



ARTIGO

Primeiro relato da ocorrência de *Paecilomyces formosus* e *Paecilomyces parvisporus* no Brasil

Andreza de Mello Lopes¹, Luciana Cristina Vitorino^{2*}, Carlos Frederico de Souza Castro³,
João Pedro Lopes do Nascimento⁴ e Edson Luiz Souchie²

Recebido: 6 de setembro de 2016 Recebido após revisão: 1 de dezembro de 2016 Aceito: 2 de dezembro de 2016
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/scerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3826>

RESUMO: (Primeiro relato da ocorrência de *Paecilomyces formosus* e *Paecilomyces parvisporus* no Brasil). A prospecção de linhagens fúngicas com potencial biotecnológico tem sido atualmente estimulada, sobretudo em regiões geográficas com elevada biodiversidade, como as savanas brasileiras, onde a diversidade microbiana encontra-se sob risco ambiental. Na tentativa de isolar e identificar espécies fúngicas que potencialmente poderiam ser empregadas na indústria de bioetanol, nós utilizamos como substrato bagaço de cana-de-açúcar cultivada na região centro-sul do Cerrado e obtivemos 20 espécies, sendo três delas pertencentes ao gênero *Paecilomyces*: *P. formosus*, *P. saturatus* e *P. parvisporus*. O único relato de ocorrência de *P. parvisporus*, até este trabalho, provém de estudo ocorrido em território chinês. Este, portanto, constitui o primeiro relato científico da ocorrência de *P. formosus* e *P. parvisporus* em território brasileiro, além de constituir o segundo relato da ocorrência de *P. saturatus* no Brasil, sendo o primeiro datado de 1957. Este trabalho reforça a importância de se catalogar a biodiversidade brasileira e levanta a hipótese de que estas espécies isoladas a partir do bagaço de cana-de-açúcar possam ser futuramente empregadas na síntese de enzimas lignocelulolíticas e, portanto, no aproveitamento da biomassa para fins energéticos.

Palavras-chave: biodiversidade fúngica, Eurotiales, novas espécies, taxonomia de fungos filamentosos.

ABSTRACT: (First report of occurrence of *Paecilomyces formosus* and *Paecilomyces parvisporus* in Brazil). Prospecting for fungal strains with biotechnological potential has been stimulated in recent years, especially in geographical regions with high biodiversity such as the Brazilian savannas, where microbial diversity is under environmental risk. Aiming to isolate and identify fungi species that could potentially be used in the bioethanol industry, we used sugarcane bagasse as a substrate, from crops cultivated in mid-southern Brazilian Cerrado, and obtained 20 species, three of them belonging to genus *Paecilomyces*: *P. formosus*, *P. saturatus*, and *P. parvisporus*. The only report of the occurrence of *P. parvisporus* so far had been from a study conducted in China. Therefore, this is the first scientific report of occurrence of *P. formosus* and *P. parvisporus* in Brazilian territory, and the second report of occurrence of *P. saturatus* in the country – the first one dating back to 1957. Our work reinforces the importance of cataloging Brazilian biodiversity and raises the hypothesis that the species found, which were isolated from sugarcane bagasse, could be used in the future for the synthesis of lignocellulolytic enzymes and therefore also for management of biomass with energy-production purposes.

Keywords: fungal biodiversity, Eurotiales, new species, taxonomy of filamentous fungi.

INTRODUÇÃO

A descoberta de microrganismos com potencial para bioprocessos, como a síntese de pigmentos (Pagano & Dhar 2015) e metabólitos bioativos, tem estimulado uma corrida biotecnológica pela prospecção microbiana, compreendendo o isolamento, caracterização e estimulação orgânica por elicitores bióticos e abióticos. O emprego destes metabólitos tem se tornando cada vez mais frequente na indústria farmacológica (Bonugli-Santos *et al.* 2015, Kusari *et al.* 2014, Mayer *et al.* 2013), no biocontrole de pragas (Abraham *et al.* 2015, Howell 2003), promoção do crescimento vegetal e degradação de biomassa (Koeck *et al.* 2015, Couturier *et al.* 2012), tornando a caracterização da biodiversidade microbiana, nos mais diferentes ecossistemas, fundamental para que novas moléculas possam ser detectadas e empregadas em setores de interesse da

população. Neste sentido, explorar o potencial de áreas com alto grau de endemismo, como os domínios morfo-climáticos das savanas brasileiras, para a prospecção de novas espécies microbianas, tem se tornado uma questão de urgência, devido à forte pressão que o bioma Cerrado tem sofrido em função da expansão da fronteira agrícola (Klink & Machado 2005).

A prospecção de fungos com capacidade lignocelulolítica tem ocorrido, utilizando-se o trato intestinal de organismos simbiotes, como formigas e cupins (Aylward *et al.* 2015, Kurtböke *et al.* 2015) e diversos substratos, como serrapilheira (Waing *et al.* 2015) e subprodutos industriais. Fungos filamentosos como *Aspergillus* e *Trichoderma* têm sido reconhecidos na produção de preparados comerciais de enzimas celulolíticas ou como hospedeiros para a expressão heteróloga de enzimas

1. Doutoranda em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular, Laboratório de Enzimologia. CEP 70910-900, Brasília, DF, Brasil.

2. Professor(a), Instituto Federal Goiano, campus Rio Verde, Laboratório de Microbiologia Agrícola. Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, CEP 75901-970, Rio Verde, GO, Brasil.

3. Professor, Instituto Federal Goiano, campus Rio Verde, Laboratório de Química Tecnológica. Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, CEP 75901-970, Rio Verde, GO, Brasil.

4. Mestrando em Agroquímica, Instituto Federal Goiano, campus Rio Verde, Laboratório de Química Tecnológica. Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, CEP 75901-970, Rio Verde, GO, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: lu.vitorino@hotmail.com

nativas ou manipuladas, visando a superprodução de coquetéis multi-enzimáticos para a utilização em bio-refinarias, o que é importante para reduzir os custos na conversão da biomassa (Zoglowek *et al.* 2015). De fato, a biomassa lenho-celulósica, bem como subprodutos agrícolas e florestais, de culturas energéticas e resíduos biológicos desempenha um papel importante no desenvolvimento de energias renováveis, especialmente em países com recursos limitados para utilização da energia solar ou eólica (Macqueen & Korhaliller 2011). Um dos subprodutos energeticamente mais promissores é o bagaço advindo da indústria da cana de açúcar, que está sendo empregado na síntese de glicose, xilose, etanol e metano (Guilherme *et al.* 2015). Contudo, seu emprego requer pré-tratamento por hidrólise enzimática, de forma a desestabilizar a matriz de lignina e hemicelulose (Bommarius *et al.* 2008, Silverstein *et al.* 2007). Com isso, a prospecção de microrganismos enzimaticamente atuantes sobre o bagaço de cana se torna tão promitente.

A presença de espécies do gênero *Paecilomyces* em fontes lignocelulósicas, como cana-de-açúcar e madeira em decomposição (Basso *et al.* 2010), tem despertado atenção, devido a sua capacidade de converter substâncias complexas, como celulose, em produtos de maior valor, tais como o bioetanol (Wu 1985). Este gênero foi proposto por Bainier (1907), para acomodar uma única espécie, *P. varioti*, mas com a posterior revisão realizada por Brown & Smith (1957) e a modificação feita por Samson (1974), atingiu-se o número de 31 espécies. Contudo, a análise filogenética baseada na região 18S do nrDNA, feita por Luangsa-ard *et al.* (2004), mostrou que *Paecilomyces* é um grupo polifilético, visto que suas espécies se espalham por duas subclasses, *Sordariomycetidae* e *Eurotiomycetidae*, alocadas em duas diferentes ordens: Hypocreales e Eurotiales. Diante da perspectiva de encontrar espécies deste gênero em substratos lignocelulósicos e, portanto, com potencial para a síntese de enzimas hidrolíticas, este trabalho explorou amostras de bagaço de cana, provenientes de plantas cultivadas na região centro-sul do Cerrado brasileiro, promovendo o isolamento da biodiversidade fúngica e identificando em meio a ela, as espécies *Paecilomyces*.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento das espécies fúngicas

Amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram coletadas em usina de álcool e açúcar localizada na região sul do estado de Goiás (divisa com Minas Gerais), em duas épocas de cultivo e processamento da cana-de-açúcar, dezembro de 2012 e abril de 2013. As amostras foram assepticamente armazenadas em sacos plásticos previamente autoclavados e conduzidas sob-refrigeração ao laboratório de Microbiologia Agrícola, do Instituto Federal Goiano, campus Rio Verde, onde 25 g de cada amostra foram acondicionados em recipiente esterilizado e acrescidos a 10 mL de água destilada autoclavada. O homogeneizado resultante foi incubado em estufa

bacteriológica, a 28 °C, por 30 dias. Posteriormente, alíquotas de 1 g das culturas foram submetidas a diluições seriadas e 100 µL transferidos para placas de petri contendo meio BDA (infusão de 200 g de batata, dextrose 20g, ágar 15g e água q.s.p. 1000 mL). As placas foram incubadas a 28 °C e também a 30 °C, por um período de 7 dias, quando colônias individuais foram purificadas, para obtenção de pequenos fragmentos de micélio jovem a partir das bordas das colônias. Com o auxílio de alça bacteriológica, estes fragmentos foram utilizados na preparação de lâminas para microscopia, coradas com solução de lactofenol em azul de tripano.

Identificação das espécies fúngicas

A identificação dos isolados foi feita por meio de taxonomia clássica, utilizando-se lâminas semi-permanentes previamente preparadas, avaliadas em microscópio óptico (com o uso de objetiva de 100X). As espécies foram identificadas utilizando-se o padrão característico proposto por Samson *et al.* (2009) e Han *et al.* (2005b).

A identificação fenotípica foi confirmada por método molecular. Para isso, promoveu-se a extração do DNA genômico dos isolados, utilizando-se o método CTAB, descrito por Doyle & Doyle (1991), com posterior quantificação em gel de agarose a 1%. As amostras de DNA genômico foram então diluídas e submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) para a amplificação região nuclear do espaçador interno transcrito ITS, localizada entre os genes codificadores dos RNAs ribossômicos 18S e 28S. Foram amplificadas as regiões ITS1 e ITS2, bem como 5,8S, pela ação dos iniciadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.* 1990). As reações de PCR foram realizadas em termociclador Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, CA) sob o seguinte programa: um ciclo a 94 °C durante quatro minutos, seguido de 30 ciclos de um minuto a 94 °C (desnaturação), rampa de 40 °C a 55 °C aumentando 0,5 °C a cada segundo (totalizando 30 segundos) (anelamento), e um minuto a 72 °C (extensão), e um ciclo a 72 °C por cinco minutos. Os produtos amplificados foram tratados com as enzimas Exonuclease I (USB, 3,3 U) e SAP (fosfatase alcalina de camarão, USB, 0,66 U) e posteriormente submetidos à reação de sequenciamento pelo método de terminação de cadeia, empregando-se o reagente Big Dye 3.1 (Applied Biosystems, CA). A análise dos fragmentos resultantes foi realizada em sequenciador capilar automático 3500 XL (Applied Biosystems, CA), sendo sequenciados em ambas as direções, "forward" e "reverse", para montagem da fita consenso. A avaliação da qualidade do sequenciamento, bem como a edição e montagem das fitas consenso, se deu por meio do software SEQSCAPE v2.7 (Applied Biosystems, CA).

As sequências obtidas foram então comparadas com sequências depositadas na base de dados GenBank sediada no National Center for Biotechnology Information

(NCBI; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), empregando-se o programa Blastn (Altschul *et al.* 1990). A identificação foi baseada na similaridade com sequências de espécies tipo presentes na base de dados.

Relação filogenética entre os isolados

Sequências da região ITS, disponíveis no Gen Bank para outras espécies de fungos do gênero *Paecilomyces* (Tab. 1), foram comparadas filogeneticamente com as sequências dos isolados obtidos das amostras de bagaço de cana-de-açúcar. Para isso, foi realizado o alinhamento múltiplo das sequências utilizando-se o software CLUSTAL OMEGA (Sievers *et al.* 2011). Os *priors* para a determinação da relação filogenética foram obtidos pela seleção do modelo de evolução das sequências de ITS, usando Critério da Informação Bayesiana (BIC), implementado no software JMODELTEST 2 (Darriba *et al.* 2012). Foi selecionado o modelo TVMef+I (-lnL = 10776.4677, wBIC = 0.9525), com parâmetro p-inv = 0.4890. As análises filogenéticas foram realizadas por estatística Bayesiana implementada no software MR-BAYES v.3.2.5 (Ronquist *et al.* 2012). Foram realizadas quatro corridas independentes, atribuindo-se 10×10^6

gerações para as cadeias, amostrando-se a distribuição da probabilidade a *posteriori* a cada 500 gerações. Antes de calcular a árvore consenso, e para garantir a convergência das cadeias, as primeiras 2.500 árvores amostradas foram descartadas. Posteriormente, a filogenia recuperada foi testada pelo método *bootstrap*, com 5.000 replicações, utilizando-se o programa MEGA 6 (Tamura *et al.* 2013). Intencionalmente, nós incorporamos às análises uma sequência de *Penicillium daleae* K. M. Zalesky, para avaliar a relação dos nossos isolados com essa espécie. A pergunta a ser respondida era se essa sequência funcionaria como *outgroup* ou se agruparia a alguma das linhagens amostradas, levando-se em consideração a proximidade genética já descrita por Houbroken *et al.* (2011) entre sequências de ITS de *P. parvisporus* Y. F. Han & Z.Q. Liang e de espécies do gênero *Penicillium*.

RESULTADOS

Caracterização morfológica e identificação dos isolados

Foi obtido um total de 32 isolados fúngicos a partir das amostras de bagaço de cana-de-açúcar, sendo estes distribuídos em 20 diferentes espécies: *Fusarium proliferatum*, *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium wotroi*, *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus brasiliensis*, *Aspergillus tubigengensis*, *Aspergillus novoparasiticus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Talaromyces stollii*, *Mucor circinelloides*, *Trichoderma asperelloides*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis*, *Paecilomyces parvisporus*, *Paecilomyces formosus* e *Paecilomyces saturatus*. Do total de isolados, cinco foram morfológicamente caracterizados como pertencentes ao gênero *Paecilomyces*, sendo a caracterização fundamentada na presença de conídios de cor verde-oliva-marrom, formados em fiáldes de base ampla e pescoço longo e fino no final, irregularmente ramificadas, havendo também os teleomorfos que são quase nus (Houbroken & Samson 2011). Os conídios foram caracterizados como hialinos, unicelulares e ovóides, sendo produzidos em cadeias basípetas longas, muitas vezes emaranhadas (Fig. 1).

Entre os cinco isolados de *Paecilomyces* foram identificadas astrês espécies citadas acima: *P. parvisporus* (1 isolado), *P. saturatus* (Nakazawa, Takeda & Suematsu) Samson & Houbroken (1 isolado) e *P. formosus* (Sakag., May. Inoue & Tada) Houbroken & Samson (3 isolados). *Paecilomyces parvisporus* foi obtido de bagaço provindo da safra de dezembro de 2012 e *P. saturatus* da safra de abril de 2013, enquanto que *P. formosus* estava presente no bagaço das duas épocas.

Paecilomyces formosus cobriu toda a extensão da placa de petri aos 7 dias, cultivado a 30 °C. As estruturas utilizadas na identificação dessa espécie foram compatíveis com as descritas por Samson *et al.* (2009), ou seja, conidióforos irregularmente ramificados e conídios de cor oliva-marrom. Os clamidósporos (muitas vezes em

Tabela 1. Identificação do acesso (incluindo dados dos genes 18S, 28S, ITS1, 5,8S e ITS2) e localidade de isolamento, para espécies de *Paecilomyces* utilizadas na construção da relação filogenética com isolados desse gênero obtidos a partir do bagaço de cana-de-açúcar, incluindo *Penicillium daleae* K.M. Zalesky.

Taxa	Acesso GenBank	Localidade
<i>P. aerugineus</i>	JN899388	Reino Unido
<i>P. anartarcticus</i>	AJ879113	Antártica
<i>P. carneus</i>	EU553305	Brasil
<i>P. catenianulatus</i>	GU194180	China
<i>P. cateniobliquus</i>	HQ874633	China
<i>P. cicadae</i>	HQ874633	China
<i>P. dactylethromorphus</i>	KF530866	Índia
<i>P. farinosus</i>	AB080090	Japão
<i>P. fumosoroseus</i>	AB086629	Japão
<i>P. gunnii</i>	AJ309343	China
<i>P. hawkesii</i>	AJ309342	China
<i>P. hepiali</i>	EF555097	China
<i>P. javanicus</i>	AB099944	Japão
<i>P. leycettanus</i>	EU553343	Brasil
<i>P. lilacinus</i>	FN598940	Japão
<i>P. marquandii</i>	EU553322	Brasil
<i>P. militaris</i>	AJ309330	China
<i>P. niphetodes</i>	JX012229	China
<i>P. nostocoides</i>	AB104884	Japão
<i>P. pascuus</i>	JN899321	Nova Zelândia
<i>P. penicillatus</i>	EU553300	Brasil
<i>P. purpureus</i>	EF640809	China
<i>P. reniformis</i>	DQ069288	Indonésia
<i>P. sinensis</i>	AJ243771	China
<i>P. tenuipes</i>	AB070371	Japão
<i>P. tenuis</i>	KJ510655	Índia
<i>P. variotii</i>	JN939029	-
<i>P. verticillatus</i>	DQ836182	China
<i>P. victoriae</i>	JN899393	Indonésia
<i>Penicillium daleae</i>	AJ746363	Polônia

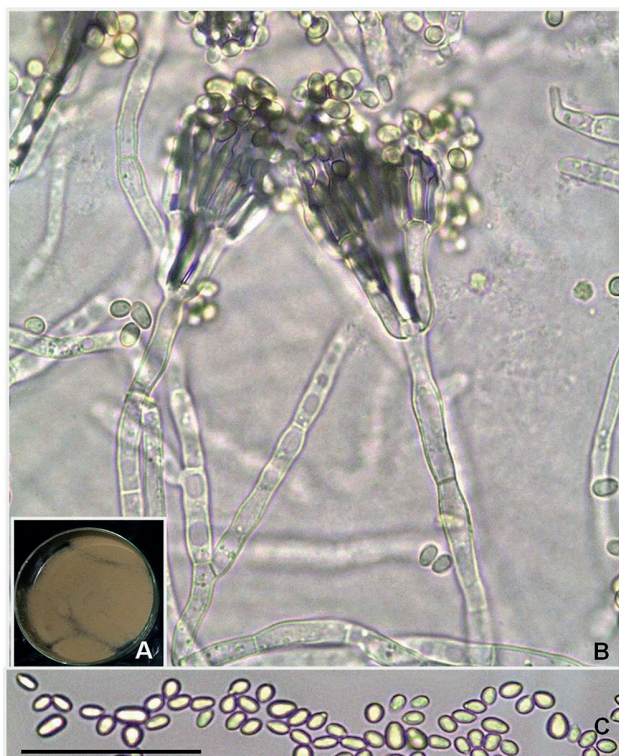


Figura 1. Identificação morfológica de espécies de *Paecilomyces* isoladas de bagaço de cana-de-açúcar, cultivada na região centro-sul do Cerrado brasileiro. A. Aspecto verde-oliva-amaronizado das colônias. B. Hifas septadas e hialinas e destaque para as fiáides. C. Cadeia longa de conídios. Escala da barra = 20 μ m.

pequenos talos) apresentam paredes lisas, globosas e (levemente) pigmentadas. Os conídios desta espécie foram variáveis entre isolados, podendo ser elipsoidais ou cilíndricos, com truncamento nas extremidades (Fig. 2).

O isolado de *P. saturatus* também apresentou crescimento rápido, cobrindo a placa de petri aos 7 dias, incubado a 30 °C. Foi verificada forte esporulação, cor oliva-marrom. Os conidióforos se mostraram muito ramificados, semelhantes aos de *Penicillium*. Essa semelhança levou Sakaguchi *et al.* (1939) a classificar inicialmente essa espécie como *Penicillium viniferum* Sakag., Inoue & Tada, sendo reclassificada como *Paecilomyces* por Raper & Thom (1949). Os conídios se mostraram elipsoidais, sem truncamento distinto nas extremidades. A indicação da literatura é de que os conídios dessa espécie podem variar entre os isolados, podendo ser elipsoidais e/ou cilíndricos (Samson *et al.* 2009). Os clamidósporos se mostraram bastante frequentes, hialinos e com paredes lisas (Fig. 3). Nenhum teleomorfismo foi observado.

O isolado de *P. parvisporus*, obtido das amostras de bagaço de cana-de-açúcar, apresentou crescimento lento, quando comparado aos outros isolados, atingindo diâmetro de 20 mm, em aproximadamente 14 dias de incubação a 28 °C. O micélio se desenvolveu originalmente branco, passando a apresentar cor esverdeada, ou mesmo se invertendo para amarelo. Esses mesmos aspectos foram retratados por Han *et al.* (2005b) ao caracterizarem um isolado dessa espécie obtido de amostras de solo na

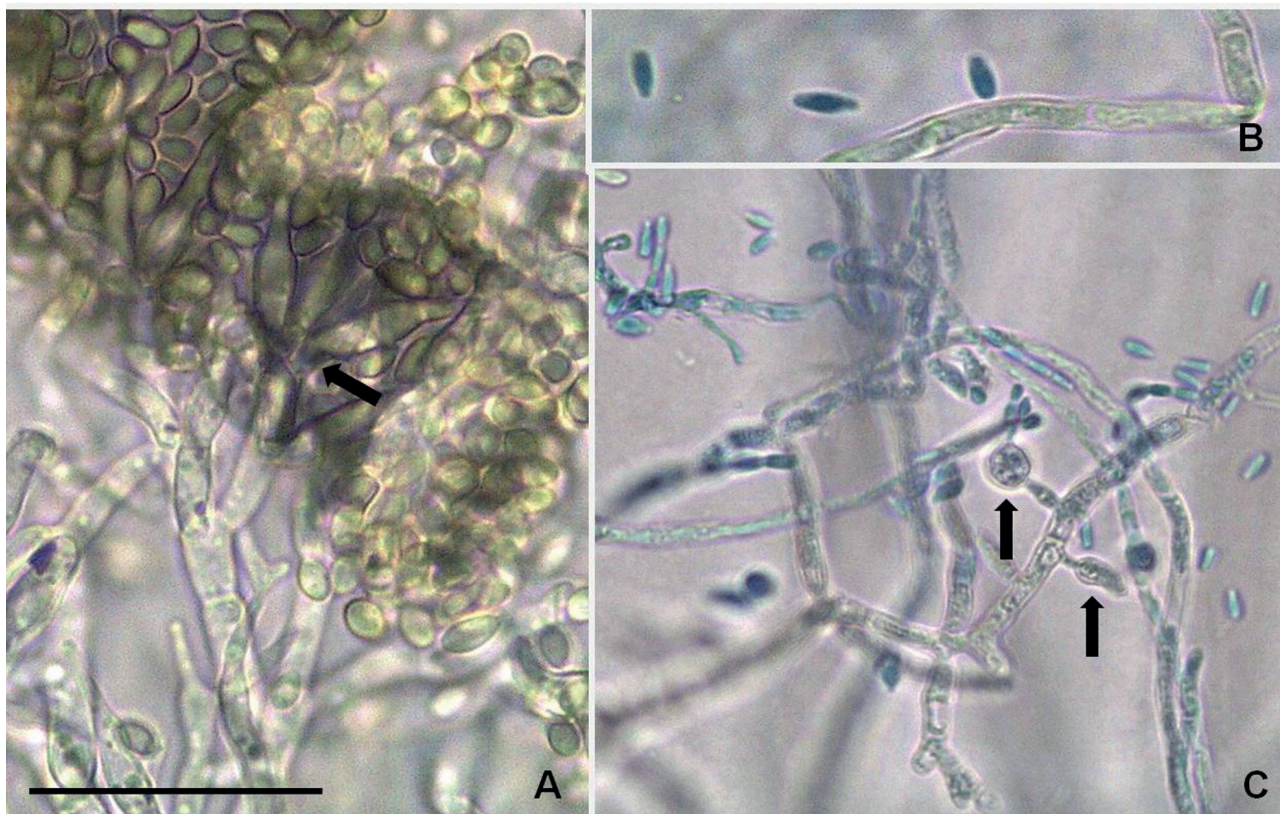


Figura 2. *Paecilomyces formosus* (Sakag., May. Inoue & Tada) Houbraken & Samson, isolado de bagaço de cana-de-açúcar cultivada no Cerrado. A. Aspecto oliva-marrom dos conídios. Seta mostra o ponto de ramificação do conidióforo. B. Conídios elipsoidais. C. Isolado com conídios cilíndricos e setas apontando clamidósporos. Escala da barra = 20 μ m.

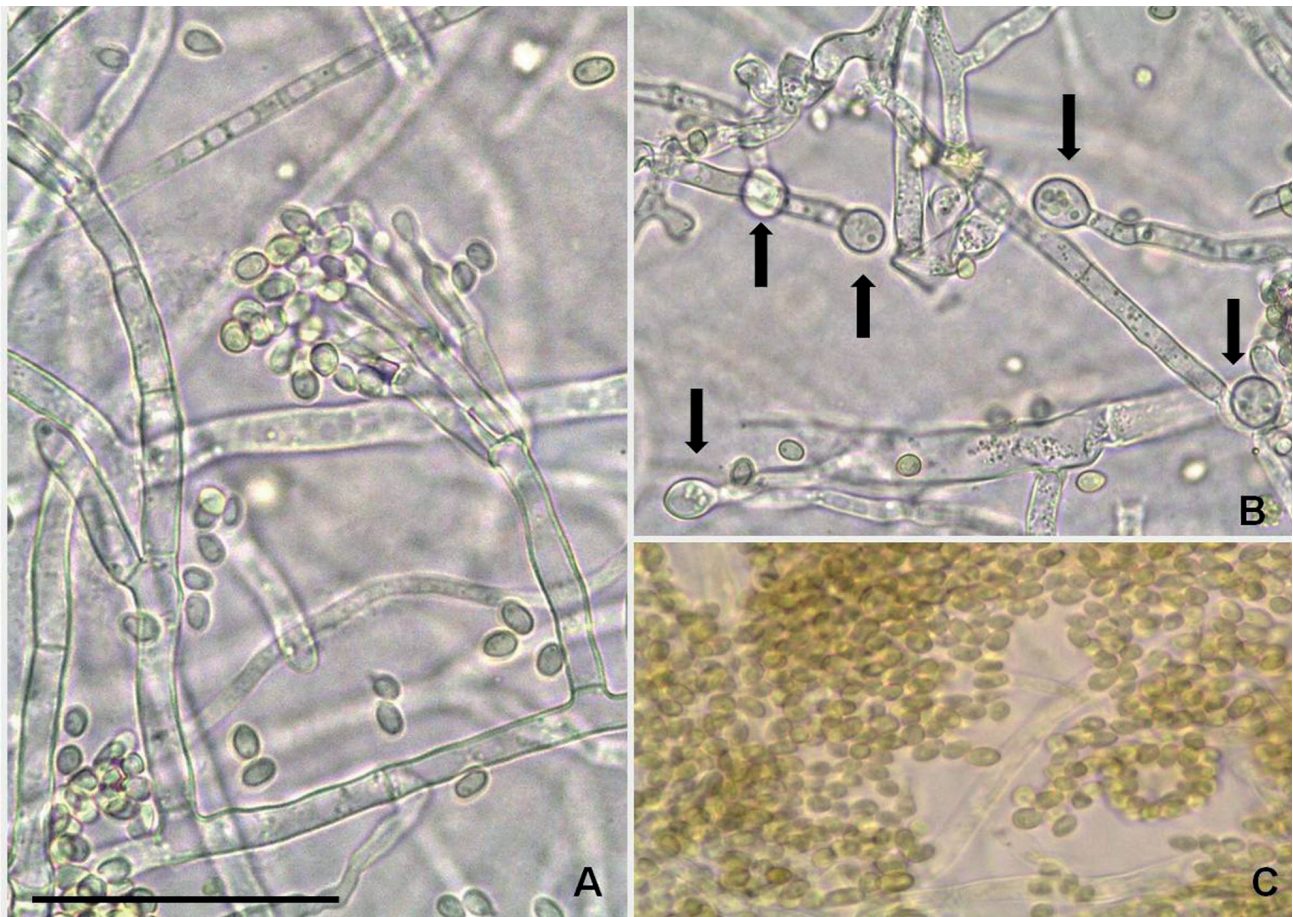


Figura 3. *Paecilomyces saturatus* (Nakaz., Y. Takeda & Suematsu) Samson & Houbraken, isolado de bagaço de cana-de-açúcar cultivada na região centro-suldo Cerrado brasileiro. A. Conidióforo muito ramificado. B. Setas apontam clamidósporos terminais. C. Conídios elipsoidais. Escala da barra = 20µm.

China. A transição de coloração do micélio, de branco a amarelo, fica explícita ao observar-se a parte inferior da placa de petri, ou seja, o micélio basal (Fig. 4).

Relação filogenética entre os isolados

A relação filogenética entre os isolados separou os mesmos em dois grandes grupos monofiléticos, sendo que os isolados *P. parvisporus*, *P. saturatus* e *P. formosus* A, B e C, obtidos a partir de amostras de bagaço de cana-de-açúcar, permaneceram em um mesmo clado (Fig. 5). As cepas de *P. formosus* foram corretamente unidas em um clado bem suportado (probabilidade posterior = 1.0; Bootstrap = 94), juntamente com *P. sinensis* Q. T. Chen, S. R. Xiao & Z. Y. Shi. No entanto, *P. formosus* C se relacionou mais intimamente com *P. sinensis* do que com os outros isolados de *P. formosus*, a despeito do suporte fraco, apresentado pela relação (probabilidade posterior = 0.5; Bootstrap = 24). Já *P. saturatus*, apesar de mais próximo de *P. formosus* que de *P. parvisporus*, estabeleceu relação mais íntima com *P. dactylethromorphus* Bat. & H. Maia (probabilidade posterior = 1.0; Bootstrap = 98), o que pode ser explicado pela situação taxonômica histórica de *P. saturatus*. Esta espécie tem como basônimo (homotípico) *P. mandshuricus* var. *saturatus* Nakaz., Y. Takeda & Suematsu que, por sua vez, é sinônimo

(não homotípico) de *P. dactylethromorphus*. Dessa forma, *P. saturatus* e *P. dactylethromorphus* tratam-se biologicamente da mesma espécie.

A cepa de *P. parvisporus* se agrupou com a sequência de *Penicillium daleae* utilizada, de forma que a última não funcionou como espécie *outgroup* na análise das relações filogenéticas (Fig. 5). Além disso, a relação se mostrou fortemente suportada (probabilidade posterior = 1.0; Bootstrap = 89).

DISCUSSÃO

Registros da ocorrência de *Paecilomyces* em território brasileiro, recuperados na base de dados *speciesLink* (<http://www.splink.org.br>), somam 70 relatos georeferenciados de 11 espécies do gênero, sendo alguns definidos apenas como *Paecilomyces* sp. (Fig.6). Em decorrência do pequeno número de relatos, os trabalhos desenvolvidos no Brasil, que utilizam ou têm como foco principal espécies desse gênero, se referem principalmente a *P. variotii* Bainier, pela produção de metabólitos bioativos (Mioso *et al.* 2015, Delgado *et al.* 2012, Madeira Jr. *et al.* 2012), *P. lilacinus* (Thom) Samson, pelo caráter patogênico (Antas *et al.* 2012, Brito *et al.* 2011) e *P. fumosoroseus* (Wize) A. H. S. Br. & G. Sm., pela atividade antagonista a patógenos agrícolas

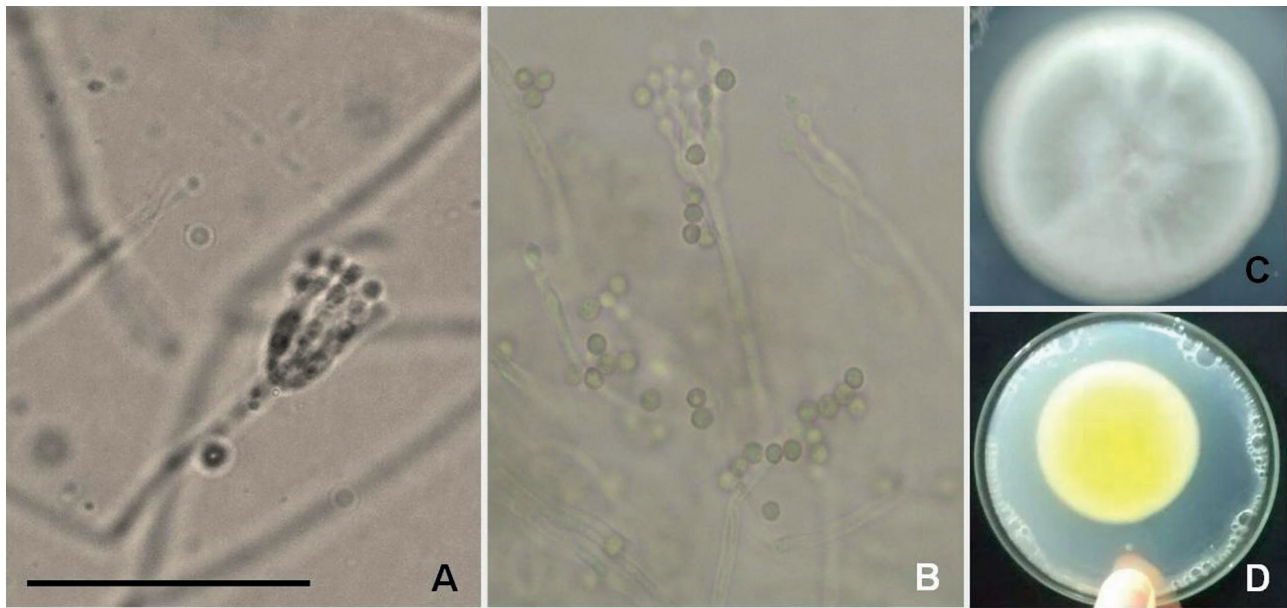


Figura 4. *Paecilomyces parvisporus* Y.F. Han & Z.Q. Liang, isolado de bagaço de cana-de-açúcar cultivada no Cerrado. A. Conidióforo. B. Conidióforo destacando os conídios hialinos e ovoides. C. Aspecto micelial, branco (note o aparecimento da cor verde). D. Transição do micélio de branco a amarelo. Escala da barra = 20µm.

(Mochi *et al.* 2010, Lima *et al.* 2006). Entre os registros, *P. parvisporus* aparece em apenas um, correspondendo a uma amostragem feita nos arredores do município de Ipirá, BA, onde foi isolado de *Melocactus ernestii* Vaupel, passando a fazer parte da coleção de microrganismos do centro de coleções taxonômicas da UFMG. Os dados

deste registro, no entanto, não foram cientificamente formalizados, de forma a não haver citações científicas desta ocorrência. Por outro lado, não existem referências de trabalhos isolando *P. formosus* no Brasil, havendo apenas um registro no NCPF (National Collection of Pathogenic Fungi) inglês, de uma amostra nacional,

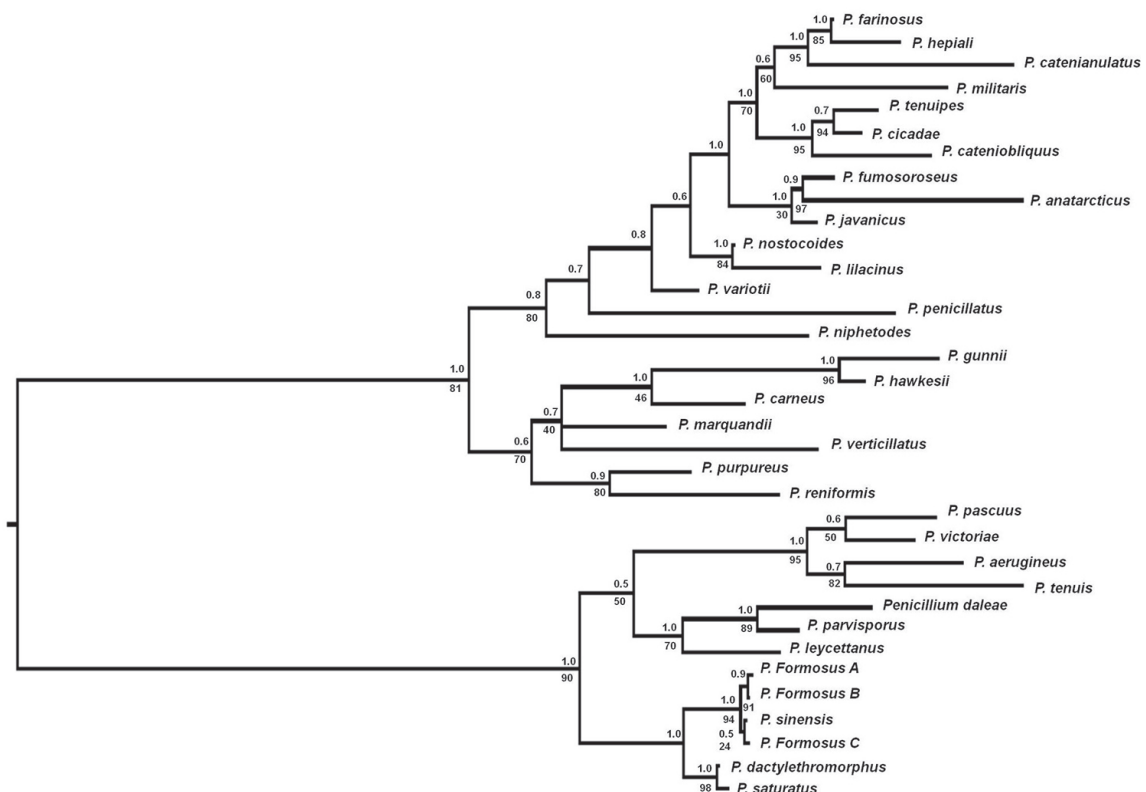


Figura 5. Árvore de maior probabilidade posterior, baseada na relação filogenética de sequências ITS obtidas de espécies de *Paecilomyces*, isoladas de bagaço de cana, e sequências de ITS de *Paecilomyces*, obtidas no GenBank. Os valores acima dos nós são a probabilidade posterior e os valores abaixo, os bootstraps.

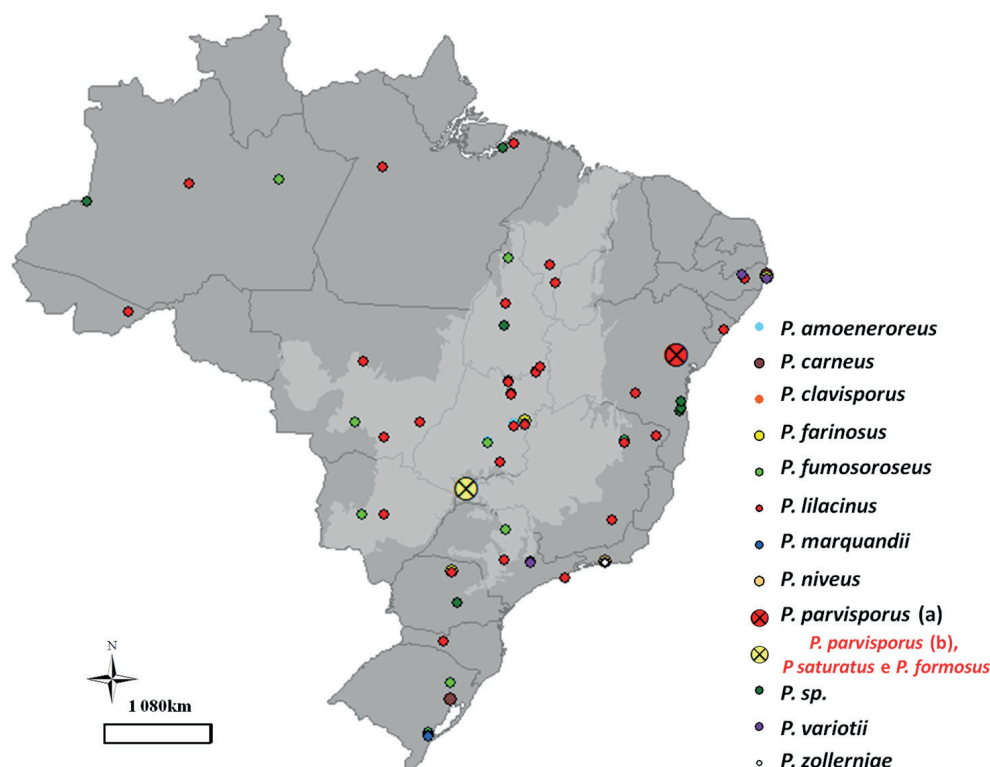


Figura 6. Distribuição geográfica de espécies de *Paecilomyces* no Brasil, inferida a partir de dados recuperados da base *speciesLink*. O círculo vermelho destaca a ocorrência de *Paecilomyces parvisporus* Y.F. Han & Z.Q. Liang na Bahia e o círculo amarelo refere-se às coordenadas de amostragem das espécies identificadas neste trabalho.

obtida a partir da planta *Annona squamosa* e depositada como *P. maximus*, o basionimo de *P. formosus*. Para *P. saturatus*, a única publicação científica que faz referência à ocorrência dessa espécie no Brasil trata-se de uma profunda descrição taxonômica para seu basionimo *P. dactylethromorphus*, produzida por Batista & Maia (1957). Contudo, os autores não deixam evidente que a espécie tenha sido isolada a partir de amostras deste país. Portanto, a amostragem deste trabalho constitui no mínimo o segundo registro científico da ocorrência de *P. saturatus* no Brasil, bem como o primeiro registro formal do isolamento de *P. parvisporus* e *P. formosus* dentro do domínio cerrado e em solo brasileiro.

Espécies do gênero *Paecilomyces* são frequentemente encontradas em habitats ácidos, como a silagem (Escoula 1975, Anderson *et al.* 1979). Isso explica a adaptação das cepas que isolamos ao bagaço da cana, que apresenta pH de acidez ideal para a ação de xilanases microbianas que atuam sobre resíduos lignocelulósidos (Kronbauer *et al.* 2007). Contudo, apenas cinco do total de isolados fúngicos foram identificados como *Paecilomyces*, sendo *P. formosus* mais frequente, por compreender três dos isolados. Essa espécie tem sido isolada em diversas regiões do mundo, sendo fortemente relacionada a casos de endofitismo, onde a relação promove o crescimento vegetal e confere à planta resistência a estresse abiótico (Waqas *et al.* 2014, Khan *et al.* 2012b). Em *Cucumis sativus* L., Khan *et al.* (2012a) mostraram que a associação mutualística com *P. formosus* confere termotolerância à espécie. Em *Acacia*

nilotica (L.) Delliles sp. *indica*, *P. formosus* foi isolado também como endofítico, ocorrendo conjuntamente com *P. sinensis* (Haque *et al.* 2012), agrupadas em um mesmo clado em nossa análise de relação filogenética. Recentemente, variotina e três formosusinas foram isoladas de *P. formosus*, aumentando o interesse sobre cepas dessa espécie, visto que as formosusinas poderiam ser utilizadas como inibidores seletivos da polimerase β em mamíferos (Mizushina *et al.* 2014). Os inibidores seletivos de polimerase são considerados um grupo de agentes anti-câncer e anti-parasitários, potencialmente úteis pela citotoxicidade e por suprimir a proliferação de células cancerosas (Sakaguchi *et al.* 2002). Além disso, cepas de *P. formosus*, detectadas em amostras de solo e madeira sugerem que estes fungos podem potencialmente degradar resíduos vegetais (Graffenhan *et al.* 2011, Samson *et al.* 2009). Isso pode explicar a recuperação de três isolados desse fungo nas amostras de bagaço que analisamos. Este trabalho, contudo, consiste na primeira referência de ocorrência desta espécie em amostras naturais brasileiras.

A cepa de *P. saturatus* analisada apresenta menos passos mutacionais para as cepas de *P. formosus*, do que para a linhagem de *P. parvisporus*, embora *P. saturatus* se diferencie de todos os outros *Paecilomyces* por produzir patulina, uma toxina termorresistente que exibe potencial teratogênico e neurotóxico (Puel *et al.* 2010), e brefeldina A, um composto antimicrobiano (Wang *et al.* 2007). *P. saturatus* e seu basionimo *P. dactylethromorphus* mostraram-se filogeneticamente relacionados à *P.*

formosus. Trabalhos mostram que *P. dactylethromorphus* e *P. formosus* têm perfis semelhantes de susceptibilidade antifúngica, de forma que cepas dessas espécies sejam comumente confundidas entre si e também com *P. variotii* em isolados clínicos (Houbraken et al. 2010), embora nossos dados não identifiquem proximidade filogenética entre esses dois fungos e *P. variotii*.

A cepa de *P. parvisporus* isolada foi mais próxima de *Penicillium daleae* do que de outras espécies do gênero *Paecilomyces*, corroborando com a proposta taxonômica apresentada por Houbraken et al. (2011), de que esta espécie deveria, na verdade, ser transferida para o gênero *Penicillium*. A divergência que originou o clado formado por essas duas espécies corresponde à diferenciação de *P. leycettanus* (H. C. Evans & Stolk) Stolk, Samson & H. C. Evans (Fig. 5). Em análise feita por Inglis & Tigano (2006), com espécies entomopatogênicas, linhagens de *Talaromyces* se agruparam a *Penicillium* e também a *P. leycettanus*, reforçando a idéia de que *Penicillium* e *Talaromyces* não formam um grupo monofilético (Berbee et al. 1995, LoBuglio et al. 1993) e sugerindo que *Talaromyces leycettanus* H. C. Evans & Stolk possa ser considerado o teleomorfo para essa espécie de *Paecilomyces*. No entanto, mais recentemente, a revisão taxonômica do subgênero *Biverticillium* sugere a unificação deste subgênero a *Talaromyces* (Samson et al. 2011).

Novas espécies, bem como alta frequência de isolamento de *Paecilomyces*, têm sido relatadas em trabalhos desenvolvidos na China (Han et al. 2009). Freed et al. (2011) isolaram espécies de *Paecilomyces* em diversas localidades e ecossistemas chineses. De fato, espécies entomopatogênicas, como *Paecilomyces tenuipes* (Peck) Samson (*Isaria japonica* Yasuda), têm se popularizado na China, Japão e Coreia, sendo habitualmente utilizadas na medicina popular e saúde alimentar (Kikuchi et al. 2004). Por outro lado, Li et al. (2013) amostraram sete populações chinesas de *P. lilacinus* e não encontraram diferenciação genética entre elas, indicando alto fluxo gênico entre populações dessa espécie, em território chinês. Fundações chinesas, como a National Natural Science Foundation of China, têm apoiado pesquisas com esse gênero e a descoberta de novas espécies. Com isso, somente entre os anos de 2003 e 2006, *P. huaxiensis* Z. Q. Liang & Y. F. Han, *P. stipitatus* Z. Q. Liang & Y. F. Han, *P. vinaceus* Y. F. Han & Z. Q. Liang (Han et al. 2005a,c), *P. cylindricosporus* Z. Q. Liang & Y.F. Han (Liang et al. 2005), *P. biformis* Z. Q. Liang, H. L. Chu & Y. F. Han (Liang et al. 2007), *P. cinereus* Z. Q. Liang, H.L. Chu & Y. F. Han (Liang et al. 2006) e *P. curticatenuatus* Z. Q. Liang & Y. F. Han (Han et al. 2007) foram relatadas e revisões taxonômicas propuseram a transferência de espécies monofalídicas de *Paecilomyces* para o gênero *Taifanglania* (Liang et al. 2009). Na China ocorreu, também, o primeiro relato na literatura de *P. parvisporus* (Han et al. 2005b), isolada de amostras de solo e insetos infectados, coletados na província de Yunnan.

Este é o primeiro relato formal referente ao isolamento e identificação do fungo *P. parvisporus* ocorrido após a publicação de Han et al. (2005b). Nosso relato científico é o primeiro a cerca da ocorrência desta espécie, e também de *P. formosus*, em amostras brasileiras. Esperamos, com este trabalho, estimular a avaliação do potencial destes microrganismos em processos bioquímicos, tal como tem sido feito para outras espécies *Paecilomyces* (Zerva et al. 2014). É possível que estes microrganismos sejam fontes futuras para a obtenção de enzimas celulolíticas e xilanolíticas, que podem auxiliar na produção de bioetanol lignocelulosídico.

CONCLUSÃO

A utilização do bagaço de cana-de-açúcar para a prospecção de linhagens fúngicas produtoras de enzimas lignocelulosídicas levou ao isolamento de *P. formosus*, *P. saturatus* e *P. parvisporus*, que apresentam potencial para a produção biotecnológica de bioetanol. Os resultados obtidos reafirmam a importância de se catalogar a biodiversidade brasileira e avaliar sua utilização em diferentes nichos industriais.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, S., BASUKRIADI, A., PWIROHARSONO, S. & SJAM-SURIDZAL, W. 2015. Insecticidal activity of ethyl acetate extracts from culture filtrates of mangrove fungal endophytes. *Mycobiology*, 43: 137-149.
- ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E. W. & LIPMAN, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215: 403-410.
- ANDERSON, M. S., DUTTON, M. F. & HARDING, K. 1979. Production and degradation of patulin by *Paecilomyces* species, a common contaminant of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 30: 229-232.
- ANTAS, P. R. Z., BRITO, M. M. S., PEIXOTO, E., PONTE, C. B. & BORBA, C. M. 2012. Neglected and emerging fungal infections: review of hyalohyphomycosis by *Paecilomyces lilacinus* focusing in disease burden, *in vitro* antifungal susceptibility and management. *Microbes Infect*, 14:1-8.
- AYLWARD, F. O., KHADEMPOUR, L., TREMMEL, D. M., MCDONALD, B. R., NICORA, C. D., WU, S., MOORE, R. J., ORTON, D. J., MONROE, M. E., PIEHOWSKI, P. D., PURVINE, S. O., SMITH, R. D., LIPTON, M. S., BURNUM-JOHNSON, K. E. & CURRIE, C. R. 2015. Enrichment and broad representation of plant biomass-degrading enzymes in the specialized hyphal swellings of *Leucoagaricus gongylophorus*, the fungal symbiont of leaf-cutter ants. *Public Library of Science one*, 10: e0134752.
- BAINIER, G. 1907. Mycothèque de l'école de Pharmacie XL *Paecilomyces*, genre nouveau de Mucédinées. *Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France*, 23: 26-27.
- BASSO, T. P., GALLO, C. R. & BASSO, L. C. 2010. Atividade celulolítica de fungos isolados de bagaço de cana-de-açúcar e madeira em decomposição. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45: 1282-1289.
- BATISTA, A. C. & MAIA, H. da S. 1957. Alguns *Penicillia* de contaminação. *Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco*, 15:149-180.
- BERBEE, M. L., YOSHIMURA, A., SUGIYAMA, J. & TAYLOR, J. W. 1995. Is *Penicillium* monophyletic? An evolution of the phylogeny in the family Trichocomaceae from 18S, 5.8S and ITS ribosomal DNA sequence data. *Mycologia*, 87: 210-222.

- BOMMARIUS, A. S., KATONA, A., SHEBEN, S. E., PATEL, A. S., RAGAUSKAS, A. J., KNUDSON, K. & PU, Y. 2008. Cellulase kinetics as a function of cellulose pretreatment. *Metabolic Engineering*, 10: 370-381.
- BONUGLI-SANTOS, R. C., VASCONCELOS, M. R. S., PASSARINI, M. R. Z., VIEIRA, G. A. L., LOPES, V. C. P., MAINARDI, P. H., SANTOS, J. A., DUARTE, L. A. D., OTERO, I. V. R., YOSHIDA, A. M. S., FEITOSA, V. A., PESSOA JÚNIOR, A. & SETTE, L. D. 2015 Marine-derived fungi: diversity of enzymes and biotechnological applications. *Frontiers in Microbiology*, 6:1-15.
- BRITO, M. M. S., LIMA, M. S., MORGADO, F. N., RAIBOLT, P., MENEZES, R., CONCEIÇÃO-SILVA, F. & BORBA, C. M. 2011. Characteristics of *Paecilomyces lilacinus* infection comparing immunocompetent with immunosuppressed murine model. *Mycoses*, 54: 513-521.
- BROWN, A. H. & SMITH, G. 1957. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Byssoschlamys* Westling. *Transactions of the British Mycological Society*, 40:17-89.
- COUTURIER, M., NAVARRO, D., OLIVÉ, C., CHEVRET, D., HAON, M., FAVEL, A., LESAGE-MEESSEN, L., HENRISSAT, B., COUTINHO, P. M. & BERRIN, J.-G. 2012. Post-genomic analyses of fungal lignocellulosic biomass degradation reveal the unexpected potential of the plant pathogen *Ustilagomaydis*. *BMC Genomics*, 13:1-14.
- DARRIBA, D., TABOADA, G. L., DOALLO, R. & POSADA, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Method*, 9: 772.
- DELGADO, D. A., SANT'ANA, A. S., GRANATO, D. & MASSAGUER, P. R. 2012. Inactivation of *Neosartorya fischeri* and *Paecilomyces variotii* on paperboard packaging material by hydrogen peroxide and heat. *Food Control*, 23: 165-170.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L. 1991. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 1: 13-15.
- ESCOULA, L. 1975. Toxigenic moulds in silage II In vitro kinetics of patulin and byssochlamic acid biosynthesis by *Byssoschlamys nivea* Westling in liquid media. *Annales de recherches veterinaires*, 6: 155-163.
- FREED, S., JIN, F.-L. & REN, S.-X. 2011. Phylogenetics of Entomopathogenic Fungi Isolated *Paecilomyces* spp. (Ascomycota) from the soils of different ecosystems. *Pakistan Journal of Zoology*, 43: 417-425.
- FURLANETO, M. C., LIMA, I. G. P., DUARTE, R. T. D., FURLANETO, L. & FUNGARO, M. H. P. 2006. Transformation of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* with *Agrobacterium tumefaciens*. *Letters in Applied Microbiology*, 42:631-636.
- GRAFENHAN, T., SCHROERS, H.-J., NIRENBERG, H. & SEIFERT, K. A. 2011. An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of necrotrophic fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella*. *Studies in Mycology*, 68: 79-113.
- GUILHERME, A. A., DANTAS, P. V. F., SANTOS, E. S. S., FERNANDES, F. A. N. & MACEDO, G. R. 2015. Evaluation of composition, characterization and enzymatic hydrolysis of pretreated sugar cane bagasse. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 32: 23-33.
- HAN, Y. F., CHU, H. L. & LIANG, Z. Q. 2005a. Two new species of the genus *Paecilomyces* in China. *Mycotaxon*, 92: 311-316.
- HAN, Y. F., LIANG, Z. Q. & CHU, H. L. 2007. A new thermophilic species of *Paecilomyces*, *Paecilomyces curticaenatus*. *Mycosystema*, 26: 13-16.
- HAN, Y. F., LIANG, Z. Q., CHU, H. L. & KANG, J. 2005b. *Paecilomyces parvosporus*, a new species with its relatives from Yunnan Province, China. *Mycotaxon*, 94: 357-363.
- HAN, Y. F., LIANG, Z. Q. & CHU, H. L. 2005c. Studies on the genus *Paecilomyces* in China II. *Paecilomyces* spp. from Guizhou. *Mycotaxon*, 91: 361-364.
- HAN, Y., ZHANG, Y., LIANG, J. & LIANG, Z. 2009. Studies on the genus *Paecilomyces* in China. Application of DELTA expert system on the entomopathogenic *Paecilomyces* sensu lato. *Mycotaxon*, 109: 75-84.
- HAQUE, A., GALEA, V., GOULTER, K., BISSETT, A. & KLINKEN, R. D. V. 2012. A preliminary investigation of prickly acacia dieback (*Acacia nilotica* ssp. *indica*). *Eighteenth Australasian Weeds Conference*, 131-134.
- HOUBRAKEN, J., LÓPEZ-QUINTERO, C. A., FRISVAD, J. C., BOEKHOUT, T., THEELEN, B., FRANCO-MOLANO, A. E. & SAMSON, R. A. 2011. *Penicillium araracuarense* sp. nov., *Penicillium elleniae* sp. nov., *Penicillium penarajense* sp. nov., *Penicillium vanderhammenii* sp. nov. and *Penicillium wotroi* sp. nov., isolated from leaf litter. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 1462-1475.
- HOUBRAKEN, J. & SAMSON, R. A. 2011. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. *Studies in Mycology*, 70: 1-51.
- HOUBRAKEN, J., VERWEIJ, P. E., PARIJS, A. J., BORMAN, A. M. & SAMSON, R. A. 2010. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. *Journal of Clinical Microbiology*, 48: 2754-2761.
- HOWELL, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease Journal*, 87: 4-10.
- INGLIS, P. W. & TIGANO, M. S. 2006. Identification and taxonomy of some entomopathogenic *Paecilomyces* spp. (Ascomycota) isolates using rDNA-ITS sequences. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 132-136.
- KHAN, A. L., HAMAYUN, M., RADHAKRISHNAN, R., WAQAS, M., KANG, S.-M., KIM, Y.-H., SHIN, J.-H., CHOO, Y.-S., KIM, J.-G. & LEE, I.-J. 2012a. Mutualistic association of *Paecilomyces formosus* LHL10 offers thermotolerance to *Cucumis sativus*. *Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology*, 101: 267-279.
- KHAN, A. L., HAMAYUN, M., KANG, S.-M., KIM, Y.-H., JUNG, H.-Y., LEE, J.-H. & LEE, I.-J. 2012b. Endophytic fungal association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: an example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiology*, 12: 1-14.
- KIKUCHI, H., MIYAGAWA, Y., SAHASHI, Y., INATOMI, S., HAGANUMA, A., NAKAHATA, N. & OSHIMA, Y. 2004. Novel trichothecanes, paecilomycin A, B, and C, isolated from entomopathogenic fungus, *Paecilomyces*. *Tetrahedron Letters*, 45: 6225-6228.
- KLINK, C. A. & MACHADO, R. B. 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology*, 19: 707-713.
- KOECK, D. E., KOELLMEIER, T., ZVERLOV, V. V., LIEBL, W. & SCHWARZ, W. H. 2015. Differences in biomass degradation between newly isolated environmental strains of *Clostridium thermocellum* and heterogeneity in the size of the cellulosomal scaffoldin. *Systematic and Applied Microbiology*, 38: 424-432.
- KRONBAUER, E. A. W., PERALTA, R. M., OSAKU, C. A. & KADOWAKI, M. K. 2007. Produção de xilanase por *Aspergillus casieus* com diferentes fontes de carbono. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 25: 207-216.
- KURTBÖKE, D. I., FRENCH, J. R., HAYES, R. A. & QUINN, R. J. 2015. Eco-taxonomic insights into Actinomycete symbionts of termites for discovery of novel bioactive compounds. *Biotechnological Applications of Biodiversity*, 147: 111-135.
- KUSARI, P., SPITELLER, M., KAYSER, O. & KUSARI, S. 2014. Recent Advances in Research on *Cannabis sativa* L. endophytes and their prospect for the pharmaceutical industry. In: KHARWAR, R. N., UPADHYAY, R. S., DUBEY, N. K. & RAGHUWANSHI, R. (Eds.). *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security*. Switzerland: Springer. p.3-15.
- LI, J., LI, H., BI, X. & ZHANG, K. Q. 2013. Multiple Gene Genealogical Analyses of a Nematophagous Fungus *Paecilomyces lilacinus* from China. *Journal of Microbiology*, 51: 423-429.
- LIANG, Z. Q., HAN, Y. F. & CHU, H. L. 2006. Studies on the genus *Paecilomyces* in China. IV. Two new species of *Paecilomyces* with monophialides. *Mycotaxon*, 97: 13-20.
- LIANG, Z. Q., HAN, Y. F. & CHU, H. L. 2007. A new thermotolerant *Paecilomyces* species which produces laccase and a bifurcated sporogenous structure. *Fungal Diversity*, 27: 95-102.

- LIANG, Z. Q., HAN, Y. F., CHU, H. L. & LIU, A. Y. 2005. Studies on the genus *Paecilomyces* in China I. *Fungal Diversity*, 20: 83-101.
- LIANG, Z. Q., HAN, Y. F., CHU, H. L. & FOX, R. T. V. 2009. Studies on the genus *Paecilomyces* in China V. *Taifanglania* gen. nov. for some monophialidic species. *Fungal Diversity*, 34: 69-77.
- LIMA, I. G. P., DUARTE, R. T. D., FURLANETO L. et al. (2006) Transformation of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* with *Agrobacterium tumefaciens*. *Letters in Applied Microbiology*, 42: 631-636.
- LOBUGLIO, K. F., PITT, J. I. & TAYLOR, J. W. 1993. Phylogenetic analysis of two ribosomal DNA regions indicates multiple independent losses of a sexual *Talaromyces* state among asexual *Penicillium* species in subgenus *Biverticillium*. *Mycologia*, 85: 592-604.
- LUANGSA-ARD, J., HYWEL-JONES, N. L. & SAMSON, R. A. 2004. The polyphyletic nature of *Paecilomyces* sensu lato based on 18S-generated rDNA phylogeny. *Mycologia*, 96: 773-780.
- MACQUEEN, D. & KORHALILLER, S. 2011. *Bundles of energy: the case for renewable biomass energy*. *Natural Resource Issues*. 24nd ed. London: IIED. 88 p.
- MADEIRA JR, J. V., MACEDO, J. A. & MACEDO, G. A. 2012. A new process for simultaneous production of tannase and phytase by *Paecilomyces variotii* in solid-state fermentation of orange pomace. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35: 477-482.
- MAYER, A. M. S., RODRÍGUEZ, A. D., TAGLIALATELA-SCAFATI, O. & FUSELAN, N. 2013. Marine Pharmacology in 2009–2011: Marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. *Marine Drugs*, 11: 2510-2573.
- MIOSO, R., MARANTE, F. J. T. & LAGUNA, I. H. B. 2015. The chemical diversity of the ascomycete fungus *Paecilomyces variotii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 177: 781-791.
- MIZUSHINA, Y., SUZUKI-FUKUDOME, H., TAKEUCHI, T., TAKEMOTO, K., KURIYAMA, I., YOSHIDA, H., KAMISUKI, S. & SUGAWARA, F. 2014. Formosusin A, a novel specific inhibitor of mammalian DNA polymerase β from the fungus *Paecilomyces formosus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22: 1070-1076.
- MOCHI, D. A., MONTEIRO, A. C., MACHADO, A. C. R. & YOSHIDA, L. 2010. Entomopathogenic fungal activity against pupae and adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *Veterinary Parasitology*, 168: 105-110.
- PAGANO, M. C. & DHAR, P. P. 2015. Fungal pigments: An overview. *Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments*, 13: 173-179.
- PUEL, O., GALTIER, P. & OSWALD, I. P. 2010. Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins*, 2: 613-631.
- RAPER, K. B. & THOM, C. 1949. A manual of the *Penicillia*. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 876 p.
- RONQUIST, F., TESLENKO, M., MARK, P. V. D., DARLING, A., HOHNA, S., LARGET, B., LIU, L., SUCHARD, M. A. & HUELSENBECK, J. P. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology*, 61: 539-542.
- SAKAGUCHI, K., INOUE, T. & TADA, S. 1939. On the production of aethyleneoxide- α - β -dicarboxylic acid by moulds. *Zentralblatt für Bakteriologie und Parasiten-Kunde, Abteilung 2*, 100: 302-307.
- SAKAGUCHI, K., SUGAWARA, F. & MIZUSHINA, Y. 2002. Inhibitors of eukaryotic DNA polymerases. *Seikagaku*, 74: 244-251.
- SAMSON, R. A. 1974. *Paecilomyces* and some allied *Hyphomycetes*. *Studies in Mycology*, 6: 1-119.
- SAMSON, R. A., HOUBRAKEN, J., VARGA, J. & FRISVAD, J. C. 2009. Polyphasic taxonomy of the heat resistant ascomycete genus *Byssochlamys* and its *Paecilomyces* anamorphs. *Persoonia*, 22: 14-27.
- SAMSON, R. A., YILMAZ, N., HOUBRAKEN, J., SPIERENBURG, H., SEIFERT, K. A., PETERSON, S. W., VARGA, J. & FRISVAD, J. C. 2011. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology*, 70: 159-183.
- SIEVERS, F., WILM, A., DINEEN, D. G., GIBSON, T. J., KARPLUS, K., LI, W., LOPEZ, R., MCWILLIAM, H., REMMERT, M., SODING, J., THOMPSON, J. D. & HIGGINS, D. G. 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology*, 7: 1-6.
- SILVERSTEIN, R. A., CHEN, Y., SHARMA-SHIVAPPA, R. R., BOYETTE, M. D. & OSBORNE, J. 2007. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresource Technology*, 98: 3000-3011.
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A. & KUMAR, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- WAQAS, M., KHAN, A. L. & LEE, I.-J. 2014. Plant-microorganism interactions: bioactive chemical constituents produced by endophytes and effects on rice plant growth. *Journal of Plant Interactions*, 9: 478-487.
- WAING, K. G. D., GUTIERREZ, J. M., GALVEZ, C. T. & UNDA, J. R. 2015. Molecular identification of leaf litter fungi potential for cellulose degradation. *Mycosphere*, 6: 139-144.
- WANG, F. W., JIAO, R. H., CHENG, A. B., TAN, S. H. & SONG, Y. C. 2007. Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin A obtained from *Cladosporium* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23: 79-83.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. & TAYLOR, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A., GELFAND, D. H., SNINSKY, J. J. & WHITE, T. J. (Eds.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. London: Academic Press. p.315-322.
- WU, J. F. 1985. Process for producing ethanol from plant biomass using the fungus *Paecilomyces* sp. *USA Patent* US6763585.
- ZERVA, A., SAVVIDES, A. L., KATSIFAS, E. A., KARAGOUNI, A. D. & HATZINIKOLAOU, D. G. 2014. Evaluation of *Paecilomyces variotii* potential in bioethanol production from lignocellulose through consolidated bioprocessing. *Bioresource Technology*, 162: 294-299.
- ZOGLOWEK, M., LÜBECK, P. S., AHRING, B. K. & LÜBECK, M. 2015. Heterologous expression of cellobiohydrolases in filamentous fungi – An update on the current challenges, achievements and perspectives. *Process Biochemistry*, 50: 211-220.