



## ANÁLISE FILOGENÉTICA DE ESPÉCIES DO COMPLEXO *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES*

LORENA GRACIELLY DE ALMEIDA SOUZA, DÉBORA CORREIA SANTANA,  
PAÔLA DA CONCEIÇÃO CAMPOS MALTA, JANYNE SOARES BRAGA PIRES,  
KARLA NAYANE RIBEIRO DE OLIVEIRA

### RESUMO

O gênero fúngico *Cladosporium* é amplamente distribuído, e conta com diversas espécies, estas apresentam inúmeras semelhanças morfológicas, o que dificulta a correta identificação destas espécies. Dentre as espécies deste gênero está *Cladosporium cladosporioides*, frequente em solos tropicais, já sendo descrito como fungo endofítico, é relatado na literatura associado a diversos táxons, contando com mais de 39 espécies, necessitando assim de revisões quanto a taxonomia destas. Dessa forma, buscando a utilização de técnicas de bioinformática, foi construída através do uso de um marcador molecular ‘barcode’ (tef-1), frequentemente utilizado na literatura para identificação de fungos, uma árvore filogenética para diferenciação dos complexos *Cladosporium cladosporioides* em comparação com o fungo *C. dominicanum* pertencente ao complexo *Cladosporium tenuissimum*, utilizando os métodos de Maximum Likelihood tree e Neighbor-Joining tree no software Mega 11 usando sequências de nucleotídeos obtidas no NCBI (National Center for Biotechnology Information) e realizado o alinhamento múltiplo de sequências Clustal w afim de comparar a distribuição dos fungos na árvore nos dois métodos. A partir da obtenção da análise filogenética foi possível observar que as espécies pertencentes aos dois complexos analisados se agruparam em dois clados distintos, sendo que os fungos do complexo *C. cladosporioides* formaram subgrupos dentro do clado principal, o resultado foi semelhante nas arvores obtidas nos dois métodos de análise, onde os dois complexos fungicos se dividiram em dois grupos. Foi possível concluir que diversas espécies classificadas com diferentes nomes podem ser tratar da mesma espécie, uma vez que houve elevada proximidade destas dentro do mesmo clado, além disso os dois complexos avaliados se tratam de fungos distintos.

**Palavras-chave:** Filogenia, Micologia, Fitopatologia, Barcode, Bioinformática

### 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Cladosporium* descrito por Link em 1816, pertence à família Cladosporiaceae do Filo Ascomycota, sendo considerado um dos maiores gêneros de Hyphomycetes, assim como um dos mais heterogêneos e dele fazem parte mais de 772 nomes, ou seja, variedades, formas e espécies (Dugan *et al.*, 2004).

O nome *Cladosporium cladosporioides* esteve frequentemente associado a vários táxons que atualmente são considerados distintos, tornando-se necessário uma revisão dos fungos anteriormente classificados com este nome com a finalidade de esclarecer o status taxonômico. O complexo *C. cladosporioides* possui 39 espécies, que estiveram frequentemente associadas a vários táxons que atualmente são considerados distintos (Bensch *et al.*, 2012)

Bensch *et al.* (2010), na tentativa de elucidar a diversidade de espécies do complexo *C. cladosporioides*, além da região ITS, sequenciaram parcialmente o gene para actina e do fator

de alongamento da tradução (*tef1*), sendo assim possível observar uma resolução limitada da região ITS em muitas espécies de *Cladosporium* e os resultados obtidos para as regiões ACT e TEF foram utilizados na comparação da estabilidade do clado.

*Cladosporium tenuissimum* é um hifomiceto dematiáceo, saprófito, de ocorrência em regiões tropicais, já sendo descrito como fungo endofítico (MOREIRA, 2013). Este é um fungo colonizador frequente do material vegetal morto sendo encontrado também em rizosferas de espécies vegetais (FISHER; PETRINI, 1992). O complexo *C. tenuissimum* é frequentemente comparado e confundido com a espécie *C. cladosporioides* devido a semelhança de das características morfológicas, porém estudos mostraram que estas espécies são distintas (Bensch *et al.*, 2010).

Diversas espécies do complexo *C. cladosporioides* possuem semelhanças morfológicas, dificilmente diferenciadas baseadas em dados obtidos de análises morfológicas, fazendo-se necessário o uso de técnicas moleculares para correta identificação. Diante disso, foi construída a árvore filogenética de oito espécies do complexo *Cladosporium cladosporioides*, sendo elas *C. cladosporioides*, *C. cucumerinum*, *C. subuliforme*, *C. colombiae*, *C. chubutense*, *C. australiense*, *C. rectoides*, *C. gamsianum*, em comparação com o fungo *C. dominicanum* pertencente ao complexo *Cladosporium tenuissimum*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizando o banco de dados NCBI (National Center for Biotechnology Information) foram identificadas as sequências das espécies *C. cladosporioides*, *C. cucumerinum*, *C. subuliforme*, *C. colombiae*, *C. chubutense*, *C. australiense*, *C. rectoides*, *C. gamsianum*, *C. dominicanum* utilizadas com o marcador molecular ‘barcode’ (*tef-1*), descrito na literatura. Posteriormente as sequências foram depositadas no MEGA 11, onde foi realizado o alinhamento múltiplo de sequências Clustal w, as mesmas foram salvas em formato FASTA.

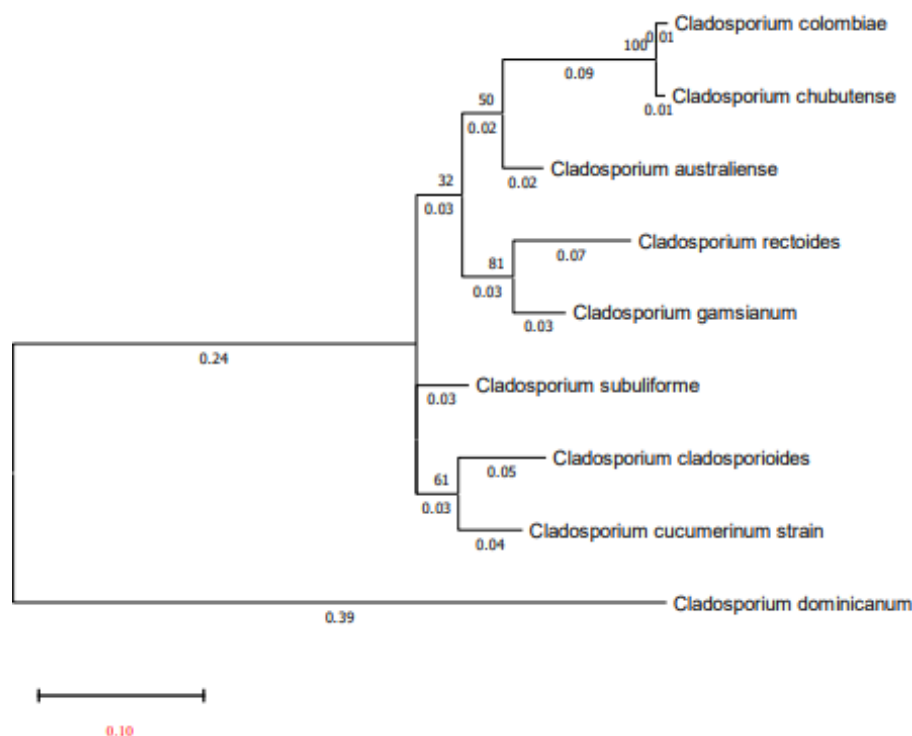
As sequências após o alinhamento foram depositadas no Mega 11, sendo utilizado a ferramenta ‘Models’ para ser analisado qual seria o modelo mais adequado, uma vez que foram utilizados os métodos Maximum Likelihood tree e Neighbor-Joining tree com valor de Bootstrap igual a 1000 para ambos os métodos.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise filogenética foi possível observar a formação de dois grupos distintos (Figura 1), sendo que as espécies pertencentes ao complexo *Cladosporium cladosporioides* se agruparam em um clado, formando dentro deste subgrupo, enquanto o fungo *C. dominicanum* pertencente ao complexo *Cladosporium tenuissimum*, se manteve isolado em um grupo distinto. Os resultados obtidos foram semelhantes nos dois métodos de análise utilizados (Figura 2), repetindo a mesma formação de dois grupos, mantendo assim a diferenciação dos dois complexos estudados.

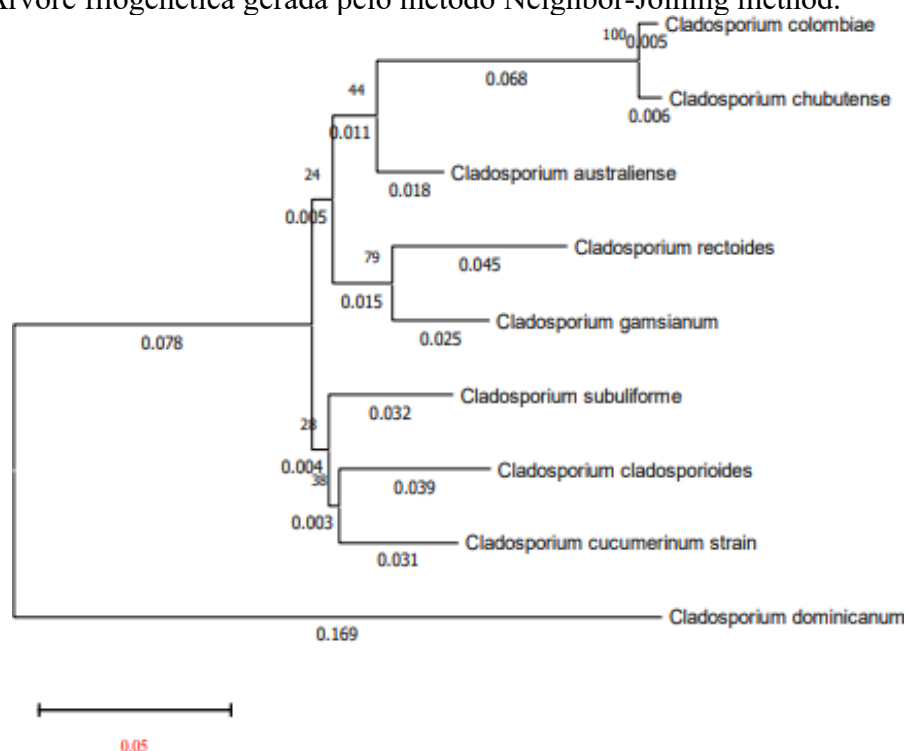
As espécies *C. colombiae* e *C. chubutense* se mostraram mais próximas filogeneticamente entre si, formando assim um subgrupo. Enquanto as espécies *C. rectoides* e *C. gamsianum* formaram outro subgrupo. A espécie *C. cladosporioides* formou um subgrupo com a espécie *C. cucumerinum*.

**Figura 1.** Árvore filogenética gerada pelo método de análise Maximum Likelihood methodod.



Os resultados obtidos pelo método ML, foram repetidos no método NJ, reforçando assim que se tratam de complexos distintos, bem como a formação dos subgrupos dentro do grupo de *C. cladosporioides*, uma vez que as nove espécies utilizadas se agruparam com o fungo ao qual são relatadas como pertencentes do complexo.

**Figura 2.** Árvore filogenética gerada pelo método Neighbor-Joining method.



Apesar de ser muito utilizada a identificação dos fungos através de características

morfológicas, como pigmentação, textura da colônia, forma e cor da hifa, presença ou não de septos, forma de esporos, entre outras estruturas (Quadros *et al.*, 2009), há cada vez mais a necessidade de usar novos métodos, que sejam mais eficazes e confiáveis, tais como as técnicas moleculares (Samson; Varga, 2009). Sendo a partir da obtenção desses dados, que são depositados em bancos de dados, a realização de análises *in silico*, para auxiliar a identificação de microorganismos.

A proximidade entre as espécies nos subgrupos dentro do clado de *C. cladosporioides* pode sugerir se tratarem da mesma espécie, sendo necessário assim novos estudos mais aprofundados de forma *in silico* e com a utilização do fungo *in vivo* para maiores esclarecimentos quanto a uma nova nomenclatura destas espécies.

Grande parte das espécies do complexo *C. cladosporioides* foi identificada com base em características morfológicas e em período anterior aos estudos taxonômicos mais recentes, portanto, há a necessidade de revisão quanto ao agrupamento e nomenclatura destes fungos, com baseado por exemplo nas sequências da região ITS do rDNA e dos genes da actina (ACT) e fator de alongamento da tradução (*tef1*) (Freire, 2015).

#### 4 CONCLUSÃO

Foi possível observar a diferença entre os dois complexos analisados, onde as sequências do complexo *C. cladosporioides* diferenciaram-se da espécie de *C. tenuissimum* analisada. As árvores filogenéticas construídas foram semelhantes nos dois métodos utilizados.

#### REFERÊNCIAS

BENSCH, K. et al. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales). **Studies in Mycology**. 67: 1–94. 2010.

BENSCH, K. et al. The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology** 72: 1–401. 2012.

DUGAN, F.M.; SCHUBERT, K.; BRAUN, U. Check-list of *Cladosporium* names. **Schlechtendalia** 11: 1–103. 2004.

FISHER, P.J.; PETRINI, O. Fungal saprobes and pathogens as endophytes of rice (*Oryza sativa* L.). **New Phytologist** 120, 137. 1992.

FREIRE, K. T. L. S. CARACTERIZAÇÃO TAXONÔMICA DE ESPÉCIES DO COMPLEXO *Cladosporium cladosporioides* DEPOSITADAS NA MICOTECA URM DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO. (**Dissertação de Mestrado**) 2015.

MOREIRA, M. G. Diversidade e atividade antimicrobiana de fungos endofíticos associados à *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O., Kuntze. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Ouro Preto. 2013.

QUADROS, M.E. et al. Qualidade do ar em ambientes internos hospitalares: estudo de caso e análise crítica dos padrões atuais. Engenharia. **Sanitaria e Ambiental**. 14(3). 2009.

SAMSON, R. A.; VARGA, J. What is a species in *Aspergillus*? **Med. Mycol.**, v. 47. 2009.