungal assemblages associated with strawberry. **Microbial Ecology**, Nova Iorque, v. 62, n. 1, p. 25-35, 2011.
- SCHUUR, E. A. G.; BOCKHEIM, J.; CANADELL, J. G.; EUSKIRCHEN, E.; FIELD, C. B.; GORYACHKIN, S. V.; HAGEMANN, S.; KUHR, P.; LAFLEUR, P. M.; LEE, H.; MAZHITOVA, G.; NELSON, F. E.; RINKE, A.; ROMANOVSKY, V. E.; SHIKLOMANOV, N.; TARNOCAL, C.; VENEVSKY,

S.; VOGEL, J. G.; ZIMOV, S. A. Vulnerability of Permafrost Carbon to Climate Change: Implications for the global carbon cycle. **BioScience**, Washington, v. 58, n. 8, p. 701-714, 2008.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON ANTARCTIC RESEARCH. Protocol on Environmental Protection to the Antarctic Treaty, with annexes. **Polar Record**, Cambridge, v. 29, n. 170, p. 256-275, SCAR Bulletin 110, 1993.

SESSITSCH, A.; WEILHARTER, A.; GERZABEK, M. H.; KIRCHMANN, H.; KANDELER, H. Microbial Population Structures in Soil Particle Size Fractions of a Long-Term Fertilizer Field Experiment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 9, 4215-4224, 2001.

SETTE, L.D.; OLIVEIRA, V.M.; RODRIGUES, M.F.A. Microbial lignocellulolytic enzymes: industrial applications and future perspectives. **Microbiology Australia**, Melbourne, v. 29: 18-20, 2008.

SHARMA, J.R. Mycological studies at Antarctica. Seventeenth Indian Expedition to Antarctica, **Scientific Report 2000**, Department of Ocean Development, Technical Publication 15, 165-168, 2000.

SICILIANO, S. D.; PALMER, A. S.; WINSLEY, T.; LAMB, E.; BISSETT, A.; BROWN, M. V.; VAN DORST, J.; JI, M.; FERRARI, B. C.; GROGAN, P.; CHU, H.; SNAPE, I. Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community in polar soil microbial communities. **Soil Biology & Biochemistry**, Elmsford, v. 78, p. 10-20, 2014.

SIMÕES, J. C. O ambiente antártico: domínio de extremos. In: SIMÕES, J. C. (Ed.). **Antártica e as mudanças globais, um desafio para a humanidade**. São Paulo: Blucher, 2011, p. 15-27. (Série Sustentabilidade).

SIMÕES, J. C.; ARIGONY-NETO, J.; BREMER, U. F. O uso de mapas antárticos em publicações. **Pesquisa Antártica Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 191-197, 2004.

SINGH, S. M., PUJA, G. BHAT, D. J. Psychrophilic fungi from Schirmacher Oasis, East Antarctica. **Current Science**, Bangalore, v. 90, n. 10, p. 1388-1392, 2006.

SØRENSEN, J. The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. In: ELSAS, J. D. V.; TREVORS, J. T.; WELLINGTON, E. M. H. **Modern Soil Microbiology**. Vol. 56. Nova Iorque: Marcel Dekker Incorporated, 1997. p. 21-45.

SOUZA, L. A. B.; FILHO, G. N. S.; OLIVEIRA, V. L. Eficiência de fungos ectomicorrízicos na absorção de fósforo e na promoção do crescimento de eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 349-355, 2004.

TEIXEIRA, L. C. R. S.; PEIXOTO, R. S.; CURY, J. C.; SUL, W. J.; PELLIZARI, V. H.; TIEDJE, J.; ROSADO, A. S. Bacterial diversity in rhizosphere soil from antarctic vascular plants of Admiralty Bay, maritime Antarctica. **The ISME Journal**, Londres, v. 4, 989-1001, 2010.

TEIXEIRA, L. C. R. S.; YEARGEAU, E.; BALIEIRO, F. C.; PICCOLO, M. C.; PEIXOTO, R. S.; GREER, C. W.; ROSADO, A. S. Plant and bird presence strongly influences the microbial communities in soils of Admiralty Bay, maritime Antarctica. **PLOS ONE**, São Francisco, v. 8, n. 6, e66109, 2013.

THOMAS-HALL, S. R.; TURCHETTI, B.; BUZZINI, P.; BRANDA, E.; BOEKHOUT, T.; THEELEN, B.; WATSON, K. Cold-adapted yeasts from Antarctica and the Italian Alps – description of three novel species: *Mrakia robertii* sp. nov., *Mrakia blollopis* sp. nov. and *Mrakiella niccombsii* sp. nov. **Extremophiles**, Tóquio, v. 14, n. 1, p. 47-59, 2010.

TOSI, S.; CASADO, B.; GERDOL, R.; CARETTA, G. Fungi isolated from Antarctic mosses. **Polar Biology**, Järfälla, v. 25, n. 4, p. 262-268, 2002.

TSUJI, M.; UETAKE, J.; TANABE, Y. Changes in the fungal community of Austre Broggerbreen deglaciation area, Ny-Alesund, Svalbard, High Arctic. **Mycoscience**, Tóquio, v. 57, n. 6, p. 448-451, 2016.

TURCHETTI, B.; BUZZINI, P.; GORETTI, M.; BRANDA, E.; DIOLAIUTI, G.; D'AGATA, C.; SMIRAGLIA, C.; VAUGHAN-MARTINI, A. Psychrophilic yeasts in glacial environments of Alpine glaciers. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 63, n. 1, p. 73-83, 2008.

TURCHETTI, B.; GORETTI, M.; BRANDA, E.; DIOLAIUTI, G.; D'AGATA, C.; SMIRAGLIA, C.; ONOFRI, A.; BUZZINI, P. Influence of abiotic variables on culturable yeast diversity in two distinct Alpine glaciers. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 86, n. 2, p. 327-340, 2013.

TURKIEWICZ, M., PAZGIER, M., DONACHIE, S.P., KALINOWSKA, H. Invertase and glucosidase production by the endemic Antarctic marine yeast *Leucosporidium antarcticum*. **Polish Polar Research**, Varsóvia, v. 26, n. 2, p. 125-136, 2005.

UPSON, R.; NEWSHAM, K. K.; BRIDGE, P. D.; PEARCE, D. A.; READ, D. J. Taxonomic affinities of dark septate root endophytes of *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica*, the two native Antarctic vascular plant species. **Fungal Ecology**, Londres, v. 2, n. 4, p. 184-196, 2009.

URAMOTO, K., WALDER, J. M. M., ZUCCHI, R. A. Análise quantitativa e distribuição de populações de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) no Campus Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 1: 033-039, 2005.

VACA, I.; FAÚNDEZ, C.; MAZA, F.; PAILLAVIL, B.; HERNÁNDEZ, V.; ACOSTA, F.; LEVICÁN, G.; MARTÍNEZ, C.; CHÁVEZ, R. Cultivable psychrotolerant yeasts associated with Antarctic marine sponges. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 29, n. 1, p. 183-189, 2013.

VAZ, A. B. M.; ROSA, L.H.; VIEIRA, M. L. A.; DE GARCIA, V.; BRANDÃO, L. R.; TEIXEIRA, L. C. R. S.; MOLINÉ, M.; LIBKIND, D.; VAN BROOCK, M.; ROSA, C. A. The diversity, extracellular enzymatic activities and photoprotective compounds of yeasts isolated in Antarctica. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 937-947, 2011.

VENDRAME, P. R. S.; EBERHARDT, D. N.; BRITO, O. R.; MARCHÃO, R. L.; QUANTIN, C.; BECQUER, T. Formas de ferro e alumínio e suas relações com textura, mineralogia e carbono orgânico em Latossolos do Cerrado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, 1657-1666, 2011.

VERMA, A. K., RAGHUKUMAR, C., VERMA, P., SHOUCHE, Y. S., NAIK, C. G. Four marine-derived fungi for bioremediation of raw textile mill effluents. **Biodegradation**, Dordrecht, v. 21, n. 2, p. 217-233, 2010.

VIANNA, M. V. **Fungos de solos da Antártica: prospecção de L-asparaginase e protease e caracterização taxonômica**. 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2016.

VICTORIA, F. C.; ALBUQUERQUE, M. P.; PEREIRA, A. B.; SIMAS, F. N. B.; SPIELMANN, A. A.; SCHAEFER, C. E. G. R. Characterization and mapping of plant communities at Hennequin Point, King George Island, Antarctica. **Polar Research**, Järfälla, v. 32, p. 19261, 2013.

VINCENT, W. F. Evolutionary origins of Antarctic microbiota: invasion, selection and endemism. **Antarctic Science**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 374-385, 2000.

VISHNIAC, H. S. Biodiversity of yeasts and filamentous microfungi in terrestrial Antarctic ecosystems. **Biodiversity and Conservation**, Londres, v. 5, n. 11, p. 1365-1378, 1996.

VISWANATH, B.; RAJESH, B.; JANARDHAN, A.; KUMAR, A. P.; NARASIMHA, G. Fungal laccases and their applications in bioremediation. **Enzyme Research**, Nova Iorque, v. 2014, p. 1-21, 2014.

WARIISHI, H., VALLI, K.; GOLD, M.H. Manganese (II) oxidation by manganese peroxidase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 267, n. 33, p. 23688–23695, 1992.

WOLTER, R. C. D. **Prognóstico da toxidez de ferro em arroz irrigado por alagamento através da análise de solo pelo método oxalato de amônio**. 2010. 83 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

WUCZKOWSKI, M.; PASSOTH, V.; TURCHETTI, B.; ANDERSSON, A. C.; OLSTORPE, M.; LAITILA, A.; THEELEN, B.; VAN BROOCK, M.; BUZZINI, P.; PRILLINGER, H.; STERFLINGER, K.; SCHNÜRER, J.; BOEKHOUT, T.; LIBKIND, D. Description of *Holtermanniella* gen. nov., including *Holtermanniella takashimae* sp. nov. and four new combinations, and proposal of the order Holtermanniales to accommodate tremellomycetous yeasts of the *Holtermannia* clade. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 61, 680-689, 2011.

WYNN-WILLIAMS DD. Antarctic microbial diversity: the basis of polar ecosystem processes. **Biodiversity and Conservation**, Londres, v. 5, n. 11, p. 1271–1293, 1996.

YAO, H. Y.; WU, F. Z. Soil microbial community structure in cucumber rhizosphere of different resistance cultivars to fusarium wilt. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 72, n. 3, p. 456-463, 2010.

YERGEAU, E.; BOKHORST, S.; HUISKES, A. H. L.; BOSCHKER, H. T. S.; AERTS, R.; KOWALCHUK, G. A. Size and structure of bacterial, fungal and nematode communities along an Antarctic environmental gradient. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdã, v. 59, n. 2, p. 436-451, 2007.

ZHANG, T.; WANG, N. F.; ZHANG, Y. Q.; LIU, H. Y.; YU, L. Y. Diversity and Distribution of Aquatic Fungal Communities in the Ny-Ålesund Region, Svalbard (High Arctic). **Microbial Ecology**, Nova Iorque, v. 71, n. 3, 543-554, 2016.

ZHANG, P.; ZHENG, J.; PAN, G.; ZHANG, X.; LI, L.; TIPPKÖTTER, R. Changes in microbial community structure and function within particle size fractions of a paddy soil under different long-term fertilization treatments from the Tai Lake region, China. **Colloids and Surface B: Biointerfaces**, Amsterdã, v. 58, n. 2, p. 264-270, 2007.

ZHANG, Y. H.; ZHUANG, W. Y. Phylogenetic relationships of some members in the genus *Hymenoscyphus* (Ascomycetes, Helotiales). **Nova Hedwigia**, Berlim, v. 78, n. 3-4, p. 475-484, 2004.



## APÊNDICES

**Apêndice A** - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentososo), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz).

Amostra 1 (Yellow Point – solo amarelado)						
Meio de cultura	Tipo	T(°C)	Dil	Indutor		N
				BC	PA	
MA	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	3	5
			10 <sup>-3</sup>	0	2	2
		15	10 <sup>-1</sup>	0	2	2
			10 <sup>-3</sup>	1	1	2
	F	5	10 <sup>-1</sup>	0	1	1
		15	10 <sup>-3</sup>	0	0	0
MA10x	L	5	10 <sup>-1</sup>	3	2	5
			10 <sup>-3</sup>	0	2	2
		15	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
			10 <sup>-3</sup>	0	2	2
	F	5	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
		15	10 <sup>-3</sup>	0	0	0
BSA	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	0	2
			10 <sup>-3</sup>	0	1	1
		15	10 <sup>-1</sup>	1	3	4
			10 <sup>-3</sup>	1	1	2
	F	5	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
		15	10 <sup>-3</sup>	0	0	0
B&K	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	1	3
			10 <sup>-3</sup>	0	2	2
		15	10 <sup>-1</sup>	1	3	4
			10 <sup>-3</sup>	2	2	4
	F	5	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
		15	10 <sup>-3</sup>	0	0	0
			10 <sup>-1</sup>	2	0	2
			10 <sup>-3</sup>	0	0	0

**Apêndice B-** Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentososo), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz).

Amostra 2(Yellow Point – solo escuro)						
Meio de cultura	Tipo	T (°C)	Dil	Indutor		N
				BC	PA	
MA	L	5	10 <sup>-1</sup>	1	1	2
			10 <sup>-3</sup>	0	1	1
		15	10 <sup>-1</sup>	2	0	2
	F	5	10 <sup>-3</sup>	4	2	6
			10 <sup>-1</sup>	0	2	2
		15	10 <sup>-3</sup>	0	0	0
MA10x	L	5	10 <sup>-1</sup>	3	1	4
			10 <sup>-3</sup>	3	0	3
		15	10 <sup>-1</sup>	0	1	1
	F	5	10 <sup>-3</sup>	1	2	3
			10 <sup>-1</sup>	0	0	0
		15	10 <sup>-3</sup>	3	2	5
BSA	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	2	4
			10 <sup>-3</sup>	3	4	7
		15	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
	F	5	10 <sup>-3</sup>	2	3	5
			10 <sup>-1</sup>	2	2	4
		15	10 <sup>-3</sup>	1	3	4
B&K	L	5	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
			10 <sup>-3</sup>	7	3	10
		15	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
	F	5	10 <sup>-3</sup>	0	0	0
			10 <sup>-1</sup>	1	3	4
		15	10 <sup>-3</sup>	5	0	5

**Apêndice C** - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz).

Amostra 3 (Punta Hennequin – solo associado à raiz de <i>C. quitensis</i> )							
Meio de cultura	Tipo	T (°C)	Dil	Indutor		N	
				BC	PA		
MA	L	5	10 <sup>-1</sup>	1	2	3	
				10 <sup>-3</sup>	3	4	7
		15	10 <sup>-1</sup>	0	0	0	
	F			10 <sup>-3</sup>	2	3	5
		5	10 <sup>-1</sup>	3	1	4	
				10 <sup>-3</sup>	3	1	4
MA10x	L	5	10 <sup>-1</sup>	1	0	1	
				10 <sup>-3</sup>	1	4	5
		15	10 <sup>-1</sup>	0	4	4	
	F			10 <sup>-3</sup>	6	3	9
		5	10 <sup>-1</sup>	0	0	0	
				10 <sup>-3</sup>	0	1	1
BSA	L	5	10 <sup>-1</sup>	0	0	0	
				10 <sup>-3</sup>	0	1	1
		15	10 <sup>-1</sup>	0	1	1	
	F			10 <sup>-3</sup>	2	2	4
		5	10 <sup>-1</sup>	2	3	5	
				10 <sup>-3</sup>	1	7	8
B&K	L	5	10 <sup>-1</sup>	8	5	13	
				10 <sup>-3</sup>	3	1	4
		15	10 <sup>-1</sup>	3	4	7	
	F			10 <sup>-3</sup>	3	4	7
		5	10 <sup>-1</sup>	3	3	6	
				10 <sup>-3</sup>	2	5	7
		10 <sup>-1</sup>	3	5	8		
		10 <sup>-3</sup>	8	8	16		

**Apêndice D** - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentosos), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz).

<b>Amostra 4 (Punta Hennequin – solo associado à raiz de <i>D. antarctica</i>)</b>						
Meio de cultura	Tipo	T (°C)	Dil	Indutor		N
				BC	PA	
MA	L	5	10 <sup>-1</sup>	3	1	4
			10 <sup>-3</sup>	3	5	8
		15	10 <sup>-1</sup>	4	7	11
	F		10 <sup>-3</sup>	4	4	8
		5	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
			10 <sup>-3</sup>	1	2	3
MA10x	L	15	10 <sup>-1</sup>	1	1	2
			10 <sup>-3</sup>	3	5	8
		5	10 <sup>-1</sup>	2	2	4
	F		10 <sup>-3</sup>	2	3	5
		15	10 <sup>-1</sup>	1	3	4
			10 <sup>-3</sup>	2	1	3
BSA	L	5	10 <sup>-1</sup>	1	0	1
			10 <sup>-3</sup>	0	3	3
		15	10 <sup>-1</sup>	4	1	5
	F		10 <sup>-3</sup>	2	4	6
		5	10 <sup>-1</sup>	3	1	4
			10 <sup>-3</sup>	9	5	14
B&K	L	15	10 <sup>-1</sup>	1	1	2
			10 <sup>-3</sup>	2	1	3
		5	10 <sup>-1</sup>	15	3	18
	F		10 <sup>-3</sup>	3	2	5
		15	10 <sup>-1</sup>	5	7	12
			10 <sup>-3</sup>	3	1	4
B&K	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	2	4
			10 <sup>-3</sup>	2	0	2
		15	10 <sup>-1</sup>	8	4	12
	F		10 <sup>-3</sup>	6	4	10
		5	10 <sup>-1</sup>	2	0	2
			10 <sup>-3</sup>	1	0	1
B&K	F	15	10 <sup>-1</sup>	2	4	6
			10 <sup>-3</sup>	6	6	12

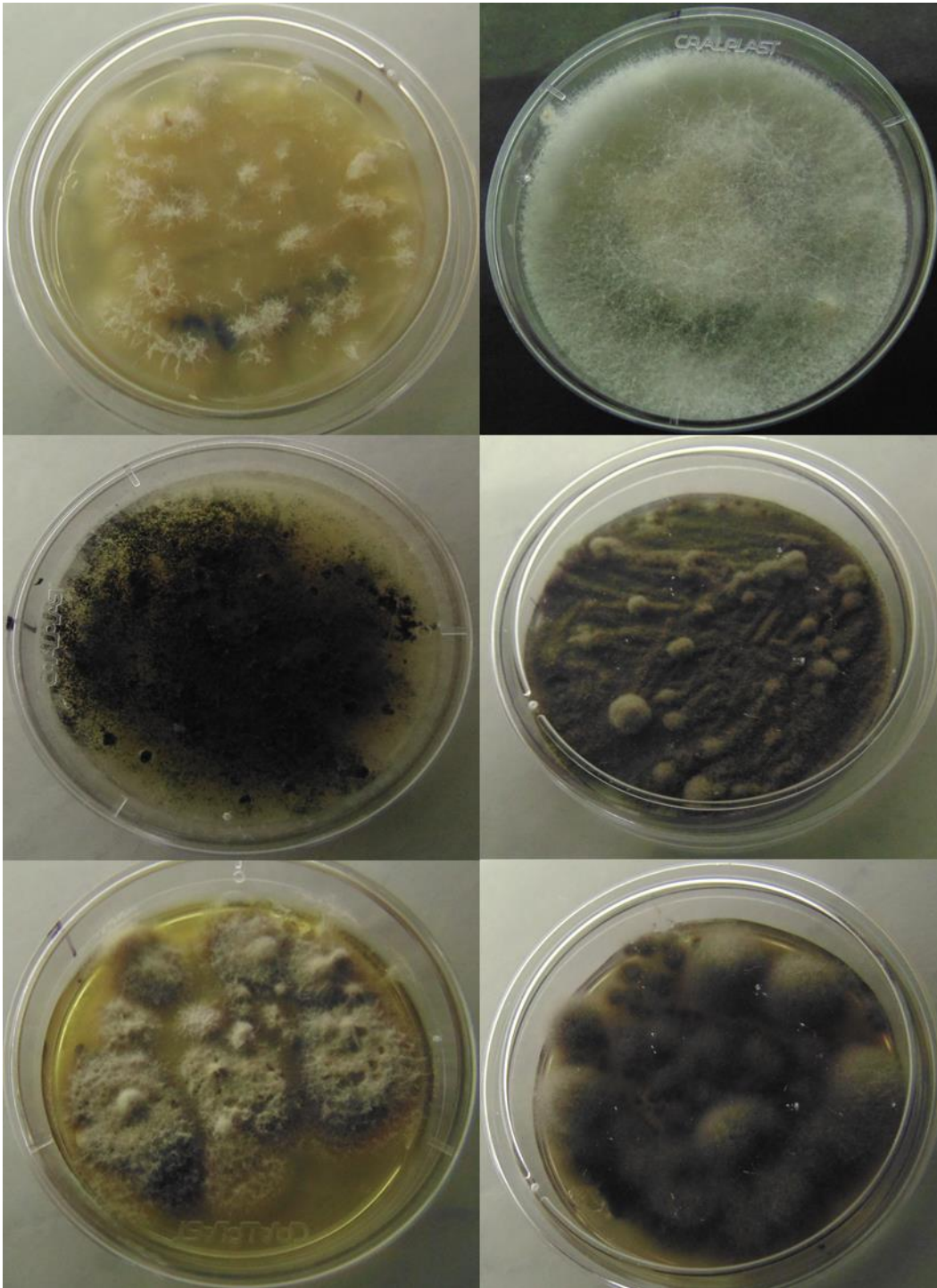
**Apêndice E** - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentosos), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz).

<b>Amostra 5 (Punta Plaza – solo associado à raiz de <i>D. antarctica</i>)</b>						
Meio de cultura	Tipo	T (°C)	Dil	Indutor		N
				BC	PA	
MA	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	1	3
			10 <sup>-3</sup>	4	3	7
		15	10 <sup>-1</sup>	1	1	2
	F	5	10 <sup>-3</sup>	6	3	9
			10 <sup>-1</sup>	3	2	5
		15	10 <sup>-3</sup>	3	1	4
MA10x	L	5	10 <sup>-1</sup>	4	3	7
			10 <sup>-3</sup>	4	5	9
		15	10 <sup>-1</sup>	2	1	3
	F	5	10 <sup>-3</sup>	2	3	5
			10 <sup>-1</sup>	0	1	1
		15	10 <sup>-3</sup>	3	3	6
BSA	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	3	5
			10 <sup>-3</sup>	2	1	3
		15	10 <sup>-1</sup>	2	1	3
	F	5	10 <sup>-3</sup>	2	3	5
			10 <sup>-1</sup>	2	1	3
		15	10 <sup>-3</sup>	2	3	5
B&K	L	5	10 <sup>-1</sup>	1	2	3
			10 <sup>-3</sup>	13	3	16
		15	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
	F	5	10 <sup>-3</sup>	1	2	3
			10 <sup>-1</sup>	5	13	18
		15	10 <sup>-3</sup>	1	3	4
B&K	L	5	10 <sup>-1</sup>	11	8	19
			10 <sup>-3</sup>	3	5	8
		15	10 <sup>-1</sup>	1	1	2
	F	5	10 <sup>-3</sup>	2	1	3
			10 <sup>-1</sup>	2	2	4
		15	10 <sup>-3</sup>	4	2	6
F	5	10 <sup>-1</sup>	0	3	3	
		10 <sup>-3</sup>	8	4	12	
	15	10 <sup>-1</sup>	0	2	2	
		15	10 <sup>-3</sup>	5	8	13

**Apêndice F** - Número de isolados (N) por meio de cultura, temperatura, diluição e indutor para a produção de enzimas ligninolíticas. L (levedura), F (fungo filamentoso), T (temperatura), Dil (diluição), BC (bagaço de cana), PA (palha de arroz).

Amostra 6 (Punta Plaza – solo associado à raiz de <i>C. quitensis</i> )						
Meio de cultura	Tipo	T (°C)	Dil	Indutor		N
				BC	PA	
MA	L	5	10 <sup>-1</sup>	2	3	5
			10 <sup>-3</sup>	4	4	8
		15	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
	F	5	10 <sup>-3</sup>	7	8	15
			15	10 <sup>-1</sup>	1	1
		10 <sup>-3</sup>	5	2	7	
MA10x	L	5	10 <sup>-1</sup>	4	5	9
			10 <sup>-3</sup>	4	4	8
		15	10 <sup>-1</sup>	1	0	1
	F	5	10 <sup>-3</sup>	3	2	5
			15	10 <sup>-1</sup>	2	2
		10 <sup>-3</sup>	4	4	8	
BSA	L	5	10 <sup>-1</sup>	1	3	3
			10 <sup>-3</sup>	0	10	10
		15	10 <sup>-1</sup>	0	0	0
	F	5	10 <sup>-3</sup>	3	4	7
			15	10 <sup>-1</sup>	3	2
		10 <sup>-3</sup>	3	3	6	
B&K	L	5	10 <sup>-1</sup>	7	3	10
			10 <sup>-3</sup>	6	6	12
		15	10 <sup>-1</sup>	0	2	2
	F	5	10 <sup>-3</sup>	3	2	5
			15	10 <sup>-1</sup>	3	4
		10 <sup>-3</sup>	3	2	5	
F	5	10 <sup>-1</sup>	2	3	5	
		10 <sup>-3</sup>	0	3	3	
	15	10 <sup>-1</sup>	8	9	17	
		15	10 <sup>-3</sup>	11	7	18

**Apêndice G** - Exemplos de alguns dos morfotipos obtidos de MA2% a 15 °C.



**Apêndice H-** Morfotipos de MA2% a 15 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular.

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
1	15	B&K	7B-1.3	1	Não	Sem identificação
1	15	BSA	7B-1.4	1	Não	Sem identificação
1	15	BSA	7B-1.5	1	Não	Sem identificação
2	15	MA2%10xd.	8B-1.2	1	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9B-3.18	1	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9B-1.4B	1	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9B-3.13	1	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9B-3.10	1	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9B-3.8	1	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.12	1	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9B-1.9	1	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9P-3.2	1	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.19	1	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9B-3.13	1	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9B-1.1	1	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.4	1	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9P-3.4	1	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-1.3	1	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9B-1.7	1	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9B-1.7	1	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10B-1.4	1	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10P-3.5B	1	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-1.10	1	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10B-1.7	1	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10P-1.10	1	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10B-1.8A	1	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10B-1.6	1	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10P-3.5A	1	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11P-3.7	1	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11B-3.2	1	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12P-3.10A	1	Não	Sem identificação
6	15	MA2%10xd.	12P-3.11	1	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12P-3.6A	1	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12P-3.6B	1	Não	Sem identificação
6	15	MA2%10xd.	12P-3.10B	1	Não	Sem identificação
2	15	BSA	8B-1.2	2	Não	Sem identificação
2	15	MA2%10xd.	8B-1.4	2	Não	Sem identificação
2	15	MA2%10xd.	8B-1.3	2	Não	Sem identificação
2	15	MA2%10xd.	8B-3.5	2	Não	Sem identificação
2	15	BSA	8B-1.3	2	Não	Sem identificação



Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
3	15	BSA	9B-3.3	2	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9B-3.2	2	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-1.2	2	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-3.4	2	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10B-1.5	2	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10P-1.9	2	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-3.2	2	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-1.8	2	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10B-1.3	2	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10B-3.4	2	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11P-3.1	2	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11B-3.11	2	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11B-1.10	2	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11B-1.8	2	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11B-1.9	2	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11P-3.5	2	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11B-1.4	2	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11B-1.7	2	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11P-3.2	2	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-3.13	2	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12P-3.5	2	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12P-3.2	2	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12P-3.11	2	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.4B	2	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9B-3.6	3	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9B-3.14	3	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.7	3	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10P-3.9	3	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-1.3	3	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11P-3.4B	3	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11P-3.4A	3	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11P-3.2	3	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.7	3	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-1.6	3	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12P-3.4	3	Não	Sem identificação
2	15	B&K	8B-3.7	4	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.10	4	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-1.9	4	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10P-3.6	4	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-3.4	4	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-3.13	4	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12P-3.7	4	Não	Sem identificação

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
6	15	B&K	12B-1.2	4	Não	Sem identificação
2	15	BSA	8B-1.8	5	Não	Sem identificação
2	15	BSA	8B-1.1	5	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10B-3.9	5	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-1.11	5	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10B-3.2	5	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-1.1	5	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11P-3.8	5	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-1.7	5	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.15	5	Não	Sem identificação
6	15	MA2%10xd.	12B-3.4	5	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-1.1	5	Não	Sem identificação
2	15	BSA	8B-1.6	6	Não	Sem identificação
2	15	B&K	8B-3.1	6	Não	Sem identificação
2	15	BSA	8B-1.4	6	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9P-1.9	6	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9B-1.8	6	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9P-1.5	6	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9B-1.9	6	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9P-3.1	6	Não	Sem identificação
3	15	BSA	9B-1.6	6	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10B-1.8	6	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-1.9	6	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-1.6	6	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-3.4A	6	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.6	7	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-3.14	7	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-1.3	7	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11B-1.5	7	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11B-3.11	7	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.15	8	Não	ANI2
3	15	BSA	9B-1.5	8	Não	ANI2
3	15	B&K	9P-3.17	8	Não	ANI2
4	15	B&K	10P-3.15	8	Não	ANI2
4	15	B&K	10P-3.10	8	Não	ANI2
4	15	B&K	10P-1.12	8	Não	ANI2
4	15	B&K	10P-3.18	8	Não	ANI2
5	15	B&K	11B-3.16	8	Não	ANI2
5	15	B&K	11P-1.10	8	Não	ANI2
5	15	B&K	11B-3.12	8	Não	ANI2
5	15	BSA	11B-3.5	8	Não	ANI2
5	15	B&K	11P-3.10	8	Não	ANI2

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
5	15	B&K	11P-3.3	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12B-3.28	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12B-3.21	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12B-3.24	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12P-1.16	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12B-1.12	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12P-1.17	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12P-1.15	8	Sim	ANI2
6	15	BSA	12B-1.10	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12P-1.13	8	Não	ANI2
6	15	B&K	12P-3.12	8	Não	ANI2
6	15	BSA	12B-1.5	8	Não	ANI2
5	15	BSA	11B-1.2B	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.2
5	15	BSA	11B-1.2A	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.2
5	15	BSA	11B-1.3	9	Sim	<i>Cosmospora</i> sp.2
6	15	B&K	12B-1.1	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.2
6	15	B&K	12B-1.14	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.2
6	15	BSA	12B-1.4	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.2
6	15	MA2%10xd.	12P-1.5	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.2
6	15	B&K	12P-1.14A	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.2
2	15	B&K	8B-3.8	10	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
2	15	B&K	8B-1.3	10	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	B&K	9B-3.4	10	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
2	15	MA2%10xd.	8B-3.6	11	Não	ANI1
2	15	MA2%10xd.	8P-3.3	11	Não	ANI1
3	15	BSA	9P-1.3	11	Não	ANI1
3	15	B&K	9P-1.3A	11	Não	ANI1
3	15	MA2%10xd.	9P-3.3	11	Não	ANI1
5	15	BSA	11P-3.7	11	Sim	ANI1
5	15	B&K	11P-1.7	11	Não	ANI1
6	15	B&K	12P-1.7	11	Não	ANI1
2	15	BSA	8B-1.9	12	Não	<i>Leptosphaeria</i> sp.
4	15	B&K	10B-1.4	12	Não	<i>Leptosphaeria</i> sp.
6	15	BSA	12B-3.5	12	Não	<i>Leptosphaeria</i> sp.
6	15	B&K	12B-3.23	12	Não	<i>Leptosphaeria</i> sp.
6	15	B&K	12B-3.26	12	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
3	15	B&K	9B-3.1	13	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9B-3.9	13	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10B-3.12	13	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10B-1.3	13	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10P-3.4	13	Não	Sem identificação

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
4	15	B&K	10P-3.12	13	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10P-1.31	13	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.2	13	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-3.10	13	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.9	13	Não	Sem identificação
6	15	MA2%10xd.	12P-3.5	13	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11P-1.7	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
5	15	BSA	11P-1.8	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
5	15	BSA	11P-1.2	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
5	15	BSA	11P-1.5	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
5	15	BSA	11P-1.1	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
5	15	BSA	11P-1.6	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
5	15	BSA	11P-1.9	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
6	15	BSA	12P-1.3	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
6	15	BSA	12P-1.4	14	Não	<i>Trichoderma</i> sp.
6	15	BSA	12P-1.2	14	Sim	<i>Trichoderma</i> sp.
1	15	MA2%10xd.	7B-1.2	15	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-3.18	15	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.27	15	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12P-1.18	15	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11B-3.4	16	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11P-3.9	16	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11P-1.3	16	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12P-1.2	16	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-1.5	16	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12P-1.14B	16	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.25	16	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11P-3.9	17	Sim	<i>Oidiodendron</i> sp.
2	15	MA2%10xd.	8P-3.5	18	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
2	15	B&K	8P-1.2	18	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
2	15	B&K	8B-3.6	18	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
5	15	MA2%10xd.	11P-1.9	18	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
1	15	B&K	7B-1.5	19	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
2	15	MA2%10xd.	8P-1.3	19	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
2	15	B&K	8P-1.5	19	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
2	15	MA2%10xd.	8P-1.1	19	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
5	15	MA2%10xd.	11B-1.3	19	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
5	15	MA2%10xd.	11B-1.1	19	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
6	15	MA2%10xd.	12B-1.2	19	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
6	15	MA2%10xd.	12P-1.1	19	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
2	15	BSA	8P-1.5A	20	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
3	15	MA2%10xd.	9P-1.7	20	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	B&K	9P-1.10	20	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	15	MA2%10xd.	12P-3.10A	20	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
4	15	B&K	10P-1.11	21	Não	<i>Microdochium lycopodium</i>
4	15	B&K	10B-3.9	21	Não	<i>Microdochium lycopodium</i>
4	15	MA2%10xd.	10P-3.2	21	Não	<i>Microdochium lycopodium</i>
6	15	MA2%10xd.	12P-3.2	21	Sim	<i>Microdochium lycopodium</i>
1	15	MA2%10xd.	7B-1.7	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
1	15	BSA	7B-1.7A	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
1	15	BSA	7B-1.7B	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
1	15	BSA	7B-1.7C	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
2	15	B&K	8P-1.8	22	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
2	15	BSA	8P-1.2	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	B&K	9B-3.7	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	B&K	9B-1.1	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	MA2%10xd.	9B-3.14	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	BSA	9B-3.5	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	15	B&K	11P-3.7	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
2	15	BSA	8P-1.5B	23	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	MA2%10xd.	9P-1.1A	23	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	MA2%10xd.	9P-1.1B	23	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	15	BSA	9B-1.4A	23	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	15	MA2%10xd.	12P-1.3	24	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	15	B&K	12P-3.10B	24	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
1	15	BSA	7B-1.3	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
2	15	B&K	8B-3.10	25	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	15	B&K	9P-1.5	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	15	B&K	11B-3.7	26	Sim	<i>Pochonia</i> sp.
6	15	B&K	12P-3.1	26	Não	<i>Pochonia</i> sp.
6	15	BSA	12B-3.15	27	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12P-3.10	28	Não	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
6	15	B&K	12P-3.11	28	Sim	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
3	15	MA2%10xd.	9P-1.4	29	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-1.2A	29	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-1.4	30	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
6	15	B&K	12B-1.2B	30	Não	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
5	15	BSA	11B-3.6	31	Não	Sem identificação
5	15	BSA	11B-3.4	31	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11P-3.10	32	Sim	<i>Cladosporium</i> sp.
5	15	MA2%10xd.	11P-3.4	33	Não	Sem identificação
6	15	MA2%10xd.	12B-3.5	34	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
5	15	BSA	11B-1.12	35	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9B-3.4	36	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
4	15	MA2%10xd.	10B-1.8B	37	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	15	MA2%10xd.	12P-3.1	38	Sim	<i>Laetinaevia carneoflava</i>
3	15	B&K	9B-3.10	39	Sim	<i>Varicosporium</i> sp.
1	15	BSA	7B-1.1	40	Não	<i>Penicillium</i> sp.
3	15	BSA	9P-1.6	40	Não	<i>Penicillium</i> sp.
3	15	BSA	9P-1.8	40	Não	<i>Penicillium</i> sp.
4	15	BSA	10B-3.6	40	Não	<i>Penicillium</i> sp.
5	15	BSA	11B-1.11	40	Não	<i>Penicillium</i> sp.

**Apêndice I-** Morfotipos de PDA a 15 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
3	15	MA2%	9B-3.13	1	Sim	<i>Cosmospora</i> sp.1
4	15	MA2%	10P-3.11	1	Não	<i>Cosmospora</i> sp.1
6	15	MA2%	12P-1.9	1	Sim	<i>Cosmospora</i> sp.1
6	15	MA2%	12B-1.6	1	Sim	<i>Cosmospora</i> sp.1
6	15	MA2%	12P-3.4	1	Sim	<i>Cosmospora</i> sp.1
6	15	MA2%	12P-3.9	1	Não	<i>Cosmospora</i> sp.1
6	15	MA2%	12P-1.10	1B	Sim	<i>Cosmospora</i> sp.3
3	15	MA2%	9P-3.2	2	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
3	15	MA2%	9B-1.9	2	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
3	15	MA2%	9B-3.10	2	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
3	15	MA2%	9B-3.14	2	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
4	15	MA2%	10B-3.5	2	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
5	15	MA2%	11P-3.1	2	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
2	15	MA2%	8P-1.4	3	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
5	15	MA2%	11B-1.4	3	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
5	15	MA2%	11P-1.1	3	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
5	15	MA2%	11B-1.6	3	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
6	15	MA2%	12P-1.1	3	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
6	15	MA2%	12B-1.3	3	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
2	15	MA2%	8B-3.10	3B	Sim	<i>Mortierella</i> sp.2
4	15	MA2%	10P-1.8	4	Sim	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex
5	15	MA2%	11B-3.15	4	Não	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex
5	15	MA2%	11B-3.13	4	Não	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex
6	15	MA2%	12P-1.8	4	Não	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex
2	15	MA2%	8B-1.6B	5	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
2	15	MA2%	8B-1.6A	5	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
2	15	MA2%	8B-3.1	5	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
6	15	MA2%	12B-3.5	5	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
6	15	MA2%	12P-3.6	5	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
2	15	MA2%	8B-3.7	6	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
4	15	MA2%	10P-3.3	6	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
4	15	MA2%	10P-3.8	7	Sim	<i>Microdochium lycopodium</i>
4	15	MA2%	10B-1.8	7	Sim	<i>Microdochium lycopodium</i>
5	15	MA2%	11B-3.12	7	Sim	<i>Microdochium lycopodium</i>
2	15	MA2%	8B-1.4	8	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
4	15	MA2%	10P-3.2	8	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
3	15	MA2%	9P-3.7	9	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
5	15	MA2%	11P-1.10	9	Não	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
5	15	MA2%	11P-1.9	9	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
5	15	MA2%	11P-3.3	10	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
6	15	MA2%	12B-1.2	11	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
6	15	MA2%	12P-1.11	11	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
6	15	MA2%	12B-3.8	12	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
6	15	MA2%	12B-3.13	12	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
6	15	MA2%	12B-3.7	12	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
4	15	MA2%	10P-3.7	13	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3
5	15	MA2%	11B-1.2	14	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
4	15	MA2%	10B-3.3	15	Não	ANI4
5	15	MA2%	11P-3.4	15	Sim	ANI4
5	15	MA2%	11B-1.2B	16	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
3	15	MA2%	9B-3.11	17	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 1
6	15	MA2%	12P-3.2	18	Sim	<i>Purpureocillium lilacinum</i>
5	15	MA2%	11P-3.9	19	Não	Sem identificação
4	15	MA2%	10B-3.6	20	Sim	<i>Varicosporium</i> sp.
5	15	MA2%	11P-3.8	21	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
3	15	MA2%	9P-3.3	22	Sim	ANI2
6	15	MA2%	12B-1.7	23	Sim	<i>Antarctomyces</i> sp.
5	15	MA2%	11B-3.1	24	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp. 3



**Apêndice J-** Morfotipos de MA2% a 5 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular.

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
3	5	B&K	9P-3.4	1	Sim	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9B-3.3	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9B-1.6	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9B-1.5	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9P-1.2	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9P-3.8	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
4	5	B&K	10B-1.7	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
4	5	MA2%10xd.	10P-3.5	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
5	5	MA2%10xd.	11P-1.3	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
6	5	B&K	12P-1.7	1	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9P-3.7	2	Sim	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9B-1.2	2	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	MA2%10xd.	9P-3.3	2	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9P-3.9	2	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	B&K	9P-1.6	2	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
5	5	B&K	11B-3.1	2	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
6	5	MA2%10xd.	12P-1.2	2	Não	<i>Antarctomyces</i> sp.
4	5	MA2%10xd.	10B-1	3	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.18	3	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.8	3	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%10xd.	12B-3.8	3	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%10xd.	12P-3.1	3	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
2	5	BSA	8P-1.3	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	5	BSA	9P-1.1	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	5	BSA	9P-1.3	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	B&K	11B-3.8	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	BSA	11B-1.2	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	BSA	11P-1.11	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	B&K	11B-3.9	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	BSA	11P-1.8	4	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	BSA	11P-3.9	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	5	BSA	12B-3.3	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	5	BSA	12B-1.4	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	5	B&K	9P-1.5	5	Não	ANI4
3	5	BSA	9P-3.2	5	Não	ANI4
4	5	B&K	10B-3.2	5	Sim	ANI4
5	5	MA2%10xd.	11B-3.1	5	Não	ANI4
5	5	B&K	11P-3.2	6	Sim	ANI4
5	5	BSA	11P-3.12	6	Não	ANI4
6	5	BSA	12P-3.1	6	Não	ANI4
6	5	B&K	12B-1.1	6	Não	ANI4

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfortipo	Sequenciamento	Identificação
6	5	B&K	12P-3.2	6	Não	ANI4
3	5	BSA	9P-3.3	7	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.13	7	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	BSA	9P-3.10	8	Não	Sem identificação
4	5	B&K	10B-1.6	8	Não	Sem identificação
4	5	MA2%10xd.	10P-3.8	8	Não	Sem identificação
5	5	BSA	11P-3.2	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.1
6	5	BSA	12P-1.12	9	Sim	<i>Cosmospora</i> sp.1
6	5	BSA	12P-1.13	9	Não	<i>Cosmospora</i> sp.1
3	5	BSA	9B-3.5	10	Sim	ANI5
5	5	BSA	11P-1.5	11	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	MA2%10xd.	9P-3.4	12	Não	Sem identificação
3	5	B&K	9B-3.7	12	Não	Sem identificação
5	5	MA2%10xd.	11B-1.3	12	Não	Sem identificação
6	5	MA2%10xd.	12B-1.5	12	Não	Sem identificação
6	5	B&K	12P-1.5	12	Não	Sem identificação
6	5	B&K	12B-1.2	12	Não	Sem identificação
6	5	B&K	12P-1.8	12	Não	Sem identificação
5	5	B&K	11P-1.6	13	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
5	5	B&K	11P-1.5	13	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
5	5	MA2%10xd.	11P-3.3	14	Sim	<i>Cladosporium</i> sp.
5	5	B&K	11B-3.6	14	Não	<i>Cladosporium</i> sp.
5	5	MA2%10xd.	11P-1.4	14	Não	<i>Cladosporium</i> sp.
5	5	B&K	11P-3.9	14	Não	<i>Cladosporium</i> sp.
5	5	BSA	11P-1.13	14	Não	<i>Cladosporium</i> sp.
6	5	MA2%10xd.	12P-1.5	14	Não	<i>Cladosporium</i> sp.
2	5	MA2%10xd.	8P-1.1	15	Sim	<i>Cladosporium</i> sp.
5	5	B&K	11B-3.7	16	Não	Sem identificação
3	5	MA2%10xd.	9P-3.7	17	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	5	BSA	9B-1.1	18	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
4	5	BSA	10B-1.10	18	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	BSA	11B-1.1	18	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	5	BSA	9P-1.2	19	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%10xd.	12P-3.3	19	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.9	20	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.2
6	5	B&K	12P-3.6	20	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.2
4	5	BSA	10B-1.5	21	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.2
6	5	BSA	12B-1.3	21	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.2
4	5	BSA	10P-1.4	22	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	BSA	11P-1.9	22	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	MA2%10xd.	9P-3.1	23	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%10xd.	12B-3.5	23	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfortipo	Sequenciamento	Identificação
3	5	BSA	9P-3.4	24	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	MA2%10xd.	11P-1.2	24	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
2	5	BSA	8P-1.5	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	BSA	9P-3.6	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	BSA	9B-1.2	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.16	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10P-3.4	25	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	BSA	12B-3.4	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%10xd.	12P-3.7	25	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10P-3.9	26	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	BSA	11B-1.5	26	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	BSA	11P-1.6	26	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	BSA	11P-1.2	26	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	BSA	11P-1.4	26	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	BSA	9P-3.5	27	Não	ANI5
5	5	B&K	11P-3.10	27	Não	ANI5
6	5	BSA	12P-3.15	27	Sim	ANI5
4	5	BSA	10P-1.1	28	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.17	28	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	BSA	11B-1.3	28	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10P-1.5	29	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%10xd.	12B-3.9	29	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.2	30	Não	Sem identificação
2	5	BSA	8B-1.5	31	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	BSA	12P-3.12	31	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.6	32	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	BSA	11P-1.14	32	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	B&K	12P-3.5	33	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
6	5	MA2%10xd.	12P-3.6	33	Não	<i>Leptosphaeria</i> sp.
3	5	BSA	9P-3.8	34	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	BSA	11B-1.6	34	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	5	MA2%10xd.	12B-3.2	35	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
5	5	BSA	11P-1.16	36	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	B&K	11B-3.2	36	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	BSA	11P-1.15	37	Não	Sem identificação
5	5	B&K	11P-1.7	37	Não	Sem identificação
2	5	BSA	8P-1.4	38	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.1	39	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	5	BSA	12B-1.1	40	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.2
5	5	B&K	11B-3.3	41	Sim	<i>Thelebolus</i> sp.
5	5	MA2%10xd.	11B-1.2	42	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	MA2%10xd.	10P-3.1	43	Sim	<i>Microdochium lycopodium</i>

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfortipo	Sequenciamento	Identificação
4	5	BSA	10B-1.4	44	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
2	5	MA2%10xd.	8B-1.2	45	Não	Sem identificação
6	5	MA2%10xd.	12B-1.1	46	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
3	5	B&K	9P-3.10	47	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
3	5	MA2%10xd.	9B-1.3	48	Sim	<i>Varicosporium</i> sp.
6	5	BSA	12B-3.2	49	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	BSA	10B-1.3	50	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
4	5	BSA	10B-3.1	51	Não	Sem identificação
5	5	BSA	11B-3.17	52	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	B&K	11B-3.10	53	Não	Sem identificação
5	5	BSA	11P-1.7	54	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	MA2%10xd.	11B-3.2	55	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
5	5	B&K	11P-3.7	56	Sim	<i>Oidiodendron</i> sp.
5	5	BSA	11P-1.3	57	Sim	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>
3	5	MA2%10xd.	9B-3.4	58	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
4	5	BSA	10B-1.7	59	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
4	5	BSA	10B-3.1A	60	Sim	<i>Varicosporium</i> sp.
4	5	BSA	10B-3.1B	61	Não	Sem identificação
4	5	BSA	10B-1.3B	62	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
2	5	MA2%10xd.	8P-1.2	63	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1

**Apêndice K-** Morfotipos de PDA a 5 °C, seus locais de origem, meios de isolamento e identificação molecular.

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Morfotipo	Sequenciamento	Identificação
3	5	MA2%	9B-1.3	1	Não	<i>Microdochium lycopodium</i>
6	5	MA2%	12B-1.2	1	Não	<i>Microdochium lycopodium</i>
6	5	MA2%	12P-1.5	1	Sim	<i>Microdochium lycopodium</i>
5	5	MA2%	11B-1.4	2	Não	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
5	5	MA2%	11B-1.7	2	Não	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
6	5	MA2%	12B-3.3	2	Sim	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex
5	5	MA2%	11B-3.3	3	Não	Sem identificação
3	5	MA2%	9B-3.12	4	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%	12P-3.3	4	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	MA2%	11B-3.5	5	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%	12B-3.2	5	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%	12B-3.13	5	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
2	5	MA2%	8P-1.3	6	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	MA2%	9P-1.3	7	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	MA2%	11P-1.4	8	Sim	<i>Mortierella</i> sp.1
5	5	MA2%	11B-1.3	8	Não	<i>Mortierella</i> sp.1
4	5	MA2%	10P-3.9	9	Não	Sem identificação
3	5	MA2%	9B-3.2	10	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
4	5	MA2%	10P-3.6	10	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
5	5	MA2%	11B-3.1	11	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
6	5	MA2%	12B-3.5	11	Não	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
5	5	MA2%	11P-3.7	12	Não	Sem identificação
5	5	MA2%	11P-1.3	13	Não	Sem identificação
6	5	MA2%	12P-3.6	14	Sim	<i>Leptosphaeria</i> sp.
1	5	MA2%	7P-1.2	15	Sim	<i>Antarctomyces</i> sp.
3	5	MA2%	9B-1.1A	16	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
6	5	MA2%	12B-3.4	17	Não	Sem identificação
3	5	MA2%	9B-1.1B	18	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	MA2%	9P-3.1	19	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1
2	5	MA2%	8P-1.1	20	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3
3	5	MA2%	9B-3.10	21	Sim	ANI3
4	5	MA2%	10B-3.2	22	Sim	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3

**Apêndice L - Perfis genéticos das leveduras estudadas, seus locais de origem e sua identificação molecular.**

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
3	5	B&K	9B-3.6	1	Não	ANI6
5	5	BSA	11B-3.1	1	Não	ANI6
4	5	MA2%	10B-3.5	1	Não	ANI6
6	5	BSA	12P-3.4	1	Não	ANI6
3	5	B&K	9P-3.3	1	Sim	ANI6
5	5	B&K	11B-3.5	2	Não	<i>Leucosporidium fragarium</i>
6	5	MA2%	12P-1.7	2	Sim	<i>Leucosporidium fragarium</i>
1	5	MA2%	7P-1.3	3	Sim	<i>Naganishia</i> sp.
1	5	B&K	7P-3.2	3	Não	<i>Naganishia</i> sp.
1	5	MA2%	7P-3.2	3	Não	<i>Naganishia</i> sp.
1	5	B&K	7P-3.1	3	Não	<i>Naganishia</i> sp.
4	5	BSA	10B-1.11	3	Não	<i>Naganishia</i> sp.
1	5	MA2%	7P-3.1	3	Não	<i>Naganishia</i> sp.
2	5	BSA	8P-1.1	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	5	B&K	8B-1.1	4	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	BSA	7B-1.2	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%10xd.	7B-1.2	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	B&K	7P-1.1	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	BSA	11B-1.4	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%	7B-1.1	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	MA2%10xd.	11B-1.4	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	BSA	11P-3.3	4	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	MA2%	8P-3.1	5	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	MA2%10xd.	7P-3.2	5	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	MA2%	7B-3.5	5	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	B&K	9B-1.6	5	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12B-3.1	6	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7P-1.4	6	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	BSA	8B-3.2	6	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12B-1.8	6	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	B&K	9B-1.5	6	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12B-3.6	7	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12P-3.15	7	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12P-3.13	7	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	BSA	12P-3.7	7	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	MA2%10xd.	9B-3.6	7	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	MA2%10xd.	9B-3.19	7	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10B-1.12B	7	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	BSA	10B-1.1	8	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	5	MA2%	10B-3.3	8	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
2	15	BSA	8B-1.7	8	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
4	5	B&K	10B-1.5	8	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	15	MA2%	10B-1.7	8	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
3	15	MA2%	9P-3.9B	9	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9P-3.6	9	Não	Sem identificação
3	5	B&K	9P-3.5	9	Não	Sem identificação
6	5	BSA	12P-3.7	9	Não	Sem identificação
4	5	BSA	10B-3.5	9	Não	Sem identificação
3	5	MA2%10xd.	9P-1.2	9	Não	Sem identificação
5	5	BSA	11B-3.15	9	Não	Sem identificação
6	5	B&K	12B-3.2	9	Não	Sem identificação
3	5	MA2%	9P-3.8	9	Não	Sem identificação
1	5	BSA	7P-3.2	9	Não	Sem identificação
4	5	B&K	10B-3.3	9	Não	Sem identificação
5	5	MA2%	11B-3.4	9	Não	Sem identificação
3	15	MA2%	9B-3.7	9	Não	Sem identificação
4	15	MA2%	10B-3.2B	9	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10P-1.2	9	Não	Sem identificação
6	15	MA2%10xd.	12B-3.7	9	Não	Sem identificação
3	5	MA2%10xd.	9B-3.2	9	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9B-3.11	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	B&K	9B-3.18	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	B&K	9B-1.8	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7P-3.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12B-1.3	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12B-3.17	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7P-1.3	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7P-1.2	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7B-1.4	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7B-3.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	15	B&K	11P-3.8	10	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	5	MA2%	9B-3.9	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	MA2%10xd.	11B-1.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12P-1.11	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12P-1.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%	7B-1.2	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	B&K	11P-3.6	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	5	BSA	8B-1.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	B&K	11B-1.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	B&K	7B-1.2	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	B&K	7B-1.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	BSA	7B-1.1	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	5	B&K	12P-1.3	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
4	15	MA2%	10B-3.1B	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12P-3.9	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10B-1.7	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	B&K	8B-3.4	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	B&K	8P-3.4	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10B-3.7	10	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10P-3.11	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10P-3.9	11	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	MA2%	7P-1.1	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	5	MA2%10xd.	8B-1.1	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%10xd.	7B-1.3	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	MA2%10xd.	9P-3.10	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	BSA	9B-3.4	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%10xd.	10B-1.11	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	MA2%	9B-3.7B	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	5	MA2%10xd.	12P-1.3	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12P-1.12	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10B-3.1	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7P-3.2	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10B-3.10	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10B-3.8	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	5	BSA	12P-3.2	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	MA2%	8B-3.3	11	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	MA2%10xd.	9P-3.8	12	Não	ANI6
3	5	MA2%10xd.	9B-1.5	12	Sim	ANI6
3	5	MA2%10xd.	9B-3.3	12	Não	ANI6
5	5	MA2%10xd.	11P-3.4	12	Não	ANI6
4	5	MA2%10xd.	10B-3.2	12	Não	ANI6
2	5	BSA	8B-1.6	12	Não	ANI6
5	5	BSA	11B-3.7	12	Não	ANI6
3	5	B&K	9P-3.6	12	Não	ANI6
4	5	MA2%	10P-3.16	12	Não	ANI6
4	5	MA2%10xd.	10B-1	12	Não	ANI6
3	5	MA2%	9B-3.8	12	Não	ANI6
5	5	MA2%	11B-3.11	12	Não	ANI6
4	5	MA2%	10P-3.4	12	Não	ANI6
4	5	MA2%	10B-3.4	12	Não	ANI6
5	5	MA2%10xd.	11P-3.7	12	Não	ANI6
3	5	MA2%	9B-3.1	12	Não	ANI6
3	5	MA2%10xd.	9P-1.3	12	Não	ANI6
6	5	MA2%	12P-3.5	12	Não	ANI6
2	5	BSA	8B-1.3	12	Não	ANI6



Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
5	5	B&K	11P-1.1	12	Não	ANI6
6	5	MA2%	12B-1.6	13	Sim	<i>Mrakia</i> sp.
6	5	BSA	12P-1.3	13	Não	<i>Mrakia</i> sp.
4	5	MA2%	10B-1.9	13	Não	<i>Mrakia</i> sp.
6	5	MA2%	12B-1.5	13	Não	<i>Mrakia</i> sp.
3	5	MA2%	9B-1.5	13	Não	<i>Mrakia</i> sp.
6	5	BSA	12P-1.6	13	Não	<i>Mrakia</i> sp.
5	15	BSA	11P-3.4	13	Não	<i>Mrakia</i> sp.
4	5	BSA	10B-1.15	14	Não	ANI6
4	5	BSA	10P-3.21	14	Não	ANI6
3	5	BSA	9P-3.12	14	Não	ANI6
4	5	MA2%	10P-3.5	14	Sim	ANI6
6	5	BSA	12P-3.21	14	Não	ANI6
5	5	BSA	11P-1.10	14	Não	ANI6
4	5	MA2%10xd.	10P-1.3	15	Sim	<i>Mrakia</i> sp.
6	5	MA2%10xd.	12P-3.4	15	Não	<i>Mrakia</i> sp.
4	5	MA2%10xd.	10P-1.2	15	Não	<i>Mrakia</i> sp.
5	5	MA2%10xd.	11P-1.1	16	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	5	B&K	9B-3.1	16	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	5	B&K	12P-3.4	16	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	5	MA2%	8P-1.2	16	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	BSA	12B-3.8	17	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	BSA	7B-3.1	17	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10B-3.1	17	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-3.7	18	Não	ANI6
4	15	MA2%	10B-1.5	18	Sim	ANI6
4	15	MA2%	10P-1.2B	18	Não	ANI6
5	15	MA2%	11P-1.7	18	Não	ANI6
4	5	MA2%10xd.	10P-3.3	19	Não	ANI6
4	5	MA2%10xd.	10P-3.2	19	Sim	ANI6
3	15	MA2%10xd.	9B-3.7	20	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	BSA	8P-3.1	20	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12B-3.17	20	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%	7P-1.2	21	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	5	B&K	9P-1.3	21	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	5	BSA	10B-3.9	21	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%10xd.	7P-1.2	22	Sim	<i>Naganishia</i> sp.
2	5	MA2%10xd.	8P-1.3	22	Não	<i>Naganishia</i> sp.
1	5	MA2%	7P-1.1	22	Não	<i>Naganishia</i> sp.
3	15	BSA	9P-3.4	22	Não	<i>Naganishia</i> sp.
5	5	MA2%	11B-3.10	23	Sim	ANI6
5	5	MA2%	11P-3.2	23	Não	ANI6

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
4	5	MA2%	10P-1.2	23	Não	ANI6
1	15	BSA	7P-1.2	23	Não	ANI6
1	15	BSA	7P-1.3	23	Não	ANI6
4	15	MA2%	10P-1.9	23	Não	ANI6
4	5	BSA	10P-3.8	23	Não	ANI6
6	5	B&K	12B-3.4	24	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	5	BSA	11P-3.12B	24	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
4	15	B&K	10B-3.5	24	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
4	15	B&K	10P-3.5	24	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
4	5	BSA	10B-3.15	25	Sim	ANI6
4	5	BSA	10B-3.14	26	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	5	MA2%10xd.	10B-1	26	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
3	5	MA2%10xd.	9B-1.2	26	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
3	5	B&K	9B-1.3	26	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	15	MA2%10xd.	10P-1.9	27	Não	Sem identificação
3	5	MA2%10xd.	9P-1.1	27	Não	Sem identificação
6	15	B&K	12B-3.16	27	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10P-1.5	27	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10P-3.13	27	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10P-1.7	27	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-3.2	27	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11B-1.2	27	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11B-1.4	27	Não	Sem identificação
3	15	B&K	9P-1.4	27	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11P-3.9	27	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11P-1.3	27	Não	Sem identificação
4		15	10B-3.3	27	Não	Sem identificação
4	15	MA2%10xd.	10B-3.2	27	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-3.11	28	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
2	15	MA2%	8B-3.8	29	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12P-3.8	29	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	MA2%	7P-1.2	29	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-3.12	29	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-3.4	29	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	MA2%	8B-1.5	29	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-1.10	29	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%10xd.	12B-1.3	29	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	15	MA2%	11B-3.17	30	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	15	MA2%	11B-3.10	30	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
2	15	MA2%	8P-3.4	30	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	15	MA2%	11B-3.4	30	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
1	5	MA2%10xd.	7P-3.1	30	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
4	15	MA2%10xd.	10P-1.4	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
3	15	BSA	9P-1.7	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	15	BSA	11B-3.1	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
3	15	MA2%10xd.	9B-1.3	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
2	15	BSA	8P-1.5	31	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
3	15	MA2%	9P-3.6	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
2	15	BSA	8P-3.2	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	15	MA2%10xd.	11B-3.1	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
3	15	B&K	9P-3.10	31	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
3	15	B&K	9P-3.9	32	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	15	MA2%	11P-3.6	32	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	B&K	7B-3.2	32	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	B&K	8P-1.6	32	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	BSA	11B-3.2	33	Não	ANI6
3	5	B&K	9P-3.2	33	Sim	ANI6
6	5	BSA	12P-3.13	33	Não	ANI6
6	5	BSA	12P-3.5	33	Não	ANI6
5	5	BSA	11B-3.5	34	Não	Sem identificação
5	5	BSA	11B-3.9	34	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12P-3.9	34	Não	Sem identificação
6	15	BSA	12B-3.9	34	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11B-3.3	34	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11B-3.17	34	Não	Sem identificação
5	15	MA2%	11B-3.5	34	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9B-1.1	34	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9P-1.2	34	Não	Sem identificação
4	15	MA2%	10P-1.2	35	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9P-3.2	35	Não	Sem identificação
3	15	MA2%10xd.	9P-3.3	35	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-1.9	35	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11B-3.10	36	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	15	BSA	11P-3.6	36	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
6	15	B&K	12B-3.4	36	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
1	15	BSA	7P-3.1	37	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10B-3.7	37	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	15	BSA	7P-1.1	37	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	15	B&K	11P-1.3	37	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10B-1.3	38	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12P-3.9B	38	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	5	MA2%	10P-3.2	39	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	5	B&K	10B-3.5	39	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
3	5	MA2%	9P-1.4	39	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
4	5	B&K	10P-1.2	39	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
6	15	MA2%	12P-3.7	39	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	5	BSA	10B-3.13	39	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
1	15	MA2%10xd.	7P-3.1	40	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	MA2%10xd.	9P-1.6	40	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%10xd.	12P-3.4	40	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%10xd.	10P-3.1	41	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	15	BSA	10B-3.5	41	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
1	15	BSA	7B-1.6	41	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	15	BSA	10P-1.7	41	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
6	15	BSA	12P-3.14	42	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	BSA	12P-3.5	42	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	BSA	9B-3.6	42	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-1.5	42	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	5	MA2%	9P-3.5	42	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	B&K	8P-3.3	43	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	B&K	8B-3.9	43	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	B&K	9P-1.7	43	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	BSA	11P-1.1	44	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	5	BSA	8P-1.7	44	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	BSA	11P-3.11	45	Sim	ANI6
5	5	BSA	11B-3.3	45	Não	ANI6
5	5	BSA	11B-3.13	46	Não	ANI6
6	5	MA2%	12P-3.1	46	Sim	ANI6
5	5	MA2%	11B-1.6	47	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%10xd.	7B-1.1	47	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	5	B&K	12B-3.5	47	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	5	BSA	12P-3.16	48	Não	ANI6
6	5	MA2%	12P-3.2	48	Sim	ANI6
6	5	BSA	12P-1.10	49	Não	ANI6
1	5	MA2%10xd.	7P-3.2	49	Não	ANI6
3	5	MA2%	9P-1.2	49	Sim	ANI6
5	5	MA2%	11B-1.5	50	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
6	5	MA2%	12B-3.6	50	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	5	BSA	11B-3.14	51	Sim	ANI6
4	5	BSA	10P-3.2	51	Não	ANI6
5	5	MA2%10xd.	11B-3.2	52	Não	Sem identificação
2	15	BSA	8P-1.4	53	Sim	<i>Goffeauzyma gastrica</i>
6	15	MA2%	12P-3.10	54	Não	Sem identificação
4	15	MA2%	10B-1.6	55	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11B-3.16	56	Não	Sem identificação
5	15	MA2%10xd.	11P-3.8	57	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
6	5	BSA	12P-3.6	58	Sim	ANI6
1	5	B&K	7P-1.2	59	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	15	MA2%10xd.	10B-3.10	60	Sim	ANI6
4	15	B&K	10B-1.12A	61	Não	Sem identificação
6	5	MA2%10xd.	12B-1.2	61	Não	Sem identificação
5	5	MA2%	11P-1.2	61	Não	Sem identificação
4	5	MA2%10xd.	10P-3.9	61	Não	Sem identificação
2	5	B&K	8P-1.2	61	Não	Sem identificação
3	5	B&K	9P-1.1	61	Não	Sem identificação
2	5	BSA	8P-1.2	61	Não	Sem identificação
4	5	B&K	10B-1.3	61	Não	Sem identificação
2	15	MA2%10xd.	8P-3.2	61	Não	Sem identificação
4	15	BSA	10P-3.2	62	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	BSA	8B-1.10	63	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
2	15	MA2%10xd.	8B-1.1	64	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	15	MA2%	11P-3.2	64	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
3	15	MA2%10xd.	9P-1.4	64	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	5	MA2%	11P-3.4	65	Não	<i>Cystobasidium laryngis</i>
6	15	MA2%	12B-3.11	65	Sim	<i>Cystobasidium laryngis</i>
6	15	MA2%	12P-3.14	65	Não	<i>Cystobasidium laryngis</i>
4	15	B&K	10B-1.11	66	Não	Sem identificação
4	5	BSA	10P-3.17	66	Não	Sem identificação
4	5	B&K	10P-1.3	66	Não	Sem identificação
4	5	BSA	10B-1.12	66	Não	Sem identificação
6	5	B&K	12P-1.1	66	Não	Sem identificação
6	15	MA2%	12B-3.15	66	Não	Sem identificação
5	15	MA2%	11B-3.2	67	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	5	MA2%10xd.	10B-3.4	67	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
4	15	B&K	10P-1.1	67	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
6	15	MA2%	12P-3.5	68	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
3	15	MA2%10xd.	9P-3.7	68	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	BSA	8B-3.1	69	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	15	B&K	11B-3.13	69	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-1.1	69	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	5	BSA	10B-3.17	69	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-1.11	70	Não	Sem identificação
2	15	MA2%	8B-3.9	70	Não	Sem identificação
5	15	MA2%	11B-1.8	70	Não	Sem identificação
3	5	MA2%	9P-3.6	70	Não	Sem identificação
3	5	B&K	9B-1.4	71	Sim	<i>Mrakia</i> sp.
5	15	B&K	11B-3.9	71	Não	<i>Mrakia</i> sp.
2	15	BSA	8P-1.1	72	Sim	<i>Goffeauzyma gastrica</i>

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
3	15	MA2%	9P-3.4	72	Não	<i>Goffeauzyma gastrica</i>
3	15	MA2%10xd.	9B-1.2	72	Não	<i>Goffeauzyma gastrica</i>
2	5	MA2%	8P-3.1	73	Sim	<i>Naganishia</i> sp.
6	15	MA2%	12B-3.14	73	Não	<i>Naganishia</i> sp.
4	15	B&K	10P-1.4	74	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%	12B-3.16	74	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	MA2%10xd.	8B-1.6	75	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	B&K	10B-1.6	75	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	15	MA2%	11P-3.10	76	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	B&K	12P-1.10	77	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
4	15	B&K	10B-1.5	77	Não	<i>Holtermanniella wattica</i>
3	15	BSA	9P-3.3	78	Sim	<i>Vishniacozyma victoriae</i>
6	15	B&K	12B-1.13	79	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	5	BSA	11B-3.11	80	Sim	ANI6
6	5	MA2%	12B-3.10	81	Não	Sem identificação
5	5	MA2%10xd.	11B-3.4	81	Não	Sem identificação
6	5	MA2%	12P-1.2	81	Não	Sem identificação
4	5	BSA	10P-1.2	82	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
2	5	MA2%10xd.	8B-3.2	83	Não	Sem identificação
6	5	MA2%	12P-1.4	84	Sim	<i>Mrakia</i> sp.
4	5	BSA	10P-3.20	85	Não	Sem identificação
6	5	MA2%	12B-3.11	85	Não	Sem identificação
5	5	MA2%10xd.	11P-3.8	85	Não	Sem identificação
4	5	MA2%	10B-1.5	86	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
6	5	MA2%	12B-3.1	87	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
5	15	B&K	11P-1.4	88	Não	Sem identificação
5	15	B&K	11P-3.11	88	Não	Sem identificação
4	15	B&K	10B-1.7B	89	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
2	15	B&K	8P-3.2	90	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
4	15	B&K	10B-3.11	91	Sim	<i>Holtermanniella wattica</i>
6	5	BSA	12P-3.14	92	Não	<i>Cystobasidium laryngis</i>
3	15	B&K	9P-3.8	92	Sim	<i>Cystobasidium laryngis</i>
2	5	MA2%10xd.	8P-1.1	93	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	15	B&K	11B-3.16B	93	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%10xd.	12P-3.9	94	Não	Sem identificação
2	5	MA2%10xd.	8B-1.3	95	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
5	5	B&K	11B-3.4	96	Sim	<i>Vishniacozyma victoriae</i>
5	5	MA2%	11B-3.12	97	Não	<i>Cystobasidium laryngis</i>
6	5	MA2%	12P-3.9	97	Sim	<i>Cystobasidium laryngis</i>
5	5	MA2%	11P-3.9	98	Sim	ANI6
5	5	BSA	11B-3.8	99	Sim	<i>Cystobasidium laryngis</i>
4	5	MA2%	10B-1.3	100	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>

Amostra de origem	Temp. de isolamento	Meio de isolamento	Código	Perfil	Sequenciamento	Identificação
5	5	BSA	11B-3.10	101	Sim	ANI6
3	5	MA2%	9P-3.3	102	Sim	<i>Cystobasidium laryngis</i>
2	5	B&K	8P-3.3	103	Não	<i>Naganishia</i> sp.
2	5	BSA	8P-1.9	103	Sim	<i>Naganishia</i> sp.
4	5	BSA	10B-3.18	104	Sim	ANI6
6	5	BSA	12P-3.11	105	Não	ANI6
4	5	MA2%	10P-3.1	105	Sim	ANI6
4	5	BSA	10B-3.21	106	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
6	5	B&K	12P-3.1	107	Não	<i>Leucosporidium fragarium</i>
6	5	MA2%10xd.	12B-3.3	107	Sim	<i>Leucosporidium fragarium</i>
3	15	B&K	9B-3.15	108	Sim	<i>Cystobasidium laryngis</i>
4	5	BSA	10B-3.6	109	Sim	ANI6
1	15	MA2%	7P-3.1	110	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
1	5	MA2%10xd.	7P-1.1	111	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
2	15	MA2%	8B-3.2	111	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.
4	15	MA2%	10P-3.1	112	Sim	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
6	15	B&K	12P-3.8	112	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
6	15	MA2%10xd.	12B-3.1	112	Não	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>
5	5	BSA	11B-3.16	113	Não	<i>Holtermanniella festucosa</i>
5	15	MA2%10xd.	11P-3.6	113	Sim	<i>Holtermanniella festucosa</i>
2	5	MA2%	8B-1.1	114	Não	<i>Leucosporidium</i> sp.
6	15	MA2%10xd.	12B-3.7	114	Sim	<i>Leucosporidium</i> sp.

**Apêndice M** - Identificação molecular dos micro-organismos isolados no trabalho e sua similaridade com sequências depositadas no banco de dados (GenBank).

Código do isolado	Identificação	Resultados BLAST	Query cover	E value	Identidade	N. acesso GenBank
M1M	<i>Antarctomyces</i> sp.	<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i>	100%	0.0	100%	GU004189
M2M	<i>Antarctomyces</i> sp.	<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i>	100%	0.0	99%	GU004189
35	<i>Antarctomyces</i> sp.	<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i>	100%	0.0	100%	GU004189
M16P	<i>Antarctomyces</i> sp.	<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i>	100%	0.0	100%	GU004189
M44M	<i>Thelebolus</i> sp.	<i>Thelebolus</i> sp.	100%	0.0	99%	KU255050
89	<i>Laetinaevia carneoflava</i>	<i>Laetinaevia carneoflava</i>	99%	0.0	99%	KT185666
80	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	100%	0.0	100%	HQ607796
34	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	100%	0.0	99%	HQ607796
12	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
52	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
9	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
84	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
53	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
25	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
18	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
17	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
15	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
14	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
M2P	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
M25P	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
M17P	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
M59M	<i>Fusarium avenaceum</i> species complex	<i>Fusarium avenaceum</i>	100%	0.0	99%	KP265357
33	<i>Fusarium oxysporum</i> species complex	<i>Fusarium oxysporum</i>	100%	0.0	100%	HQ829112
M14M	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Cladosporium pini-ponderosae</i>	100%	0.0	100%	NR 119730
M15M	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Cladosporium asperulatum</i>	99%	0.0	100%	NR 119836
93	<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Cladosporium colombiae</i>	98%	0.0	100%	NR 119729
M14	<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Trichoderma polysporum</i>	100%	0.0	99%	AB856617
79	<i>Pochonia</i> sp.	<i>Pochonia</i> sp.	95%	0.0	99%	KU686687
M61M	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	99%	0.0	100%	GU128588
68	ANI1	<i>Rhizoscyphus</i> sp.	87%	0.0	99%	KT991135
65	ANI2	<i>Herpotrichia juniperi</i>	86%	0.0	99%	GQ203759
54	ANI2	<i>Herpotrichia juniperi</i>	86%	0.0	99%	GQ203759
M30P	ANI3	<i>Neopeckia</i> sp.	100%	0.0	99%	KJ735004
M9M	<i>Cosmospora</i> sp.1	<i>Cosmospora viridescens</i>	99%	0.0	100%	KJ676171
23	<i>Cosmospora</i> sp.1	<i>Cosmospora viridescens</i>	99%	0.0	100%	KJ676171
21	<i>Cosmospora</i> sp.1	<i>Cosmospora viridescens</i>	99%	0.0	100%	KJ676171
20	<i>Cosmospora</i> sp.1	<i>Cosmospora viridescens</i>	99%	0.0	100%	KJ676171
19	<i>Cosmospora</i> sp.1	<i>Cosmospora viridescens</i>	99%	0.0	100%	KJ676171



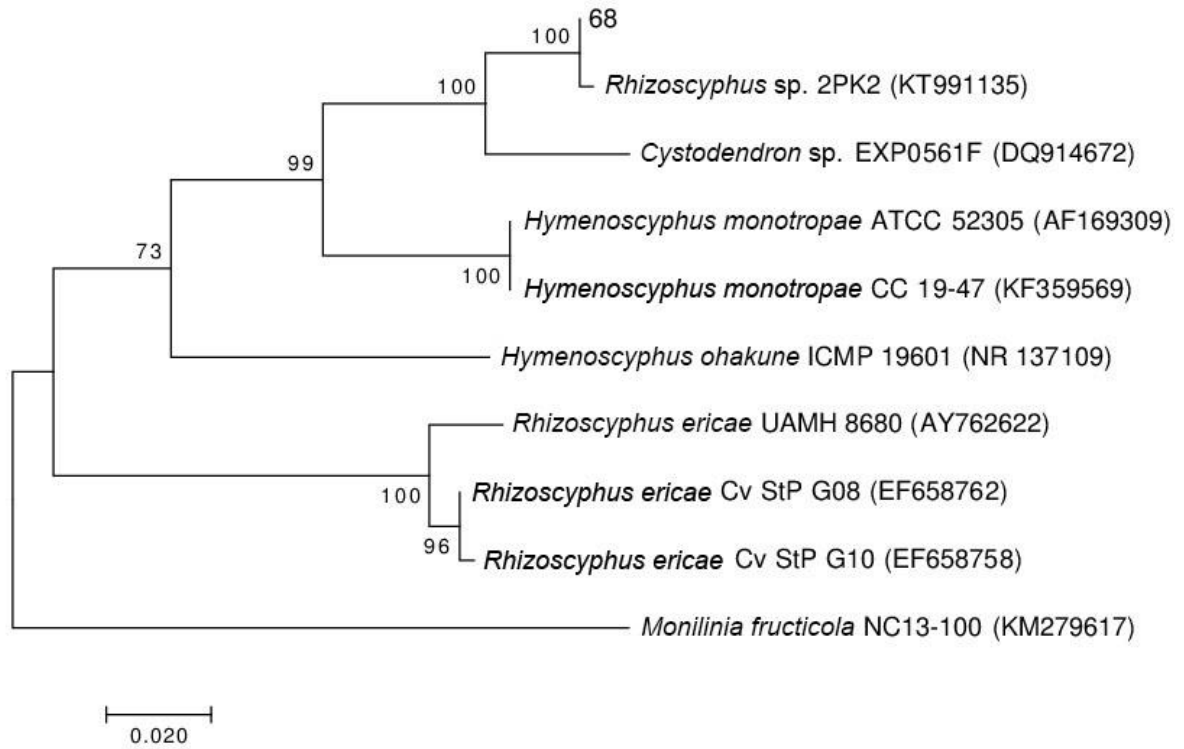
Código do isolado	Identificação	Resultados BLAST	Query cover	E value	Identidade	N. acesso GenBank
66	<i>Cosmospora</i> sp.2	<i>Cosmospora viridescens</i>	99%	0.0	100%	KJ676147
22	<i>Cosmospora</i> sp.3	<i>Cosmospora</i> sp.	100%	0.0	100%	KJ676150
91	<i>Varicosporium</i> sp.	<i>Varicosporium elodeae</i>	100%	0.0	99%	JX981463
55	<i>Varicosporium</i> sp.	<i>Varicosporium elodeae</i>	95%	0.0	100%	KX611531
M49M	<i>Varicosporium</i> sp.	<i>Varicosporium elodeae</i>	100%	0.0	99%	JX981463
M52M	<i>Varicosporium</i> sp.	<i>Varicosporium elodeae</i>	100%	0.0	99%	JX981463
M65M	<i>Varicosporium</i> sp.	<i>Varicosporium elodeae</i>	100%	0.0	99%	JX981463
72	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
8	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
71	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
4	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
M13M	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
7	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
6	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
M8P	<i>Mortierella</i> sp.1	<i>Mortierella hyalina</i>	100%	0.0	99%	AJ878780
32	<i>Mortierella</i> sp.2	<i>Mortierella alpina</i>	100%	0.0	99%	KP714667
51	<i>Microdochium lycopodium</i>	<i>Microdochium lycopodium</i>	100%	0.0	99%	NR 145223
45	<i>Microdochium lycopodium</i>	<i>Microdochium lycopodium</i>	100%	0.0	99%	NR 145223
44	<i>Microdochium lycopodium</i>	<i>Microdochium lycopodium</i>	100%	0.0	99%	NR 145223
M1P	<i>Microdochium lycopodium</i>	<i>Microdochium lycopodium</i>	100%	0.0	100%	NR 145223
M46M	<i>Microdochium lycopodium</i>	<i>Microdochium lycopodium</i>	100%	0.0	100%	NR 145223
96	<i>Oidiodendron</i> sp.	<i>Oidiodendron</i> sp.	100%	0.0	96%	KF359578
M60M	<i>Oidiodendron</i> sp.	<i>Oidiodendron</i> sp.	100%	0.0	96%	KF359578
37	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
38	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
57	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
85	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
M15P	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
M36M	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
M50M	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
69	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
M38M	<i>Leptosphaeria</i> sp.	<i>Leptosphaeria conoidea</i>	93%	0.0	97%	JF740201
50	ANI4	<i>Leuconeurospora</i> sp.	97%	0.0	100%	KU145522
M5M	ANI4	<i>Leuconeurospora</i> sp.	97%	0.0	100%	KU145522
M6M	ANI4	<i>Leuconeurospora</i> sp.	97%	0.0	100%	KU145522
M10M	ANI5	<i>Urceolella carestiana</i>	97%	0.0	93%	JN033443
M29M	ANI5	<i>Urceolella carestiana</i>	97%	0.0	94%	JN033443
M7P	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.1	<i>Geomyces</i> sp.	100%	0.0	100%	JX270343
M21M	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.2	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.	100%	0.0	100%	KF039893
M41M	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>	100%	0.0	100%	KP714644
M31P	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.	100%	0.0	99%	LN852361

Código do isolado	Identificação	Resultados BLAST	Query cover	E value	Identidade	N. acesso GenBank
11	<i>Pseudogymnoascus</i> sp.3	<i>Geomyces</i> sp.	100%	0.0	99%	JX270563
4	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
401	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
251	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
94	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
7	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
61	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
327	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
294	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
236	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
230	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
21	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
207	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
190	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
142	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
129	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
126	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	<i>Goffeauzyma gilvescens</i>	99%	0.0	100%	KY107769
325	<i>Goffeauzyma gastrica</i>	<i>Goffeauzyma gastrica</i>	100%	0.0	100%	KY107765
308	<i>Goffeauzyma gastrica</i>	<i>Goffeauzyma gastrica</i>	100%	0.0	100%	KY107765
101	<i>Naganishia</i> sp.	<i>Naganishia antarctica</i>	94%	0.0	100%	KT970767
138	<i>Naganishia</i> sp.	<i>Naganishia antarctica</i>	94%	0.0	100%	KT970767
148	<i>Naganishia</i> sp.	<i>Naganishia antarctica</i>	95%	0.0	100%	KT970767
39	<i>Naganishia</i> sp.	<i>Naganishia antarctica</i>	95%	0.0	100%	KT970767
12	<i>Naganishia</i> sp.	<i>Naganishia bhutanensis</i>	96%	0.0	99%	KY108606
362	<i>Holtermanniella festucosa</i>	<i>Holtermanniella festucosa</i>	99%	0.0	100%	KY107040
5	<i>Holtermanniella festucosa</i>	<i>Holtermanniella festucosa</i>	100%	0.0	100%	KY107040
195	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
235	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
222	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	100%	0.0	100%	KY107874
107	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
162	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
198	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
239	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	100%	0.0	99%	KY107874
257	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
311	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
36	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	99%	0.0	99%	KY107874
331	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	100%	0.0	99%	KY107874
363	<i>Holtermanniella wattica</i>	<i>Holtermanniella wattica</i>	100%	0.0	99%	KY107874
336	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	99%	0.0	100%	KY110047
37	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	<i>Vishniacozyma victoriae</i>	99%	0.0	100%	KY110047
409	<i>Mrakia</i> sp.	<i>Mrakia gelida</i>	99%	0.0	100%	GQ911520
6	<i>Mrakia</i> sp.	<i>Mrakia gelida</i>	99%	0.0	99%	KY108585

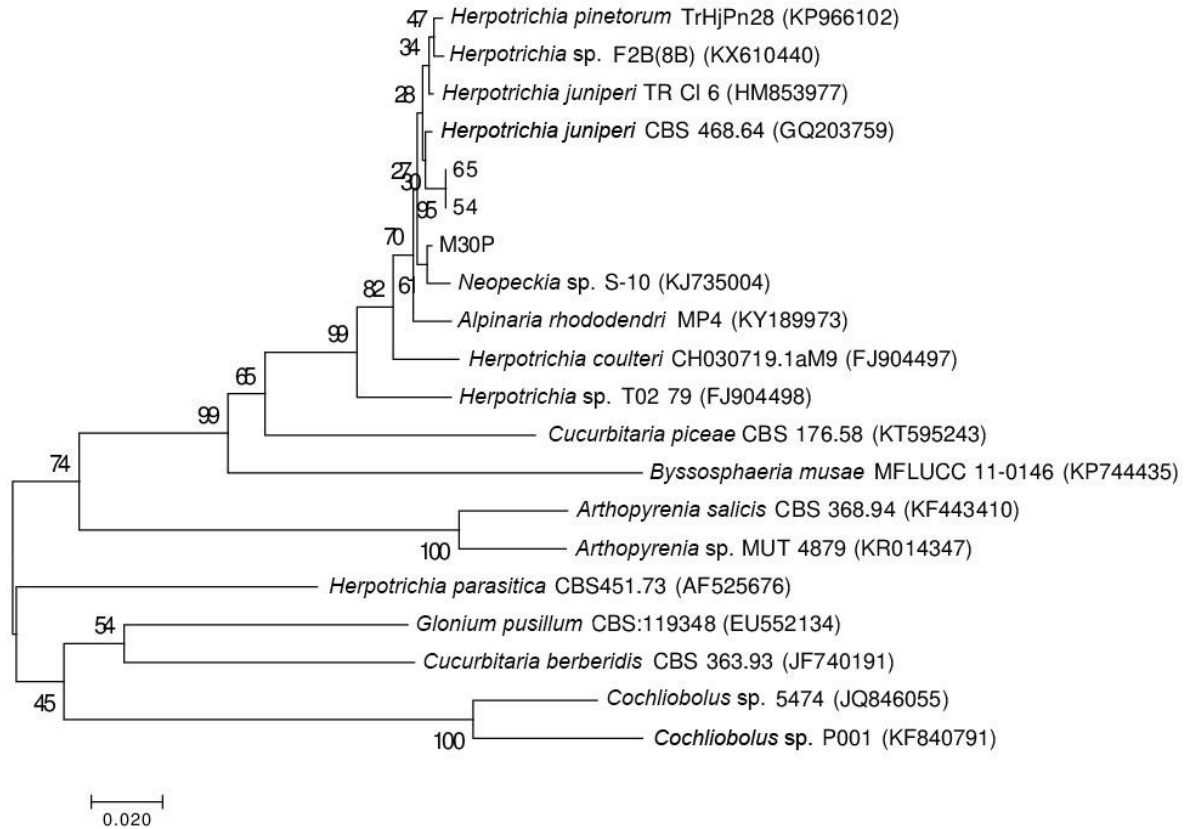
Código do isolado	Identificação	Resultados BLAST	Query cover	E value	Identidade	N. acesso GenBank
387	<i>Mrakia</i> sp.	<i>Mrakia gelida</i>	99%	0.0	99%	KY108585
382	<i>Mrakia</i> sp.	<i>Mrakia gelida</i>	99%	0.0	99%	KY108585
279	<i>Mrakia</i> sp.	<i>Mrakia gelida</i>	100%	0.0	99%	GQ911520
71	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
14	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	100%	0.0	99%	EU194448
8	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
46	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
260	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
22	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
199	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
157	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
13	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
137	<i>Cystobasidium laryngis</i>	<i>Cystobasidium laryngis</i>	99%	0.0	99%	AB078500
17	<i>Leucosporidium fragarium</i>	<i>Leucosporidium fragarium</i>	99%	0.0	100%	KY108279
51	<i>Leucosporidium fragarium</i>	<i>Leucosporidium fragarium</i>	100%	0.0	100%	KY108279
150	<i>Leucosporidium fragarium</i>	<i>Leucosporidium fragarium</i>	100%	0.0	100%	KY108279
346	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
10	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
15	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
170	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
180	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
196	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
200	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
231	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
237	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
23	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
242	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
245	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
252	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
288	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
293	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
300	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
303	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
328	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
330	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
348	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
42	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
73	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
89	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
210	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	99%	0.0	99%	KY108289
291	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
28	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289

<b>Código do isolado</b>	<b>Identificação</b>	<b>Resultados BLAST</b>	<b>Query cover</b>	<b>E value</b>	<b>Identidade</b>	<b>N. acesso GenBank</b>
375	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
143	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
265	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
277	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
306	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
315	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
350	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium creatinivorum</i>	99%	0.0	100%	NG 042375
366	<i>Leucosporidium</i> sp.	<i>Leucosporidium scottii</i>	100%	0.0	99%	KY108289
67	ANI6	<i>Candida davisiana</i>	100%	0.0	100%	KY106409
410	ANI6	<i>Candida davisiana</i>	99%	0.0	100%	KY106409

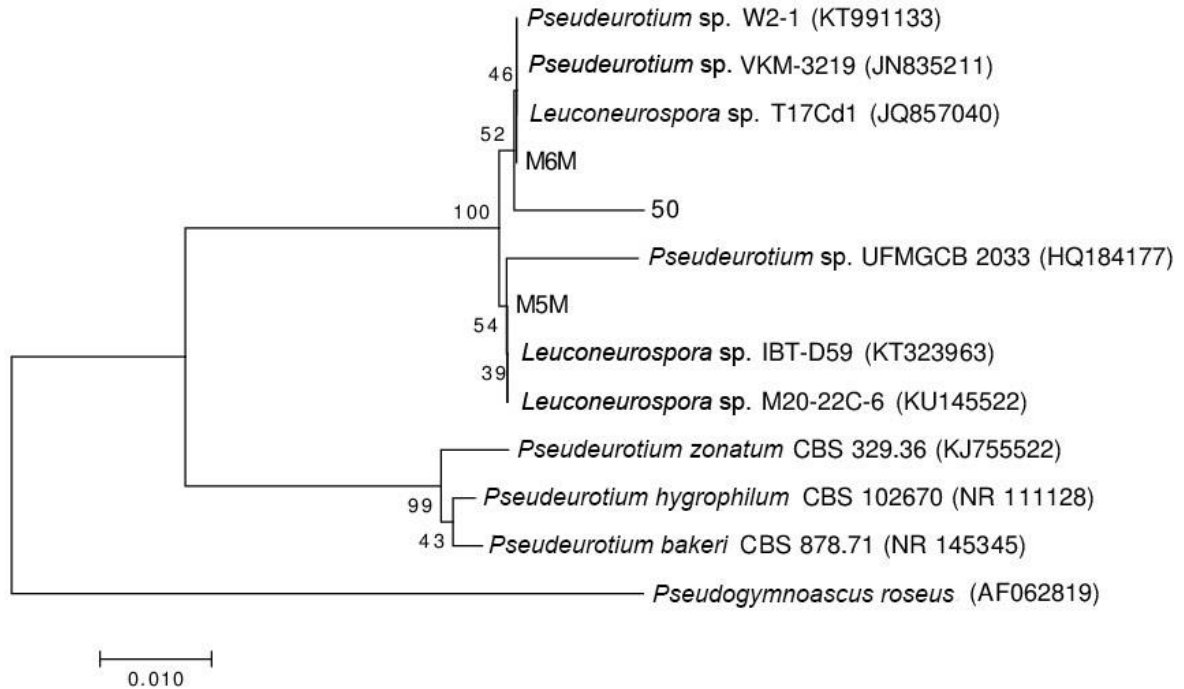
**Apêndice N** - Árvore filogenética inferida para o fungo ANI1, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (68 - Código de extração de DNA do fungo ANI1).



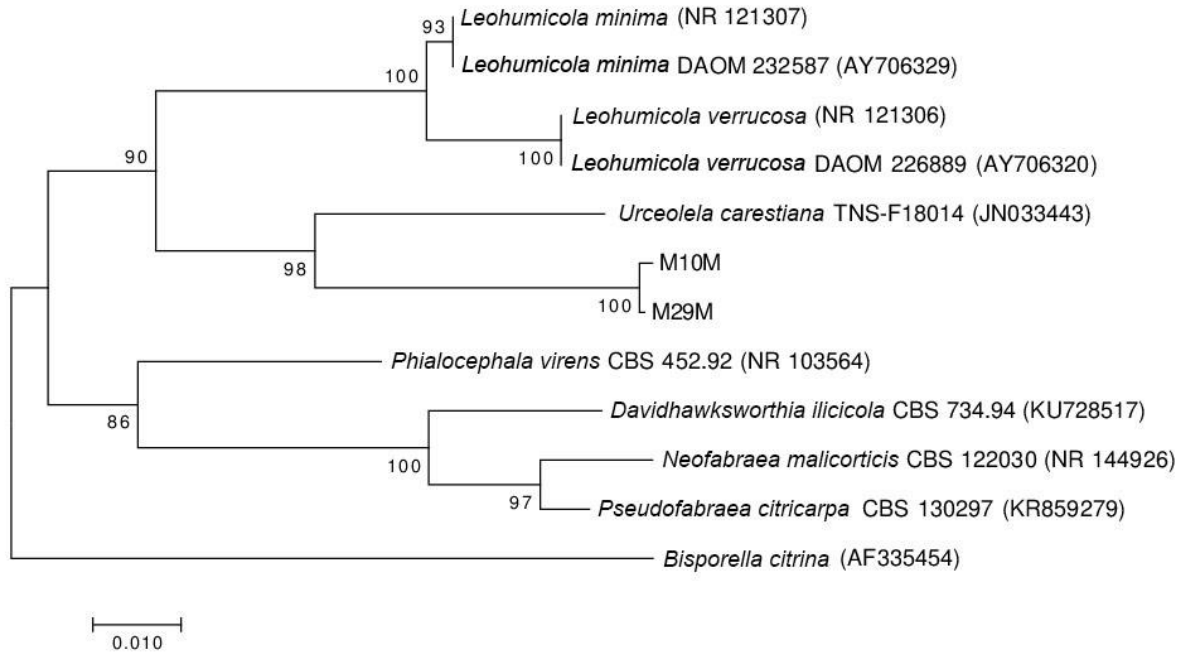
**Apêndice O** - Árvore filogenética inferida para os fungos ANI2 e ANI3, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (65 e 54 - Códigos de extração de DNA do fungo ANI2; M30P – Código de extração do DNA do fungo ANI3).



**Apêndice P** - Árvore filogenética inferida para o fungo ANI4, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M6M, M5M, 50 - Códigos de extração de DNA do fungo ANI4).

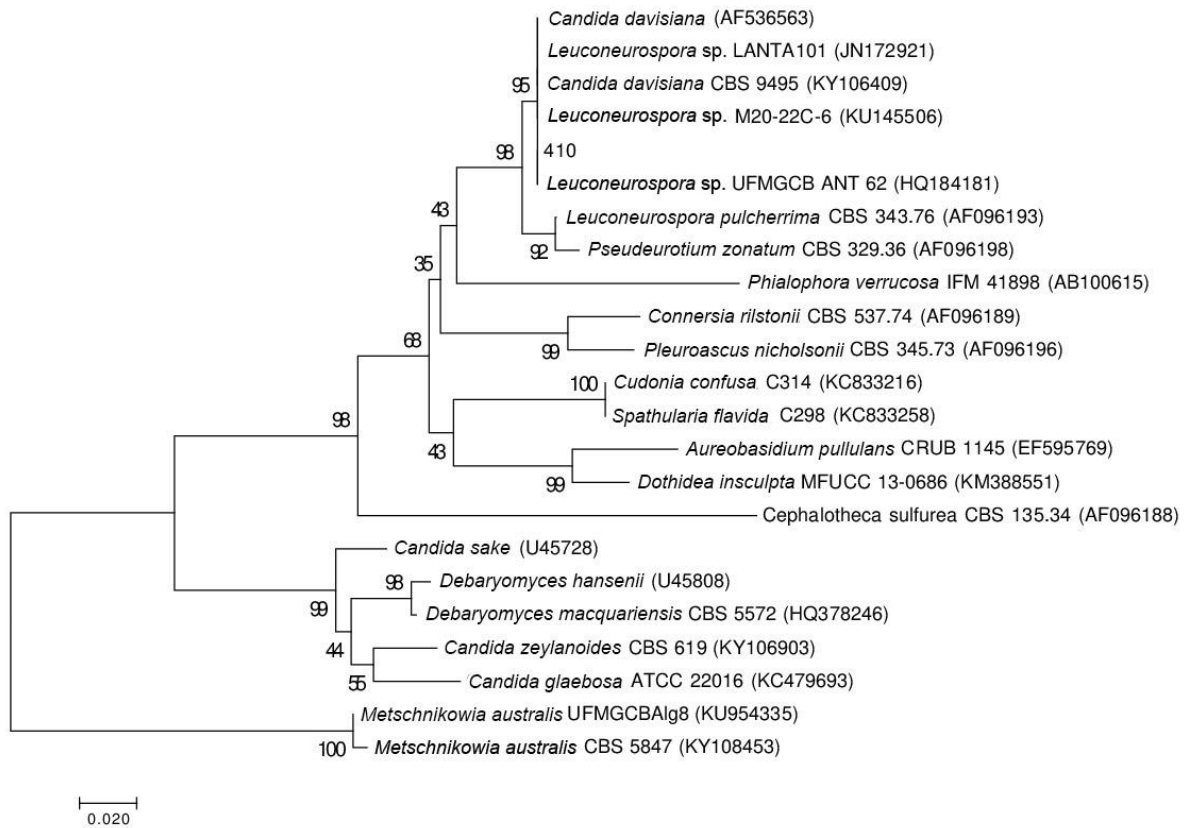


**Apêndice Q** - Árvore filogenética inferida para o fungo ANI5, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M10M, M29M - Códigos de extração de DNA do fungo ANI5).

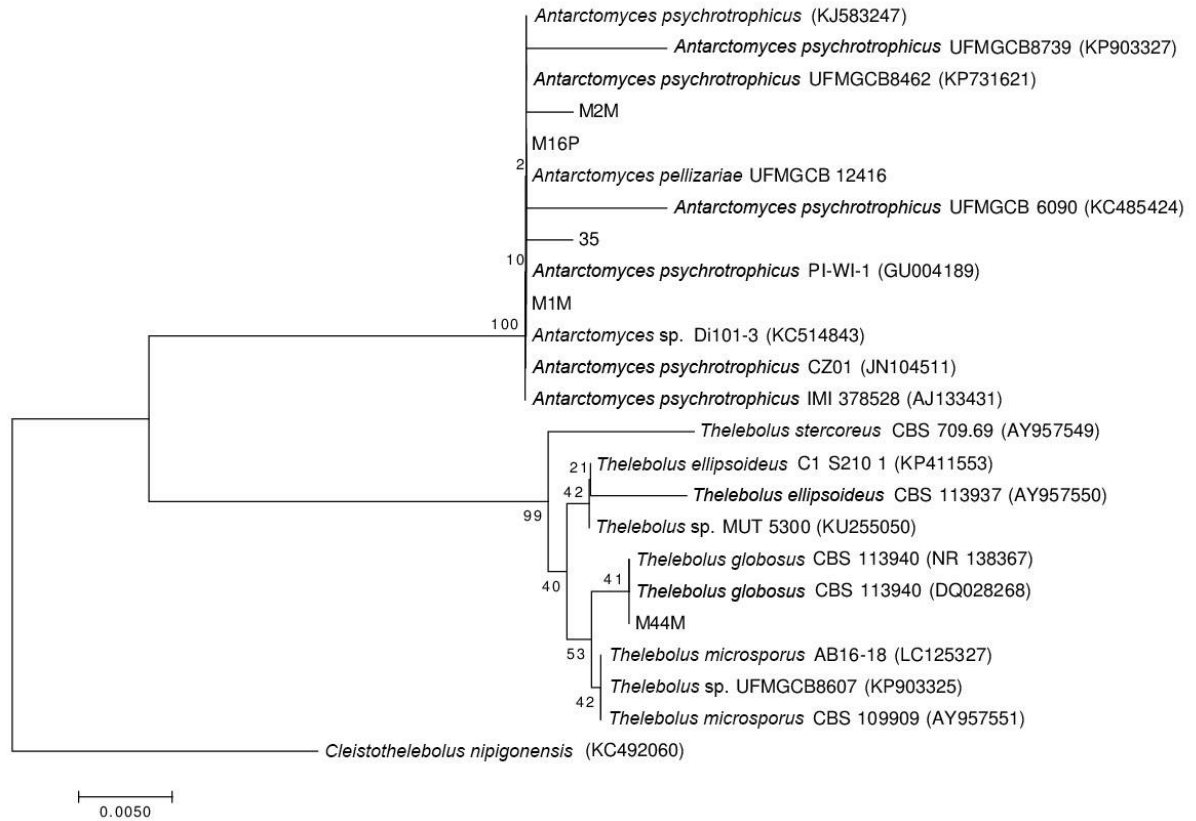




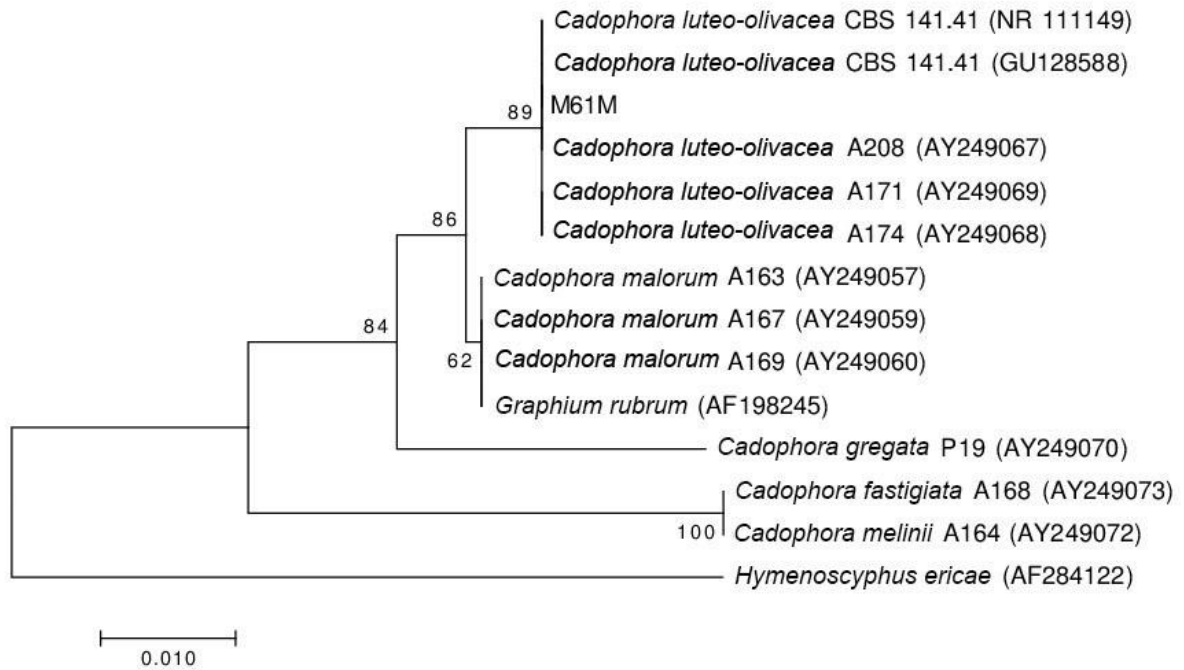
**Apêndice R** - Árvore filogenética inferida para a levedura ANI6, baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (410 - Código de extração de DNA da levedura ANI6).



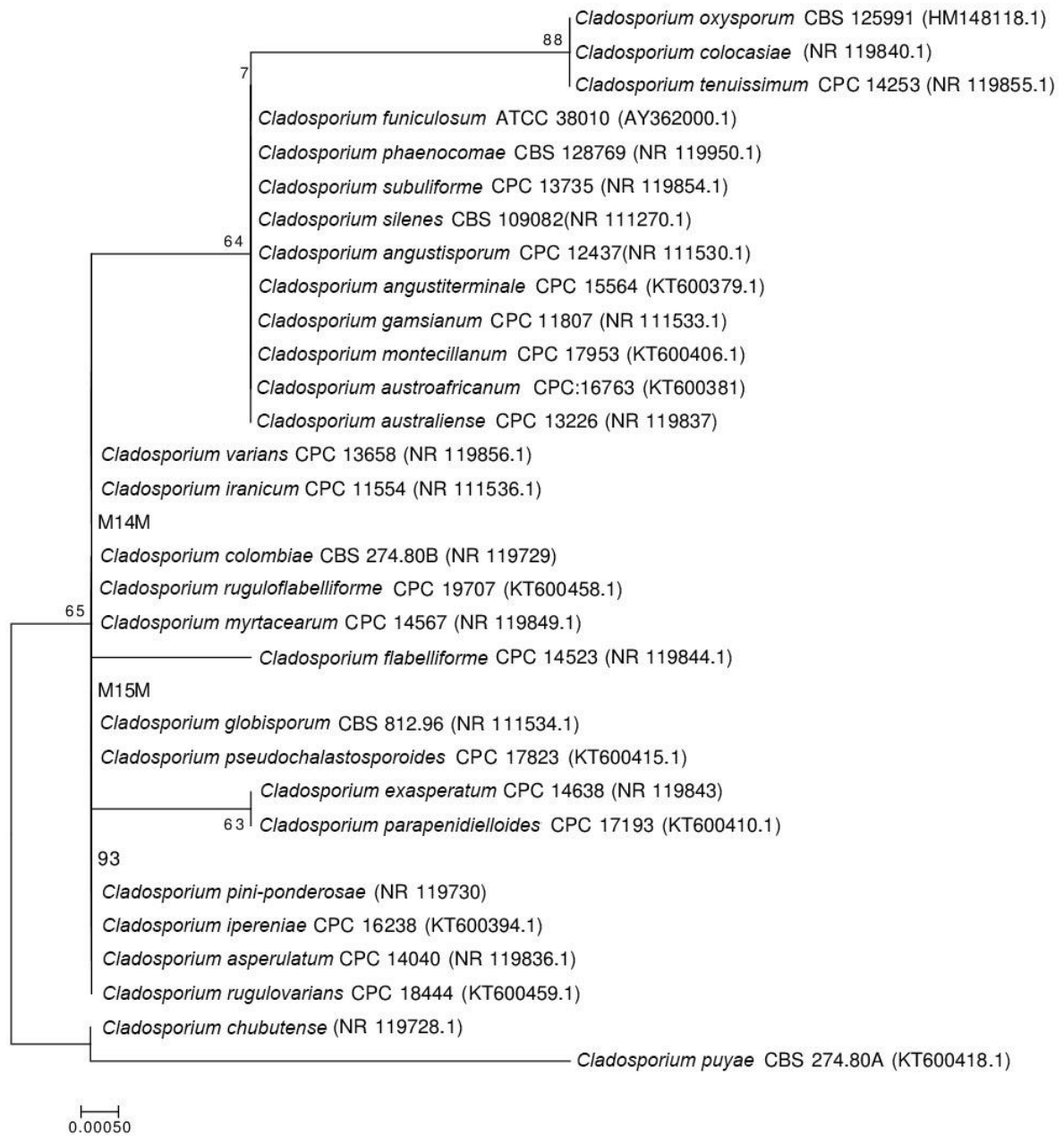
**Apêndice S** - Árvore filogenética inferida para os fungos *Antarctomyces* sp. e *Thelebolus* sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M2M, M16P, M1M, 35 - Códigos de extração de DNA do fungo *Antarctomyces* sp.; M44M – Código de extração de DNA do fungo *Thelebolus* sp.).



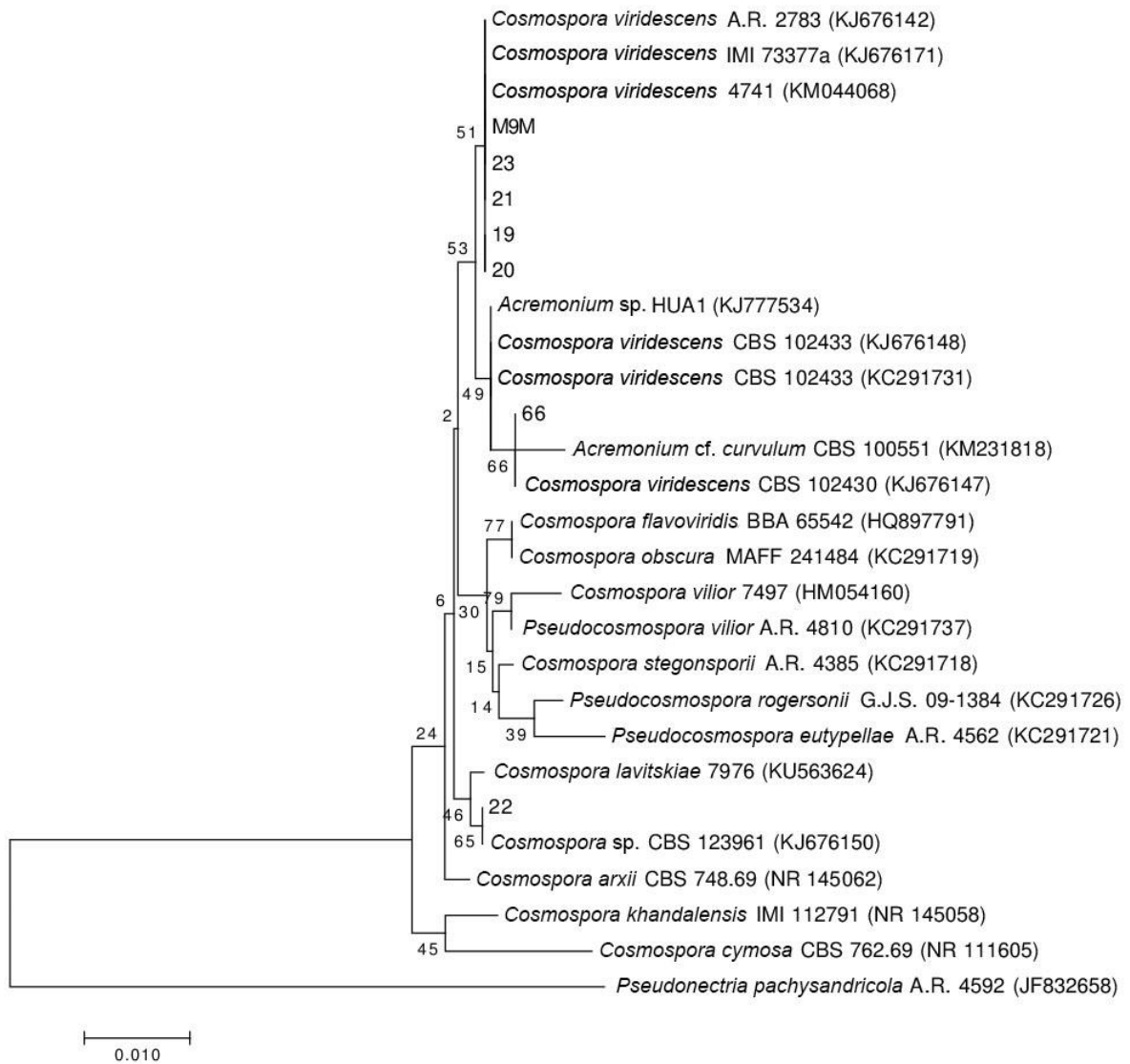
**Apêndice T** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Cadophora luteo-olivacea*, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M61M - Código de extração de DNA do fungo *Cadophora luteo-olivacea*).



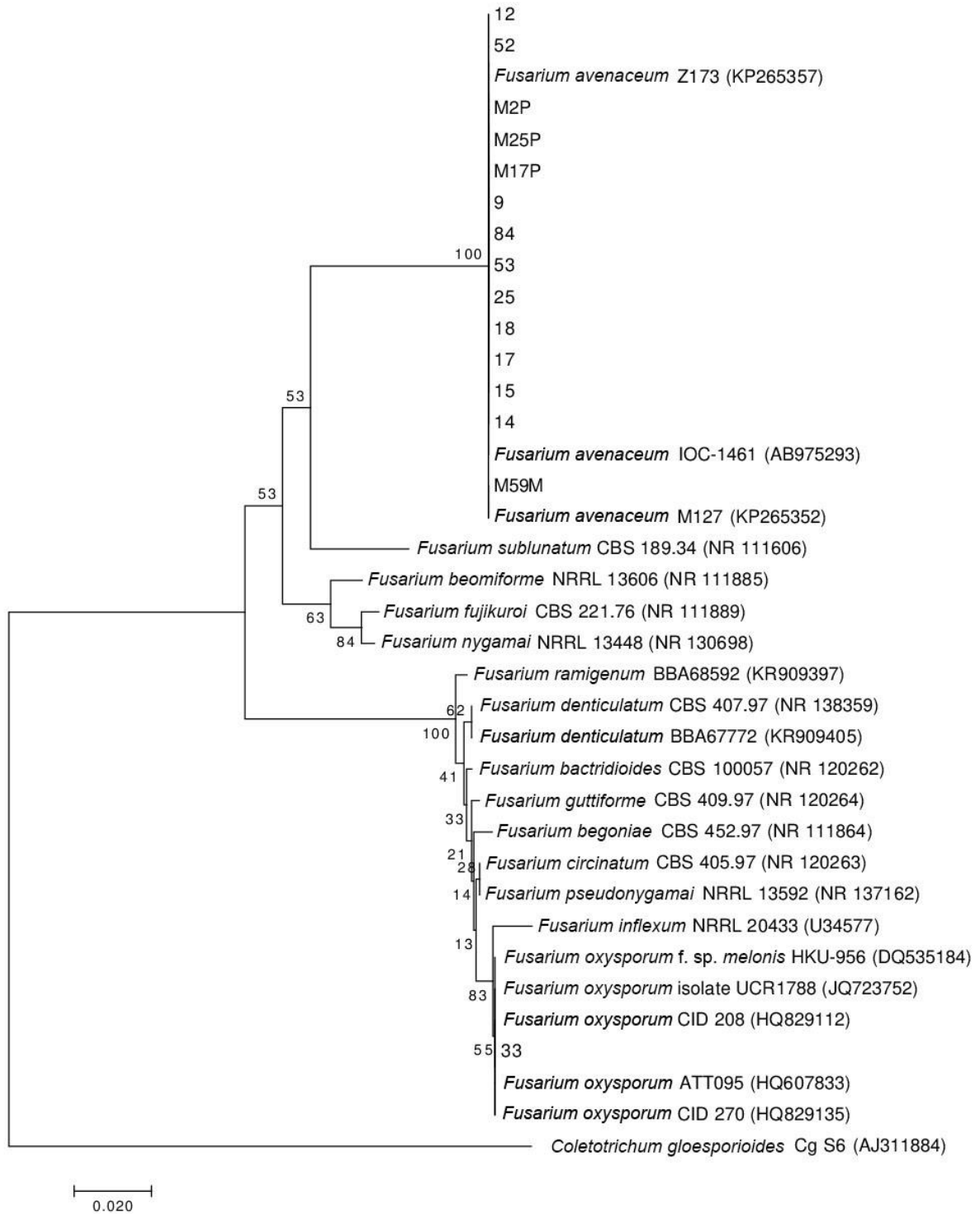
**Apêndice U** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Cladosporium* sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M14M, M15M, 93 - Códigos de extração de DNA do fungo *Cladosporium* sp.).



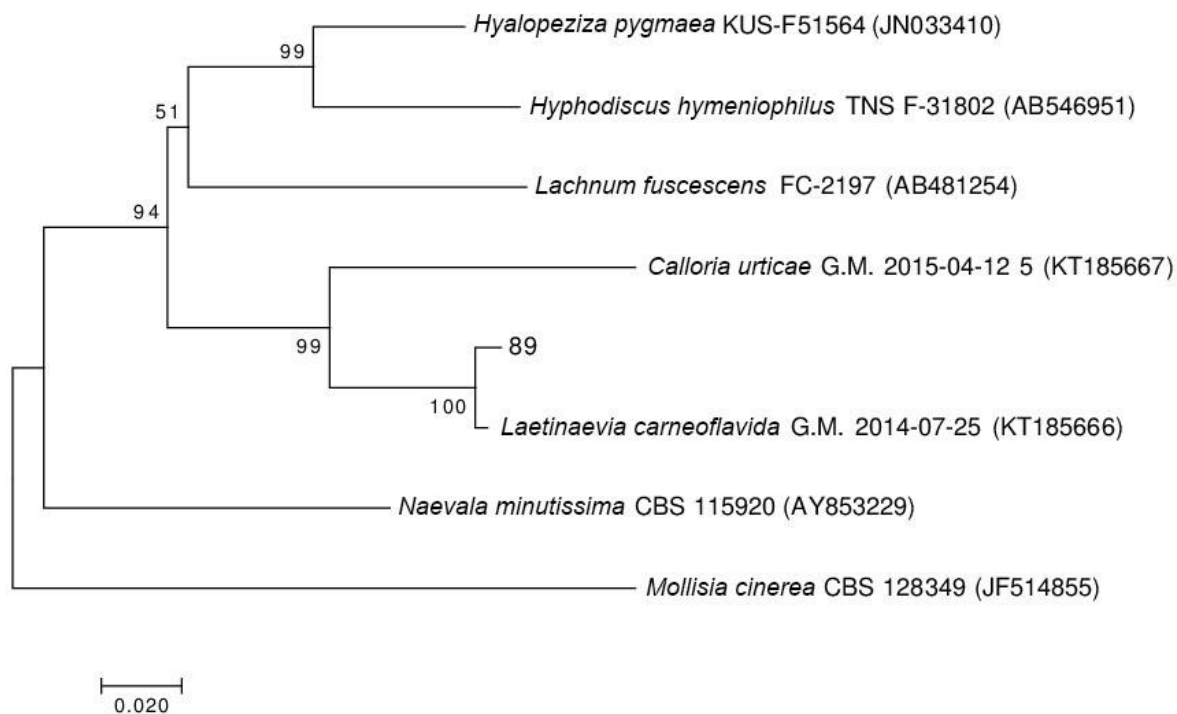
**Apêndice V** - Árvore filogenética inferida para os fungos *Cosmospora* sp.1, sp.2 e sp.3, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M9M, 23, 21, 19, 20 - Códigos de extração de DNA do fungo *Cosmospora* sp.1; 66 - Código de extração de DNA do fungo *Cosmospora* sp.2; 22 - Código de extração de DNA do fungo *Cosmospora* sp.3).



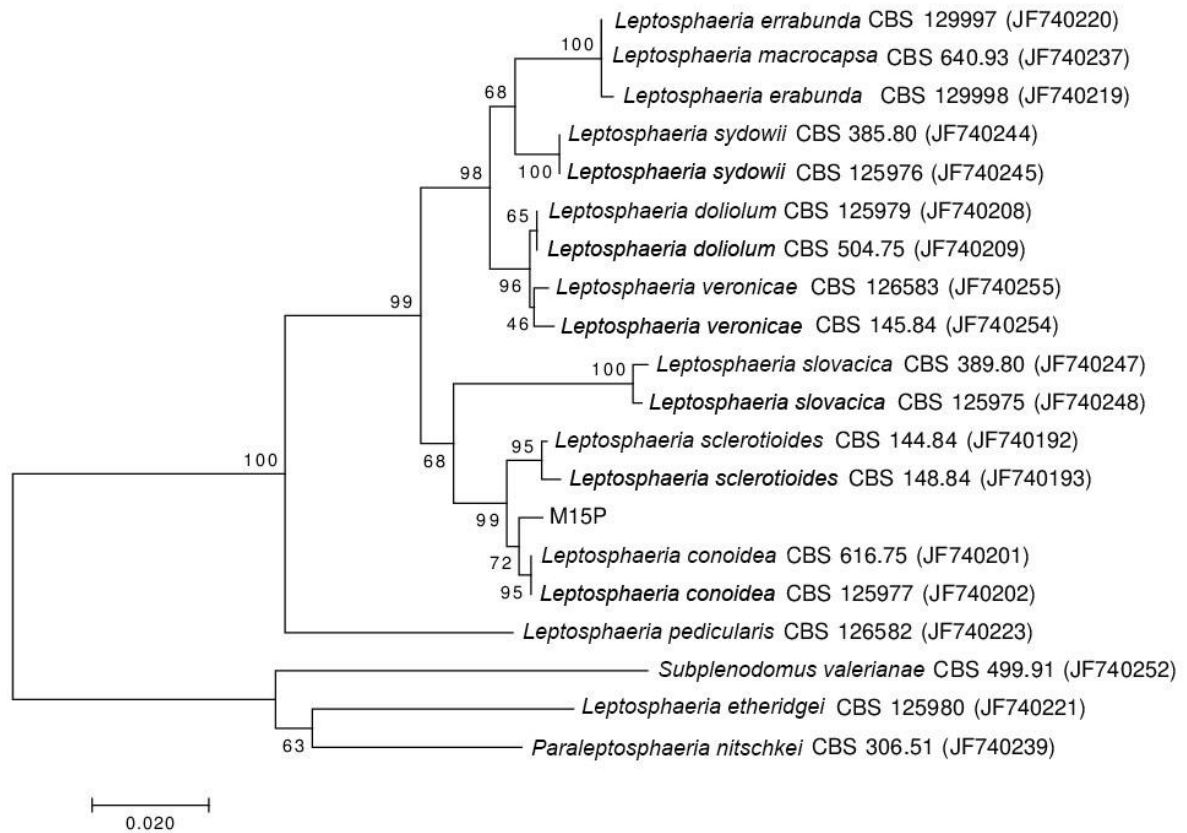
**Apêndice W** - Árvore filogenética inferida para os fungos *Fusarium avenaceum* species complex e *Fusarium oxysporum* species complex, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (12, 52, 9, 84, 53, 25, 18, 17, 15, 14, M2P, M25P, M17P, M59M - Códigos de extração de DNA do fungo *Fusarium avenaceum* species complex; 33 – Código de extração de DNA do fungo *Fusarium oxysporum* species complex).



**Apêndice X** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Laetinaevia carneoflava*, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (89 – Código de extração de DNA do fungo *Laetinaevia carneoflava*).

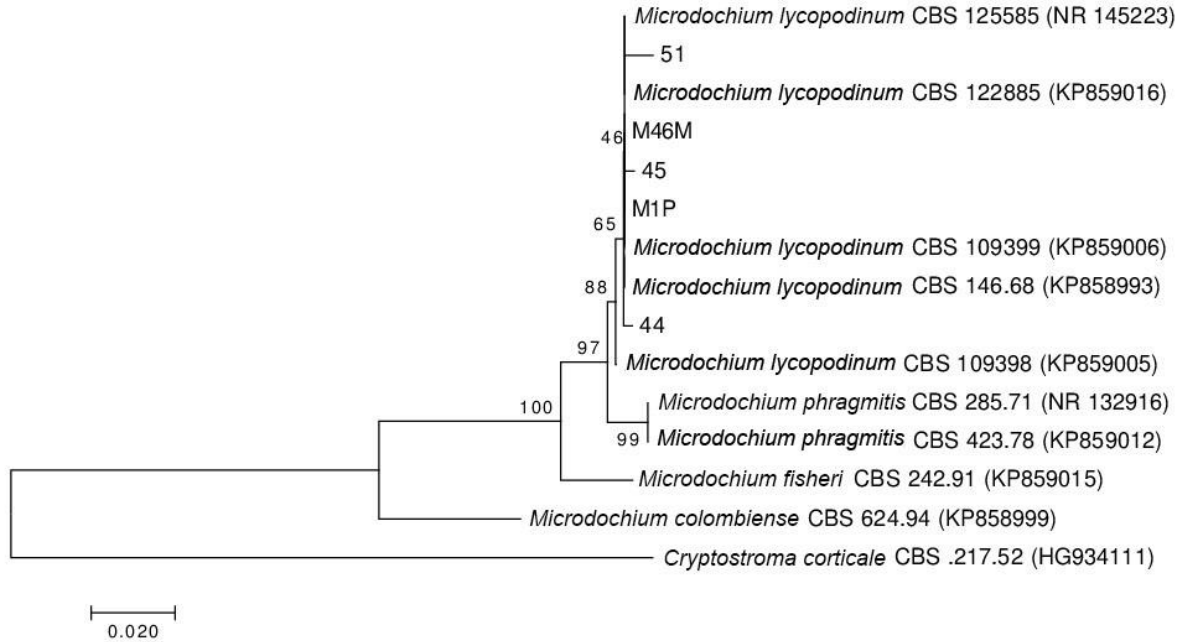


**Apêndice Y** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Leptosphaeria* sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M15P – Código de extração de DNA do fungo *Leptosphaeria* sp.).

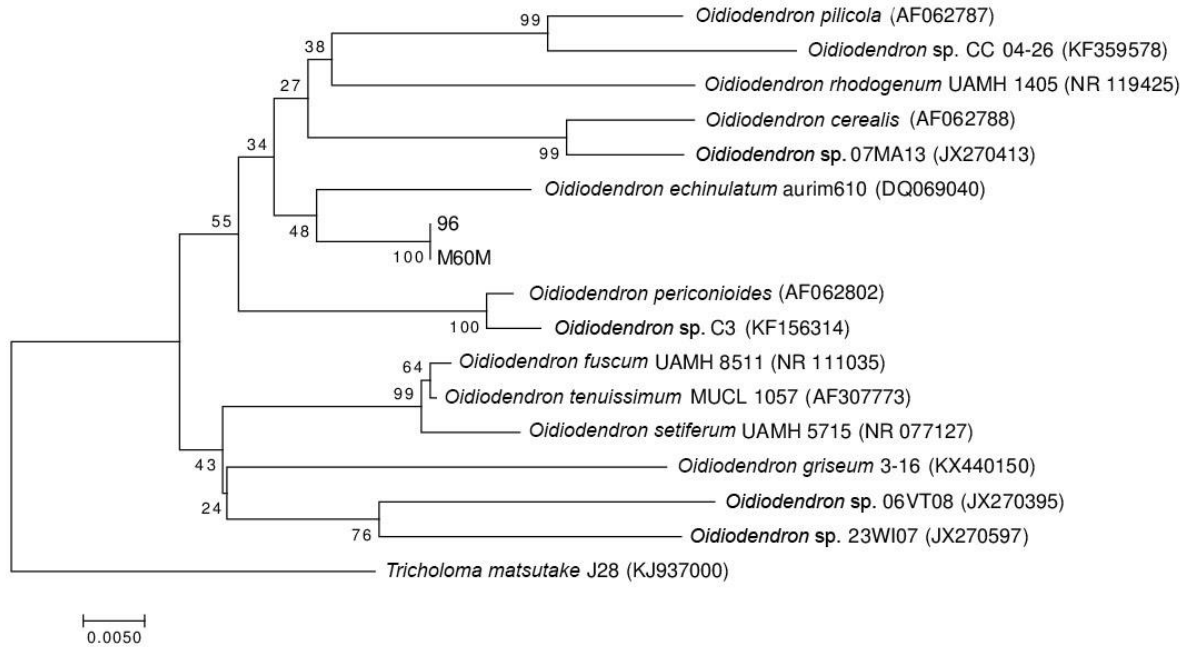




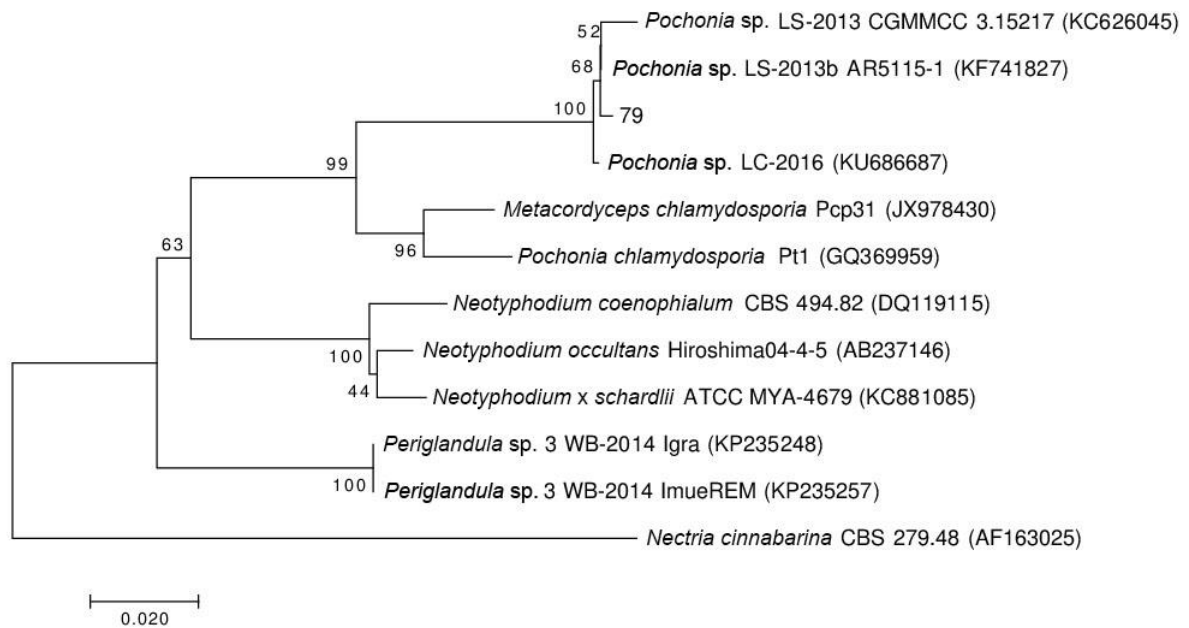
**Apêndice Z** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Microdochium lycopodium*, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (51, 45, 44, M46M, M1P – Códigos de extração de DNA do fungo *Microdochium lycopodium*).



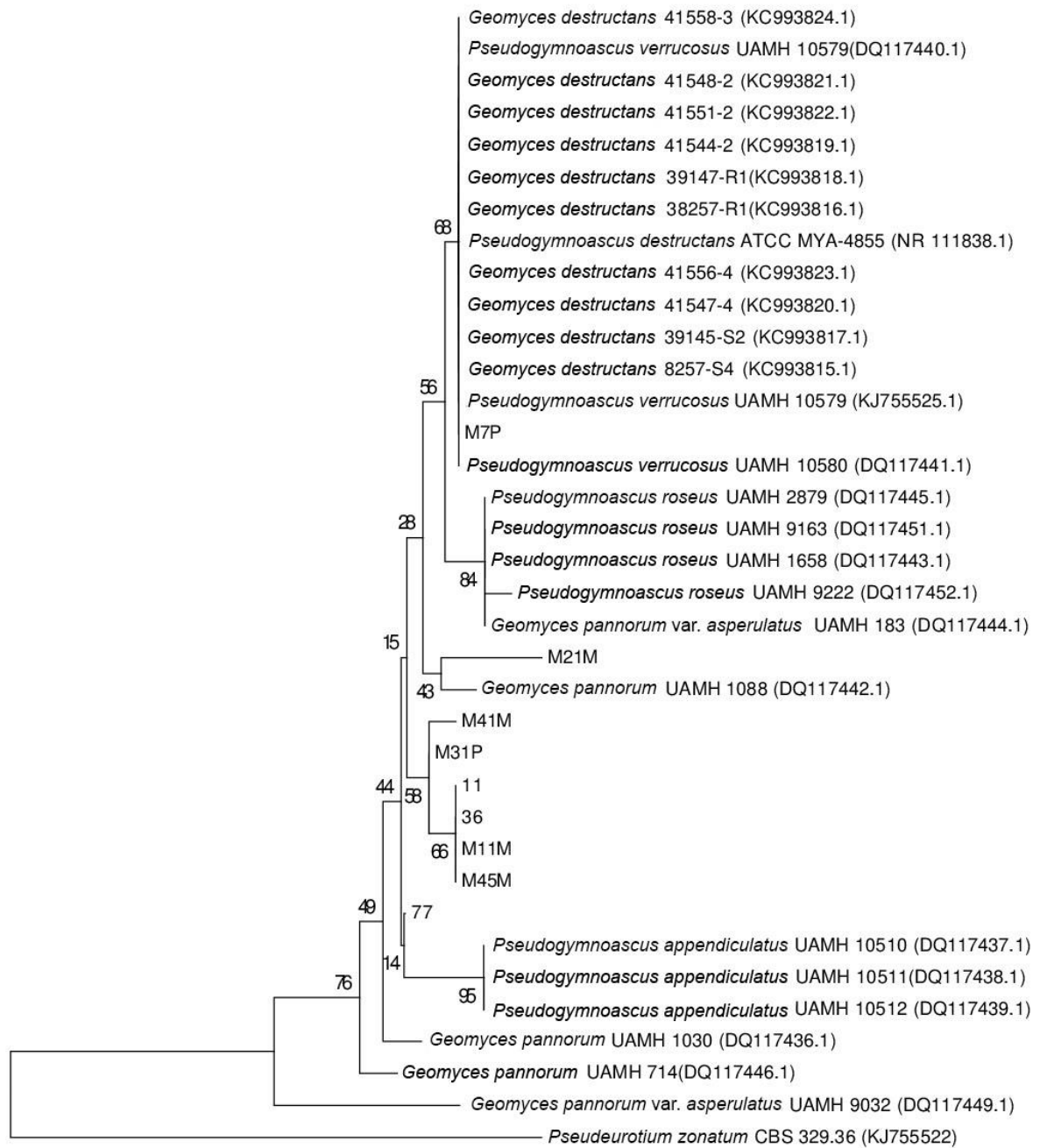
**Apêndice AA** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Oidiodendron* sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (96, M60M – Códigos de extração de DNA do fungo *Oidiodendron* sp.).



**Apêndice AB** - Árvore filogenética inferida para o *Pochonia* sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (79 – Código de extração de DNA do fungo *Pochonia* sp.).

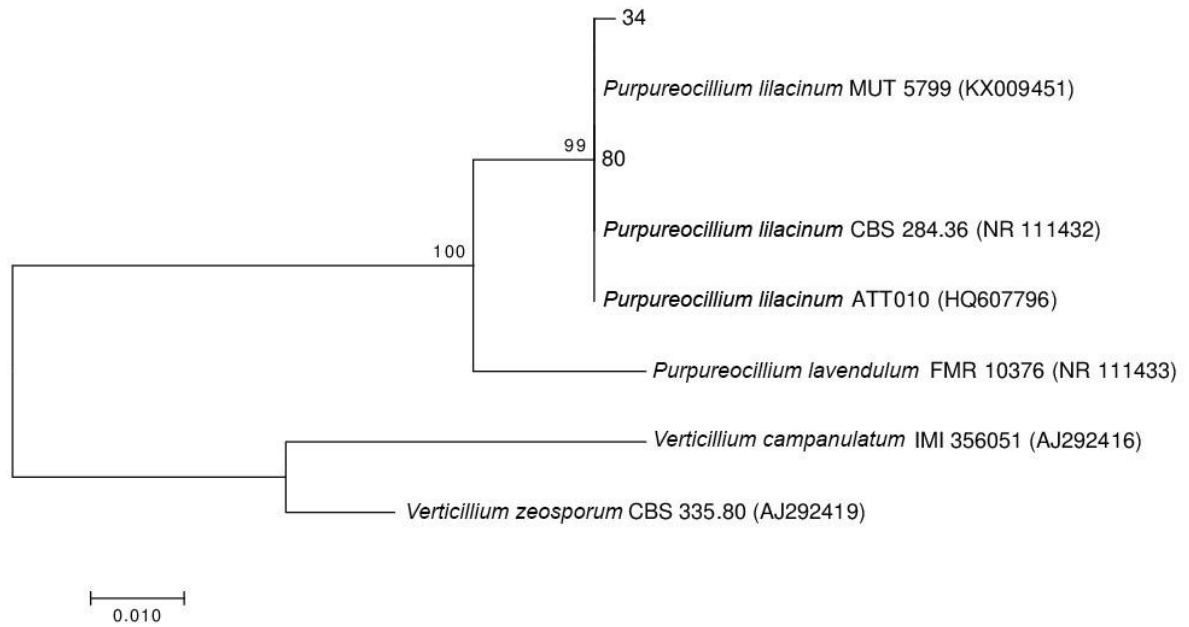


**Apêndice AC** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Pseudogymnoascus* sp.1, sp.2, sp.3, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M7P – Código de extração de DNA do fungo *Pseudogymnoascus* sp.1; M21M – Código de extração de DNA do fungo *Pseudogymnoascus* sp.2; 11, 36, M31P, M41M, M11M, M45M – Códigos de extração de DNA do fungo *Pseudogymnoascus* sp.3).

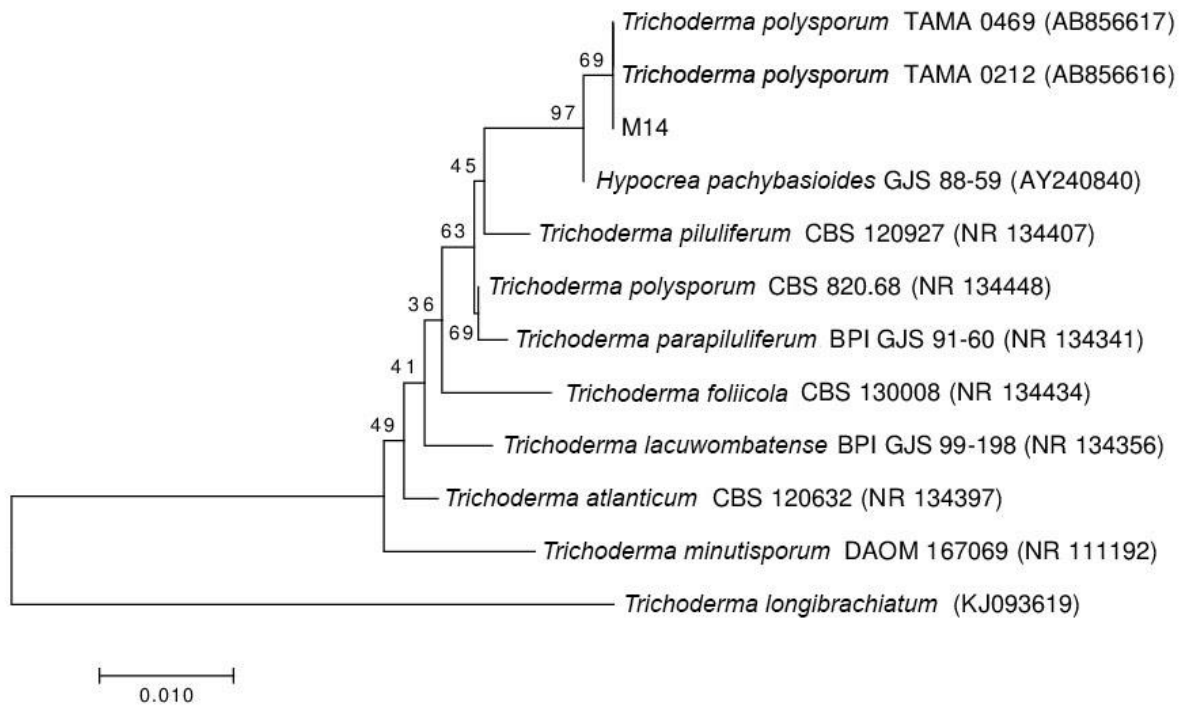


0.010

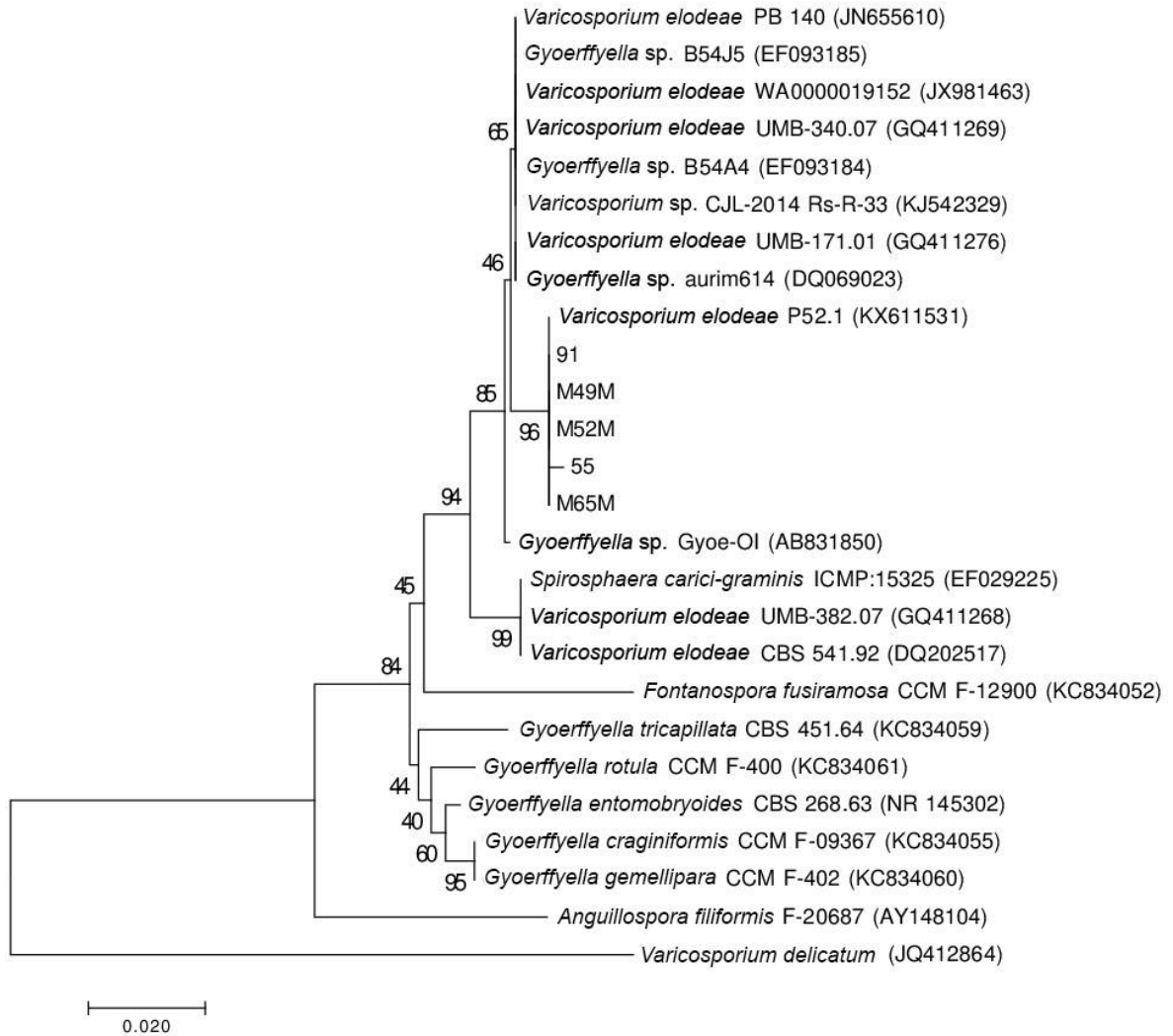
**Apêndice AD** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Purpureocillium lilacinum*, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (80, 34 – Códigos de extração de DNA do fungo *Purpureocillium lilacinum*).



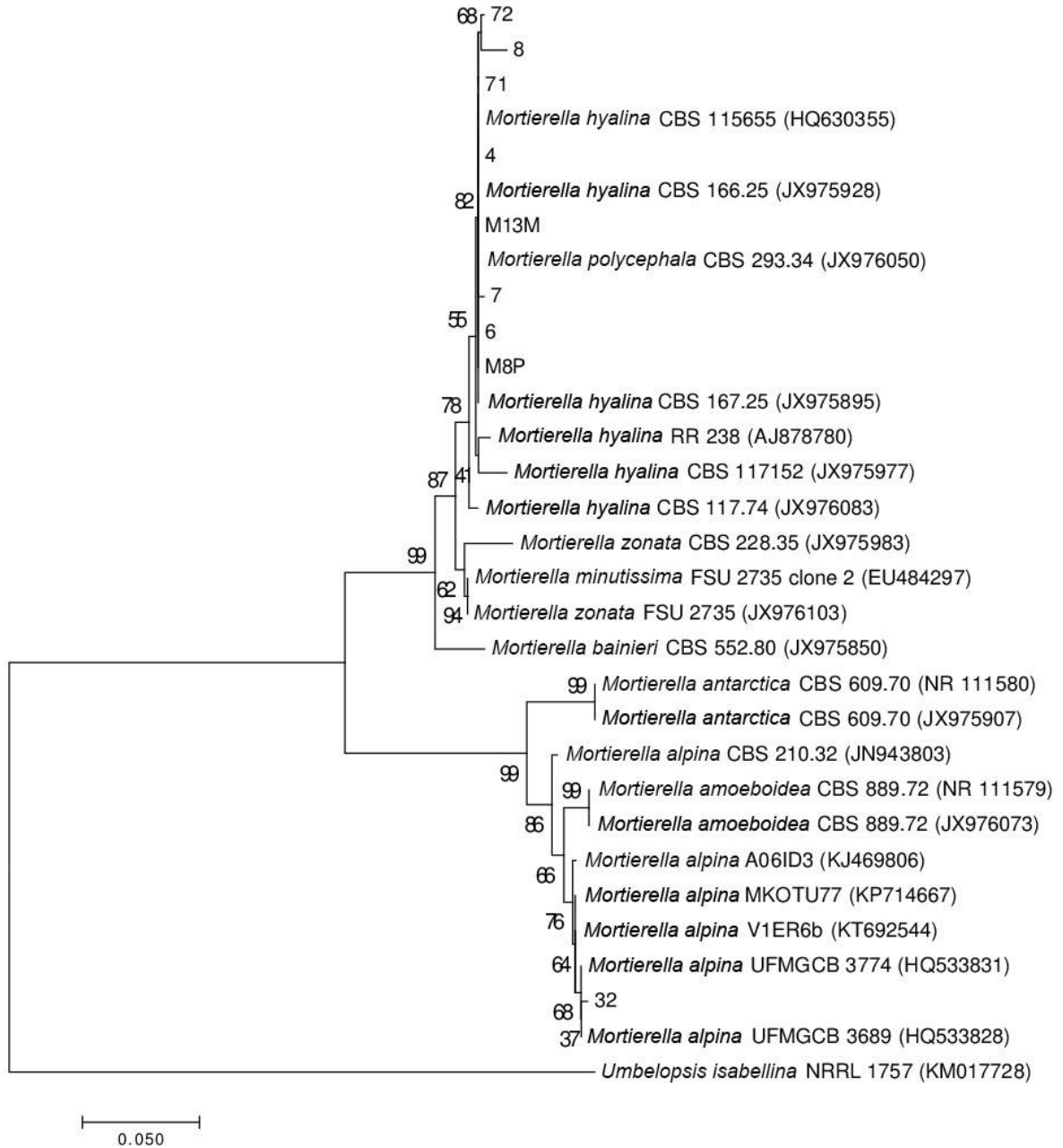
**Apêndice AE** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Trichoderma* sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (M14 – Código de extração de DNA do fungo *Trichoderma* sp.).



**Apêndice AF** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Varicosporium* sp., baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (91, 55, M49M, M52M, M65M – Códigos de extração de DNA do fungo *Varicosporium* sp.).

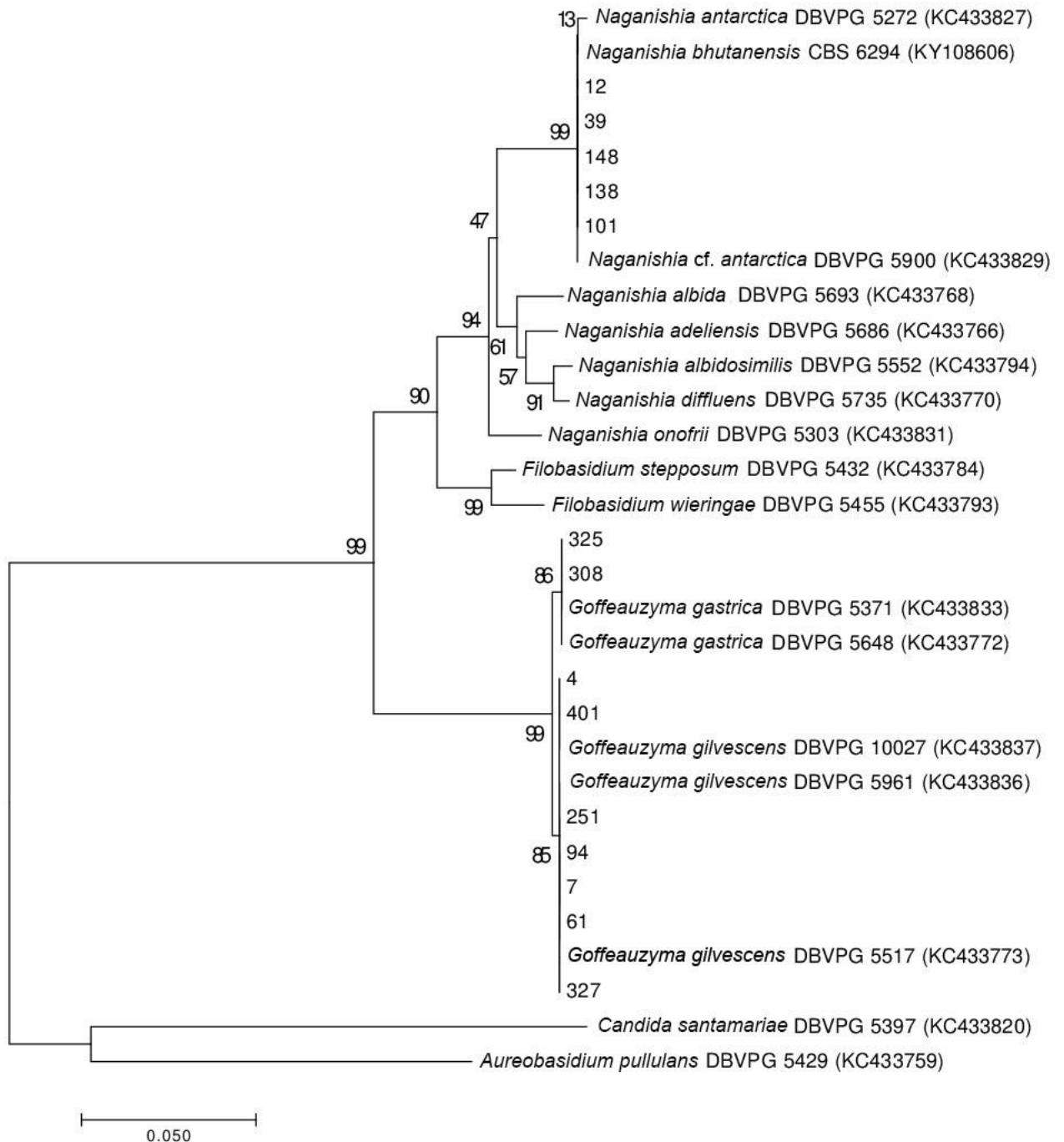


**Apêndice AG** - Árvore filogenética inferida para o fungo *Mortierella* sp.1 e sp.2, baseada em suas sequências da região ITS, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (72, 8, 71, 4, 7, 6, M13M, M8P – Códigos de extração de DNA do fungo *Mortierella* sp.1; 32 – Código de extração de DNA do fungo *Mortierella* sp.2).

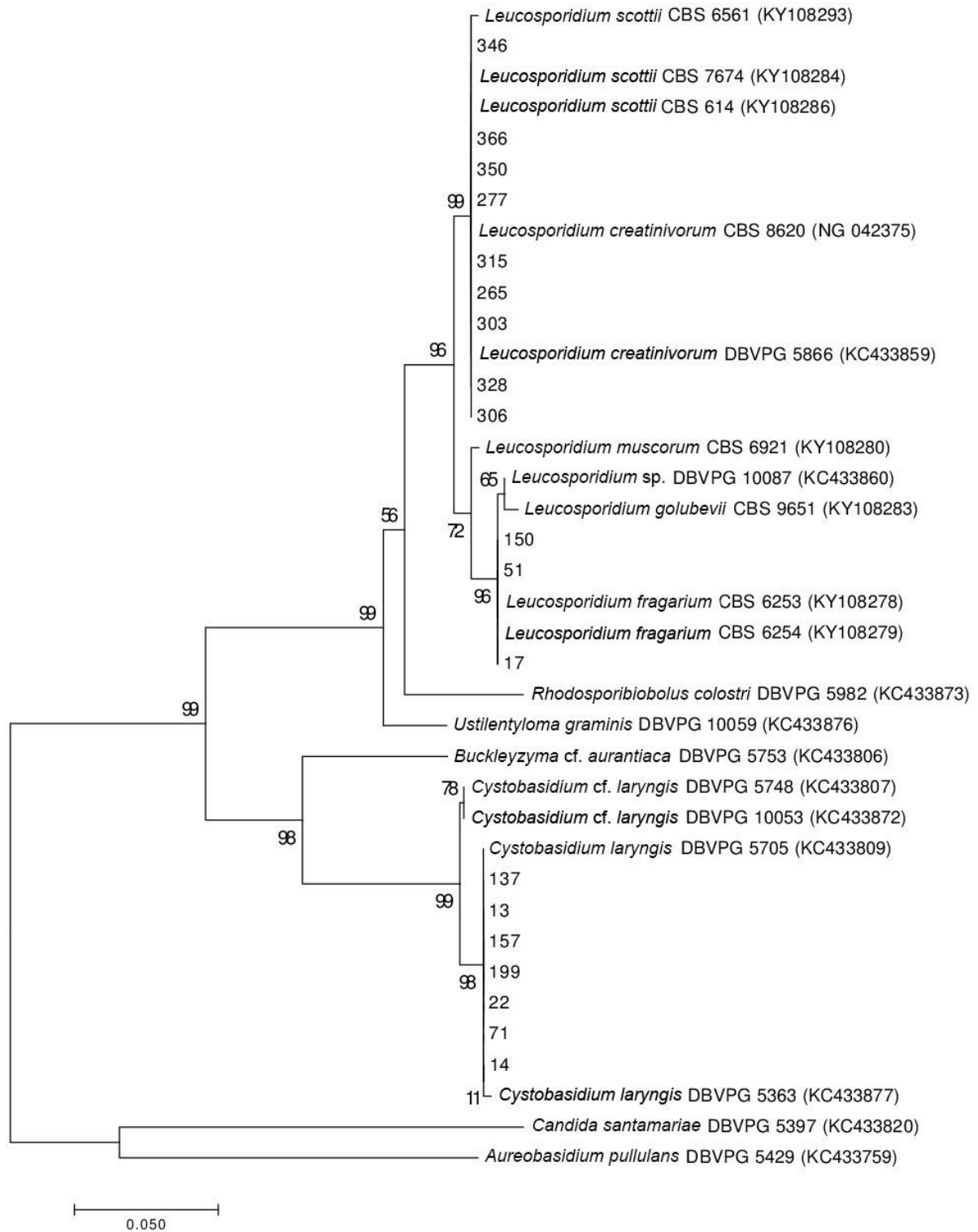




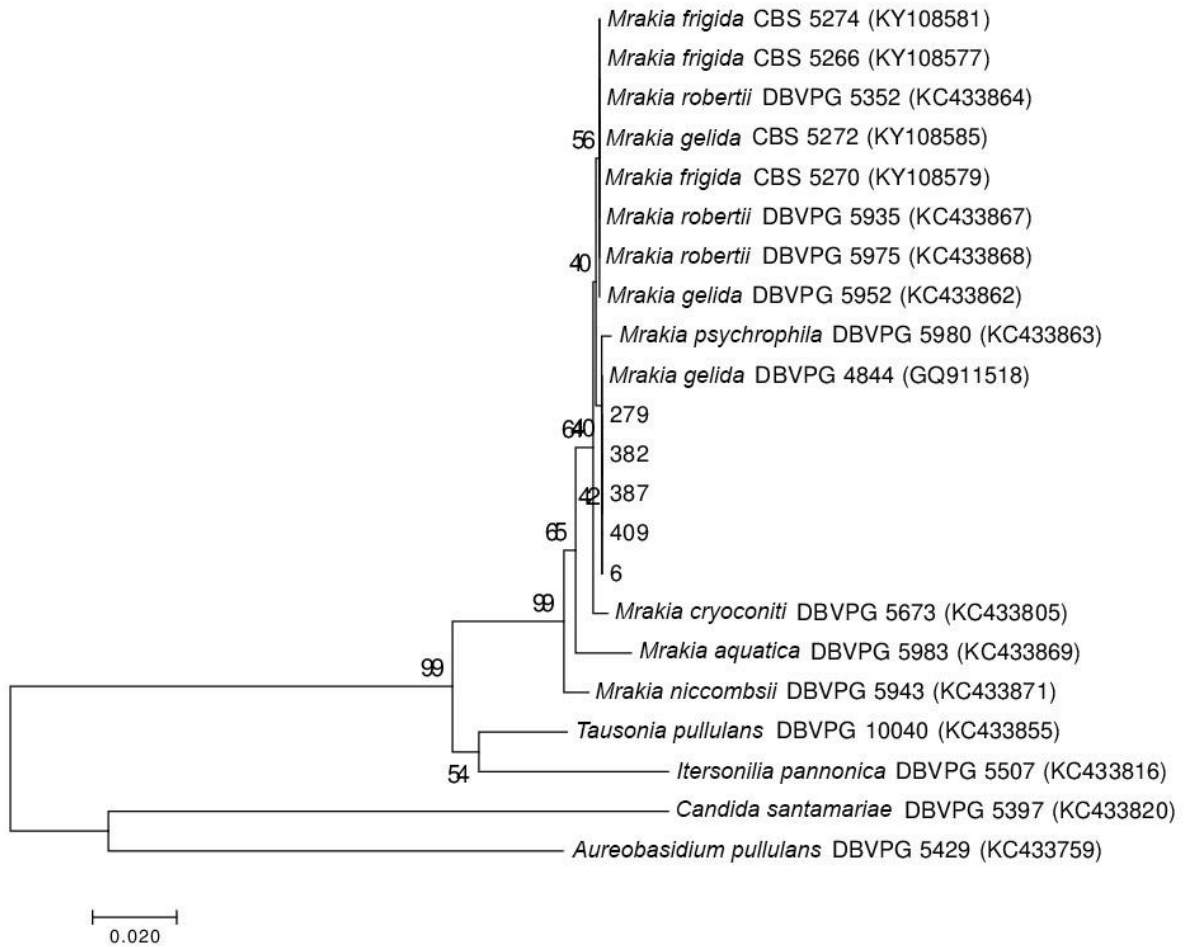
**Apêndice AH** - Árvore filogenética inferida para as leveduras *Naganishia* sp., *Goffeazyma gastrica* e *G. gilvescens*, baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (12, 39, 148, 138, 101 – Códigos de extração de DNA da levedura *Naganishia* sp.; 325, 308 – Códigos de extração de DNA da levedura *G. gastrica*; 4, 401, 251, 94, 7, 61, 327 – Códigos de extração de DNA da levedura *G. gilvescens*).



**Apêndice A1** - Árvore filogenética inferida para as leveduras *Leucosporidium* sp., *Leucosporidium fragarium* e *Cystobasidium laryngis*, baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (346, 366, 350, 277, 315, 265, 303, 328, 306 – Códigos de extração de DNA da levedura *Leucosporidium* sp.; 150, 51, 17 – Códigos de extração de DNA da levedura *L. fragarium*; 137, 13, 157, 199, 22, 71, 14 – Códigos de extração de DNA da levedura *C. laryngis*).



**Apêndice AJ** - Árvore filogenética inferida para a levedura *Mrakia* sp., baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (279, 382, 387, 409, 6 - Códigos de extração de DNA da levedura *Mrakia* sp.)



**Apêndice AK** - Árvore filogenética inferida para as leveduras *Holtermanniella wattica*, *H. festucosa* e *Vishniacozyma victoriae*, baseada em suas sequências da região D1/D2, utilizando o método de Neighbour Joining, o modelo de substituição Kimura – 2 parâmetros e 1000 replicatas. (331, 363, 36, 311, 257, 239, 198, 162, 107, 222, 195, 235 - Códigos de extração de DNA da levedura *H. wattica*; 362, 5 – Códigos de extração de DNA da levedura *H. festucosa*; 336, 37 – Códigos de extração de DNA da levedura *V. victoriae*).

