



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2020

POSICIONAMENTO FILOGENÉTICO, NEOTIPIFICAÇÃO E NOVA COMBINAÇÃO PARA *LAPPODOCHIUM LAGENIFORME* MATSUSH.

Maria Gabriella Andrade Primo de Souza¹ e Luis Fernando Pascholati Gusmão².

1. Bolsista FAPESB, Graduando em Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mariagabidesouza@hotmail.com
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lgusmao.uefs@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Filogenia, Microfungos, taxonomia.

INTRODUÇÃO

O gênero monotípico *Lappodochium lageniforme* Matsuh. foi isolado de solo no Brasil, como citado pelo autor no material examinado: “Ex solo. Prope Salvador City, Brasilia. vi. 1972 (4510, typus, b/c-cultura exsiccata)”(Matsushima 1975).

Segundo alguns autores (von Arx, 1981, Seifert et. al. 2011), o gênero *Botryoderma* Papendorf & H.P. Upadhyay (Papendorf & H.P. Upadhyay, 1969) pode ser considerado sinônimo de *Lappodochium*, mas nenhuma proposta formal foi apresentada. *Botryoderma* é composto por quatro espécies (Mycobank, 2020), tendo como espécie tipo *B. lateritium* Papendorf & H.P. Upadhyay. Ambos os gêneros possuem características morfológicas em comum como células conidiogênicas apresentando conidiogenese poliblastica, desenvolvimento simpodial, denticulada, produzindo ameroconídios, subhialinos a hialinos, simples, com parede grossa e secessão rexolítica (Seifert et al., 2011). *Botryoderma rostratum* Papendorf & H.P. Upadhyay foi descrito de material brasileiro, isolado de solo arenoso no Maranhão, tendo sua cultura-tipo depositada na Micoteca da Universidade de Recife (URM) (Papendorf & H.P. Upadhyay, 1969).

Tendo em vista que a cultura original de *Lappodochium* depositada no MFC (Matsushima Fungus Collections) em Kobe, no Japão, foi destruída em função do terremoto de 1995, ocorrido naquela região, o material ora isolado é a única cultura pura deste gênero no mundo. Para o gênero *Botryoderma* há sequências registradas com o marcador ITS, para *B. lateritium* e *B. rostratum*.

A presente proposta visa propor a neotipificação e esclarecer o posicionamento filogenético do gênero *Lappodochium*, através de estudos moleculares e morfológicos, bem como verificar a relação filogenética com o gênero *Botryoderma*.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA

O estudo morfológico foi realizado com a análise da cultura pura de *L. lageniforme* isolado de solo no Campus da Universidade Estadual de Feira de Santana,

Bahia, depositado na Coleção de Cultura do Laboratório de Micologia da UEFS (LAMIC). Foi solicitada a cultura-tipo de *B. rostratum* para a Micoteca da Universidade de Pernambuco (URM), porém o material não foi encontrado (Comunicação Pessoal). A análise detalhada e a foto documentação foram realizadas utilizando microscópio estereoscópico (Leica Stemi 2000) e microscópio ótico (Olympus BX 41). A confirmação da identificação foi realizada, comparando os dados obtidos com os dados presentes em literatura especializada (Matsushima, 1975; Papendorf & H.P. Upadhyay, 1969). As fotomicrografias foram editadas no programa PhotoScape v.3.7.

O espécime foi reativado em ágar, milho e cenoura e incubado a temperatura ambiente por 20 dias. Para a extração do DNA genômico foi utilizado protocolo de Doyle & Doyle (1987) adaptado. Os primers usados para a amplificação e sequenciamento da região ITS foram ITS1-f e ITS5 (White et al. 1990). Os produtos da PCR (Polymerase Chain Reaction) foram quantificados através da técnica de eletroforese em gel de agarose a 1%, e em seguida purificados com PEG (Lis & Schleif 1975) e sequenciados (Macrogen, Seul). As amostras sequenciadas foram editadas com o StadenPackage (Staden, 1996) e posteriormente comparadas com as sequências depositadas no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). O alinhamento das sequências e a análises de Máxima Verossimilhança (ML) foram realizadas utilizando o MEGA 7.0 (Kumar et al. 2016). A árvore foi visualizada no Fig.Tree V.1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>) e editada no editor gráfico vetoriais Inkscape v.0.92.4 (www.inkscape.org).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

A análise morfológica revelou que o isolado ora estudado de *L. lageniforme*, se encaixa perfeitamente na descrição original (Matsushima, 1975). Como a cultura-tipo de *L. lageniforme* foi destruída (MFC 4510) e como o espécime ora isolado é da mesma localidade-tipo e habitat (solo), foi proposta formalmente a neotipificação de *L. lageniforme* Matsush.

***Lappodochium lageniforme* Matsush.** Icones Microfungorum a Matsushima lectorum: 91, 1975.

Material tipo: Brasil, Bahia, Feira de Santana, Campus da Universidade Estadual de Feira de Santana, isolado em BDA de solo, 23.09.2007 (LAMIC0188/07); (**Neotipo designado aqui**).

A análise filogenética utilizando ITS evidenciou que *L. lageniforme* é membro da família Chaetomiaceae formando um clado com as espécies de *Botryoderma lateritium* e *B. rostratum* (Fig. 1), ficando mais próximo a nível molecular de *B. lateritium*, podendo ser explicado morfológicamente pelos conídios apresentarem um apêndice rostrado. Em comparação com a morfologia e ecologia, ambos os gêneros apresentam características comuns, como tipo de conidiogênese, morfologia do conídio, secessão do conídio, bem como o habitat. No entanto, *L. lageniforme* apresenta conidioforos reduzidos a células conidiogênicas que se agrupam formando uma estrutura similar a um esporodóquio, de onde partem hifas estéreis. Já em *Botryoderma* ocorre a presença marcante de conidióforos relativamente bem desenvolvidos.

Baseado nas evidências morfológicas é proposto a neotipificação de *L. lageniforme*.

Em virtude dos resultados obtidos através da Análise da Máxima Verossimilhança (ML) utilizando o marcador ITS, é proposto a nova combinação para *Lappodochium lageniforme* Matsush., embora os valores de bootstrap não estejam satisfatórios. No entanto, a morfologia nos fornece dados que indicam possibilidade.

***Botryoderma lageniforme* (Matsush.) Souza & Gusmão, comb. nov.**

Basiônimo: *Lappodochium lageniforme* Matsush. Icones Microfungorum a Matsushima lectorum : 91, 1975.

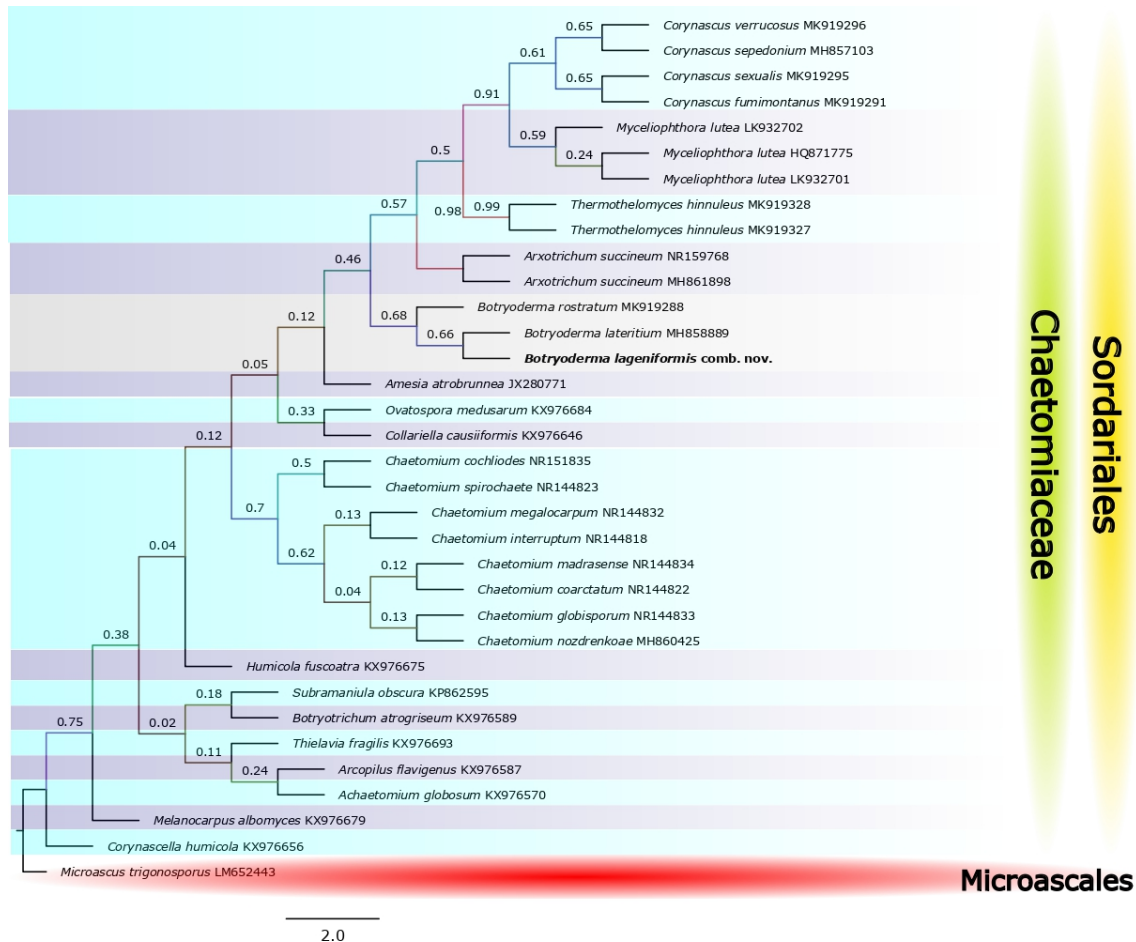


Fig. 1. Análise da Máxima Verossimilhança (ML) de *Botryoderma lageniforme* (Matsush.) Souza & Gusmão (negrito) e gêneros relacionados baseado no marcador ITS. *Microascus trigonosporus* representante da ordem Microascales é o grupo externo. O valor do Bootstrap está indicado na árvore.

CONCLUSÃO

Foram propostos a neotipificação para *L. lageniforme* Matsush. e uma nova combinação *Botryoderma lageniforme* (Matsush.) Souza & Gusmão., contribuindo para a ampliação das relações filogenéticas entre fungos nunca antes analisados do ponto de vista filogenético.

REFERÊNCIAS

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. 1987. A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19 (1): 11-15.

- GENBANK. 2017. GenBank. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (acessado em 23/05/2020).
- KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol.* 2016;33(7):1870-1874. doi:10.1093/molbev/msw054.
- LETUNIC, I., & BORK, P. 2019. Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic acids research*, 47(W1), W256-W259.
- LIS, J.T.; SCHLEIF, R. 1975. Size fractionation of double-stranded DNA by precipitation with polyethylene glycol. *Nucleic Acids Research* 2 (3): 383-389.
- MATSUSHIMA, T. 1975. *Icones Microfungorum a Matsushima lectorum.* : 91-93
- PAPENDORF, M.C.; UPDHYAY, H.P. 1969. *Botryoderma lateritium* and *B. rostratum* gen.et ssp.nov. from soil south Africa and Brazil. Printed in Great Britain.52(2):257-265.
- SEIFERT, K. et al. 2011. The genera of hyphomycetes. *CBS Biodiversity Series* 9: 112, 269.
- STADEN, R. 1996. The Staden Sequence Analysis Package. *Molecular Biotechnology* 5:233-241.
- WHITE, T.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. In: *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications* (eds Innis, M.A.; Gelfand, D.H.; Sninsky, J.J.; White, T.J.), p. 315-322. Academic Press, San Diego, California.