

**UM TESOURO ALÉM DO MINÉRIO DE FERRO:
RIQUEZA DE FUNGOS EM CAVERNAS E
CAVIDADES FERRUGINOSAS NATURAIS NA
SERRA DO ESPINHAÇO MERIDIONAL DE
MINAS GERAIS**

*A TREASURE BEYOND IRON ORE: FUNGAL RICHNESS
IN NATURAL FERRUGINOUS CAVES IN THE
SOUTHERN ESPINHAÇO MOUNTAIN RANGE,
MINAS GERAIS*

Ana Flávia Leão

Universidade Federal de Viçosa,
Microbiology Department
E-mail: ana.f.leao@ufv.br

Thiago Oliveira Condé

Universidade Federal de Viçosa,
Microbiology Department
E-mail: olliveira.thiago@gmail.com

Fábio Alex Custódio

Universidade Federal de Viçosa,
Department of Plant Pathology
E-mail: fabio.custodio@ufv.br

Soraya de Carvalho Neves

Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri,
Institute of Science and Technology
E-mail: soraneves@ict.ufvjm.edu.br

Lucio Mauro Soares Fraga

Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri,
Institute of Science and Technology
E-mail: luciofraga@ict.ufvjm.edu.br

Olinto Liparini Pereira

Universidade Federal de Viçosa,
Department of Plant Pathology
E-mail: oliparini@ufv.br

RESUMO

As cavernas, por serem ambientes únicos e com características singulares, abrigam uma elevada diversidade de fungos, incluindo espécies ainda desconhecidas, com potencial para uso biotecnológico. Nos últimos anos, os estudos sobre fungos cavernícolas evidenciaram esses ambientes como uma nova fronteira para a expansão do conhecimento no campo da micologia. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi investigar fungos filamentosos cultiváveis presentes em caverna/cavidades ferruginosas e em uma caverna quartzítica ferruginosa na região entre os municípios de Serro e Conceição do Mato Dentro, na Serra do Espinhaço Meridional, em Minas Gerais. Foram coletadas amostras de esporos presentes no ar, fezes, raízes, rocha, serrapilheira e sedimento/solo para o isolamento de fungos cavernícolas. As coletas foram realizadas em cinco caverna/cavidades ferruginosas presentes na Serra da Ferrugem e na caverna quartzítica ferruginosa Curral de Pedras, ambas em Conceição do Mato Dentro, além de uma coleta em uma cavidade ferruginosa na cidade Alvorada de Minas, distrito de Itapanhoacanga. No total, foram obtidos 887 isolados de fungos provenientes das cavidades ferruginosas amostradas, sendo 274 isolados do solo, 258 do ar, 128 da serrapilheira, 106 de fezes, 70 de rochas e 51 de raízes. Para a identificação dos isolados, foi realizada a extração do DNA genômico total, seguida da amplificação e sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Os isolados foram identificados ao nível taxonômico de gênero por meio da comparação das sequências de ITS obtidas com a ferramenta *megablast*, utilizando o banco de dados público do GenBank. Foram encontrados quatro filos (*Ascomycota*, *Mucoromycota*, *Basidiomycota* e *Zoopagomycota*), 13 classes, 36 ordens, 70 famí-

ABSTRACT

Caves, being unique environments with singular characteristics, harbor a high diversity of fungi, including species that are still unknown, with potential for biotechnological use. In recent years, studies on cave fungi have highlighted these environments as a new frontier for the expansion of knowledge in the field of mycology. In this context, the objective of this study was to investigate cultivable filamentous fungi present in ferruginous caves and in a ferruginous quartzite cave in the region between the municipalities of Serro and Conceição do Mato Dentro, in the Serra do Espinhaço Meridional, in Minas Gerais. Samples of particles present in the air, animal dung, roots, rock, litter, and sediment/soil were collected for the isolation of cave fungi. The collections were carried out in five ferruginous caves in the Serra da Ferrugem and in the ferruginous quartzite cave Curral de Pedras, both in Conceição do Mato Dentro, in addition to a collection in a ferruginous cave in the city of Alvorada de Minas, district of Itapanhoacanga. In total, 887 fungal isolates were obtained from the sampled ferruginous caves, with 274 isolates from soil, 258 from air, 128 from litter, 106 from animal dung, 70 from rocks, and 51 from roots. To identify the isolates, total genomic DNA was extracted, followed by amplification and sequencing of the ITS (Internal Transcribed Spacer) region. The isolates were identified at the genus taxonomic level by comparing the ITS sequences obtained with the megablast tool, using the public GenBank database. Four phyla (Ascomycota, Mucoromycota, Basidiomycota, and Zoopagomycota), 13 classes, 36 orders, 70 families, and 145 genera were found. The phylum Ascomycota was the most predominant, with the genera Penicillium and Cladosporium being the most frequent in the three locations studied. This study points out that ferruginous caves in the Southern Espinhaço Mountains harbor a high

lias e 145 gêneros. O filo Ascomycota foi o mais predominante, sendo os gêneros *Penicillium* e *Cladosporium* os mais frequentes nas três localidades estudadas. Este estudo aponta que cavidades ferruginosas da Serra do Espinhaço Meridional abrigam uma elevada riqueza de gêneros fúngicos, evidenciando o potencial para a descoberta de novas espécies.

PALAVRAS-CHAVE: Bioespeleologia, cavernas, *Cladosporium*, micologia, taxonomia, *Penicillium*.

INTRODUÇÃO

Estima-se que existam entre 2 e 3 milhões de espécies de fungos no planeta; entretanto, somente cerca de 155 mil espécies estão documentadas (Niskanen *et al.*, 2023). Uma das razões para o limitado conhecimento sobre a diversidade fúngica está relacionada à escassez de estudos em habitats em regiões tropicais, onde essa diversidade ainda é pouco explorada (Hawksworth & Lücking, 2017). Sabe-se, contudo, que a distribuição desses organismos tende a ser maior nos trópicos em relação a regiões de clima temperado, como demonstrado em um estudo sobre a diversidade global de fungos no solo (Tedersoo *et al.*, 2014). Dessa maneira, estudos que contemplem habitats pouco explorados em regiões tropicais, como as cavernas, são fundamentais para preencher as lacunas existentes no inventário global de espécies fúngicas.

Os fungos possuem um papel importante no ecossistema subterrâneo, contribuindo para o biointemperismo de rochas, decomposição da matéria orgânica, transformação do nitrogênio e fósforo, degradação de compostos recalcitrantes e servindo como alimento para a fauna cavernícola (Nováková *et al.*, 2018; Joshi & Chettri, 2019;

wealth of fungal genera, highlighting the potential for the discovery of new species.

KEYWORDS: Biospeleology, caves, *Cladosporium*, mycology, taxonomy, *Penicillium*.

INTRODUCTION

It is estimated that there are between 2 and 3 million species of fungi on the planet; however, only about 155,000 species have been documented (Niskanen et al. 2023). One of the reasons for the limited knowledge about fungal diversity is related to the scarcity of studies in tropical regions habitats, where this diversity is still largely unexplored (Hawksworth & Lücking, 2017). However, it is known that the distribution of these organisms tends to be greater in the tropics than in temperate regions, as demonstrated in a study on the global diversity of fungi in the soil (Tedersoo et al. 2014). Thus, studies that consider little-explored habitats in tropical regions, such as caves, are essential to fill the gaps in the global inventory of fungal species.

*Fungi play an important role in the underground ecosystem, contributing to the bioweathering of rocks, decomposition of organic matter, transformation of nitrogen and phosphorus, degradation of recalcitrant compounds, and serving as food for cave fauna (Nováková et al. 2018; Joshi & Chettri, 2019; Wiseschart & Pootanakit, 2020). Historically, research on fungi in caves has focused on pathogenic species, such as *Histoplasma capsulatum*, which causes histoplasmosis in humans (Rocha-Silva et*

Wiseschart & Pootanakit, 2020). Historicamente, as pesquisas sobre fungos em cavernas eram concentradas em espécies patogênicas, como *Histoplasma capsulatum*, causador da histoplasmose em humanos (Rocha-Silva *et al.*, 2014), e *Pseudogymnoascus destructans*, causador da síndrome do nariz branco em morcegos (Sharma *et al.*, 2019). Contudo, estudos recentes têm buscado explorar a diversidade taxonômica de fungos nos ambientes subterrâneos, contribuindo para um maior entendimento da real biodiversidade fúngica nesses ecossistemas.

Vanderwolf *et al.*, (2013) forneceram uma lista com 1.029 espécies de fungos, divididas em 518 gêneros, documentadas em ambientes subterrâneos no mundo inteiro. Essa lista foi posteriormente atualizada para 1.626 espécies de fungos cavernícolas, classificadas em 644 gêneros, por Zhang *et al.*, (2021). No Brasil, o primeiro relato de fungos filamentosos em cavernas foi realizado por Castrillón *et al.*, (1976), no qual fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, além do fungo dermatófito *Arthroderma amazonicum*, foram isolados em cavernas da região amazônica. Outros trabalhos focaram em avaliar a qualidade do ar no interior de cavernas, com interesse em identificar espécies fúngicas patogênicas. Taylor *et al.*, (2013) identificaram uma elevada riqueza de espécies fúngicas, incluindo espécies do gênero *Aspergillus*, após o período mais intenso de visita da Gruta Lapa Nova, em Minas Gerais. Além disso, diversos trabalhos relataram a presença de *H. capsulatum* em cavernas brasileiras (Dias *et al.*, 2011; Rocha-Silva *et al.*, 2014; Almeida *et al.*, 2019).

Estudos taxonômicos recentes em cavernas localizadas no bioma da Caatinga revelaram a presença de uma elevada diversidade de fungos, incluindo novas espécies, nos ambientes subterrâneos

al. 2014), and *Pseudogymnoascus destructans*, which causes white-nose syndrome in bats (Sharma *et al.* 2019). However, recent studies have sought to explore the taxonomic diversity of fungi in underground environments, contributing to a greater understanding of the actual fungal biodiversity in these ecosystems.

Vanderwolf *et al.* (2013) provided a list of 1,029 fungal species, divided into 518 genera, documented in underground environments worldwide. This list was later updated to 1,626 species of cave fungi, classified into 644 genera, by Zhang *et al.* (2021). In Brazil, the first report of filamentous fungi in caves was made by Castrillón *et al.* (1976), in which fungi of the *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum* genera, in addition to the dermatophyte fungus *Arthroderma amazonicum*, were isolated in caves in the Amazon region. Other studies focused on assessing air quality inside caves, with an interest in identifying pathogenic fungal species. Taylor *et al.* (2013) identified a high diversity of fungal species, including species of the *Aspergillus* genus, after the most intense period of visitation to the Lapa Nova Cave in Minas Gerais. In addition, several studies have reported the presence of *H. capsulatum* in Brazilian caves (Dias *et al.* 2011; Rocha-Silva *et al.* 2014; Almeida *et al.* 2019).

Recent taxonomic studies in caves located in the Caatinga biome have revealed the presence of a high diversity of fungi, including new species in Brazilian underground environments (Cunha *et al.* 2020; Alves *et al.* 2022; Carvalho *et al.* 2022; Pereira *et al.* 2022). In the Meu Rei cave in Pernambuco, a high fungal diversity was recorded in air, guano, and bat samples (Cunha *et al.* 2020). In the Furna do Morcego cave in Alagoas, two new species of the *Cladosporium* genus were described (Pereira *et al.* 2022). Two new species of fungi of the Pleosporales order were also discovered in ectoparasitic bat

brasileiros (Cunha *et al.*, 2020; Alves *et al.*, 2022; Carvalho *et al.*, 2022; Pereira *et al.*, 2022). Na caverna Meu Rei, em Pernambuco, foi registrada uma grande diversidade fúngica em amostras de ar, guano e morcegos (Cunha *et al.*, 2020). Na caverna Furna do Morcego, em Alagoas, duas novas espécies do gênero *Cladosporium* foram descritas (Pereira *et al.*, 2022). Duas novas espécies de fungos da ordem *Pleosporales* também foram descobertas em moscas ectoparasitas de morcegos na mesma caverna (Carvalho *et al.*, 2022). Em um estudo sobre a riqueza de fungos presentes na caverna Abrigo Letreiro, em Pernambuco, foram encontradas 41 espécies pertencentes a 17 gêneros do filo *Ascomycota* e dois gêneros do filo *Basidiomycota*, a partir de amostras de ar e sedimento (Alves *et al.*, 2022). Além disso, Alves *et al.*, (2022) relataram a descoberta de um novo gênero e seis novas espécies de fungos nessa mesma caverna.

De acordo com o Anuário Estatístico do Patrimônio Espeleológico Brasileiro, o estado de Minas Gerais possui 12.911 cavernas cadastradas, o que corresponde a 49,57% do total de cavernas conhecidas no Brasil (Ministério do Meio Ambiente, 2025). Diante desse amplo patrimônio espeleológico, estudos recentes revelaram novas descobertas sobre fungos em cavernas da Serra do Espinhaço Meridional no estado de Minas Gerais. Um novo gênero e quatro novas espécies de fungos da família *Chaetomiaceae* foram descobertos em três cavernas localizadas nas cidades de Diamantina e Monjolos (Condé *et al.*, 2023). O novo gênero *Parahumicola* (nova espécie = *P. guana*) foi encontrado em guano de morcego na Gruta Monte Cristo. As novas espécies *Pseudohumicola alba* e *Ps. lutea* foram encontradas em amostras do ar da Gruta Velha Nova, enquanto *Chaetomium meridionalense* foi isolado de serrapilheira da Gruta da Extração e da Gruta Velha Nova (Condé *et al.*, 2023). Duas

flies in the same cave (Carvalho *et al.* 2022). In a study on the richness of fungi present in the Abrigo Letreiro cave in Pernambuco, 41 species belonging to 17 genera of the Ascomycota phylum and two genera of the Basidiomycota phylum were found from air and sediment samples (Alves *et al.* 2022). In addition, Alves *et al.* (2022) reported the discovery of a new genus and six new species of fungi in the same cave.

According to the Statistical Yearbook of Brazilian Speleological Heritage, the state of Minas Gerais has 12,911 registered caves, which corresponds to 49.57% of the total number of known caves in Brazil (Ministério do Meio Ambiente, 2025). Given this extensive speleological heritage, recent studies have revealed new discoveries about cave fungi in the Southern Espinhaço Range in the state of Minas Gerais. A new genus and four new species of fungi from the Chaetomiaceae family were discovered in three caves located in the cities of Diamantina and Monjolos (Condé *et al.* 2023). The new genus *Parahumicola* (new species = *P. guana*) was found in bat guano in the Monte Cristo Cave. The new species *Pseudohumicola alba* and *Ps. lutea* were found in air samples from Gruta Velha Nova, while *Chaetomium meridionalense* was isolated from leaf litter in Extração and Velha Nova caves (Condé *et al.* 2023). Two new species of the *Cladosporium* (*C. diamantinense* and *C. speluncae*) genus were described from air and soil samples in Monte Cristo Cave (Dutra *et al.* 2023). In addition, the new species *Amphichorda monjolensis* was isolated after exposing a culture medium in a Petri dish left in the cave atmosphere to collect fungal spores in suspension, which had been visited by a cave cricket that possibly carried the conidia of *A. monjolensis* (Leão *et al.* 2024).

Thus, considering the high diversity of fungi found in Brazilian caves, the objective of this study was to

novas espécies do gênero *Cladosporium* (*C. diamantinense* e *C. speluncae*) foram descritas a partir de amostras do ar e do solo na Gruta Monte Cristo (Dutra *et al.*, 2023). Além disso, a nova espécie *Amphichorda monjolensis* foi isolada após a exposição de meio de cultura em uma placa de Petri deixada na atmosfera da caverna para a coleta de esporos fúngicos em suspensão, e que fora visitada por um grilo de caverna que possivelmente veiculou os conídios de *A. monjolensis* (Leão *et al.*, 2024).

Assim, considerando a elevada diversidade de fungos que as cavernas brasileiras abrigam, o objetivo desse trabalho foi investigar a riqueza de fungos filamentosos cultiváveis em amostras coletadas em caverna e cavidades ferruginosas e em uma caverna quartizítica ferruginosa (sobreposta por itabirito – formação ferrífera) na região entre os municípios de Serro e Conceição do Mato Dentro, na Serra do Espinhaço Meridional, em Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado em uma caverna e cavidades ferruginosas e em uma caverna quartizítica ferruginosa, localizadas na Serra do Espinhaço Meridional, entre os municípios de Conceição do Mato Dentro e Serro (Figuras 1 e 2). Uma expedição de coleta foi realizada com a duração de cinco dias, entre os dias 25 de setembro e 1 de outubro, no ano de 2022, no qual foram visitadas as cavernas e cavidades listadas na Tabela 1. Na cidade de Alvorada de Minas, distrito de Itapanhoacanga, foi realizada uma coleta em cavidade ferruginosa (18°46'39.0"S 43°25'51.4"W). Já em Conceição do Mato Dentro, foram realizadas coletas na caverna Curral de Pedras (18°46'47.1"S 43°31'12.4"W),

investigate the richness of cultivable filamentous fungi in samples collected in ferruginous caves and in a ferruginous quartzite cave (overlaid by itabirite – ferruginous formation) in the region between the municipalities of Serro and Conceição do Mato Dentro, in the Southern Espinhaço Mountains, in Minas Gerais.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The study was conducted in ferruginous caves and in a ferruginous quartzite cave, located in the Southern Espinhaço Mountains, between the municipalities of Conceição do Mato Dentro and Serro (Figures 1 and 2). A five-day collection expedition was carried out between September 25 and October 1, 2022, during which the caves listed in Table 1 were visited. In the city of Alvorada de Minas, district of Itapanhoacanga, a collection was made in a ferruginous cave (18°46'39.0"S 43°25'51.4"W). In Conceição do Mato Dentro, collections were made in the Curral de Pedras cave (18°46'47.1"S 43°31'12.4"W) and in caves located in Serra da Ferrugem (18°59'54.2"S 43°23'58.6"W). The area of ferricrete canga is list-

e em caverna/cavidades localizadas na Serra da Ferrugem (18°59'54.2"S 43°23'58.6"W), área de canga ferruginosa tombada pelo patrimônio histórico-cultural do município e transformada em monumento natural visando a preservação de sua paisagem (Dias & Madeira Filho, 2020).

Coleta de amostras

Foram coletadas amostras de partículas em suspensão no ar, fezes de animais, raízes, rochas, sedimento e serrapilheira ao longo das cavernas/cavidades. Na caverna Curral de Pedras, a partir da entrada da caverna, cada ponto amostral foi localizado a 20 m de distância do ponto anterior. Nas demais caverna/cavidades, devido à falta de desenvolvimento horizontal das mesmas, foi realizada a coleta em apenas um ponto situado em seu interior.

Amostras de partículas de ar foram coletadas pelo método de sedimentação de Koch (Kuzmina *et al.*, 2012). Em cada ponto amostral, foram expostas à atmosfera da caverna/cavidade três placas de Petri, contendo os meios de cultivo: batata-dextrose ágar suplementado com cloranfenicol (2 mg/L) (BDA+), dicloran-rosa bengala-cloranfenicol ágar (DRBC) e dicloran glicerol ágar (DG18) por 15 min. Cerca de 10 g de sedimento foram coletados em uma profundidade de 1–5 cm após a remoção de 1 cm da camada superficial do solo em cada ponto amostral. As amostras de rochas foram coletadas a partir de esfregaços feitos com *swabs* estéreis em locais onde havia aparente colonização fúngica. Quando presente, amostras de raízes, serrapilheira e fezes foram coletadas no interior das cavernas. Todas as amostras foram acondicionadas a 4 °C em caixas térmicas e posteriormente transportadas para o laboratório onde foi realizado o isolamento dos fungos cavernícolas.

ed as a historical and cultural heritage site by the municipality and was transformed into a natural monument aiming to preserve its landscape (Dias & Madeira Filho, 2020).

Sample collection

Samples of airborne particles, animal dung, roots, rocks, sediment, and leaf litter were collected throughout the caves. In the Curral de Pedras cave, starting at the cave entrance, each sampling point was located 20 m away from the previous point. In the other caves, due to their lack of horizontal development, collection was carried out at only one point located inside them.

Air particle samples were collected using the Koch sedimentation method (Kuzmina et al. 2012). At each sampling point, three Petri dishes containing the following culture media were exposed to the cave atmosphere: potato dextrose agar supplemented with chloramphenicol (2 mg/L) (PDA+), dichloran-rose bengal-chloramphenicol agar (DRBC), and dichloran glycerol agar (DG18) for 15 min. Approximately 10 g of sediment was collected at a depth of 1–5 cm after removing 1 cm of the topsoil layer at each sampling point. Rock samples were collected from smears made with sterile swabs in places where there was apparent fungal colonization. When present, samples of roots, litter, and feces were collected inside the caves. All samples were stored at 4 °C in thermal boxes and subsequently transported to the laboratory where the cave fungi were isolated.

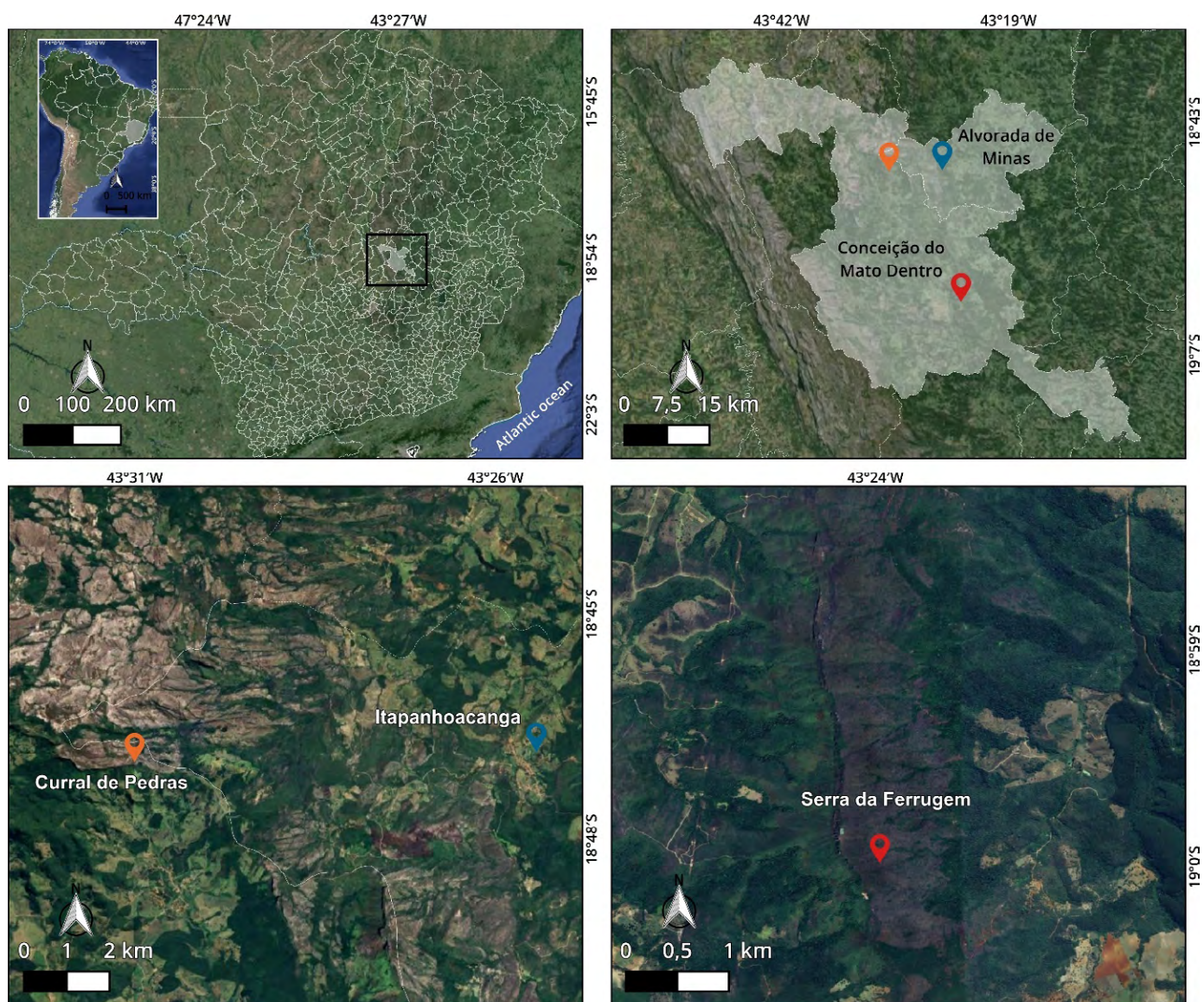


Figura 1 – Mapa de localização das cavernas amostradas. Fonte: Sistemas de Coordenadas Geográficas (SIRGAS 2000), IBGE, 2022.

Figure 1 – Location map of the sampled caves. Source: Geographic Coordinate Systems (SIRGAS 2000), IBGE, 2022.



Figura 2 – Cavernas e cavidades ferruginosas e caverna quartzítica ferruginosa amostradas na Serra do Espinhaço Meridional; a) Caverna Curral de Pedras; b) Placas de Petri com meio de cultivo expostas à atmosfera da Caverna Curral de Pedras; c–d) Colonização fúngica aparente na parede da cavidade ferruginosa amostrada em Itapanhoacanga; e) Paisagem formada por canga na Serra da Ferrugem; f–j) Cavidades amostradas na Serra da Ferrugem.

Figure 2 – Ferruginous caves and ferruginous quartzite cave sampled in the Southern Espinhaço Mountain Range; a) Curral de Pedras Cave; b) Petri dishes with culture medium exposed to the atmosphere of the Curral de Pedras Cave; c–d) Apparent fungal colonization on the wall of the ferruginous cave sampled in Itapanhoacanga; e) Landscape formed by canga in the Serra da Ferrugem; f–j) Caves sampled in the Serra da Ferrugem.

Tabela 1 – Descrição das cavernas e cavidades onde ocorreram as coletas. (Ar – ar; SE – serrapilheira; RO – rocha; SO – solo; FE – fezes, RA – raiz).

Identificação das cavernas	Localidade	Descrição da caverna	Quantidade de amostras
Caverna de Itapanhoacanga	Distrito de Itapanhoacanga, município de Alvorada de Minas	Cavidade em cobertura laterítica sob rochas ferruginosas, caracterizada por abatimentos de bloco com desenvolvimento de até 2,5 m. Localizada na encosta lateral da drenagem circundada por mata ciliar. Não se observou a presença de animais no local.	3 AR 1 SE 6 RO 1 SO

Identificação das cavernas	Localidade	Descrição da caverna	Quantidade de amostras
Caverna Curral de Pedras	Distrito de Santo Antônio do Norte, município de Conceição do Mato Dentro	A caverna ocorre em rocha quartzítica, sobreposta por rochas ferruginosas (itabiritos), se desenvolveu acompanhando o eixo de um dobramento e parte em direção ao contato/ foliação principal das litologias. O conduto principal tem 70 m de desenvolvimento e o conduto lateral possui 60 m de extensão. É uma caverna de importância histórica utilizada por tropeiros para acampamento na Estrada Real. É um local turístico e apresenta bastante antropização e presença de animais domesticados.	27 AR 3 SE 5 RO 7 SO 3 FE
CSF 0804		Cavidade com 1,80 m de desenvolvimento, localizada na encosta vertente da Serra da Ferrugem, em brechas ferruginosas, sobrepostas ao itabirito (coberturas cenozóicas). A vegetação principal é o campo rupestre de altitude, a presença de serrapilheira é extensa, bem com muitos insetos (abelhas, vespas e marimbondos) no entorno e dentro da cavidade. Não foram observados morcegos no momento da coleta.	3 AR 1 SE 2 RO 1 SO
CMN 16	Serra da Ferrugem, município de Conceição do Mato Dentro	Caverna em brecha ferruginosa e laterita desenvolvimento de até 10 m, porém o acesso é limitado após os primeiros 5 m do conduto. Observa-se grande quantidade de blocos abatidos e formas de precipitação química no teto (espeleotemas). Presença de morcegos, aranhas e insetos como abelhas e marimbondos dentro da caverna.	12 AR 1 SE 2 RO 1 SO 2 RA
CFS 0600		Cavidade com desenvolvimento de até 2 m de profundidade, pouca vegetação ao redor e presença de muitas aranhas. Situação geológica similar a anterior (brecha ferruginosa e abatimento de blocos).	3 AR 1 SE 2 RO 1 RA
CFS 0386		Cavidade com desenvolvimento de até 2,5 m. Mesma situação geológica das outras, brechas ferruginosas e abatimento de blocos, vegetação agressiva e abundante (bromélias, cactus, arbusto muitos espinhosos, "unha de gato", etc).	1 SE
CFS 0388		Cavidade em laterita ferruginosa com desenvolvimento de até 2,5 m no conduto principal, caracterizada pelo abatimento de blocos presença de vegetação expressiva.	1 SE 1 SO

Table 1 – Description of the caves where the collections took place. (AP – airborne particles; LL – leaf litter; RO – rock; SO – soil; AD – animal dung, RT – root).

Caves identification	Location	Cave description	Number of samples
Itaponhacanga cave	Itaponhacanga District, municipality of Alvorada de Minas	Cave in lateritic cover under ferruginous rocks, characterized by block collapses with development of up to 2.5 m. Located on the side slope of the drainage surrounded by gallery forest. No animals were observed at the site.	3 AP 1 LL 6 RO 1 SO
Curral de Pedras cave	District of Santo Antônio do Norte, municipality of Conceição do Mato Dentro	The cave occurs in quartzite rock, overlaid by ferruginous rocks (itabirites), and developed along the axis of a fold, extending toward the main contact/ foliation of the lithologies. The main conduit is 70 m long and the side conduit is 60 m long. It is a cave of historical importance used by tropeiros (muleteers) for camping on the Estrada Real (Royal Road). It is a tourist site and shows considerable anthropization and the presence of domesticated animals.	27 AP 3 LL 5 RO 7 SO 3 AD
CSF 0804		A 1.80 m long cave located on the slope of Serra da Ferrugem, in ferruginous breccias, superimposed on itabirito (Cenozoic coverings). The main vegetation is high-altitude rocky terrain, with extensive leaf litter and many insects (bees, wasps, and hornets) in the surrounding area and inside the cave. No bats were observed at the time of collection.	3 AP 1 LL 2 RO 1 SO
CMN 16	Serra da Ferrugem, municipality of Conceição do Mato Dentro	Cave in ferruginous breccia and laterite up to 10 m long, but access is limited after the first 5 m of the conduit. There are a large number of fallen blocks and chemical precipitation formations on the ceiling (speleothems). Bats, spiders, and insects such as bees and hornets were present inside the cave.	12 AP 1 LL 2 RO 1 SO 2 RT
CFS 0600		Cave of up to 2 m long, little vegetation around it, and many spiders. Geological situation similar to the previous one (ferruginous breccia and fallen blocks).	3 AP 1 LL 2 RO 1 RT
CFS 0386		Cave of up to 2.5 m long. Same geological conditions as the others, ferruginous breccias and fallen blocks, aggressive and abundant vegetation (bromeliads, cacti, very thorny shrubs, “unha de gato”, etc).	1 LL
CFS 0388		Cave in ferruginous laterite up to 2.5 m long in the main passage, characterized by the fallen blocks and the presence of significant vegetation.	1 LL 1 SO

Isolamento de fungos de cavernas ferruginosas

Os fungos presentes nas amostras de fezes, sedimentos e rochas foram isolados por meio do método de diluição seriada em placa (Zhang *et al.*, 2017). Resumidamente, 1 g de cada amostra foi diluído em 9 mL de água esterilizada em tubos de ensaio estéreis. As diluições subsequentes foram preparadas pipetando-se 1 mL da suspensão da diluição de maior concentração para tubos contendo 9 mL de água destilada estéril. As suspensões obtidas foram homogeneizadas em um agitador vórtex e diluídas em diferentes concentrações (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5}). Cem microlitros de cada diluição foram plaqueados através do método de espalhamento em superfície em placas de Petri contendo os meios de cultura BDA⁺, DRBC e DG18, em duplicata.

Os fungos presentes no interior das raízes (endofíticos) foram isolados por meio do método de diluição por extinção (Collado *et al.*, 2007; Leite *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2024). Amostras de raízes foram lavadas em água corrente, submergidas em 300 mL de álcool 70% e Tween 80 por 1 min, seguidas de imersão em 300 mL de hipoclorito de sódio (2,5%) por 5 min e, por fim, em 300 mL de NaCl (0,85%) por 2 min. Após a desinfestação superficial, as amostras foram fragmentadas em liquidificador com solução de NaCl (0,85%) por 1 min. As partículas resultantes foram filtradas em uma série de peneiras com tamanho de malha de 500, 212 e 106 μm . As partículas de raízes retidas nas peneiras de malha de 212 e 106 μm foram ressuspensas e transferidas para um tubo Falcon contendo 20 mL de solução de NaCl (0,85%), sendo centrifugadas 7000 $\times$ g por 5 min. O sobrenadante foi descartado, e 20 mL de carboximetilcelulose (CMC 0,1%) foram adicionados aos tubos do tipo Falcon, que foram novamente centrifugados a 7000 $\times$ g por 15 min. Após o descarte do sobrenadante, foram adiciona-

Isolation of fungi from ferruginous caves

The fungi present in the animal dung, sediment, and rock samples were isolated using the serial dilution plate method (Zhang et al. 2017). Briefly, 1 g of each sample was diluted in 9 mL of sterile water in sterile test tubes. Subsequent dilutions were prepared by pipetting 1 mL of the highest concentration dilution suspension into tubes containing 9 mL of sterile distilled water. The suspensions obtained were homogenized in a vortex mixer and diluted to different concentrations (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , and 10^{-5}). One hundred microliters of each dilution were plated using the surface spreading method in Petri dishes containing PDA⁺, DRBC, and DG18 culture media, in duplicate.

The fungi present inside the roots (endophytic) were isolated using the dilution by extinction method (Collado et al. 2007; Leite et al. 2013; Oliveira et al. 2024). Root samples were washed in running water, submerged in 300 mL of 70% alcohol and Tween 80 for 1 min, followed by immersion in 300 mL of sodium hypochlorite (2.5%) for 5 min and, finally, in 300 mL of NaCl (0.85%) for 2 min. After surface disinfection, the samples were fragmented in a blender with NaCl solution (0.85%) for 1 min. The resulting particles were filtered through a series of sieves with mesh sizes of 500, 212, and 106 μm . The root particles retained in the 212 and 106 μm mesh sieves were resuspended and transferred to a Falcon tube containing 20 mL of NaCl solution (0.85%) and centrifuged at 7000 $\times$ g for 5 min. The supernatant was discarded, and 20 mL of carboxymethylcellulose (CMC 0.1%) was added to the Falcon tubes, which were again centrifuged at 7000 $\times$ g for 15 min. After discarding the supernatant, 20 mL of CMC solution (0.1%) was added. Different dilutions were prepared (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, and 1:32), and 150 μL of the suspensions were plated in YMC culture medium.

dos 20 mL da solução de CMC (0,1%). Diferentes diluições foram preparadas (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 e 1:32) e 150 µL das suspensões foram plaqueadas em meio de cultivo YMC.

As amostras de serrapilheira foram acondicionadas em sacos de papel Kraft, segundo Leão-Ferreira *et al.*, (2013). No laboratório, as amostras foram submetidas à técnica de lavagem em água corrente, de acordo com Castañeda-Ruiz *et al.*, (2005). Após secagem, as amostras foram incubadas em câmaras-úmidas compostas por caixas de poliestireno contendo papel filtro umedecido com água esterilizada. As amostras foram observadas periodicamente sob microscópio estereoscópico por um período de 30 dias, e estruturas fúngicas reprodutivas foram transferidas para meio de cultura contendo BDA⁺.

Todas as placas foram incubadas a 25 °C por aproximadamente 30 dias. Periodicamente, colônias isoladas foram retiradas e repicadas em novas placas de BDA sem antibiótico. Culturas puras foram obtidas pelo método de ponta de hifa (Tuite, 1969), sendo preservadas em microtubos de 2 mL contendo glicerol a 10% e armazenadas a -20 °C, e em microtubos contendo água destilada esteril, mantidas à temperatura ambiente. Todos os isolados foram armazenados na coleção de fungos cavernícolas do laboratório.

Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

O DNA genômico dos isolados fúngicos obtidos foi extraído a partir do micélio crescido em placas de BDA por aproximadamente 7 dias a 25 °C no escuro, utilizando o kit comercial Wizard® Genomic Purification Kit (Promega) e seguindo o protocolo de Pinho *et al.*, (2013). Para identificar os isolados, a região ITS (*internal transcribed spa-*

The leaf litter samples were stored in Kraft paper bags, according to Leão-Ferreira et al. (2013). In the laboratory, the samples were washed in running water, according to Castañeda-Ruiz et al. (2005). After drying, the samples were incubated in humid chambers composed of polystyrene boxes containing filter paper moistened with sterile water. The samples were observed periodically under a stereoscopic microscope for a period of 30 days, and reproductive fungal structures were transferred to a culture medium containing PDA⁺.

All plates were incubated at 25 °C for approximately 30 days. Periodically, isolated colonies were removed and transferred to new PDA plates without antibiotics. Pure cultures were obtained using the hyphal tip method (Tuite, 1969) and preserved in 2 mL microtubes containing 10% glycerol and stored at -20 °C, and in microtubes containing sterile distilled water, kept at room temperature. All isolates were stored in the laboratory's collection of cavernicolous fungi.

DNA extraction, amplification, and sequencing

The genomic DNA of the fungal isolates obtained was extracted from mycelium grown on PDA plates for approximately 7 days at 25 °C in the dark, using the commercial Wizard® Genomic Purification Kit (Promega) and following the protocol of Pinho et al. (2013). To identify the isolates, the ITS region (internal transcribed spacers 1 and 2), in addition

cers 1 e 2), além do gene que codifica a subunidade de 5.8S do rDNA, foram amplificados através dos primers ITS1 (White *et al.*, 1990) e LR6 (Vilgalys & Hester, 1990). As condições de amplificação dos fragmentos de DNA foram: desnaturação inicial do DNA a 94 °C por 120 s, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 49 °C por 30 s, extensão a 72 °C por 120 s, seguidos de uma extensão final a 72 °C por 5 min.

Os resultados da PCR foram visualizados através de eletroforese com gel de agarose 1%. A verificação do tamanho das bandas de DNA e pureza foi realizada em luz ultravioleta. Os produtos de PCR foram enviados para purificação e sequenciamento para a empresa Macrogen Inc., Coreia do Sul (<http://www.macrogen.com>).

Identificação dos isolados por meio da região ITS e análises ecológicas

As sequências de DNA obtidas foram visualizadas e ajustadas, quando necessário, utilizando o software FinchTV v.1.4.0. A identificação dos isolados através de sequências da região ITS foi realizada utilizando a ferramenta *megablast* dentro da plataforma BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). As buscas dentro da plataforma BLAST foram restritas às sequências de material tipo (sequências curadas). A identificação dos isolados foi realizada aos níveis taxonômicos de gênero, família, ordem, classe e filo. Isolados foram identificados ao nível de gênero somente quando o seu valor de identidade fosse igual ou superior a 95 % a outro gênero já existente no banco de dados. Isolados que apresentaram valor de identidade inferior a 95 % foram identificados apenas ao nível de família/ordem.

A partir dos dados de identificação dos isolados por ITS, gráficos de abundância relativa de classes

to the gene encoding the 5.8S subunit of rDNA, were amplified using the ITS1 (White et al. 1990) and LR6 (Vilgalys & Hester, 1990) primers. The conditions for amplifying the DNA fragments were initial denaturation of the DNA at 94 °C for 120 s, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 49 °C for 30 s, extension at 72 °C for 120 s, followed by a final extension at 72 °C for 5 min.

The PCR results were visualized using 1% agarose gel electrophoresis. The size of the DNA bands and purity were verified under ultraviolet light. The PCR products were sent for purification and sequencing to Macrogen Inc. South Korea (<http://www.macrogen.com>).

Identification of isolates using the ITS region and ecological analyses

The DNA sequences obtained were visualized and adjusted, when necessary, using FinchTV v.1.4.0 software. The identification of isolates using ITS region sequences was performed using the megablast tool within the BLAST platform (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Searches within the BLAST platform were restricted to type material sequences (curated sequences). Isolates were identified at the taxonomic levels of genus, family, order, class, and phylum. Isolates were identified at the genus level only when their identity value was equal to or greater than 95% to another genus already existing in the database. Isolates with an identity value of less than 95% were identified only at the family/order level.

Based on the identification data of the isolates by ITS, graphs of relative abundance of fungi classes and genera found in different locations were generated using GraphPad Prism v.7 software. The genera shared by the caves and substrates of the different

e gêneros de fungos encontrados nas diferentes localidades foram gerados através do software GraphPad Prism v.7. Os gêneros compartilhados pelas cavernas e substratos das diferentes localidades foram representados através de um diagrama de Venn usando a ferramenta Venny 2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>).

Análises macro e micromorfológicas

Isolados de fungos cavernícolas representativos foram selecionados e preparações microscópicas contendo estruturas reprodutivas dos fungos foram confeccionadas entre lâmina e lamínula, utilizando lactoglicerol como meio de montagem. Fotomicrografias foram obtidas com o microscópio Olympus BX53 equipado com a câmera digital Olympus Q-Color5™. Estruturas morfológicas relevantes tais como conídios, conidióforos, células conidiogênicas e outras estruturas de reprodução assexuada, foram examinadas com o auxílio do software Olympus cellSens Dimension 1.9. Além disso, colônias representativas da diversidade macromorfológica foram selecionadas e fotografadas utilizando uma câmera Nikon D3400.

RESULTADOS

Isolados obtidos

No total, foram obtidos 887 isolados de fungos provenientes das cavernas e cavidades ferruginosas da Serra do Espinhaço Meridional, em Minas Gerais. Desse total, 105 isolados foram obtidos na cavidade ferruginosa do distrito de Itapanhoacanga, 421 isolados da caverna Curral de Pedras e 361 isolados provenientes da caverna e cavidades localizadas na Serra da Ferrugem. Ao todo, foram obtidos 274 isolados do solo, 258 do ar, 128 da

locations were represented using a Venn diagram created with the Venny 2.1 tool (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>).

Macro and micromorphological analyses

Isolates of representative cavernous fungi were selected and microscopic preparations containing reproductive structures of the fungi were made between a slide and coverslip, using lactoglycerol as a mounting medium. Photomicrographs were obtained with an Olympus BX53 microscope equipped with an Olympus Q-Color5™ digital camera. Relevant morphological structures such as conidia, conidiophores, conidiogenic cells, and other asexual reproductive structures were examined using Olympus cellSens Dimension 1.9 software. In addition, colonies representative of macromorphological diversity were selected and photographed using a Nikon D3400 camera.

RESULTS

Isolates obtained

A total of 887 fungal isolates were obtained from caves in the Southern Espinhaço Mountains, in Minas Gerais. Of those isolates, 105 were obtained from the ferruginous cave in the district of Itapanhoacanga, 421 isolates from the Curral de Pedras cave, and 361 isolates from the caves located in the Serra da Ferrugem. In total, 274 isolates were obtained from the soil, 258 from the airborne particles, 128 from leaf litter, 106 from animal dung, 70 from rocks, and

serrapilheira, 106 de fezes, 70 de rochas e 51 de raízes. Na cavidade em Itapanhoacanga foram recuperados 46 isolados do solo, 42 de rochas, 10 do ar e 7 de serrapilheira. Na caverna Curra de Pedras foram obtidos 147 isolados do ar, 122 do solo, 106 de fezes, 36 de serrapilheira e 10 de rochas. Nas cavidades e caverna ferruginosas localizadas na Serra da Ferrugem foram obtidos 106 isolados de fungos no solo, 101 no ar, 85 da serrapilheira, 51 de raízes e 18 de rochas.

Identificação dos isolados por sequenciamento da região ITS

O filo *Ascomycota* foi o mais predominante entre os filos encontrados representando 93% (824 isolados) do total de isolados, seguido de *Mucoromycota* 5% (41 isolados), *Basidiomycota* 2% (17 isolados) e *Zoopagomycota* 1% (5 isolados). No filo *Ascomycota* as classes presentes foram *Eurotiomycetes* 40% (355 isolados), *Sordariomycetes* 27,2% (241 isolados), *Dothideomycetes* 22,4% (199 isolados), *Leotiomycetes* 2,4% (21 isolados), *Saccharomycetes* 0,7% (6 isolados) e 0,2% (2 isolados) não puderam ser identificados em nenhuma classe (*incertae sedis*) (Figura 3a). Em *Mucoromycota* as classes encontradas foram *Mucoromycetes* 2,9% (26 isolados), *Umbelopsidomycetes* 1,4% (12 isolados) e *Mortierellomycetes* 0,3% (3 isolados) (Figura 2a). Já em *Basidiomycota* foram encontradas as classes *Agaricomycetes* 1,1% (10 isolados), *Tremellomycetes* 0,7% (6 isolados) e *Exobasidiomycetes* 0,1% (1 isolados). Dentro do filo *Zoopagomycota* foram identificadas duas classes, *Basidiobolomycetes* 0,3% (3 isolados) e *Kickxellomycetes* 0,2% (2 isolados) (Figura 3a).

51 from roots. In the cave in Itapanhoacanga, 46 isolates were recovered from the soil, 42 from rocks, 10 from the airborne particles, and 7 from leaf litter. In the Curral de Pedras cave, 147 isolates were obtained from the airborne particles, 122 from the soil, 106 from animal dung, 36 from leaf litter, and 10 from rocks. In the ferruginous caves located in Serra da Ferrugem, 106 isolates were obtained from the soil, 101 from the airborne particles, 85 from leaf litter, 51 from roots, and 18 from rocks.

Identification of isolates by ITS region sequencing

The *Ascomycota* phylum was the most predominant among the found phyla, representing 93% (824 isolates) of the total isolates, followed by *Mucoromycota* 5% (41 isolates), *Basidiomycota* 2% (17 isolates), and *Zoopagomycota* 1% (5 isolates). In the *Ascomycota* phylum, the present classes were *Eurotiomycetes* 40% (355 isolates), *Sordariomycetes* 27.2% (241 isolates), *Dothideomycetes* 22.4% (199 isolates), *Leotiomycetes* 2.4% (21 isolates), *Saccharomycetes* 0.7% (6 isolates), and 0.2% (2 isolates) could not be identified in any class (*incertae sedis*) (Figure 3a). In *Mucoromycota*, the classes found were *Mucoromycetes* 2.9% (26 isolates), *Umbelopsidomycetes* 1.4% (12 isolates), and *Mortierellomycetes* 0.3% (3 isolates) (Figure 2a). In *Basidiomycota*, the classes *Agaricomycetes* 1.1% (10 isolates), *Tremellomycetes* 0.7% (6 isolates), and *Exobasidiomycetes* 0.1% (1 isolate) were found. Within the *Zoopagomycota* phylum, two classes were identified: *Basidiobolomycetes* 0.3% (3 isolates) and *Kickxellomycetes* 0.2% (2 isolates) (Figure 3a).

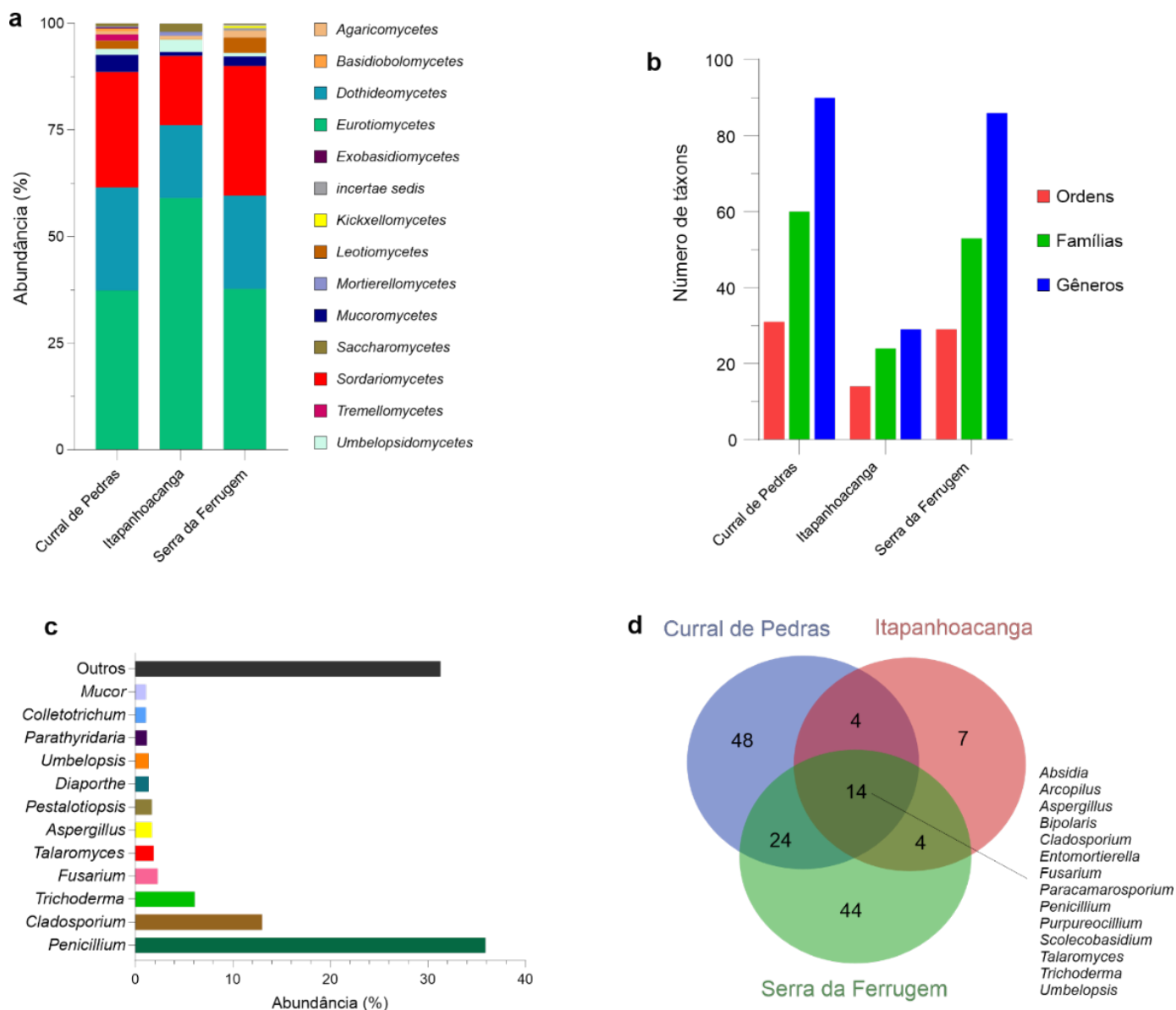


Figura 3 – Representação gráfica da riqueza de fungos de cavernas e cavidades ferruginosas da Serra do Espinhaço Meridional; a) Abundância relativa de classes de fungos encontradas; b) Número de ordens, famílias e gêneros fúngicos encontrados; c) Abundância relativa dos gêneros fúngicos mais encontrados; d) Diagrama de Venn mostrando o número de gêneros encontrados e cada localidade e aqueles compartilhados entre elas.

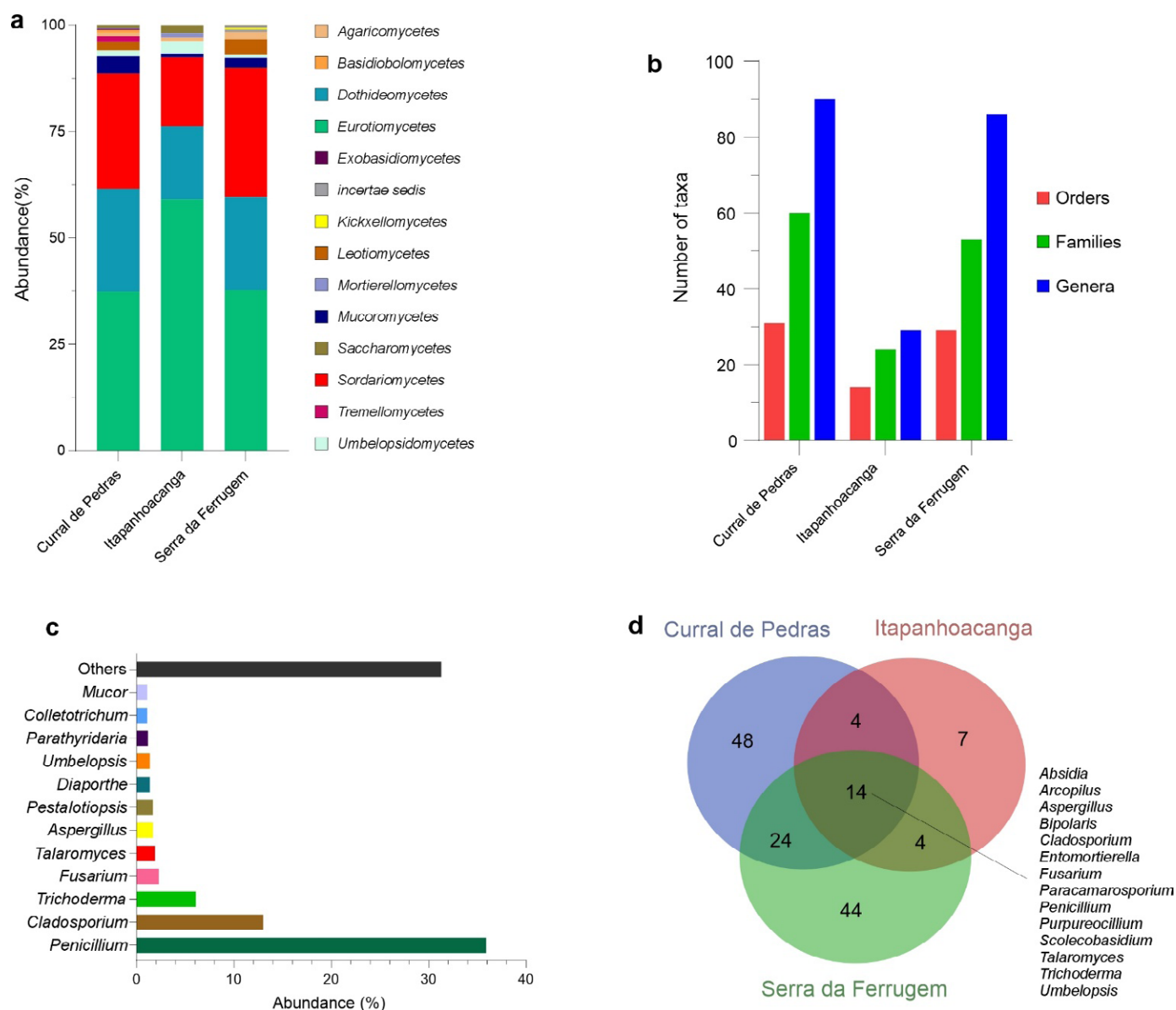


Figure 3 – Graphical representation of the fungal richness in the Southern Espinhaço Mountain Range caves; a) Relative abundance of fungal classes found; b) Number of fungal orders, families, and genera found; c) Relative abundance of the most frequently found fungal genera; d) Venn diagram showing the number of genera found in each location and those shared between them.

Na caverna Curral de Pedras, os 421 isolados foram divididos em 31 ordens, 60 famílias e 90 gêneros (Figura 3b). Na cavidade em Itapanhoacanga os 105 isolados pertencem a 14 ordens, 24 famílias e 29 gêneros (Figura 3b). Por fim, na Serra da Ferrugem, os 361 isolados foram divididos em 29 ordens, 53 famílias e 86 gêneros (Figura 3b). No total, foram encontrados 145 gêneros diferentes sendo os mais abundantes: *Penicillium* 35,9% (318 isolados), *Cladosporium* 13% (115 isolados), *Trichoderma* 6,1% (54 isolados), *Fusarium* 2,3% (20 isolados), *Talaromyces* 1,9% (17 isolados), *Aspergillus* 1,7% (15 isolados), *Pestalotiopsis* 1,7% (15 isolados), *Diaporthe* 1,4% (12 isolados), *Umbelopsis* 1,4% (12 isolados), *Parathyridaria* 1,2% (11 isolados), *Colletotrichum* 1,1% (10 isolados) e *Mucor* 1,1% (10 isolados) (Figura 2c). Outros gêneros encontrados (133 gêneros) correspondem a 31,3% (278 isolados) da abundância total (Figura 3c). Os gêneros *Absidia*, *Arcopilus*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Entomortierella*, *Fusarium*, *Paracamarosporium*, *Penicillium*, *Purpureocillium*, *Scolecobasidium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* e *Umbelopsis* foram isolados nas três localidades amostradas (Figura 2d). Entretanto, somente *Cladosporium* e *Penicillium* foram os gêneros presentes em todos os substratos analisados nas três localidades (Figura 4).

In the Curral de Pedras cave, the 421 isolates were divided into 31 orders, 60 families, and 90 genera (Figure 3b). In the cave in Itapanhoacanga, the 105 isolates belong to 14 orders, 24 families, and 29 genera (Figure 3b). Finally, in Serra da Ferrugem, the 361 isolates were divided into 29 orders, 53 families, and 86 genera (Figure 3b). In total, 145 different genera were found, the most abundant being: Penicillium 35.9% (318 isolates), Cladosporium 13% (115 isolates), Trichoderma 6.1% (54 isolates), Fusarium 2.3% (20 isolates), Talaromyces 1.9% (17 isolates), Aspergillus 1.7% (15 isolates), Pestalotiopsis 1.7% (15 isolates), Diaporthe 1.4% (12 isolates), Umbelopsis 1.4% (12 isolates), Parathyridaria 1.2% (11 isolates), Colletotrichum 1.1% (10 isolates), and Mucor 1.1% (10 isolates) (Figure 2c). Other genera found (133 genera) correspond to 31.3% (278 isolates) of the total abundance (Figure 3c). The Absidia, Arcopilus, Aspergillus, Bipolaris, Cladosporium, Entomortierella, Fusarium, Paracamarosporium, Penicillium, Purpureocillium, Scolecobasidium, Talaromyces, Trichoderma, and Umbelopsis genera were isolated in the three sampled locations (Figure 2d). However, only Cladosporium and Penicillium were the genera present in all substrates analyzed at the three locations (Figure 4).

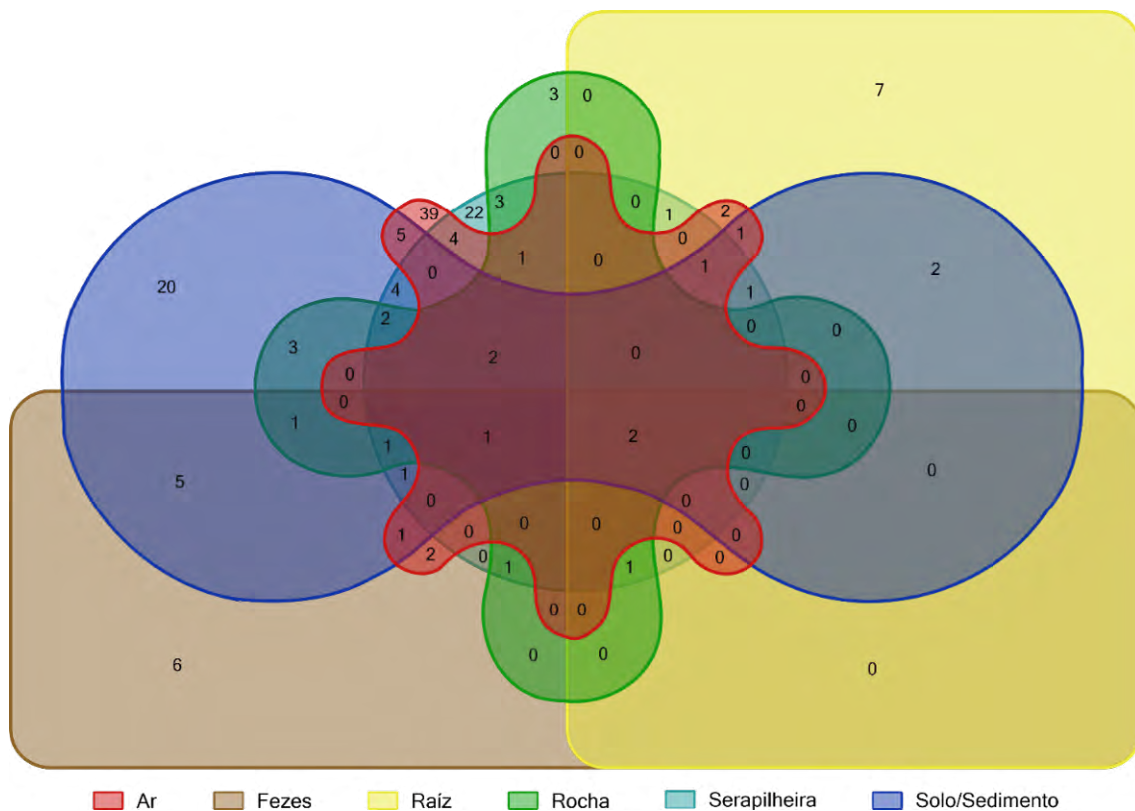


Figura 4 – Diagrama de Venn ilustrando os gêneros compartilhados e exclusivos entre os substratos analisados em todas as localidades.

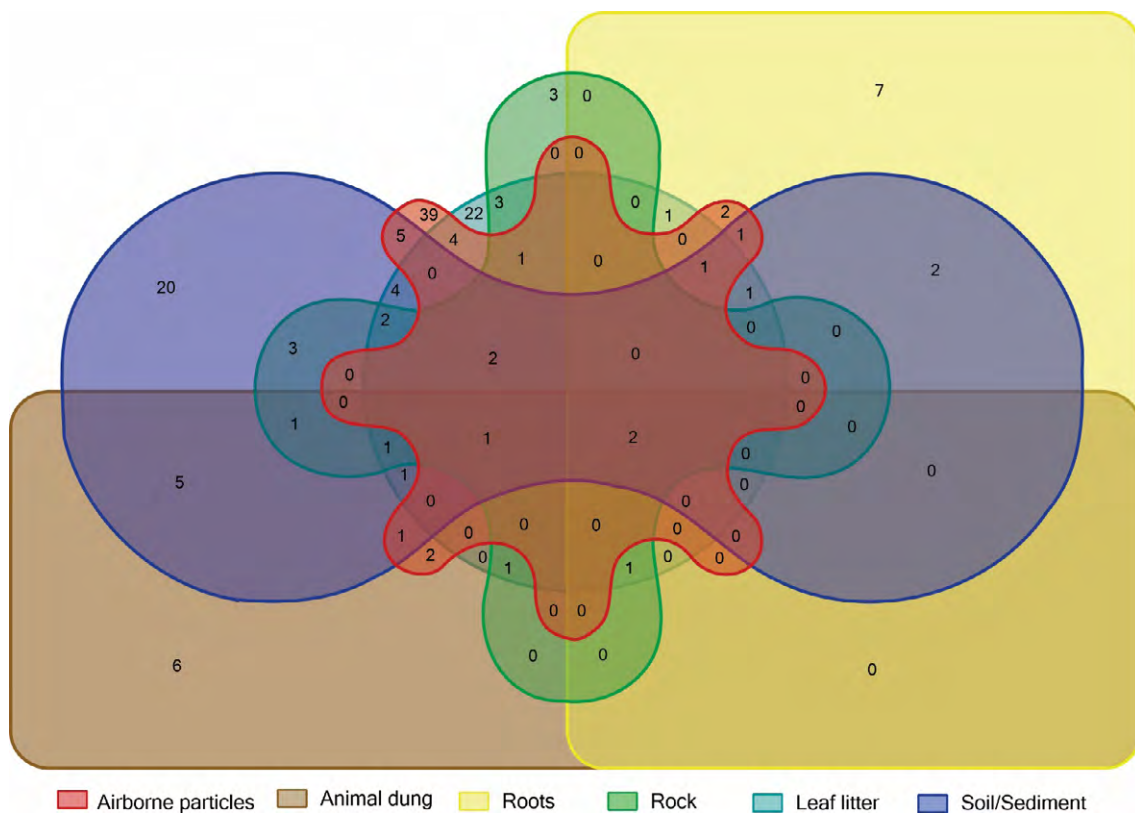


Figure 4 – Venn diagram illustrating the shared and exclusive genera among the analyzed substrates in all locations.

Análises macro e microscópicas

Análises das estruturas macro e microscópicas foram realizadas de isolados representativos de diferentes gêneros (Figura 5 e 6). Esses isolados serão descritos futuramente como novos gêneros e/ou novas espécies em revistas especializadas da área de Micologia. Dentre eles, estão novas espécies nos gêneros *Chloridium*, *Coemansia*, *Cylindromonium*, *Metapochonia* e *Sesquicillium*, além de novos gêneros nas famílias *Clavicipitaceae* e *Cordycipitaceae* e novos relatos para os gêneros *Acremonium*, *Bipolaris*, *Nigrospora* e *Purpureocillium* (Figura 6).

Macroscopic and microscopic analyses

Macroscopic and microscopic analyses were performed on isolates representative of different genera (Figures 5 and 6). These isolates will be described in the future as new genera and/or new species in specialized journals in the field of mycology. Among them are new species in the Chloridium, Coemansia, Cylindromonium, Metapochonia, and Sesquicillium genera, as well as new genera in the Clavicipitaceae and Cordycipitaceae families and new reports for the Acremonium, Bipolaris, Nigrospora, and Purpureocillium genera (Figure 6).

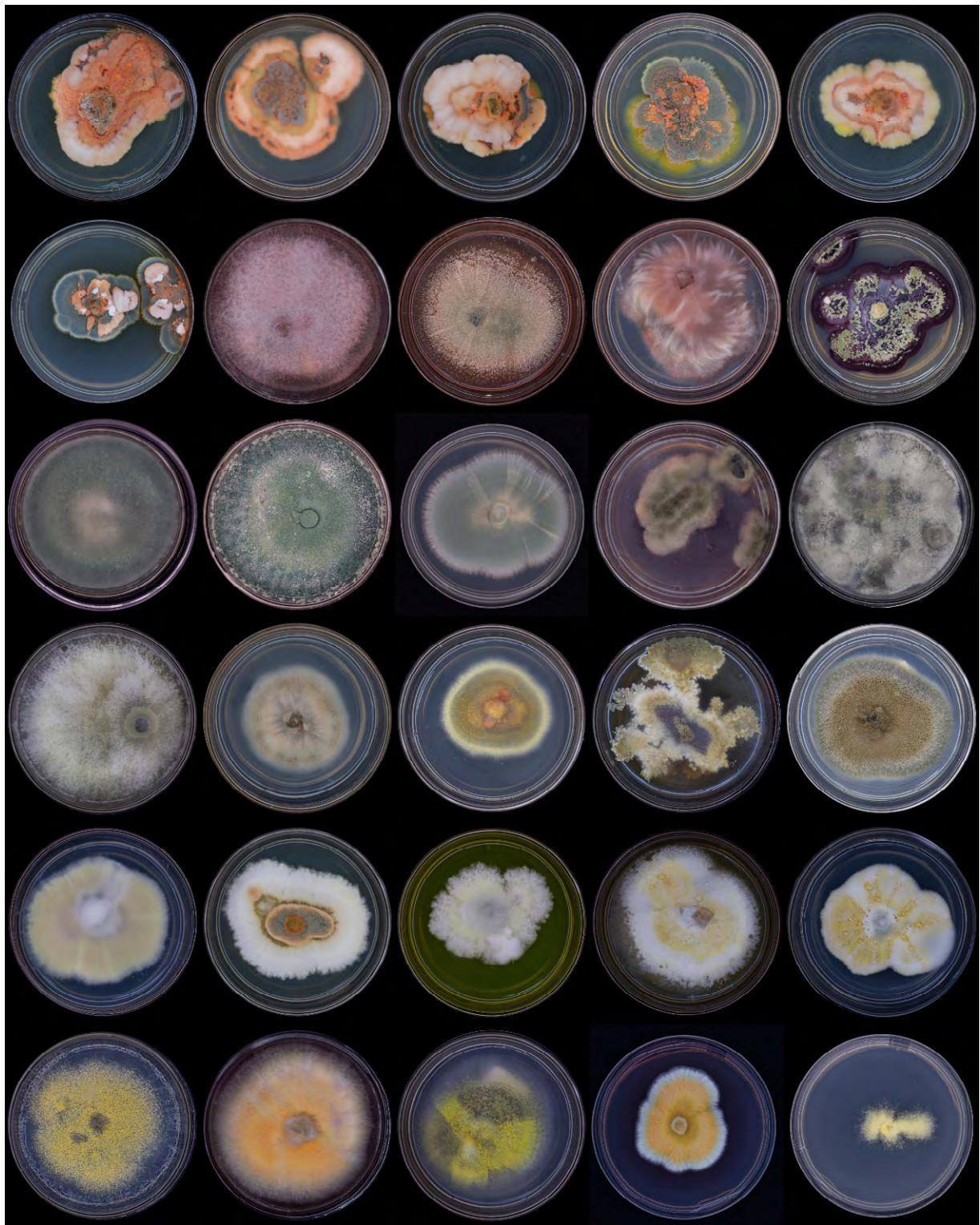


Figura 5 – Morfologia das colônias de representantes dos fungos filamentosos de cavernas e cavidades ferruginosas da Serra do Espinhaço Meridional. Colônias da esquerda para direita, de cima para baixo: *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Trichoderma*, *Stilbella*, *Parathyridaria*, *Cladosporium*, *Diaporthe*, *Arthrobotryum*, *Talaromyces*, *Cytospora*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Arcopilus*, *Talaromyces*, *Arcopilus* e *Coemansia*.

Figure 5 – Morphology of colonies representing filamentous fungi from ferruginous caves in the Southern Espinhaço Range. Colonies from left to right, top to bottom: *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Trichoderma*, *Stilbella*, *Parathyridaria*, *Cladosporium*, *Diaporthe*, *Arthrobotryum*, *Talaromyces*, *Cytospora*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Arcopilus*, *Talaromyces*, *Arcopilus*, and *Coemansia*.

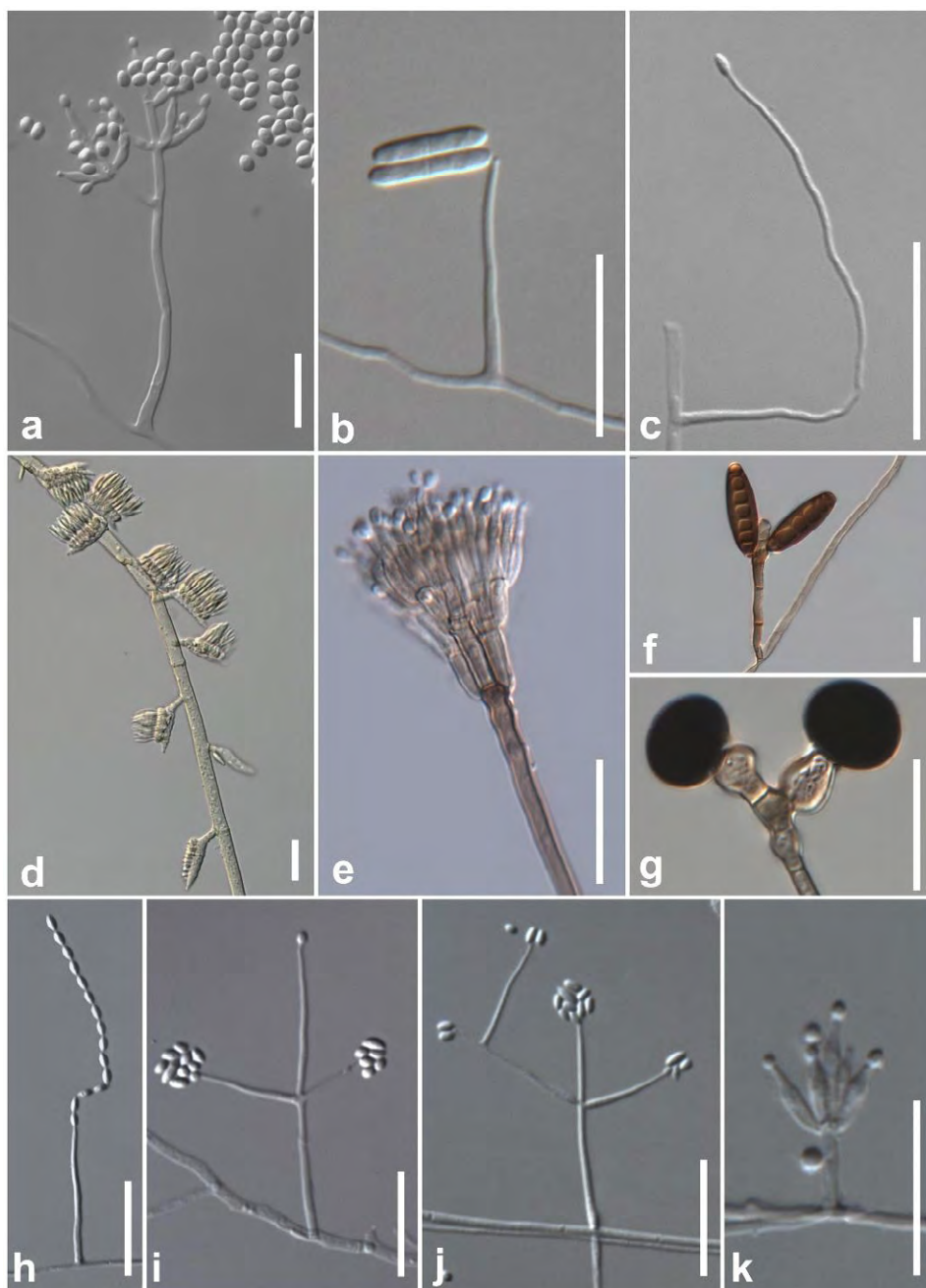


Figura 6 – Estruturas microscópicas de representantes dos fungos filamentosos isolados de cavernas e cavidades ferruginosas da Serra do Espinhaço Meridional. a) Conidióforo e conídios de *Sesquicillium* sp.; b) Conidióforo e conídios de *Cylindromonium* sp.; c) Conidióforo e conídio de um isolado da família *Clavicipitaceae*; d) Esporangióforo de *Coemansia* sp. com esporocládios, pseudofialídes e esporangiósporos; e) Conidióforo e conídios de *Chloridium* sp.; f) Conidióforo e conídios de *Bipolaris* sp.; g) Conidióforo e conídios de *Nigrospora* sp.; h) Conidióforo e conídios em cadeia de *Acremonium* sp.; i) Conidióforo e conídios de *Metapochonia* sp.; j) Conidióforo e conídios de isolado da família *Cordycipitaceae*; k) Conidióforo e conídios de *Purpureocillium* sp. Barras de escala = 20 μm.

Figure 6 – Microscopic structures representatives of filamentous fungi isolated from caves in the Southern Espinhaço Range. a) Conidiophore and conidia of *Sesquicillium* sp.; b) Conidiophore and conidia of *Cylindromonium* sp.; c) Conidiophore and conidia of an isolate from the *Clavicipitaceae* family; d) Sporangiophore of *Coemansia* sp. with sporocladia, pseudofialides, and sporangiospores; e) Conidiophore and conidia of *Chloridium* sp.; f) Conidiophore and conidia of *Bipolaris* sp.; g) Conidiophore and conidia of *Nigrospora* sp.; h) Conidiophore and conidia in a chain of *Acremonium* sp.; i) Conidiophore and conidia of *Metapochonia* sp.; j) Conidiophore and conidia of an isolate from the *Cordycipitaceae* family; k) Conidiophore and conidia of *Purpureocillium* sp. Scale bars = 20 μm.

DISCUSSÃO

Nesse estudo, relatamos a presença de 145 gêneros distintos de fungos em cavernas e cavidades ferruginosas da Serra do Espinhaço Meridional, sendo os gêneros *Penicillium* e *Cladosporium* os mais abundantes nas três localidades. De fato, o gênero *Penicillium* é o mais relatado em cavernas em todo o mundo (Vanderwolf *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2021), incluindo cavernas brasileiras (Alves *et al.*, 2022). Em um estudo sobre fungos presentes em sedimento da caverna ferruginosa RM3 em Nova Lima, Minas Gerais, foram encontrados em maior abundância os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, especialmente na região semi-fótica da caverna (Taylor *et al.*, 2014). Eles também estiveram entre os mais abundantes em estudos micológicos nas cavernas Abrigo do Letreiro, Rio Grande do Norte e Gruta Meu Rei, Pernambuco, ambas localizadas na Caatinga (Alves *et al.*, 2022; Cunha *et al.*, 2020). Nas cavidades analisadas neste estudo, foi verificada uma elevada abundância de isolados do gênero *Penicillium*, representando 35,9% (318 isolados) do total. Por outro lado, isolados identificados como *Aspergillus* representaram apenas 1,7% (15 isolados) de toda a amostragem. Já o gênero *Cladosporium* foi particularmente abundante em amostras do ar com 70 isolados identificados, corroborando com resultados de Pereira *et al.*, (2022) que encontraram uma elevada riqueza de espécies de *Cladosporium*, incluindo espécies novas, na *bat cave* Furna do Morcego, em Pernambuco. O gênero *Trichoderma* foi o terceiro mais representativo nas amostras coletadas, de forma similar a outros resultados em cavernas na China e Montenegro (Kozlova & Mazina, 2020; Zhang *et al.*, 2021).

Dentro das cavernas, o solo e fezes/guano são substratos que geralmente apresentam uma elevada quantidade de isolados fúngicos (Taylor

DISCUSSION

*In this study, the presence of 145 distinct genera of fungi were reported in the ferruginous caves in the Southern Espinhaço Range, with the *Penicillium* and *Cladosporium* genera being the most abundant in the three locations. In fact, the *Penicillium* genus is the most commonly reported in caves worldwide (Vanderwolf *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2021), including Brazilian caves (Alves *et al.* 2022). In a study on fungi present in sediment from the ferruginous cave RM3 in Nova Lima, Minas Gerais, the *Aspergillus* and *Penicillium* genera were found in greater abundance, especially in the semi-photoc region of the cave (Taylor *et al.* 2014). They were also among the most abundant in mycological studies in the Abrigo do Letreiro cave in Rio Grande do Norte and the Gruta Meu Rei cave in Pernambuco, both located in the Caatinga (Alves *et al.* 2022; Cunha *et al.* 2020). In the caves analyzed in this study, a high abundance of isolates of the *Penicillium* genus was found, representing 35.9% (318 isolates) of the total. On the other hand, isolates identified as *Aspergillus* represented only 1.7% (15 isolates) of the entire sample. The genus *Cladosporium* was particularly abundant in airborne particles samples with 70 identified isolates, corroborating the results of Pereira *et al.* (2022), who found a high species richness of *Cladosporium*, including new species, in the Furna do Morcego bat cave in Pernambuco. The *Trichoderma* genus was the third most representative in the collected samples, similar to other results in caves in China and Montenegro (Kozlova & Mazina, 2020; Zhang *et al.* 2021).*

*Inside caves, soil and feces/guano are substrates that generally present a high amount of fungal isolates (Taylor *et al.* 2013; Cunha *et al.* 2020; Kozlova & Mazina, 2020; Zhang *et al.* 2021; Alves *et al.* 2022). In this study, the two substrates accounted for more than 40% of the obtained isolates. Both*

et al. 2013; Cunha et al. 2020; Kozlova & Mazina, 2020; Zhang et al., 2021; Alves et al., 2022). Neste estudo, os dois substratos foram responsáveis por mais de 40% dos isolados obtidos. Ambos possuem elevados teores de matéria orgânica, e a decomposição desse carbono orgânico disponível é fundamental para o crescimento fúngico, e manutenção do ecossistema cavernícola (Adetutu et al., 2011; Biagioli et al., 2024). Aproximadamente 75% dos isolados dos filos *Basidiomycota*, *Mucoromycota* e *Zoopagomycota* vieram dessas amostras (47 isolados do total de 63), demonstrando a preferência de espécies desses filos por substratos mais ricos em material orgânico (Vanderwolf et al., 2013; Zhang et al., 2021). As amostras de fezes foram as únicas que tiveram isolados distribuídos nos quatro filos encontrados neste trabalho (*Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Mucoromycota* e *Zoopagomycota*). O guano geralmente é um substrato cavernícola relacionada a fungos patogênicos, como *Histoplasma capsulatum* (Silva et al., 2013; Cunha et al., 2020). Entretanto, também se apresenta como um substrato com potencial para a descoberta de novas espécies e gêneros de fungos, como foi *Parahumicola guana* (novo gênero e espécie) descrito por Condé et al., (2023) em guano de morcego na Gruta Monte Cristo, em Diamantina. As amostras de esporos presentes no ar resultaram na segunda maior quantidade de isolados (258 isolados) dentre os substratos analisados. Aproximadamente 60% dos isolados se agruparam nos gêneros *Cladosporium* e *Penicillium*, sendo também estes os gêneros mais presentes em estudos de fungos anemófilos no interior de cavernas (Zhang et al., 2017; Cunha et al. 2020; Pereira et al., 2022).

A serrapilheira foi o único substrato analisado em que não ocorreu uma prevalência de isolados identificados na ordem *Eurotiales*, no qual está in-

have high levels of organic matter, and the decomposition of this available organic carbon is essential for fungal growth and maintenance of the cave ecosystem (Adetutu et al. 2011; Biagioli et al. 2024). Approximately 75% of the isolates from the *Basidiomycota*, *Mucoromycota*, and *Zoopagomycota* phyla came from these samples (47 isolates out of a total of 63), demonstrating the species from these phyla's preference for substrates richer in organic material (Vanderwolf et al. 2013; Zhang et al. 2021). The feces samples were the only ones that had isolates distributed across the four phyla found in this study (*Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Mucoromycota*, and *Zoopagomycota*). Zhang et al. 2021). Guano is generally a cavernicolous substrate related to pathogenic fungi, such as *Histoplasma capsulatum* (Silva et al. 2013; Cunha et al. 2020). However, it also presents itself as a substrate with potential for the discovery of new species and genera of fungi, such as *Parahumicola guana* (new genus and species) described by Condé et al. (2023) in bat guano in the Monte Cristo Cave in Diamantina. The spore samples present in the air resulted in the second largest number of isolates (258 isolates) among the analyzed substrate. Approximately 60% of the isolates were grouped into the *Cladosporium* and *Penicillium* genera, which are also the most prevalent genera in studies of anemophilous fungi inside caves (Zhang et al. 2017; Cunha et al. 2020; Pereira et al. 2022).

The leaf litter was the only substrate analyzed in which there was no prevalence of isolates identified in the *Eurotiales* order, which includes the *Penicillium* genus. The *Hypocreales* order was the most representative, including genera such as *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Calonectria*, among others. Leaf litter was the substrate with the highest incidence of unique genera among the analyzed substrates, with 39 genera reported only in this

serido o gênero *Penicillium*. A ordem *Hypocreales* foi a mais representativa, incluindo gêneros como *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Calonectria*, entre outros. A serrapilheira foi o substrato com a maior incidência de gêneros únicos entre os substratos analisados, com 39 gêneros relatados somente nesse substrato. Entre eles estão os gêneros *Beltraniella*, *Castanediella*, *Codinaea*, *Coemansia*, *Melnikomyces*, *Subramaniomyces*, *Vermiculariopsiella*, *Zygosporium*, entre outros, que ainda não haviam sido relatados em ambientes cavernícolas (Vanderwolf et al., 2013; Zhang et al., 2021). O isolamento desses gêneros ocorreu devido à metodologia de isolamento utilizada, na qual uma condição de umidade elevada é criada para que favoreça os fungos e a produção de suas estruturas reprodutivas (Castañeda-Ruiz et al., 2005). A serrapilheira cavernícola também pode ser fonte de novas espécies fúngicas, até o presente momento, a espécie *Chaetomium meridionalense* (Condé et al., 2023) foi a única descrita a partir de amostras de serrapilheira coletadas dentro de cavernas da Serra do Espinhaço Meridional.

Nas raízes, foram encontrados a maior quantidade de gêneros pertencentes ao filo *Basidiomycota*, com 5 registros (*Bjerkandera*, *Fomitopsis*, *Irpex*, *Pseudophlebia* e *Peniophora*). Outros gêneros de *Basidiomycota* já relatados no Brasil incluem *Irpex*, *Rhodotorula*, *Schizophyllum*, *Sympodiomyces*, *Tritirachium*, *Trametes*, dentre outros, em amostras de ar e sedimento em cavernas da Caatinga (Alves et al., 2022; Cunha et al., 2020). Além disso, foi observado a ocorrência de 7 gêneros exclusivos em relação aos outros substratos, incluindo *Hyphodiscus*, *Rhizodermea* e *Selenodriella* que nunca haviam sido relatados em cavernas no mundo todo (Vanderwolf et al., 2013; Zhang et al., 2021).

substrate. Among them are the genera *Beltraniella*, *Castanediella*, *Codinaea*, *Coemansia*, *Melnikomyces*, *Subramaniomyces*, *Vermiculariopsiella*, *Zygosporium*, among others, which had not yet been reported in cave environments (Vanderwolf et al. 2013; Zhang et al. 2021). The isolation of these genera occurred due to the isolation methodology used, in which a condition of high humidity is created to favor fungi and the production of their reproductive structures (Castañeda-Ruiz et al. 2005). Cave litter can also be a source of new fungal species. To this date, *Chaetomium meridionalense* species (Condé et al. 2023) has been the only one described from litter samples collected inside caves in the Southern Espinhaço Range.

The roots contained the largest number of genera belonging to the *Basidiomycota* phylum, with five records (*Bjerkandera*, *Fomitopsis*, *Irpex*, *Pseudophlebia*, and *Peniophora*). Other genera of *Basidiomycota* already reported in Brazil include *Irpex*, *Rhodotorula*, *Schizophyllum*, *Sympodiomyces*, *Tritirachium*, *Trametes*, among others, in airborne particles and sediment samples in caves in the Caatinga (Alves et al. 2022; Cunha et al. 2020). In addition, seven genera exclusive to these substrates were observed, including *Hyphodiscus*, *Rhizodermea*, and *Selenodriella*, which had never been reported in caves worldwide (Vanderwolf et al. 2013; Zhang et al. 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As cavernas são ambientes subterrâneos com características particulares, tais como ausência parcial ou total de luz, alta umidade, temperatura amena e constante, e que abrigam uma grande diversidade de fungos. Apesar da relativa oligotrofia presente nesses ambientes, principalmente devido à ausência de fotossíntese em zonas afóticas, o acúmulo de matéria orgânica alóctone, tais como deposição de fezes de animais, material vegetal em decomposição (serrapilheira) e raízes de plantas, são importantes fontes de carbono para a manutenção desses ecossistemas subterrâneos, onde os fungos desempenham um papel vital na decomposição desses materiais, alimentando níveis tróficos superiores na teia alimentar do ecossistema cavernícola. Neste estudo, identificamos uma elevada diversidade de fungos que irá contribuir para expandir as estimativas desses organismos no nosso planeta. Além disso, evidenciamos que as cavernas e cavidades aqui estudadas são verdadeiros *hotspots* de diversidade fúngica, e que a conservação desses ambientes é de extrema importância para a manutenção da comunidade fúngica presente nesses locais.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho faz parte do projeto "Taxonomia e filogenia molecular de fungos em cavernas ferríferas entre as regiões de Conceição do Mato Dentro e Serro, Minas Gerais" financiado através do Edital de Chamada Pública 01/2021, Inciso XXI da Cláusula Segunda do TCCE nº. 01/2018/ICMBio. O TCCE ICMBio/Vale nº. 01/2018 é um termo de compromisso de compensação espeleológica firmado entre a Vale S.A. e o Instituto Chico Mendes de Conservação para a Biodiversidade (ICMBio),

FINAL REMARKS

Caves are underground environments with particular characteristics, such as partial or total absence of light, high humidity, mild and constant temperature, harboring a wide diversity of fungi. Despite the relative oligotrophy present in these environments, mainly due to the absence of photosynthesis in aphotic zones, the accumulation of allochthonous organic matter, such as animal feces, decomposing plant litter, and plant roots, are important sources of carbon for the maintenance of these underground ecosystems, where fungi play a vital role in the decomposition of these materials, feeding higher trophic levels in the food web of the cave ecosystem. In this study, a high diversity of fungi was identified, what will contribute to expanding estimates of these organisms on our planet. In addition, it was shown that the caves studied here are true hotspots of fungal diversity, and that the conservation of these environments is extremely important for maintaining the fungal community present in these locations.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is part of the project "Taxonomy and molecular phylogeny of fungi in iron-rich caves between the regions of Conceição do Mato Dentro and Serro, Minas Gerais," funded through Public Call 01/2021, Item XXI of Clause Two of TCCE No. 01/2018/ICMBio. The TCCE ICMBio/Vale No. 01/2018 is a speleological compensation agreement signed between Vale S.A. and the Instituto Chico Mendes de Conservação para a Biodiversidade (ICMBio), with operational management carried out by the Instituto Brasile-

com gestão operacional realizada pelo Instituto Brasileiro de Desenvolvimento e Sustentabilidade (IABS). Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e a Fundação Arthur Bernardes (FUNARBE/FUNARDOC) pelo apoio financeiro.

iro de Desenvolvimento e Sustentabilidade (IABS). Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES; Financing Code 001), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) and the Fundação Arthur Bernardes (FUNARBE/FUNARDOC) for their financial support.

REFERÊNCIAS / REFERENCES

- ADETUTU, E. M.; THORPE, K.; BOURNE, S.; CAO, X.; SHAHSAVARI, E.; KIRBY, G.; BALL, A. S. Phylogenetic diversity of fungal communities in areas accessible and not accessible to tourists in Naracoorte Caves. *Mycologia*, v. 103, n. 5, p. 959-968, 2011.
- ALMEIDA, M. DE A.; ALMEIDA-SILVA, F.; GUIMARÃES, A. J.; ALMEIDA-PAES, R.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M. The occurrence of histoplasmosis in Brazil: A systematic review. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 86, p. 147–156, 2019.
- 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 specie. *Fungal Systematics and Evolution*, 2022.
- BIAGIOLI, F.; COLEINE, C.; DELGADO-BAQUERIZO, M.; FENG, Y.; SAIZ-JIMENEZ, C.; SELBMANN, L. Outdoor climate drives diversity patterns of dominant microbial taxa in caves worldwide. *Science of The Total Environment*, v. 906, 167674, 2024.
- 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. *Braz J Microbiol.*, 2022.
- CASTAÑEDA-RUIZ, R. F.; STADLER, M.; SAIKAWA, M.; ITURRIAGA, T.; DECOCK, C.; HEREDIA, G. Microfungi from submerged plant material: *Zelotriadelphia amoena* gen. et sp. nov. and *Vanakripa fasciata* sp. nov. *Mycotaxon*, v. 91, p. 339–345, 2005.
- CASTRILLÓN, A. L.; MORAES, M. A. P.; FURTADO, M. DO S. S. Isolamento de *Microsporium amazonicum* do solo do Estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amaz.*, v. 6, p. 487–490, 1976.
- CONDÉ, T. O.; LEÃO, A. F.; DUTRA, Y. L. G.; ROSADO, A. W. C.; NEVES, S. DE C.; FRAGA, L. M. S.; KASUYA, M. C. M.; PEREIRA, O. L. Shedding light on the darkness: a new genus and four new species in the family

Chaetomiaceae from Brazilian neotropical caves revealed by multi-gene phylogenetic analyses. *Mycological Progress*, v. 22, p. 49, 2023.

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, e0243494, 2020.

DIAS, M. A. G.; OLIVEIRA, R. M. Z.; GIUDICE, M. C.; NETTO, H. M.; JORDÃO, L. R.; GRIGORIO, I. M.; ROSA, A. R.; AMORIM, J.; NOSANCHUK, J. D.; TRAVASSOS, L. R.; TABORDA, C. P. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from bats in the urban area of São Paulo State, Brazil. *Epidemiol. Infect.*, v.139, p. 1642–1644, 2011.

DIAS, T. H.; MADEIRA FILHO, W. PROJETO MINAS-RIO NO ENTORNO DO MONUMENTO NATURAL SERRA DA FERRUGEM. *CES* 35, 2020.

DUTRA, Y. L. G.; ROSADO, A. W. C.; CONDÉ, T. O.; LEÃO, A. F.; NEVES, S. D. C.; FRAGA, L. M. S.; KASUYA, M. C. M.; PEREIRA, O. L. Two new *Cladosporium* species from a quartzite cave in Brazil. *Braz J Microbiol*, v. 54, p. 3021–3031, 2023.

HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol Spectr*, v. 5, 5.4.10, 2017.

JOSHI, S. R.; CHETTRI, U. Fungi in Hypogean Environment: Bioprospection Perspective, in: Satyanarayana, T.; Deshmukh, S.K.; Deshpande, M.V. (Eds.), *Advancing Frontiers in Mycology & Mycotechnology*. Springer Singapore, Singapore, pp. 539–561, 2019.

KOZLOVA, E. V.; MAZINA, S. E. Biodiversity of Fungi in the photic and aphotic zones of Montenegro caves. *Aerobiologia*, v. 36, p. 589–604, 2020.

KUZMINA, L. Y.; GALIMZIANOVA, N. F.; ABDULLIN, S. R.; RYABOVA, A. S. Microbiota of the Kinderlinskaya cave (South Urals, Russia). *Microbiology*, v. 81, p. 251–258, 2012.

LEÃO, A. F.; CONDÉ, T. O.; DUTRA, Y. L. G.; ROSADO, A. W. C.; GRAZZIOTTI, P. H.; DE CARVALHO NEVES, S.; FRAGA, L. M. S.; KASUYA, M. C. M.; PEREIRA, O. L. *Amphichorda monjolensis* sp. nov.; a new fungal species isolated from a Brazilian limestone cave, with an update on acremonium-like species in *Bionectriaceae*. *Braz J Microbiol*, 2024.

LEÃO-FERREIRA, S. M.; PASCHOLATI GUSMÃO, L. F.; CASTAÑEDA RUIZ, R. F. Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. Three new species and new records. *nova_hedwigia*, 96, 479–494, 2013.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. *Anuário estatístico do patrimônio espeleológico brasileiro*. Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, 2025. Disponível em: < <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cavernas/anuario-estatistico-do-patrimonio-espeleologico-brasileiro/cecav-anuario-estatistico-espeleologico-2023-24.pdf> >. Acesso em: 26 jun. 2025.

NISKANEN, T.; LÜCKING, R.; DAHLBERG, A.; GAYA, E.; SUZ, L. M.; MIKRYUKOV, V.; LIIMATAINEN, K.; DRUZHININA, I.; WESTRIP, J. R. S.; MUELLER, G. M.; MARTINS-CUNHA, K.; KIRK, P.; TEDERSOO, L.; ANTO-

NELLI, A. Pushing the Frontiers of Biodiversity Research: Unveiling the Global Diversity, Distribution, and Conservation of Fungi. *Annu. Rev. Environ. Resour.*, v. 48, p. 149–176, 2023.

NOVÁKOVÁ, A.; KUBÁTOVÁ, A.; SKLENÁŘ, F.; HUBKA, V. Microscopic fungi on cadavers and skeletons from cave and mine environments. *Czech Mycol.*, v. 70, p. 101–121, 2018.

OLIVEIRA, J. A.; CUSTÓDIO, F. A.; PEREIRA, O. L. Cultivable root endophytic fungi associated with *Acrocomia aculeata* and its antagonistic activity against phytopathogenic oomycetes. *Brazilian J Microbiol.*, 2024.

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. *Mycol Progress*, v. 21, p. 345–357, 2022.

PINHO, D. B.; FIRMINO, A. L.; FERREIRA-JUNIOR, W. G.; PEREIRA, O. L. An efficient protocol for DNA extraction from *Meliolales* and the description of *Meliola centellae* sp. nov. *Mycotaxon*, v. 122, p. 333–345, 2013.

ROCHA-SILVA, F.; FIGUEIREDO, S. M.; SILVEIRA, T. T. S.; ASSUNÇÃO, C. B.; CAMPOLINA, S. S.; PENA-BARBOSA, J. P. P.; ROTONDO, A.; CALIGIORNE, R. B. Histoplasmosis outbreak in Tamboril cave—Minas Gerais state, Brazil. *Medical Mycology Case Reports*, v. 4, p. 1–4, 2014.

SHARMA, L.; SOUSA, M.; FARIA, A.S.; NUNES-PEREIRA, M.; CABRAL, J. A.; PHILLIPS, A. J. L.; MARQUES, G.; PAIVA-CARDOSO, M. DAS N. Worldwide recombination in emergent white-nose syndrome pathogen *Pseudogymnoascus destructans* (preprint). *Ecology*, 2019.

SILVA, F. R.; FIGUEIREDO, S. M.; SILVEIRA, T. T. S.; ASSUNÇÃO, C. B.; CAMPOLINA, S. S.; PENA-BARBOSA, J. P. P.; ROTONDO, A.; CALIGIORNE, R. B. Histoplasmosis outbreak in Tamboril cave – Minas Gerais state, Brazil. *Medical Mycology Case Reports*, v. 4, p. 1–4, 2014.

TAYLOR, E.; RESENDE STOIANOFF, M.; LOPES FERREIRA, R. Mycological study for a management plan of a neotropical show cave (Brazil). *IJS*, v. 42, p. 267–277, 2013.

TAYLOR, E. L. S.; FERREIRA, R. L.; CARDOSO, P. G.; STOIANOFF, M. A. D. R. Cave Entrance dependent Spore Dispersion of Filamentous Fungi Isolated from Various Sediments of Iron Ore Cave in Brazil: a colloquy on human threats whilecaving. *AMBIENT SCIENCE*, v. 1, p. 16–28, 2014.

TEDERSOO, L.; BAHRAM, M.; PÖLME, S.; KÖLJALG, U.; YOROU, N. S.; WIJESUNDERA, R.; RUIZ, L. V.; VASCO-PALACIOS, A. M.; THU, P. Q.; SUIJA, A.; SMITH, M. E.; SHARP, C.; SALUVEER, E.; SAITTA, A.; ROSAS, M.; RIIT, T.; RATKOWSKY, D.; PRITSCH, K.; PÖLDMAA, K.; PIEPENBRING, M.; PHOSRI, C.; PETERSON, M.; PARTS, K.; PÄRTEL, K.; OTSING, E.; NOUHRA, E.; NJOUONKOU, A. L.; NILSSON, R. H.; MORGADO, L. N.; MAYOR, J.; MAY, T. W.; MAJUAKIM, L.; LODGE, D. J.; LEE, S. S.; LARSSON, K.-H.; KOHOUT, P.; HOSAKA, K.; HIIESALU, I.; HENKEL, T. W.; HAREND, H.; GUO, L.; GRESLEBIN, A.; GRELET, G.; GEML, J.; GATES, G.; DUNSTAN, W.; DUNK, C.; DRENKHAN, R.; DEARNALEY, J.; DE KESEL, A.; DANG, T.; CHEN, X.; BUEGGER, F.; BREARLEY, F. Q.; BONITO, G.; ANSLAN, S.; ABELL, S.; ABARENKOV, K. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, v. 346, 1256688, 2014.

TUITE, J. Plant pathological methods. Fungi and bacteria. *Burgess Publishing Company*, 1969.

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

VILGALYS, R.; HESTER, M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol*, v. 172, p. 4238–4246, 1990.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, v. 18, p. 315–322, 1990.

WISESCHART, A.; POOTANAKIT, K. Metagenomic-based approach to a comprehensive understanding of cave microbial diversity, in: De Mandal, S.; Bhatt, P. (Eds.), Recent Advancements in Microbial Diversity. *Academic Press*, p. 561–586, 2020.

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, p. 1–31, 2017.

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.