

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

LÍVIA DA COSTA COELHO

**TAXONOMIA, DIVERSIDADE E PROSPECÇÃO DO POTENCIAL XEROFÍLICO
DE FUNGOS ASSOCIADOS ÀS ANGIOSPERMAS ENDÊMICAS DA ANTÁRTICA
COLOBANTHUS QUITENSIS E *DESCHAMPSIA ANTARCTICA***

Belo Horizonte

2019

Lívia da Costa Coelho

TAXONOMIA, DIVERSIDADE E PROSPECÇÃO DO POTENCIAL XEROFÍLICO
DE FUNGOS ASSOCIADOS ÀS ANGIOSPERMAS ENDÊMICAS DA ANTÁRTICA
COLOBANTHUS QUITENSIS E *DESCHAMPSIA ANTARCTICA*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Rosa

Co-orientadora: Dra. Camila Rodrigues de Carvalho

Belo Horizonte

2019

043

Coelho, Lívia da Costa.

Taxonomia, diversidade e prospecção do potencial xerofílico de fungos associados às angiospermas endêmicas da antártica *colobanthus quitensis* e *deschampsia antarctica* [manuscrito] / Lívia da Costa Coelho. – 2019.

98 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientação: Prof. Dr. Luiz Henrique Rosa. Coorientação: Profa. Dra. Camila Rodrigues de Carvalho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Fungos. 3. Regiões Antárticas. 4. Magnoliopsida. I. Rosa, Luiz Henrique. II. Carvalho, Camila Rodrigues de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 579




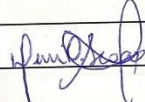
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

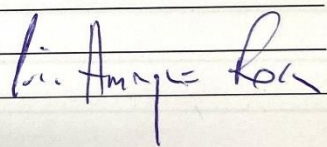
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

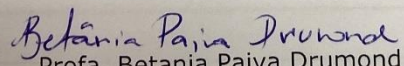
ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE LÍVIA DA COSTA COELHO
Nº REGISTRO: 2017695984

Às 14 horas do dia 12 de março de 2019, reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, a Comissão Examinadora composta pelos Drs. Daniel de Assis Santos (Departamento de Microbiologia-UFMG), Denise de Oliveira Scoaris (FUNED) e o Prof. Luiz Henrique Rosa - Orientador, para julgar o trabalho final "Taxonomia, diversidade e prospecção do potencial xerofílico de fungos associados às angiospermas endêmicas da Antártica *Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica*", da aluna Lívia da Costa Coelho, requisito final para a obtenção do Grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Flávio Guimarães da Fonseca - Coordenador do Programa, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata, para a apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição de resultado final. A candidata foi considerada **APROVADA**. O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 12 de março de 2019.

Dr(a). Daniel de Assis Santos 

Dr(a). Denise de Oliveira Scoaris 

Prof(a). Luiz Henrique Rosa [Orientador] 


Profa. Betânia Paiva Drumond
Vice-coordenadora

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor Dr. Luiz Henrique Rosa pela grande oportunidade de trabalhar com o que eu desejava há muito tempo. Pela confiança depositada em mim e por ter aberto as portas do Laboratório de Microbiologia polar e conexões tropicais.

À minha co-orientadora Camila, que foi mais que uma mãe para mim durante toda essa minha trajetória. Me dando conselhos, me chamando atenção e sempre me incentivando. Obrigada mamis! Por toda paciência, conhecimento, confissões, “puxões de orelha” e risos compartilhados durante todo esse tempo, que mais pareceu uma vida.

À Mariana, Zé, que me adotou e me ensinou com cada palavra ou gesto que eu poderia ser uma pessoa melhor a cada dia. Obrigada pela confiança, palavras de apoio, abraços de consolo, e principalmente às suas demonstrações de carinho peculiares que jamais passaram despercebidas!

À Vivian, que sempre demonstrou apoio, cuidado e eterno carinho ao sempre se interessar pelo andamento do meu projeto. Obrigada pelos conselhos, que me foram e serão úteis o resto da vida!

À Carol, que compartilhou comigo todos os momentos do mestrado e me fez permanecer positiva em relação às nossas dissertações. Obrigada por sempre estar presente quando eu precisei amiga!

Às eternas ICs Jéssica e Maria Theresa que além de terem me ensinado muito do que eu sei hoje, me deram apoio incondicional, durante as fases mais difíceis dessa etapa, com conselhos ou abraços.

Às endofíticas, que com cada gesto de carinho, brincadeiras e atitudes, me fizeram sentir em casa, mesmo quando estávamos no caos, em meio a coletas no meio da mata.

Ao Eldon, a Raíssa e a Débora pelas eternas conversas sobre séries, lamentos dos experimentos e da vida que nos acompanharam dia após dia, durante esses dois anos. Obrigada por tornarem o meu dia mais leve e mais divertido.

À Tamar e a Mayara que me ensinaram o poder da empatia e o quanto que unidos somos melhores.

À Láuren pela dedicação e companhia durante os fins de semana e dias inteiros, fazendo experimento até as 10 da noite.

Aos amigos do Labfungos que me acolheram, seja com palavras ou gestos, quando eu achei que nada ia dar certo e estava tudo perdido. Naqueles dias, vocês me fizeram levantar a cabeça e seguir em frente!

Ao meu primo Lucas por todo apoio incondicional durante todo esse tempo, me mantendo focada, sendo com palavras de incentivo ou me fazendo rir, mesmo nos momentos mais tensos.

Aos meus amigos de Marinha, que sempre me incentivaram e fizeram tudo que estiveram ao seu alcance para poderem me ajudar, sempre me fazendo refletir e me tornando

uma pessoa melhor. Com vocês não tem como alguém se sentir sozinho. Obrigada por vocês existirem!

Aos meus amigos, dramáticos, por sempre me incentivarem e me apoiarem, mesmo naqueles dias em que todos os experimentos davam errado. Obrigada por serem lindos e estarem comigo sempre, independente das dificuldades e desafios.

À minha família do Tatame, que me deram toda a compreensão e apoio necessários ao término da minha dissertação, mesmo sem compreenderem muito do assunto. Obrigada pela força!

À minha família de Ports, por todo amor e carinho, mesmo que seja a distância. Obrigada por acreditarem em mim, quando nem eu mesma acreditava!

À mel pelo acompanhamento durante as madrugadas trabalhando e também pelo amor incondicional, principalmente em meus piores momentos.

À minha família, pelo amor incondicional e compreensão! Muito obrigada por acreditarem em mim e por sempre me escutarem quando eu chegava em casa empolgada, contando dos meus experimentos, mesmo não entendendo nada do que eu estava falando!

Ao Departamento de Microbiologia, à Universidade Federal de Minas Gerais, às agências financiadoras (CAPES, CNPq e FAPEMIG), ao Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR) e à Marinha de Brasil por todo o apoio logístico e financeiro oferecido, possibilitando a realização desse projeto.

Ao Professor Dr. Daniel de Assis Santos e a Dra. Denise de Oliveira Scoaris por terem aceito o convite para participarem da minha banca.

A vocês, muito obrigada!

When I heard the learn'd astronomer,
When the proofs, the figures, were ranged in columns before me,
When I was shown the charts and diagrams, to add, divide, and measure them,
When I sitting heard the astronomer where he lectured with much applause in the lecture-
room,
How soon unaccountable I became tired and sick,
Till rising and gliding out I wander'd off by myself,
In the mystical moist night-air, and from time to time,
Look'd up in perfect silence at the stars.

Walt Whitman, "Leaves of Grass", 1855

RESUMO

A vegetação antártica é composta basicamente por musgos, líquens e angiospermas adaptadas às condições extremas da Antártica, entre as quais se destacam a pouca disponibilidade de água e as baixas temperaturas. As duas únicas angiospermas endêmicas da Antártica, *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) e *Deschampsia antarctica* Desv. (*Poaceae*), são plantas consideradas criotolerantes. Baseado na hipótese de que certos fungos têm potencial de contribuir para a resistência de plantas frente às condições extremas, este trabalho tem como objetivos caracterizar a diversidade e avaliar o potencial xerofílico dos fungos de *C. quitensis* e *D. antarctica*. Amostras de folhas, raiz e rizosfera de ambas as plantas foram coletadas em diferentes Ilhas do arquipélago Shetland do Sul e na Península continental da Antártica. Seiscentos e oitenta e três isolados fúngicos foram obtidos, dos quais 543 (79%) foram representados por fungos filamentosos e 140 (21%) por leveduras. Os fungos foram identificados por meio de técnicas de biologia molecular e caracterizados quanto a sua diversidade, riqueza e dominância. A comunidade associada a *D. antarctica* apresentou os maiores valores de diversidade, riqueza e dominância entre as duas plantas. *Pseudogymnoascus destructans* foi a única espécie isolada de todos os locais amostrados, a partir das amostras de *D. antarctica*. Quinze táxons foram comuns entre as duas angiospermas. Das espécies obtidas sistematicamente das folhas, raízes e rizosferas da *D. antarctica*, *P. destructans* foi o único isolado encontrado em comum. Não houve espécies em comum, de ocorrência sistemática, em *C. quitensis*. Os fungos obtidos das rizosferas de ambas angiospermas foram submetidos a ensaios de crescimento em concentrações graduais de glicerol a fim de se avaliar a capacidade de resistência a baixa disponibilidade de água. O gênero com maior capacidade de tolerar baixas atividades de água foi *Penicillium* (65 isolados), seguido por *Pseudogymnoascus* (22), *Thelebolus* (2 isolados) e *Leptosphaeria* (1). Os resultados obtidos neste trabalho indicam que as duas angiospermas antárticas abrigam táxons tanto cosmopolitas adaptados ao frio quanto endêmicos, incluindo aqueles xerofílicos capazes de tolerar baixa atividade de água e com potencial biotecnológico para uso em processo de melhoramento de plantas de interesse econômico quanto a resistência a seca.

Palavras-chave: Fungos. Antártica. Plantas antárticas. *Deschampsia antarctica*. *Colobanthus quitensis*. Xerofílicos.

ABSTRACT

Antarctica's vegetation is composed by, basically, mosses, lichens and angiosperms that have adaptations to extreme conditions, mainly dehydration and low temperatures. The only two Angiosperms that were present in the Antarctic ecosystem: *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) and *Deschampsia antarctica* Desv. (*Poaceae*) are plants considered to be cold tolerant. Agreeing with the idea that the fungi contribute to the resistance of the plant in a cold environment, the present work has as proposal the characterization of the diversity and evaluation of the xerophilic potential of the fungi isolated from *C. quitensis* e *D. antarctica*. Samples of leaves, roots and rhizosphere from both plants were collected in different places from South Shetlands Islands and in the Antarctic Peninsula. Six hundred eighty-three fungal isolates were obtained, of which 543 (79%) were represented by filamentous fungi and 140 (21%) by yeasts. The isolates were identified by molecular taxonomy and classified according to their diversity, richness and dominance. The community associated with *D. antarctica* showed higher values of diversity, richness and dominance between both plants. *Pseudogymnoascus destructans* was the only species isolated in common with *D. antarctica*'s samples, in all islands. Comparing the isolated taxa between both plants, 15 taxons in common were found. From the fungi recovered sistematically from leaf, roots and rhizosphere of *D. antarctica*, *P. destructans* was the only species found among them. There were no species in common isolated systematically from *C. quitensis*. The rhizosphere's fungi obtained from both plants, were also used in biological essay of growth in gradual glycerol's concentration, to evaluate the capacity of those fungi to resist to the low water availability. The taxon found more often among the xerophilic isolates was *Penicillium* (65 isolates), followed by *Pseudogymnoascus* (22). Less often were *Thelebolus* (2 isolates) and *Leptosphaeria* (1). The results obtained in this work showed that both Antarctic angiosperms shelter cold-adapted cosmopolitan fungi as well as endemic fungi, including those xerophilic capable of tolerating low water activity and with biotechnological capability to be used in the improvement of plants with economic potential regarding resistance to drought.

Keywords: Fungi. Antarctica. Antarctic plants. *Deschampsia antarctica*, *Colobanthus quitensis*. Xerophilic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. (A) <i>Colobanthus quitensis</i> (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae) e (B) <i>Deschampsia antarctica</i> Desv. (Poaceae). Fotos: L.H. Rosa	5
Figura 2. Hipótese do múltiplo antagonismo balanceado, envolvendo os fungos endofíticos, os patógenos e a planta hospedeira (Schulz et al. 2015, com modificações)	9
Figura 3. Mapa da coleta. Ilha Elefante; Ilha Half Moon; Ilha Pinguim; Ilha Rei George (Estação Antártica Comandante Ferraz-EACF); Ilha Rei George (Punta Hennequin); Península Antártica (Estação Argentina Primavera). (Wikimedia Commons)	16
Figura 4. Porcentagem de isolados de <i>Colobanthus quitensis</i> e <i>Deschampsia antarctica</i> obtidos por pontos de coleta	28
Figura 5. Número de isolados por substrato e por ilha de (a) <i>Deschampsia antarctica</i> e (b) <i>Colobanthus quitensis</i>	29
Figura 6. Similaridade entre os táxons fúngicos isolados de <i>Deschampsia antarctica</i> nas diferentes regiões amostradas	38
Figura 7. Similaridade dos fungos isolados de <i>Colobanthus quitensis</i> nas diferentes regiões amostradas	39
Figura 8. Similaridade de espécies fúngicas isoladas de <i>Colobanthus quitensis</i> e <i>Deschampsia antarctica</i>	40
Figura 9. Índice de similaridade (coeficiente de Sorensen) das comunidades fúngicas isoladas de <i>Deschampsia antarctica</i> entre as regiões amostradas	44
Figura 10. Índice de similaridade de Sorensen das comunidades fúngicas isoladas de <i>D. antarctica</i> entre os substratos amostrados (folha, raiz e rizosfera)	44
Figura 11. Curva de rarefação, utilizando o índice de Mao Tau, das comunidades fúngicas isoladas de <i>D. antarctica</i> (a) entre as ilhas Elefante, Half Moon, Pinguim, Rei George e a Península Antártica e (b) entre os substratos (folha, raiz e rizosfera)	45
Figura 12. Índice de similaridade (coeficiente de Sorensen) das comunidades fúngicas isoladas de <i>Colobanthus quitensis</i> entre as ilhas Pinguim, Rei George e a Península Antártica	46
Figura 13. Índice de similaridade de Sorensen das assembleias fúngicas isoladas de <i>C. quitensis</i> entre os substratos (folha, raiz e rizosfera)	46
Figura 14. Curva de rarefação de Mao Tau das assembleias fúngicas isoladas de <i>Colobanthus quitensis</i> , (a) das regiões amostradas e (b) entre os substratos amostrados (folha, raiz e rizosfera)	47

Figura 15. Crescimento do isolado *Penicillium commune* UFMGCB 13222 nos meios DG-18, DG-36, DG-54 e DG-72, nos dias 9, 18 e 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação molecular dos fungos isolados de <i>Deschampsia antarctica</i> e <i>Colobanthus quitensis</i>	31
Tabela 2. Índices de diversidade (Fisher α , Margalef e Simpson) dos isolados fúngicos coletados das regiões amostradas	43
Tabela 3. Identificação dos fungos capazes de crescer em meio DG com 54 e 72% de glicerol	48
Tabela 4. Taxa de crescimento micelial dos isolados obtidos da rizosfera das plantas hospedeiras capazes de crescer até 72% de glicerol em 27 dias	51
Tabela 5. Média das medidas de crescimento dos isolados de rizosfera que cresceram no meio DG-72	78

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% - por cento

BDA- Ágar Dextrose Batata

BLASTn - Basic Local Alignment Search Tool

C-Carbono

°C - Graus Celsius

'cf.' - Comparado com

cm - Centímetro

CTAB - Brometo de cetil trimetilamonio

DG-18- *Dichloran-Glycerol*

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA - Ácido desoxirribonucléico

dNTP - Desoxirribonucleotídeos fosfatados

E- Leste

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

endofíticos NC -endofíticos não-clavicipitaceos

g L⁻¹- Grama por Litro

HCl- Cloreto de Hidrogênio

ITS - Região transcrita interna

Km- Quilômetros

Km²- Quilômetros quadrados

Km/h- Quilômetros por hora

m- Metros

M- Molar

MEGA - Mega Molecular Evolutionary Genetics Analysis

MgCl₂- Cloreto de Magnésio

mg/L- Miligrama por Litro

Min – minutos

mL – Mililitro

mm - Milímetro

mM – Milimolar

mm.d⁻¹- Milímetro por diâmetro

MSP- PCR - PCR microsatélite

N-Nitrogênio

N- Norte

NaCl- Cloreto de Sódio

NCBI - National Center for Biotechnology Information

ng – Nanograma

nm- Nanômetro

OPERANTAR- Operação Antártica

pb - Pares de bases

PCR - Reação em cadeia da polimerase

pH - Potencial hidrogeniônico

p/v - Peso por volume

rDNA - DNA ribossomal

RPB2 – RNA polimerase II

r.p.m - Rotações por minuto

s – Segundos

S-Sul

SDS - Sódio dodecil sulfato

T.a - Temperatura ambiente

TBE - Tris borato

Tris- Trishidroximetilaminometano

UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais

V- Volts

v/v - Concentração volume por volume

w-Oeste

μg – Micrograma

μL – Microlito

μmol-Micromolar

μMm⁻² s⁻¹- Micromol por metro ao quadrado por segundo

α- Alfa

Sumário

1. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. Antártica	17
2.2 Plantas antárticas.....	18
2.3 Diversidade de micro-organismos da Antártica	21
2.4 Fungos endofíticos e associados a plantas.....	22
2.5 Adaptação dos fungos ao ambiente xerofílico e ao frio	26
3. OBJETIVOS	28
3.1. Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos	28
4.MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1. Áreas De Coleta.....	28
4.2. Coleta, isolamento e preservação dos fungos	31
4.3. Identificação de fungos.....	32
4.3.1. Fungos filamentosos.....	32
4.3.1.2. Extração de DNA total	32
4.3.1.3 Amplificação utilizando o iniciador (GTG) ₅	33
4.3.1.4. Amplificação da região ITS	34
4.3.1.5. Amplificação parcial do gene da β -tubulina	34
4.3.1.6. Amplificação parcial do gene da RNA Polimerase II.....	35
4.3.1.7. Amplificação parcial do gene do Fator de Elongação -1α	36
4.3.2. Leveduras	36
4.3.2.1 Extração do DNA total.....	36
4.3.2.2. Amplificação utilizando os iniciadores NL1 e NL4.....	37
4.3.3. Purificação de amplicons	38
4.3.4. Reações de sequenciamento	38
4.3.4.1 Precipitação das reações de sequenciamento	38
4.3.5. Análise computacional das sequências e análise filogenética.....	39
4.4. Diversidade da comunidade fúngica: cálculo dos índices de abundância, riqueza e dominância	39
4.5 Avaliação da atividade xerofílica.....	40
4.5.1. Triagem para detecção da atividade xerofílica.....	40
4.5.2. Ensaio de detecção da atividade xerofílica	41
5.RESULTADOS	41

5. 1. Isolamento.....	41
5. 2. Identificação e distribuição dos táxons	43
5. 3. Diversidade das assembleias fúngicas associadas às angiospermas antárticas	56
5. 4. Avaliação da atividade xerofílica.....	61
5. 4.1 Pré-ensaio de detecção da atividade xerofílica	61
5. 4.2 Ensaio de detecção da atividade xerofílica	64
6. DISCUSSÃO	67
7. CONCLUSÃO.....	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
APÊNDICE A	97

1. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Colobanthus quitensis (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) e *Deschampsia antarctica* Desv. (*Poaceae*), as únicas angiospermas endêmicas presentes no ecossistema antártico, são plantas que suportam baixas temperaturas, $-9,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-26,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente (Alberdi, 2002). Essa proteção contra o congelamento é conferida por uma série de mecanismos metabólicos, tais como o aumento na concentração de proteínas solúveis na membrana celular e o acúmulo de açúcares em locais estratégicos como nas folhas (Bravo et al. 2001).

De acordo com Strobel (2003), muitas das propriedades benéficas atribuídas às plantas hospedeiras podem ser decorrentes da produção de substâncias sintetizadas por micro-organismos endofíticos ou pela interação micro-organismo-hospedeiro. O conceito de endofítico consiste em micro-organismos capazes de sobreviver no interior de plantas, por pelo menos parte de seu ciclo de vida, sem causar nenhuma manifestação visível de doença (Bacon & White, 2000). Todas as plantas em um ambiente natural aparentam ter alguma relação simbiótica com fungos endofíticos (Rodriguez et al. 2008), incluindo as duas angiospermas antárticas (Moller & Dreyfuss, 1996; Upson et al. 2009; Rosa et al. 2009; Rosa et al. 2010; Santiago et al. 2012; Santiago et al. 2016).

A atividade microbiológica em ambientes com baixas temperaturas é influenciada pela formação de gelo, resultando na baixa disponibilidade de água líquida. Durante o congelamento, a reorganização das moléculas de água, formam cristais e expõem os íons, aumentando a concentração desses na água no estado líquido remanescente, ocasionando um aumento do estresse físico desses organismos (Gunde-Cimerman et al. 2003). O congelamento ocasiona a desidratação das células por reduzir a absorção e a condução de água no organismo. Nessas condições de baixa atividade de água, os micro-organismos reagem tanto produzindo substâncias intracelulares, quanto extracelulares (Ruisi et al. 2007). Outras substâncias de baixo peso molecular, como os poli-álcoois e a trealose, são acumulados no ambiente intracelular, dificultando que ocorra congelamento e, conseqüentemente, o processo de desidratação (Gunde-Cimerman et al. 2003). Outras substâncias como a melanina (Kogej et al. 2004) e a micosporina (Volkman et al. 2003) também podem ser produzidas, acumuladas e exercerem essa mesma função. Esses fatores demonstram que há uma relação entre a resistência das espécies fúngicas ao frio e a dessecação (Gunde-Cimerman et al. 2003). Os fungos adaptados a ambientes xerofílicos são de grande interesse para agricultura, pois tem potencial para favorecer a permanência e o desenvolvimento de plantas de interesse econômico em regiões com solos áridos, pobres em nutrientes e frios.

Em relação às duas angiospermas antárticas, já foram descritos na literatura estudos filogenéticos (Wouw et al. 2008), fisiológicos (Alberdi et al. 2002), de adaptação ao frio (Gidekel et al. 2003; Gianoli et al. 2004; Bravo et al. 2005; Concha et al. 2005) e da diversidade da comunidade microbiana associada (Moller & Dreyfuss, 1996; Frenot et al. 2005; Upson et al. 2009; Rosa et al. 2009; Rosa et al. 2010; Teixeira et al. 2010; Santiago et al. 2012; Santiago et al. 2016). Porém, até o momento nenhum trabalho acerca da diversidade da comunidade de fungos, incluindo endofíticos e associados à raízes e a rizosferas de *C. quitensis* e *D. antarctica*, bem como a capacidade destes fungos para resistir a ambientes xerofílicos por esses fungos foram realizados. A partir do exposto acima, o presente trabalho tem como proposta responder as seguintes questões:

1. Qual a composição taxonômica, diversidade e similaridade entre as assembleias de fungos das folhas, raízes e rizosferas de *C. quitensis* e *D. antarctica*?
2. Os fungos obtidos são capazes de resistir a condições de baixa disponibilidade de água?

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antártica

Segundo Chevin & Hoffmann (2017), ambientes extremos são aqueles com condições severas definidas pelas respostas dos organismos a eles. Esses ambientes, normalmente, se encontram fora da média padrão das condições ambientais que seriam a temperatura entre 4 °C e 40 °C, pH entre 5 e 8,5 e salinidade entre 0,5 e 35 g.L⁻¹ (Kristjánsson & Hreggvidsson, 1995). Os organismos que conseguem sobreviver nessas condições são denominados extremófilos e podem ser classificados quanto a capacidade de crescer em baixas (psicrofílicos) e altas temperaturas (termofílicos), em baixo (acidófilos) e alto pH (alcalinos), em alta e baixa pressão (barófilos), em baixa atividade de água (xerofílicos) e em alta porcentagem de sais (halófitos) (Rothschild & Mancinelli, 2001; Magan, 2007).

O continente antártico possui aproximadamente 14 milhões de km² de extensão territorial, com 86% do seu total coberto por gelo maciço que concentram de 60-70% da água continental mundial (Aassp, 2011). Apesar dessa quantidade de água estar presente, somente uma pequena parcela se encontra disponível para os seres vivos (Wynn-Williams, 1990). A maior parte desta água se encontra permanentemente congelada ao longo do ano (Wynn-Williams, 1990), a qual apenas está disponível após o descongelamento do gelo ou o

derretimento da neve. Por isso, a umidade do solo passa de árida, durante o inverno, para saturada, durante o verão (Alberdi, 2002).

A Antártica é considerada um desses ambientes extremos, por apresentar, dentre outras características, baixas temperaturas e umidade, alta incidência de radiação (Fell et al. 2006; Gonçalves et al. 2012) e fortes ventos. A temperatura varia entre 0 °C e -20 °C na zona costeira (Izaguirre & Mataloni, 2000); a umidade se iguala a do deserto, pois o gelo impede a ocorrência de água livre durante boa parte do ano (Wynn-Williams, 1990); a incidência de radiação se aproxima à do Equador, com reflexão de 75% da mesma, devido ao gelo (Izaguirre & Mataloni, 2000); e os fortes ventos tendem a isolar termicamente a Antártica da influência térmica dos outros continentes (Wynn-Williams, 1990).

No arquipélago das ilhas Shetlands do Sul, onde se concentram a maior parte dos estudos com plantas vasculares da Antártica, a temperatura é mais alta em relação ao centro do continente. Durante o verão a mínima se encontra entre -2°C e -4 °C e a máxima entre 0 °C e 6 °C (Edwards & Smith, 1988; Zúñiga et al. 1996). Já no inverno as temperaturas situam-se entre -10 °C e -20 °C (Jackson & Seppelt, 1995). Segundo Beyer et al. (2000), o solo da Península Antártica é caracterizado pela alta presença de partículas minerais brutas e carbono orgânico total, baixas concentrações de C/N, pH ácido e é frequentemente enriquecido de nutrientes devido a influência de aves e mamíferos marinhos e também de spray marinho. Em relação à umidade, a precipitação, na forma de chuva e neve, é de aproximadamente 400 mm por ano (Alberdi et al. 2002).

Essas condições fazem da Antártica um ambiente inóspito para a maioria dos seres vivos, desencadeando uma série de mecanismos de adaptação em diferentes espécies presentes nesse continente (Cowan & Tow, 2004), como, por exemplo, a proteção contra a radiação, às baixas temperaturas e a desidratação. De acordo com Oarga (2009), estudos desses ambientes extremos são importantes para a compreensão das relações ecológicas entre os organismos, investigações evolutivas e origem de novas espécies.

2.2 Plantas antárticas

Os estudos acerca da biodiversidade no continente antártico têm-se desenvolvido, principalmente, devido ao receio dos cientistas quanto ao aumento do turismo na área, das atividades econômicas depredatórias como a pescaria (Braun et al. 2014) e também das mudanças climáticas. De acordo com Chown et al. (2015), a biodiversidade da Antártica inclui macroalgas, plantas, animais terrestres e marinhos e também a microbiota.

No ambiente terrestre da Antártica, a diversidade de briófitas, fungos liquenizados e microorganismos é elevada (Lopez-Bueno et al. 2009). A maior parte do continente antártico é coberta permanentemente por gelo ou neve, com apenas 0,34% do território disponível para a colonização das plantas (Convey et al. 2009) e, por isso, representa o único continente no mundo que possui a sua flora dominada por plantas basais (Convey, 2000). A vegetação é composta, basicamente, por musgos (aproximadamente 100 espécies), fungos liquenizados (aproximadamente 400 espécies) e angiospermas (duas espécies), os quais possuem adaptações às condições extremas da Antártica (BAS, 2017). Dentre as adaptações destacam-se principalmente a desidratação (Malinowski & Belesky, 2000) e as baixas temperaturas (Snider et al. 2000), bem como regime específico de luz, elevada exposição à radiação ultravioleta, fortes ventos, solos pouco desenvolvidos (oligotróficos e ultraoligotróficos) e eventos de congelamento e descongelamento (Fell et al. 2006; Gonçalves et al. 2012; Convey et al. 2014).

As angiospermas presentes na Antártica são a eudicotiledônea *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) e a monocotiledônea *Deschampsia antarctica* Desv. (*Poaceae*) (**Figura 1**). Essas angiospermas apresentam diferentes adaptações fisiológicas, bioquímicas e anatômicas que as permitem sobreviver na Antártica (Alberdi et al. 2002; Bravo & Griffith, 2005; Giełwanowska & Szczuka, 2005; Ruhland & Krna, 2010), como proteção contra a dissecação (Malinowski & Beleski, 2000) e aos longos períodos de congelamento (Snider et al. 2000; Bravo et al. 2001; Alberdi et al. 2002), uma vez que atividade de água e temperatura são considerados os fatores mais importantes no desenvolvimento de organismos terrestres antárticos (Chwedorzewska, 2009). *Colobanthus quitensis* é uma planta que realiza somente o resfriamento como forma de evitar o congelamento de seus tecidos, pois não é capaz de tolerá-lo, resistindo até $-9,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, enquanto *D. antarctica* é considerada uma planta altamente frio tolerante e capaz de tolerar o congelamento de seus tecidos com resistência comprovada até $-26,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Bravo et al. 2001; Alberdi et al. 2002). Essa proteção contra o congelamento é conferida pela junção de uma série de mecanismos metabólicos, como o aumento na concentração de proteínas solúveis na membrana celular e o acúmulo de açúcares em locais estratégicos, como nas folhas (Bravo et al. 2001). Outros fatores que influenciam o desenvolvimento dessas plantas nesse ambiente extremo são a duração do dia e os diferentes níveis de radiação. Durante o verão austral, dezembro a fevereiro, a duração do dia é de aproximadamente 20 horas e a radiação alcança valores mais altos que $2,000\text{ }\mu\text{Mm}^{-2}\text{ s}^{-1}$; já no inverno esses valores não ultrapassam os $50\text{ }\mu\text{Mm}^{-2}\text{ s}^{-1}$ (Schroeter et al. 1995).



Figura 1. (A) *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae) e (B) *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae). Fotos: L.H. Rosa.

Segundo Frenot et al. (2005), a comunidade de plantas antárticas aparenta ser mais limitada pelas condições ambientais extremas do que pelas interações bióticas e, por isso, podem ser muito sensíveis às mudanças climáticas. Durante o verão, nas Ilhas Shetlands do Sul as chuvas são mais frequentes do que a neve (Quayle et al. 2003), disponibilizando a água para a comunidade vegetal (Convey, 2006). Segundo Kennedy (1993), a disponibilidade de água em seu estado líquido interfere mais no metabolismo das plantas presentes nesse ambiente do que a temperatura, uma vez que uma pequena mudança na umidade do solo pode resultar em uma mudança significativa nessa comunidade.

Ambas angiospermas representam os modelos mais estudados em relação a resposta biológica da comunidade vegetal ao recente aquecimento atmosférico das Ilhas Shetlands do Sul (Smith, 1994; McGraw & Day, 1997; Gerighausen et al. 2003; Convey, 2006; Kellmann-Sopyła & Gielwanowska, 2015; Sanhueza et al. 2016). Algumas populações locais alteraram a estratégia reprodutiva, aumentando a produção ou a germinação de sementes (Convey, 1996; Zhang et al. 2004), possivelmente em resposta ao aquecimento. A população dessas angiospermas está se expandindo na Antártica Marítima (Casaretto et al. 1994; Smith, 1994; Day et al. 1999; Convey, 2003). Sanhueza et al. (2016) demonstraram que o aquecimento dessa região pode estender a faixa de temperaturas na qual a *C. quitensis* germina, resultando em plantas maiores, com maior *fitness* e na ampliação da expansão territorial dessa espécie. Apesar disso, os ecotipos antárticos dessas angiospermas não estenderam o seu limite sul, provavelmente devido à falta de ambientes terrestres compatíveis ao seu desenvolvimento (Convey, 1996; Convey & Smith, 2003), uma vez que a maior parte do continente é coberto

por gelo ou por neve durante todas as estações. A *Deschampsia antarctica* ocorre, frequentemente, em áreas costeiras, em baixas altitudes- de no máximo 115 m, em terraços costais ou sobre encostas. A umidade do solo varia de seco a úmido e, normalmente, há a entrada de nutrientes provenientes de aves e mamíferos, enquanto a *C. quitensis* prefere locais mais abrigados e solos mais secos, enriquecido com minerais. Usualmente, essa é encontrada em associação com a *D. antarctica* ou outras plantas (Greene & Holtom, 1971; Komárková et al. 1985; Vera, 2011; Cavieres et al. 2018).

2.3 Diversidade de micro-organismos da Antártica

A comunidade microbiana da Antártica é o componente dominante em termos de biodiversidade da região, controlando a maior parte do fluxo de carbono biológico, nutrientes e energia (Wynn-Williams, 1990). Apesar disso, a diversidade desses micro-organismos é considerada baixa, mesmo quando comparada a outros solos de regiões temperadas, devido às condições ambientais severas desse continente (Yergeau et al. 2007). As comunidades microbianas da Antártica podem ser formadas por propágulos provenientes do ar atmosférico de outras regiões, por correntes marítimas e/ou pela dispersão por animais (Vincent, 2000). Por outro lado, espécies endêmicas também são encontradas na Antártica (Bridge & Spooner, 2012). Já foram descritos arqueias, bactérias, vírus e fungos nos diferentes ecossistemas antárticos. As bactérias parecem predominar em certos habitats e incluem acidobactérias, actinobactérias, proteobactérias e bacteroidetes (Chown et al. 2015). As arqueias já foram encontradas em lagos subglaciais, junto com bactérias (Christner et al. 2014). Os vírus já foram descritos em lagos antárticos e apresentam a maior diversidade já encontrada em sistemas aquáticos (López-Bueno et al. 2009; Anesio & Bellas, 2011).

Os fungos vêm sendo estudados na Antártica desde 1897 (Ruisi et al. 2007). Desde então, espécies pertencentes aos filos *Chytridiomycota*, *Glomeromycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota* e *Ascomycota* já foram caracterizadas, bem como seus anamorfos (Bridge & Spooner, 2012). Tais fungos realizam um papel essencial no ecossistema podendo atuar como sapróbios, mutualistas e parasitas, degradando matéria orgânica e reciclando nutrientes (Ruisi et al. 2007). Apesar de uma limitada microbiota, muitas espécies fúngicas foram descritas para essa região (Bridge et al. 2008). De acordo com Tosi et al. (2005), a presença dos fungos está correlacionada com a de seus hospedeiros, como macroalgas, plantas, invertebrados e vertebrados, portanto, a distribuição de diferentes substratos interfere na distribuição dos fungos antárticos (Ruisi et al. 2007). Na Antártica os fungos já foram obtidos de diversos substratos

como rochas (Onofri et al. 2000; Selbmann et al. 2005; Onofri et al. 2007; Gonçalves et al. 2017a), lagos (Gonçalves et al. 2012), sedimentos marinhos (Gonçalves et al. 2013), água do mar (Gonçalves et al. 2017b), solos (Bridge & Spooner, 2001; Stchigel et al. 2001; Connel et al. 2008; Kostadinova et al. 2009; Arenz & Blanchette, 2011; Godinho et al. 2015; Gomes et al. 2018), *permafrost* (Zucconi et al. 2012), gelo glacial (Sonjak et al. 2006), neve (Menezes et al. 2016), artrópodes (Bridge & Worland, 2004; Bridge et al. 2005; Bridge & Denton, 2007; Bridge & Worland, 2008), esponjas marinhas (Henriquez et al. 2014; Poveda et al. 2018), oligoquetas (Herrera et al. 2016), iscas de madeira (Grasso et al. 1997; Arenz et al. 2006; Stchigel et al. 2009), líquens (Santiago et al. 2015), macroalgas (Loque et al. 2010; Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014; Furbino et al. 2018), briófitas (Tosi et al. 2002; Zhang et al. 2013) e plantas vasculares (Moller & Dreyfuss, 1996; Rosa et al. 2009; Upson et al. 2009; Rosa et al. 2010; Santiago et al. 2012; Santiago et al. 2016).

Inúmeras espécies de fungos foram descritas com capacidade de adaptação às condições extremas, tais como alta incidência de radiação, baixa disponibilidade de água, baixas temperaturas e baixa disponibilidade de nutrientes (Bridge & Spooner, 2012). A maioria dos fungos antárticos é cosmopolita, distribuídos globalmente, sendo grande parte, propágulos transportados para a Antártica por correntes de ar ou oceânicas, mamíferos ou aves marinhas. Muitos deles são incapazes de crescer nesse continente ou, quando crescem, levam um tempo maior para concluir o seu ciclo de vida (Ruisi et al. 2007). De acordo com Furbino et al (2014), esses fungos podem crescer ao menos durante o verão antártico, no qual as temperaturas são mais altas, demonstrando um comportamento mesofílico ou psicofílico. Uma pequena parte dos fungos é denominada endêmica, os quais são fungos bem adaptados a esse ambiente, tendo a capacidade de crescerem ativamente e se reproduzirem em baixas temperaturas (fungos psicofílicos) ou seja, capazes de concluir o seu ciclo de vida em um curto período, (Ruisi et al. 2007).

2.4 Fungos endofíticos e associados a plantas

Todas as plantas em um ambiente natural aparentam ter alguma relação simbiótica com fungos endofíticos (Rodriguez et al. 2008) e/ou com fungos associados. O conceito de endofítico consiste em micro-organismos que vivem no interior das plantas, por pelo menos parte de seu ciclo de vida, sem causar nenhuma manifestação visível de doença (Bacon & White, 2000). Para que essa interação ocorra assintomaticamente é provável que haja uma relação de múltiplo antagonismo balanceado entre os fungos endofíticos, os patógenos

(bactérias, protozoários, vírus e fungos) e os próprios mecanismos de defesa da planta. Esse sistema responde defensivamente contra os potenciais patógenos e contra os endofíticos, enquanto esses respondem com toxinas, evitando a competição entre eles e também modulando a resposta imunológica desta planta (Schulz et al. 2015), como pode ser observado na **Figura 2**. Os fungos endofíticos utilizam de algumas estratégias para tentarem sobrepor o sistema de defesa da planta como: (1) secreção de metabólitos tóxicos ao hospedeiro (Schulz et al. 2002), (2) modulação dos fitormônios da planta hospedeira (Navarro & Heil, 2014), e (3) secreção de enzimas líticas (Suryanarayanan et al. 2012). Segundo Schulz & Boyle (2005), como algumas dessas estratégias são agressivas para a planta hospedeira, se não houvesse um balanço entre os sistemas de virulência do fungo e os de defesa da planta, a interação seria sintomática, gerando lesões teciduais à hospedeira e o fungo seria considerado como um fitopatógeno. Em contrapartida, caso os mecanismos de proteção do hospedeiro se sobreponham aos fatores de virulência do fungo, esse pode vir a ser eliminado (Kusari et al. 2012). Isso corrobora com a hipótese de que essa interação somente permanecerá assintomática se houver um antagonismo balanceado entre o sistema de defesa da planta e o de virulência do fungo (Schulz & Boyle, 2005). Além disso, para que essa interação permaneça assintomática, o equilíbrio entre os fungos endofíticos e os patógenos, e entre as plantas e os patógenos, também deve ser mantido (Schulz et al. 2015). Segundo Kusari et al. (2012), a produção de metabólitos secundários parece auxiliar também nessa competição entre os fungos endofíticos e outros patógenos ou até mesmo contra outros fungos endofíticos. Já no caso das plantas o seu próprio sistema de defesa se encarrega de controlar os patógenos (Schulz et al. 2015). Quando esse sistema se encontra em equilíbrio, os patógenos são suprimidos, tanto pela planta, quanto pelos fungos endofíticos, e a interação permanece assintomática. Caso ocorra um desequilíbrio entre eles, a planta aparentará uma doença visível, demonstrando o comprometimento de seu tecido. Uma das formas de se romper este equilíbrio seria uma alteração nas condições ambientais, que poderia favorecer ou desfavorecer qualquer um dos três eixos desse antagonismo balanceado (planta, endofítico e patógeno).

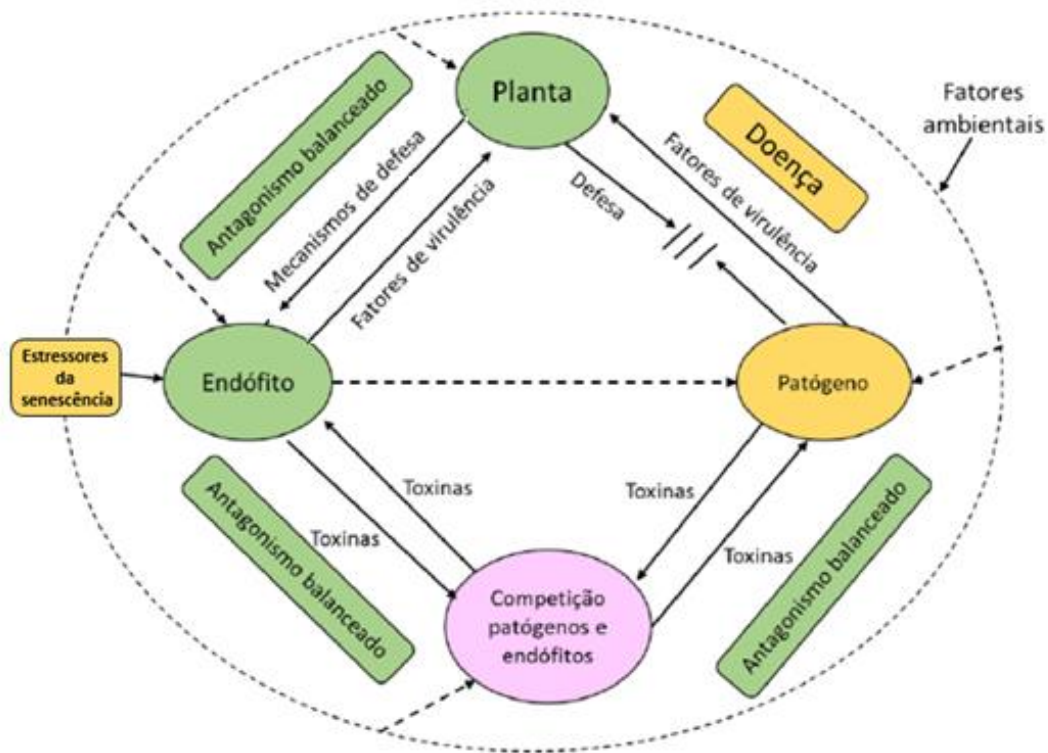


Figura 2. Hipótese do múltiplo antagonismo balanceado, envolvendo os fungos endófitos, os patógenos e a planta hospedeira (Fonte: Schulz et al. 2015, com modificações).

Segundo Haridoim et al. (2015), já foram isolados fungos endófitos pertencentes aos filos *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Glomeromycota* e *Zygomycota*. Porém, a maioria das espécies de fungos endófitos já isoladas pertence ao filo *Ascomycota* e seus anamorfos (Huang et al. 2001). Os fungos endófitos podem ser classificados em dois grandes grupos, levando-se em consideração as diferenças em suas relações evolutivas e taxonômicas, suas interações com a planta hospedeira e em seu nicho ecológico (Rodríguez et al. 2009). O grupo dos (1) clavicipitaceos (endófitos-C) inclui aqueles fungos que são capazes de infectar somente algumas espécies de gramíneas, enquanto o grupo dos (2) não-clavicipitaceos (endófitos-NC) não possuem nenhuma restrição para o sucesso da infecção, podendo interagir tanto com plantas avasculares, como musgos, quanto com plantas vasculares como gimnospermas e angiospermas. Os fungos endófitos clavicipitaceos pertencem à família *Clavicipitaceae* e ao filo *Ascomycota*, enquanto os fungos endófitos não-clavicipitaceos possuem a maioria de suas espécies nos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota*, uma vez que o grupo dos endófitos-NC ainda

não foi bem definido taxonomicamente (Rosa et al. 2011). A composição e a frequência dos fungos endofíticos podem variar de acordo com diversos fatores como: distribuição geográfica da planta, altura da planta hospedeira em relação ao solo, idade do vegetal, disposição das folhas e fatores climáticos do ambiente (Saikkonen et al. 1998; Strobel, 2003; U'ren et al. 2012). Além disso, a comunidade endofítica pode refletir o estado fisiológico da planta hospedeira, uma vez que essa é vulnerável às diversas condições climáticas ao longo das estações do ano, como disponibilidade de água, nutrientes, luz e temperatura, afetando assim, diretamente aquela comunidade (Vieira et al. 2012).

Existem poucos trabalhos que estudaram a comunidade endofítica de folhas ou raízes das angiospermas antárticas. Em relação a *D. antarctica*, cinco trabalhos foram publicados, tendo isolado fungos de folhas e raízes (Moller & Dreyfuss, 1996; Rosa et al. 2009; Upson et al. 2009; Santiago et al. 2012; Santiago et al. 2016). Em relação a *C. quitensis*, três trabalhos foram publicados, os quais obtiveram fungos somente de folhas (Moller & Dreyfuss, 1996; Rosa et al. 2010; Santiago et al. 2016).

Já a comunidade microbiana do solo representa o melhor reservatório de diversidade biológica mundial, até o momento (Gams, 2007). A rizosfera, parte do solo que se encontra mais intimamente ligada às raízes, é influenciada por secreções delas (Egamberdieva et al. 2007). Essas favorecem a nutrição e a manutenção dos micro-organismos que se encontram nessa área, por meio do depósito de Carbono nos seus arredores (Berendsen et al. 2012). De acordo com Bais et al. (2006) a densidade da comunidade microbiana na rizosfera é muito maior do que aquela nos arredores da mesma. Além disso, as plantas podem determinar a composição do microbioma dessa região, por meio da secreção ativa de compostos que, especificamente, estimulam ou reprimem um determinado grupo microbiano (Doornbos et al. 2012). Esse efeito é conhecido como “efeito rizosfera”, no qual a comunidade de micro-organismos na rizosfera, apesar de ser mais densa, é menos diversa do que aquela encontrada ao seu redor, devido a essa seleção efetuada pelos compostos produzidos pela planta (Costa et al. 2006).

Segundo Mendes et al. (2013), estes micro-organismos, associados às plantas, podem interferir na germinação das sementes, crescimento, desenvolvimento e produtividade do vegetal, além da nutrição e proteção contra patógenos. Um exemplo disso seriam os micro-organismos fixadores de nitrogênio, como os fungos micorrizicos (Miransari, 2011). Estes fungos contribuem para a captação de água e de nutrientes, como o nitrogênio inorgânico e, em troca, recebem carbono da sua planta hospedeira (Smith & Red, 2008). Também são utilizados para a estruturação física do solo e para a supressão de possíveis micro-organismos patógenos desta planta presentes no solo (Johnson & Graham, 2013). Porém, não são todas as plantas que

possuem fungos micorrízicos associados a elas. *C. quitensis* e *D. antarctica*, por exemplo, não possuem associação com esses fungos. O grupo dos fungos endofíticos negros septados exerce função similar a dos micorrízicos, facilitando a aquisição de água e nutrientes, em um ambiente tão extremo como a Antártica (Upson et al. 2009). Esses fungos também potencializam o crescimento e desenvolvimento dessas plantas, principalmente quando a maioria do nitrogênio disponível se encontra em sua forma orgânica (Yao et al. 2013).

O microbioma da rizosfera, assim como os endofíticos, contribui para a sobrevivência de algumas espécies de plantas em ambientes extremos (Jorquera et al. 2012). Esses microorganismos podem contribuir para o estabelecimento das plantas em uma comunidade, conferindo tolerância tanto a estresses bióticos, como a predação, quanto abióticos, como proteção contra a alteração de pH e de pressão osmótica (Rodriguez et al. 2009), contra a desidratação (Malinowski & Belesky, 2000) e contra o frio (Snider et al. 2000), sendo os dois últimos fatores essenciais para a sobrevivência desses organismos em um ambiente extremo como a Antártica. Essa tolerância aos diferentes estresses ocorre por meio da produção de uma série de metabólitos secundários pelos fungos endofíticos e associados que auxiliam na defesa da planta hospedeira contra essas adversidades (Marquez et al. 2007). De acordo com Nisa et al. (2015), metabólitos secundários são aqueles definidos como compostos de baixo peso molecular, que não possuem papel essencial no crescimento do fungo, e são produzidos como uma resposta adaptativa a alguma função específica na natureza. No caso dos fungos endofíticos, os metabólitos secundários podem ser usados para: sinalização, competição, defesa e regulação da simbiose entre o fungo e a planta hospedeira (Schulz & Boyle, 2005).

Apesar de muitos fungos terem uma relação intrínseca com as plantas, o solo é um componente importante de seus ciclos de vida (Bridge & Spooner, 2001). Em relação aos fungos isolados da rizosfera associada com a *D. antarctica*, há somente um trabalho: Upson et al. (2009). Aproximadamente 243 isolados foram obtidos, abrangendo as espécies: *Sarcosomataceae* sp. e *Hymenoscyphusericae aggregate* (obtidos da Ilha Rei George), *Gyoerffyella* sp. e *Leptodontidium orchidicolab* (obtidos da Ilha Georgia do Sul), *Polyscytalum pustulans* (recuperado da Ilha Léonie), *Ericoid endophyte* e *Mollisia minutella* (obtidos da Ilha Signy).

2.5 Adaptação dos fungos ao ambiente xerofílico e ao frio

O solo antártico, devido às condições climáticas da região, apresenta pouca disponibilidade de água, à qual é restrita aos curtos períodos de degelo, no verão (Campbell et

al. 1987; Pereira et al. 2014). Geralmente, na Antártica Marítima os solos costumam ser mais desenvolvidos do que aqueles presentes em regiões mais frias e secas (Blume et al. 2004; Michel et al. 2006), como no centro da região continental.

A atividade microbiológica em ambientes com baixas temperaturas é influenciada pela formação de gelo, resultando na baixa disponibilidade de água líquida. Durante o congelamento, a reorganização das moléculas de água formam cristais e expõem os íons, aumentando a concentração desses na água no estado líquido remanescente (Gunde-Cimerman et al. 2003), ocasionando um aumento do estresse físico desses organismos. O congelamento ocasiona a desidratação das células por reduzir a absorção e a condução de água no organismo. Nessas condições de baixa atividade de água, os micro-organismos reagem tanto produzindo compostos intracelulares, quanto extracelulares (Ruisi et al. 2007). Alguns solutos de baixo peso molecular, como os poli álcoois e a trealose, são acumulados intracelularmente (Gunde-Cimerman et al. 2003), dificultando que ocorra o processo de congelamento e conseqüentemente o processo de desidratação. Outros solutos como a melanina (Kogej et al. 2004) e a micosporina (Volkman et al. 2003), também podem ser acumulados e exercerem essa mesma função.

O solo é um interessante habitat para os fungos xerofílicos, uma vez que, normalmente, é árido, com uma baixa atividade de água (Vishniac & Onofri, 2003). Segundo Gunde-Cimerman et al. (2005), um fungo pode ser considerado xerofílico se esse crescer bem em atividade de água de 0,85 ou menos, correspondendo a 17% de NaCl ou 50% de glicose em meio de crescimento.

Para que os fungos consigam sobreviver em ambientes extremos como a Antártica, uma série de processos deve ser modificados tais como componentes da membrana celular, sistema de transporte de solutos intracelulares, produção de proteínas específicas, além de outras modificações metabólicas (Cavicchioli et al. 2002). Um dos mecanismos de proteção dos fungos ao frio é a concentração de açúcares como a trealose, que pode ser encontrada em plantas e em fungos, e parece estar relacionada com a proteção do citosol a estresses (Cooke & Whipps, 1993) e com a estabilização da membrana plasmática durante o processo de desidratação (Goodrich et al. 1988). A concentração de poli-álcoois, como o glicerol e o manitol, também demonstrou atividade crio protetora em fungos da Antártica (Weinstein et al. 1997), além de proteger a célula contra possíveis desidratações. Quanto à membrana celular, a sua composição pode ser alterada de acordo com a temperatura na qual o fungo se encontra (Cooke & Whipps, 1993). De acordo com Weinstein et al. (2000), há um aumento de lipídeos insaturados de acordo

com a diminuição da temperatura. Quanto mais fluida for essa membrana, maiores são as chances de um organismo sobreviver às baixas temperaturas (Istokovics et al. 1998). Moléculas anticongelantes também podem ser excretadas para o meio ambiente pelo fungo, impedindo assim o solo de congelar, mantendo a sua fonte de carbono intacta e disponível para o uso (Snider et al. 2000). Isso demonstra que há uma forte relação entre a resistência das espécies fúngicas ao frio e a dessecação (Gunde-Cimerman et al. 2003).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Caracterizar a diversidade de fungos associados aos tecidos das angiospermas endêmicas da Antártica *Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica* e avaliar o seu potencial de resistência a condições de baixa atividade de água.

3.2 Objetivos Específicos

- Obter fungos associados às amostras de folhas, raízes e rizosferas de *C. quitensis* e *D. antarctica* presentes na Antártica;
- Contribuir para montagem de uma coleção temática de fungos e seus DNAs, de ambientes extremos, por meio do depósito de todos os isolados obtidos na Coleção de Microorganismos e Células da Universidade Federal de Minas Gerais;
- Identificar os fungos obtidos utilizando técnicas de biologia molecular;
- Caracterizar a diversidade das assembleias de fungos obtidos;
- Submeter os fungos obtidos ao ensaio de tolerância a baixa atividade de água.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Áreas De Coleta

As amostras de folha, raiz e rizosfera das plantas *D. antarctica* e *C. quitensis* foram obtidas em coletas realizadas durante a OPERANTAR XXXV pela equipe do Laboratório de Microbiologia Polar e Conexões Tropicais da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As coletas foram realizadas na Península Antártica na região continental próximo à Estação Antártica Argentina Primavera e também nas ilhas Rei George (Próximo a Estação Antártica Comandante Ferraz e Punta Hennequin); Half-moon; Elefante e Pinguim (**Figura 3**).

A região da Península Antártica próximo à estação Argentina Primavera é localizada no Cabo Primavera, na costa sudoeste de *Cierva Cove*, próximo ao acesso norte para o estreito de Gerlache. O clima é considerado ameno para a região, atingindo entre $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $13\text{ }^{\circ}\text{C}$, com ventos de no máximo 45 Km/h, normalmente vindos de Noroeste. Formado por um maciço bloco de granito, possui regiões escarpadas cobertas por gelo na face sul e regiões livres de gelo na face Norte e Oeste, permitindo o desenvolvimento de vegetação. Nesse local há também muitas colônias de aves e já foi observado a ocorrência de mamíferos marinhos forrageando a região. (Harris et al. 2011).

A Estação Antártica Comandante Ferraz está localizada na Baía do Almirantado, entrada da enseada Martel, na Ilha Rei George, na Península Keller (Harris et al. 2011), lado oposto a Punta Hennequin. Não há colônias de aves nesse local. Punta Hennequin está localizada na Baía do Almirantado, entrada da enseada Martel, na Ilha Rei George. Nesse local, há colônias de aves. (Harris et al. 2011).

A Ilha Half-moon está localizada a 2 Km ao norte da Ilha Livingston, com praias na região costeira, encostas rochosas íngremes e declives. Nessa região há ocorrência de colônias de aves, de fungos liquenizados, de musgos, de angiospermas (*D. antarctica*) e de alguns mamíferos marinhos (Harris et al. 2011).

A Ilha Elefante é uma das Ilhas localizadas mais ao Norte do Arquipélago das Shetlands do Sul (Petry et al. 2018), a 153 Km da Ilha Rei George (Harris et al. 2011). Com a temperatura média de $1,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, mínimo de -5°C e máximo de 15°C , tem em sua composição rochas metamórficas sedimentares (Allison & Smith, 1973). De acordo com Harris et al. (2011), a região de Stinker Point possui encostas com *plateau*, onde pode ser encontrada vegetação, como musgos, hepáticas, algas terrestres e angiospermas (*D. antarctica* e *C. quitensis*) (Pereira & Putzke, 1994). No verão, essa região permanece descongelada, permitindo que muitas espécies de aves e mamíferos marinhos nidifiquem, tornando o solo ornitogênico.

A Ilha Pinguim tem um formato oval e durante o verão é uma área livre de gelo, com aproximadamente 1,6 km de extensão em sua costa, localizada a 1 km da Ilha Rei George, *Turret Point*. A área é um cone de vulcão extinto com pequenas encostas e extensa vegetação. Há várias colônias de aves e alguns mamíferos marinhos, tornando o solo ornitogênico (Harris et al. 2011).



Figura 3. Mapa da coleta. Ilha Elefante; Ilha Half Moon; Ilha Pinguim; Ilha Rei George (Estação Antártica Comandante Ferraz-EACF); Ilha Rei George (Punta Hennequin); Península Antártica (Estação Argentina Primavera). (Fonte: Wikimedia Commons)

4.2. Coleta, isolamento e preservação dos fungos

Um total de 3 plantas de cada espécie foram amostradas em cada ponto na Antártica. Para o isolamento dos fungos endofíticos foram utilizados cinco fragmentos aleatórios, de 1 cm de comprimento, de cada folha amostrada (três folhas), escolhidas aleatoriamente de cada planta coletada, resultando em 225 fragmentos foliares por espécie de planta. Os fragmentos foram submetidos a um processo de desinfestação superficial, composto por álcool 70% v/v (1 min), hipoclorito de sódio 2% v/v (3 min), seguido por três lavagens de 2 min em água destilada esterilizada (Collado et al. 1996, com modificações). Ao final do processo, cinco fragmentos de folhas foram aleatoriamente escolhidos e plaqueados em Ágar Batata Dextrosado (BDA/Difco).

Os fungos da raiz foram obtidos a partir de cinco fragmentos com 1 cm de comprimento e com o diâmetro menor que 1 mm, escolhidas aleatoriamente de cada planta coletada. Tais fragmentos foram submetidos a um processo de desinfestação superficial, de acordo com Upson et al. (2009) com modificações, composto por hipoclorito de sódio 1% v/v (1 min e 30 seg), seguido por duas lavagens de 2 min em água destilada esterilizada. Os fragmentos desinfestados foram plaqueados nos meios: (1) Ágar Batata Dextrosado (BDA/Difco); (2) Dichloran-Glycerol (DG-18); (3) Ágar de Hagem; (4) Melin- Norkrans modificado e (5) PGK.

Para o isolamento dos fungos da rizosfera, um grama de raiz, com a mínima presença de solo possível, foi adicionado a um tubo contendo 1 mL de solução salina 0,85% p/v esterilizada e então sonicadas por 30 segundos. Posteriormente, 100 µL das diluições 10^{-2} e 10^{-3} foram plaqueadas nos meios: BDA; DG-18; Ágar de Hagem, Melin- Norkrans modificado e PGK.

Todos os meios de cultura utilizados foram suplementados com 100 mg/L de cloranfenicol (Sigma), utilizado para inibir o crescimento de bactérias contaminantes. Além disso, alíquotas da água destilada autoclavada, utilizada ao final de cada processo de desinfestação também foram inoculadas, como controle, para assegurar que somente os fungos endofíticos fossem isolados. Todas as placas obtidas ao final do processamento das amostras foram incubadas a 15 °C, por até 60 dias. Após crescimento, as colônias foram contabilizadas e purificadas em novas placas de Petri contendo BDA para os fungos filamentosos e Ágar Sabouraud para as leveduras. Os isolados de fungos filamentosos obtidos foram preservados em duplicata, em água destilada autoclavada (Castellani, 1967), e em glicerol 15% v/v a -80 °C. As culturas puras de leveduras foram crescidas em meio GYMP (glicose 2% p/v, extrato de

levedura 0,5% p/v, extrato de malte 1% p/v e de fosfato de sódio 0,2% p/v) por 48 horas, acrescido de glicerol 15% v/v e posteriormente armazenadas a -80 °C. Todos os fungos obtidos foram depositados na Coleção de Micro-organismos e Células da UFMG.

4.3. Identificação de fungos

4.3.1. Fungos filamentosos

Inicialmente, todos os isolados obtidos foram crescidos em BDA a 15 °C por 15 dias. Após esse período, os isolados foram agrupados de acordo com suas características macromorfológicas, utilizando-se os seguintes parâmetros: tipo de crescimento, textura, pigmentação da superfície e do verso, borda, topografia, coloração da colônia, presença/ausência de pigmento e ao tempo de crescimento. Após o agrupamento, os grupos formados, baseados nas características citadas acima, foram submetidos à análise de perfis moleculares, por meio da técnica de PCR microssatélite (MSP-PCR), utilizando o oligonucleotídeo sintético (GTG)₅. Os isolados que apresentarem padrões de bandas idênticos foram confirmados, como pertencentes a um mesmo grupo. Um isolado de cada grupo molecular foi selecionado para sequenciamento da região transcrita interna (ITS) da região gênica do rRNA. Quando necessário, as identificações dos grupos foram posteriormente confirmadas por meio do sequenciamento parcial do gene: da β -tubulina, da RNA Polimerase II e/ou do Fator de Elongação-1 α . A escolha da região a ser sequenciada foi determinada de acordo com os gêneros encontrados, após o sequenciamento da região ITS.

4.3.1.2. Extração de DNA total

A extração de DNA total foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Rosa et al. (2009) com modificações. Após o cultivo dos fungos filamentosos (item 4.2), uma porção do micélio foi adicionada à tubos de 2,0 mL, acrescidos de 400 μ L de tampão de lise (Tris-HCl – trishidroximetilaminometano 0,05 M, EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético 0,005 M, NaCl 0,1 M e SDS – sódio dodecil sulfato 1% p/v) e deixado a -20 °C por no mínimo 10 minutos. Em cada tubo foram adicionadas três esferas de aço inox (3,175 mm de diâmetro) e posteriormente submetidos à trituração no equipamento *Next Advance Bullet Blender*®. Em seguida, foram adicionados 162 μ L de CTAB (Tris 2M, NaCl 8,2%, EDTA 2M e CTAB 0,2% p/v), seguido de homogeneização em vórtex e incubação por 40 minutos a 65 °C. Posteriormente, foram acrescentados 570 μ L da mistura clorofórmio/álcool isoamílico (24:1), seguido de homogeneização em vórtex. Após esse processo, o tubo foi incubado por 30 minutos

no freezer. Em seguida, o conteúdo foi centrifugado a 14.000 r.p.m. por 15 minutos e o líquido sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5 mL, sendo posteriormente acrescentado 10% desse volume de uma solução de acetato de sódio 3M. Após homogeneização por inversão, os tubos foram incubados por 30 minutos no freezer e centrifugado a 14.000 r.p.m por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5 mL e, em seguida, adicionado 50% desse volume de isopropanol (Merck), sendo a suspensão gentilmente homogeneizada por inversão e incubada a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a amostra foi centrifugada a 14.000 r.p.m. por dez minutos e o sobrenadante desprezado por inversão, seguido por homogeneização com etanol 70% v/v (Merck). A amostra foi seca por aproximadamente 24 horas a temperatura ambiente. Após esse processo foram adicionados à amostra 50 µL de Tris-EDTA (Tris-HCl 0,01 M e EDTA 0,001 M). A amostra foi então incubada a 65 °C por 60 minutos para hidratação do DNA e, posteriormente, os produtos obtidos foram quantificados em espectrofotômetro a 260/280 nm (NanoDrop ND 1000 Technologies, EUA) e estocados a -20 °C até a sua utilização.

4.3.1.3 Amplificação utilizando o iniciador (GTG)₅

A técnica de “DNA *fingerprinting*” é usada para identificar regiões hipervariáveis (sequências repetitivas de DNA - Mini ou micro-satélites). Iniciadores podem ser usados para identificar esses polimorfismos entre as diferentes espécies, como é o caso do (GTG)₅ em fungos (Meyer et al. 1991). O iniciador (GTG)₅ (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') foi utilizado para amplificar regiões microsatélites por meio de PCR (Lieckfeldt et al. 1993) por ser considerado uma forma mais rápida e econômica de identificação, por meio do agrupamento de bandas similares ou idênticas (Libkind, 2007). As reações de PCR foram realizadas em microtubos com volume final de 25 µL contendo: 1 a 5,0 µL de DNA (variando de acordo com a concentração do DNA, a qual deve estar entre 50-500 ng/µL); 2,0 µL do iniciador (GTG)₅ 10 µmol/ µL (MWG Biotech); 2,5 µL de tampão de PCR 5x (Fermentas); 1,5 µL de MgCl₂ 25 mM; 1,0 µL de DNTP 10 mM; 0,2 µL de *Taq* DNA polimerase 5U (Fermentas) e o volume final completado com água para injeção esterilizada. Essas reações foram realizadas no termociclador Mastercycler (Eppendorf), nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94 °C por 2 min, seguida por 40 ciclos de 45 segundos de desnaturação a 94 °C, 1 minuto de anelamento a 50 °C e 1 minuto de extensão a 72 °C, e uma extensão final por 6 minutos a 72 °C. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5% p/v, em tampão TBE 0,5X (54 g de tris base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5 M, pH 8,0), resolvidos a uma corrente de 80 V por 1 hora e 40 minutos. As bandas foram coradas com

solução de GelRed™ (Biotium) e os géis visualizados sob luz ultravioleta e fotografados pelo sistema de foto-documentação de gel (Vilber Lourmat, France).

4.3.1.4. Amplificação da região ITS

Após a confirmação dos agrupamentos dos fungos pela técnica de amplificação por (GTG)₅, um isolado dentre os que apresentarem um mesmo padrão de bandas foi selecionado para o sequenciamento da região transcrita interna ITS-5.8S da região gênica do rRNA. A amplificação da região transcrita interna (ITS1-5.8S-ITS2) do gene do rRNA foi realizada segundo a metodologia descrita por White et al. (1990), utilizando os iniciadores universais ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), que separa os genes 18S e 28S do rDNA. Por essa região ser conservada intraespecificamente, a diferenciação entre as espécies é possível por meio dessa técnica (Fungaro, 2000). As reações de PCR foram realizadas em microtubos com volume final de 50 µL contendo: 1,0 a 5,0 µL de DNA (variando de acordo com a concentração do DNA, a qual deve estar entre 50-500 ng/µL), 1,0 µL de cada iniciador ITS1 e ITS4 10 µmol⁻¹ (MWG Biotech), 5,0 µL de tampão de PCR 5X (Fermentas), 2,0 µL de MgCl₂ 25 mM, 2,0 µL de dNTP 10 mM, 0,2 µL de *Taq* DNA polimerase 5U (Fermentas) e o volume final completado com água para injeção esterilizada. As reações de PCR foram realizadas utilizando o termociclador Mastercycler (Eppendorf), nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 1 minuto de desnaturação a 94 °C, 1 minuto de anelamento a 55 °C e 1 minuto de extensão a 72 °C, seguidos por uma extensão final de 5 minutos a 72 °C. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% p/v, em tampão TBE 0,5X (54 g de tris base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5M, pH 8,0), resolvidos a uma corrente de 120 V durante 20 minutos. As bandas foram coradas com solução de GelRed™ (Biotium) e os géis foram visualizados sob luz ultravioleta e fotografados pelo sistema de foto-documentação de gel (Vilber Lourmat, França).

4.3.1.5. Amplificação parcial do gene da β-tubulina

A amplificação parcial do gene da β-tubulina foi realizada utilizando-se os iniciadores Bt2a (5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3') e Bt2b (5'-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3'), segundo a metodologia descrita por Glass & Donaldson (1995). As reações de PCR foram realizadas em microtubos com volume final de 50 µL contendo: 1,0 a 5,0 µL de DNA (variando de acordo com a concentração do DNA, a qual deve estar entre 50-500 ng/µL), 1,0 µL de cada iniciador BT2a e BT2b 10 µmol⁻¹ (MWG

Biotech), 5,0 µL de tampão de PCR 5X (Fermentas), 2,0 µL de MgCl₂ 25 mM, 2,0 µL de dNTP 10 mM, 0,2 µL de *Taq* DNA polimerase 5U (Fermentas) e o volume final completado com água para injeção esterilizada. As reações de PCR foram realizadas utilizando o termociclador Mastercycler (Eppendorf), nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 1 minuto de desnaturação a 94 °C, 1 minuto de anelamento a 59 °C, 90 segundos de extensão a 72 °C, seguidos por uma extensão final de 7 minutos a 72 °C. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% p/v, em tampão TBE 0,5X (54 g de tris base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5M, pH 8,0), resolvidos a uma corrente de 120 V durante 20 minutos. As bandas foram coradas com solução de GelRed™ (Biotium) e os géis foram visualizados sob luz ultravioleta e fotografados pelo sistema de foto-documentação de gel (Vilber Lourmat, França).

4.3.1.6. Amplificação parcial do gene da RNA Polimerase II

A amplificação parcial do gene da RNA Polimerase II foi realizada utilizando-se os iniciadores RPB2 5F (5'-GATGACCGTGACCACTTCGG-3') e RPB2 7R (5'-CCCATGGCTTGTTTGCCCAT-3'), segundo a metodologia descrita por Malkus et al. (2006). As reações de PCR foram realizadas em microtubos com volume final de 50 µL contendo: 1,0 a 5,0 µL de DNA (variando de acordo com a concentração do DNA, a qual deve estar entre 50-500 ng/µL), 1,0 µL de cada iniciador RPB2 5F e RPB2 7F 10 µmol⁻¹ (MWG Biotech), 5,0 µL de tampão de PCR 5X (Fermentas), 2,0 µL de MgCl₂ 25mM, 2,0 µL de dNTP 10 mM, 0,2 µL de *Taq* DNA polimerase 5U (Fermentas) e o volume final completado com água para injeção esterilizada. As reações de PCR foram realizadas utilizando o termociclador Mastercycler (Eppendorf), nas seguintes condições: desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguido por 35 ciclos de 20 segundos de desnaturação a 94 °C, 30 segundos de anelamento a 55 °C e 60 segundos de extensão a 72 °C, seguido por uma extensão final de 10 minutos a 72 °C. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% p/v, em tampão TBE 0,5X (54 g de tris base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5M, pH 8,0), resolvidos a uma corrente de 120 V durante 20 minutos. As bandas foram coradas com solução de GelRed™ (Biotium) e os géis foram visualizados sob luz ultravioleta e fotografados pelo sistema de foto-documentação de gel (Vilber Lourmat, França).

4.3.1.7. Amplificação parcial do gene do Fator de Elongação –1 α

Os iniciadores EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') e EF1-986R (5'-TACTTGAAGGAACCCTTACC-3') foram utilizados para amplificação parcial do gene EF-1 α , conforme descrito por Carbone & Kohn (1999). As reações de PCR foram realizadas em microtubos com volume final de 50 μ L contendo: 1,0 a 5,0 μ L de DNA (variando de acordo com a concentração do DNA, a qual deve estar entre 50-500 ng/ μ L), 1,0 μ L de cada iniciador EF1-728F e EF1-986R 10 μ mol⁻¹ (MWG Biotech), 5,0 μ L de tampão de PCR 5X (Fermentas), 2,0 μ L de MgCl₂ 25mM, 2,0 μ L de dNTP 10 mM, 0,2 μ L de *Taq* DNA polimerase 5U (Fermentas) e o volume final completado com água para injeção esterilizada. As reações de PCR foram realizadas utilizando o termociclador Mastercycler (Eppendorf), nas seguintes condições: desnaturação inicial a 96 °C por 3 minutos, seguido por 40 ciclos de 30 segundos de desnaturação a 95 °C, 45 segundos de anelamento a 54 °C, seguidos por 45 segundos de extensão a 72 °C e uma extensão final por 7 minutos a 72 °C. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% p/v, em tampão TBE 0,5X (54 g de tris base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5M, pH 8,0), resolvidos a uma corrente de 120 V durante 20 minutos. As bandas foram coradas com solução de GelRedTM (Biotium) e os géis foram visualizados sob luz ultravioleta e fotografados pelo sistema de foto-documentação de gel (Vilber Lourmat, França).

4.3.2. Leveduras

Os isolados de levedura obtidos foram crescidos em Ágar Sabouraud a 15 °C por sete dias. Após o crescimento, as colônias foram agrupadas macro morfológicamente utilizando-se os parâmetros citados no tópico 4.3.1. Posteriormente, os grupos foram confirmados baseado na análise de perfis moleculares por meio da técnica de PCR microssatélite (MSP-PCR), utilizando o oligonucleotídeo sintético (GTG)₅. Um isolado dentre os que apresentarem o mesmo padrão de bandas foi selecionado para sequenciamento dos domínios D1/D2 da subunidade maior do DNA ribossomal utilizando os iniciadores NL1 e NL4.

4.3.2.1 Extração do DNA total

A extração de DNA total foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Sambrook et al. (1986) com modificações. Após o cultivo das leveduras (item 4.2), as colônias foram adicionadas a tubos de 0,6 mL, ressuspensas em 100 μ L de tampão de lise (Tris-HCl – trishidroximetilaminometano 0,05 M, EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético 0,005 M, NaCl 0,1 M e SDS – sódio dodecil sulfato 1% p/v), agitadas em vórtex e aquecidas a 65 °C por

30 minutos. Após esta etapa, foram adicionados 200 µL da mistura clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) e homogeneizados por inversão. Em seguida, foi centrifugado a 14.000 r.p.m. por 15 minutos e o líquido sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 0,6 mL e acrescido de 100 µL de isopropanol (Merck), sendo a suspensão gentilmente homogeneizada por inversão e incubada a temperatura ambiente por 15 minutos. Após esse processo, foi feita uma centrifugação a 14.000 r.p.m. por 10 minutos. O DNA foi lavado com 200 µL de etanol 70% v/v (Merck) e centrifugado a 14.000 r.p.m. por 10 minutos. A amostra foi seca por aproximadamente 24 horas a temperatura ambiente e dissolvida em 100 µL de TE (Tris 10 mM; EDTA 1 mM). Todos os produtos obtidos foram quantificados em espectrofotômetro a 260/280 nm (NanoDrop ND 1000 Technologies) e estocados a -20 °C até sua utilização.

4.3.2.2. Amplificação utilizando os iniciadores NL1 e NL4

Após a confirmação do agrupamento pela técnica de amplificação por (GTG)₅ os isolados selecionados foram submetidos ao sequenciamento da região D1/D2 da subunidade maior do rDNA utilizando os iniciadores NL1 (5'-GCCATATCAATAAGCGGAGGAAAG-3') e NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'), segundo a metodologia descrita por Lachance et al. (1999). As reações de PCR foram realizadas em microtubos com volume final de 50 µL contendo: 1,0 a 5,0 µL de DNA (variando de acordo com a concentração do DNA, a qual deve estar entre 50-500 ng/µL), 1,0 µL de cada iniciador NL1 e NL4 10 µmol⁻¹, 5,0 µL de tampão de PCR 5X (Fermentas), 2,0 µL de MgCl₂ 25 mM, 2,0 µL de dNTP 10 mM, 0,2 µL de *Taq* DNA polimerase 5U (Fermentas) e o volume final completado com água para injeção esterilizada. As reações de PCR foram realizadas utilizando o termociclador Mastercycler (Eppendorf), nas seguintes condições: desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos, seguida por 35 ciclos de: desnaturação a 95 °C por 15 segundos, anelamento a 54 °C por 25 segundos e extensão a 72 °C por 20 segundos, seguida por uma extensão final a 72 °C por 10 minutos. Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% p/v, em tampão TBE 0,5X (54 g de tris base, 27,5 g de ácido bórico, 20 mL de EDTA 0,5M, pH 8,0), resolvidos a uma corrente de 120 V durante 60 minutos. As bandas foram coradas com solução de GelRed™ (Biotium) e os géis foram visualizados sob luz ultravioleta e fotografados pelo sistema de foto-documentação de gel (Vilber Lourmat, França).

4.3.3. Purificação de amplicons

Os amplicons gerados pelas reações de PCR foram purificados utilizando-se EDTA. Ao produto de PCR com volume de 47 μL foram adicionados 11,75 μL de EDTA 125 mM e 141 μL de etanol absoluto (Merck) e homogeneizados por inversão, deixando-os em repouso a temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida, esta mistura foi submetida à centrifugação com rotação de 14.000 r.p.m. durante 25 minutos. O sobrenadante foi descartado e para a lavagem do precipitado foram adicionados 120 μL de etanol 70% v/v, sendo posteriormente homogeneizado por inversão. Após centrifugação a 14.000 r.p.m. por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado novamente e o restante do etanol foi secado por 20 minutos a 37 °C. Então, o DNA foi ressuspensionado em 10 μL de água para injeção esterilizada. O produto obtido foi dosado em NanoDrop ND 1000 (NanoDrop Technologies) e armazenado para ser utilizado nas reações de sequenciamento.

4.3.4. Reações de sequenciamento

As reações de sequenciamento dos produtos obtidos após a purificação dos amplicons foram realizadas no Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular (LPCM) da FIOCRUZ/Instituto René Rachou, utilizando o kit Big Dye versão 3.1 (Applied Biosystems, EUA) em combinação com o sistema de sequenciamento automatizado ABI 3730. As reações de sequenciamento foram realizadas em microplacas de 96 poços (Applied 5 Biosystems, EUA) preparadas para um volume final de 10 μL , em que foram adicionadas: 1 μL do iniciador (5 μmol^{-1}), 1 μL de tampão (presente no kit de sequenciamento), 1 μL de Big Dye, 1 a 5 μL de DNA (de modo que a reação final contenha entre 15 e 20 ng) e o restante de água para injeção esterilizada para completar o volume, se necessário. O programa de ciclagem a ser utilizado consistirá de uma desnaturação inicial a 36 °C por 1 minuto, 36 ciclos de anelamento a 96 °C por 15 segundos, seguido por 15 segundos de extensão a 50 °C e 4 minutos de extensão final a 60 °C.

4.3.4.1 Precipitação das reações de sequenciamento

Para a precipitação das reações de sequenciamento, 1,0 μL de EDTA 125 mM, 1,0 μL de acetato de sódio 3M e 50 μL de etanol absoluto (Merck) foram adicionados em cada poço da placa de 96 poços. A placa foi submetida à agitação em vórtex e incubada por 15 minutos à temperatura ambiente. Após o período de incubação, a placa foi centrifugada por 45 minutos a 4.000 r.p.m. a 4 °C e o sobrenadante foi descartado por inversão da placa. Em seguida, foram adicionados 100 μL de etanol 70% v/v (Merck) e a placa foi novamente centrifugada por 15

minutos a 4.000 r.p.m. a 4 °C, descartando-se o sobrenadante por inversão. Para remoção do excesso de etanol, a placa foi invertida sobre um papel absorvente e submetida a um pulso em centrífuga a 900 r.p.m. durante 1 segundo. Em seguida, a placa foi mantida em repouso durante 20 minutos para evaporação do etanol residual. O DNA das amostras, precipitado em cada poço, foi então ressuscitado em 10 µL de Formamida HI DI (Applied Biosystems, EUA) e a placa foi e armazenada a 4 °C, protegida da luz, até injeção das amostras no sistema automatizado ABI 3730.

4.3.5. Análise computacional das sequências e análise filogenética

As sequências de DNA dos fungos foram comparadas com as sequências de espécies tipo ou referência de fungos, depositadas no GenBank e pertencentes a coleções de culturas internacionais, utilizando o programa BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool – versão 2.215 do BLAST 2.0) disponível no portal NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>), desenvolvido pelo National Center For Biotechnology. Os fungos que apresentarem sequências com valor de E = 0, cobertura e identidade $\geq 99\%$, bem como proximidade quando analisadas filogeneticamente com sequências de espécies tipo ou referência, utilizando o programa MEGA 6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Tamura et al. 2013), foram considerados como pertencentes à mesma espécie. Para fungos com sequências com valor de E diferente de zero, e cobertura e identidade $\leq 98\%$, os mesmos foram identificados em nível de espécie, gênero ou níveis hierárquicos mais altos após a análise filogenética. Além disso, para alguns táxons o termo ‘cf.’ (latim for confer = comparado com) foi utilizado para indicar a espécie a qual se assemelha, mas apresenta pequenas diferenças com a espécie referência. Para identificação molecular foram utilizadas as sequências ≥ 350 pares de bases. Informações sobre os níveis hierárquicos utilizados na taxonomia dos fungos foram obtidos no MycoBank (<http://www.mycobank.org/>), Index Fungorum e (<http://www.Índexfungorum.org/>) e Kirk et al. (2008).

4.4. Diversidade da comunidade fúngica: cálculo dos índices de abundância, riqueza e dominância

Para avaliar a diversidade de espécies foram utilizados os seguintes índices: (a) Fisher- α (diversidade), (b) Margalef (riqueza) e (c) Simpson (dominância). O índice de diversidade de Fisher- α é adequado para frequências em que diferentes espécies ocorrem de forma aleatória na qual, comumente algumas espécies são tão raras que sua chance de inclusão é pequena (Fisher et al. 1943). Este índice é calculado pela fórmula $S = a * \ln(1 + n/a)$ onde, S é o número de táxons

presente na amostra, n é o número de indivíduos e a representa o índice de Fisher- α . O Índice de Margalef é uma medida utilizada em ecologia para estimar a riqueza de espécies de uma comunidade com base na distribuição numérica dos indivíduos das diferentes espécies, em função do número total de indivíduos existentes na amostra analisada. Sua fórmula é dada por $S = (n-1)/\ln(N)$, onde n é o número de táxons encontrados e N representa o número de indivíduos. Quanto mais alto o valor de S maior a riqueza de espécies do local amostrado. O índice de Simpson é muitas vezes utilizado para quantificar a biodiversidade de um ecossistema. Ele leva em conta o número de espécies presentes no local, bem como a abundância de cada espécie. Trata-se de um índice de dominância que mede a probabilidade de dois indivíduos, selecionados ao acaso na amostra, pertencer à mesma espécie. O cálculo da Dominância de Simpson ($1-D$) é dado pela fórmula $D = \sum(n / N)^2$, onde n é o número total de organismos de uma mesma espécie e N o número total de organismos de todas as espécies. O valor estimado de $1 - D$ pode variar de 0 a 1, sendo que 0 representa o mínimo de diversidade e 1 o máximo de diversidade, com as espécies distribuídas igualmente. Sendo assim, uma comunidade de espécies com maior diversidade terá uma menor dominância.

Para avaliar a similaridade entre as comunidades fúngicas associadas às espécies de angiospermas coletadas e entre os locais amostrados, foi utilizado o índice de Bray-Curtis (B) e o coeficiente de Sorensen (QS). O índice de Bray-Curtis (B) varia de 0 a 1, sendo que 0 significa que as comunidades não compartilham nenhuma espécie e 1 que compartilham todas as espécies na mesma frequência. O coeficiente de Sorensen (QS) é representado pela fórmula: $QS = 2C/(A+B)$, onde A e B representam o número de espécies nas amostras A e B , respectivamente, e C o número de espécies compartilhadas pelas duas amostras.

Uma curva de rarefação foi traçada utilizando o índice de Mao Tau, o qual interpola valores entre zero e o número de amostras analisadas, e calcula a riqueza esperada e o intervalo de confiança. Para a construção dessas curvas foi utilizada a densidade de cada táxon obtido. Este cálculo permite uma comparação estatística direta entre a riqueza e os conjuntos de dados (Colwell et al. 2004). Todos os resultados foram obtidos com 95% de confiança, e os valores de bootstrap calculados a partir de 1.000 repetições. Todos os índices foram calculados utilizando o programa computacional PAST 1.90 (Hammer et al. 2001).

4.5 Avaliação da atividade xerofílica

4.5.1. Triagem para detecção da atividade xerofílica

O pré-ensaio da detecção da atividade xerofílica dos fungos filamentosos obtidos da rizosfera foi realizado com a finalidade de selecionar os isolados que possuem capacidade de

crescimento em meio xerofílico com diferentes graduações de Glicerol (18, 36, 54 e 72%) a 15 °C. Cada isolado utilizado foi inoculado em um poço de uma placa de 48 poços contendo 250 µL de meio DG-18 acrescido gradualmente, nos poços subsequentes, glicerol para constituir as variações DG-36 (36% de glicerol), DG-54 (54% de glicerol) e DG-72 (72% de glicerol). As placas foram incubadas de 9 a 27 dias a 15 °C e o crescimento dos fungos acompanhado a cada 9 dias. Os isolados capazes de crescer no meio DG-72 foram selecionados para o ensaio de atividade xerofílica descrito abaixo.

4.5.2. Ensaio de detecção da atividade xerofílica

Dos fungos selecionados no pré-ensaio, um disco de micélio de 3 mm de diâmetro foi transferido para placas de Petri (90 x 15 mm) contendo 20 mL de meio DG-18, DG-36, DG-54 e DG-72 e incubados por 27 dias à 15 °C. O diâmetro das colônias foi mensurado a cada 9 dias utilizando-se do paquímetro digital Mitutoyo Absolute (Mitutoyo Sul 30/Americana Ltda). Foram calculadas a taxa de crescimento do fungo (mm/d): razão do diâmetro (mm) em função do tempo (dias). Os ensaios foram realizados em triplicata e avaliados por meio de Análise de variância e Teste de Turkey (Colla et al. 2008).

5.RESULTADOS

5. 1. Isolamento

Foram obtidos 683 isolados fúngicos, dos quais 543 (79,5%) representados por fungos filamentosos e 140 (20,49%) por leveduras. Dos isolados fúngicos obtidos, 28,84% (197) foram obtidos a partir das amostras coletadas na Ilha Rei George, 7,90% (54) na Ilha Half Moon, 15,95% (109) em Punta Hennequin (Ilha Rei George), 16,25% (111) na Ilha Elefante, 21,22% (145) na Ilha Pinguim e 14,20% (97) na Península Antártica próximo à estação Primavera e **(Figura 4)**.

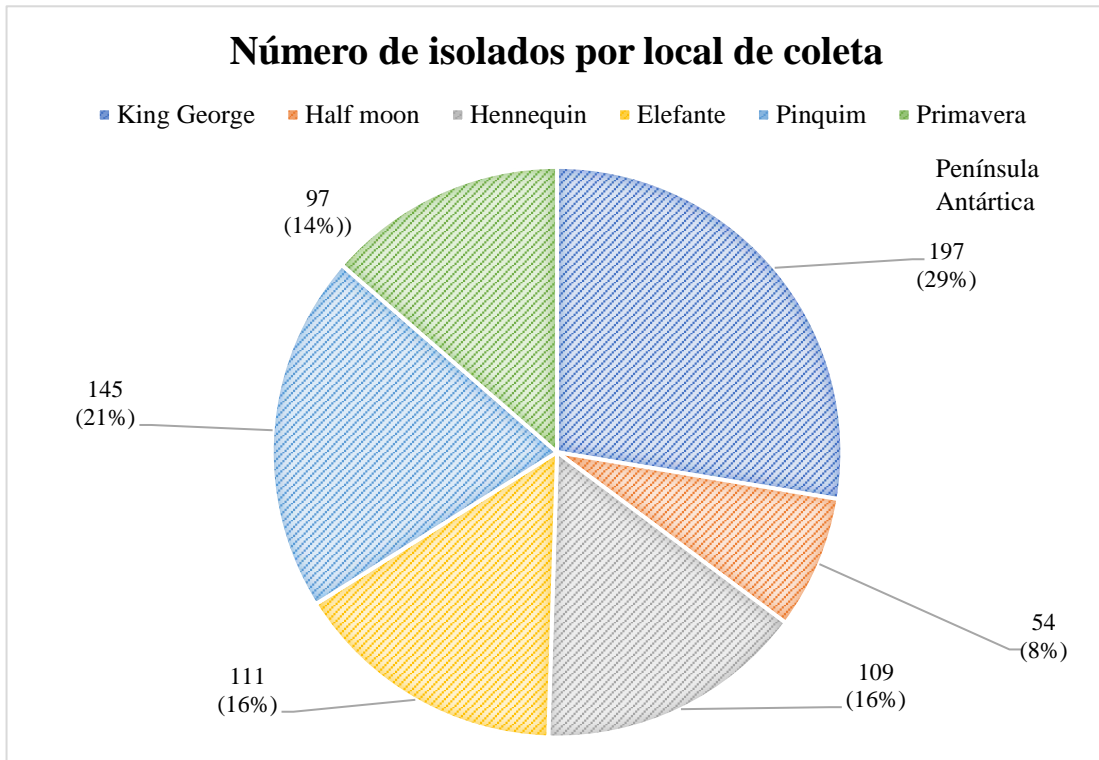


Figura 4. Porcentagem de isolados de *Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica* obtidos por pontos de coleta. (Fonte: Livia Costa)

Dos 683 fungos, 554 isolados foram obtidos de *D. antarctica* (**Figura 5a**). O gênero mais abundante de fungo encontrado em associação com a *D. antarctica* foi *Penicillium*. De *C. quitensis* foram obtidos 129 isolados (**Figura 5b**) e o gênero mais abundante foi a *Mortierella* seguido pela levedura *Vishniacozyma*.

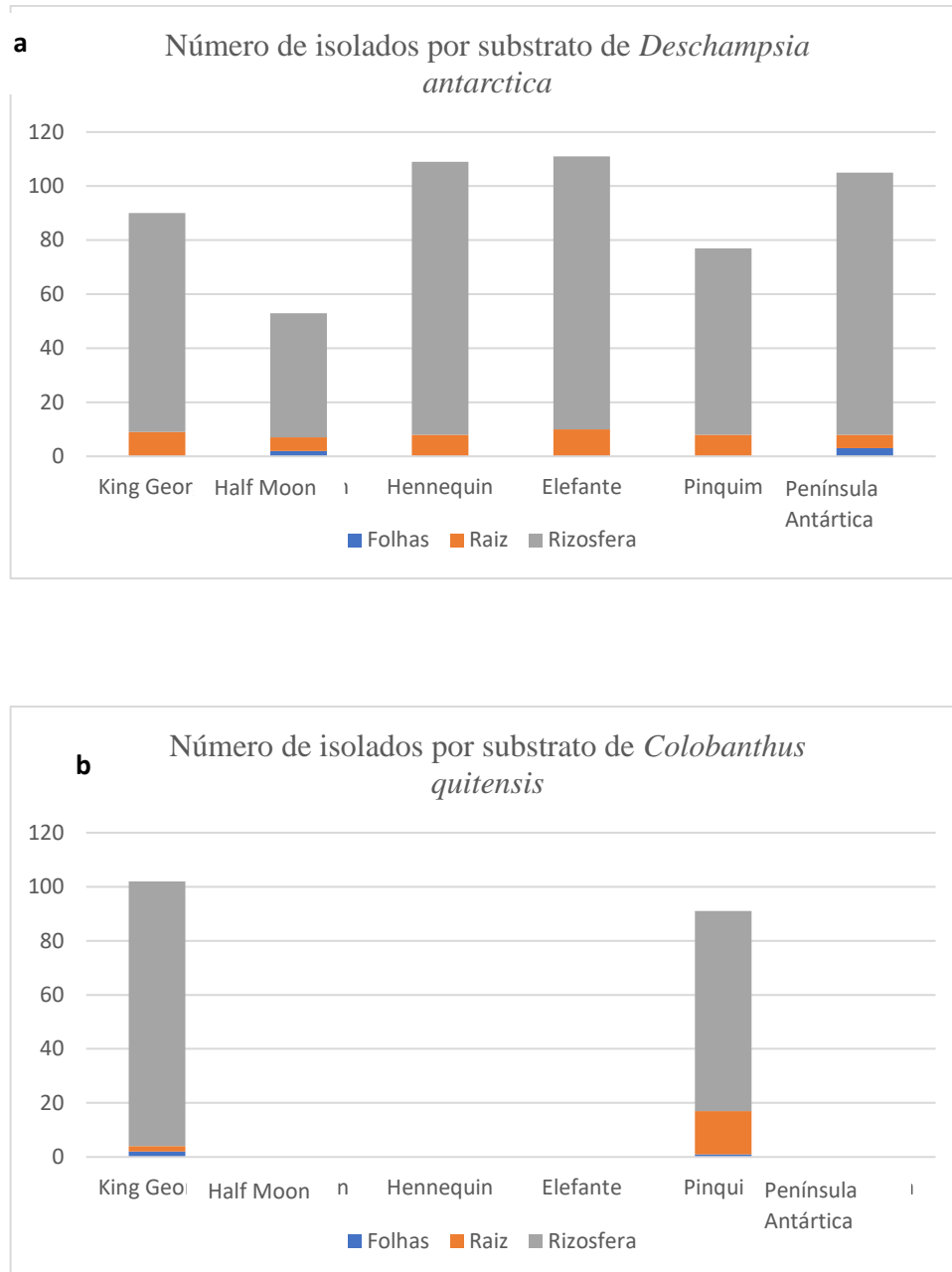


Figura 5. Número de isolados por substrato e por ilha de (a) *Deschampsia antarctica* e (b) *Colobanthus quitensis*. (Fonte: Livia Costa)

5. 2. Identificação e distribuição dos táxons

A **Tabela 1** apresenta a identificação por meio de técnicas de biologia molecular dos fungos obtidos. Em relação aos fungos associados à *D. antarctica* (**Figura 6**), *Pseudogymnoascus destructans* foi a única espécie isolada a partir das amostras em todas as ilhas. O taxon *Penicillium* sp. 1 foi o único comum entre as ilhas Rei George e Half Moon, já *Penicillium* sp. 6 foi o único em comum entre as ilhas Half Moon e Elefante

Dois táxons foram isolados em comum entre a ilha Half Moon e Punta Hennequin na ilha Rei George (*Thelebolus* sp. e *Goffeauzyma* sp.) e dois entre a ilha Elefante e Punta Hennequin (*Rhynchosporium* sp. e *Pseudogymnoascus verrucosus*). A espécie *Vishniacozyma tephrensis* foi a única em comum entre Punta Hennequin e Ilha Pinguim. A única espécie em comum entre a Ilha Elefante e a Península Antártica foi *Mortierella* sp. 1. Entre a ilha Pinguim e Península Antártica três táxons foram isolados em comum, *Penicillium* sp. 3, *Microdochium lycopodium* e *Penicillium* sp. 5. *Rhynchosporium agropyri*, *Aspergillus versicolor*, *Mortierella antarctica*, *Rhexocercosporidium* sp. e *Verticillium* sp. foram isoladas somente da ilha Rei George. *Penicillium* sp. 9, *Vagicola* sp. e *Cladosporium ruguloflabelliforme* foram isolados somente da Ilha Half Moon. *Alpinaria rhododendri*, *Rhexocercosporidium* sp. 1, Uncultured fungus, *Penicillium* sp. 2, *Gyoerffyella* sp., *Mortierella* sp. 2, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula dairenensis* e *Mrakia gelida* foram isoladas somente em Punta Hennequin. Os táxons *Mortierella gamsii*, *Mortierella* sp. 4, *Cryptococcus gilvescens*, *Mortierella fimbriocystis* e *Mortierella* sp. 3 foram isoladas somente da Ilha Elefante. *Microdochium phragmitis*, *Septoriella phragmitis*, *Thelebolus* sp. 1, *Thelebolus microspores* e *Neosascochyta* sp. foram isoladas somente da Península Antártica.

Tabela 1. Identificação molecular dos fungos isolados de *Deschampsia antarctica* e *Colobanthus quitensis*. (Fonte: Lívia Costa)

Ilha/Região/coordenadas	Planta	Substrato	N° de isolados* ou densidade** (UFC/g)	UFMGCB ^a	Sequências de espécies tipo (n° de acesso do GenBank)	C ^c (%)	ID ^d (%)	N° de pb ^b analizados	Identificação proposta
Rei George S 62° 04'894"; W 58° 23'658"	<i>Deschampsia antarctica</i>	Folha*	1		<i>Rhynchosporium agropyri</i> (NR121480)	100	94	468	<i>Rhynchosporium</i> sp.
			1		<i>Pseudogymnoascus destructans</i> (EU884921)	100	99	441	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
	<i>D. antarctica</i>	Rizosfera**	1	13234	<i>Volucrispora graminea</i> (NR160217)	100	99	479	<i>Volucrispora graminea</i>
			6	13169	<i>Aspergillus versicolor</i> (KU729039)	100	99	458	<i>Aspergillus versicolor</i>
			1	13128	<i>Antarctomyces pellizariae</i> (KX576510)	100	99	386	<i>Antarctomyces pellizariae</i>
			6	13182	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	415	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			1	13103	<i>Leohumicola minima</i> (NR121307)	92	89	350	<i>Helotiales</i> sp.
			8	13134	<i>Mortierella antarctica</i> (MH790889)	100	100	307	<i>Mortierella antarctica</i>
			100	13224	<i>Penicillium biforme</i> (NR138325)	100	99	383	<i>Penicillium</i> sp. 1
			8	13133	<i>Volucrispora graminea</i> (NR160217)	100	99	468	<i>Volucrispora graminea</i>
			15	13230	<i>Verticillium leptobactrum</i> (EF641873)	98	94	411	<i>Verticillium</i> sp.
	<i>Colobanthus quitensis</i>	Raiz*	1	13188	<i>Mortierella gamsii</i> (HQ630340)	96	99	491	<i>Mortierella</i> sp. 3
	<i>C. quitensis</i>	Rizosfera**	2	13152	<i>Berberis thunbergii</i> (MH754640)	100	100	486	<i>Berberis thunbergii</i>
			19.5	13157	<i>Mortierella gamsii</i> (HQ630340)	100	99	494	<i>Mortierella gamsii</i>
			1	13221	<i>Penicillium commune</i> (NR111143)	100	100	523	<i>Penicillium</i> sp. 6
			8.0	13165	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	455	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			1.5	13161	<i>Thelebolus balaustiformis</i> (NR159056)	100	100	348	<i>Thelebolus balaustiformis</i>
			3.5	13196	<i>Antarctomyces pellizariae</i> (KX576510)	100	99	440	<i>Antarctomyces pellizariae</i>

Half Moon S 62° 35'43,8"; W59°55'05,9"	<i>D. antarctica</i>	Folha*	1	13235	<i>Penicillium tardochrysogenum</i> (NR138308)	100	99	432	<i>Penicillium</i> sp. 8
	<i>D. antarctica</i>	Raiz*	3	13215	<i>Penicillium biforme</i> (NR138325)	100	99	454	<i>Penicillium</i> sp. 1
			3	13216	<i>Vagicola arundinis</i> (KY706139)	99	97	300	<i>Vagicola</i> sp.
	<i>D. antarctica</i>	Rizosfera**	1	13238	<i>Cladosporium ruguloflabelliforme</i> (KT600458)	100	100	391	<i>Cladosporium ruguloflabelliforme</i>
			5	13203	<i>Mucoromycotina</i> sp (HM589381)	98	99	451	<i>Mucoromycotina</i> sp
			15	13206	<i>Mortierella amoeboidea</i> (JX976073)	100	99	399	<i>Mortierella amoeboidea</i>
			4	13219	<i>Mortierella elongatula</i> (JX975967)	100	95	463	<i>Mortierella</i> sp.
			10.7	13208	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	414	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			10	13325	<i>Thelebolus globosus</i> (NR138367)	97	100	328	<i>Thelebolus</i> sp.
			5	13218	<i>Leohumicola minima</i> (NR121307)	100	91	384	<i>Leohumicola</i> sp.
			1	13224	<i>Penicillium commune</i> (NR111143)	100	100	465	<i>Penicillium</i> sp. 6
	1	47	<i>Cryptococcus victoriae</i> (AF363647)	98	100	490	<i>Vishniacozyma victoriae</i>		
	1	48	<i>Goffeauzyma gilvescens</i> (KY107769)	85	100	372	<i>Goffeauzyma</i> sp.		
Punta Hennequin S 62°07' 22,9";W 58° 23' 46,1"	<i>D. antarctica</i>	Raiz*	1	13278	<i>Alpinaria rhododendri</i> (NR147686)	100	99	444	<i>Alpinaria rhododendri</i>
			8	13322	<i>Volucrispora graminea</i> (NR160217)	100	99	444	<i>Volucrispora graminea</i>
			1	13249	Uncultured fungus	100	99	465	Fungo sp.
	<i>D. antarctica</i>	Rizosfera**	16	13284	<i>Antarctomyces pellizariae</i> (KX576510)	100	100	443	<i>Antarctomyces pellizariae</i>
			2	13327	<i>Penicillium tularense</i> (NR121251)	97	98	425	<i>Penicillium</i> sp. 2
			1	13265	<i>Volucrispora graminea</i> (NR160217)	100	99	472	<i>Volucrispora graminea</i>

			2,5	13268	<i>Gyoerffyella entomobryoides</i> (NR145302)	99	97	480	<i>Gyoerffyella</i> sp.
			5,2	13281	<i>Pseudogymnoascus destructans</i> (EU884921)	100	99	444	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			10	13325	<i>Pseudogymnoascus verrucosus</i> (KJ755525)	100	99	306	<i>Pseudogymnoascus verrucosus</i>
			1	13295	<i>Thelebolus globosus</i> (MK889371)	100	100	381	<i>Thelebolus</i> sp. <i>Thelebolus globosus</i>
			3	88	<i>Vishniacozyma tephrensis</i> (DQ000318)	100	99	516	<i>Vishniacozyma tephrensis</i>
			9	13254	<i>Mortierella elongatula</i> (NR111582)	100	95	524	<i>Mortierella</i> sp. 2
			1	87	<i>Cryptococcus victoriae</i> (AF363647)	100	100	479	<i>Cryptococcus victoriae</i>
			3	67	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (KY109056)	100	100	468	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
			13	70	<i>Rhodotorula dairenensis</i> (KY108996)	100	99	525	<i>Rhodotorula dairenensis</i>
			33,5	80	<i>Goffeauzyma gilvescens</i> (KY107769)	85	100	526	<i>Goffeauzyma</i> sp.
			1	79	<i>Mrakia gelida</i> (KY108585)	100	99	415	<i>Mrakia gelida</i>
Elefante	<i>D. antarctica</i>	Raiz*	1	13341	<i>Helgardia anguioides</i> (NR158522)	100	98	460	<i>Rhynchosporium</i> sp. <i>Helgardia anguioides</i>
S 61°13'18,2"; W			1	13364	<i>Leohumicola minima</i> (NR121307)	80	86	429	<i>Leohumicola</i> sp.
55°21' 54,3"			1	13426	<i>Penicillium jamesonlandense</i> (KY989039)	93	99	350	<i>Penicillium</i> sp. 4
			2	13367	<i>Penicillium commune</i> (NR111143)	96	99	523	<i>Penicillium</i> sp. 6
			55	13379	<i>Mortierella gamsii</i> (HQ630340)	98	99	481	<i>Mortierella gamsii</i>
			3	13395	<i>Mortierella fimbricystis</i> (MH860013)	100	99	580	<i>Mortierella fimbricystis</i>
			1	13406-	<i>Mortierella parvispora</i> (NR077185)	99	96	483	<i>Mortierella</i> sp. 4
			3,2	13376	<i>Antarctomyces pellizariae</i> (KX576510)	100	100	565	<i>Antarctomyces pellizariae</i>
			8	13437	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	458	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			1	100	<i>Cryptococcus gilvescens</i> (AF181547)	100	99	285	<i>Cryptococcus gilvescens</i>

	<i>D. antarctica</i>	Rizosfera**	3	13349	<i>Mortierella fimbriocystis</i> (GU559986)	100	100	362	<i>Mortierella fimbriocystis</i>
			4	13423	<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i>	100	99	373	<i>Antarctomyces psychrotrophicus</i>
			1	13401	<i>Mortierella gamsii</i> (HQ630340)	98	99	453	<i>Mortierella</i> sp.3
			19	13346	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	454	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			7.5	13410	<i>Antarctomyces pellizariae</i> (KX576510)	100	99	395	<i>Antarctomyces pellizariae</i>
			1	13396	<i>Pseudogymnoascus verrucosus</i> (KJ755525)	100	100	327	<i>Pseudogymnoascus verrucosus</i>
Pinguim S 62° 06'04,7"; W 57°55'13,0"	<i>D. antarctica</i>	Raiz*	9	13443	<i>Penicillium swiecickii</i> (NR121254)	97	98	466	<i>Penicillium</i> sp. 3
	<i>D. antarctica</i>	Rizosfera**	12	13455	<i>Microdochium lycopodium</i> (NR145223)	100	100	397	<i>Microdochium lycopodium</i>
			2	13460	<i>Microdochium phragmitis</i> (NR132916)	100	99	384	<i>Microdochium phragmitis</i>
			1	13461	<i>Septoriella phragmitis</i> (NR132926)	100	99	441	<i>Septoriella phragmitis</i>
			3	13457	<i>Thelebolus globosus</i> (NR138367)	97	100	445	<i>Thelebolus</i> sp. 1
			4	13470	<i>Penicillium raistrickii</i> (NR119493)	100	99	475	<i>Penicillium</i> sp. 4
			9,6	13464	<i>Penicillium swiecickii</i> (NR121254)	98	99	465	<i>Penicillium</i> sp. 3
			6	13480	<i>Penicillium jamesonlandense</i> (NR119570)	100	100	385	<i>Penicillium</i> sp. 5
			1	13477	<i>Antarctomyces pellizariae</i> (KX576510)	99	99	447	<i>Antarctomyces pellizariae</i>
			20	13419	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	444	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			1.5	13457	<i>Thelebolus microspores</i> (KY432735)	100	100	425	<i>Thelebolus microspores</i>
			1	13483	<i>Neoscochyta paspali</i> (NR135970)	97	99	417	<i>Neoscochyta</i> sp.
					<i>Neoscochyta paspali</i> (MH861378)	97	99	388	
			24,6	115	<i>Vishniacozyma tephrensis</i> (DQ000318)	100	99	553	<i>Vishniacozyma tephrensis</i>

		8	128	<i>Cryptococcus victoriae</i> (AF363647)	97	99	515	<i>Cryptococcus victoriae</i>
<i>C. quitensis</i>	Raiz*	4	13504	<i>Alpinaria rhododendri</i> (NR147686)	100	99	378	<i>Alpinaria rhododendri</i>
		2	13505	<i>Glarea lozoyensis</i> (NR137138)	100	95	266	<i>Glarea</i> sp.
		4	13515	<i>Vestigium trifidum</i> (NR121556)	85	87	397	<i>Vestigium</i> sp.
		1	13506	<i>Penicillium swiecickii</i> (NR121254)	100	97	356	<i>Penicillium</i> sp.3
		1	13487	<i>Chalara hyalocuspica</i> (NR137568)	99	93	394	<i>Chalara</i> sp.
		8	13516	<i>Davidhawksworthia ilicicola</i>	99	100	194	<i>Davidhawksworthia ilicicola</i>
		1	13506	<i>Penicillium raistrickii</i> (NR119493)	98	100	432	<i>Penicillium</i> sp. 4
		1	13486	<i>Rhexocerosporidium carotae</i> (NR111086)	84	86	437	<i>Rhexocerosporidium</i> sp.
<i>C.s quitensis</i>	Rizosfera**	1	13496	<i>Microdochium lycopodium</i> (NR145223)	100	100	407	<i>Microdochium lycopodium</i>
		1	13502	<i>Cladosporium versiforme</i> (KT600417)	100	100	430	<i>Cladosporium versiforme</i>
		2	13526	<i>Glarea lozoyensis</i> (NR137138)	98	90	341	<i>Glarea</i> sp.
		6	13520	<i>Alpinaria rhododendri</i> (NR147686)	100	99	377	<i>Alpinaria rhododendri</i>
		7,4	13531	<i>Penicillium swiecickii</i> (NR121254)	99	99	462	<i>Penicillium</i> sp. 3
		3	13538	<i>Penicillium kojigenum</i> (NR121253)	98	99	461	<i>Penicillium</i> sp. 7
		6	13508	<i>Leptosphaeria irregulares</i> (KX856056)	100	96	428	<i>Leptosphaeria</i> sp.
		2	13535	<i>Mortierella parvispora</i> (JX976076)	100	95	459	<i>Mortierella</i> sp. 4
		7	146	<i>Leucosporidium golubevii</i> (KY108283)	100	99	515	<i>Leucosporidium golubevii</i>

			19,3	141	<i>Vishniacozyma tephrensis</i> (DQ000318)	100	99	559	<i>Vishniacozyma tephrensis</i>
			6	145	<i>Cystobasidium laryngis</i> (KY107432)	100	99	445	<i>Cystobasidium laryngis</i>
Península Antártica S 64° 09'18,6"; W 60°57'20,1"	<i>D. antarctica</i>	Folha*	10	13542	<i>Mortierella parvispora</i> (JX976076)	100	99	420	<i>Mortierella parvispora</i>
	<i>D.a antarctica</i>	Raiz*	1	13587	<i>Septoriella oudemansii</i> (KR873250)	100	98	448	<i>Septoriella cf. oudemansii</i>
			1	13586	<i>Vagicola arundinis</i> (KY706139)	100	100	362	<i>Vagicola arundinis</i>
			1	13561	<i>Neosascochyta paspali</i> (MH861378)	99	99	423	<i>Neosascochyta paspali</i>
			1	13552	<i>Penicillium jamesonlandense</i> (NR119570)	99	100	414	<i>Penicillium</i> sp. 5
			44	13583	<i>Penicillium swiecickii</i> (NR121254)	98	99	463	<i>Penicillium</i> sp. 3
			1	13574	<i>Penicillium rolfsii</i> var. <i>sclerotiale</i> (NR153216)	95	99	442	<i>Penicillium</i> sp. 9
			22	13602	<i>Microdochium lycopodium</i> (NR145223)	100	100	429	<i>Microdochium lycopodium</i>
			15.5	13607	<i>Fusarium sinensis</i> (MH863232)	100	99	296	<i>Fusarium sinensis</i>
			7	13544	<i>Mortierella fimbriocystis</i> (MK638867)	100	99	428	<i>Mortierella fimbriocystis</i>
	<i>D. antarctica</i>	Rizosfera**	18,9	13564	<i>Mortierella parvispora</i> (JX976076)	100	99	467	<i>Mortierella parvispora</i>
			2,75	13591	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	443	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>
			1	13612	<i>Neosascochyta paspali</i> (NR135970)	100	99	510	<i>Neosascochyta paspali</i>
			8.5	13569	<i>Cladosporium versiforme</i> (KT600417)	100	100	429	<i>Cladosporium</i> sp. 1
			14	13579	<i>Cladosporium subcinereum</i> (NR148193)	99	100	482	<i>Cladosporium</i> sp. 2
			1	13552	<i>Penicillium jamesonlandense</i> (NR119570)	99	100	414	<i>Penicillium</i> sp. 5
		5	13595	<i>Penicillium raistrickii</i> (NR119493)	100	98	456	<i>Penicillium</i> sp. 4	
		6.7	13554	<i>Penicillium swiecickii</i> (NR121254)	99	99	460	<i>Penicillium</i> sp. 3	

		4	13566	<i>Penicillium tardochrysogenum</i> (NR138308)	100	99	380	<i>Penicillium</i> sp. 8
		7,4	193	<i>Cryptococcus victoriae</i> (AF363647)	98	100	492	<i>Cryptococcus victoriae</i>
		4	162	<i>Cystobasidium laryngis</i> (KY107432)	100	99	516	<i>Cystobasidium laryngis</i>
<i>C. quitensis</i>	Rizosfera**	1	13614	<i>Geomyces destructans</i> (EU884921)	100	99	446	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>

*Para os fungos isolados das folhas e raízes foram utilizados número de isolados por morfotipo. **Para os fungos isolados das rizosferas foram utilizadas as unidades formadoras de colônias em g L⁻¹. ^aUFMG=Coleção de Micro-organismos e Células da Universidade Federal de Minas Gerais. ^bpb= pares de bases. ^cC = cobertura. ^dID = identidade.

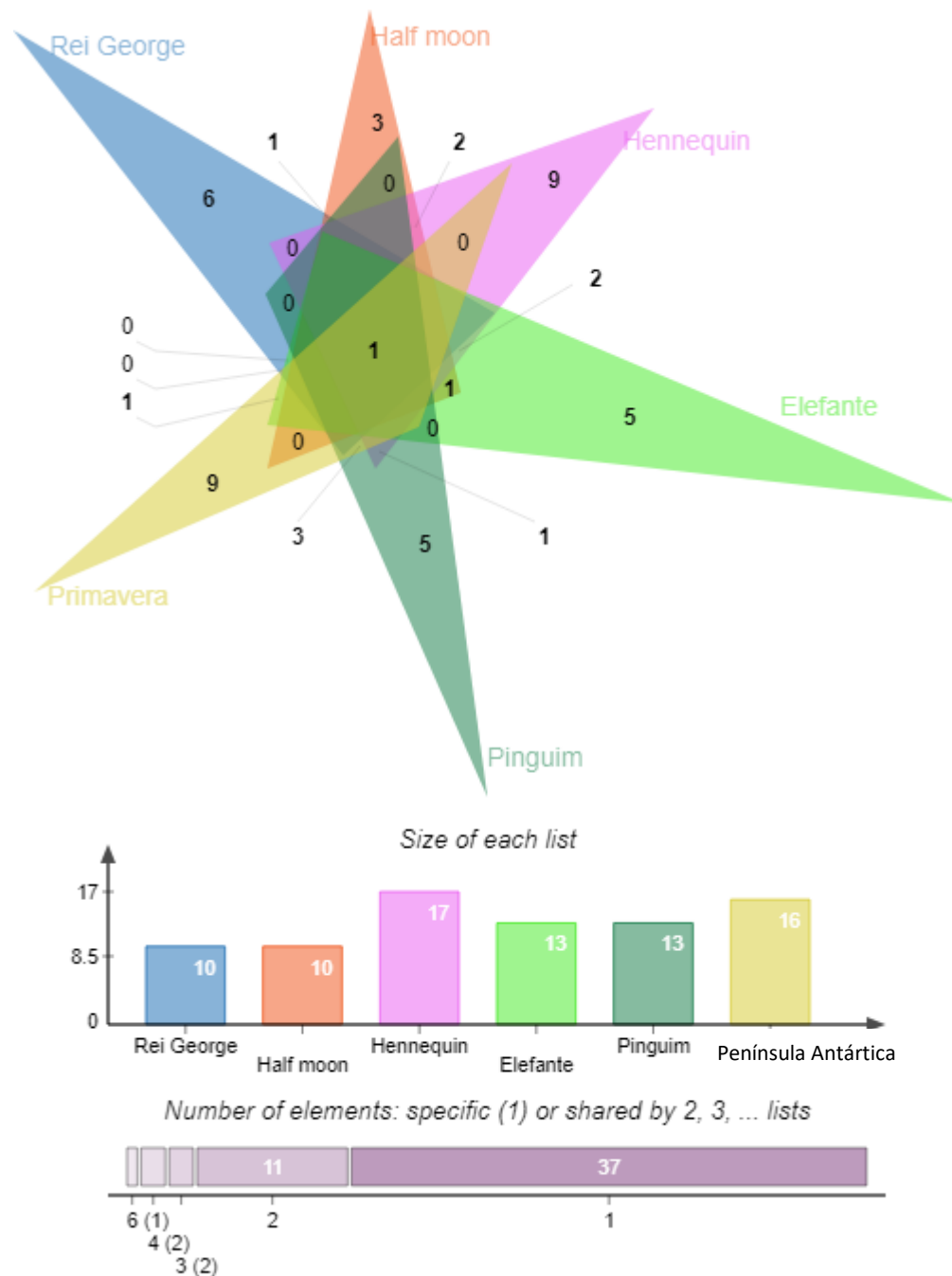


Figura 6. Similaridade entre os táxons fúngicos isolados de *Deschampsia antarctica* nas diferentes regiões amostradas. (Fonte: Lívia Costa)

Em relação aos isolados fúngicos de *C. quitensis*, não foram encontradas espécies em comum entre: (a) as ilhas Rei George, Pinguim e Península Antártica; (b) Rei George e Pinguim; (c) Rei George e Península antártica; e (d) Pinguim e Península Antártica. A única espécie fúngica em comum entre as ilhas Rei George e Península Antártica foi *P. destructans*. Os táxons *Mortierella* sp. 3, *M. gamsii*, *Penicillium* sp. 6, *Thelebolus* sp. e *A. pellizariae* foram

isoladas de amostras obtidas na Ilha Rei George e não foram encontradas nem na Ilha Pinguim nem na Península Antártica (**Figura 7**).

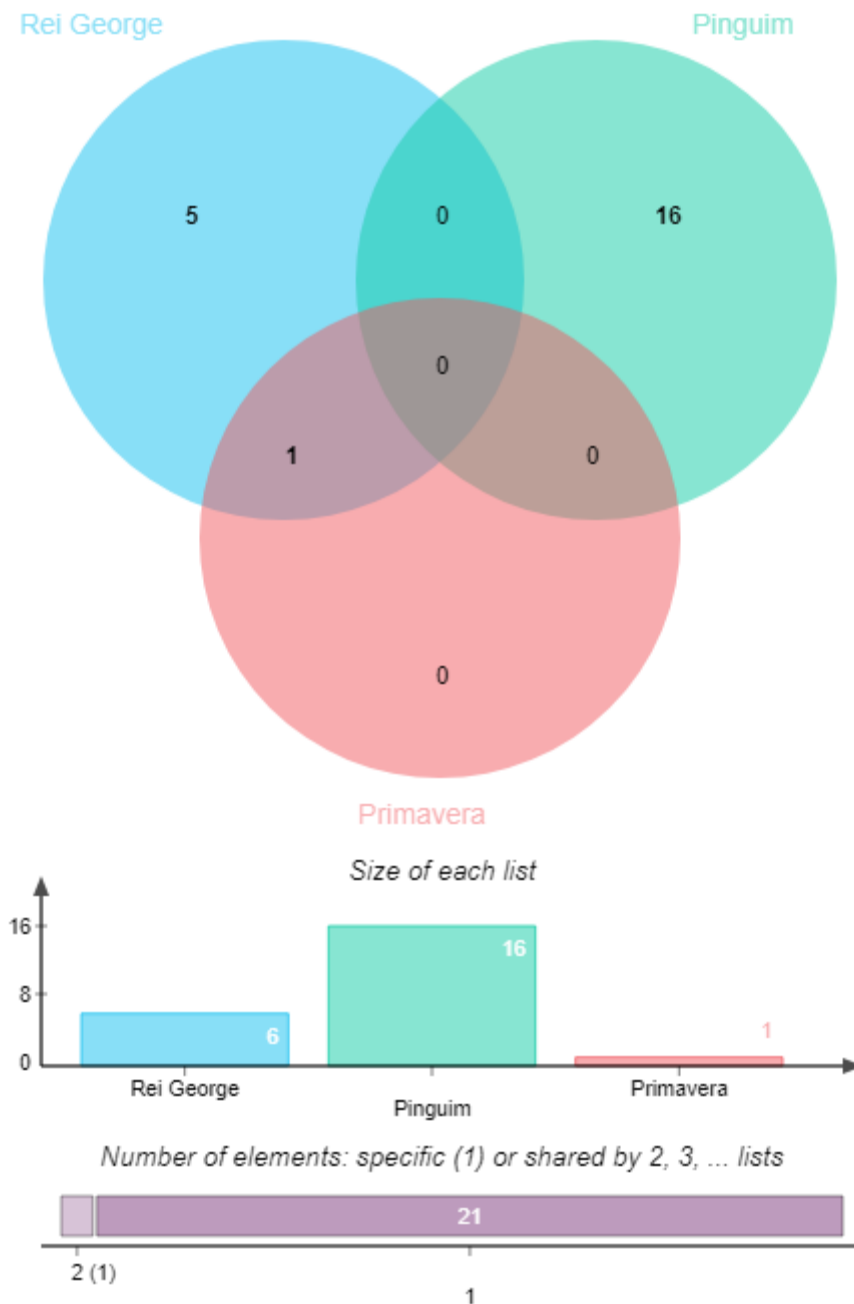


Figura 7. Similaridade dos fungos isolados de *Colobanthus quitensis* nas diferentes regiões amostradas. (Fonte: Livia Costa)

Comparando-se os táxons isolados das duas plantas amostradas foram encontrados 15 em comum (*A. rhododendri*, *A. pellizariae*, *Cladosporium* sp. 1, *Cystobasidium laryngis*, *M. lycopodium*, *M. gamsii*, *Mortierella* sp. 3, *Mortierella* sp. 4, *Penicillium* sp. 3, *Penicillium* sp. 4, *Penicillium* sp. 6, *P. destructans*, *Rhexocercosporidium* sp., *Thelebolus* sp. e *V. tephrensii*).

Em contraste, *Chalara* sp., *Cladosporium versiforme*, *Davidhawksworthia ilicicola*, *Leptosphaeria* sp., *Leucosporidium golubevii* e *Penicillium* sp. 7 foram isolados somente da *C. quitensis*.

Por outro lado *A. versicolor*, *C. ruguloflabelliforme*, *Cladosporium* sp. 2, *C. gilvescens*, *V. victoriae*, *Fusarium* sp., *Goffeauzyma* sp., *Gyoerffyella* sp., *Leohumicola* sp., *M. phragmitis*, *M. antarctica*, *M. fimbricystis*, *Mortierella parvispora*, *Mortierella* sp. 1, *Mortierella* sp. 2, *Mrakia gelida*, *Neoscochyta* sp., *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp. 5, *Penicillium* sp. 8, *Penicillium* sp. 9, *P. verrucosus*, *R. dairenensis*, *R. mucilaginoso*, *R. agropyri*, *Rhynchosporium* sp., *Septoriella* cf. *oudemansii*, *S. phragmitis*, *T. microspores*, *Vagicola arundinis*, *Vagicola* sp., *Verticillium* sp. foram isoladas somente de *D. antarctica* (**Figura 8**).

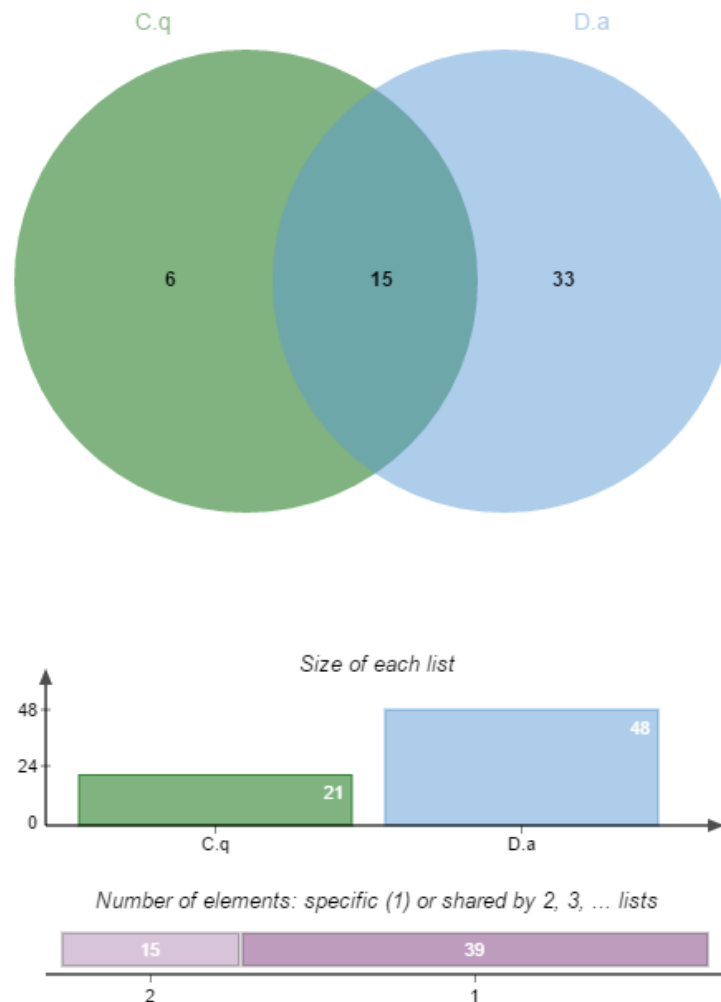


Figura 8. Similaridade de espécies fúngicas isoladas de *Colobanthus quitensis* e *Deschampsia antarctica*. (Fonte: Lívia Costa)

Em relação aos fungos isolados das folhas, raízes e rizosferas de *D. antarctica*, *P. destructans* foi o único obtido dos três substratos. *Rhynchosporium agropyri* e *Penicillium* sp. 9 foram obtidos somente das folhas; *A. rhododendri*, *C. gilvescens*, *M. gamsii*, *Mortierella* sp.

4, *Rhexocercosporidium* sp. 1, *S. cf. oudemansii*, *V. arundinis* e *Vagicola* sp. somente a partir das raízes. *Aspergillus versicolor*, *C. ruguloflabelliforme*, *Cladosporium* sp.1, *Cladosporium* sp. 2, *V. victoriae*, *C. laryngis*, *Fusarium* sp., *Goffeauzyma* sp., *Gyoerffyyella* sp., *M. lycopodium*, *M. phragmitis*, *M. antarctica*, *M. fimbricystis*, *M. parvispora*, *Mortierella* sp. 2, *Mortierella* sp. 3, *Mrakia gelida*, *Penicillium* sp.5, *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp. 8, *Pseudogymnoascus verrucosus*, *Rhexocercosporidium* sp., *R. dairenensis*, *R. mucilaginosa*, *S. phragmitis*, *T. microspores*, *Thelebolus* sp., *Verticillium* sp. e *V. tephrensis* foram obtidos somente da rizosfera.

Nenhuma espécie foi isolada em comum entre folha, raiz e rizosfera de *C. quitensis*, porém *A. rhododendri* e *Penicillium* sp. 3 foram obtidos na raiz e rizosfera. *Cladosporium* sp. 1 foi isolado somente das folhas. *Chalara* sp., *D. ilicicola*, *Mortierella* sp. 3, *Penicillium* sp. 4 e *R. sp.* foram isolados somente da raiz, enquanto as espécies *A. pellizariae*, *C. versiforme*, *C.laryngis*, *Leptosphaeria* sp., *L. golubevii*, *M. lycopodium*, *M. gamsii*, *Mortierella* sp. 4, *Penicillium* sp. 6, *Penicillium* sp. 7, *P. destructans*, *Thelebolus* sp. e *V. tephrensis* foram isoladas somente da rizosfera.

A comunidade fúngica presente na rizosfera se mostrou, aparentemente, mais diversa, seguida, respectivamente, por aquelas da raiz e folhas, tanto para *D. antarctica* quanto *C. quitensis*. Dentre os táxons isolados da rizosfera de ambas as plantas, 9 foram comuns (*A. pellizariae*, *C. versiforme*, *C. laryngis*, *M. lycopodium*, *M. gamsii*, *Penicillium* sp.3, *Penicillium* sp. 6, *P. destructans* e *Thelebolus* sp. 1). *Alpinaria.rhododendri*, *Leptosphaeria* sp., *L. golubevii*, *Mortierella* sp. 4, *Penicillium* sp. 7 e *V. tephrensis* foram isolados somente de *C. quitensis*, enquanto *A. versicolor*, *C. ruguloflabelliforme*, *Cladosporium* sp.2, *V. victoriae*, *Fusarium* sp., *Goffeauzyma* sp., *Gyoerffyyella* sp., *Leohumicola* sp., *M. phragmitis*, *M. antarctica*, *M. fimbricystis*, *M. parvispora*, *Mortierella* sp. 1, *Mortierella* sp. 2, *M. gelida*, *Neoscochyta* sp., *Penicillium* sp. 5, *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 2, *Penicillium* sp. 4, *Penicillium* sp. 8, *P. verrucosus*, *Rhexocercosporidium* sp., *R. dairenensis*, *R. mucilaginosa*, *Rhynchosporium* sp., *S. phragmitis* e *T. microspores* foram isolados somente e *D. antarctica*.

Comparando-se os fungos isolados das raízes, 5 espécies foram obtidas em comum entre as plantas amostradas (*A. rhododendri*, *M. gamsii*, *Penicillium* sp. 3, *Penicillium* sp. 4 e *Rhexocercosporidium* sp. 1). Já *Chalara* sp. e *D. ilicicola* foram isolados somente da *C. quitensis*, enquanto *A. pellizariae*, *C. gilvescens*, *Leohumicola* sp., *Mortierella* sp. 1, *Mortierella* sp. 4, *Neoscochyta* sp., *Penicillium* sp. 1, *Penicillium* sp. 6, *P. destructans*, *Rhynchosporium* sp., *S. cf. oudemansii*, *V. arundinis* e *Vagicola* sp. foram isolados somente de *D. antarctica*. Nenhum táxon foi isolado a partir das folhas de ambas as plantas. *Cladosporium*

sp. 1 foi isolado somente de *C. quitensis*, enquanto *R. agropyri*, *P. destructans* e *Penicillium* sp. 9 foram obtidas somente de *D. antarctica*.

Os gêneros *Alpinaria*, *Antarctomyces*, *Cladosporium*, *Cryptococcus*, *Goffeauzyma*, *Leohumicola*, *Mortierella*, *Mrakia*, *Neascochyta*, *Pseudogymnoascus*, *Rhynchosporium*, *Septoriella*, *Thelebolus* e *Vagicola* foram isolados como singletos de *D. antarctica*. Os gêneros *Chalara*, *Cladosporium*, *Microdochium*, *Penicillium*, *Pseudogymnoascus* e *Rhexocercosporidium* foram isolados da *C. quitensis* como singletos.

5. 3. Diversidade das assembleias fúngicas associadas às angiospermas antárticas

Em relação aos índices de diversidade, as análises foram realizadas separadamente, respeitando as diferentes plantas e suas partes (**Tabela 2**). A comunidade fúngica presente nas folhas de *D. antarctica* não apresentou distinção de diversidade entre os pontos amostrados e os maiores valores de riqueza e dominância foram encontrados nas amostras da ilha Rei George e Península Antártica. Quanto a comunidade associada as raízes de *D. antarctica*, a maior riqueza foi encontrada na Ilha Elefante e a maior dominância na Península Antártica. A comunidade presente nas rizosferas apresentou uma maior diversidade e riqueza em Punta Hennequin e uma maior dominância na Ilha Pinguim. A comunidade fúngica presente nas folhas de *C. quitensis* não pode ter os índices de diversidade calculados, pois somente um isolado foi obtido na Ilha Pinguim. Nas raízes de *C. quitensis* ocorreu maior diversidade, riqueza e dominância na Ilha Pinguim. A comunidade nas rizosferas de *C. quitensis* apresentou maior diversidade, riqueza e dominância na Ilha Pinguim.

Tabela 2. Índices de diversidade (Fisher α , Margalef e Simpson) dos isolados fúngicos coletados das regiões amostradas. (Fonte: Livia Costa)

Substrato	Regiões	Fisher α	Margalef	Simpson
Folhas de <i>Deschampsia antarctica</i>	Rei George	0	1,44	0,5
	Half Moon	0	0	0
	Península Antártica	0	1,44	0,5
Raízes de <i>D. antarctica</i>	Half Moon	1,05	0,55	0,5
	Hennequin	1,45	0,87	0,34
	Elefante	3,08	2,08	0,46
	Pinguim	0,29	0	0
	Península Antártica	0	1,82	0,67
Rizosferas de <i>D. antarctica</i>	Rei George	2,12	1,60	0,51
	Half Moon	2,89	1,78	0,72
	Hennequin	4,41	2,82	0,82
	Elefante	1,67	1,16	0,57
	Pinguim	4,10	2,65	0,84
Folhas de <i>Colobanthus quitensis</i>	Pinguim	0	0	0
Raízes de <i>C. quitensis</i>	Rei George	0	0	0
	Pinguim	3,49	1,80	0,67
Rizosferas de <i>C. quitensis</i>	Rei George	1,63	1,15	0,59
	Pinguim	3,46	2,2	0,82
	Península Antártica	0	0	0

A similaridade entre as comunidades fúngicas dos diferentes locais de coleta foi determinada por meio do índice de Sorensen. Em relação à comunidade fúngica isolada da *D. antarctica* (**Figura 9**), Half Moon e Punta Hennequin (Rei George) possuem comunidades mais similares entre si, seguida pela Ilha Elefante com uma comunidade menos similar que a das duas ilhas. A comunidade presente na Ilha Rei George (próximo à Estação Antártica Comandante Ferraz) é mais distintas daquelas presentes em Half Moon, Punta Hennequin e

Elefante. A Península Antártica e a Ilha Pinguim possuem comunidades similares entre si, porém bem distantes daquelas nos outros pontos de coleta. De acordo com a **Figura 10**, a comunidade fúngica encontrada na raiz e na rizosfera de *D. antarctica* são mais similares do que aquela encontrada nas folhas.

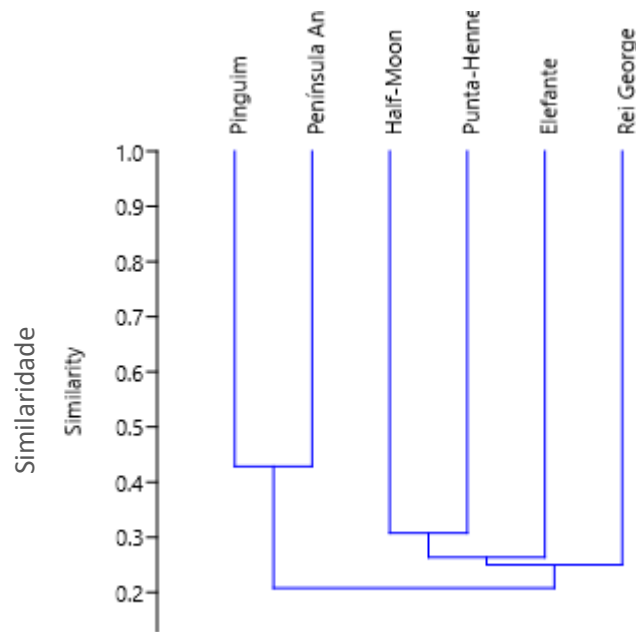


Figura 9. Índice de similaridade (coeficiente de Sorensen) das comunidades fúngicas isoladas de *Deschampsia antarctica* entre as regiões amostradas. (Fonte: Lívia Costa)

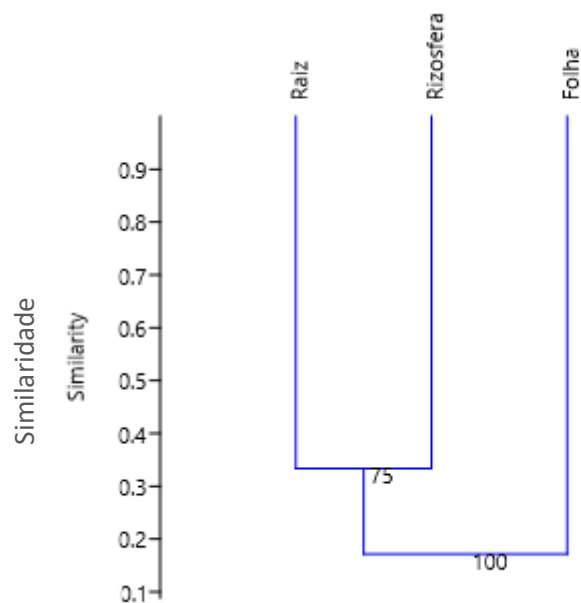


Figura 10. Índice de similaridade de Sorensen das comunidades fúngicas isoladas de *D. antarctica* entre os substratos amostrados (folha, raiz e rizosfera). (Fonte: Lívia Costa)

A curva de rarefação obtida, por meio do índice de Mao Tau, demonstrou que a comunidade obtida alcançou o intervalo de riqueza esperada para essas amostras, tanto em relação às ilhas (**Figura 11a**), quanto em relação aos substratos (**Figura 11b**).

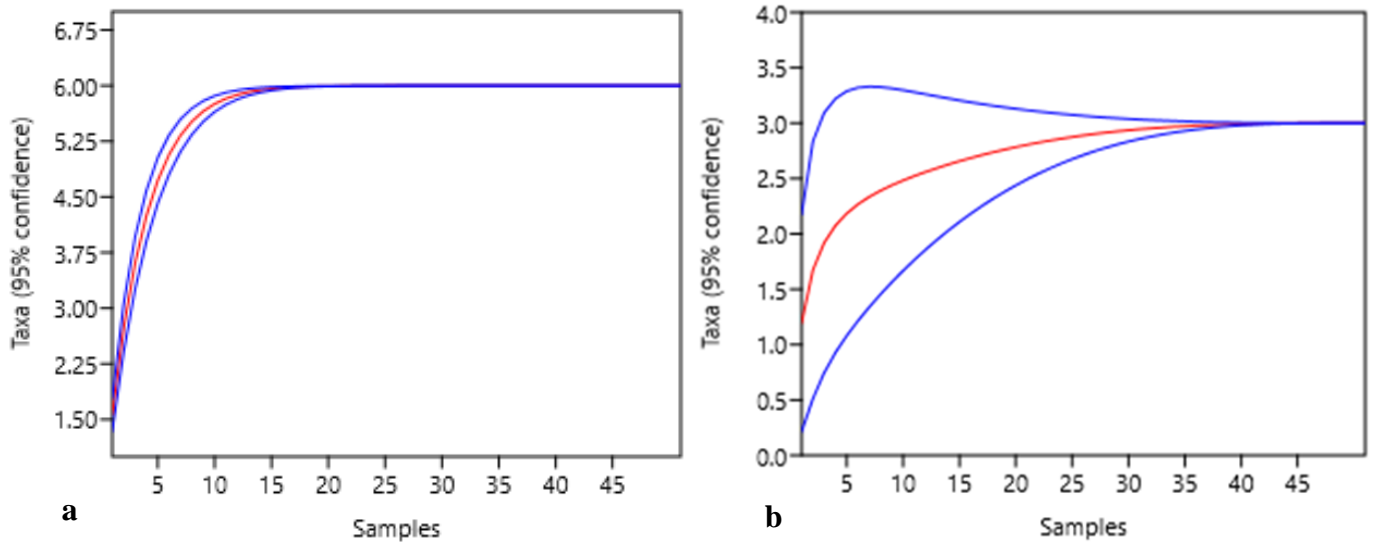


Figura 11. Curva de rarefação, utilizando o índice de Mao Tau, das comunidades fúngicas isoladas de *D. antarctica* (**a**) entre as ilhas Elefante, Half Moon, Pinquim, Rei George e a Península Antártica e (**b**) entre os substratos (folha, raiz e rizosfera). (Fonte: Lívia Costa)

Em relação à comunidade fúngica isolada de *C. quitensis* (**Figura 12**), a ilha Rei George (próximo à Estação Antártica Comandante Ferraz) e a Península Antártica possuem assembleias mais similares entre si do que a presente na Ilha Pinquim. De acordo com a **Figura 13**, a assembleia fúngica encontrada na raiz e na rizosfera de *C. quitensis* são mais similares do que aquela encontrada nas folhas.

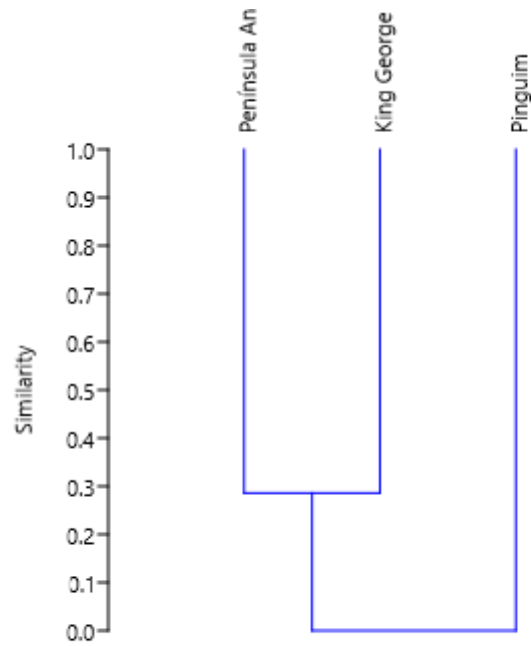


Figura 12. Índice de similaridade (coeficiente de Sorensen) das comunidades fúngicas isoladas de *Colobanthus quitensis* entre as ilhas Pinguim, Rei George e a Península Antártica. (Fonte: Lívia Costa)

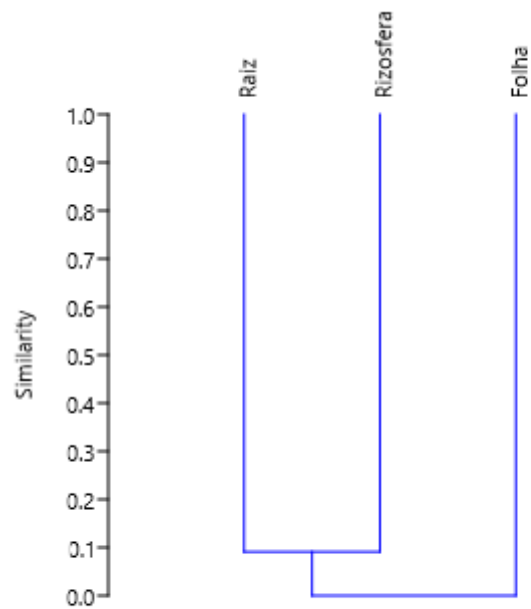


Figura 13. Índice de similaridade de Sorensen das assembleias fúngicas isoladas de *C. quitensis* entre os substratos (folha, raiz e rizosfera). (Fonte: Lívia Costa)

A curva de rarefação obtida, por meio do índice de Mao Tau, demonstrou que seria necessário um maior número de isolados para que a comunidade obtida alcançasse o intervalo de riqueza esperada para essas amostras, tanto em relação as ilhas (**Figura 14a**), quanto em relação aos substratos (**Figura 14b**).

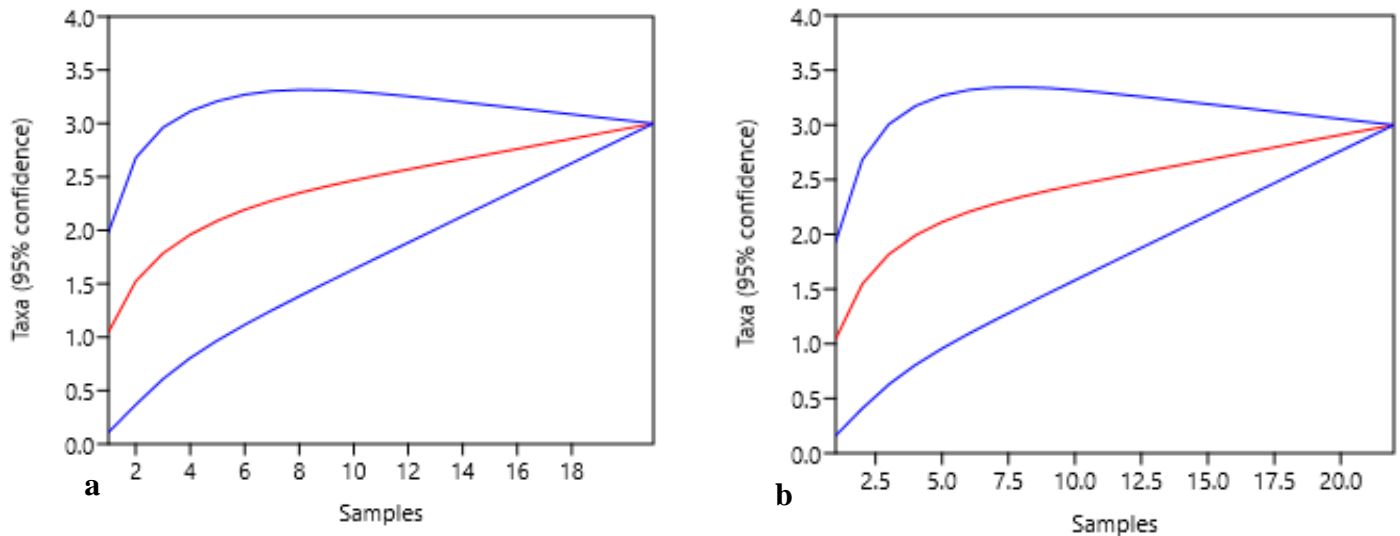


Figura 14. Curva de rarefação de Mao Tau das assembleias fúngicas isoladas de *Colobanthus quitensis*, (a) das regiões amostradas e (b) entre os substratos amostrados (folha, raiz e rizosfera). (Fonte: Lívia Costa)

5. 4. Avaliação da atividade xerofílica

5. 4.1 Pré-ensaio de detecção da atividade xerofílica

Todos os 463 isolados fúngicos obtidos da rizosfera de ambas as plantas hospedeiras foram submetidos à capacidade de crescimento em meio de cultura em gradiente de glicerol com objetivo de simular condições de baixa atividade de água. Quatrocentos e sessenta isolados foram capazes de crescer na presença de 18% de glicerol, 200 a 36%, 110 a 54% e 47 a 72%. Os isolados que apresentaram crescimento nos meios DG-54 e DG-72 foram considerados xerofílicos (**Tabela 3**), porém somente aqueles que cresceram no DG-72 foram selecionados para o ensaio de detecção da atividade xerofílica. O gênero encontrado com maior frequência entre os isolados xerofílicos foi *Penicillium* (65 isolados), seguido pelo *Pseudogymnoascus* (22). Com menor frequência destacaram-se *Thelebolus* (2 isolados) e *Leptosphaeria* (1).

Tabela 3. Identificação dos fungos capazes de crescer em meio DG com 54 e 72% de glicerol.

(Fonte: Livia Costa)

Fungo	UFMGCB*	Planta hospedeira	DG54**	DG72***
<i>Antarctomyces pelizarie</i>		<i>Deschampsia antarctica</i>	X	-
	13284			
<i>A. pelizarie</i>	13477	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>A. pelizarie</i>	13576	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>Cladosporium subcerenum</i>	13579	<i>D. antarctica</i>	X	-
		<i>Colobanthus</i>	X	-
<i>Cladosporium versiforme</i>	13502	<i>quitensis</i>		
<i>C. versiforme</i>	13569	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>C. versiforme</i>	13570	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>C. versiforme</i>	13573	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>Leptosphaeria irregulares</i>	13508	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>Mortierella antarctica</i>	13135	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Mortierella elongulata</i>	13227	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>M. elongulata</i>	13232	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Mortierella gamsii</i>	13468	<i>D. antarctica</i>	X	X
Não identificado	13105	<i>D. antarctica</i>	X	-
Não identificado	13114	<i>D. antarctica</i>	X	-
Não identificado	13214	<i>D. antarctica</i>	X	-
Não identificado	13218	<i>D. antarctica</i>	X	-
Não identificado	13241	<i>D. antarctica</i>	X	X
Não identificado	13244	<i>D. antarctica</i>	X	-
Não identificado	13317	<i>D. antarctica</i>	X	-
Não identificado	13321	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>Penicillium jamesonlandense</i>	13482	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Penicillium commune</i>	13222	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>Penicillium jamesonlandense</i>	13480	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. jamesonlandense</i>	13517	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. jamesonlandense</i>	13524	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. jamesonlandense</i>	13541	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. jamesonlandense</i>	13548	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>Penicillium kojigenum</i>	13538	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>Penicillium raistrickii</i>	13450	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. raistrickii</i>	13454	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. raistrickii</i>	13465	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. raistrickii</i>	13466	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. raistrickii</i>	13470	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. raistrickii</i>	13471	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. raistrickii</i>	13498	<i>C. quitensis</i>	X	X

<i>P. raistrickii</i>	13539	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. raistrickii</i>	13565	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. raistrickii</i>	13584	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. raistrickii</i>	13595	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>Penicillium</i> sp.	13167	<i>Colobanthus quitensis</i>	X	X
<i>Penicillium</i> sp.	13219	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Penicillium</i> sp.	13225	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Penicillium</i> sp.	13290	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Penicillium</i> sp.	13418	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Penicillium</i> sp.	13448	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Penicillium spathulatum</i>	13334	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>Penicillium swecickii</i>	13453	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13456	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13462	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13464	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13467	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13469	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13476	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13490	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13491	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13492	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13497	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13499	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13500	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13501	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13511	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13518	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13521	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13522	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13523	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13530	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13533	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13537	<i>C. quitensis</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13540	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13546	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13554	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13557	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13558	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13572	<i>D. antarctica</i>	X	-

<i>P. swecickii</i>	13575	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13577	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13578	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13580	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. swecickii</i>	13581	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. swecickii</i>	13583	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. tularensis</i>	13327	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>Pseudogymnoascus destructans</i>			X	-
<i>P. destructans</i>	13112	<i>D. antarctica</i>		
<i>P. destructans</i>	13112	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13123	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13146	<i>D. antarctica</i>	X	X
<i>P. destructans</i>	13149	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13178	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13186	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13211	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13229	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13259	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13282	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13303	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13304	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13305	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13315	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13319	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13340	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13348	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13411	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13591	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13615	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>P. destructans</i>	13618	<i>C. quitensis</i>	X	-
<i>Thelebolus globosus</i>	13325	<i>D. antarctica</i>	X	-
<i>T. globosus</i>	13457	<i>D. antarctica</i>	X	-

*UFMGCB = Coleção de Micro-organismos e Células da Universidade Federal de Minas Gerais.

**DG54=Isolados que cresceram no meio DG54.

***DG72=Isolados que cresceram no meio DG72.

5. 4.2 Ensaio de detecção da atividade xerofílica

O crescimento micelial dos 47 isolados que apresentaram crescimento no meio DG-72 foi acompanhado e medido por 27 dias e mensurado a cada 9 dias, conforme dados demonstrados na **Tabela 4**.

Tabela 4. Taxa de crescimento micelial dos isolados obtidos da rizosfera das angiospermas antárticas capazes de crescer até 72% de glicerol após 27 dias. (Fonte: Livia Costa)

Fungo	Taxa de crescimento				
	UFMGCB**	DG-18 ^a	DG-36 ^b	DG-54 ^c	DG-72 ^d
<i>Mortierella antarctica</i>	13135	1,50	0,92	0,37	0,23
<i>Mortierella elongulata</i>	13232	1,33	1,14	0,36	0,28
<i>Mortierella gamsii</i>	13468	1,86	0,72	0,43	0,19
<i>Penicillium commune</i>	13222	1,03	0,83	0,65	0,52
<i>Penicillium jamesonlandense</i>	13480	1,26	0,66	0,28	0,21
<i>P. jamesonlandense</i>	13482	1,05	0,56	0,34	0,26
<i>P. jamesonlandense</i>	13524	1,43	0,70	0,28	0,17
<i>Penicillium raistrickii</i>	13450	1,67	0,84	0,37	0,33
<i>P. raistrickii</i>	13465	1,09	0,70	0,27	0,21
<i>P. raistrickii</i>	13466	1,44	0,71	0,30	0,15
<i>P. raistrickii</i>	13470	0,93	0,82	0,42	0,23
<i>P. raistrickii</i>	13471	0,85	0,50	0,29	0,26
<i>P. raistrickii</i>	13475	1,16	0,73	0,21	0,17
<i>P. raistrickii</i>	13498	0,57	0,53	0,28	0,22
<i>Penicillium</i> sp.	13167	1,67	0,88	0,56	0,19
<i>Penicillium</i> sp.	13219	1,62	1,34	0,38	0,27
<i>Penicillium</i> sp.	13225	1,40	0,95	0,39	0,28
<i>Penicillium</i> sp.	13241	2,24	1,15	0,34	0,23
<i>Penicillium</i> sp.	13290	2,09	1,06	0,50	0,27
<i>Penicillium</i> sp.	13418	0,85	0,76	0,47	0,46
<i>Penicillium</i> sp.	13448	1,64	1,19	0,53	0,47
<i>Penicillium spathulatum</i>	13334	1,97	0,99	0,30	0,21
<i>Penicillium swecickii</i>	13227	1,89	0,80	0,55	0,36
<i>P. swecickii</i>	13462	1,04	0,68	0,24	0,20
<i>P. swecickii</i>	13464	0,99	0,61	0,29	0,20
<i>P. swecickii</i>	13467	1,65	0,93	0,35	0,15
<i>P. swecickii</i>	13469	1,17	0,63	0,46	0,22
<i>P. swecickii</i>	13472	0,95	0,74	0,29	0,22
<i>P. swecickii</i>	13473	0,91	0,72	0,57	0,19
<i>P. swecickii</i>	13474	1,74	0,67	0,39	0,30
<i>P. swecickii</i>	13476	1,00	0,83	0,32	0,19
<i>P. swecickii</i>	13497	0,94	0,85	0,22	0,20
<i>P. swecickii</i>	13500	2,01	0,88	0,33	0,29
<i>P. swecickii</i>	13501	1,27	0,98	0,28	0,24
<i>P. swecickii</i>	13522	1,36	0,80	0,27	0,22
<i>P. swecickii</i>	13523	1,32	0,73	0,27	0,22
<i>P. swecickii</i>	13530	1,84	1,18	0,37	0,31
<i>P. swecickii</i>	13537	1,00	0,60	0,36	0,23
<i>P. swecickii</i>	13554	1,47	0,77	0,34	0,27
<i>P. swecickii</i>	13557	1,20	1,06	0,28	0,23
<i>P. swecickii</i>	13558	0,93	0,52	0,45	0,29
<i>P. swecickii</i>	13575	2,44	1,02	0,40	0,23

<i>P. swecickii</i>	13578	1,68	1,11	0,29	0,26
<i>P. swecickii</i>	13580	0,88	0,72	0,48	0,32
<i>P. swecickii</i>	13583	1,03	0,74	0,45	0,29
<i>P. swecickii</i>	13584	1,39	0,65	0,43	0,34
<i>Pseudogymnoascus destructans</i>	13146	2,04	1,20	0,54	0,31
Variância		0,18	0,04	0,01	0,01

*Valores dados em mm x d⁻¹. Taxa de crescimento dos isolados nos meios: a=DG18, b=DG36, c=DG54 e d=DG72** Coleção de Micro-organismos e Células da Universidade Federal de Minas Gerais.

A curva de crescimento dos isolados apresentou um crescimento mais intenso (maior taxa de crescimento) nas porcentagens mais baixas de Glicerol (18 e 36 %) e um crescimento mais lento (menor taxa de crescimento) (**Tabela 10**) nas porcentagens mais elevadas (54 e 72%). As taxas de crescimento dos fungos que cresceram no DG-72 nos diferentes meios foram avaliadas por meio da Análise de Variância e Teste de Tukey, para a comparação das médias. A ANOVA desses dados demonstrou diferenças significativas entre os resultados obtidos pelos diferentes fungos ($p < 0,001$). O teste de Tukey demonstrou que os meios DG-18, DG-36 e DG-54 diferem entre si, enquanto os meios DG-54 e DG-72 não apresentam diferença significativa entre eles. Em relação a quantidade de Glicerol utilizada nos meios DG-54 e DG-72 no ensaio para determinar as taxas de crescimento dos isolados xerofílicos, de acordo com o Teste de Tukey, esses meios não apresentaram diferença estatística significativa entre as suas taxas. Isso demonstrou que de 54 a 72 % de glicerol a taxa de crescimento dos isolados é muito semelhante. Os isolados que obtiveram as maiores taxas de crescimento no DG-72 foram *Penicillium commune* UFMGCB13222 (**Figura 15**), *Penicillium swecickii* UFMGCB13227, *Penicillium* sp. UFMGCB13418, *Penicillium* sp. UFMGCB13448 e *Penicillium raistrickii* UFMGCB13584.

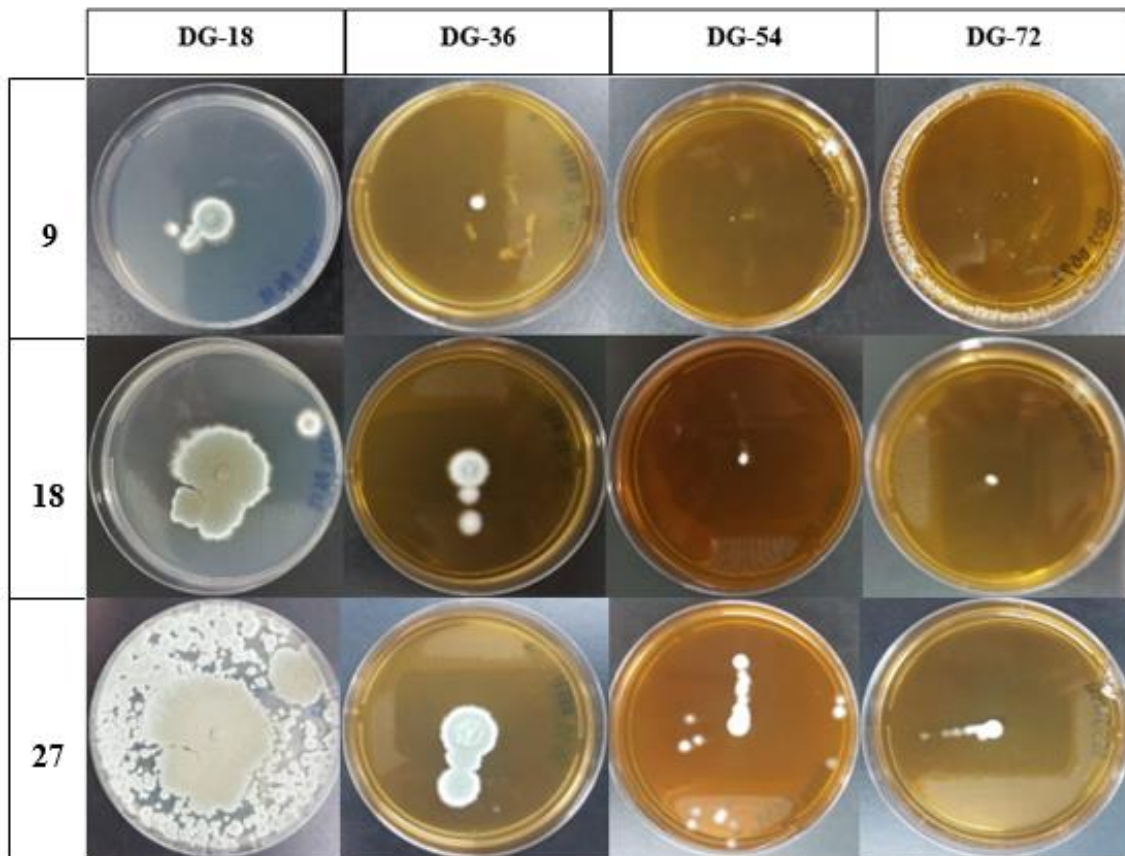


Figura 15. Crescimento do isolado *Penicillium commune* UFMGCB 13222 nos meios DG-18, DG-36, DG-54 e DG-72, nos dias 9, 18 e 27. (Fonte: Lívia Costa)

6. DISCUSSÃO

Isolamento e identificação

Levando-se em conta a extensão da Antártica, na literatura foram publicados poucos estudos em relação a comunidade endofítica associada às angiospermas antárticas. Em relação a *D. antarctica*, 5 trabalhos foram publicados, os quais isolaram fungos a partir de folhas e raízes (Moller & Dreyfuss 1996, Rosa et al. 2009, Upson et al. 2009, Santiago et al. 2012, 2016). Em relação a *C. quitensis*, 3 foram publicados, os quais obtiveram fungos somente a partir de folhas (Moller & Dreyfuss 1996, Rosa et al. 2010, Santiago et al. 2016).

De acordo com Moller & Dreyfuss (1996), 20 espécies foram obtidas de 9 fanerógamas na Ilha Rei George e *Phoma* sp. II foi o táxon mais frequente, mas também identificados *Phoma* sp., *Phaeoseptoria* sp., *Phaeosphaeria microscopica*, *Volucrispora graminea*, *Phialophora malorum*, *Chromelosporium ollar* e *Fusarium* sp. Todas as espécies mencionadas foram descritas como cosmopolitas e a *P. microscopica* como fungo endofítico por Márquez et al.

(2007), isolado de *Dactylis glomerata*. No presente trabalho, somente o táxon *Fusarium* sp. foi obtido em comum.

Rosa et al. (2009) obtiveram 26 isolados fúngicos a partir das folhas de 91 espécimes de *D. antarctica* e identificaram dois gêneros, *Alternaria* e *Phaeosphaeria*; *Alternaria* foi o mais abundante com 57,7%. Santiago et al. (2012) obtiveram 31 isolados fúngicos a partir de *D. antarctica* coletadas na Ilha Rei George. Dentre as espécies isoladas, destacaram-se: *Alternaria* sp. 1, *Helgardia* sp., *Herpotrichia* sp., *Oculimacula* sp. e *Phaeosphaeria herpotrichoides*, as quais são consideradas cosmopolitas. Duas espécies endêmicas também foram relatadas, *Antarctomyces psychrotrophicus* e *Cadophora luteo-olivacea*, a segunda já foi descrita como endofítica de *C. quitensis* por Rosa et al. (2010). Esses mesmos autores também isolaram a espécie *A. psychrotrophicus*, porém da rizosfera da planta hospedeira amostrada na Ilha Elefante. Em relação às leveduras, Santiago et al. (2016) obtiveram 28 isolados a partir das folhas de 56 espécimes de *D. antarctica* na Ilha Rei George, as quais foram identificadas como pertencentes aos táxons *Vishniacozyma victoriae* e *Cystobasidium laryngis*, sendo a *V. victoriae* a mais frequente. Ambas as espécies também foram isoladas neste estudo; *V. victoriae* obtida da rizosfera de *D. antarctica* na Ilha Pinguim e Península Antártica, como singleto na Ilha Half Moon e em Punta Hennequin na Ilha Rei George. Já a *C. laryngis* foi isolada da rizosfera da *C. quitensis* na Ilha Pinguim e de *D. antarctica* na Península Antártica.

Dois trabalhos foram publicados referente aos fungos associados às raízes das duas angiospermas antárticas. Upton et al. (2009) identificaram 243 isolados fúngicos, dentre eles as espécies *Oculimacula* sp. (obtido das Ilhas Signy) e *Hydrocina chaetocladia* (obtido da Ilha da Coroação). Em relação aos fungos associados à rizosfera das angiospermas antárticas, Vaz et al. (2011) isolaram 26 leveduras da rizosfera de *D. antarctica* (Ilha Rei George), as quais foram identificadas como *Candida sake*, *Cryptococcus antarcticus*, *V. victoriae*, *Debaryomyces hansenii*, *Dioszegia aurantiaca*, *D. crocea*, *D. hungarica*, *Dioszegia* sp., *Leuconeurospora* sp., *Leucosporidiella creatinivora*, *L. fragaria* e *L. muscorum*. Já Gonçalves et al. (2015) isolaram os fungos filamentosos *Penicillium coralligerum*, *Peniophora* sp., *Mortierella alpina*, *Simplicillium lamellicola*, *Geomyces* sp., *Peniophora lycii*, *Peniophora laxitexta*, *Nectriaceae* sp., *Pestalotiopsis microspora*, *Trichoderma longibrachiatum* e *Fusarium avenaceum* a partir de rizosfera de *D. antarctica* (Ilha Rei George).

Rosa et al. (2010) obtiveram 188 fungos a partir de folhas da *C. quitensis* na Ilha Rei George, sendo *Davidiella tassiana* a espécie mais abundante (20,2%). As espécies identificadas como cosmopolitas foram *A. reptans*, *D. tassiana*, *Entrophospora* sp., *F. proliferatum*, *Microdochium phragmitis*, *Mycocentrospora* sp. e *P. microscopica*, enquanto as espécies *C.*

luteo-olivacea e *Geomyces pannorum* foram identificadas como endêmicas da Antártica. No presente trabalho, foram obtidos isolados pertencentes aos gêneros *Geomyces* (*Pseudogymnoascus*) e *Fusarium* a partir de rizosfera de *D. antarctica* na Península Antártica. As espécies *D. tassiana*, *Entrophospora* sp. e *P. microscopica* já foram descritas como endofíticas por, respectivamente, Pancher et al. (2012) de *Vitis vinifera*, Park et al. (2012) de *Panax ginseng* e por Márquez et al. (2007) de *Dactylis glomerata*. *Davidiella tassiana*, forma telemórfica do *Cladosporium herbarum* (Ding et al. 2016), não foi isolada nesse trabalho, porém outras espécies pertencentes a esse gênero, como *C. ruguloflabelliforme* (obtida da rizosfera de *D. antarctica*/Ilha Half Moon), *C. versiforme* (rizosferas de *C. quitensis*/Ilha Pinguim e *D. antarctica*/Península Antártica) e *C. subcinereum* (rizosfera de *D. antarctica*/Península Antártica) foram isoladas. O gênero *Microdochium* também foi identificado no presente trabalho e a espécie *M. phragmitis* isolada de rizosfera de *D. antarctica* (Ilha Pinguim), *M. lycopodium* isolada de rizosfera de *D. antarctica* (Ilha Pinguim e Península Antártica) e de *C. quitensis* (Ilha Pinguim).

Santiago et al. (2016) identificaram 80 leveduras endofíticas isoladas de folhas da *C. quitensis* na Ilha Rei George. A espécie mais abundante encontrada pelos autores foi *V. victoriae*, mas também foram isoladas outras leveduras cosmopolitas como *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporidiobolus ruineniae* e *Leucosporidium* aff. *golubevii*. No presente trabalho, as espécies *R. mucilaginosa* e *L. golubevii* também foram encontradas, porém a primeira foi isolada de rizosfera de *D. antarctica* em Punta Hennequin (Ilha Rei George) e a segunda da rizosfera da *C. quitensis* na Ilha Pinguim. Segundo Vishniac & Klinger (1986) e Vishniac & Onofri (2003), os gêneros *Candida*, *Cryptococcus* e *Leucosporidium* já foram descritos como dominantes em diferentes substratos na Antártica.

Pseudogymnoascus destructans foi o único táxon encontrado em todas as ilhas associado a *D. antarctica*, bem como como o único táxon em comum isolado das Ilhas Rei George e Primavera, associado com a *C. quitensis*. Além disso, *P. destructans* foi isolado de *D. antarctica* como singleto, a partir de rizosfera amostrada na Península Antártica. Esse gênero tem uma ampla distribuição (Lorch et al. 2011, 2013; Minnis & Lidner, 2013) e é comumente isolado de solos de regiões frias (Hayes et al. 2012) de regiões temperadas (Blehert et al. 2009; Zukal et al. 2016), do Ártico (Hayes et al. 2012) e da Antártica (Mercantini et al. 1989; Onofri et al. 1999; Ding et al. 2016). Espécies de *Pseudogymnoascus* tendem a ser psicrófilicas e tem a habilidade de colonizar diversos substratos, além de utilizar diferentes fontes de carbono (Arenz et al. 2006; Arenz & Blanchette, 2011). Segundo Furbino (2018), as atividades agarolíticas e carragenolíticas desse grupo podem representar diferentes estratégias para a sua

colonização e dispersão. Na Antártica, já foram isolados *Pseudogymnoascus* de substratos como solos (Mercantini et al., 1989; Arenz & Blanchette, 2011; Godinho et al. 2015; Gonçalves et al. 2015; Ding et al. 2016; Kondratiuk et al. 2016; Gomes et al. 2018), rochas (Kondratiuk et al. 2016), sedimentos marinhos e de lagos (Gonçalves et al. 2015), água de lagos (Gonçalves et al. 2012), macroalgas (Loque et al., 2010; Furbino et al., 2014; Furbino et al. 2018), lichens (Santiago et al. 2015; Kondratiuk et al. 2016), musgos (Tosi et al. 2002; Kondratiuk et al. 2016), angiospermas (Rosa et al. 2010) e esponjas marinhas (Henriquez et al. 2014; Poveda et al. 2018). Neste estudo, o gênero *Pseudogymnoascus* foi isolado de rizosfera de *D. antarctica* na Península Antártica e nas ilhas Rei George (próximo à Estação Antártica Comandante Ferraz e Punta Hennequin), Half Moon, Elefante e Pinguim.

A espécie *P. destructans*, encontrada nesse trabalho, já foi isolada de líquens nas Ilhas Elefante e Rei George (Santiago et al. 2015) e solo na Ilha Rei George em *Yellow point* (Gomes et al. 2018). *Pseudogymnoascus destructans* é amplamente descrito na literatura por ocasionar a Síndrome do Nariz Branco em morcegos (Lorch et al. 2011), em regiões temperadas da América do Norte, Europa e Ásia. A infecção desses mamíferos ocorre durante a hibernação, momento no qual a temperatura corpórea diminui e o sistema imunológico desses animais está mais susceptível à infecção fúngica por *P. destructans* (Langwig et al., 2015). Porém, ainda não há informações sobre a virulência dessa espécie na Antártica (Gomes et al. 2018). De acordo com nosso conhecimento, este é o primeiro relato do táxon *P. verrucosus* na Antártica, o qual foi isolado de rizosfera de *D. antarctica* na Ilha Rei George em Punta Hennequin e na Ilha Elefante.

Duzentos e doze isolados pertencentes ao gênero *Penicillium* foram obtidos neste trabalho. De acordo com McRae et al. (1999), *Penicillium* já foi descrito como o gênero mais comumente encontrado nos ecossistemas antárticos e isolado de macroalgas (Loque et al. 2010; Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014, 2018), musgos (Fletcher et al. 1984; Möller & Dreyfuss, 1996; McRae et al. 1999; Tosi et al. 2002; Zhang et al. 2013; Kondratiuk et al. 2016), angiospermas (Santiago et al. 2012, 2015), aves (McRae et al. 1999), sedimentos marinhos (Gonçalves et al. 2013, 2015), lagos (Brunati et al. 2009; Gonçalves et al. 2012, 2015), solos (Mercantini et al. 1989; Azmi and Seppelt, 1998; Singh et al. 2009; Kostadinova et al. 2009; Godinho et al. 2015; Gonçalves et al. 2015; Ding et al. 2016; Kondratiuk et al. 2016; Gomes et al. 2018), permafrost (Kochkina et al. 2012; Zucconi et al. 2012), gelo (D'Elia et al. 2009), esponjas (Henriquez et al. 2014; Poveda et al. 2018), rochas (Kondratiuk et al. 2016), lichens (Kondratiuk et al. 2016), artrópodes (Bridge et al. 2005), iscas de madeiras históricas (Arenz et

al. 2006) e água do mar (Gonçalves et al. 2017b). No presente trabalho, esse gênero foi descrito como o mais abundante em relação a *D. antarctica*.

Penicillium é capaz de produzir esporos que toleram ambientes xerofílicos, predominando, principalmente, nas áreas distantes de costas marítimas (Corry, 1987). Sua distribuição na Antártica é extensa, indicando que algumas espécies podem atuar como decompositoras nesse ambiente (Fletcher et al. 1984), representando um importante elemento na reciclagem terrestre dos nutrientes na Antártica (Rudolph & Benninghoff 1977; Block 1994). Espécies de *Penicillium* já foram descritas como capazes de produzir substâncias bioativas (Gomes et al. 2018). De acordo com Godinho et al. (2015), algumas espécies selvagens de *Penicillium* isoladas de solo da Antártica continental foram reportadas como produtoras de substâncias com atividade antiviral, antibacteriana, antifúngica, antitumoral, herbicida e tripanocida. Um exemplo disso é a espécie *Penicillium chrysogenum* que demonstrou atividade antimicrobiana e citotóxica capaz de inibir colônias de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* e *Escherichia coli* (Brunati et al. 2009), demonstrando também atividade antifúngica e tripanocida (Godinho et al. 2013). *Penicillium chrysogenum* é cosmopolita e isolado de ambientes fechados, desertos, comida desidratada, salinas e laticínios (Frisvad & Samson, 2004). Na Antártica, já foi isolado de solos (McRae et al. 1999; Godinho et al. 2015; Ding et al. 2016; Gomes et al. 2018), macroalgas (Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014; Furbino et al. 2018), lichens (Santiago et al. 2015), lagos (Brunati et al. 2009), água do mar (Gonçalves et al. 2017b) e *permafrost* (Zucconi et al. 2012).

A espécie *Penicillium tardo-chrysogenum* isolada neste trabalho de folhas e rizosfera de *D. antarctica*, é relatada como endêmica da Antártica e foi descrita como produtora de metabólitos secundários como penicilinas, ácidos secalônicos, dentre outras substâncias (Houbraken et al. 2012). Até o momento, na Antártica, essa espécie só foi isolada de solos (Houbraken et al. 2012; Godinho et al. 2015; Gomes et al. 2018), logo, pelo nosso conhecimento, este é o primeiro relato deste táxon isolado como endofítico.

Mortierella foi isolada de rizosfera de *D. antarctica* e *C. quitensis*. *Mortierella* foi o gênero mais abundante encontrado em associação com *C. quitensis*, seguido pela levedura *Vishniacozyma*. *Mortierella* pertence ao filo *Zygomycota* (Ding et al. 2016) e sub-filo *Mortierellomycotina*. De acordo com Webster (1980), esse filo produz zigósporos com múltiplas camadas. Segundo Kirk et al. (2008), o gênero inclui 85 espécies, de maior ocorrência em solos de diferentes tipos, já tendo sido isolado de regiões de baixas temperaturas (Sogonov et al., 2004). Na Antártica esse gênero foi isolado de musgos (Pugh & Allsopp, 1982; Möller & Dreyfuss, 1996; Tosi et al. 2002; Zhang et al. 2013; Melo et al. 2014), lagos (Gonçalves et

al. 2012), solos (Del Frate e Carreta, 1990; Zucconi et al. 1996; Weinstein et al. 2000; Adams et al. 2006; Arenz et al. 2006; Bridge & Newsham, 2009; Arenz et al. 2011; Gonçalves et al. 2015; Ding et al. 2016, Gomes et al. 2018), líquens (Santiago et al. 2015), macroalgas (Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014), *permafrost* (Gilichinsky et al., 2007) e artrópodes (Bridge et al. 2007).

As espécies de *Mortierella* são promissoras para a busca de ácidos graxos essenciais, como o ômega 3 e 6, que não são sintetizados pelo corpo humano, porém, são necessários para se manter a saúde humana em boas condições (Dyal & Narine, 2005). Segundo Higashiyama et al. (2002), fungos que crescem em ambientes frios, como a Antártica, são mais propensos a produção desses lipídeos. Algumas espécies desse gênero já foram descritas com a capacidade de produzir e/ou de acumular ácidos graxos (Wagner et al., 2013) e a presença dessas substâncias auxilia na identificação das espécies desse gênero (Maggi et al. 2013). De acordo com Melo et al. (2014), *Mortierella alpina* é capaz de produzir altos níveis de ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido γ -linoleico e o ácido araquidônico, com atividades antibacterianas e antioxidantes. De acordo com Onofri et al. (2004), *Mortierella antarctica* também é capaz de produzir ácido linoleico e ácido araquidônico, assim como a *M. alpina*. Além dessas *Mortierella parvispora* foi reportada também como produtora de ácido araquidônico e de ácido di-homo- γ -linoleico (Hou, 2008).

O gênero *Vishniacozyma*, segundo mais abundante em *C. quitensis*, foi descrito em 2015, após a revisão da ordem *Tremellomycete* por meio da biologia molecular algumas espécies foram reclassificadas como espécies do gênero *Vishniacozyma* (Liu et al. 2015). De acordo com Vishniac (2006), a espécie *Cr. victoriae* foi originalmente descrita na Antártica, porém, atualmente, há registros dela na Europa (Vishniac, 2006). A ocorrência dessa espécie na rizosfera de plantas antárticas, como a *D. antarctica*, e de plantas de ambientes temperados, sugerem que essa levedura prefere a rizosfera desse tipo de ambiente (Vaz et al. 2011). Esse gênero é psicrófilico e já foi isolado da Antártica a partir de amostras de solo (Thomas-Hall et al. 2002; Vishniac, 2006; Connell et al. 2008; Arenz et al. 2011; Vaz et al. 2011; Carrasco et al. 2012; Tsuji et al. 2016; Gomes et al. 2018), sedimento marinho (Vaz et al. 2011), água continental (Vaz et al. 2011), angiospermas (Vaz et al. 2011; Santiago et al. 2016), macroalgas (Loque et al. 2010; Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014; Duarte et al. 2016) e líquens (Santiago et al. 2015; Duarte et al. 2016).

O gênero *Alpinaria* foi isolado somente de raiz de *D. antarctica* como singlete, tendo sido isolado, primariamente, na Áustria. *Chalara* sp. foi isolado como singlete a partir de raiz de *C. quitensis*. Esse gênero foi descrito por Rabenhorst (1844), e apresenta atualmente 142

espécies. A espécie mais próxima isolada nesse trabalho foi a *C. hyalocuspica*, descrita por Koukol (2011). *Vagicola arundinis* foi isolado da raiz de *D. antarctica* (Península Antártica), como singleto. O gênero atualmente possui quatro espécies associadas e a espécie *V. arundinis* foi a única isolada nesse trabalho. Nenhum desses táxons foram reportados para Antártica até o presente momento.

Antarctomyces é endêmico da Antártica (Arenz & Blanchette, 2011) e já foi isolado a partir de solo da Ilha Rei George. O gênero foi descrito com somente uma espécie, *Antarctomyces psychrotrophicus* e até o momento, possui mais uma nova espécie *Antarctomyces pellizariae* (de Menezes et al. 2016), que foi isolada de neve da Ilha Robert. *Antarctomyces psychrotrophicus* já foi isolado de algas (Loque et al. 2010, Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014), lichens (Santiago et al. 2015), solo (Arenz & Blanchette, 2010; Ding et al. 2016) e água de lago (Gonçalves et al. 2012), enquanto *A. pellizariae* foi isolado de algas (Furbino et al. 2018), neve (Menezes et al. 2016) e solo (Gomes et al. 2018). Neste trabalho *A. psychrotrophicus* foi isolado a rizosfera de *D. antarctica* e a *A. pellizariae* foi isolada da rizosfera e raiz de *D. antarctica* e de *C. quitensis*.

Cladosporium versiforme foi isolado como singleto a partir da rizosfera de *D. antarctica* e de *C. quitensis*. O gênero *Cladosporium* é considerado um dos maiores gêneros de hifomicetos demáceos (Dugan et al. 2004; Bensch et al. 2010) e é comumente encontrado em plantas, material em decomposição, solo, alimentos e tecidos (Ellis, 1971). Com distribuição cosmopolita, há espécies parasitas, sapróbias (Bensch et al. 2010) e endofíticas (Riesen & Sieber 1985, Brown et al. 1978, El-Morsy, 2000), com espécies associadas a hospedeiros específicos e restritas geograficamente (Godinho et al. 2015). Na Antártica já foi isolado de aves (Del Frate et al. 1990), algas (Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2018), solo (Fletcher et al. 1984; Del Frate et al. 1990; Arenz et al. 2006; Kostadinova et al. 2009; Godinho et al. 2015; Ding et al. 2016), água do mar (Gonçalves et al. 2017b), água de lago (Gonçalves et al. 2012), permafrost (Kochkina et al. 2012; Zucconi et al. 2012), esponjas (Henríquez et al. 2014; Poveda et al. 2018), lichens (Santiago et al. 2015) e plantas (Meyer et al. 1967; Möller & Dreyfuss, 1996; Tosi et al. 2002; Rosa et al. 2010).

Vishniacozyma victoriae foi isolado como singleto de rizosfera e de raiz de *D. antarctica*. Na Antártica o gênero *Cryptococcus* já foi isolado a partir de amostras de lago (Goto et al. 1969; Vaz et al. 2011), solo (Vishniac & Hempfling, 1979; Vishniac & Kurtzman, 1992; Savova, 1998, Pavlova et al. 2001, Thomas-Hall et al. 2002; Vishniac, 2006; Connell et al.

2008; Arenz et al. 2011; Vaz et al. 2011; Carrasco et al. 2012; Gomes et al. 2018), angiospermas (Vaz et al. 2011; Santiago et al. 2016), macroalgas (Loque et al. 2010; Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014; Duarte et al. 2016) e lichens (Santiago et al. 2015; Duarte et al. 2016).

Leohumicola sp. foi isolado de rizosfera (Ilha Rei George) e raiz de *D. antarctica* (Ilha Elefante), como singletos. O gênero foi descrito por Hambleton et al. (2005), inicialmente com quatro espécies: *L. verrucosa*, *L. minima*, *L. terminalis* e *L. lenta*. Atualmente, o gênero possui mais três espécies (*L. levissima*, *L. atra* e *L. incrustata*), totalizando sete espécies (Nguyen & Seifert, 2008). De acordo com Bizabani et al. (2016), esse gênero já foi encontrado em associação com plantas da família *Ericaceae*, formando estruturas micorrízicas, contribuindo para o crescimento da planta. Até o momento, não há descrição desse gênero na Antártica.

Também isolado como singletos a partir de rizosfera de *C. quitensis* foi identificado o táxon *Microdochium lycopodium*. Espécies pertencentes a esse gênero, como a *M. nivale*, já foram descritas como patógenas de gramíneas e cereais em regiões frias (Mahuku et al. 1998). Outras, como a *M. phragmitis*, já foram descritas como endofíticas de raiz e folhas (Marquez et al. 2007; Rosa et al. 2010). A espécie *Monographella lycopodina* foi reclassificada e realocada nesse gênero após uma revisão feita por Restrepo et al. (2016), sendo atualmente denominada como *Microdochium lycopodium*. Essa espécie, isolada neste trabalho, foi inicialmente descrita na Áustria e na Alemanha (Jaklitsch & Volgmayr, 2012), típica de locais frios. Na Antártica esse gênero já foi isolado de neve (Snider et al. 2000) e angiospermas (Rosa et al. 2010; Santiago et al. 2012).

Mrakia gelida foi isolada da rizosfera de *D. antarctica* como singletos. Dentre as 13 espécies pertencentes a esse gênero, somente *M. gelida* foi encontrada neste trabalho. De acordo com Tsuji et al. (2013), esse gênero abriga leveduras adaptadas ao frio, psicrófilas, com alta atividade enzimática, como celulolítica, glicosídica, catalítica, amilítica e lipolítica (Shimohara et al. 2012) em baixas temperaturas (Tsuji et al., 2015), principalmente, na indústria de laticínios. Na Antártica já foi isolado de algas (Thomas-Hall et al. 2010; Tsuji et al. 2013, 2016), solos (Di Menna, 1966a; Xin & Zhou, 2007; Thomas-Hall et al. 2010; Tsuji et al. 2015, 2016), neve (Thomas-Hall et al. 2010), lichens (Thomas-Hall et al. 2010) e sedimento de lago (Tsuji et al. 2013, 2015, 2016).

Neoscochyta paspali foi isolado da rizosfera e da raiz de *D. antarctica* como singletos. Após revisão da família *Didymellaceae*, o gênero conta, atualmente, com 11 espécies: A espécie encontrada no presente trabalho, *Neoscochyta paspali*, era reconhecida como *Phoma paspali*, foi inicialmente isolada da Nova Zelândia, sendo o presente trabalho o primeiro relato dessa espécie na Antártica.

Rhexocercosporidium agropyri foi isolado da rizosfera de *D. antarctica* e de raiz de *C. quitensis* como singlete. De acordo com Upson et al. (2009), na Antártica há relatos de que o gênero tenha sido isolado somente de raiz de *C. quitensis*. *Rhynchosporium* sp. 1 foi isolado de folha, de raiz e de rizosfera da *D. antarctica*) como singletos. Atualmente, o gênero conta com 10 espécies e destas, a única espécie encontrada nesse trabalho, foi *R. agropyri*, descrita por Zaffarano et al. (2011), anteriormente denominada *R. secalis*. De acordo com Welty and Metzger (1996), esse gênero já foi descrito como fungo patógeno de cereais e de gramíneas, porém neste trabalho foi encontrado como endofítico. Até o presente momento, não haviam sido encontrados relatos desse gênero na Antártica.

O táxon *Septoriella phragmatis* foi isolado neste trabalho da rizosfera e raiz de *D. antarctica* como singlete. *Septoriella phragmatis* foi a única espécie pertencente ao gênero isolada no presente trabalho, a qual é frequentemente encontrada em gramíneas (Crous et al. 2015). Até o presente momento, este é o primeiro relato dessa espécie na Antártica.

Thelebolus globosus foi isolado da rizosfera de *D. antarctica* também como singlete. Atualmente o gênero possui 24 espécies, sendo normalmente classificadas como coprofílicas (Domsch et al. 1980), e algumas, como o *T. microsporus*, endêmicas da Antártica, normalmente associadas com excretas de animais (Kerry, 1979; Rounsevell, 1981). Na Antártica, já foi isolado de: esponjas marinhas (Poveda et al. 2018), musgos (Moller & Dreyfuss, 1996; Tosi et al. 2002; Zhang et al. 2013), solos (Fletcher et al, 1984; Del Frate & Caretta, 1990; Azmi & Seppelt, 1997; Arenz & Blanchette, 2011; Ding et al. 2016), macroalgas (Godinho et al. 2013; Furbino et al. 2014), lichens (Moller & Dreyfuss, 1996; Santiago et al. 2015), oceanos (Arenz & Blanchette, 2011) e lagos (de harris et al. 2005; Brunati et al. 2009; Gonçalves et al. 2012). Neste trabalho, somente as espécies *T. globosus*, isolada de rizosfera de *D. antarctica* e de *C. quitensis* e *T. microsporus*, isolada de rizosfera de *D. antarctica* (Ilha Pinguim), foram identificadas.

Avaliação da capacidade xerofílica

De acordo com Vishniac & Onofri (2003), o solo é um habitat interessante para fungos xerofílicos, uma vez que, normalmente, é árido, e com uma baixa atividade de água. Considerando esta colocação, todos os isolados fúngicos obtidos da rizosfera das duas plantas amostradas foram selecionados para a avaliação da atividade xerofílica. De acordo com Gunde-Cimerman et al. (2005), um fungo para ser considerado xerofílico deve crescer bem em

atividade de água de 0,85 ou menos, correspondendo a 17% NaCl ou 50% de glicose em meio de crescimento.

Isolados dos gêneros *Penicillium*, *Pseudogymnoascus*, *Cladosporium*, *Mortierella*, *Thelebolus*, *Antarctomyces* e *Leptosphaeria* apresentaram crescimento nos meios DG-54 e DG-72 e considerados, por este motivo, fungos xerofílicos. Porém, somente *Penicillium*, *Pseudogymnoascus* e *Mortierella* foram capazes de se desenvolver no meio DG-72, demonstrando maior resistência à baixa atividade de água. A pesquisa envolvendo fungos xerofílicos está relacionada com segurança alimentar, em alimentos que apresentam alto teor de sal e açúcar (Samson et al. 1995), em ambientes hipersalinos (Tepsic et al. 1997; Gunde-Cimerman et al. 2005), ou em superfícies de rochas (Steflinger, 1998). De acordo com Petrovic et al. (2000), poucos autores investigaram a diversidade desses fungos em ambientes naturais, principalmente em ambientes frios.

Petrovic et al. (2000) obtiveram espécies do gênero *Eurotium* e *Aspergillus* isoladas de solo do Nepal, as quais foram classificadas como xerofílicas e os gêneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Pseudogymnoascus*, *Hemicula* e *Penicillium* como xerotolerantes. Gunde-Cimerman et al. (2003) isolaram fungos pertencentes aos gêneros *Penicillium* e *Cladosporium* a partir de gelo do Ártico e classificados como xerofílicos. Godinho et al. (2015) observaram que os gêneros *Penicillium*, *Cladosporium* e *Pseudogymnoascus*, isolados de solo da Antártica foram capazes de crescer no meio DG-18 indicando que, possivelmente, esses fungos eram xerofílicos. Considerando que *P. chrysogenum*, *P. rubens*, *P. allii-sativi*, *P. brevicompactum*, *Cladosporium* sp. 1, *Cladosporium* sp. 3, *Pseudogymnoascus* sp. foram capazes de crescer em um meio com mais de 50% de glicerol, este atual trabalho está de acordo aos dados encontrados pelos autores mencionados e pode-se confirmar que estes isolados são xerofílicos.

Neste trabalho, o gênero *Penicillium* obteve as maiores taxas de crescimento em condições de baixa atividade de água, concordando com Gunde-Cimerman et al. (2003), que também obtiveram o mesmo dado de abundância. De acordo com Corry (1987), *Penicillium* é capaz de produzir esporos que toleram ambientes xerofílicos, predominando, principalmente, nas áreas distantes de costas marítimas.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que *D. antarctica* e *C. quitensis* possuem assembleias fúngicas com elevada diversidade de fungos cosmopolitas adaptados ao frio e endêmicos e com funções ecológicas já descritas como sapróbios (decompositores) e mutualistas (endofíticos). *Pseudogymnoascus destructans* (espécie psicrotolerante) foi o único táxon obtido de forma sistêmica entre folha, raiz e rizosfera de *D. antarctica* e capaz de resistir a condições xerofílicas de baixa atividade de água. Estas observações sugerem que *P. destructans* pode representar um endofítico em simbiose harmônica com *D. antarctica*, bem como talvez ser capaz de contribuir de alguma forma com o *fitness* de sua planta hospedeira.

Dentre os táxons isolados da rizosfera das duas plantas, aqueles do gênero *Penicillium* se destacaram em relação à resistência a baixa atividade de água, demonstrando potencial para futuros estudos, como fonte de bioprodutos e/ou genes em processo de melhoramento de plantas de interesse econômico para resistência a seca e cultivo em solos frios ou com baixa disponibilidade de água e nutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASSP. (2011). Australian Antarctic Science Strategic Plan 2011–12 to 2020–21. Barton: Australian Commonwealth Government.
- Adams, B.J., Bardgett, R.D., Ayres, E. (2006). Diversity and distribution of Victoria Land biota. *Soil Biol Biochem* 38:3003–3018.
- Alberdi M, Corcuera LJ (1991) Cold acclimation in plants. *Phyto- chemistry* 30: 3177–3184
- Alberdi, M., Bravo, L. a., Gutierrez, A., Gidekel, M., & Corcuera, L. J. (2002). Ecophysiology of Antarctic vascular plants. *Physiologia Plantarum*, 115, 479–486. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1150401.x>
- Allison, J.S. & Smith, R.I.L. (1973). The vegetation of Elephant Island, South Shetland Islands. *British Antarctic Survey Bulletin* 33 & 34: 185–212.
- Anesio, A. M. & Bellas, C. M. (2011). Are low temperature habitats hot spots of microbial evolution driven by viruses? *Trends Microbiol.* 19, 52–57.
- Arenz, B., Held, B., Jurgens, J., Farrell, R. and Blanchette, R. (2006). Fungal diversity in soil and historic wood from the Ross Sea region of Antarctica. *Soil Biology Biochemistry*, 38, 3057-3064.
- Arenz, B. E., & Blanchette, R. A. (2011). Distribution and abundance of soil fungi in Antarctica at sites on the Peninsula, Ross Sea Region and McMurdo Dry Valleys. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(2), 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.10.016>
- Azmi, O.R. & Seppelt, R.D. (1998). Fungi of the Windmill Islands, continental Antarctica. Effect of temperature, pH and culture media on the growth of selected microfungi. *Polar Biol* 18:128–134.
- Bacon, C.W., and White, J.F. (2000). *Microbial Endophytes* (New York: Marcel Dekker Inc.).
- Baeza, M., Barahona, S., Alcaño, J., & Cifuentes, V. (2017). Amplicon-Metagenomic Analysis of Fungi from Antarctic Terrestrial Habitats, 8(November), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02235>
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 233–266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
- Bas, (2017). Plants. Cambridge. <https://www.bas.ac.uk/about/antarctica/wildlife/plants/>
- Bensch, .K, Groenewald, J.Z., Dijksterhuis, J., Starink-Willemse, M., Andersen, B., Shin, H-D., Dugan, F.M., Schroers, H-J., Braun, U., Crous, P.W. (2010). Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales). *Studies in Mycology* 67: 1–94.

Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478–486.

<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>

Beyer, L., Bölter, M., Seppelt, R.D. (2000) Nutrient and thermal regime, microbial biomass and vegetation of Antarctic soils in the Wind- mill Islands Region of east Antarctica (Wilkes Land). *Arc Alp Res* 32:30–39

Bizabani, C., Fontenla, S., and Dames, J.F. (2016). Ericoid fungal inoculation of blueberry under commercial production in South Africa. *Scientia Horticulturae* 209: 173-177.

Blehert, D. S., Hicks, A. C., Behr, M., Meteyer, C. U., Berlowski-zier, B. M., Buckles, E. L., ... Stone, W. B. (2009). Timetable-ext-09.pdf, 323(January), 53706.

<https://doi.org/10.1126/science.1163874>

Blume, H.P., Chen, J., Kalk, E., Kuhn, D. (2004). Mineralogy and weathering of Antarctic Cryosols. In: Kimble, J. (Ed.), *Cryosols — Permafrost Affected Soils*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 415–426

Bravo, L. A., Ulloa, N., Zuñiga, G. E., Casanova, A., Corcuera, L. J., & Alberdi, M. (2001). Cold resistance in Antarctic angiosperms. *Physiologia Plantarum*, 111(1), 55–65.

<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110108.x>

Bravo, L. A., & Griffith, M. (2005). Characterization of antifreeze activity in Antarctic plants. *Journal of Experimental Botany*, 56(414), 1189–1196. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri112>

Bridge, D. & Spooner, B.M. (2001) Soil fungi: diversity and detection. *Plant Soil* 232:147–154.

Bridge, P. D., & Worland, M. R. (2004). First report of an entomophthoralean fungus on an arthropod host in Antarctica. *Polar Biology*, 27(3), 190–192. <https://doi.org/10.1007/s00300-003-0578-9>

Bridge, P. D., Clark, M. S., Pearce, D. A., Survey, B. A., Environment, N., Cross, H., & Rd, M. (2005). springtail *Cryptopygus antarcticus*.

Bridge, P. D., & Denton, G. J. (2007). Isolation of diverse viable fungi from the larvae of the introduced chironomid *Eretmoptera murphyi* on Signy Island. *Polar Biology*, 30(7), 935–937.

<https://doi.org/10.1007/s00300-007-0268-0>

Bridge, P. D., & Worland, M. R. (2008). An association between the Antarctic mite *Alaskozetes antarcticus* and an entomophthoralean fungus of the genus *Neozygites*.

Experimental and Applied Acarology, 46(1–4), 43–52. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9190-6>

Bridge, P.D., Newsham, K.K. (2009). Soil fungal community composition at Mars Oasis, a southern maritime Antarctic site, assessed by PCR amplification and cloning. *Fungal Ecol* 2:66–74.

Bridge, P., & Spooner, B. (2012). Non-lichenized Antarctic fungi: transient visitors or members of a cryptic ecosystem? *Fungal Ecology*, 5, 381-394.

- Brown, A.D. (1978) Compatible solutes and extracellular water stress in eukaryotic microorganisms. *Adv Microb Physiol* 17:181–242.
- Brunati M, Rojas JL, Sponga F, Ciciliato I, Losi D, Göttlich E, de Hoog S, Genilloud O, Marinelli F (2009) Diversity and pharmaceutical screening of fungi from benthic mats of Antarctic lakes. *Mar Genom* 2:43–50. <http://doi.org/10.1016/j.margen.2009.04.002>
- Campbell, I.B. and Claridge, G.G.C. (1987). *Antarctica: Soils, Weathering Processes and Environment*, Elsevier Science, volume 16 - 1st Edition.
- Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A Method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes. *Mycological Society of America*, 91(3), 553–556.
- Carrasco, M., Rozas, J. M., Barahona, S., Alcaíno, J., Cifuentes, V., and Baeza, M. (2012). Diversity and extracellular enzymatic activities of yeasts isolated from King George Island, the sub-Antarctic region. *BMC Microbiol.* 12:251. doi: 10.1186/1471-2180-12-251.
- Casaretto, J. A., Corcuera, L. J., & Zuñiga, G. (1994). Size structure of tussocks of a population of *Deschampsia antarctica* Desv. in Robert Island, Maritime Antarctic.
- Castellani, A. (1967). Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi in distilled water. *Am J Trop Med Hyg* 42:181–184.
- Cavicchioli, R., Saunders, N., Thomas, T. (2002). Cold shock response in microorganisms. In *Extremophiles for the UNESCO Encyclopedia of Life Support Systems*, in press.
- Chen, Q; Jiang, J.R; Zhang, G.Z; Cai, L; Crous, P.W. (2015). Resolving the Phoma enigma. *Studies in Mycology.* 82:137-217
- Chevin, L-M., Hoffmann, A.A. (2017). Evolution of phenotypic plasticity in extreme environments. *Phil. Trans. R. Soc. B* 372: 20160138. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2016.0138>
- Chown, S., Clarke, A., Fraser, C., Cary, S., Moon, K., and Mcgeoch, M. (2015). The changing form of Antarctic. *Nature*, pp. 431-438.
- Christner, B. C., Priscu, J. C., Achberger, A. M., Barbante, C., Carter, S. P., Christianson, K., ... Purcell, A. (2014). A microbial ecosystem beneath the West Antarctic ice sheet. *Nature*, 512(7514), 310–313. <https://doi.org/10.1038/nature13667>
- Chwedorzewska, K.J. (2009). Terrestrial Antarctic ecosystems in the changing world: An overview. *Polish Polar Research* 30 (3):263-276. doi:10.4202/ppres.2009.13.
- Colla, G.; Roupael, Y.; Cardarelli, M.; Tullio, M.; Rivera, C.M. & Rea, E. (2008). Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biol. Fert. Soils*, 44:501-509.
- Collado, J.; Platas, G. & Peláez (1996). Fungal endophytes in leaves, twigs and bark of *Quercus ilex* from Central Spain. *Nova Hedwigia.* v. 63, p.347-360.

Colwell, R. K., Mao, C. X., & Chang, J. (2004). Interpolating, extrapolating and comparing incidence- based species accumulation curves. *Ecology*, 85(10), 2717–2727.

<https://doi.org/10.1890/03-0557>

Concha, N.O.; Bravo, L.A.; Lara, S.R.; Corcuera, L.J. (2005) Differential accumulation of dehydrin-like proteins by abiotic stresses in *Deschampsia antarctica* Desv.. *Polar Biology*, v.28 p. 506–513.

Connell, L., Redman, R., Craig, S., Scorzetti, G., Iszard, M., & Rodriguez, R. (2008). Diversity of soil yeasts isolated from South Victoria Land, Antarctica. *Microbial Ecology*, 56(3), 448–459. <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9363-1>

Convey, P. (1996). Reproduction of Antarctic flowering plants. *Antarctic Science*, 8(02), 127–134. <https://doi.org/10.1017/S0954102096000193>

Convey, P., Lewis Smith, R. I., Hodgson, D. A., & Peat, H. J. (2000). The flora of the South Sandwich Islands, with particular reference to the influence of geothermal heating. *Journal of Biogeography*, 27(6), 1279–1295. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2000.00512.x>

Convey, P. (2003): Maritime Antarctic climate change: signals from terrestrial biology. *Antarctic. Res. Ser.* 79: 145-158.

Convey, P., & Smith, R. I. L. (2003). Responses of terrestrial Antarctic ecosystems to climate change. *Plant Ecology*, 182(1–2), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11258-005-9022-2>

Convey, P., & Smith, R. I. L. (2006). Responses of terrestrial Antarctic ecosystems to climate change. *Plant Ecology*, 182(1–2), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11258-005-9022-2>

Convey, P., Gibson, J. A. E., Hillenbrand, C. D., Hodgson, D. A., Pugh, P. J. A., Smellie, J. L., & Stevens, M. I. (2009). Antarctic terrestrial life - Challenging the history of the frozen continent? *Biological Reviews*, 83(2), 103–117. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00034.x>

Convey, P., Chown, S.L., Clarke, A., Barnes, D.K.A., S., Cummings, V., Ducklow, H.W., Frati, F., Green, T. G. A., Gordon, S., Griffiths, H. J., Howard-Williams, C., Huiskes, A. H. L., Laybourn-Parry, J., Lyons, W. B., McMinn, A., Morley, S. A., Peck, L. S., Quesada, A., Robinson, S. A., Schiaparelli, S., Wall, D. H. (2014): The spatial structure of Antarctic biodiversity. – *Ecol. Monogr.* 84: 203-244.

Cooke, R.C. & Whipps, J.M. (1993). *Ecophysiology of fungi*. Oxford, UK: Blackwell Scientific.

Corry, J.E.L. (1987). Relationships of water activity to fungal growth. In: Benchant LR (ed) *Food and Beverage Mycology*. AVI Pub. Co., Philadelphia, pp 51–99.

Costa, R., Gotz, M., Mrotzek, N., Lottmann, J., Berg, G., & Smalla, K. (2006). Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 236–249.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2005.00026.x>

- Cowan, D. A., & Tow, L. (2004). Endangered antarctic environments. *Annual Review of Microbiology*, pp. 649-690.
- Crous, P.W., Wingfield, M.J., Guarro, J., et al. (2015). Fungal Planet description sheets: 320–370. *Persoonia* 34: 167–266.
- Del Frate, G. D. and G. Caretta. 1990. Fungi isolated from Antarctic material. *Polar Biol* 11: 1-7.
- Day, T. A., Ruhland, C. T., Grobe, C. W., & Xiong, F. (1999). of Antarctic vascular plants in response Growth and reproduction in the field reductions and UV radiation to warming. *Oecologia*, 119(1), 24–35.
- D’Elia, T., Veerapaneni, R., Theraisnathan, V., Rogers, S.O. (2009). Isolation of fungi from lake Vostok accretion ice. *Mycology* 101:751–763.
- De Hoog, G.S., Göttlich, E., Platas, G., Genilloud, O., Leotta, G., Van Brum- melen, J. (2005). Evolution, taxonomy and ecology of the genus *Thelebolus* in Antarctica. *Stud Mycol* 51:33–76.
- Di Menna, M.E. (1966a). Three new yeast from Antarctic soils: *Candida nivalis*, *Candida gelida* and *Candida frigida* spp. *Antonie Leeuwenhoek* 32:25–28
- Ding, Z., Li, L., Che, Q., Li, D., Gu, Q., & Zhu, T. (2016). Richness and bioactivity of culturable soil fungi from the Fildes. *Extremophiles*. <https://doi.org/10.1007/s00792-016-0833-y>
- Domsch, K.H., Gains, W., Anderson, T.H. (1980). A compendium of soil fungi. Academic Press, London New York.
- Doornbos, R. F., van Loon, L. C., & Bakker, P. A. H. M. (2012). Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 227–243. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0028-y>
- Duarte, A. W. F., Passarini, M. R. Z., Delforno, T. P., Pellizzari, F. M., Cipro, C. V. Z., Montone, R. C., ... Sette, L. D. (2016). Yeasts from macroalgae and lichens that inhabit the South Shetland Islands, Antarctica. *Environmental Microbiology Reports*, 00, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12452>
- Dugan, F.M., Schubert, K., Braun, U. (2004). Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia* 11: 1–103.
- Dyal, S., & Narine, S.S. (2005). Implications of the use of *Mortierella* fungi in the industrial production of essential fatty acids. *Food Res Int* 38:445–467.
- Edwards, J.A. & Lewis Smith, R.I. (1988). Photosynthesis and respiration of *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica* from the maritime Antarctic. *British Antarctic Survey Bulletin*, 81, 43-63.
- Egamberdieva, D., Kamilova, F., Validov, S., Gafurova, L., Kucharova, Z., & Lugtenberg, B. (2007). High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of

wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. *Environmental Microbiology*, 10(1), 070816220133002-???

<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01424.x>

Ellis, M.B. (1971). Dematiaceous hyphomycetes. CMI, Kew.

El-Morsy, E.M. (2000). Fungi isolated from the endorhizosphere of halophytic plants from the Red Sea Coast of Egypt. *Fungal Diversity* 5: 43–54.

Fell, J. W., Scorzetti, G., Connell, L., & Craig, S. (2006). Biodiversity of micro-eukaryotes in Antarctic Dry Valley soils with <5% soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(10), 3107–3119. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.01.014>

Fisher, R. A., Corbert, A. S., & Williams, C. B. (1943). the Relation Between the Number of Species and the Number of Individuals in a Random Sample of an Animal Population. *Source Journal of Animal Ecology*, 12(1), 42–58. <https://doi.org/3755508>

Fletcher, L.D., Kerry, E.J., Weste, G.M. (1984). Microfungi of Mac. Robert- son and Enderby Lands Antarctica. *Polar Biol* 4:81–88.

Frenot, Y., Chown, S.L., Whinam, J., Selkirk, P.M., Convey, P., Skotnicki, M., Bergstrom, D. M. (2005). Biological invasions in the Antarctic: extent, impacts and implications. *Biol. Rev.*, v.80, p. 45–72.

Frisvad, J. & Samson, R.A. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology*. 49:1-174

Fungaro, M. P. (2000). PCR na Micologia. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 12-16.

Furbino, L. E., Godinho, V. M., Santiago, I. F., Pellizzari, F. M., & Rosa, L. H. (2014). Diversity Patterns , Ecology and Biological Activities of Fungal Communities Associated with the Endemic Macroalgae Across the Antarctic Peninsula, 775–787. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0374-9>

Furbino, L. E., Pellizzari, F. M., Neto, P. C., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2018). Isolation of fungi associated with macroalgae from maritime Antarctica and their production of agarolytic and carrageenolytic activities. *Polar Biology*, 41(3), 527–535. <https://doi.org/10.1007/s00300-017-2213-1>

Gams, W. (2007). Biodiversity of soil-inhabiting fungi. *Biodiversity and Conservation*, 16(1), 69–72. <https://doi.org/10.1007/s10531-006-9121-y>

Gerighausen, U., Brautigam, K., Mustafa, O., & Hans-Ulrich, P. (2003). Expansion of vascular plants on an Antarctic island a consequence of climate change? *Antarctic Biology in a Global Context*, (April 2016), 79–83. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4727.8487>

Gianoli, E.; Inostoya, P.; Zuniga-Feest, A.; Reyes- Diaz, M.; Cavieres, L.A.; Bravo, L.A.; Corcuera, L.J. (2004). Ecotypic Differentiation in Morphology and Cold Resistance in

Populations of *Colobanthus quitensis* (*Caryophyllaceae*) from Andes of Central Chile and the Maritime Antarctic. *Arctic, Antarctic, and Alpine Res.*, v. 36, n. 4, p. 484–489.

Giełwanowska, I., Szczuka, E. (2005): New ultrastructural features of organelles in leaf cells of *Deschampsia antarctica* Desv. – *Polar Biol.* 28: 951-955.

Gilichinsky, D.A., Wilson, G.S., Friedmann, E.I., McKay, C.P., Sletten, R.S., Rivkina, E.M., Vishnivetskaya, T.A., Erokhina, L.G., Ivanushkina, N.E., Kochkina, G.A., Shcherbakova, V.A., Soina, V.S., Spirina, E.V., Vorobyova, E.A., Fyodorov-Davydov, D.G., Hallet, B., Ozerskaya, S.M., Sorokovikov, V.A., Laurinavichyus, K.S., Shatilovich, A.V., Chanton, J.P., Ostroumov, V.E., Tiedje, J.M. (2007). Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age, and implication for astrobiology. *Astrobiol* 7:275–311.

Glass, N., & Donaldson, G. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl. Envir. Microbiol.*, 61(4), 1323–1330.

Godinho, V. M., Furbino, L. E., Santiago, I. F., Pellizzari, F. M., Yokoya, N. S., Pupo, D., ... Rosa, L. H. (2013). Diversity and bioprospecting of fungal communities associated with endemic and cold-adapted macroalgae in Antarctica. *The ISME Journal*, 7(7), 1434–1451. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.77>

Godinho, V., Gonçalves, V., Santiago, I., Figueiredo, H., Vitoreli, G., Schaefer, C., Rosa, L. H. (2015). Diversity and bioprospection of fungal community present in oligotrophic soil of continental Antarctica. *Extremophiles*, 19, 585-596.

Gomes, R.R. (2008). *Phomopsis* spp. endofíticos de plantas medicinais: diversidade genética e antagonismo ao fungo *Guignardia citricarpa*. Dissertação (Mestrado em Genética), Universidades Federal do Paraná, Curitiba.

Gomes, E. C. Q., Godinho, V. M., Silva, D. A. S., Paula, M. T. R. De, & Vitoreli, G. A. (2018). Cultivable fungi present in Antarctic soils: taxonomy, phylogeny, diversity, and bioprospecting of antiparasitic and herbicidal metabolites. *Extremophiles*. <https://doi.org/10.1007/s00792-018-1003-1>

Gonçalves, V., Vaz, A., Rosa, C., and Rosa, L. (2012). Diversity and distribution of fungal communities in lakes of Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology*, pp. 459-471.

Gonçalves, V., Campos, L., Melo, I., Pellizari, V., Rosa, C., & Rosa, L. (2013). *Penicillium solitum*: a mesophilic, psychrotolerant fungus present in marine sediments from Antarctica. *Polar Biology*, 36, pp 1823–1831.

Gonçalves, V. N., Carvalho, C. R., Johann, S., Mendes, G., Alves, T. M. a., Zani, C. L., ... Rosa, L. H. (2015). Antibacterial, antifungal and antiprotozoal activities of fungal communities present in different substrates from Antarctica. *Polar Biology*, 1143–1152. <https://doi.org/10.1007/s00300-015-1672-5>

Gonçalves, V. N.; oliveira, F. S.; Carvalho, C. R.; Schaefer, C. E. G. R. ; Rosa, C. A. ; Rosa, L. H.(2017a). Antarctic rocks from continental Antarctica as source of potential human opportunistic fungi. *Extremophiles*, p. 1-12.

- Gonçalves, V N.; Vitoreli, G. A.; De menezes, G. C. A.; Mendes, C. R. B; Secchi, E. R; Rosa, C. A; Rosa, L. H.(2017b). Taxonomy, phylogeny and ecology of cultivable fungi present in seawater gradients across the Northern Antarctica Peninsula. *Extremophiles* , v. 21, p. 1005-1015.
- Goodrich, R.P., Handel, T.M., Baldeschwieler, J.D. (1988). Modification of lipid phase behaviour with membrane-bound cryoprotectants. *Biochimica et Biophysica Acta* 938: 143–154.
- Goto, S., Sugiyama, J., Lizuka, H. (1969). Taxonomic study of Antarctic yeasts. *Mycologia* 61,748-774.
- Grasso, S., Bruni, V., Maio, G. (1997). Marine fungi in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica). *New Microbiol* 20:371–376.
- Greene, D.M. and holtom, A (1971) Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. and *Deschampsia antarctica* Desv.: 111. Distribution, habitats and performance in the Antarctic botanical zone. *British Antarctic Survey Bulletin*, No. 26, 1-29.
- Gunde-Cimerman, N., Sonjak, S., Zalar, P., Frisvad, J. C., Diderichsen, B., & Plemenitaš, A. (2003). Extremophilic fungi in arctic ice: a relationship between adaptation to low temperature and water activity. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 28(28–32), 1273–1278. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2003.08.056>
- Gunde-Cimerman, N., Oren, A. & Plemenitas, A. (2005). Adaptation to Life at High Salt Concentrations in Archaea, Bacteria, and Eukarya. *Springer Science & Business Media*, Vol 9, 400-402.
- Hambleton, S., Nickerson, N.L., and Seifert, K.A. (2005). *Leohumicola*, a new genus of heat-resistant hyphomycetes. *Studies in Mycology* 53: 29-52.
- Hammer, Ø., Harper, D., & Ryan, P. (2001). PAST-palaeontological statistics, ver. 1.89. *Palaeontologia Electronica*, (August 2017), 1–92.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., ... Sessitsch, A. (2015). The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>
- Harris, C.M., Carr, R., Lorenz, K. & Jones, S. (2011). Important Bird Areas in Antarctica: Antarctic Peninsula, South Shetland Islands, South Orkney Islands – Final Report. Prepared for BirdLife International and the Polar Regions Unit of the UK Foreign & Commonwealth Office. Environmental Research & Assessment Ltd., Cambridge.
- Hayes, M.A. (2012). The geomyces fungi: ecology and distribution. *Bioscience* 62:819–823.
- Henríquez, M., Vergara, K., Norambuena, J., Beiza, A., Maza, F., Ubilla, P., ... Vaca, I. (2014). Diversity of cultivable fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 65–76. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1418-x>

Herrera, L. M., García-Laviña, C. X., Marizcurrena, J. J., Volonterio, O., de León, R. P., & Castro-Sowinski, S. (2016). Hydrolytic enzyme-producing microbes in the Antarctic oligochaete *Grania* sp. (Annelida). *Polar Biology*, 40(4), 947-953.

Higashiyama, K., Fujikawa, S., Park, E.Y., Shimizu, S. (2002). Production of arachidonic acid by *Mortierella* fungi. *Biotechnol Bioprocess Eng* 7:252–262.

Hou, C. T. (2008). New bioactive fatty acids. *Asia Pac J Clin Nutr.*, p. 192-195.
<http://apjcn.nhri.org.tw/server/APJCN/17%20Suppl%201//192.pdf>

Houbraken, J., Frisvad, J.C., Seifert, K.A., Overy, D.P., Tuthill, D.M., Valdez, J.G. et al (2012) New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section *Chrysogena*. *Persoonia* 29:78–100.

Huang, Y., Wang, J., Li, G., Zheng, Z., & Su, W. (2001). Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 31(2), 163–167.
[https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(01\)00255-3](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(01)00255-3)

Istokovics, A., Morita, N., Izumi, K., Hoshino, T., Yumoto, I., Sawada, M.T., Ishizaki, K., Okuyama, H. (1998). Neutral lipids, phospholipids, and a betaine lipid of the snow mould fungus *Microdochium nivale*. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 1051–1059

Izaguirre, I. & Mataloni, G. (2000). *Antártida, descubriendo el Continente Blanco*. Bariloche: Ediciones Caleuche. S. C de Bariloche.

Jaklitsch, W.M. & Voglmayr, H. (2012). Phylogenetic relationships of five genera of Xylariales and *Rosasphaeria* gen. nov. (Hypocreales). *Fungal Diversity* 52: 75–98.

Jackson, A.E. & Seppelt, R.D. (1995). The accumulation of proline in *Prasiola crispa* during winter in Antarctica. *Physiol Plant* 94: 25–30

Johnson, N. C., & Graham, J. H. (2013). The continuum concept remains a useful framework for studying mycorrhizal functioning. *Plant and Soil*, 363(1–2), 411–419.
<https://doi.org/10.1007/s11104-012-1406-1>

Jorquera, M.A., Shaharoon, B., Nadeem, S.M., de la Luz Mora M & Crowley, D.E. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria associated with ancient clones of creosote bush (*Larrea tridentata*). *Microb Ecol* 64: 1008–1017.

Kellmann-Sopyła, W., & Giełwanowska, I. (2015). Germination capacity of five polar *Caryophyllaceae* and *Poaceae* species under different temperature conditions. *Polar Biology*, 38(10), 1753–1765. <https://doi.org/10.1007/s00300-015-1740-x>

Kennedy, A. D. (1993). Water as a Limiting Factor in the Antarctic Terrestrial Environment: A Biogeographical Synthesis. *Arctic and Alpine Research*, 25(4), 308.
<https://doi.org/10.2307/1551914>

Kerry, E. (1979). Microbiological studies of soils from Sabrina Island, Antarctica. In: Lewis, D. (ed) Voyage to the ice. The Antarctic expedition of Solo. ABC and William Collins, London, pp 113-114

Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). Dictionary of the Fungi. 10th ed. CAB International: Wallingford, U.K.

Kogej, T., Wheeler, M.H., Rizner, T.L., Gunde-Cimerman, N. (2004). Evidence for 1,8-dihydroxynaphthalene melanin in three halophilic black yeasts grown under saline and non-saline conditions. FEMS Microbiol Lett 232:203–209.

Kochkina, G., Ivanushkina, N., Ozerskaya, S., Chigineva, N., Vasilenko, O., Firsov, S., ... Gilichinsky, D. (2012). Ancient fungi in Antarctic permafrost environments. FEMS Microbiology Ecology, 82(2), 501–509. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01442.x>

Kondratiuk, T.O., Beregova, T.V., Ostapchenko, L.I. (2016). Diversity of Antarctic microorganisms-Potential producers of biologically active substances. Український антарктичний журнал уаж, №15, 176—182.

Kostadinova, N., Krumova, E., Tosi, S., Pashova, & Angelova, M. (2009). Isolation and Identification of Filamentous Fungi from Island Livingston, Antarctica. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 23(sup1), 267–270. <https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818416>

Koukol, O. (2011). New species of Chalara occupying coniferous needles. Fungal Diversity. 49:75-91

Kristjánsson, J. K., & Hreggvidsson, G. O. (1995). Ecology and habitats of extremophiles. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 11(1), 17–25. <https://doi.org/10.1007/BF00339134>

Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T. (2011). The yeasts: a taxonomic study. Elsevier, Amsterdam.

Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012). Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *Chemistry & Biology*, 19(7), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>

Lachance, M.-A., Bowles, J. M., Starmer, W. T., & Barker, J. S. F. (1999). *Kodamaea kakaduensis* and *Candida tolerans*, two new ascomycetous yeast species from Australian *Hibiscus* flowers. *Canadian Journal of Microbiology*, 45(2), 172–177. <https://doi.org/10.1139/cjm-45-2-172>

Langwig, K.E., Frick, W.F., Reynolds, R., Parise, K.L., Drees, K.P., Hoyt, J.R., Cheng, T.L., Kunz, T.H., Foster, J.T., Kilpatric, A.M. (2015). Host and pathogen ecology drive the seasonal dynamics of a fungal disease, white-nose syndrome. Proc R Soc B 282:20142335. <http://doi.org/10.1098/rspb.2014.2335>

- Libkind, D. (2007). Evaluación de la técnica de MSP-PCR para la caracterización molecular de aislamientos de *Rhodotorula mucilaginosa* provenientes de la Patagonia noroccidental. *Revista Argentina de Microbiología*, 39, 133–137.
- Lieckfeldt, E., Meyer, W., & Börner, T. (1993). Rapid identification and differentiation of yeasts by DNA and PCR fingerprinting. *Journal of Basic Microbiology*, 33(6), 413–425. <https://doi.org/10.1002/jobm.3620330609>
- Liu, X.-Z; Wang, Q.-M; Göker, M; Groenewald, M; Kachalkin, A.V; Lumbsch, H.T; Millanes, A.M; Wedin, M; Yurkov, A.M; Boekhout, T; Bai, F.-Y. (2015). Towards an integrated phylogenetic classification of the Tremellomycetes. *Studies in Mycology*. 81:85-147
- Lopez-Bueno, A., Tamames, J., Velazquez, D., Moya, A., Quesada, A., & Alcami, A. (2009). High Diversity of the Viral Community from an Antarctic Lake. *Science*, 326(5954), 858–861. <https://doi.org/10.1126/science.1179287>
- Loque, C. P., Medeiros, A. O., Pellizzari, F. M., Oliveira, E. C., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2010). Fungal community associated with marine macroalgae from Antarctica. *Polar Biology*, 33(5), 641–648. <https://doi.org/10.1007/s00300-009-0740-0>
- Lorch, J.M., Meteyer, C.U., Behr, J.M., Boyles, J.G., Cryan, P.M., Hicks, A.C., Ballmann, A.E., Coleman, J.T.H., Redell, D.N., Reeder, D.M., Blehert, D.S. (2011) Experimental infection of bats with *Geomyces destructans* causes white-nose syndrome. *Nature* 480:376–378. <http://doi.org/10.1038/nature10590>
- Lorch, J.M., Lindner, D.L., Gargas, A., Muller, L.K., Minnis, A.M., Blehert, D.S. (2013). A culture-based survey of fungi in soil from bat hibernacula in the eastern United States and its implications for detection of *Geomyces destructans*, the causal agent of bat white-nose syndrome. *Mycologia* 105:237–252. <http://doi.org/10.3852/12-207>
- Magan, N. (2007). Fungi in Extreme Environments. *Environmental and Microbial Relationships*, 2° ed., The Micota IV. Springer-Verlag, Berlin, p. 85-100.
- Maggi, O., Tosi, S., Angelova, M., Lagostina, E., Fabbri, A. A., Pecoraro, L., ... Buzzini, P. (2013). Adaptation of fungi, including yeasts, to cold environments. *Plant Biosystems*, 147(1), 247–258. <https://doi.org/10.1080/11263504.2012.753135>
- Mahuku, G.S., Hsiang, T. & Yang, L. (1998). Genetic diversity of *Microdochium nivale* isolates from turfgrass. *Mycol Res* 102: 559–567.
- Malinowski, D.P. & Belesky, D.P. (2000). Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Science* 40: 923–940
- Malkus, A., Linda Chang, P.-F., Zuzga, S. M., Chung, K., Shao, J., Cunfer, B. M., ... Ueng, P. P. (2006). RNA polymerase II gene (RPB2) encoding the second largest protein subunit in *Phaeosphaeria nodorum* and *P. avenaria*. *Mycological Research*, 110(10), 1152–1164. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.07.015>

Marquez SS, Bills GF & Zabalgogezcoa I (2007) The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Divers* 27: 171–195.

Marquez, L. M., Redman, R. S., Rodriguez, R. J., & Roossinck, M. J. (2007). A Virus in a Fungus in a Plant: Three-Way Symbiosis Required for Thermal Tolerance. *Science*, 315(5811), 513–515. <https://doi.org/10.1126/science.1136237>

Márquez, S. S., Bills, G. F., & Zabalgogezcoa, I. (2007). The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Diversity*, 27, 171–195.

Mcgraw, J. B., Day, T. A., & Virginia, W. (1997). Size and Characteristics of a Natural Seed Bank in Antarctica Size and of a Natural in Antarctica Seed Bank Characteristics, 29(2), 213–216.

McRae, C.F., Hocking, A.D., Seppelt, R.D. (1999). *Penicillium* species from terrestrial habitats in the Windmill Islands, East Antarctica, including a new species, *Penicillium antarcticum*. *Polar Biol* 21:97–111. <http://doi.org/10.1007/s003000050340>.

Melo, I.S., Santos, S.N., Rosa, L.H., Parma, M.M., Silva, L.J., Queiroz, S.C.N., Pellizari, V.H. (2014). Isolation and biological activities of an endophytic *Mortierella alpina* strain from the Antarctic moss *Schistidium antarctici*. *Extremophiles* 18:15–23

Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 634–663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>

Alpinaria rhododendri Mercantini, R., Marsella, R., & Cervellati, M. C. (1989). Keratinophilic fungi isolated from antarctic soil. *Mycopathologia*, 106(1), 47–52. <https://doi.org/10.1007/BF00436926>

Meyer, G.H., Morrow, M.B., Wyss, O. (1967). Bacteria, fungi and other biota in the vicinity of Mirny Observatory. *Antarctic J US* 2:248–251.

Meyer, W., Koch, A., Niemann, C., Beyermann, B., Epplen, J. T., & Borner, T. (1991). Differentiation of species and strains among filamentous fungi by DNA fingerprinting. *Current Genetics*, 19(3), 239–242. <https://doi.org/10.1007/BF00336493>

Michel, R.F.M., Schaefer, C.E.G.R., Dias, L., Simas, F.N.B., Benites, V., Mendonça, E.S. (2006). Ornithogenic Gelisols (Cryosols) from Maritime Antarctica: pedogenesis, vegetation and carbon studies. *Soil Science Society of America Journal* 70, 1370–1376.

Minnis, A. M., & Lindner, D. L. (2013). Phylogenetic evaluation of *Geomyces* and allies reveals no close relatives of *Pseudogymnoascus destructans*, comb. nov., in bat hibernacula of eastern North America. *Fungal Biology*, 117(9), 638–649. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.07.001>

Miransari, M. (2011) Arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen uptake. *Arch Microbiol* 193:77–81.

Moller, C. & Dreyfuss, M. (1996). Microfungi from Antarctic Lichens, Mosses and Vascular Plants. *MYCOLOGIA*, pp. 922-933.

- Navarro-Meléndez, A. L., & Heil, M. (2014). Symptomless Endophytic Fungi Suppress Endogenous Levels of Salicylic Acid and Interact With the Jasmonate-Dependent Indirect Defense Traits of Their Host, Lima Bean (*Phaseolus lunatus*). *Journal of Chemical Ecology*, 40(7), 816–825. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0477-2>
- Nguyen, H. D. T.; Seifert, K. A. (2008). Description and DNA barcoding of three new species of *Leohumicola* from South Africa and the United States. *Persoonia*, v. 21, p. 57–69.
- Nisa, H., Kamili, A. N., Nawchoo, I. A., Shafi, S., Shameem, N., & Bandh, S. A. (2015). Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review. *Microbial Pathogenesis*, 82(April), 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.04.001>
- Oarga, A. (2009). Life in extreme environments. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 9, p. 1-10.
- Onofri, S., Pagano, S., Zucconi, L., et al. (1999). *Friedmanniomyces endolithicus* (Fungi, Hyphomycetes), anam.-gen. and sp.nov., from continental Antarctica. *Nova Hedwigia*, v.68, p. 175–181.
- Onofri, S., Fenice, M., Cicalini, A.R., Tosi, S., Magrino, A., Pagano, S., Selbmann, L., Zucconi, L., Vishniac, H.S., Ocampo-Friedmann, R., Friedmann, E.I. (2000). Ecology and biology of microfungi from Antarctic rocks and soils. *Ital J Zool* 67:163–167
- Onofri, S., Selbmann, L., Zucconi, L., Pagano, S. (2004). Antarctic microfungi as models for exobiology. *Planetary and Space Science* 52: 229–237. doi: 10.1016/j.pss.2003.08.019
- Onofri, S., Zucconi, L., Selbmann, L. (2007a). Fungi from Antarctic desert rocks as analogues for Martian life, in: Cockell C.S. (Ed.), *Microorganisms and Martian Environment*, ESA Special Publication, Chapter 6.
- Pancher, M., Ceol, M., Corneo, P. E., Maria, C., Longa, O., Yousaf, S., ... Campisano, A. (2012). Fungal Endophytic Communities in Grapevines (*Vitis vinifera* L.) Respond to Crop Management, 78(12), 4308–4317. <https://doi.org/10.1128/AEM.07655-11>
- Park, Y., Lee, S., Ahn, D. J., Kwon, T. R., Park, S. U., Lim, H., & Bae, H. (2012). Diversity of Fungal Endophytes in Various Tissues of *Panax ginseng* Meyer Cultivated in Korea, 36(2), 211–217.
- Pavlova, K., Grigorova, G., Hristozova, T., Angelov, A. (2001). *Folia Microbiol.*, 46 (5), 397-401.
- Pereira, T. T. C., Ernesto, C., Schaefer, G. R., Ker, J. C., Almeida, C. C., & Almeida, I. C. C. (2014). Geoderma Micromorphological and microchemical indicators of pedogenesis in Ornithogenic Cryosols (Gelisols) of Hope Bay, Antarctic Peninsula. *Geoderma*, 193–194, 311–322. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.10.023>
- Pereira, A. B., & Putzke, J. (1994). Floristic composition of Stinker Point, Elephant Island, Antarctica. *Korean Journal of Polar Research*, 5(January 1994), 37–47.

- Petrovic, U., Gunde-Cimerman, N., Zalar, P. (2000). Xerotolerant mycobiota from high altitude Anapurna soils, Nepal. *FEMS Microbiol Lett* 182:339–342
- Petry, M. V., Valls, F. C. L., Petersen, E. S., Finger, J. V. G., & Krüger, L. (2018). Population trends of seabirds at Stinker Point, Elephant Island, Maritime Antarctica. *Antarctic Science*, 30(4), 220–226. <https://doi.org/10.1017/S0954102018000135>
- Poveda, G., Gil-Durán, C., Vaca, I., Levicán, G., & Chávez, R. (2018). Cold-active pectinolytic activity produced by filamentous fungi associated with Antarctic marine sponges. *Biological Research*, 51(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0177-4>
- Pugh, G.J.F., Allsopp, D. (1982). Microfungi on Signy Island, South Orkney Islands. *British Antarctic. Surv Bull* 57:55–67.
- Quayle, W.C., Convey, P., Peck, L.S., Ellis-Evans, J.C., Butler, H.G. & Peat, H.J. (2003). Ecological responses of maritime Antarctic lakes to regional climate change. *Antarctic Research Series*, 79, 159–170.
- Rabenhorst, G.L. (1844). *Deutschlands Kryptogamen-Flora oder Handbuch zur Bestimmung der kryptogamischen Gewächse Deutschlands, der Schweiz, des Lombardisch-Venetianischen Königreiches und Istriens. Band I. (Pilze). Leipzig.*
- Restrepo, M; Groenewald, JZ; Crous, PW. (2016). Taxonomic and phylogenetic re-evaluation of *Microdochium*, *Monographella* and *Idriella*. *Persoonia*. 36:57-82.
- Riesen T, Sieber T (1985). Endophytic fungi in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Swiss Federal Institute of Technology, Zürich.
- Ribas, R.C., Baeza, L.C., Ribeiro, F.H M.(2011). Isolation of *Cryptococcus* spp. in excrements of pigeons (*Columba* sp.) in the Maringa city, PR, Brazil. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, v.15, p.45-50.
- Rodriguez, R. J., Henson, J., Van Volkenburgh, E., Hoy, M., Wright, L., Beckwith, F., ... Redman, R. S. (2008). Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *ISME Journal*, 2(4), 404–416. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.106>
- Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Rosa, L. H., Vaz, A. B. M., Caligiorne, R. B., Campolina, S., & Rosa, C. A. (2009). Endophytic fungi associated with the Antarctic grass *Deschampsia antarctica* Desv. (*Poaceae*). *Polar Biology*, 32(2), 161–167.
- Rosa, L. H., Almeida Vieira, M. de L., Santiago, I. F., & Rosa, C. A. (2010). Endophytic fungi community associated with the dicotyledonous plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) in Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology*, 73(1), no-no. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00872.x>
- Rosa, L. H.; Vieira, M. L. A.; Cota, B. B.; Johann, S.; Alves, T. M. A.; Zani, C. L.; Rosa, C. A. (2011). Endophytic Fungi of Tropical Forests: A Promising Source of Bioactive Prototype

- Molecules for the Treatment of Neglected Diseases. In: EKINCI, D. (Ed.). *Medicinal Chemistry and Drug Design*, v.1. p.1-26.
- Rothschild, L. J., & Mancinelli, R. L. (2001). Life in extreme environments. *Nature*, 409, 1092–1101. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1038/35059215>
- Poveda Ruhland, C. T., & Krna, M. A. (2010). Effects of salinity and temperature on *Deschampsia antarctica*. *Polar Biology*, 33(7), 1007–1012. <https://doi.org/10.1007/s00300-010-0764-5>
- Ruisi, S., Barreca, D., Selbmann, L., Zucconi, L., & Onofri, S. (2007). Fungi in Antarctica. *Science*, 127-141.
- Saikonnen, K., Faeth, S. H., Helander, M., & Sullivan, T. J. (1998). Fungal Endophytes: A Continuum of Interactions with Host Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29, 319–343.
- Samson, R.A., Hoehstra, E.S., Frisvad, J.C., Filtenborg, O. (1995) Introduction to Food-borne Fungi, 4th edn., 322 pp. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Delft.
- Sanhueza, C., Vallejos, V., Cavieres, L. A., Saez, P., Bravo, L. A., & Corcuera, L. J. (2016). Growing temperature affects seed germination of the antarctic plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl (*Caryophyllaceae*). *Polar Biology*, 40(2), 449–455. <https://doi.org/10.1007/s00300-016-1972-4>
- Santiago, I. F., Alves, T. M. A., Rabello, A., Sales Junior, P. A., Romanha, A. J., Zani, C. L., ... Rosa, L. H. (2012). Leishmanicidal and antitumoral activities of endophytic fungi associated with the Antarctic angiosperms *Deschampsia antarctica* Desv. and *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. *Extremophiles*, 16(1), 95–103. <https://doi.org/10.1007/s00792-011-0409-9>
- Santiago, I. F., Soares, M. A., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2015). Lichensphere: a protected natural microhabitat of the non-lichenised fungal communities living in extreme environments of Antarctica. *Extremophiles*, 19(6), 1087–1097. <https://doi.org/10.1007/s00792-015-0781-y>
- Santiago, I. F., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2016). Endophytic symbiont yeasts associated with the Antarctic angiosperms *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*. *Polar Biology*, (April), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s00300-016-1940-z>
- Savova, L. (1998). Isolation and taxonomic investigation of yeast strains from the Antarctic. Bulgarian Antarctic research. *Life Sci.* 2, 13-18.
- Selbmann, L., De Hoog, G. S., Mazzaglia, A., Friedmann, E. I., & Onofri, S. (2005). Fungi at the edge of life: Cryptoendolithic black fungi from Antarctic desert. *Studies in Mycology*, 51(Friedmann 1982), 1–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.021>
- Schroeter, B., Olech, M., Kappen, L., and Heitland, W. (1995). Ecophysiological investigations of *Usnea antarctica* in the Maritime Antarctic I. Annual microclimatic conditions and potential primary production. *Antarct. Sci.* 7, 251–260.
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Römmert, A.-K., & Krohn, K. (2002). Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*, 106(9), 996–1004. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006342>
- Schulz, B., & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(Pt 6), 661–686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>

- Schulz, B., Haas, S., Junker, C., Andre, N., & Schobert, M. (2015). Fungal endophytes are involved in multiple balanced antagonisms. *Current Science*, 109(1), 39–45.
- Shaw, J. D., Terauds, A., Riddle, M. J., Possingham, H. P., & Chown, S. L. (2014). Antarctica's Protected Areas Are Inadequate, Unrepresentative, and at Risk. *PLoS Biology*, 12(6), 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001888>
- Shimohara, K., Fujiu, S., Tsuji, M., Kudoh, S., Hoshino, T. (2012). Lipolytic activities and their thermal dependence of *Mrakia* species, basidiomycetous yeast from Antarctica, *J. Water Waste* 54. 691–696.
- Smith, L. R.I. (1994) Vascular plants as bioindicators of regional warming in Antarctica. *Oecologia*, v. 99, p.322–328.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (2008). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London.
- Snider, C. S., Hsiang, T., Zhao, G., and Griffith, M. (2000). Role of ice nucleation and antifreeze activities in pathogenesis and growth of snow molds. *Phytopathology* 90:354-361.
- Sogonov, M.V., Schroers, H-J., Gams, W., Dijksterhuis, Summerbell. (2005). The hyphomycete *Teberdina hygrophila* gen. nov., sp. nov. and related anamorphs of *Pseudeurotium* species. *Mycologia* 97: 695e709.
- Sonjak, S., Uršič, V., Frisvad, J. C., Gunde-Cimerman, N. (2006). *Penicillium svalbardense*, a new species from Arctic glacial ice. *Antonie van Leeuwenhoek*, 92 (1): 43-51.
- Stchigel, A. M., Cano, J., Cormack, W. M. A. C., & Guarro, J. (2001). *Antarctomyces psychrotrophicus* gen. et sp. nov., a new ascomycete from Antarctica, 105(March), 377–382. <https://doi.org/10.1017/s0953756201003379>
- Stchigel, A., Caldusch, M., Guarro, J., Ruberto, L., & Mac Cormack, W. (2009). Isolation of *Papulaspora halima* and a new morphological variety of *Halosphaeria tubulifera* from seawater of potter cove (king george island, south shetland island, antarctica. *Boletín Micológico*, 24(0). <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2009.24.0.75>
- Steflinger, K., (1998). Temperature and NaCl-tolerance of rock inhabiting meristematic fungi. *Antonie van Leeuwenhoek* 74, 271–281.
- Strobel, G. A. (2003). Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, 5(6), 535–544. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00073-X)
- Suryanarayanan, T. S., Thirunavukkarasu, N., Govindarajulu, M. B., & Gopalan, V. (2012). Fungal endophytes: an untapped source of biocatalysts. *Fungal Diversity*, 54(1), 19–30. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0168-7>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Teixeira, L. C. R. S., Peixoto, R. S., Cury, J. C., Sul, W. J., Pellizari, V. H., Tiedje, J., & Rosado, A. S. (2010). Bacterial diversity in rhizosphere soil from Antarctic vascular plants of

Admiralty Bay, maritime Antarctica. *The ISME Journal*, 4(8), 989–1001.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.35>

Tepsic, K., Gunde-Cimerman, N. and Frisvad, J.C. (1997) Growth and mycotoxin production by *Aspergillus fumigatus* strains isolated from a saltern. *FEMS Microbiol. Lett.* 157, 9[^]12.

Thomas-Hall, S.; Watson, K.; Scorzetti, G. (2002). *Cryptococcus statzelliae* sp. nov. and three novel strains of *Cryptococcus victoriae*, yeasts isolated from Antarctic soils. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52 (6), 2303-2308.

Thomas-Hall, S.R.; Turchetti, B.; Buzzini, P.; Branda, E.; Boekhout, T.; Theelen, B.; Watson, K. (2010). Cold-adapted yeasts from Antarctica and the Italian Alps—description of three novel species: *Mrakia robertii* sp. nov., *Mrakia blollopis* sp. nov. and *Mrakiella niccombsii* sp. nov. *Extremophiles*. 14 (1), 47–59.

Tosi, S., Begoña, A., Ae, C., Gerdol, R., and Caretta, G. (2002). Fungi isolated from Antarctic mosses. *Polar Biology*, pp. 262-268.

Tosi S, Onofri S, Brusoni M, Zucconi L & Vishniac H (2005). Response of Antarctic soil fungal assemblages to experimental warming and reduction of UV radiation. *Polar Biol* 28: 470–482.

Tsuji, M., Fujiu, S., Xiao, N., Hanada, Y., Kudoh, S., Kondo, H., Tsuda, S., Hoshino, T. (2013). Cold adaptation of fungi obtained from soil and lake sediment in the Skarvsnes ice-free area, Antarctica. *FEMS Microbiol. Lett.* 346,121–130. (doi:10.1111/1574-6968.12217)

Tsuji M, Yokota Y, Kudoh S, Hoshino T. (2015) Comparative analysis of milk fat decomposition activity by *Mrakia* spp. isolated from Skarvsnes ice-free area, East Antarctica. *Cryobiology* 70, 293–296. (doi:10.1016/j.cryobiol.2015.04.002)

Tsuji, M. (2016). Cold-stress responses in the Antarctic basidiomycetous yeast *Mrakia blollopis* Subject Category : Subject Areas.

Upson, R., Newsham, K. K., Bridge, P. D., Pearce, D. A., Read, D. J., & Crittenden, P. (2009). Taxonomic affinities of dark septate root endophytes of *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica*, the two native Antarctic vascular plant species. *Fungal Ecology*, 2(4), 184–196. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2009.02.004>

U'Ren, J. M., Lutzoni, F., Miadlikowska, J., Laetsch, A. D., & Arnold, A. E. (2012). Host and geographic structure of endophytic and endolichenic fungi at a continental scale. *American Journal of Botany*, 99(5), 898–914. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100459>

Vaz ,A.B.M., Rosa, L.H., Vieira, M.L.A., Garcia, V., Brandão, L.R., Teixeira, L.C.R.S. et al. (2011). The diversity, extracellular enzymatic activities and photoprotective compounds of yeasts isolated in Antarctica. *Braz J Microbiol* 42:937–947.

Vera, M. L. (2011). Colonization and demographic structure of *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis* along an altitudinal gradient on livingston island, South Shetland Islands, Antarctica. *Polar Research*, 30(SUPPL.1). <https://doi.org/10.3402/polar.v30i0.7146>

- Vieira, M. L. A., Hughes, A. F. S., Gil, V. B., Vaz, A. B. M., Alves, T. M. A., Zani, C. L., ... Rosa, L. H. (2012). Diversity and antimicrobial activities of the fungal endophyte community associated with the traditional Brazilian medicinal plant *Solanum cernuum* Vell. (Solanaceae). *Canadian Journal of Microbiology*, 58(1), 54–66. <https://doi.org/10.1139/w11-105>
- Vincent, W. (2000). Evolutionary origins of Antarctic microbiota: invasion, selection and endemism. *Antarctic Science*, 12(3), 374-385.
- Vishniac, H. S. & Hempfling, W. P. (1979). *Cryptococcus vishniacii* sp. nov., an Antarctic yeast. *Intern. J. System. Bacteriol.* 29: 153-158.
- Vishniac, H. & Klinger, J. (1986). Yeasts in the Antarctic deserts. In Megusar, F., Gantar, M.,(Eds) *Perspectives in Microbial Ecology. Proceedings of the 4th ISME* p 46–51. Ljubljana, Slovenia: Slovene Society for Microbiology.
- Vishniac, H.C. & Kurtzman C.P. (1992). *Cryptococcus antarcticus* sp.nov, and *Cryptococcus albidosimilis* sp.nov., Basidioblastomycetes from Antarctic soils, *Internat.J.Syst.Bacteriol.* 42, 547-553.
- Vishniac, H. S., & Onofri, S. (2003). *Cryptococcus antarcticus* var. *circumpolaris* var. nov., a basidiomycetous yeast from Antarctica. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 83(3), 231–233. <https://doi.org/10.1023/A:1023369728237>
- Vishniac, H.S. (2006). Yeast biodiversity in the Antarctic. In: Rosa CA, Péter G (eds) *Biodiversity and ecophysiology of yeasts*. Springer-Verlag, Berlin, pp 221–240.
- Volkman, M., Whitehead, K., Ruttgers, H., Rullkotter, J., Gorbushina, A.A. (2003) Mycosporine-glutamicol-glu- coside: a natural UV absorbing secondary metabolite of rock-inhabiting microcolonial fungi. *Rapid Comm Mass Spectr* 17:897–902.
- Xin, M.X., Zhou, P.J. (2007). *Mrakia psychrophila* sp. nov., a new species isolated from Antarctic soil. *J Zhejiang Univ Sci B* 8:260–265.
- Webster, J. (1980). *Introduction to fungi*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Weinstein, R.N., Montiel, P.O., Johnstone, K. (2000). Influence of growth temperature on lipid and soluble carbohydrate synthesis by fungi isolated from fellfield soil in the maritime Antarctic. *Mycologia* 92: 222–229.
- Welty, R.E. & Metzger, R.J. (1996). First report of scald of triticale caused by *Rhynchosporium secalis* in North America. *Plant Dis* 80:1220–1223, doi:10.1094/PD-80-1220.
- Wagner, L., Stielow, B., Hoffmann, K., Petkovits, T., Papp, T., Vágvölgyi, C., ... Voigt, K. (2013). A comprehensive molecular phylogeny of the Mortierellales (Mortierellomycotina) based on nuclear ribosomal DNA. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 30, 77–93. <https://doi.org/10.3767/003158513X666268>

- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic, San Diego, pp 315–322.
- Wouw, M.; Dijk, P.; Huiskes, A.H.L. (2008). Regional genetic diversity patterns in Antarctic hairgrass (*Deschampsia antarctica* Desv.). *Journal of Biogeography*, v.35, p. 365-376.
- Wynn-Williams, D. (1990). *Ecological aspects of Antarctic microbiology* (11 ed., Vol. *Advances in Microbial Ecology*). New York: Plenum Press.
- Yao, F., Vik, U., Brysting, A. K., Carlsen, T., & Halvorsen, R. (2013). Substantial compositional turnover of fungal communities in an alpine ridge-to-snowbed gradient. *Molecular Ecology*, 22(19), 5040–5052. <https://doi.org/10.1111/mec.12437>
- Yergeau, E., Bokhorst, S., Huiskes, A. H. L., Boschker, H. T. S., Aerts, R., & Kowalchuk, G. A. (2007). Size and structure of bacterial, fungal and nematode communities along an Antarctic environmental gradient. *FEMS Microbiology Ecology*, 59(2), 436–451. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00200.x>
- Zaffarano, P.L.; McDonald, B.A.; Linde, C.C. (2011). Two new species of *Rhynchosporium*. *Mycologia*. 103(1):195-202.
- Zhang, X., Luttinen, A.V., Elliot, D.H., Larsson, K., Foland, K.A. (2004). Early stages of Gondwana breakup: The Ar40/Ar39 geochronology of Jurassic basaltic rocks from western Dronning Maud Land, Antarctica, and implications for the timing of magmatic and hydrothermal events. *Journal of Geophysical Research* 108. doi:10.1029/2001JB001070.
- Zhang, T., Xiang, H. B., Zhang, Y. Q., Liu, H. Y., Wei, Y. Z., Zhao, L. X., & Yu, L. Y. (2013). Molecular analysis of fungal diversity associated with three bryophyte species in the Fildes Region, King George Island, maritime Antarctica. *Extremophiles*, 17(5). <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0558-0>
- Zucconi, L., Pagano, S., Fenice, M., Selbmann, L., Tosi, S., & Onofri, S. (1996). Growth temperature preferences of fungal strains. *Polar Biology*. <https://doi.org/10.1007/BF01876829>
- Zucconi, L., Selbmann, L., Buzzini, P., Turchetti, B., Guglielmin, M., Frisvad, J., & Onofri, S. (2012). Searching for eukaryotic life preserved in Antarctic permafrost. *Polar Biology*, pp. 749-757.
- Zukal, J., Bandouchova, H., Brichta, J., Cmokova, A., Jaron, K. S., Kolarik, M., ... Martínková, N. (2016). White-nose syndrome without borders: *Pseudogymnoascus destructans* infection tolerated in Europe and Palearctic Asia but not in North America. *Scientific Reports*, 6(1), 19829. <https://doi.org/10.1038/srep19829>
- Zúñiga, G.E., Alberdi, M. & Corcuera, L.J. (1996). Non-structural carbohydrates in *Deschampsia antarctica* Desv. from South Shetland Island, Maritime Antarctic. *Environmental & Experimental Botany*, 36, 393–398.

APÊNDICE A

Tabela 5. Média das medidas de crescimento dos isolados de rizosfera que cresceram no meio DG-72. (Fonte: Lívia Costa)

UFMGCB	Identificação	Planta hospedeira	Medidas											
			DG-18			DG-36			DG-54			DG-72		
			9° dia	18° dia	27° dia	9° dia	18° dia	27° dia	9° dia	18° dia	27° dia	9° dia	18° dia	27° dia
13135	<i>Mortierella antarctica</i>	<i>D. antarctica</i>	20,39 (0,03) ^b	27,92 (0,01) ^b	40,51 (0,01) ^b	12,85 (0,01) ^b	17,32 (0,01) ^b	24,90 (0,01) ^b	5,52 (0,01) ^b	5,95 (0,01) ^b	10,04 (0,01) ^b	4,28 (0,01) ^b	4,81 (0,01) ^b	6,12 (0,01) ^b
13146	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>	<i>D. antarctica</i>	19,94 (0,04) ^b	46,85 (0,01) ^b	54,95 (0,01) ^b	8,60 (0,10) ^b	21,98 (0,01) ^b	32,40 (0,10) ^b	5,47 (0,01) ^b	6,25 (0,01) ^b	14,66 (0,01) ^b	4,22 (0,01) ^b	5,55 (0,01) ^b	8,38 (0,01) ^b
13167	<i>Penicillium</i> sp.	<i>C. quitensis</i>	22,89 (0,01) ^b	36,48 (0,01) ^b	45,09 (0,01) ^b	7,48 (0,01) ^b	13,04 (0,01) ^b	23,76 (0,00) ^b	5,42 (0,01) ^b	8,10 (0,01) ^b	15,21 (0,01) ^b	3,66 (0,01) ^b	4,61 (0,01) ^b	5,06 (0,01) ^b
13219	<i>Penicillium</i> sp.	<i>D. antarctica</i>	27,37 (0,01) ^b	34,35 (0,01) ^b	43,84 (0,01) ^b	10,38 (0,01) ^b	14,93 (0,01) ^b	36,20 (0,01) ^b	4,71 (0,01) ^b	5,51 (0,01) ^b	10,24 (0,01) ^b	3,79 (0,01) ^b	4,24 (0,01) ^b	7,18 (0,01) ^b
13222	<i>Penicillium commune</i>	<i>C. quitensis</i>	18,26 (0,01) ^b	22,41 (0,01) ^b	27,73 (0,11) ^b	15,50 (0,01) ^b	17,72 (0,24) ^b	22,49 (0,01) ^b	8,92 (0,01) ^b	11,76 (0,01) ^b	17,46 (0,01) ^b	6,48 (0,01) ^b	10,27 (0,01) ^b	14,03 (0,02) ^b
13225	<i>Penicillium</i> sp.	<i>D. antarctica</i>	22,95 (0,02) ^b	30,86 (0,01) ^b	37,86 (0,01) ^b	13,22 (0,01) ^b	17,20 (0,01) ^b	25,68 (0,01) ^b	5,21 (0,01) ^b	5,52 (0,01) ^b	10,56 (0,01) ^b	3,74 (0,01) ^b	3,95 (0,01) ^b	7,45 (0,01) ^b
13227	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	27,38 (0,01) ^b	41,43 (0,01) ^b	51,03 (0,01) ^b	6,02 (0,01) ^b	16,77 (0,01) ^b	21,47 (0,01) ^b	5,60 (0,01) ^b	7,23 (0,01) ^b	14,81 (0,01) ^b	4,34 (0,02) ^b	7,01 (0,01) ^b	9,66 (0,01) ^b
13232	<i>Mortierella elongulata</i>	<i>D. antarctica</i>	22,48 (0,03) ^b	25,90 (0,01) ^b	35,83 (0,01) ^b	9,28 (0,01) ^b	18,14 (0,01) ^b	30,79 (0,01) ^b	6,70 (0,01) ^b	8,21 (0,02) ^b	9,85 (0,01) ^b	4,47 (0,02) ^b	7,16 (0,01) ^b	7,51 (0,01) ^b
13241	<i>Penicillium</i> sp.	<i>D. antarctica</i>	24,77 (0,15) ^b	51,75 (0,01) ^b	60,36 (0,01) ^b	13,43 (0,01) ^b	16,71 (0,01) ^b	31,08 (0,01) ^b	6,59 (0,01) ^b	7,41 (0,01) ^b	9,12 (0,01) ^b	3,22 (0,01) ^b	5,78 (0,01) ^b	6,17 (0,01) ^b
13290	<i>Penicillium</i> sp.	<i>D. antarctica</i>	23,33 (0,03) ^b	55,76 (0,01) ^b	56,40 (0,02) ^b	12,51 (0,01) ^b	23,48 (0,01) ^b	28,67 (0,01) ^b	7,57 (0,01) ^b	10,97 (0,01) ^b	13,51 (0,01) ^b	4,98 (0,01) ^b	6,08 (0,01) ^b	7,39 (0,01) ^b
13334	<i>Penicillium spathulatum</i>	<i>D. antarctica</i>	30,78 (0,01) ^b	35,83 (0,01) ^b	53,19 (0,02) ^b	11,06 (0,01) ^b	23,91 (0,01) ^b	26,78 (0,01) ^b	4,41 (0,01) ^b	7,07 (0,01) ^b	8,05 (0,01) ^b	4,01 (0,01) ^b	4,78 (0,01) ^b	5,72 (0,01) ^b
13418	<i>Penicillium</i> sp.	<i>D. antarctica</i>	18,17 (0,01) ^b	20,34 (0,01) ^b	23,01 (0,01) ^b	12,78 (0,01) ^b	18,92 (0,02) ^b	20,39 (0,01) ^b	7,81 (0,01) ^b	9,01 (0,01) ^b	12,80 (0,01) ^b	7,03 (0,01) ^b	7,15 (0,01) ^b	12,32 (0,01) ^b
13448	<i>Penicillium</i> sp.	<i>D. antarctica</i>	19,76 (0,01) ^b	36,08 (0,01) ^b	44,15 (0,01) ^b	12,86 (0,01) ^b	21,16 (0,01) ^b	32,22 (0,16) ^b	6,53 (0,01) ^b	10,64 (0,01) ^b	14,26 (0,01) ^b	4,20 (0,15) ^b	4,92 (0,01) ^b	12,59 (0,01) ^b
13450	<i>Penicillium raistrickii</i>	<i>D. antarctica</i>	17,83 (0,01) ^b	32,38 (0,01) ^b	45,12 (0,01) ^b	8,91 (0,01) ^b	13,19 (0,01) ^b	22,68 (0,01) ^b	5,68 (0,01) ^b	6,98 (0,01) ^b	10,03 (0,01) ^b	3,80 (0,01) ^b	5,29 (0,01) ^b	8,93 (0,01) ^b
13462	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	10,56 (0,01) ^b	19,05 (0,01) ^b	28,12 (0,01) ^b	9,12 (0,01) ^b	13,82 (0,01) ^b	18,29 (0,01) ^b	3,98 (0,01) ^b	4,31 (0,01) ^b	6,38 (0,01) ^b	3,63 (0,01) ^b	3,73 (0,01) ^b	5,43 (0,01) ^b
13464	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	14,57 (0,15) ^b	22,72 (0,01) ^b	26,61 (0,01) ^b	12,11 (0,01) ^b	13,27 (0,01) ^b	16,60 (0,01) ^b	4,58 (0,01) ^b	5,19 (0,01) ^b	7,92 (0,01) ^b	3,12 (0,01) ^b	4,48 (0,01) ^b	5,38 (0,01) ^b
13465	<i>Penicillium raistrickii</i>	<i>D. antarctica</i>	15,98 (0,02) ^b	24,84 (0,01) ^b	29,43 (0,06) ^b	8,28 (0,01) ^b	13,22 (0,01) ^b	18,99 (0,01) ^b	3,52 (0,01) ^b	5,87 (0,01) ^b	7,26 (0,01) ^b	3,08 (0,01) ^b	5,54 (0,01) ^b	5,73 (0,04) ^b
13466	<i>Penicillium raistrickii</i>	<i>D. antarctica</i>	17,14 (0,02) ^b	30,55 (0,01) ^b	38,91 (0,01) ^b	5,91 (0,01) ^b	12,21 (0,01) ^b	19,05 (0,01) ^b	4,13 (0,02) ^b	5,25 (0,01) ^b	8,08 (0,01) ^b	3,48 (0,01) ^b	3,58 (0,01) ^b	4,06 (0,01) ^b
13467	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	15,73 (0,01) ^b	35,85 (0,01) ^b	44,47 (0,01) ^b	8,62 (0,01) ^b	17,79 (0,01) ^b	25,03 (0,01) ^b	4,22 (0,01) ^b	5,31 (0,01) ^b	9,55 (0,01) ^b	3,20 (0,01) ^b	3,64 (0,01) ^b	4,03 (0,01) ^b
13468	<i>Mortierella gamsii</i>	<i>D. antarctica</i>	18,20 (0,01) ^b	41,01 (0,01) ^b	50,12 (0,01) ^b	7,24 (0,01) ^b	15,77 (0,02) ^b	19,51 (0,01) ^b	4,37 (0,01) ^b	8,51 (0,01) ^b	11,57 (0,06) ^b	3,14 (0,01) ^b	4,71 (0,01) ^b	5,24 (0,01) ^b
13469	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	14,14 (0,01) ^b	15,35 (0,01) ^b	31,46 (0,01) ^b	7,03 (0,01) ^b	13,55 (0,01) ^b	17,10 (0,01) ^b	4,39 (0,01) ^b	6,96 (0,01) ^b	12,47 (0,01) ^b	3,70 (0,01) ^b	4,34 (0,02) ^b	5,85 (0,01) ^b
13470	<i>Penicillium raistrickii</i>	<i>D. antarctica</i>	11,28 (0,03) ^b	18,70 (0,10) ^b	25,17 (0,01) ^b	10,31 (0,01) ^b	14,92 (0,01) ^b	22,11 (0,01) ^b	5,62 (0,01) ^b	8,04 (0,01) ^b	11,38 (0,01) ^b	4,08 (0,01) ^b	5,62 (0,01) ^b	6,31 (0,01) ^b
13471	<i>Penicillium raistrickii</i>	<i>D. antarctica</i>	16,50 (0,02) ^b	21,33 (0,01) ^b	23,07 (0,01) ^b	6,51 (0,01) ^b	12,05 (0,01) ^b	13,43 (0,01) ^b	4,28 (0,01) ^b	4,63 (0,01) ^b	7,81 (0,01) ^b	3,69 (0,01) ^b	3,88 (0,01) ^b	7,01 (0,01)

UFMGCB	Identificação	Planta hospedeira	DG-18			DG-36			DG-54			DG-72		
			9° dia	18° dia	27° dia	9° dia	18° dia	27° dia	9° dia	18° dia	27° dia	9° dia	18° dia	27° dia
13472	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	10,65 (0,01) ^b	17,57 (0,06) ^b	25,57 (0,01) ^b	7,31 (0,01) ^b	12,92 (0,01) ^b	17,93 (0,01) ^b	3,64 (0,01) ^b	6,73 (0,01) ^b	7,88 (0,01) ^b	3,11 (0,01) ^b	5,38 (0,01) ^b	6,05 (0,01) ^b
13473	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	11,44 (0,01) ^b	16,96 (0,01) ^b	24,55 (0,01) ^b	8,92 (0,01) ^b	12,33 (0,01) ^b	19,52 (0,01) ^b	7,01 (0,01) ^b	8,39 (0,01) ^b	15,44 (0,01) ^b	3,19 (0,01) ^b	4,01 (0,01) ^b	5,19 (0,01) ^b
13474	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	15,22 (0,03) ^b	38,76 (0,01) ^b	47,05 (0,02) ^b	6,49 (0,01) ^b	11,83 (0,01) ^b	18,01 (0,01) ^b	5,94 (0,01) ^b	6,22 (0,01) ^b	10,54 (0,01) ^b	5,47 (0,01) ^b	5,51 (0,01) ^b	8,18 (0,01) ^b
13475	<i>Penicillium raistrickii</i>	<i>D. antarctica</i>	9,88 (0,01) ^b	15,38 (0,57) ^b	31,39 (0,01) ^b	7,53 (0,06) ^b	12,52 (0,01) ^b	19,62 (0,01) ^b	3,72 (0,01) ^b	5,02 (0,01) ^b	5,75 (0,02) ^b	3,44 (0,01) ^b	4,10 (0,01) ^b	4,48 (0,01) ^b
13476	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	13,70 (0,01) ^b	20,38 (0,01) ^b	27,11 (0,01) ^b	9,02 (0,01) ^b	14,13 (0,01) ^b	22,46 (0,01) ^b	5,09 (0,01) ^b	7,03 (0,01) ^b	8,71 (0,01) ^b	3,59 (0,01) ^b	3,71 (0,01) ^b	5,13 (0,01) ^b
13480	<i>Penicillium jamesonlandense</i>	<i>D. antarctica</i>	17,85 (0,01) ^b	27,37 (0,06) ^b	33,97 (0,01) ^b	6,51 (0,01) ^b	12,71 (0,01) ^b	17,89 (0,01) ^b	4,62 (0,01) ^b	4,91 (0,01) ^b	7,50 (0,02) ^b	4,15 (0,01) ^b	4,62 (0,01) ^b	5,57 (0,01) ^b
13482	<i>Penicillium jamesonlandense</i>	<i>D. antarctica</i>	16,00 (0,01) ^b	20,13 (0,01) ^b	28,36 (0,02) ^b	6,31 (0,01) ^b	12,04 (0,01) ^b	15,13 (0,01) ^b	4,93 (0,01) ^b	8,61 (0,01) ^b	9,19 (0,02) ^b	3,77 (0,02) ^b	4,20 (0,01) ^b	6,97 (0,06) ^b
13497	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>C. quitensis</i>	18,48 (0,02) ^b	23,04 (0,01) ^b	25,41 (0,01) ^b	11,17 (0,01) ^b	16,91 (0,01) ^b	22,98 (0,01) ^b	4,21 (0,01) ^b	4,87 (0,01) ^b	6,06 (0,03) ^b	4,08 (0,01) ^b	4,70 (0,01) ^b	5,45 (0,01) ^b
13498	<i>Penicillium raistrickii</i>	<i>C. quitensis</i>	10,42 (0,01) ^b	11,18 (0,01) ^b	15,46 (0,01) ^b	6,66 (0,02) ^b	10,59 (0,01) ^b	14,41 (0,01) ^b	6,04 (0,01) ^b	6,82 (0,01) ^b	7,50 (0,03) ^b	4,49 (0,02) ^b	5,54 (0,01) ^b	5,94 (0,01) ^b
13500	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>C. quitensis</i>	23,01 (0,01) ^b	40,98 (0,01) ^b	54,19 (0,01) ^b	9,78 (0,01) ^b	14,78 (0,01) ^b	23,81 (0,01) ^b	5,89 (0,01) ^b	6,05 (0,01) ^b	8,88 (0,01) ^b	4,68 (0,02) ^b	5,01 (0,01) ^b	7,72 (0,02) ^b
13501	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>C. quitensis</i>	21,53 (0,01) ^b	28,91 (0,01) ^b	34,32 (0,01) ^b	7,84 (0,01) ^b	13,92 (0,01) ^b	26,43 (0,01) ^b	6,48 (0,01) ^b	6,96 (0,01) ^b	7,48 (0,01) ^b	6,01 (0,01) ^b	6,38 (0,01) ^b	6,56 (0,01) ^b
13522	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>C. quitensis</i>	13,38 (0,01) ^b	31,68 (0,01) ^b	36,61 (0,01) ^b	9,42 (0,01) ^b	18,07 (0,01) ^b	21,73 (0,01) ^b	5,47 (0,01) ^b	6,46 (0,01) ^b	7,27 (0,01) ^b	4,31 (0,01) ^b	5,31 (0,01) ^b	6,02 (0,01) ^b
13523	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>C. quitensis</i>	11,88 (0,01) ^b	15,73 (0,06) ^b	35,55 (0,01) ^b	6,14 (0,01) ^b	12,52 (0,01) ^b	19,83 (0,01) ^b	4,30 (0,01) ^b	6,21 (0,01) ^b	7,35 (0,02) ^b	3,01 (0,01) ^b	5,04 (0,01) ^b	5,92 (0,01) ^b
13524	<i>Penicillium jamesonlandense</i>	<i>C. quitensis</i>	20,12 (0,01) ^b	33,25 (0,01) ^b	38,71 (0,01) ^b	9,25 (0,01) ^b	16,35 (0,01) ^b	18,91 (0,01) ^b	4,05 (0,01) ^b	5,27 (0,01) ^b	7,62 (0,01) ^b	3,75 (0,01) ^b	3,94 (0,01) ^b	4,51 (0,01) ^b
13530	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>C. quitensis</i>	17,92 (0,01) ^b	35,13 (0,06) ^b	49,70 (0,01) ^b	11,69 (0,01) ^b	20,74 (0,01) ^b	31,93 (0,01) ^b	6,19 (0,01) ^b	7,23 (0,01) ^b	10,05 (0,01) ^b	4,51 (0,01) ^b	5,77 (0,06) ^b	8,35 (0,01) ^b
13537	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>C. quitensis</i>	16,50 (0,01) ^b	18,62 (0,01) ^b	27,07 (0,01) ^b	6,30 (0,01) ^b	14,46 (0,01) ^b	16,24 (0,01) ^b	5,11 (0,01) ^b	5,79 (0,01) ^b	9,82 (0,01) ^b	4,74 (0,01) ^b	5,53 (0,01) ^b	6,20 (0,01) ^b
13554	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	19,86 (0,01) ^b	30,01 (0,01) ^b	39,56 (0,01) ^b	10,58 (0,01) ^b	17,22 (0,01) ^b	20,88 (0,01) ^b	5,23 (0,01) ^b	5,64 (0,01) ^b	9,18 (0,01) ^b	3,43 (0,01) ^b	5,31 (0,01) ^b	7,26 (0,01) ^b
13557	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	20,28 (0,01) ^b	23,46 (0,01) ^b	32,48 (0,01) ^b	8,51 (0,01) ^b	18,82 (0,01) ^b	28,52 (0,01) ^b	4,03 (0,01) ^b	6,45 (0,01) ^b	7,62 (0,01) ^b	3,50 (0,01) ^b	5,98 (0,01) ^b	6,30 (0,01) ^b
13558	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	12,92 (0,01) ^b	15,95 (0,01) ^b	25,14 (0,01) ^b	8,21 (0,01) ^b	13,02 (0,01) ^b	14,08 (0,01) ^b	5,69 (0,01) ^b	8,86 (0,01) ^b	12,09 (0,01) ^b	4,82 (0,01) ^b	6,39 (0,01) ^b	7,95 (0,01) ^b
13575	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	20,99 (0,02) ^b	40,79 (0,01) ^b	65,99 (0,01) ^b	9,45 (0,01) ^b	15,08 (0,01) ^b	27,64 (0,01) ^b	6,04 (0,01) ^b	9,16 (0,01) ^b	10,86 (0,01) ^b	4,54 (0,01) ^b	5,85 (0,01) ^b	6,31 (0,01) ^b
13578	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	19,58 (0,01) ^b	34,73 (0,15) ^b	45,27 (0,01) ^b	10,04 (0,01) ^b	17,45 (0,01) ^b	29,84 (0,01) ^b	4,86 (0,01) ^b	5,88 (0,02) ^b	7,80 (0,01) ^b	3,66 (0,01) ^b	4,33 (0,06) ^b	6,90 (0,01) ^b
13580	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	17,37 (0,01) ^b	21,54 (0,01) ^b	23,89 (0,01) ^b	9,72 (0,01) ^b	17,20 (0,01) ^b	19,41 (0,01) ^b	7,39 (0,01) ^b	10,65 (0,01) ^b	13,00 (0,01) ^b	5,28 (0,01) ^b	7,10 (0,10) ^b	8,60 (0,01) ^b
13583	<i>Penicillium swecickii</i>	<i>D. antarctica</i>	16,99 (0,01) ^b	19,97 (0,01) ^b	27,71 (0,01) ^b	9,26 (0,01) ^b	12,05 (0,01) ^b	20,03 (0,01) ^b	6,71 (0,01) ^b	7,55 (0,01) ^b	12,19 (0,01) ^b	4,54 (0,01) ^b	4,51 (0,01) ^b	7,74 (0,01) ^b

As medidas em mm. b. Desvio padrão.