

VRB Esp

Revista Brasileira de ESPELEOLOGIA

Edição Especial, V.01 - Nº 13 de 2024
ISSN 2179.4952

EDIÇÃO ESPECIAL

2º Prêmio
Nacional
de Espeleologia



**Michel
Le Bret**



Equipe editorial

Júlio Ferreira da Costa Neto, Jocy Brandão Cruz, Julio César Rocha Costa,
Diego de Medeiros Bento, Thais Xavier Nunes e Claudia Simone da Luz Alves.



VRBEsp
Revista Brasileira de
ESPELEOLOGIA

Brasília-DF
2024



Expediente edição especial

Publicada pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas – ICMBio/Cecav www.icmbio.gov.br/cecav
Endereço: Parque Nacional de Brasília. Rodovia BR 450, km 8,5 via Epia. CEP: 70635-800, Brasília/DF. Brasil.
Telefone: +55 (61) 2028-9792.

Editores

Júlio Ferreira da Costa Neto

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Jocy Brandão Cruz

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Comissão de apoio editorial

Claudia Simone da Luz Alves

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Thais Xavier Nunes

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

Diego de Medeiros Bento

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil.

Julio César Rocha Costa

Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, Nova Lima, Minas Gerais, Brasil.

Comissão Científica da edição especial

Dr. Allan Silas Calux

Scientific Director at Carstografica –Karst Applied Research Centre, Campinas, São Paulo, Brasil.

Me. Xavier Prous

Analista de Meio Ambiente na Gerência de Espeleologia da Mineradora Vale S.A.

Coordenação editorial

Javiera de la Fuente C.

Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Sustentabilidade - IABS.

Projeto gráfico

Bruno Silva Bastos

Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Sustentabilidade - IABS.

Diagramação

Júlia Mendes Araújo

Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Sustentabilidade - IABS.

Foto da capa

Gruta Ermida, Almirante Tamandaré /PR / **Rodrigo Lopes Ferreira**

Catálogo na Fonte

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

Revista Brasileira de Espeleologia. Edição Especial – 2º Prêmio Nacional de Espeleologia Michel Le Bret / Julio Ferreira da Costa Neto e Jocy Brandão Cruz (ed.) – Brasília: ICMBio, 2024.

ISSN 2179.4952 - Online

368 p. ; Il. Color.

1. Espeleologia. 2. Estudos Ambientais. 3. Geomorfologia cárstica. 4. Biologia subterrânea. I. Julio Ferreira da Costa Neto II. Jocy Brandão Cruz. III. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio. VI. Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas – ICMBio/Cecav. V. Título.

CDU: 551.44

A reprodução total ou parcial desta obra é permitida, desde que citada a fonte.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Diretoria de Pesquisa, Avaliação e Monitoramento da Biodiversidade
Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas
Rodovia BR 450, km 8,5 via Epia – Parque Nacional de Brasília
CEP: 70635-800 - Brasília/DF - Tel: 61 2028-9792
<http://www.icmbio.gov.br/CECAV>

MAPA DO TESOURO: RIQUEZA DE ESPÉCIES DE *Penicillium* NA CAVERNA LAPA DO BOQUEIRÃO DO CERRADO GOIANO

TREASURE MAP: RICHNESS OF *Penicillium* SPECIES IN THE LAPA DO BOQUEIRÃO CAVE IN THE CERRADO OF GOIÁS

Pedro Henrique Félix de Oliveira

Universidade Federal de Goiás
E-mail: felix.pedro@discente.ufg.br

Renato Felipe Ferreira Franco

Universidade Federal de Goiás
E-mail: renato16felipe@gmail.com

Pedro Thiago Santos Nogueira

Universidade Federal de Viçosa
E-mail: pedro.thiago@ufv.br

Renata Santos Momoli

Universidade Federal de Goiás
E-mail: rsmomoli@ufg.br

Cristina Maria de Souza Motta

Universidade Federal de Pernambuco
E-mail: cristina.motta@ufpe.br

Jadson Diogo Pereira Bezerra

Universidade Federal de Goiás
E-mail: jadsonbezerra@ufg.br

RESUMO

Fungos desempenham um papel ecológico importante nas cavernas, apesar de ainda serem um tesouro que precisa ser explorado no Brasil. Estudos micológicos em cavernas brasileiras têm revelado uma riqueza de fungos surpreendente e ainda desconhecida. O presente estudo

ABSTRACT

*Although they are a treasure that still needs to be explored in Brazil, fungi play an important ecological role in caves. Mycological studies in Brazilian caves have revealed a surprising and still unknown richness of fungi. The aim of this study was to report the richness of *Penicillium* species in*

teve como objetivo relatar a riqueza de espécies de *Penicillium* em caverna do Cerrado, Brasil. Fungos foram isolados do ar e do sedimento de oito pontos da caverna e identificados com base em características morfológicas e de sequências de ITS do rDNA. No total, foram contabilizadas 890 colônias (UFC), sendo 178 (100 = ar e 78 = sedimento) identificadas como *Penicillium*. Associando as duas ferramentas de identificação, isolados representativos foram identificados em 12 espécies pertencentes a cinco seções (*Brevi-compacta*, *Citrina*, *Lanata-Divaricata*, *Exilicaulis* e *Ramosum*), sendo a seção *Citrina* a que apresentou o maior número de espécies (seis), com destaque para *P. sumatraense* com a maior abundância (ar = 25 e sedimento = 15). Para o nosso conhecimento, seis (50%) espécies estão sendo relatadas pela primeira vez em ambiente cavernícola, sendo a maioria (quatro) da seção *Citrina*. O relato da riqueza de espécies de *Penicillium* está entre as “primeiras pistas do mapa do tesouro” escondidas em cavernas brasileiras. O nosso estudo é um exemplo do grande número de espécies de fungos que são encontradas nas cavernas, sugerindo que estudos micológicos do ambiente cavernícola são importantes para inclusão de dados fúngicos no plano de manejo de cavernas com potencial turístico no Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: *Eurotiales*, fungos do Brasil, novos relatos, savana brasileira, taxonomia de fungos.

INTRODUÇÃO

As cavernas são consideradas formações geológicas com características bem definidas que carregam consigo aspectos históricos e culturais e, por isso, acabam sendo extremamente atrativas do ponto de vista turístico, principal-

a cave in the Cerrado, Brazil. Fungi were isolated from the air and sediment at eight points in the cave and identified on the basis of morphological characteristics and ITS rDNA sequences. A total of 890 colonies (CFU) were counted, of which 178 (100 = air and 78 = sediment) were identified as Penicillium. Combining the two identification tools, representative isolates were identified in 12 species belonging to five sections (Brevi-compacta, Citrina, Lanata-Divaricata, Exilicaulis and Ramosum), with the section Citrina having the highest number of species (six), with P. sumatraense having the highest abundance (air = 25 and sediment = 15). Six (50%) species are being reported for the first time in a cave environment, the majority (four) from section Citrina. The report of Penicillium species richness is among the “first clues on the treasure map” hidden in Brazilian caves. This study is an example of the large number of fungal species that are found in caves, suggesting that mycological studies of the cave environment are important for including fungal data in the management plan of caves with tourist potential in Brazil.

KEYWORDS: *Eurotiales*, fungi from Brazil, new reports, Brazilian savannah, fungal taxonomy.

INTRODUCTION

Caves are considered to be geological formations with well-defined characteristics that carry with them historical and cultural aspects. For this reason, they end up being extremely attractive from a touristic point of view, especially in Brazil

mente no Brasil (Lobo & Boggiani, 2013; Pedro & Bononi, 2007). Os ambientes cavernícolas apresentam condições propícias para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos que estão diretamente ligados à dinâmica desse ecossistema, seja pela deposição de espeleotemas ou pela interação com guano e outros substratos (Barton, 2006). As características únicas do ambiente cavernícola têm aumentado o interesse para o estudo microbiológico, uma vez que a descoberta de mecanismos únicos envolvidos nessa dinâmica pode apresentar possíveis aplicações biotecnológicas e melhor compreensão do papel ecológico (Nieves-Rivera, 2003; Nováková, 2009; Peay *et al.*, 2016; Guerra *et al.*, 2022) e da riqueza fúngica encontrada nesses ecossistemas (Vanderwolf *et al.*, 2013). Apesar da sua importância como *habitat* de diversos seres vivos, dentre eles os fungos, as cavernas encontram-se severamente ameaçadas por atividades como mineração e agricultura, quanto à integridade dos maciços rochosos, contaminação e poluição das águas. Cavernas desenvolvidas em rochas carbonáticas, como calcário, são alvo de mineradoras para produção de cimentos que podem destruir cavidades antes mesmo do conhecimento e identificação de diversas espécies do local.

Os estudos no ambiente cavernícola têm revelado uma riqueza e abundância fúngica de mais de 2.000 espécies com registros em todo mundo (Vanderwolf *et al.*, 2013), inclusive no Brasil onde cerca de 125 espécies de fungos foram relatadas em cavernas do país (Alves *et al.* 2022). Os fungos cavernícolas são considerados cosmopolitas, sendo a maioria oriunda do ambiente externo, e se adaptam à dinâmica ecológica desse ambiente (Zhang *et al.*, 2018). A presença de fungos nas cavernas é diretamente influen-

(Lobo & Boggiani, 2013; Pedro & Bononi, 2007). *Cave environments present favorable conditions for the growth and development of microorganisms that are directly linked to the dynamics of this ecosystem, either through the deposition of speleothems or through interaction with guano and other substrates (Barton, 2006). The unique characteristics of the cave environment have increased interest in microbiological studies, since the discovery of unique mechanisms involved in these dynamics may present possible biotechnological applications and a better understanding of the ecological role (Nieves-Rivera, 2003; Nováková, 2009; Peay et al., 2016; Guerra et al., 2022) and fungal richness found in these ecosystems (Vanderwolf et al., 2013). Despite their importance as a habitat for various living beings, including fungi, caves are severely threatened by activities such as mining and agriculture, in terms of the integrity of the rock masses, contamination and water pollution. Caves developed in carbonate rocks, such as limestone, are targeted by mining companies for the production of cement, which can destroy caves even before the various species at the site are known and identified.*

Studies in the cave environment have revealed a fungal richness and abundance of more than 2,000 species worldwide (Vanderwolf et al., 2013), including in Brazil where around 125 species of fungi have been reported in the country's caves (Alves et al. 2022). Cave fungi are considered cosmopolitan, with the majority coming from the external environment and adapting to the ecological dynamics of this environment (Zhang et al., 2018). Fungi presence in caves is directly influenced by air currents arriving from the external environment (Lobato et al., 2009; Taylor et al., 2014), bats (Cunha et al., 2020; Ferreira et al., 2000a, b; Pereira et al., 2022) or even tourists and researchers (Zhelyazkova et al., 2020). In addition,

ciada pelas correntes de ar que chegam do ambiente externo (Lobato *et al.*, 2009; Taylor *et al.*, 2014), morcegos (Cunha *et al.*, 2020; Ferreira *et al.*, 2000a, b; Pereira *et al.*, 2022) ou até mesmo por turistas e pesquisadores (Zhelyazkova *et al.*, 2020). Além disso, esporos de algumas espécies de fungos que estão suspensos no ar podem causar micoses, tais como a histoplasmose (Ogórek *et al.*, 2014; Vicentini *et al.*, 2012; Zhelyazkova *et al.*, 2020).

Apesar de o Brasil apresentar um grande número de cavernas, totalizando 23.378 registros de acordo com o ICMBio/Cecav (até dezembro de 2022), e o Cerrado possuir aproximadamente 47% das cavernas conhecidas no Brasil (ICMBio/Cecav, 2022a), o país ainda apresenta poucos estudos relacionados à micobiota cavernícola (sendo cerca de 11 cavernas amostradas no Cerrado), o que pode adiar ou, até mesmo, impedir a descoberta e o conhecimento a respeito desse ecossistema e as funções ecológicas dos fungos (Vanderwolf, 2013; Alves *et al.*, 2022). O Cerrado é considerado um dos *hotspots* da biodiversidade no mundo (Klink & Machado, 2005) e, por isso, espera-se que um estudo com base em análises morfológicas e de sequências de DNA possa revelar uma vasta riqueza e abundância de fungos cavernícolas, especialmente de espécies de *Penicillium*. Dados do microbioma das cavernas são essenciais para desenvolvimento de ações de conservação (Lobo & Boggiani, 2013), inclusão de dados microbiológicos nos planos de manejo (Taylor *et al.*, 2013), como exemplo o documento do ICMBio/Cecav (2022b) "Orientações ao uso turístico sustentável da caverna dos Crotes Felipe Guerra-RN", e, conseqüentemente, a descoberta de novidades taxonômicas (Alves *et al.*, 2022; Carvalho *et al.*, 2022; Pereira *et al.*, 2022) e possíveis apli-

spores of some fungal species that are suspended in the air can cause mycoses, such as histoplasmosis (Ogórek et al., 2014; Vicentini et al., 2012; Zhelyazkova et al., 2020).

*Brazil has a large number of caves, totaling 23,378 records according to ICMBio/Cecav (until December 2022), with approximately 47% of the known caves in the Cerrado biome (ICMBio/Cecav, 2022a). Nevertheless, the country still has few studies related to cave mycobiota (with around 11 caves sampled in the Cerrado), which may delay or even prevent the discovery and knowledge of this ecosystem and the ecological functions of fungi (Vanderwolf, 2013; Alves et al., 2022). The Cerrado is considered one of the world's biodiversity hotspots (Klink & Machado, 2005) and it is therefore hoped that a study based on morphological and DNA sequence analyses will reveal a vast richness and abundance of cave fungi, especially *Penicillium* species. Data on the caves mycobiome is essential for the development of conservation actions (Lobo & Boggiani, 2013), the inclusion of microbiological data in management plans (Taylor et al., 2013), such as the ICMBio/Cecav (2022b) document "Guidelines for the sustainable tourist use of the Crotes Cave Felipe Guerra-RN" (Orientações ao uso turístico sustentável da caverna dos Crotes Felipe Guerra-RN), and, consequently, the discovery of taxonomic novelties (Alves et al., 2022; Carvalho et al., 2022; Pereira et al., 2022) and possible biotechnological applications of this mycodiversity (de Paula et al., 2019).*

*Much of the cave fungi diversity is associated with the *Penicillium* and *Aspergillus* genera, which are commonly reported in air, soil, sediment and guano samples from caves around the world (Alves et al., 2022; Vanderwolf et al., 2013; Zhang et al., 2017). *Penicillium* species have a worldwide distribution, are important for the natural environment and*

cações biotecnológicas dessa micodiversidade (de Paula *et al.*, 2019).

Grande parte da diversidade de fungos cavernícolas está associada com os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* que comumente são relatados em amostras de ar, solo, sedimento e guano de cavernas em todo o mundo (Alves *et al.*, 2022; Vanderwolf *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2017). Espécies de *Penicillium* possuem distribuição mundial, são importantes para o ambiente natural e setores da economia, sendo utilizadas na produção de alimentos (Coton *et al.*, 2020) e moléculas de interesse econômico, tais como antimicrobianos (Belyagoubi *et al.*, 2018) e corantes naturais (Morales-Oyervides *et al.*, 2020). Além disso, algumas espécies são relatadas produzindo micotoxinas em alimentos (Anelli *et al.*, 2019) e causando doenças em humanos (de Oliveira *et al.*, 2023). No Brasil, espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* são abundantemente encontradas em diferentes substratos e hospedeiros nas cavernas (Alves *et al.*, 2022).

Baseados na importância ecológica de espécies de *Penicillium* no ambiente cavernícola, o presente estudo concentrou-se em avaliar a riqueza e abundância de espécies de *Penicillium* presentes em caverna do Cerrado. Além disso, o nosso estudo também relata a presença de espécies de *Penicillium* nunca observadas em outras cavernas no mundo, bem como fornece informações para melhor compreensão de parte da dinâmica do ambiente cavernícola, possibilitando a descoberta de novas espécies e o fornecimento de dados micológicos para inclusão em plano de manejo de cavernas com potencial turístico no Cerrado, Brasil.

sectors of the economy, being used in the production of food (Coton et al., 2020) and molecules of economic interest, such as antimicrobials (Belyagoubi et al., 2018) and natural dyes (Morales-Oyervides et al., 2020). In addition, some species are reported to produce mycotoxins in food (Anelli et al., 2019) and cause disease in humans (de Oliveira et al., 2023). In Brazil, species of Penicillium and Aspergillus are abundantly found on different substrates and hosts in caves (Alves et al., 2022).

Based on the Penicillium species ecological importance in the cave environment, this study focused on assessing the richness and abundance of Penicillium species present in Cerrado caves. In addition, the study also reports the presence of Penicillium species never observed in other caves in the world, as well as providing information to better understand part of the cave environment dynamics, enabling the discovery of new species and providing mycological data for inclusion in management plans for caves with tourist potential in the Brazilian Cerrado.

MATERIAL E MÉTODOS

Caverna Lapa do Boqueirão

Para a coleta de fungos do ar e de solo/sedimento, foi realizada uma expedição científica em maio de 2022 na caverna Lapa do Boqueirão (Lat. 15°24'34"S e Long. 48°43'57"W), localizada no município de Vila Propício-GO, Brasil (Figura 1). A região compreende rochas carbonáticas, como calcário da Formação Araxá; solos profundos, como os Latossolos, nas áreas aplainadas e Neossolos Litólicos, nas encostas íngremes e o clima é marcado por duas estações (seca e chuvosa) bem definidas. As principais atividades econômicas da região são agricultura (ex. soja, milho, cana e pastagem) e mineração (ex. cimento), atividades que, eventualmente, podem contribuir para a incidência de impactos ambientais. A caverna estudada é caracterizada pela presença de espeleotemas e serrapilheira (ex. troncos de árvores e folhas); além disso, é habitada por animais (ex. morcegos, aranhas e pequenos anfíbios), está inserida no bioma Cerrado e possui facilidade de deslocamento turístico, mesmo sem a infraestrutura necessária (Freitas *et al.*, 2019). Para estudo micológico da caverna, foram definidos oito pontos de coleta após reconhecimento do ambiente por meio de uma caminhada exploratória, sendo os pontos de coleta 1 e 8 externos (considerando que a caverna possui duas aberturas principais) e os demais pontos definidos dentro da caverna. A coleta de material da caverna foi autorizada pelo ICMBio/Cecav (SISBIO Número: 82254-1).

MATERIALS AND METHODS

Lapa do Boqueirão Cave

*To collect fungi from the air and soil/sediment, a scientific expedition was carried out in May 2022 in the Lapa do Boqueirão cave (Lat. 15°24'34"S and Long. 48°43'57"W), located in the municipality of Vila Propício-GO, Brazil (Figure 1). The region comprises carbonate rocks, such as limestone from the Araxá Formation; deep soils, such as Latosols in the flattened areas and Litholic Neosols on the steep slopes, while the climate is marked by two well-defined seasons (dry and rainy). The main economic activities in the region are agriculture (e.g. soy, corn, sugar cane and pasture) and mining (e.g. cement), activities that can eventually contribute to environmental impacts. The studied cave is characterized by the presence of speleothems and plant litter (e.g. tree trunks and leaves). In addition, it is inhabited by animals (e.g. bats, spiders and small amphibians), is part of the Cerrado biome and is easily accessible to tourists, even without the necessary infrastructure (Freitas *et al.*, 2019). After recognizing the environment through an exploratory walk, eight collection points were defined for the mycological study of the cave, with collection points 1 and 8 being external (considering that the cave has two main openings) and the other points defined inside the cave. The material collection from the cave was authorized by ICMBio/Cecav (SISBIO Number: 82254-1).*

Isolamento de fungos do ar e do sedimento da caverna

Para isolamento de fungos do ar, foi utilizado o método de sedimentação passiva em meio de cultura contido em placas de Petri: Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC) e Ágar Sabouraud Dextrose acrescido de cloranfenicol (100 mg.L⁻¹) (ASC). Três placas de Petri de cada meio de cultura (DRBC e ASC) foram abertas em cada ponto de coleta durante 20 minutos a 1 m acima do piso da caverna (Cunha *et al.*, 2020).

Para o isolamento de fungos de sedimento, foram coletadas amostras (aproximadamente 10g de cada ponto de coleta) em triplicata e acondicionadas em recipiente esterilizado. Em seguida, 1g de sedimento foi suspenso em 9 mL de água destilada e esterilizada e agitado manualmente. Dessa suspensão foram realizadas diluições seriadas até 10⁻⁴. Das diluições 10⁻³ e 10⁻⁴, 1 mL foi transferido para a superfície dos meios DRBC e ASC contidos em placas de Petri (Cunha *et al.*, 2020).

Para ambos os isolamentos, as placas foram incubadas no escuro a 20-22°C por um período de 7-14 dias para contagem de unidade formadora de colônias (UFC) e seleção de isolados representativos (Cunha *et al.*, 2020).

Seleção de isolados de *Penicillium*

Para a seleção dos isolados de *Penicillium* foram analisadas as estruturas macro e micromorfológicas. O processo de identificação genérica e agrupamento dos 39 isolados representativos foi realizado utilizando metodologia e literaturas especializadas (ex. Crous *et al.*, 2009; Samson *et al.*, 2010; Seifert *et al.*, 2011). As estruturas micromorfológicas

Isolation of air and cave sediment fungi

To isolate fungi from the air, the passive sedimentation method was used in culture media contained in Petri dishes: Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) and Sabouraud Dextrose Agar with chloramphenicol (100 mg.L⁻¹) (SDAC). Three Petri dishes of each culture medium (DRBC and SDAC) were opened at each collection point for 20 minutes at 1 m above the cave floor (Cunha *et al.*, 2020).

To isolate fungi from the sediment, samples (approximately 10g from each collection point) were taken in triplicate and placed in a sterilized container. Then, 1g of sediment was suspended in 9 mL of sterilized distilled water and manually shaken. Serial dilutions up to 10⁻⁴ were made of this suspension. Of the 10⁻³ and 10⁻⁴ dilutions, 1 mL was transferred to the surface of the DRBC and SDAC media contained in Petri dishes (Cunha *et al.*, 2020).

For both isolates, the plates were incubated in the dark at 20-22°C for a period of 7-14 days to count colony-forming units (CFU) and select representative isolates (Cunha *et al.*, 2020).

Selection of *Penicillium* isolates

To select the *Penicillium* isolates, the macro and micromorphological structures were analyzed. The process of generic identification and grouping of the 39 representative isolates was carried out using specialized methodology and literature (e.g. Crous *et al.*, 2009; Samson *et al.*, 2010; Seifert *et al.*, 2011). The micromorphological structures of the fungi (e.g. conidiophores, hyphae, conidia,

dos fungos (ex. conidióforos, hifas, conídios, esporos etc.) foram analisadas preparando-se lâminas com ácido láctico 85% e/ou corante azul de lactofenol. Isolados representativos do gênero *Penicillium* foram preservados em água com glicerol (10%) para posterior identificação específica.

spores, etc.) were analyzed by preparing slides with 85% lactic acid and/or lactophenol blue dye. Representative isolates of the Penicillium genus were preserved in water with glycerol (10%) for later specific identification.

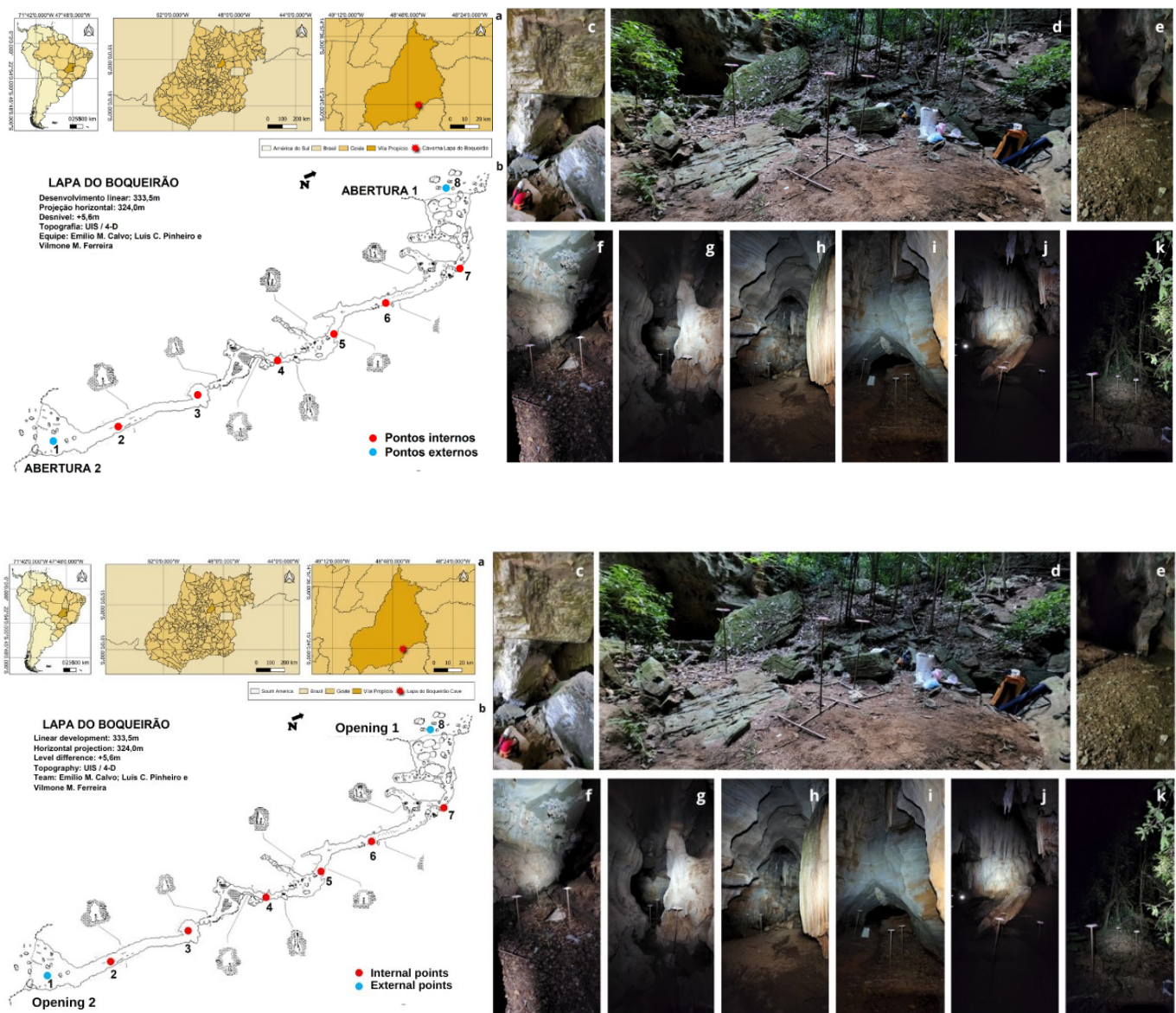


Figura 1 – Caverna Lapa do Boqueirão, Cerrado goiano, Vila Propício, Goiás, Brasil. a. Localização geográfica. b. Croqui da caverna. c-k. Detalhes da caverna e pontos de coleta. Fotos: de Oliveira P. H. F. & Bezerra J. D. P.; Croqui da caverna: Calvo E. M., Pinheiro L. C. & Ferreira V. M.

Figure 1 – *Lapa do Boqueirão Cave, Cerrado, Vila Propício, Goiás, Brazil. a. Geographical location. b. Sketch of the cave. c-k. Detalhes da caverna e pontos de coleta. Photos: de Oliveira P. H. F. & Bezerra J. D. P.; Cave sketch: Calvo E. M., Pinheiro L. C. & Ferreira V. M.*

Identificação das espécies de *Penicillium*

Análise morfológica de 20 isolados (dos 39 representantes) foi realizada em cultivo em ágar extrato de malte (MEA) e em ágar Czapek-Dox com extrato de levedura (CYA) e placas incubadas a 25°C por 7 dias no escuro (Samson *et al.*, 2010). Para identificação molecular, isolados cultivados em MEA foram utilizados para extração do DNA genômico utilizando o *Kit Wizard® Genomic DNA Purification* (Promega Corporation, Madison, WI, EUA), seguindo o protocolo do fabricante. Foram utilizados os *primers* ITS4 e ITS5 (White *et al.*, 1990) para amplificação da região ITS do rDNA. Reações de PCR, purificação e sequenciamento foram realizadas conforme descrito por Bezerra *et al.* (2017). As sequências obtidas foram editadas manualmente utilizando o MEGA v.11 (Tamura *et al.*, 2021) e submetidas ao *GenBank* do NCBI utilizando a ferramenta *BLASTn* a fim de buscar sequências relacionadas. A busca de espécies filogeneticamente próximas às obtidas no nosso estudo, montagem do alinhamento e análise filogenética foi realizada de acordo com Houbraken *et al.* (2020). As sequências selecionadas foram alinhadas com as sequências dos isolados de *Penicillium* obtidas no nosso estudo utilizando a plataforma MAFFT (Katoh *et al.*, 2019). A árvore filogenética com base na análise de máxima verossimilhança (ML) foi construída como descrito por Bezerra *et al.* (2017) e valores de suporte acima de 60% foram considerados estatisticamente significativos e incluídos próximo dos nós. Sequências obtidas no nosso estudo foram depositadas no *GenBank* (OQ332383-OQ332402).

Identification of *Penicillium* species

*Morphological analysis of 20 isolates (out of 39 representatives) was carried out on malt extract agar (MEA) and Czapek-Dox agar with yeast extract (CYA) with Petri dishes incubated for 7 days in the dark at 25°C (Samson et al., 2010). For molecular identification, isolates grown on MEA were used to extract genomic DNA using the Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega Corporation, Madison, WI, USA), following the manufacturer's protocol. Primers ITS4 and ITS5 (White et al., 1990) were used to amplify the ITS region of the rDNA. PCR reactions, purification and sequencing were carried out as described by Bezerra et al. (2017). The sequences obtained were manually edited using MEGA v.11 (Tamura et al., 2021) and submitted to NCBI's GenBank using the BLASTn tool in order to search for related sequences. The search for phylogenetically close species to those obtained in the study, alignment assembly and phylogenetic analysis were carried out according to Houbraken et al. (2020). Using the MAFFT platform (Katoh et al., 2019), the selected sequences were aligned with the *Penicillium* isolates sequences obtained in the study. The phylogenetic tree based on maximum likelihood (ML) analysis was constructed as described by Bezerra et al. (2017) and support values above 60% were considered statistically significant and included near the nodes. Sequences obtained in the study have been deposited in GenBank (OQ332383-OQ332402).*

Riqueza de espécies de *Penicillium*

Para mensurar a riqueza e abundância de espécies de *Penicillium* na caverna Lapa do Boqueirão, o número de colônias (UFC) obtidas de cada espécie foi considerado a abundância e o número de espécies identificadas foi considerado a riqueza. Os dados sobre a riqueza e abundância de espécies foram observados para todos os pontos de coleta (1-8) e o substrato de onde os fungos foram isolados (ar e sedimento).

RESULTADOS

Riqueza de espécies de *Penicillium*

No total, foram contabilizadas 890 UFC, das quais 178 (ar = 100 e sedimento = 78) foram previamente identificadas como pertencentes ao gênero *Penicillium*. Dos 39 representantes, foram selecionados e analisados 20 isolados com base em características macro e microscópicas nos meios de cultura CYA e MEA (Figura 2). Utilizando sequências de ITS do rDNA, foram realizadas buscas no *GenBank* do NCBI via ferramenta *BLASTn* que confirmaram a identificação prévia dos isolados. A análise filogenética de ML das sequências obtidas no nosso estudo (Figura 3) demonstrou que os isolados pertencem a 12 espécies de *Penicillium* de cinco seções (*Brevi-compacta*, *Citrina*, *Lanata-Divaricata*, *Exilicaulis* e *Ramosum*), sendo a seção *Citrina* a que apresentou o maior número de espécies (seis), com destaque para *P. sumatraense* com a maior abundância (Tabela 1). Apesar de serem consideradas o código de barras para fungos, sequências de ITS nem sempre são suficientes para resolver a definição da maioria das espécies de *Penicillium*. Apesar disso, com base na nossa análise,

Penicillium species richness

To measure the richness and abundance of *Penicillium* species in the Lapa do Boqueirão cave, the number of colonies (CFU) obtained from each species was considered abundance and the number of species identified was considered richness. The data on species richness and abundance were observed for all the collection points (1-8) in addition to the substrate from which the fungi were isolated (air and sediment).

RESULTS

Richness of *Penicillium* species

A total of 890 CFUs were counted, of which 178 (air = 100 and sediment = 78) were previously identified as belonging to the genus *Penicillium*. Of the 39 representatives, 20 isolates were selected and analyzed based on macro and microscopic characteristics on CYA and MEA culture media (Figure 2). Using ITS rDNA sequences, searches were carried out on NCBI's *GenBank* via the *BLASTn* tool, which confirmed the previous identification of the isolates. The ML phylogenetic analysis of the sequences obtained (Figure 3) showed that the isolates belong to 12 species of *Penicillium* from five sections (*Brevi-compacta*, *Citrina*, *Lanata-Divaricata*, *Exilicaulis* and *Ramosum*), with the *Citrina* section having the highest number of species (six), and *P. sumatraense* having the highest abundance (Table 1). Despite being considered the barcode for fungi, ITS sequences are not always sufficient to resolve the definition of most *Penicillium* species. Nevertheless, specific identification was not possible for only four isolates considering phylogenetic analysis alone. When combining morphological and molecular data, it was possible to identify the isolates as *P.*

somente com quatro isolados não foi possível a identificação específica considerando apenas a análise filogenética. Quando associado os dados morfológicos e moleculares, foi possível identificar os isolados como *P. cf. brevicompactum* (1), *P. cf. kongii* (2) e *P. cf. tropicum* (1). Das 12 espécies de *Penicillium* encontradas no nosso estudo, seis delas (*P. kongii*, *P. shearii*, *P. striatisporum*, *P. sumatraense*, *P. terrigenum* e *P. tropicum*) estão sendo relatadas pela primeira vez em cavernas de todo mundo, o que ressalta o tesouro fúngico escondido em cavernas brasileiras.

cf. brevicompactum (1), *P. cf. kongii* (2) and *P. cf. tropicum* (1). Of the 12 *Penicillium* species found, six of them (*P. kongii*, *P. shearii*, *P. striatisporum*, *P. sumatraense*, *P. terrigenum* and *P. tropicum*) are being reported for the first time in caves worldwide, which highlights the fungal treasure hidden in Brazilian caves.

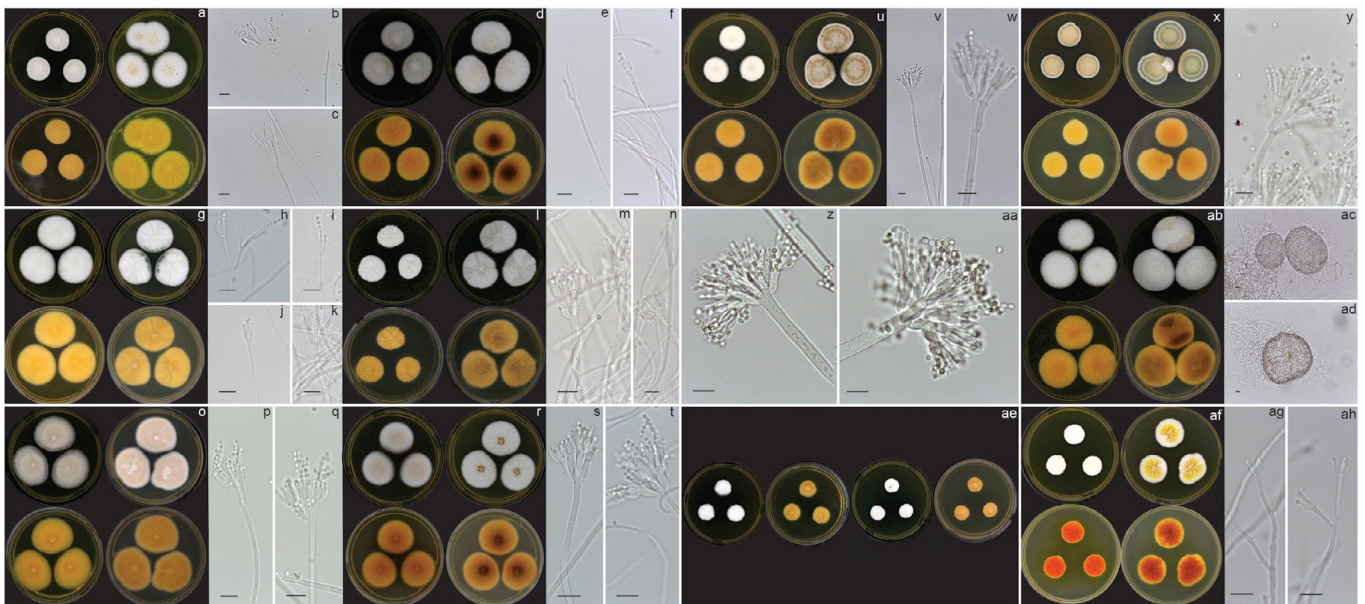


Figura 2 – Macro e micromorfologia de espécies de *Penicillium* isoladas do ar e/ou sedimento da Caverna Lapa do Boqueirão, Cerrado goiano, Vila Propício, Goiás, Brasil cultivadas em MEA e CYA (frente e verso) a 25°C por 7 dias no escuro. a-c. *P. citrinum*. d-f. *P. shearii*. g-k. *P. copticola*. l-n. *P. cf. tropicum*. o-q. *P. sumatraense*. r-t. *P. terrigenum*. u-w. *P. cf. brevicompactum*. x-y. *P. cf. kongii*. z-aa. *P. olsonii*. ab-ad. *P. javanicum*. ae. *P. striatisporum*. af-ah. *P. virgatum*. Barra de escala: 10 µm

Figure 2 – Macro and micromorphology of *Penicillium* species isolated from the air and/or sediment of Lapa do Boqueirão Cave, Cerrado, Vila Propício, Goiás, Brazil grown on MEA and CYA (surface and reverse) at 25°C for 7 days in the dark. a-c. *P. citrinum*. d-f. *P. shearii*. g-k. *P. copticola*. l-n. *P. cf. tropicum*. o-q. *P. sumatraense*. r-t. *P. terrigenum*. u-w. *P. cf. brevicompactum*. x-y. *P. cf. kongii*. z-aa. *P. olsonii*. ab-ad. *P. javanicum*. ae. *P. striatisporum*. af-ah. *P. virgatum*. Scale bars: 10 µm..

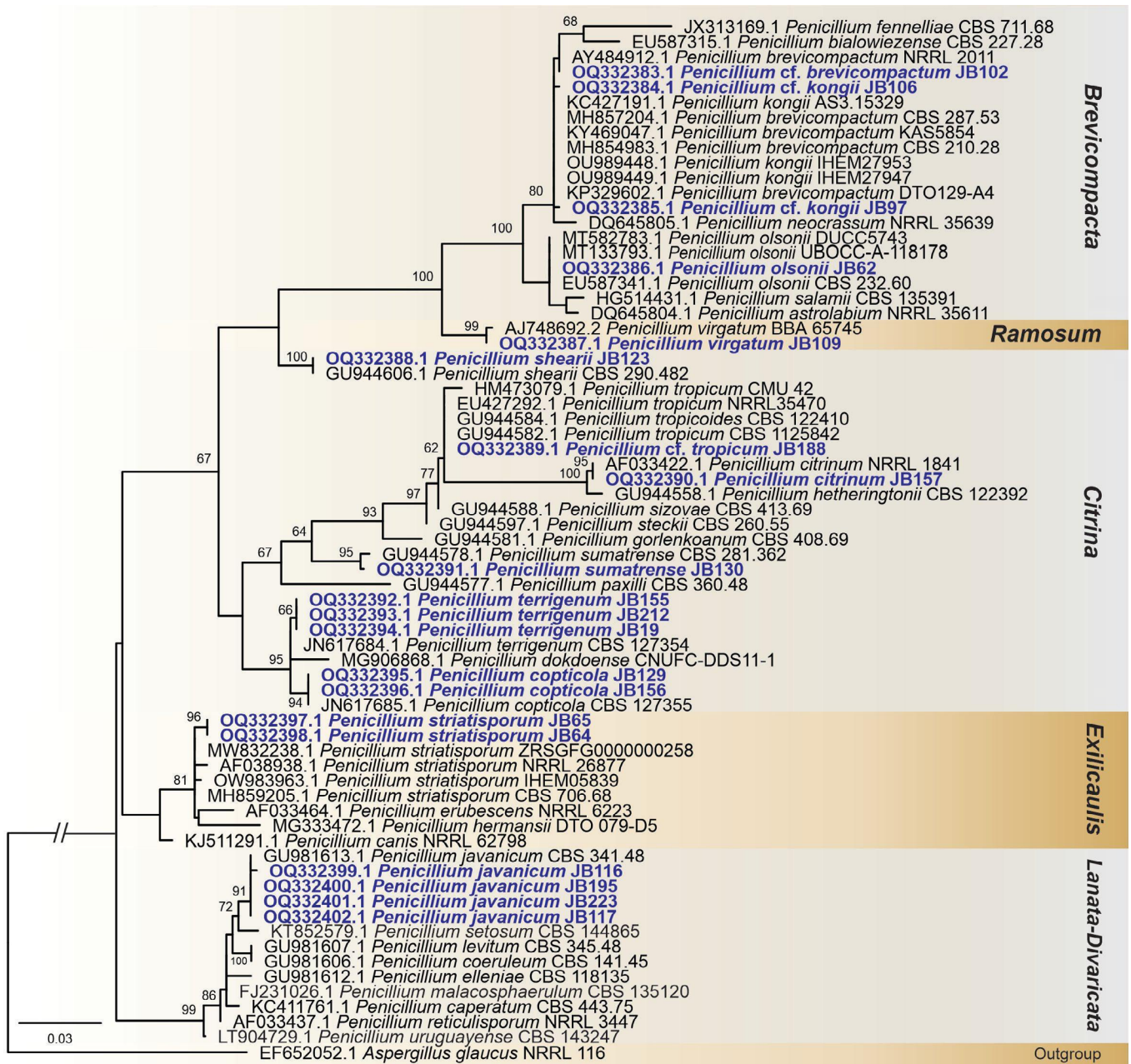


Figura 3 - Árvore de máxima verossimilhança (ML) utilizando seqüências de ITS do rDNA de isolados de *Penicillium* obtidos do ar e/ou sedimento da Caverna Lapa do Boqueirão, Cerrado goiano, Vila Propício, Goiás, Brasil. Isolados obtidos no nosso estudo estão destacados na cor azul e negrito. Valores de suporte iguais ou maiores que 60% estão incluídos próximos dos nós. *Aspergillus glaucus* NRRL 116 foi utilizada como grupo externo.

Figure 3 - Maximum likelihood (ML) tree using ITS rDNA sequences of *Penicillium* isolates obtained from the air and/or sediment of Lapa do Boqueirão Cave, Cerrado, Vila Propício, Goiás, Brazil. Isolates obtained in this study are highlighted in blue and bold. Support values equal to or greater than 60% are included next to the nodes. *Aspergillus glaucus* NRRL 116 was used as an outgroup.

Tabela 1 – Riqueza e abundância (UFC) de espécies de *Penicillium* isoladas do ar e/ou sedimento da Caverna Lapa do Boqueirão, Cerrado goiano, Vila Propício, Goiás, Brasil. Espécies relatadas pela primeira vez em cavernas estão indicadas (▲) na coluna “Novo relato”. Abundância de espécies está indicada para o substrato (Ar/Sedimento) e ponto de coleta (1-8, sendo os pontos 1 e 8 externos). Hífen (-) indica a ausência do fungo.

Espécie	Seção de <i>Penicillium</i>	Novo relato	Ar/Sedimento								Total
			Pontos de coleta								
			1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>P. cf. brevicompactum</i>	<i>Brevicompacta</i>		20/0	-	-	-	-	2/0	-	-	22/0
<i>P. citrinum</i>	<i>Citrina</i>		-	-	-	-	-	-	-	4/0	4/0
<i>P. copticola</i>	<i>Citrina</i>		-	-	-	-	-	-	2/0	0/4	2/4
<i>P. javanicum</i>	<i>Lanata-Divaricata</i>		4/1	0/1	0/2	-	0/2	-	-	-	4/6
<i>P. cf. kongii</i>	<i>Brevicompacta</i>	▲	-	-	-	21/0	1/0	-	-	1/0	23/0
<i>P. olsonii</i>	<i>Brevicompacta</i>		10/0	5/0	2/0	-	-	-	2/0	0/9	19/9
<i>P. shearii</i>	<i>Citrina</i>	▲	0/9	-	-	-	-	-	-	-	0/9
<i>P. striatisporum</i>	<i>Exilicaulis</i>	▲	-	-	-	0/1	-	-	-	-	0/1
<i>P. sumatraense</i>	<i>Citrina</i>	▲	0/3	2/0	-	-	19/0	4/0	-	0/12	25/15
<i>P. terrigenum</i>	<i>Citrina</i>	▲	-	-	1/2	0/8	-	-	-	-	1/10
<i>P. cf. tropicum</i>	<i>Citrina</i>	▲	-	0/3	0/6	-	-	-	-	0/8	0/17
<i>P. virgatum</i>	<i>Ramosum</i>		-	0/4	0/2	-	-	-	-	0/1	0/7
		Abundância	34/13	7/8	3/12	21/9	20/2	6/0	4/0	5/34	100/78
		Riqueza	5	5	5	3	3	2	2	7	12

Table 1 – Richness and abundance (CFU) of *Penicillium* species isolated from the air and/or sediment of Lapa do Boqueirão Cave, Cerrado, Vila Propício, Goiás, Brazil. Species reported for the first time in caves are indicated (▲) in the “New record” column. Species abundance is indicated for substrate (Air/Sediment) and collection points (1-8, points 1 and 8 being external). Hyphen (-) indicates the absence of the fungus.

Species	<i>Penicillium</i> Section	New record	Air/Sediments								Total
			Collection points								
			1	2	3	4	5	6	7	8	
<i>P. cf. brevicompactum</i>	<i>Brevicompacta</i>		20/0	-	-	-	-	2/0	-	-	22/0
<i>P. citrinum</i>	<i>Citrina</i>		-	-	-	-	-	-	-	4/0	4/0
<i>P. copticola</i>	<i>Citrina</i>		-	-	-	-	-	-	2/0	0/4	2/4
<i>P. javanicum</i>	<i>Lanata-Divariata</i>		4/1	0/1	0/2	-	0/2	-	-	-	4/6
<i>P. cf. kongii</i>	<i>Brevicompacta</i>	▲	-	-	-	21/0	1/0	-	-	1/0	23/0
<i>P. olsonii</i>	<i>Brevicompacta</i>		10/0	5/0	2/0	-	-	-	2/0	0/9	19/9
<i>P. shearii</i>	<i>Citrina</i>	▲	0/9	-	-	-	-	-	-	-	0/9
<i>P. striatisporum</i>	<i>Exilicaulis</i>	▲	-	-	-	0/1	-	-	-	-	0/1
<i>P. sumatraense</i>	<i>Citrina</i>	▲	0/3	2/0	-	-	19/0	4/0	-	0/12	25/15
<i>P. terrigenum</i>	<i>Citrina</i>	▲	-	-	1/2	0/8	-	-	-	-	1/10
<i>P. cf. tropicum</i>	<i>Citrina</i>	▲	-	0/3	0/6	-	-	-	-	0/8	0/17
<i>P. virgatum</i>	<i>Ramosum</i>		-	0/4	0/2	-	-	-	-	0/1	0/7
		Abundance	34/13	7/8	3/12	21/9	20/2	6/0	4/0	5/34	100/78
		Richness	5	5	5	3	3	2	2	7	12

Checklist de espécies de *Penicillium* encontradas na Caverna Lapa do Boqueirão

Penicillium brevicompactum Dierckx, Ann. Soc. Sci. Bruxelles 25: 88 (1901)

Substrato/hospedeiro e local de origem: Desconhecido.

Distribuição: Cosmopolita.

Ocorrência em cavernas: África do Sul, Bélgica, Brasil, Cazaquistão, Israel, Itália, Coreia, Polônia, República Tcheca, Rússia, Ucrânia (Taylor *et al.*, 2013; Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comentários: *Penicillium brevicompactum* apresenta ampla distribuição em cavernas pelo mundo, incluindo no Brasil (Taylor *et al.*, 2013; Alves *et al.*, 2022). No ambiente cavernícola, essa espécie pode ser encontrada em sedimento/solo, água, insetos, parede da caverna, madeira e ar (Vanderwolf *et al.*, 2013). Além disso, *P. brevicompactum* está presente no ar de outros ambientes e pode ser comumente isolada de alimentos, apresentando grande importância por produzir a micotoxina ácido micofenólico (Ndagijimana *et al.*, 2008), ser utilizada na produção de medicamentos imunossupressores (Regueira *et al.*, 2011) e relacionada com alguns raros casos de micoses oportunistas em mamíferos (de Hoog *et al.*, 2020).

Penicillium citrinum Thom, Bull. U.S. Department of Agriculture, Bureau Animal Industry 118: 61 (1910)

Substrato/hospedeiro e local de origem: Desconhecido.

Distribuição: Cosmopolita.

Ocorrência em cavernas: África do Sul, Brasil, Eslováquia, Eslovênia, Israel, Kazaquistão, Polônia,

Checklist of *Penicillium* species found in Lapa do Boqueirão Cave

Penicillium brevicompactum Dierckx, Ann. Soc. Sci. Bruxelles 25: 88 (1901)

Substrate/host and place of origin: Unknown.

Distribution: Cosmopolitan.

Occurrence in caves: South Africa, Belgium, Brazil, Kazakhstan, Israel, Italy, Korea, Poland, Czech Republic, Russia, Ukraine (Taylor *et al.*, 2013; Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comments: *Penicillium brevicompactum* has a wide distribution in caves around the world, including in Brazil (Taylor *et al.*, 2013; Alves *et al.*, 2022). In the cave environment, this species can be found in sediment/soil, water, insects, the cave wall, wood and air (Vanderwolf *et al.*, 2013). In addition, *P. brevicompactum* is present in the air of other environments and can be commonly isolated from food, presenting great importance for producing the mycotoxin mycophenolic acid (Ndagijimana *et al.*, 2008), which is used in the production of immunosuppressive drugs (Regueira *et al.*, 2011). In addition, it is related to some rare cases of opportunistic mycoses in mammals (de Hoog *et al.*, 2020).

Penicillium citrinum Thom, Bull. U.S. Department of Agriculture, Bureau Animal Industry 118: 61 (1910)

Substrate/host and place of origin: Unknown.

Distribution: Cosmopolitan.

Occurrence in caves: South Africa, Brazil, Slovakia, Slovenia, Israel, Kazakhstan, Poland, Czech Republic

República Tcheca (Cunha *et al.*, 2020; Taylor *et al.*, 2013; Carvalho *et al.*, 2022; Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comentários: *Penicillium citrinum* está distribuída mundialmente e foi relatada em outros estudos de cavernas no Brasil (Alves *et al.*, 2022). No ambiente cavernícola essa espécie foi isolada de solo/sedimento, insetos, ar, guano e parede da caverna. *Penicillium citrinum* pode ser comumente isolada de alimentos como cereais e especiarias (Houbraken *et al.*, 2011). Além disso, é uma espécie que pode produzir micotoxinas capazes de ocasionar intoxicação alimentar em humanos (Houbraken *et al.*, 2010) e há relatos de casos de infecção oportunista nos pulmões, endoftalmite e infecção cutânea (de Hoog *et al.*, 2020).

Penicillium copticola Houbraken, Frisvad & Samson, Stud. Mycol. 70: 88 (2011)

Substrato/hospedeiro e local de origem: tortilha, Estados Unidos.

Distribuição: África do Sul, Bolívia, Brasil, Finlândia, México, República da Coreia e Tanzânia.

Ocorrência em cavernas: Brasil (Alves *et al.* 2022).

Comentários: Para o nosso conhecimento, *P. copticola* foi relatada apenas uma vez em caverna no Brasil (Alves *et al.*, 2022), sendo este estudo o segundo relato de ocorrência da espécie em cavernas mundialmente. Trata-se de uma espécie que tem atraído interesse científico para estudos relacionados à produção da enzima tirosinase (Maamoun *et al.*, 2021).

(Cunha *et al.*, 2020; Taylor *et al.*, 2013; Carvalho *et al.*, 2022; Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comments: *Penicillium citrinum* has a worldwide distribution and has been reported in other cave studies in Brazil (Alves *et al.*, 2022). In the cave environment, this species has been isolated from soil/sediment, insects, air, guano and the cave wall. *Penicillium citrinum* can be commonly isolated from foods such as cereals and spices (Houbraken *et al.*, 2011). In addition, it can produce mycotoxins capable of causing food poisoning in humans (Houbraken *et al.*, 2010) and there are reported cases of opportunistic infection in the lungs, endophthalmitis and skin infection (de Hoog *et al.*, 2020).

Penicillium copticola Houbraken, Frisvad & Samson, Stud. Mycol. 70: 88 (2011)

Substrate/host and place of origin: tortilla, United States.

Distribution: South Africa, Bolivia, Brazil, Finland, Mexico, Republic of Korea and Tanzania.

Occurrence in caves: Brazil (Alves *et al.* 2022).

Comments: Apparently, *P. copticola* has only been reported once in a Brazilian cave (Alves *et al.*, 2022), and this study is the second record of the species occurring in caves worldwide. It is a species that has attracted scientific interest for studies related to the production of the tyrosinase enzyme (Maamoun *et al.*, 2021).

Penicillium javanicum J.F.H. Beyma, Verh. K. Akad. Wet., tweede sect. 26(4): 17 (1929)

Substrato/hospedeiro e local de origem: Raízes vivas de *Thea sinensis*, Indonésia.

Distribuição: Argentina, Austrália, Brasil, Camarões, Colômbia, Estados Unidos, Índia e Indonésia.

Ocorrência em cavernas: Eslováquia, Itália (Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comentários: *Penicillium javanicum* foi isolada de solo/sedimento de cavernas (Vanderwolf *et al.*, 2013). Trata-se de um fungo também isolado de raízes de plantas (Lai *et al.*, 2023), associado a manguezais (Liang *et al.*, 2019) e solo (Barbosa *et al.*, 2022). Além disso, há relatos dessa espécie na produção de substâncias com atividades biológicas (ex. antibacterianas, anti-inflamatórias e antifúngicas) (Liang *et al.*, 2020; Lai *et al.*, 2023; Liang *et al.*, 2019).

Penicillium kongii L. Wang, Mycologia 105(6): 1549 (2014) [2013]

Substrato/hospedeiro e local de origem: folhas de *Quercus aquifolioides*, Tibete.

Distribuição: Cosmopolita.

Ocorrência em cavernas: Esta é a primeira ocorrência.

Comentários: Apesar de *P. kongii* possuir ampla distribuição mundial, sendo isolada comumente de material vegetal (Liu *et al.*, 2017; Wang & Wang, 2017), trata-se do primeiro relato no ambiente cavernícola onde foi isolada do ar. O estudo de metabólitos secundários produzidos por essa espécie indica a possibilidade de novos compostos de interesse na indústria farmacológica para tratamento de câncer (Liu *et al.*, 2017).

Penicillium javanicum J.F.H. Beyma, Verh. K. Akad. Wet., tweede sect. 26(4): 17 (1929)

Substrate/host and place of origin: Live roots of *Thea sinensis*, Indonesia.

Distribution: Argentina, Australia, Brazil, Cameroon, Colombia, United States, India and Indonesia.

Occurrence in caves: Slovakia, Italy (Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comments: *Penicillium javanicum* has been isolated from cave soil/sediment (Vanderwolf *et al.*, 2013). This fungus has also been isolated from plant roots (Lai *et al.*, 2023), associated with mangroves (Liang *et al.*, 2019) and soil (Barbosa *et al.*, 2022). In addition, this species has been reported to produce substances with biological activities (e.g. antibacterial, anti-inflammatory and antifungal) (Liang *et al.*, 2020; Lai *et al.*, 2023; Liang *et al.*, 2019).

Penicillium kongii L. Wang, Mycologia 105(6): 1549 (2014) [2013]

Substrate/host and place of origin: *Quercus aquifolioides* leaves, Tibet.

Distribution: Cosmopolitan.

Occurrence in caves: This is the first occurrence.

Comments: Although *P. kongii* has a wide distribution worldwide, being commonly isolated from plant material (Liu *et al.*, 2017; Wang & Wang, 2017), this is the first report in the cave environment where it has been isolated from the air. The study of secondary metabolites produced by this species indicates the possibility of new compounds of interest in the pharmacological industry for cancer treatment (Liu *et al.*, 2017).

Penicillium olsonii Bainier & Sartory [as 'olsoni'], *Annls mycol.* 10(4): 398 (1912)

Substrato/hospedeiro e local de origem: *Musa*, França.

Distribuição: África do Sul, Canadá, Finlândia, Itália, República da Coreia e Uganda.

Ocorrência em cavernas: China (Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comentários: *Penicillium olsonii* foi relatada em estudos de caverna na China sendo isolada exclusivamente do ar (Vanderwolf *et al.*, 2013). Esta é a primeira ocorrência de *P. olsonii* em cavernas do Brasil, de onde foi obtida do ar. Essa espécie foi associada à produção de enzimas (Tranchimand *et al.*, 2005; Tranchimand *et al.*, 2008) importantes para a indústria de alimentos e bebidas (Wagner; Kusserow; Schäfer, 2000). Existem relatos de utilização de *P. olsonii* no controle biológico de doenças em plantas (Latz *et al.*, 2020).

Penicillium shearii Stolk & D.B. Scott, *Persoonia* 4(4): 396 (1967)

Substrato/hospedeiro e local de origem: Solo, Honduras.

Distribuição: Brasil, Colômbia e Índia.

Ocorrência em cavernas: Esta é a primeira ocorrência.

Comentários: *Penicillium shearii* é uma espécie comumente isolada do solo (Khandavilli *et al.*, 2016; Brito, 2015) e está aqui sendo relatada pela primeira vez em caverna, onde foi obtida de solo/sedimento de caverna brasileira. *Penicillium shearii* foi utilizada no estudo de nanopartículas para possíveis aplicações na medicina (Fageria *et al.*, 2017).

Penicillium olsonii Bainier & Sartory [as 'olsoni'], *Annls mycol.* 10(4): 398 (1912)

Substrate/host and place of origin: *Musa*, France.

Distribution: South Africa, Canada, Finland, Italy, Republic of Korea and Uganda.

Occurrence in caves: China (Vanderwolf *et al.*, 2013).

Comments: *Penicillium olsonii* has been reported in cave studies in China being isolated exclusively from the air (Vanderwolf *et al.*, 2013). This is the first cave occurrence of *P. olsonii* in Brazil, where it was obtained from the air. This species has been associated with the production of enzymes (Tranchimand *et al.*, 2005; Tranchimand *et al.*, 2008) that are important for the food and beverage industry (Wagner; Kusserow; Schäfer, 2000). There are reports of *P. olsonii* being used in the biological control of plant diseases (Latz *et al.*, 2020).

Penicillium shearii Stolk & D.B. Scott, *Persoonia* 4(4): 396 (1967)

Substrate/host and place of origin: Soil, Honduras.

Distribution: Brazil, Colombia and India.

Occurrence in caves: This is the first occurrence.

Comments: *Penicillium shearii* is a species commonly isolated from soil (Khandavilli *et al.*, 2016; Brito, 2015) and is being reported in caves for the first time. *Penicillium shearii* has been used in the nanoparticles study for possible applications in medicine (Fageria *et al.*, 2017).

Penicillium striatisporum Stolk, Antonie van Leeuwenhoek 35: 268 (1969)

Substrato e local de origem: Folhas caídas de *Acacia karroo*, África do Sul.

Distribuição: Índia.

Ocorrência em cavernas: Esta é a primeira ocorrência.

Comentários: *Penicillium striatisporum* tem sido isolada de diferentes hospedeiros/substratos e é relatada com potencial antifúngico (Ma et al., 2008). No nosso estudo, *P. striatisporum* está sendo relatada pela primeira vez em caverna, de onde foi isolada do solo/sedimento.

Penicillium sumatraense Svilv. [as 'sumatrense'], Arch. Hydrobiol. 14(Suppl. 3): 535 (1936)

Substrato e local de origem: Solo, Sumatra.

Distribuição: Cosmopolita.

Ocorrência em cavernas: Esta é a primeira ocorrência.

Comentários: Poucos estudos relatam o isolamento de *P. sumatraense*, sendo alguns deles sobre o possível potencial de produção de moléculas bioativas (Hsi et al., 2022) ou isolamento de substratos/hospedeiros incomuns (Smiri et al., 2021). Nosso relato trata-se da primeira ocorrência de *P. sumatraense* em caverna.

Penicillium terrigenum Houbraken, Frisvad & Samson, Stud. Mycol. 70: 125 (2011)

Substrato e local de origem: Solo, Havaí.

Distribuição: Bolívia, Brasil, Coréia do Sul, Panamá e Tailândia.

Penicillium striatisporum Stolk, Antonie van Leeuwenhoek 35: 268 (1969)

Substrate and place of origin: Fallen leaves of *Acacia karroo*, South Africa.

Distribution: India.

Occurrence in caves: This is the first occurrence.

Comments: *Penicillium striatisporum* has been isolated from different hosts/substrates and is reported to have antifungal potential (Ma et al., 2008). In this study, *P. striatisporum* is being reported for the first time in a cave, from where it was isolated from soil/sediment.

Penicillium sumatraense Svilv. [as 'sumatrense'], Arch. Hydrobiol. 14(Suppl. 3): 535 (1936)

Substrate and place of origin: Soil, Sumatra.

Distribution: Cosmopolitan.

Occurrence in caves: This is the first occurrence.

Comments: Few studies have reported the isolation of *P. sumatraense*, some of them on the possible potential for the production of bioactive molecules (Hsi et al., 2022) or isolation from unusual substrates/hosts (Smiri et al., 2021). This report is the first cave occurrence of *P. sumatraense*.

Penicillium terrigenum Houbraken, Frisvad & Samson, Stud. Mycol. 70: 125 (2011)

Substrate and place of origin: Soil, Hawaii.

Distribution: Bolivia, Brazil, South Korea, Panama and Thailand.

Ocorrência em cavernas: Esta é a primeira ocorrência.

Comentários: *Penicillium terrigenum* é normalmente isolada do solo e substratos relacionados (Park *et al.*, 2019), existindo poucos relatos de isolamento de outros substratos/hospedeiros (Punja, 2020), ambientes marinhos (Gonçalves *et al.*, 2019), macroalgas e verificação de atividade enzimática (Park *et al.*, 2016). O presente estudo é a primeira ocorrência de *P. terrigenum* em caverna.

Penicillium tropicum Houbraken, Frisvad & Samson, Fungal Diversity 44: 129 (2010)

Substrato e local de origem: Solo de cultivo de *Coffea arabica*, Índia.

Distribuição: Costa Rica, Equador, Ilhas Galápagos e Índia.

Ocorrência em cavernas: Esta é a primeira ocorrência.

Comentários: Trata-se da primeira ocorrência de *P. tropicum* em caverna. No nosso estudo, *P. cf. tropicum* foi isolada de sedimento. *Penicillium tropicum* tem sido isolada principalmente de solos tropicais e subtropicais (Houbraken *et al.*, 2010) e poucos relatos diferem desse substrato (Zeng *et al.*, 2016).

Penicillium virgatum Nirenberg & Kwaśna, Mycol. Res. 109(9): 977 (2005)

Substrato e local de origem: Solo de cultivo de *Glycine max*, Nova Caledônia.

Distribuição: Cosmopolita.

Ocorrência em cavernas: Brasil (da Costa, 2015).

Comentários: *Penicillium virgatum* é amplamente distribuída pelo mundo, sendo principalmente isolada do solo (Kwaśna & Nirenberg, 2005; de

Occurrence in caves: This is the first occurrence.

Comments: *Penicillium terrigenum* is usually isolated from soil and related substrates (Park *et al.*, 2019), with few reports from other substrates/hosts (Punja, 2020), marine environments (Gonçalves *et al.*, 2019), macroalgae and verification of enzymatic activity (Park *et al.*, 2016). This study is the first cave occurrence of *P. terrigenum*.

Penicillium tropicum Houbraken, Frisvad & Samson, Fungal Diversity 44: 129 (2010)

Substrate and place of origin: *Coffea arabica* growing soil, India.

Distribution: Costa Rica, Ecuador, Galapagos Islands and India.

Occurrence in caves: This is the first occurrence.

Observations: This is the first occurrence of *P. tropicum* in a cave. In this study, *P. cf. tropicum* was isolated from sediment. *Penicillium tropicum* has been mainly isolated from tropical and subtropical soils (Houbraken *et al.*, 2010) and few reports differ from this substrate (Zeng *et al.*, 2016).

Penicillium virgatum Nirenberg & Kwaśna, Mycol. Res. 109(9): 977 (2005)

Substrate and place of origin: *Glycine max* growing soil, New Caledonia.

Distribution: Cosmopolitan.

Occurrence in caves: Brazil (da Costa, 2015).

Comments: *Penicillium virgatum* is widely distributed throughout the world, being mainly isolated from soil (Kwaśna & Nirenberg, 2005; de Souza,

Souza, 2018; da Costa, 2015) e foi relatada em solo de cavidades naturais em Minas Gerais-Brasil (da Costa, 2015). Além disso, tem sido relatada com potencial para produção de moléculas bioativas (Li *et al.*, 2022; Yin *et al.*, 2021).

DISCUSSÃO

Espécies de *Penicillium* possuem distribuição mundial, atuam como importantes decompositores da matéria orgânica e são encontrados em ambientes naturais e fechados e produtos alimentícios (Frisvad, 2014). Fungos desse gênero são amplamente utilizados com potencial econômico em diferentes indústrias (Gupta & Rodriguez-Couto, 2017). Além disso, algumas espécies são produtoras de micotoxinas e relatadas causando danos na agricultura (Houbraken *et al.* 2020; Samson *et al.* 2010) e micoses oportunistas em humanos e outros animais (de Hoog *et al.*, 2020). No ambiente cavernícola, as espécies de *Penicillium* estão entre as mais relatadas em diferentes substratos e hospedeiros (Vanderwolf *et al.*, 2013; Alves *et al.*, 2022). Contudo, registros oficiais da Flora e Funga do Brasil só reportam três espécies no bioma Cerrado (Flora e Funga do Brasil, 2023).

No nosso estudo, foram obtidas 890 UFC, das quais 178 (100 = ar e 78 = sedimento) foram identificadas como *Penicillium*, o que representa 20% do total. A riqueza de 12 espécies de *Penicillium* foi relatada a partir do isolamento de fungos do ar e sedimento de caverna do Cerrado no Brasil, sendo a seção *Citrina* a que apresentou maior abundância e número de espécies. Além disso, foi possível observar que os pontos de coleta definidos na caverna diferiram quanto a abundância e riqueza de espécies, especialmente

2018; da Costa, 2015) and has been reported in soil from caves in Minas Gerais-Brazil (da Costa, 2015). It has also been reported to have the potential to produce bioactive molecules (Li *et al.*, 2022; Yin *et al.*, 2021).

DISCUSSION

Penicillium species have a worldwide distribution, act as important decomposers of organic matter and are found in natural and closed environments and food products (Frisvad, 2014). Fungi of this genus are widely used with economic potential in different industries (Gupta & Rodriguez-Couto, 2017). In addition, some species are mycotoxin producers and have been reported to cause damage in agriculture (Houbraken *et al.* 2020; Samson *et al.* 2010) and opportunistic mycoses in humans and other animals (de Hoog *et al.*, 2020). In the cave environment, *Penicillium* species are among the most reported on different substrates and hosts (Vanderwolf *et al.*, 2013; Alves *et al.*, 2022). Nevertheless, official records from Brazilian Flora and Fungi only report three species in the Cerrado biome (Flora e Funga do Brasil, 2023).

In our study, 890 CFU were obtained, of which 178 (100 = air and 78 = sediment) were identified as *Penicillium*, which represents 20% of the total. A richness of 12 *Penicillium* species has been reported from the isolation of fungi from the air and sediment of Cerrado caves in Brazil, with the section *Citrina* showing the greatest abundance and number of species. In addition, it was possible to observe that the collection points defined in the cave differed in terms of abundance and species richness, especially the external points which showed the highest species richness and abundance. The highlight of this study is the

os pontos externos que apresentaram maior riqueza e abundância de espécies. O destaque deste estudo está no relato de seis espécies de *Penicillium* nunca observadas no ambiente cavernícola e/ou no Brasil (Vanderwolf *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2017; Cunha *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021; Alves *et al.*, 2022).

Estudos verificando a riqueza e abundância de fungos em cavernas têm demonstrado que os diferentes espaços do ecossistema cavernícola podem possuir um número de espécies constante ou variável, principalmente quando são considerados os substratos, hospedeiros e correntes de ar (Cunha *et al.*, 2020; Alves *et al.*, 2022). Semelhante ao nosso estudo, Taylor *et al.* (2014) e Alves *et al.* (2022) verificaram que pontos de coletas externos ou mais próximos das entradas das cavernas possuem a maior abundância e/ou riqueza de fungos. Sabe-se que fatores bióticos e abióticos, como a maior disponibilidade de matéria orgânica, maior luminosidade e presença de morcegos, podem favorecer o desenvolvimento fúngico nas cavernas (Vanderwolf *et al.*, 2013; Cunha *et al.*, 2020; Alves *et al.*, 2022). Além disso, foi demonstrado que os fungos cavernícolas podem ser originários do ambiente externo (Zhang *et al.*, 2018) e a visita turística de cavernas pode auxiliar na entrada de espécies que ainda não estão presentes no ambiente (Zhelyazkova *et al.*, 2020).

Espécies de *Penicillium* da seção *Citrina* são encontradas em diferentes substratos e hospedeiros de todo o mundo, mas especialmente no solo (Houbraken *et al.*, 2011). Esta seção possui aproximadamente 43 espécies (Ashtekar *et al.*, 2022), incluindo novidades do Brasil (ex. *P. vascosobrinhoanum*, Barbosa *et al.*, 2020). A espécie mais abundante no nosso estudo, *P. sumatraense*, tem sido isolada de substratos/hospe-

record of six Penicillium species never observed in the cave environment and/or in Brazil (Vanderwolf et al., 2013; Zhang et al., 2017; Cunha et al., 2020; Zhang et al., 2021; Alves et al., 2022).

Studies verifying the richness and abundance of fungi in caves have shown that the different spaces of the cave ecosystem can have a constant or variable number of species, especially when substrates, hosts and air currents are taken into account (Cunha et al., 2020; Alves et al., 2022). Similar to this study, Taylor et al. (2014) and Alves et al. (2022) found that collection points outside or closest to cave entrances have the highest abundance and/or fungi richness. It is known that biotic and abiotic factors, such as the greater availability of organic matter, greater luminosity and the presence of bats, can favor fungal development in caves (Vanderwolf et al., 2013; Cunha et al., 2020; Alves et al., 2022). In addition, it has been shown that cave fungi can originate from the external environment (Zhang et al., 2018) and tourist visitation of caves can help introduce species that are not yet present in the environment (Zhelyazkova et al., 2020).

Penicillium species of the section Citrina are found on different substrates and hosts all over the world, but especially in soil (Houbraken et al., 2011). This section has approximately 43 species (Ashtekar et al., 2022), including novelties from Brazil (e.g. P. vascosobrinhoanum, Barbosa et al., 2020). Penicillium sumatraense, the most abundant species in this study, has been isolated from unusual substrates/hosts and is being reported for the first time in a cave environment (Smiri et al., 2021, Vanderwolf et al., 2013; Alves et al., 2022). In addition to their ecological and taxonomic importance, fungi from the section Citrina have also been reported to have biotechnological potential (Samson & Houbraken, 2011) and P. citrinum has been reported to cause opportunistic mycoses (de Hoog et al., 2020). The

deiros incomuns (Smiri *et al.*, 2021), nosso estudo está relatando esta espécie pela primeira vez em ambiente cavernícola (Vanderwolf *et al.*, 2013; Alves *et al.*, 2022). Além da importância ecológica e taxonômica, fungos da seção *Citrina* também têm sido relatados com potencial biotecnológico (Samson & Houbraken, 2011) e *P. citrinum* possui relatos causando micoses oportunistas (de Hoog *et al.*, 2020). A seção *Brevicompecta* compreende um outro grupo de fungos que merece destaque no nosso estudo, apresentou três espécies, *P. cf. brevicompactum*, *P. cf. kongii* e *P. olsonii*, com elevada abundância e uma delas como nova ocorrência em cavernas. Espécies de *Penicillium* da seção *Brevicompecta* são comumente encontradas no solo e no ar (Houbraken *et al.* 2020; Samson *et al.* 2010), existem relatos de atuarem como agentes etiológicos de micoses oportunistas (de Hoog *et al.*, 2020) e no Brasil têm sido obtidas de diferentes fontes, incluindo ar, água, folhas, solo e produtos alimentícios (Barbosa *et al.*, 2022).

Com relação às demais seções de *Penicillium* encontradas no nosso estudo, a seção *Lanata-Divaricata* possui cerca de 80 espécies principalmente isoladas do solo (Diao *et al.*, 2019), mas existem relatos de outros substratos/hospedeiros e no Brasil ocorrem como endófitos e em substratos relacionados com abelhas (Barbosa *et al.*, 2018, 2022). No nosso estudo, a seção *Exilicaulis* foi representada por *P. striatisporum*, sendo conhecida por fungos que contaminam ambientes fechados, podem causar alergias em humanos, produzir micotoxinas e possuir significância na saúde veterinária e na agricultura (Visagie *et al.*, 2016). No Brasil, espécies desta seção são relatadas do solo, águas, plantas e diversos outros substratos/hospedeiros em diferentes biomas (Barbosa *et al.*,

Brevicompecta section comprises another group of fungi that deserves to be highlighted in our study, presenting three species, *P. cf. brevicompactum*, *P. cf. kongii* and *P. olsonii*, with high abundance and one of them as a new occurrence in caves. *Penicillium* species from the section *Brevicompecta* are commonly found in soil and air (Houbraken *et al.* 2020; Samson *et al.* 2010), there are reports of them acting as etiological agents of opportunistic mycoses (de Hoog *et al.*, 2020) and in Brazil they have been obtained from different sources, including air, water, leaves, soil and food products (Barbosa *et al.*, 2022).

With regard to the other *Penicillium* sections found in this study, the section *Lanata-Divaricata* has around 80 species mainly isolated from soil (Diao *et al.*, 2019). However, there are reports of other substrates/hosts and in Brazil they occur as endophytes and on bee-related substrates (Barbosa *et al.*, 2018, 2022). In this study, section *Exilicaulis* was represented by *P. striatisporum*, which is known for fungi that contaminate closed environments, can cause allergies in humans, produce mycotoxins and have significance in veterinary health and agriculture (Visagie *et al.*, 2016). In Brazil, species from this section have been reported from soil, water, plants and various other substrates/hosts in different biomes (Barbosa *et al.*, 2022). Section *Ramosum* comprises about 20 species that are obtained from various substrates/hosts, such as air and herbivore excrement, however, it had a single representative, *P. virgatum* (Guevara-Suarez *et al.*, 2020). In Brazil there are reports in mangrove sediment, soil and plant litter (Barbosa *et al.*, 2022).

Brazilian caves mycobiota represents part of the national 'fungal treasure', providing information that makes it possible to implement strategies aimed at conserving the diversity of the cave environment.

2022). A seção *Ramosum* teve um único representante, *P. virgatum*, e compreende cerca de 20 espécies que são obtidas de diversos substratos/hospedeiros, tais como ar e excremento de herbívoros (Guevara-Suarez *et al.*, 2020) e no Brasil há relatos em sedimento de manguezal, solo e serrapilheira (Barbosa *et al.*, 2022).

A microbiota presente nas cavernas brasileiras representa parte do ‘tesouro fúngico’ nacional, fornecendo informações que viabilizem a execução de estratégias voltadas à conservação da diversidade do ambiente cavernícola. Seriam as cavernas brasileiras um hotspot da diversidade global de fungos? Os dados inventariados sobre a microbiota cavernícola são importantes subsídios para a elaboração de planos de manejo espeleológico (ex. “Plano de Manejo Espeleológico da Furna Nova, Baraúna/RN - Parque Nacional da Furna Feia”, ICMBio/Cecav, 2023), auxiliando na atuação de órgãos de proteção do patrimônio espeleológico e proporcionando a conservação das espécies fúngicas e demais biota associada ao ambiente das cavernas, além de atuar na proteção da saúde de visitantes. Além disso, a preservação *ex situ* dos fungos favorece estudos relacionados às aplicações biotecnológicas, ecológicas e de taxonomia/inventário de fungos em cavernas brasileiras.

Durante o nosso estudo foi possível estimar uma riqueza de espécies de *Penicillium* até então desconhecida em cavernas, com destaque para *P. cf. kongii*, *P. shearii*, *P. striatisporum*, *P. sumatraense*, *P. terrigenum* e *P. cf. tropicum* que aqui estão sendo relatadas pela primeira vez no ambiente cavernícola e representam 50% da riqueza de espécies do nosso estudo. Estudos de avaliação da riqueza de fungos em cavernas do Brasil obtiveram resultados semelhantes (Alves *et al.*, 2022; Cunha *et al.* 2020), relatando

Could Brazilian caves be a global fungal diversity hotspot? The inventoried data on cave microbiota provides important inputs for drawing up cave management plans (e.g. “Furna Nova Cave Management Plan, Baraúna/RN - Furna Feia National Park”, ICMBio/Cecav, 2023). The data supports the work of agencies protecting the cave heritage and helps the conservation of fungal species and other biota associated with the cave environment, as well as protecting the health of visitors. In addition, the ex situ preservation of fungi favors studies related to biotechnological, ecological and taxonomic applications/inventory of fungi in Brazilian caves.

*During this study, it was possible to estimate a richness of *Penicillium* species previously unknown in caves, especially *P. cf. kongii*, *P. shearii*, *P. striatisporum*, *P. sumatraense*, *P. terrigenum* and *P. cf. tropicum*, which represent 50% of the species richness of the study and are being reported in the cave environment for the first time. Studies evaluating the richness of caves fungi in Brazil have obtained similar results (Alves *et al.*, 2022; Cunha *et al.* 2020), which demonstrates the impact of this study in estimating the national and global diversity of fungi.*

cerca de 50% das espécies pela primeira vez em cavernas, o que demonstra o impacto do nosso estudo na estimativa da diversidade nacional e global de fungos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O nosso estudo apresenta importantes pistas para a descoberta de um tesouro ainda escondido na escuridão de cavernas brasileiras. A riqueza de espécies de *Penicillium*, fungos com distribuição mundial e associados com diversos hospedeiros/substratos, é uma parte da diversidade de fungos da Caverna Lapa do Boqueirão do Cerrado, Brasil. Entre as 12 espécies de *Penicillium* encontradas no presente estudo destacamos que 50% delas estão sendo relatadas a primeira vez em cavernas e/ou no Brasil, constituindo uma parte do tesouro micológico encontrado em cavernas. Além de os dados serem importante para estimativa da diversidade de fungos no Brasil e no mundo, o inventário da riqueza de espécies de *Penicillium* é importante para a preservação *in situ* e *ex situ* de recursos biológicos com potencial biotecnológico e fornecimento de informações micológicas para inclusão em plano de manejo de cavernas com potencial turístico no Brasil.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Lorena Souza Miranda pelo auxílio na expedição científica para coleta de solo/sedimento da caverna e aos integrantes do Laboratório de Micologia (LabMicol) do IPTSP/UFG por todo o auxílio durante as atividades envolvidas neste estudo. Nós também queremos agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão

FINAL CONSIDERATIONS

This study presents important clues to the discovery of a treasure still hidden in the darkness of Brazilian caves. The richness of Penicillium species, fungi with a worldwide distribution and associated with diverse hosts/substrates, is part of the fungal diversity of the Lapa do Boqueirão Cave in the Cerrado. Of the 12 Penicillium species found in this study, 50% are being reported for the first time in caves and/or in Brazil, constituting part of the mycological treasure found in caves. In addition to the data being important for estimating the diversity of fungi in Brazil and worldwide, the inventory of the Penicillium species richness is important for the in situ and ex situ preservation of biological resources with biotechnological potential and the provision of mycological information for inclusion in management plans for caves with tourist potential in Brazil.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Lorena Souza Miranda for helping with the scientific expedition to collect soil/sediment from the cave and the members of the Laboratório de Micologia (LabMicol) at IPTSP/UFG for all their help during the activities involved in this study. We would also like to thank the National Council for Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento

da bolsa de Iniciação Científica (processo UFG/CNPq: PI05958-2022/1) e pelo apoio financeiro (processo CNPq: 408788/2021-6 e 404989/2021-7), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG, processo: CAP2022061000159) e ao TCCE ICMBio/VALE: Compensação Espeleológica (Subprojeto 19 - "Inventário de fungos em cavernas de UCs de biomas brasileiros: diversidade e subsídios para manejo espeleológico") pelo apoio financeiro. Cristina M. Souza-Motta e Jadson D. P. Bezerra são bolsistas do CNPq (processos: 311187/2022-6 e 303939/2022-2).

Científico e Tecnológico, CNPq) for awarding the Scientific Initiation scholarship (UFG/CNPq process: PI05958-2022/1) and for the financial support (CNPq process: 408788/2021-6 and 404989/2021-7), Goiás State Research Support Foundation (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás) (FAPEG, process: CAP2022061000159) and to TCCE ICMBio/VALE: Compensação Espeleológica (Subproject 19 - "Inventory of fungi in caves of UCs of Brazilian biomes: diversity and subsidies for speleological management") for the financial support. Cristina M. Souza-Motta and Jadson D. P. Bezerra are CNPq scholarship holders (processes: 311187/2022-6 and 303939/2022-2).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS / BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

ALVES, V. C. S.; LIRA, R. A.; LIMA, J. M. S.; BARBOSA, R. N.; BENTO, D. M.; BARBIER, E.; BERNARD, E.; SOUZA-MOTTA, C. M.; BEZERRA, J. D. P. Unravelling the fungal darkness in a tropical cave: richness and the description of one new genus and six new species. *Fungal Systematics and Evolution*, v. 10, n. 1, p. 139–167, 2022.

ANELLI, P.; HAIDUKOWSKI, M.; EPIFANI, F.; CIMMARUSTI, M. T.; MORETTI, A.; LOGRIECO, A.; SUSCA, A. Fungal mycobiota and mycotoxin risk for traditional artisan Italian cave cheese. *Food Microbiology*, v. 78, p. 62–72, 2019.

ASHTEKAR, N.; RAJESHKUMAR, K. C.; YILMAZ, N.; VISAGIE, C. M. A new *Penicillium* section *Citrina* species and series from India. *Mycological Progress*, v. 21, 42, 2022.

BARBOSA, R. N.; DOS SANTOS, J. E. F.; BEZERRA, J. D. P.; ISTELE, Ł.; HOUBRAKEN, J.; OLIVEIRA, N. T.; DE SOUZA-MOTTA, C. M. Brazilian Atlantic Forest and Pampa biomes in the spotlight: an overview of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* (Eurotiales) species and the description of *Penicillium nordes-tinense* sp. nov. *Acta Botanica Brasilica*, v. 36, p. e2021abb0390, 2022.

BARBOSA, R. N.; BEZERRA, J. D. P.; SANTOS, A. C. S.; MELO, R. F. R.; HOUBRAKEN, J.; OLIVEIRA, N. T.; DE SOUZA-MOTTA, C. M. Brazilian tropical dry forest (Caatinga) in the spotlight: an overview of species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* (Eurotiales) and the description of *P. vascosobrinhou* sp. nov. *Acta Botanica Brasilica*, v. 34, n. 2, p. 409–429, 2020.

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

BARTON, H. A. Introduction to cave microbiology: a review for the non-specialist. *Journal of Cave and Karst Studies*, v. 68, p. 43–64, 2006.

BELYAGOUBI, L.; BELYAGOUBI-BENHAMMOU, N.; JURADO, V.; DUPONT, J.; LACOSTE, S.; DJEBBAH, F.; OUNADJELA, F.; BENAÏSSA, S.; HABI, S.; ABDELOUAHID, D.; SAIZ-JIMENEZ, C. Antimicrobial activities of culturable microorganisms (actinomycetes and fungi) isolated from Chaabe Cave, Algeria. *International Journal of Speleology*, v. 47, n. 2, p. 189–199, 2018.

BEZERRA, J. D. P.; SANDOVAL-DENIS, M.; PAIVA, L. M.; SILVA, G. A.; GROENEWALD, J. Z.; SOUZA-MOTTA, C. M.; CROUS, P. W. New endophytic *Toxicocladosporium* species from cacti in Brazil, and description of *Neocladosporium* gen. nov. *IMA Fungus*, v. 8, n. 1, p. 77–97, 2017.

BRITO, F. E. G. *Produção e ação antimicrobiana da quitosana proveniente da biomassa de fungos filamentosos isolados de solos de Roraima*. 2015. 66 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2015.

CARVALHO, J. L. V. R.; LIMA, J. M. S.; BARBIER, E.; BERNARD, E.; BEZERRA, J. D. P.; SOUZA-MOTTA, C. M. Ticket to ride: fungi from bat ectoparasites in a tropical cave and the description of two new species. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 53, n. 4, p. 2077–2091, 2022.

COTON, E.; COTON, M.; HYMERY, N.; MOUNIER, J.; JANY, J. *Penicillium roqueforti*: an overview of its genetics, physiology, metabolism and biotechnological applications. *Fungal Biology Reviews*, v. 34, n. 2, p. 59–73, 2020.

CROUS, P. W.; VERKLEY, G. J. M.; GROENEWALD, J. Z.; SAMSON R. A. *Fungal biodiversity*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2009. 250p.

CUNHA, A. O. B.; BEZERRA, J. D. P.; OLIVEIRA, T. G. L.; BARBIER, E.; BERNARD, E.; MACHADO, A. R.; SOUZA-MOTTA, C. M. Living in the dark: Bat caves as hotspots of fungal diversity. *PLOS ONE*, v. 15, n. 12, p. e0243494, 2020.

DA COSTA, F. L. B. *Identificação de fungos isolados de cavidades naturais subterrâneas do Parque Estadual do Sumidouro*. 2015. 123 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; AHMED, S.; AL-HATMI, A. M. S.; FIGUERAS, M. J.; VITALE, R.G. *Atlas of clinical fungi*: the ultimate bench tool for diagnostics. 4. ed. Hilversum: Westerdijk Institute, 2020.

DE OLIVEIRA, R. V. M.; CORRÊA-MOREIRA, D.; MENDES, T. V.; DA COSTA, G. L.; VIEIRA, R. M.; BUCHELE, C. M. N.; LINS, R. S.; FERREIRA, A. B. T. B. C.; VEIRA, D. B.; PEDROSO, R. S. A.; DE FARIA, V. T. D. P.; OLIVEIRA, M. M. E. First report of fungal meningoencephalitis by *Penicillium chrysogenum* in Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 126, p. 94–97, 2023.

DE PAULA, C. C. P.; MONTOYA, Q. V.; MEIRELLES, L. A.; FARINAS, C. S.; RODRIGUES, A.; SELEGHIM, M. H. R. High cellulolytic activities in filamentous fungi isolated from an extreme oligotrophic subterranean environment (Catão cave) in Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, n. 3, e20180583, 2019.

DE SOUZA, S. C. *Diversidade de espécies dos gêneros Aspergillus, Penicillium e Talaromyces isolados do solo de canga do Quadrilátero Ferrífero*. 2018. 140 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

DIAO, Y.; CHEN, Q.; JIANG, X.; HOUBRAKEN, J.; BARBOSA, R. N.; CAI, L.; WU, W. *Penicillium* section *Lanatadivaricata* from acidic soil. *Cladistics*, v. 35, n. 5, p. 514–549, 2018.

FAGERIA, L.; PAREEK, V.; DILIP, R. V.; BHARGAVA, A.; PASHA, S. S.; LASKAR, I. R.; SAINI, H.; DASH, S.; CHOWDHURY, R.; PANWAR, J. Biosynthesized protein-capped silver nanoparticles induce ROS-dependent proapoptotic signals and prosurvival autophagy in cancer cells. *ACS Omega*, v. 2, n. 4, p. 1489–1504, 2017.

FERREIRA, R. L.; MARTINS, R. P.; YANEGA, D. Ecology of bat guano arthropod communities in a Brazilian dry cave. *Ecotropica*, v. 6, n. 2, p. 105–116, 2000a.

FERREIRA, R. L.; NONAKA, É.; ROSA, C. A. Riqueza e abundância de fungos associados ao guano de morcegos hematófagos na Gruta da Lavoura (Matozinhos, MG). *O Carste*, v. 12, n. 1, p. 46–52, 2000b.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 23 jan. 2023.

FREITAS, S. T. O.; DIAS, P. A.; MOMOLI, R. S. Potencial do turismo espeleológico na região de Vila Propício (GO). In: ZAMPAULO, R. A. (org.) CONGRESSO BRASILEIRO DE ESPELEOLOGIA, 35, 2019, Bonito. *Anais eletrônicos [...]* Campinas: SBE, 2019. p. 485-491. Disponível em: http://www.cavernas.org.br/anais35cbe/35cbe_485-491.pdf. Acesso em: 11 jul. 2022.

FRISVAD, J. C. *Penicillium: Penicillium/Penicillia* in food production. In: BATT, C.A.; TORTORELLO, M.L. *Encyclopedia of food microbiology*. Elsevier, 2014. v. 3, cap. 1, p. 14-18.

GONÇALVES, M. F. M.; SANTOS, L.; SILVA, B. M. V.; ABREU, A. C.; VICENTE, T. F. L.; ESTEVES, A. C.; ALVES, A. Biodiversity of *Penicillium* species from marine environments in Portugal and description of *Penicillium lusitanum* sp. nov., a novel species isolated from sea water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 69, n. 10, p. 3014–3021, 2019.

GUERRA, L. C. C.; LEMES, C. G. C.; MOREIRA, L. M. Potencial biotecnológico de bactérias cultiváveis obtidas a partir da Gruta Matimiano II, Parque Estadual do Ibitipoca - MG. *Revista Brasileira de Espeleologia*, p. 65-89, 2022.

GUEVARA-SUAREZ, M.; GARCÍA, D.; CANO-LIRA, J. F.; GUARRO, J.; GENÉ J. Species diversity in *Penicillium* and *Talaromyces* from herbivore dung, and the proposal of two new genera of *penicillium*-like fungi in *Aspergillaceae*. *Fungal Systematics and Evolution*, v. 5, n. 1. 39–75, 2019.

GUPTA V. K.; RODRIGUEZ-COUTO, S. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: Penicillium system properties and applications*. Amsterdam: Elsevier, 2018. 298p.

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

HOUBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; SAMSON, R. A. Taxonomy of *Penicillium* section *Citrina*. *Studies in Mycology*, v. 70, p. 53–138, 2011.

HSI, H. Y.; WANG, S. W.; CHENG, C. H.; PANG, K. L.; LEU, J. Y.; CHANG, S. H.; LEE, Y. T.; KUO, Y. H.; HUANG, C. Y.; LEE, T. H. Chemical constituents and anti-angiogenic principles from a marine algiculous *Penicillium sumatraense* SC29. *Molecules*, v. 27, n. 24, p. 8940, 2022.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS (CECAV). *Anuário Estatístico do Patrimônio Espeleológico Brasileiro de 2022*. ICMBio-CECAV, 2022a. Disponível em: <<https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cecav/anuario-estatistico-do-patrimonio-espeleologico-brasileiro/cecav-anuario-estatistico-espeleologico-2022.pdf>>. Acesso em: ago. de 2023.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS (CECAV). *Orientações ao uso turístico sustentável da caverna dos Crotes Felipe Guerra-RN*. ICMBio-CECAV, 2022b.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS (CECAV). *Plano de Manejo Espeleológico da Furna Nova, Baraúna/RN - Parque Nacional da Furna Feia*. ICMBio-CECAV, 2023.

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, v. 20, n. 4, p. 1160–1166, 2017.

KHANDAVILLI, R.; MEENA, R.; SHENOY, B. D. Fungal phylogenetic diversity in estuarine sediments of Gautami Godavari River, Andhra Pradesh, India. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, v. 6, n. 4, p. 268–276, 2016.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do cerrado brasileiro. *Megadiversidade*, v. 1, p. 147–155, 2005.

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

- LAI, L.-H.; ZONG, M.-H.; HUANG, Z.; NI, Z.-F.; XU, P.; LOU, W.-Y. Purification, structural elucidation and biological activities of exopolysaccharide produced by the endophytic *Penicillium javanicum* from *Millettia speciosa* Champ. *Journal of Biotechnology*, v. 362, p. 54–62, 2023.
- LATZ, M. A. C.; JENSEN, B.; COLLINGE, D. B.; JØRGENSEN, H. J. L. Identification of two endophytic fungi that control *Septoria tritici* blotch in the field, using a structured screening approach. *Biological Control*, v. 141, p. 104128, 2020.
- LI, B.-C.; LV, L. X.; HUANG, L. L.; ZHOU, J. T.; HUANG, X. S.; LI, J.; YANG, R. Y.; XU, W. F. Cycloaspeptide H, a cyclopentapeptide from the endophytic fungus *Penicillium virgatum*. *Natural Product Research*, p. 1–7, 2022.
- LIANG, Z.-Y.; SHEN, N.-X.; ZHOU, X.-J.; ZHENG, Y.-Y.; CHEN, M.; WANG, C.-Y. Bioactive indole diterpenoids and polyketides from the marine-derived fungus *Penicillium javanicum*. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 56, n. 2, p. 379–382, 2020.
- LIANG, Z.-Y.; SHEN, N. X.; ZHENG, Y. Y.; WU, J. T.; MIAO, L.; FU, X. M.; CHEN, M.; WANG, C. Y. Two new unsaturated fatty acids from the mangrove rhizosphere soil-derived fungus *Penicillium javanicum* HK1-22. *Bioorganic Chemistry*, v. 93, p. 103331, 2019.
- LIU, Z.-G. *et al.* Chemical diversity from the Tibetan Plateau fungi *Penicillium kongii* and *P. brasilianum*. *Mycology*, v. 9, n. 1, p. 10–19, 2017.
- LOBATO, R. C.; VARGAS, V. DE S.; SILVEIRA, É. DA S. Sazonalidade e prevalência de fungos anemófilos em ambiente hospitalar no Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba*, v. 11, n. 2, p. 21–28, 2009.
- LOBO, H. A. S.; BOGGIANI, P. C. Cavernas como patrimônio geológico. *Boletim Paranaense de Geociências*, v. 70, p. 190–199, 2013.
- MA, Y.; CHANG, Z.; ZHAO, J.; ZHOU, M. Antifungal activity of *Penicillium striatisporum* Pst10 and its biocontrol effect on *Phytophthora* root rot of chilli pepper. *Biological Control*, v. 44, n. 1, p. 24–31, 2008.
- MAAMOUN, H. S.; RABIE, G. H.; SHAKER, I.; ALAIDAROOS, A. B.; EL-SAYED, A. S. A. Biochemical Properties of Tyrosinase from *Aspergillus terreus* and *Penicillium copticola*; Undecanoic acid from *Aspergillus flavus*, an endophyte of *Moringa oleifera*, is a novel potent tyrosinase inhibitor. *Molecules*, v. 26, n. 5, p. 1309, 2021.
- MORALES-OYERVIDES, L.; RUIZ-SÁNCHEZ, J. P.; OLIVEIRA, J. C.; SOUSA-GALLAGHER, M. J.; MÉNDEZ-ZAVALA, A.; GIUFFRIDA, D.; DUFOSSÉ, L.; MONTAÑEZ, J. Biotechnological approaches for the production of

- natural colorants by *Talaromyces/Penicillium*: A review. *Biotechnology Advances*, v. 43, p. 107601, 2020.
- NDAGIJIMANA, M.; CHAVES-LÓPEZ, C.; CORSETTI, A.; TOFALO, R.; SERGI, M.; PAPARELLA, A.; GUERZONI, M. E.; SUZZI, G. Growth and metabolites production by *Penicillium brevicompactum* in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, v. 127, n. 3, p. 276–283, 2008.
- NIEVES-RIVERA, A. M. Mycological survey of Río Camuy Caves Park, Puerto Rico. *Journal of Cave and Karst Studies*, v. 65, p. 23–28, 2003.
- NOVÁKOVÁ, A. Microscopic fungi isolated from the Domica Cave system (Slovak Karst National Park, Slovakia). A review. *International Journal of Speleology*, v. 38, n. 1, p. 71–82, 2009.
- OGÓREK, R.; LEJMAN, A.; MATKOWSKI, K. Influence of the external environment on airborne fungi isolated from a cave. *Polish Journal of Environmental Studies*, v. 23, p. 435–440, 2014.
- PARK, M. S.; LEE, S.; OH, S. Y.; CHO, G. Y.; LIM, Y. W. Diversity and enzyme activity of *Penicillium* species associated with macroalgae in Jeju Island. *Journal of Microbiology*, v. 54, n. 10, p. 646–654, 2016.
- PARK, M. S.; OH, S. Y.; FONG, J. J.; HOUBRAKEN, J.; LIM, Y. W. The diversity and ecological roles of *Penicillium* in intertidal zones. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, 2019.
- PEAY, K. G.; KENNEDY, P. G.; TALBOT, J. M. Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome. *Nature Reviews Microbiology*, v. 14, n. 7, p. 434–447, 2016.
- PEDRO, E. G.; BONONI, V. L. R. Cave fungi of the karst region of the State Touristic Park of the Upper Ribeira Valley (PETAR) in the state of São Paulo in Brazil. *Focus*, v. 1, p. 65–78, 2007.
- PEREIRA, M. L. S.; CARVALHO, J. L. V. R.; LIMA, J. M. S.; BARBIER, E.; BERNARD, E.; BEZERRA, J. D. P.; SOUZA-MOTTA, C. M. Richness of *Cladosporium* in a tropical bat cave with the description of two new species. *Mycological Progress*, v. 21, n. 1, p. 345–357, 2022.
- PUNJA, Z. K. The diverse mycoflora present on dried cannabis (*Cannabis sativa* L., marijuana) inflorescences in commercial production. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 43, n. 1, p. 88–100, 2020.
- REGUEIRA, T. B.; KILDEGAARD, K. R.; HANSEN, B. G.; MORTENSEN, U. H.; HERTWECK, C.; NIELSEN, J. Molecular Basis for Mycophenolic Acid Biosynthesis in *Penicillium brevicompactum*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 77, n. 9, p. 3035–3043, 2011.
- SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J. *Phylogenetic and taxonomic studies on the genera Penicillium and Talaromyces*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011. 198p.
- SAMSON, R. A.; HOUBRAKEN, J.; THRANE, U.; FRISVAD, J. C.; ANDERSEN, B. *Food and indoor fungi*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Cop, 2010. 390p.

- SEIFERT, K. A.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W.; KENDRICK, B. *The genera of hyphomycetes*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011. 997p.
- SMIRI, M.; KHEIREDDINE, A.; HAMMAMI, R.; ROUISSI, M.; ESPESO, E. A.; SADFI-ZOUAOUI, N. An assessment of the air quality in apple warehouses: new records of *Aspergillus europaeus*, *Aspergillus pulverulentus*, *Penicillium allii* and *Penicillium sumatraense* as decay agents. *Archives of Microbiology*, v. 203, n. 10, p. 5975–5992, 2021.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, v. 38, n. 7, p. 3022–3027, 2021.
- TAYLOR, E. L. S.; FERREIRA, R. L.; CARDOSO, P. G.; STOIANOFF, M. A. R. Cave entrance dependent spore dispersion of filamentous fungi isolated from various sediments of iron ore cave in Brazil: a colloquy on human threats while caving. *Ambient Science*, v. 1, n. 1, p. 16–28, 2014.
- TAYLOR, E. L. S.; STOIANOFF, M. A. R.; FERREIRA, R. L. Mycological study for a management plan of a neotropical show cave (Brazil). *International Journal of Speleology*, v. 42, n. 3, p. 267–277, 2013.
- TRANCHIMAND, S.; ERTEL, G.; GAYDOU, V.; GAUDIN, C.; TRON, T.; IACAZIO, G. Biochemical and molecular characterization of a quercetinase from *Penicillium olsonii*. *Biochimie*, v. 90, n. 5, p. 781–789, 2008.
- TRANCHIMAND, S.; TRON, T.; GAUDIN, C.; IACAZIO, G. Evaluation of phenolics and sugars as inducers of quercetinase activity in *Penicillium olsonii*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 253, n. 2, p. 289–294, 2005.
- VANDERWOLF, K.; MALLOCH, D.; MCALPINE, D. F.; FORBES, G. J. A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves. *International Journal of Speleology*, v. 42, n. 1, p. 77–96, 2013.
- VICENTINI, A. P.; PASSOS, A. N.; SILVA, D. F.; BARRETO, L. C.; ASSIS, C. M.; FREITAS, R. S. Histoplasmosis: um risco ocupacional entre pesquisadores que realizam trabalho de campo? *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 71, n. 4, p. 747–752, 2012.
- VISAGIE, C. M.; SEIFERT, K. A.; HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A.; JACOBS, K. A phylogenetic revision of *Penicillium* sect. *Exilicaulis*, including nine new species from fynbos in South Africa. *IMA Fungus*, v. 7, n. 1, p. 75–117, 2016.
- WAGNER, F.; KUSSEROW, H.; SCHÄFER, W. Cloning and targeted disruption of two polygalacturonase genes in *Penicillium olsonii*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 186, n. 2, p. 293–299, 2000.
- WANG, B.; WANG, L. *Penicillium kongii*, a new terverticillate species isolated from plant leaves in China. *Mycologia*, v. 105, n. 6, p. 1547–1554, 2013.
- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, J. W. *A Guide to Molecular Methods and 76 Applications*. Academic Press, 1990. cap. 38, p. 315–322.

YIN, G.-P.; GONG, M.; XUE, G.-M.; GONG, T.; CAO, X.; WANG, W.; HU, C.-H. Penispidins A–C, Aromatic sesquiterpenoids from *Penicillium virgatum* and their inhibitory effects on hepatic lipid accumulation. *Journal of Natural Products*, v. 84, n. 10, p. 2623–2629, 2021.

ZENG, Y.; WANG, H.; KAMDEM, R. S. T.; ORFALI, R. S.; DAI, H.; MAKHLOUFI, G.; JANIYAK, C.; LIU, Z.; PROKSCHB, P. A new cyclohexapeptide, penitropeptide and a new polyketide, penitropone from the endophytic fungus *Penicillium tropicum*. *Tetrahedron Letters*, v. 57, n. 27-28, p. 2998–3001, 2016.

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

ZHANG, Z.-F.; ZHAO, P.; CAI, L. Origin of cave fungi. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 1407, 2018.

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

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