

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RANIERI BUENO MELATI

**OCORRÊNCIA DE FUNGOS NEGROS EM
AMBIENTES DOMÉSTICOS**



Rio Claro
2015

RANIERI BUENO MELATI

OCORRÊNCIA DE FUNGOS NEGROS EM AMBIENTES
DOMÉSTICOS

Orientador: Prof. Dr. Fernando Carlos Pagnocca

Co-orientador: Doutoranda Ana Paula Miranda Duarte

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio
Claro, para obtenção do grau de bacharel em Ciências
Biológicas.

Rio Claro
2015

589.2 Melati, Ranieri Bueno
M517o Ocorrência de fungos negros em ambientes domésticos /
Ranieri Bueno Melati. - Rio Claro, 2015
37 f. : il., figs., tabs., fots.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro

Orientador: Fernando Carlos Pagnocca

Coorientador: Ana Paula Miranda Duarte

1. Fungos. 2. Dematiáceos. 3. Diversidade. 4. Patógenos.
5. Chaetothyriales. 6. Capnodiales. I. Título.

Resumo

Os fungos negros podem se adaptar a condições ambientais extremas, tais como: altas temperaturas, presença de substâncias químicas tóxicas e escassez de nutrientes. Além disso, são também patógenos oportunistas para os humanos. O ambiente natural de muitos fungos negros ainda é desconhecido e alguns estudos estão sendo realizados para avaliar a biodiversidade deste grupo e seus diferentes habitats. Este estudo teve como objetivo isolar fungos negros em ambientes e utensílios domésticos, tais como escova dental, borracha de vedação de geladeiras, ralos e boxes de banheiros, janelas, azulejos e esponjas de banho. Para as coletas, as superfícies dos materiais foram raspadas e os fragmentos resultantes foram semeados em ágar Mycosel (Difco™), suplementado com actidiona para inibir o crescimento de fungos altamente esporulantes. As placas foram incubadas a 25°C por aproximadamente três semanas. Os 46 fungos isolados foram preservados em tubos inclinados com MA2% mantidos a 8°C e por ultracongelamento a -80°C. A identificação dos fungos foi realizada através de análises macro e microscópicas das colônias e seqüenciamento da região ITS do rDNA. Os seguintes táxons de fungos negros foram encontrados: *Ascomycota* sp., *Cladosporium* spp., *Dothideomycete* sp., *Exophiala alcalophila*, *Ochroconis mirabilis* e *Rhinocladiella atrovirens*. Fungos hialinos também foram isolados, como *Geosmithia* sp., *Penicillium* sp. e *Rhodotorula mucilaginosa*. Os testes de temperatura mostraram que os fungos negros isolados não cresceram a 37°C; no entanto, esta temperatura foi fungistática para 43% dos mesmos. De acordo com a literatura, todos os fungos negros obtidos no presente estudo são patógenos oportunistas e estudos adicionais são necessários para avaliar o risco que estes micro-organismos oferecem à saúde, uma vez que foram isolados de ambientes domésticos.

Palavras-chave: dematiáceos; diversidade; patógenos; Chaetothyriales; Capnodiales.

Abstract

Black fungi are able to adapt to extreme environmental conditions, such as: high temperatures, the presence of toxic chemical substances and lack of nutrients. Besides, they are also potential pathogens to humans. The natural environment of many black fungi is still unknown and some studies are being conducted to evaluate the biodiversity of this group and their different habitats. This study aimed to isolate black fungi in domestic environments and facilities, such as toothbrushes, fridge sealing rubbers, bathroom strainers and divisions, windows, wall tiles and bath sponge. For the collection, material surfaces were scratched with a scalpel and the resulting fragments were sewed in Mycosel agar (Difco™), supplemented with actidione to inhibit the growth of highly-sporulating fungi. Plates were incubated at 25°C for three weeks. The 46 isolated fungi were maintained on MA2% slants at 8°C and cryopreserved at -80°C. Fungal identification was performed through the analysis of macro and microscopic features and ITS rDNA sequencing. The following black fungi taxa were found: *Ascomycota* sp., *Cladosporium* spp., *Dothideomycete* sp., *Exophiala alcalophila*, *Ochroconis mirabilis* and *Rhinochrysiella atrovirens*. Non-melanized fungi were also found, such as *Geosmithia* sp., *Penicillium* sp. and *Rhodotorula mucilaginosa*. The temperature tests showed that isolated black fungi were not able to grow at 37°C, however, this temperature proved to be fungistatic to 43% of them. According to literature, all black fungi isolated in this study are opportunistic pathogens and additional studies are necessary to evaluate the risk that these micro-organisms offer to health, once they were isolated from domestic environments.

Key words: dematiaceous; diversity; pathogens; Chaetothyriales; Capnodiales.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 Fungos negros: características gerais e fatores de virulência.....	7
2.2 Identificação dos fungos negros.....	9
2.3 Ocorrência dos fungos negros.....	10
3 OBJETIVOS.....	12
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
4.1 Amostras.....	12
4.2 Isolamento.....	13
4.3 Purificação e preservação.....	13
4.4 Identificação morfológica.....	14
4.5 Identificação molecular.....	14
4.5.1 <i>Extração DNA</i>	14
4.5.2 <i>Amplificação DNA</i>	15
4.5.3 <i>Reação de sequenciamento</i>	15
4.6. Testes de temperatura.....	15
5 RESULTADOS.....	15
6 DISCUSSÃO.....	29
7 CONCLUSÕES.....	31
8 REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

A Microbiologia é a ciência que estuda os micro-organismos e suas relações com outros seres vivos e o ambiente. O primeiro pesquisador a citá-los foi o matemático e naturalista inglês Robert Hooke que publicou em 1665 um estudo sobre estruturas de frutificação de bolores, considerado o primeiro registro de micro-organismos até então (MADIGAN et al., 2010). Todavia, o comerciante holandês Antonie van Leeuwenhoek foi quem visualizou as primeiras células bacterianas, denominadas “animálculos”, com o auxílio de um microscópio rudimentar em 1684 (MADIGAN et al., 2010).

Com o passar dos anos, a Microbiologia foi se aprimorando graças ao avanço da qualidade dos microscópios, dos estudos de fisiologia e genética microbianas, e também da biologia molecular, permitindo pesquisas mais detalhadas acerca da diversidade de micro-organismos existentes e das interações microbianas.

Os micro-organismos são responsáveis por vários processos de suma importância, como decomposição da matéria orgânica (MILCU et al., 2006; NAEEM et al., 2000), controle biológico (BROEKMAN et al., 2010), produção de alimentos (OMAFUVBE et al., 2000) e medicamentos (DAE-KYUN RO et al., 2006), e eventualmente, podem causar doenças em animais e plantas (MAZMANIAN et al., 2008; FRANK et al., 2007; BOLLER e HE., 2009).

Dentre os micro-organismos, os fungos se destacam pela decomposição da matéria orgânica (ALLISON et al., 2008), produção de antibióticos (CUETO et al., 2001) e processos fermentativos (ZADRAZIL e PUNIYA, 1995; HOLKER et al., 2004). Também são considerados importantes fitopatógenos (BERESTETSKIY, 2008) e patógenos oportunistas de animais e seres humanos (NETEA, et al., 2009).

Do ponto de vista ecológico, os fungos realizam associações simbióticas com plantas (RODRIGUEZ e REDMAN, 2007) e insetos, como besouros (SUH et al., 2005), cupins (AANEN et al., 2002) e formigas (MUELLER et al., 2001).

Há um grupo dentre os fungos que chama a atenção por possuir um enorme potencial a ser explorado. Denominados fungos negros, poucos são os estudos realizados em nosso país que avaliaram a diversidade dos mesmos em amostras ambientais, destacando-se alguns realizados por Vicente et al. (2008), Guedes et al. (2012) e Duarte et al. (2014).

Os fungos negros, também conhecidos como dematiáceos, são representantes de um grupo diversificado e abrangem ascomicetos das ordens Chaetothyriales, popularmente

conhecidos por *black yeast-like*, Dothideales e também alguns representantes basidiomicetos pertencentes ao gênero *Moniliella* (de HOOG et al., 2009).

Esses organismos possuem a peculiar característica de serem patógenos oportunistas de seres humanos (VICENTE et al., 2008), sendo a cromoblastomicose um exemplo de doença que pode ser causada por representantes da ordem Chaetothyriales. Outras características peculiares deste grupo de fungos são a oligotrofia e a preferência por ambientes ricos em hidrocarbonetos monoaromáticos e alcanos, sendo a espécie *Exophiala xenobiotica* frequentemente encontrada nesses locais (de HOOG et al., 2006; MARQUES et al., 2006).

Morfológicamente, esses fungos são caracterizados pela sua pigmentação escura devido à presença de um complexo melanínico em sua parede celular, conhecido por dihidroxinaftaleno (DNH) (LANGFELDER et al., 2003).

Em relação à ecologia, os fungos negros desenvolvem-se bem em ambientes com grande disponibilidade de hidrocarbonetos aromáticos, como benzeno, tolueno e xileno (PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2006). Ambientes hipersalinos também podem favorecer o desenvolvimento de fungos negros (GUNDE-CIMERMAN et al., 2006). Interessantemente, eles também foram encontrados crescendo em substratos rochosos, como mármore na acrópole de Atenas (GORBUSHINA et al., 2003). Fungos dematiáceos do gênero *Chaetomium* também foram isolados de gramíneas congeladas em geleiras por mais de 5.000 anos (HASELWANDTER e EBNER, 1994).

Ambientes criados por seres humanos também têm revelado uma grande diversidade de fungos negros. Espécies de *Exophiala*, por exemplo, já foram encontradas em saunas e banheiros na Ásia e Europa (SUDHADHAM et al., 2008), ralo de pia (MATOS et al., 2002; HAMADA e ABE, 2010) e até mesmo em lava-louças (ZALAR et al., 2011). A confirmação da existência de fungos potencialmente patógenos em ambientes domésticos tem atraído a atenção do mundo todo. A pesquisa realizada por Zalar e colaboradores (2011) teve 1.5 milhões de acessos com apenas 48 horas de publicação e foi citada em mais de 80 revistas, incluindo jornais científicos e noticiários.

Apesar de toda a importância ambiental, médica e biotecnológica dos fungos negros, pouco se sabe acerca da sua biodiversidade e locais de ocorrência natural (ZHAO et al., 2010). A presença deste grupo de fungos em ambientes domésticos encoraja investigações adicionais para uma melhor compreensão da biodiversidade relacionada e possíveis implicações clínicas decorrentes desta associação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. FUNGOS NEGROS: CARACTERÍSTICAS GERAIS E FATORES DE VIRULÊNCIA.

Os fungos negros são assim conhecidos devido a sua coloração escura, resultado de uma parede celular grossa combinada com uma alta concentração de melanina (GOSTINČAR et al., 2011). Vários representantes deste grupo, como as espécies dos gêneros *Exophiala*, *Cladosporium*, *Ochroconis*, entre outros, reproduzem-se por crescimento unicelular, característica encontrada em alguns gêneros de basidiomicetos. Contudo, a maioria dos fungos negros pertence a ordens divergentes do filo Ascomycota (de HOOG, 1993).

Ecologicamente, os fungos negros são capazes de tolerar altas temperaturas, baixos valores de pH (GOSTINČAR et al., 2011), e ainda podem suportar ambientes secos, altas concentrações salinas e radiação UV (SELBMANN et al., 2005). Além disso, eles são dimórficos, ou seja, alternam entre um crescimento filamentosos e leveduriforme, característica comum a todos os patógenos fúngicos (SELBMANN et al., 2005).

A habilidade dos fungos negros em adaptar-se a baixas e inconstantes atividades de água, de acordo com Cantrell et al. (2011), seja por causa de baixa temperatura ou alta salinidade (fatores que alteram a atividade de água), é crucial para sua sobrevivência nos ambientes mais extremos da Terra, caracterizando-os como fungos extremófilos.

Além de adaptarem-se a condições inóspitas, os fungos negros são conhecidamente patógenos oportunistas (VICENTE et al., 2008). Dentre os fatores de virulência que determinam a periculosidade destes micro-organismos, está a capacidade destes fungos em se desenvolverem em temperaturas acima de 37°C (SUDHADHAM et al., 2008). Zalar et al. (2011), encontraram *Exophiala dermatitidis* desenvolvendo-se entre 10 a 45°C. Espécies patógenas humanas, como a *Exophiala*, podem crescer a temperaturas variando de 36 a 42°C (SEYEDMOUSAVI et al., 2011). Duarte (2013) também realizou testes de crescimento com espécies do gênero *Exophiala*, confirmando a capacidade dos fungos negros em crescerem em temperaturas similares às do corpo humano.

Além da temperatura, outros fatores de virulência merecem destaque e a produção de cápsulas polissacarídicas extracelulares é uma delas (SUDHADHAM et al., 2008). Os polissacarídeos extracelulares, também denominados biofilmes, são uma comunidade de micro-organismos associados e firmemente aderidos a uma superfície por meio de uma matriz

extracelular de polímeros, que é permeada por canais que permitem a passagem de substâncias, colocando os micro-organismos ali presentes em contato com o ambiente mais externo (HARDING et al., 2009). Os biofilmes conferem aos micro-organismos maior resistência a estresses biológicos, químicos e físicos, e os protegem de antibióticos e biocidas no organismo hospedeiro (HARDING et al., 2009). Também as proteases, lipases e fosfolipases são importantes fatores de virulência, atuando não apenas na nutrição, mas também no dano aos tecidos do hospedeiro e posteriormente na disseminação, na aquisição de ferro e na superação do sistema imunológico hospedeiro (GOSTINČAR et al., 2011).

No caso de fungos negros oportunistas, como *Exophiala dermatitidis*, a melanina é um dos fatores de virulência mais importantes (STERFLINGER, 2006), embora não seja o único. Em fungos negros encontrados no meio ambiente, especialmente naqueles que habitam rochas, a melanina é um fator de sobrevivência essencial devido aos seguintes fatores: tolerância à dissecação (STERFLINGER, 2006), capacidade de sobreviver mesmo com disponibilidade baixa de nutrientes e água (SELBMANN et al., 2005; SATOW et al. 2008), proteção contra estresse e substâncias tóxicas (BUTLER; DAY, 1998) e crescimento em pH ácido (de HOOG et al., 1994).

Ainda se tratando de fatores de virulência, células muriformes (também conhecidas como corpos escleróticos ou fumagóides, células de Medlar, ou “coper penies”) são elementos fúngicos poliédricos, de cor acastanhada, com septação em dois planos distintos que resultam da transformação dimórfica dos agentes da cromoblastomicose, com o objetivo de adaptação às condições hostis do organismo do hospedeiro (REDE BRASILEIRA DE FUNGOS MELANIZADOS, 2013). Assim, segundo de Hoog et al. (2000), essas células são consideradas um fator de virulência no desenvolvimento da cromoblastomicose.

De acordo com Vicente et al. (2008), a patogenicidade e a virulência de fungos negros podem diferir entre espécies correlacionadas, sendo divididas em três grupos ecológicos: a) fungos sapróbios não conhecidos por ocasionar desordens em vertebrados; b) oportunistas pouco virulentos que podem ser diretamente isolados do ambiente, como *Fonsecaea monophora*; c) patógenos altamente específicos que não podem ser diretamente isolados do ambiente. As espécies *Exophiala bergeri*, *Exophiala xenobiotica*, *Exophiala angulospora* e *Veronaea botyrosa* são excepcionalmente oportunistas pouco virulentas (VICENTE et al., 2008).

Assim sendo, de acordo com Gostinčar et al. (2011), fungos oportunistas habitam um vasto número de substratos orgânicos, apresentando geralmente baixa virulência. Além disso,

muitos dos fatores de virulência identificados em fungos patógenos permitem tanto seu estabelecimento em um hospedeiro, como sua sobrevivência no ambiente.

2.2. IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS NEGROS

Sterflinger (2006) afirma que os fungos negros são muito mais diversos genotipicamente do que se poderia assumir por sua morfologia ou fisiologia. Segundo Satow (2008), a técnica de reação de polimerização em cadeia (PCR), ou seja, a amplificação de fragmentos específicos de DNA, pode ser usada para a identificação dos fungos negros. Neste caso, Satow (2008) afirma que deve ser realizada a PCR de regiões do DNA ribossomal (DNAr), caracteristicamente repetitivo, situado em regiões específicas do genoma (como ITS1 e ITS2) e presente em altas proporções em relação ao conteúdo total de DNA da espécie.

Mesmo não tendo uma diversidade grandiosa, se comparada a outros grupos de fungos, é fato que a identificação dos fungos negros, de acordo com Sterflinger (2006), ainda é um desafio singular para os micologistas e taxonomistas. A identificação microscópica falha na determinação de espécies devido a dois fatores principais: primeiro, especialmente nos fungos meristemáticos¹, uma falta de diferenciação dificulta a determinação de sua posição sistemática; segundo, para fungos negros, o crescimento pleomórfico² combinado com morfologias variáveis de conidiogênese leva a resultados taxonômicos confusos. Selbmann et al. (2005) exemplificam isso, afirmando que os fungos negros meristemáticos da Antártica somente foram identificados com base em análises moleculares.

A utilização de ferramentas moleculares para a identificação dos fungos negros tem revolucionado a classificação taxonômica dos mesmos, reorganizando as divisões previamente realizadas com base em características morfológicas e introduzindo novas espécies. Portanto, as análises moleculares têm mostrado cada vez mais a diversidade pouco explorada de fungos negros em diversos ambientes.

2.3. OCORRÊNCIA DOS FUNGOS NEGROS

¹ O termo “fungos meristemáticos” foi introduzido por de Hoog e Hermanides-Nijhof (1977) para fungos que formam agregados de expansão de células melanizadas em paredes grossas e se reproduzem por divisão isodiamétrica (STERFLINGER, 2006).

² Crescimento composto por diversos tipos de tecidos (MEDICINENET, 2015).

Os fungos negros habitam diversos ambientes, incluindo aqueles não favoráveis ao desenvolvimento de outros organismos. Eles podem ser encontrados em todos os ecossistemas aeróbicos, de acordo com Cantrell et al. (2011), colonizando uma diversidade de substratos e desempenhando uma vasta variedade de funções, sendo que algumas ainda não são bem compreendidas. Muitas espécies de fungos negros são cosmopolitas e generalistas, como os fungos do gênero *Cladosporium*, enquanto outras são especialistas encontradas somente em substratos ou habitats restritos, como as espécies *Phialophora attae* e *P. capiguarae*, encontradas até o momento apenas no integumento de formigas-cortadeiras.

Selbmann et al. (2005) catalogaram um grande número de espécies de fungos na Antártica, indicando deste modo que estes micro-organismos colonizam praticamente todos os ambientes terrestres. Porém, os melhores adaptados às mais extremas condições parecem ser os fungos melanizados, exibindo crescimento meristemático.

Os fungos negros associados às doenças humanas não dependem do hospedeiro humano para sobreviver e foram encontrados vivendo nos habitats naturais mais inesperados e extremos (GOSTINČAR et al., 2011), como o solo do deserto Antártico (SELBMAN et al., 2005).

De acordo com de Hoog et al. (2000), os fungos negros *Cladophialophora*, *Fonsecaea* e *Ramichloridium*, potenciais agentes de cromoblastomicose, são frequentemente encontrados em materiais de plantas em decomposição. *Cladophialophora carrionii*, cujas células se assemelham àquelas muriformes, a forma de tecido da cromoblastomicose, possui registros em espinhos de cacto em processo de secagem (de HOOG et al., 2000).

Selbmann et al. (2005) descreveram a espécie *Cryomyces antarcticus*, capaz de crescer em temperaturas negativas, ao mesmo tempo que suporta uma vasta gama de temperaturas, permitindo que sobreviva em uma maior variedade de ambientes ou, mais provavelmente, que sejam capazes de lidar com mudanças extremas de temperatura.

Os fungos negros, segundo Sterflinger (2006), também podem ser encontrados em ambientes humanos. Sistemas de ar-condicionado com umidificadores providenciam boas condições de sobrevivência para fungos oligotróficos resistentes ao estresse. *Exophiala* e *Sarcinomyces* foram frequentemente encontradas em umidificadores, bem como em aparelhos de banho e sauna por Sterflinger (2006).

Como ambientes litorais hipersalinos, gelo glacial ártico e superfícies de banheiro são todos ambientes caracterizados por períodos de disponibilidade de água extremamente baixa, há uma sobreposição de diversidade microbiológica entre esses ambientes: fungos negros como *Cladosporium halotolerans* e *Aureobasidium pullulans*, por exemplo, são

encontrados em todos esses ambientes. Além disso, *A. pullulans* ocorre na filosfera, em água poluída, em comida preservada com sal, em tanques de combustível de aviação, em vários ambientes internos, em polímeros sintéticos, em poliuretano em degradação e em plásticos de PVC (GOSTINČAR et al., 2011).

As espécies *Exophiala dermatitidis* e *E. phaeomuriformis*, foram encontradas por Zalar et al. (2011) em lava-louças, que são ambientes com muita umidade, calor e agentes químicos como detergentes. Além disso, o mesmo estudo afirma que a inspeção direta de algumas lava-louças mostrou células muriformes de *Exophiala*.

Segundo Matos et al. (2002), o nicho ecológico natural de *Exophiala dermatitidis* precisa de uma maior elucidação, mas é provavelmente caracterizado por alta temperatura e umidade, além de uma baixa concentração de compostos orgânicos. Sudhadham et al. (2008), elucidam que *Exophiala dermatitidis* foi frequentemente isolada de animais frugívoros. Eles supõem que a alimentação possa ser a via de entrada desses fungos no organismo animal, e que a temperatura do local, influencia no desenvolvimento dos fungos nos frutos, que serão dispersos no ambiente pelas fezes desses animais.

Apesar do pouco conhecimento sobre o ambiente natural dos fungos negros, sua presença em ambientes domésticos tem sido considerada de grande relevância, uma vez que estes fungos são potenciais patógenos aos humanos.

3. OBJETIVO

Considerando a importância dos fungos negros e escassez de estudos dos mesmos em ambientes domésticos, o trabalho objetivou:

- Isolar fungos negros a partir de objetos, utensílios e ambientes domésticos;
- Identificar por análises morfológicas e moleculares os fungos isolados;
- Fomentar a Central de Recursos Microbianos da UNESP – Rio Claro, com novos isolados de fungos negros.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. AMOSTRAS

O isolamento foi feito em azulejos, escova dental, borrachas de vedação de geladeiras, aparelho de micro-ondas, boxes de banheiros e em áreas domiciliares colonizadas por fungos negros (Figura 1). Para as coletas, as superfícies dos materiais foram raspadas com o auxílio de um bisturi previamente esterilizado e os fragmentos resultantes foram imediatamente transportados para o laboratório.

Figura 1. Superfícies e materiais utilizados nas coletas das amostras.



A: janela em banheiro; B: muro de alvenaria residencial; C: box de banheiro; D: rodo de pia; E: ralo de banheiro; F: esponja de banho; G: box de banheiro; H: escova dental usada; I: tapete de borracha de banheiro.

4.2. ISOLAMENTO

As amostras foram semeadas em ágar mycosel (Difco™) (dextrose, 2%; peptona, 1%; ágar, 2%; cicloheximida, 500 µg/mL; cloranfenicol, 200 µg/mL; estreptomicina, 200 µg/mL), um meio de cultura apropriado para evitar o desenvolvimento de fungos altamente esporulantes devido a presença de um antifúngico (actidiona). Este meio favorece o aparecimento de fungos de crescimento lento, como os fungos negros. As placas foram incubadas a 25°C por aproximadamente 3 semanas.

4.3. PURIFICAÇÃO E PRESERVAÇÃO

As colônias fúngicas foram purificadas em ágar extrato de malte 2% (MA2%) contendo 0.01% de cloranfenicol. Os isolados foram preservados por repicagem contínua em tubos, contendo meio MA2% inclinado, mantidos a 8°C e por ultracongelamento em ultra-freezer a -80°C. Os isolados foram depositados na Central de Recursos Microbianos da UNESP - Rio Claro.

4.4. IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA

Os fungos isolados foram primeiramente agrupados de acordo com características macromorfológicas das colônias, como: coloração, textura (serosa, cremosa, mucóide, membranosa, pulverulenta, granular, camurça, cotonosa), topografia (plana, convexa, umbilicada, pregueada, cerebriforme), aspecto (brilhante, opaco, seco, úmido), superfície (lisa, fissurada, rugosa), diâmetro de crescimento, presença ou ausência de pigmento e tempo de crescimento.

As observações microscópicas foram realizadas com a preparação de lâminas pelo método de microcultivo. Dois pequenos blocos de meio CMA (*Corn Meal Agar*) inoculados foram colocados em uma placa e cobertos por lamínulas esterilizadas. As placas foram incubadas por 7-14 dias a 25°C, e, após esse período, as lamínulas foram retiradas e posicionadas sobre lâminas contendo glicerol 15%. Foram realizados registros fotográficos dos isolados em microscópio Leica DM 750 equipado com sistema de captura de imagens. As imagens obtidas, juntamente com as suas respectivas descrições e observações foram reunidas em fichas de identificação para cada táxon identificado.

4.5. IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

4.5.1. EXTRAÇÃO DE DNA

Aproximadamente 1cm² de micélio fúngico com 7-10 dias de crescimento foi transferido para microtubos contendo 500 µL de solução de lise (50 mmol Tris l-1; 250 mmol de NaCl l-1; 50 mmol EDTA l-1; 0,3%, w/v, SDS; pH 8) e o equivalente a 100 µL de microesferas de vidro esterilizadas (Sigma®). Os microtubos foram vigorosamente agitados em vortex por 4 minutos e incubados a 65°C por 1 hora. O procedimento de agitação e aquecimento em banho-maria foi repetido e os microtubos foram, então, centrifugados por 15 minutos a 13.000 rpm. Em seguida, a fase aquosa (aproximadamente 400 µL) foi recuperada e transferida para novos tubos (modificado de SAMPAIO et al.,2001 e ALMEIDA, 2005).

4.5.2. AMPLIFICAÇÃO DO DNA

Após a extração, foi feita a amplificação da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) do DNA ribossômico preparando-se, para cada amostra de DNA, uma solução contendo: 2,5µL de tampão de PCR, 8,3µL de água ultrapura qualidade MilliQ®, 1,0µL de primer ITS1 (10 pmol), 1,0µL de primer ITS4 (10 pmol), 4,0µL dNTPs (1,25 mM cada), 1,0 µL de MgCl₂ (50mM), 0,2µL Taq polimerase (5 U/µL) e 5 µL de DNA diluído (15-20ng). A amplificação foi realizada em termociclador como se segue: 1 ciclo de 94°C por 2 min seguido de 35 ciclos a 94°C por 35s, 52°C por 30s, 72°C por 1 min. Para verificação dos produtos de amplificação foi realizada eletroforese em gel de agarose 1% e os amplicons foram purificados com o kit NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up, seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante.

4.5.3. REAÇÃO DE SEQUENCIAMENTO

As reações de sequenciamento foram feitas utilizando BigDye Terminator v3.1™ (Life Technologies). Após purificação, as amostras foram resuspendidas em 10µL de Hi Di Formamida e aplicadas no sequenciador ABI 3500 (Applied Biosystems). As sequências resultantes foram editadas no software BioEdit v.7.0.5.3 (HALL, 1999) e comparadas com o banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (Genbank).

4.6. TESTE DE TEMPERATURA

Os testes de temperatura foram realizados, apenas para fungos negros, em placas contendo PDA (*Potato Dextrose Agar*), nas quais aproximadamente 1 mm de diâmetro da colônia fúngica foi inoculado no centro. As placas foram incubadas em triplicata nas temperaturas de 25 (controle) e 37°C e as avaliações de crescimento foram realizadas com 14 dias de crescimento, mensurando-se o diâmetro da colônia (mm). Para avaliar se a alta temperatura teve efeito fungicida ou fungistático, as culturas sem crescimento a 37°C foram novamente incubadas a 25°C por mais duas semanas.

5. RESULTADOS

5.1 FUNGOS ISOLADOS

Foram isoladas um total de 46 linhagens de fungos, incluindo representantes hialinos e melanizados. De maneira geral, o número de fungos negros recuperados foi relativamente elevado, pois do total de linhagens isoladas, 36 são melanizadas, ou seja, aproximadamente 78%. Dentre os substratos escolhidos para isolamento, os que permitiram o isolamento de um maior número de fungos foram uma esponja de banho e um muro residencial de concreto exposto às variações climáticas (Tabela 1).

Tabela 1. Fungos isolados de ambientes domésticos.

CÓDIGO DO DEPOSITANTE	LOCAIS DE ISOLAMENTO	IDENTIFICAÇÃO	COBERTURA (%)	SIMILARIDADE (%)	Nº ACESSO GENBANK
RM 1	Escova dental 1	<i>Ascomycota</i> sp.	100	100	HQ607800
RM 2	Escova dental 1	<i>Ascomycota</i> sp.	100	100	HQ607800
RM 3	Escova dental 1	<i>Ochroconis mirabilis</i>	100	100	HQ667535
RM 4	Escova dental 1	<i>Ochroconis mirabilis</i>	100	100	HQ667535
RM 6	Escova dental 2	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 7	Escova dental 2	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 8	Escova dental 2	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 9	Escova dental 3	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	JF694934
RM 10	Geladeira 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 11	Geladeira 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474

RM 12 CÓDIGO	Geladeira 2 LOCAIS DE ISOLAMENTO	<i>Cladosporium</i> sp. IDENTIFICAÇÃO	100 QUERY COVER (%)	99 SIMILARIDAD E (%)	HM535372 N° ACESSO GENBANK
RM 18	Geladeira 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 19	Geladeira 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 21	Geladeira 2	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	EF405864
RM 22	Prendedor de roupas	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	100	100	KM014575
RM 23	Box do banheiro 1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	*	*	*
RM 24	Janela residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 26	Tapete de borracha do banheiro 1	<i>Penicillium</i> sp.	99	99	HQ696018
RM 27	Azulejo residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	JF694934
RM 28	Box do banheiro 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 29	Box do banheiro 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 30	Saboneteira do banheiro 1	<i>Rhinocladiella atrovirens</i>	99	99	JX966555
RM 31	Muro de concreto residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	99	KC677891
RM 32	Muro de concreto residencial	<i>Penicillium</i> sp.	*	*	*
RM 33	Muro de concreto residencial	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	*	*	*
RM 34	Muro de concreto residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	EF405864
RM 35	Muro de concreto residencial	<i>Geosmithia</i> sp.	99	89	KF808311
RM 37	Esponja de banho do banheiro 1	<i>Exophiala alcalophila</i>	98	100	JF747044
RM 38	Esponja de banho do banheiro 1	<i>Penicillium</i> sp.	*	*	*
RM 39	Esponja de banho do banheiro 1	<i>Penicillium</i> sp.	*	*	*
RM 40	Esponja de banho do	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KM485631

CÓDIGO	banheiro 1				
	LOCAIS DE ISOLAMENTO	IDENTIFICAÇÃO	QUERY COVER (%)	SIMILARIDADE (%)	Nº ACESSO GENBANK
RM 42	Esponja de banho banheiro 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 43	Esponja de banho do banheiro 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 44	Muro de concreto residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KM265457
RM 45	Muro de concreto residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	NR119843
RM46	Azulejo residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM47	Janela residencial	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM48	Ralo do banheiro 2	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KC311516
RM 49	Box do banheiro 3	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 50	Box do banheiro 1	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	KF367474
RM 51	Esponja de banho do banheiro 3	<i>Penicillium</i> sp.	*	*	*
RM 52	Esponja de banho do banheiro 3	<i>Penicillium</i> sp.	*	*	*
RM 53	Esponja de banho do banheiro 3	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	JX160057
RM 54	Box do banheiro 3	<i>Dothideomycete</i> sp.	100	100	EU680508

*: sem dados moleculares. As linhagens foram identificadas por características fenotípicas;

De maneira geral, dentre os 10 táxons encontrados, *Cladosporium* sp. (n=29) e *Penicillium* sp. (n=6) foram os mais prevalentes. Dentre os substratos, aquele que apresentou maior riqueza de táxons, foi o muro de concreto residencial (n=7), sendo encontrados neste material *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Geosmithia* sp. e *Purpureocillium lilacinum*. A esponja de banho do banheiro 1 também apresentou uma grande riqueza de táxons, sendo encontrado *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Exophiala alcalophila*.

5.2. TERMOTOLERÂNCIA

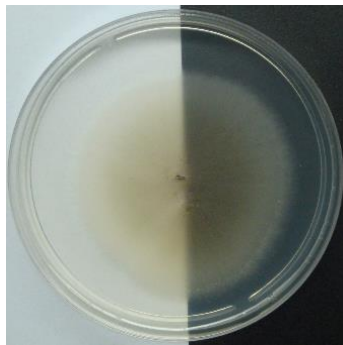
Dentre os fungos negros testados, nenhum apresentou crescimento a 37°C. Para 13 linhagens pertencentes aos táxons *Ascomycota* sp. (n=2), *Ochroconis mirabilis* (n=1) e *Cladosporium* sp. (n=10), a temperatura 37°C foi fungistática e as restantes permaneceram sem crescimento.

5.3. FICHAS DE IDENTIFICAÇÃO

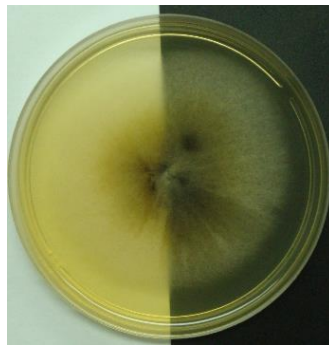
Os dados sobre caracteres macroscópicos, microscópicos e moleculares (quando realizados) foram organizados em fichas catalográficas cujo modelo foi modificado de Cruz (2010). Foi escolhido um representante de cada táxon isolado para a composição das fichas.

Ascomycota sp.

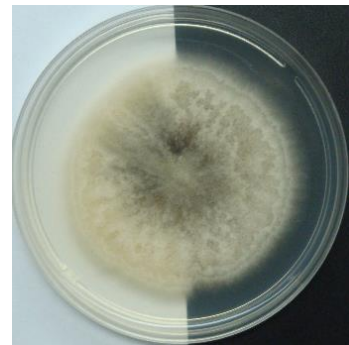
1. **Código:** RM01
2. **Data do isolamento:** 20/01/2015
3. **Substrato de origem:** Escova dental usada
4. **Foto-caracterização:**



Colônia de *Ascomycota* sp. com 7 dias de crescimento em CMA a 25°C.



Colônia de *Ascomycota* sp. com 7 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.



Colônia de *Ascomycota* sp. com 7 dias de crescimento em PDA a 25°C.

5. **Medições:** Colônias estéreis.

6. **Observações:** Colônias de crescimento rápido (53 a 57mm de diâmetro após 7 dias), sendo, em basicamente todos os meios, de cor branca com escurecimento na parte superior central. Adicionalmente, observa-se pigmentação amarela no meio MA 2%. Em relação à textura, as colônias apresentam-se cotonosas. Conídios e conidióforos não foram encontrados em microscopia óptica.

7. Sequenciamento da região ITS:

```
CCTGCGGAAGGATCATTACCTAGAGTTGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCAT
GTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCCC GCCGATTGGACAATTTAA
ACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAA ACTTAATAGTTACA ACTTTCAAC
AACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA
GTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCC
TTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTGTACCTTCAAGCTCTGCT
TGGTGTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGCGTAGACTCGCCTCAAACAATTGGCA
GCCGGCGTATTGATTTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGAC
GACGTCCAAAAGTACA
```

Ochroconis mirabilis

1. **Código:** RM04
2. **Data do isolamento:** 09/02/2015
3. **Substrato de origem:** Escova dental usada
4. **Foto-caracterização:**



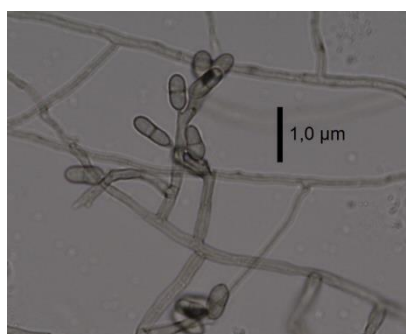
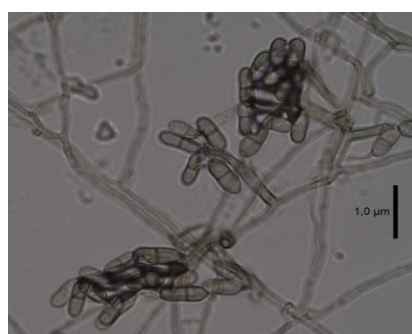
Colônia de *O. mirabilis* com 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.



Colônia de *O. mirabilis* com 14 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.



Colônia de *O. mirabilis* com 14 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Conidióforo e conídios de *O. mirabilis* após 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.

5. **Medições:** Conídios: 0.62 – 0.84µm

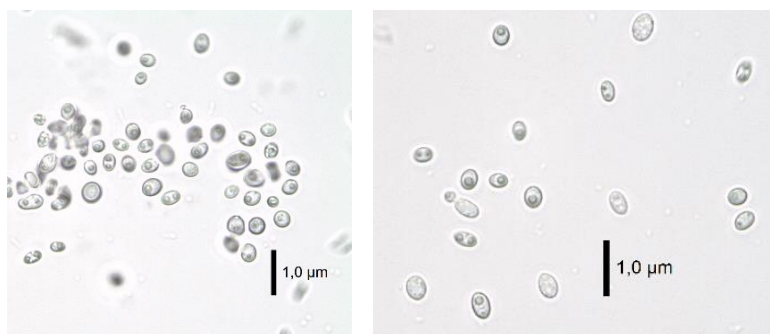
6. **Observações:** Colônias de crescimento lento (13 a 15mm de diâmetro após 14 dias de crescimento), sendo, nos meios CMA e PDA de cor verde oliva escuro e no meio MA 2% cinza escuro. Em relação à textura, as colônias apresentam-se aveludadas. Os conídios são elípticos, lisos e possuem um septo central.

7. Sequenciamento da região ITS:

```
TACCCGACCTGATGTCATTTTATCCGAGGGCGCGCCCGCTTCAGACAGCGGTTTCGACGTT
GGGAGTTACCCGGATGAGGCGTTGTTGTCTCGAAAGGGGAAGCTTCCGGGCCGGGCCGT
GGCGCGTCTCTTGGCACAACCTTCCGCGGAAGTGGTAGGCGTTGACCTGCCCGCCGCGGG
CCGAACTTTTCACAACCTCTTGAAGAAGGAAACCTGAAGTCTGAAATCAAAACGAAAATG
AAAAGCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCAACGATGAAGAACGCAGCGA
AACGCGAAAGGTAATGCGAATTGCAGAATCAGTGAGTCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCTCTCGGTATTCCGGGAGGCACGCCTGTTCGAGCGCCATTACAAACTCCAAGCGTG
GCTTGATGTTGGGCGATGTCTTTTTGCGAGAGCGGGAGACACGCCTGGAACGCGTTGGCG
CCGCCGCCGACCACGAGCGTAGCAAGACGAGAGTCAATCGCATCGATTTGGTTTCCGAC
GGAGGTCCGCCTTGTGACTGCACTTTCGAGTGTAGTTCAAAAAC
```

Rhodotorula mucilaginosa

1. **Código:** RM22
2. **Data do isolamento:** 20/01/2015
3. **Substrato de origem:** Prendedor de roupas
4. **Foto-caracterização:**



5. **Medições:** Células: 0,24µm - 0,59µm.

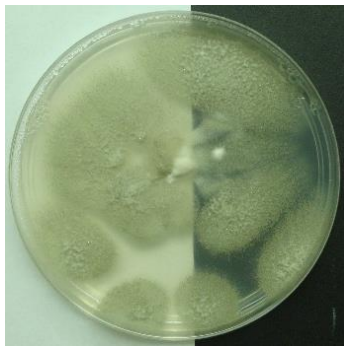
6. **Observações:** Colônia leveduriforme, brilhante e coloração rosa alaranjado.

7. Sequenciamento da região ITS:

```
TGCGGAAGGATCATTAGTGAATATAGGACGTCCAACCTTAACCTGGAGTCCGAACT
CTCACTTTCTAACCCTGTGCACTTGTTGGGATAGTAACTCTCGCAAGAGAGCGA
ACTCCTATTCACCTATAAACACAAAGTCTATGAATGTATTAATTTTATAACAAA
ATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG
CACCTTGCGCTCCATGGTATTCCGTGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTGCATGAATACT
TCAACCCTCCTCTTTCTTAATGATTGAAGAGGTGTTTGGTTTCTGAGCGCTGCTGG
CCTTTACGGTCTAGCTCGTTCGTAATGCATTAGCATCCGCAATCGAACTTCGGATT
GACTTGGCGTAATAGACTATTCGCTGAGGAATTCTAGTCTTCGGATTAGAGCCGG
GTTGGGTTAAAGGAAGCTTCTAATCAGAATGTCTACATTTTAAGATTAGATCTCA
AATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT
```

Penicillium sp.

1. **Código:** RM26
2. **Data do isolamento:** 09/02/2015
3. **Substrato de origem:** Tapete de borracha usado em banho
4. **Foto-caracterização:**



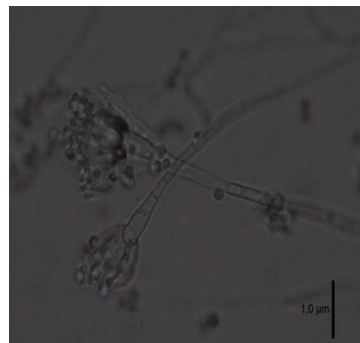
Colônia de *Penicillium* sp. com 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.



Colônia de *Penicillium* sp. com 14 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.



Colônia de *Penicillium* sp. com 14 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Conidióforo de *Penicillium* sp. após 7 dias de crescimento em CMA a 25°C.

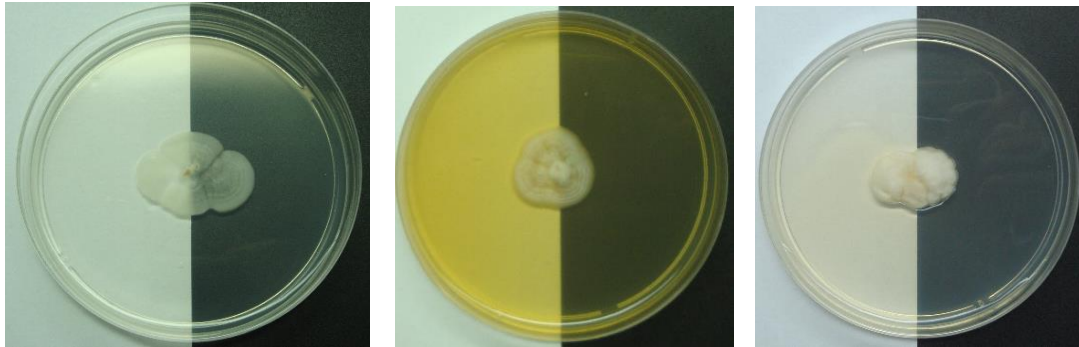
5. **Observações:** Colônias de crescimento rápido com coloração branca em PDA e coloração verde clara nos meios CMA e MA 2%. A liberação de pigmentação amarela no meio MA 2% também pode ser visualizada. Em relação à textura, as colônias apresentam-se pulverulentas (CMA e MA 2%) e cotonosas (PDA). Os conídios são elípticos, lisos e encontram-se em conidióforos ramificados.

6. Sequenciamento da região ITS:

```
AACTGCGGAAGGATCATTACTGAGTGAGGGCCCTCTGGGTCCAACCTCCCACCCGTGTTT
ATTATACCTTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCGTAAGGCCGCCGGGGGCTTCTGCTCCCGG
GCCCCGCGCCCGCCGAAGACATCTCGAACTCTGTCTGAAGATTGTAGTCTGAGTATAAATA
TAAATTATTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCA
CATTGCGCCCTCTGGTATTCGGAGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGC
ACGGCTTGTGTGTTGGGCCCGTCCCTCCGATCCCGGGGGACGGGCCCGAAAGGCAGCGGC
GGCACCGCGTCCGGTCCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCG
GCGCTTCCGATCAACCAAAAATTTTTCCAGTTGA
```

Geosmithia sp.

1. **Código:** RM35
2. **Data do isolamento:** 09/02/2015
3. **Substrato de origem:** Muro de alvenaria residencial
4. **Foto-caracterização:**



Colônia de *Geosmithia* sp.com 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.

Colônia de *Geosmithia* sp.com 14 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.

Colônia de *Geosmithia* sp.com 14 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Conidióforo de *Geosmithia* sp. após 14 dias de crescimento em CMA a

5. **Medições:** Conídios: 0.4 – 0.71µm.

6. **Observações:** Colônias de crescimento lento (18 a 20mm de diâmetro após 14 dias) de cor branca. Em relação à textura, as colônias apresentam-se aveludadas na parte central, e cerosas nas bordas. Os conídios são elípticos a arredondados e lisos.

7. Sequenciamento da região ITS:

```
AACCTGCGGAGGGATCATTACTGAGTTCTAAACTCCAAACCTTTGTGAACATACCATTGT
TGCTTCGGCGGGTTCGTCCCGGGCGCGCCTTCTGGCGTGACCCGGAATCAGGCGCCCGCC
GGGGGATCTAAACTCTTGTCTTCTAGAGATTATCTGAGTGGCATAAGCAAATAAATCAAA
ACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCTCGCC
AGTATTCTGGCGAGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCAGGCCCGTTCGCGGG
ATCTGGTGTGGGGATCGGCCGTCTACGCGGGCGGCCCGCCCTGAAATGGAGTGGCGGTC
TCGTGCGGACCTCCTCTGTGTAGTAGTTATACCTCGCAGCTGGATAGCGGGCGCGGCCACG
CCGTAACCCCTA
```

Exophiala alcalophila

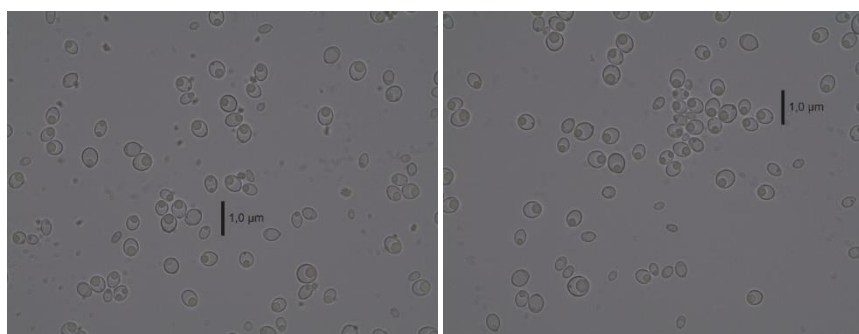
1. **Código:** RM37
2. **Data do isolamento:** 09/02/2015
3. **Substrato de origem:** Esponja de lavar louças usada
4. **Foto-caracterização:**



Colônia de *E. alcalophila* com 7 dias de crescimento em CMA a 25°C.

Colônia de *E. alcalophila* com 7 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.

Colônia de *E. alcalophila* com 7 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Células de *E. alcalophila* após 7 dias de crescimento em CMA a 25°C.

5. **Medições:** Células: 0.48 – 0.94µm de diâmetro.

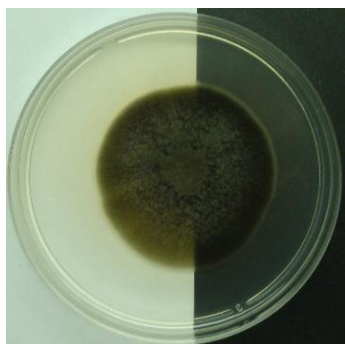
6. **Observações:** Colônias leveduriformes de crescimento muito lento (5 a 8 mm de diâmetro após 7 dias), sendo de coloração preta no meio CMA e marrom escuro nos meios MA 2% e PDA. Em relação à textura, as colônias apresentam-se mucosas e brilhantes.

7. Sequenciamento da região ITS:

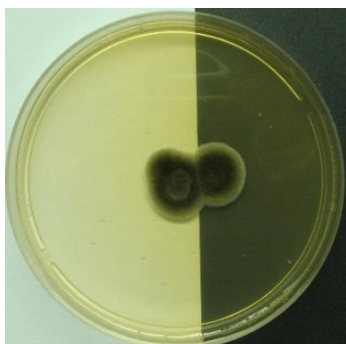
```
GCGGAAGGATCATTACCGAGTTAGGGTCTCTGGGCCCAGATCTCCCAACCCTTTGTTTATT
ATACCTTTTGTGCTTCGGCGGGCCCGTTGTCTCACGACGACCGCCGGAGGACCGCTTAA
CGGCGTCTCTGGTCCGCGCCCGCCGATGGCCCCAAAATCTCAAATTTCTTGTATGAATC
GTGTCTTTACCTAAGTCTTGATTTAATCAAAAACAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGT
TCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGCGAATTGCAGAATTCCA
GTGAGTCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCGAAGGGCATGCCTGT
TCGAGCGTCATTATCACCCCTCGAGCCCCGGGCTTGGTGTGGACGGCTTGGTTACGCTC
CCCGCGTGACCCCTCCTAAAGACAATGACGGCGGCCTCGTGGAGCCCCGGTACACTGAG
CTTCTTAACTGAGCACGTATCGGATCTAGGGCGCCAGGCTCCGGTCTCTCCCCTTTGTG
GGGAAAAACCTCTTTTACAAGGTTGACCTC
```

Dothideomycete sp.

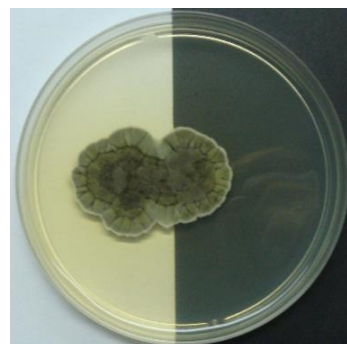
1. **Código:** RM54
2. **Data do isolamento:** 09/02/2015
3. **Substrato de origem:** Box de banheiro residencial
4. **Foto-caracterização:**



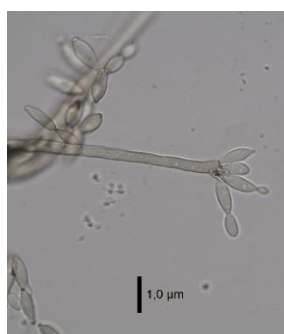
Colônia de *Dothideomycete* sp. com 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.



Colônia de *Dothideomycete* sp. com 14 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.



Colônia de *Dothideomycete* sp. com 14 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Conidióforo de *Dothideomycete* sp. após 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.

5. **Medições:** Conídios: 0.27 – 1.05 µm.

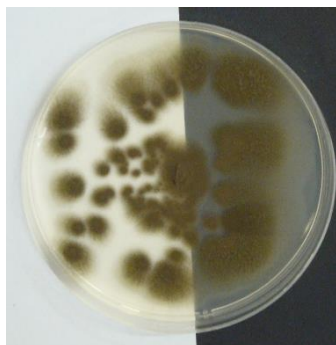
6. **Observações:** Colônias de crescimento moderado (15 a 43 mm de diâmetro após 14 dias). No meio CMA, possui coloração marrom e verde oliva escuro com textura pulverulenta. No meio MA 2% é verde escuro no centro e verde claro nas bordas com textura aveludada. No meio PDA, a colônia é verde escura no centro e verde claro nas bordas com aspecto septado. Os conídios são elípticos e lisos.

7. Sequenciamento da região ITS:

```
TTCATAACCCTTTGTTGTCTGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCTGCCTTCGGGC
GGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACCTTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAAT
TAATTAATAAATTAACAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAA
GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG
AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCGAG
CGTCATTTCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTG
CCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAACTATTTCGCT
AAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCATTTCTAAGGTTGACCTC
GGATCAGGTAGGGATAACCCGCTGAACTTAA
```

Cladosporium sp.

1. **Código:** RM12
2. **Data do isolamento:** 01/06/2015
3. **Substrato de origem:** Borracha de geladeira 2
4. **Foto-caracterização:**



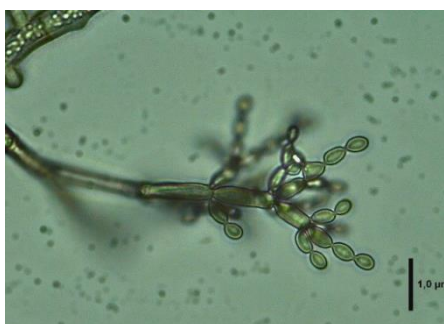
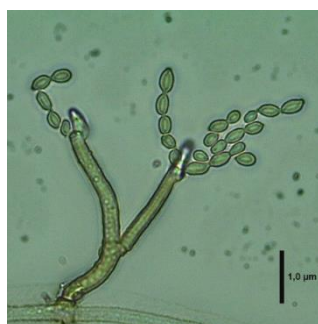
Colônia de *Cladosporium* sp. com 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.



Colônia de *Cladosporium* sp. com 14 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.



Colônia de *Cladosporium* sp. com 14 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Conidióforo de *Cladosporium* sp. após 7 dias de crescimento em CMA a 25°C.

5. **Medições:** Conídios: 0.21 – 0.59 µm.

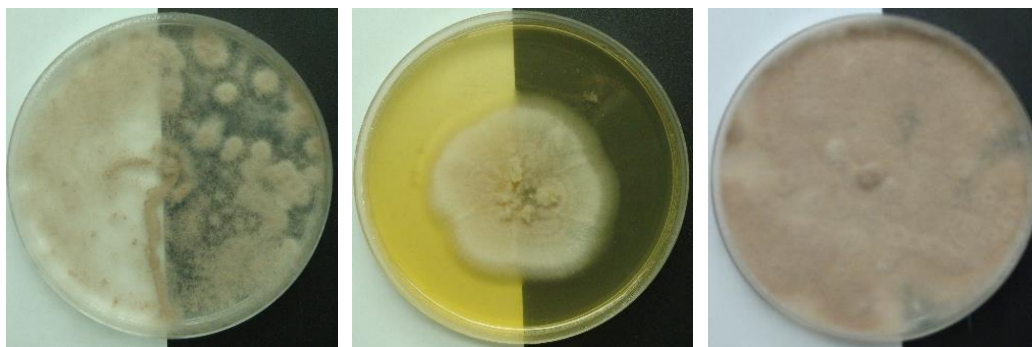
6. **Observações:** Colônias de crescimento rápido (70 a 90 mm após 14 dias). No meio CMA a colônia é verde escura e pulverulenta. No meio MA 2% é verde clara no centro e cinza nas bordas com textura pulverulenta, apresentando também pigmentação amarela no meio. No meio PDA, a colônia é verde oliva e textura pulverulenta. Os conídios são elípticos e lisos, e estão organizados em ramos.

7. Sequenciamento da região ITS:

```
GACCTGCGGAGGGATCATTACAAGTGACCCCGGTTTACCACCGGGATGTTTCATAACCCTT
TGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGA
CACTTCAAACCTTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAACTTAATTAATAAAATTAACCTTT
TAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTAT
TCCGGGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGC
AACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGT
GGAACTATTTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAACAACCCCATTTCTAAG
GTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAA
```

Purpureocillium lilacinum

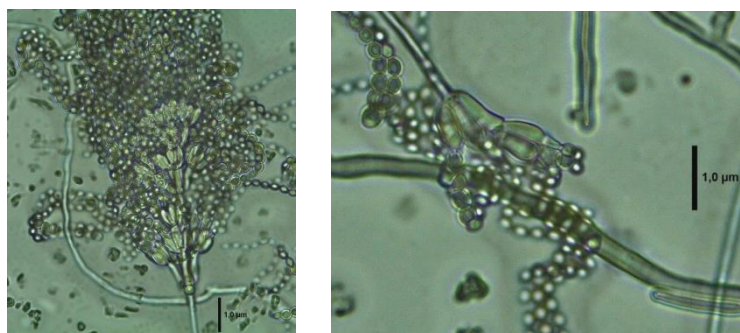
1. **Código:** RM23
2. **Data do isolamento:** 01/06/2015
3. **Substrato de origem:** Box de banheiro residencial
4. **Foto-caracterização:**



Colônia de *P. lilacinus* com 14 dias de crescimento em CMA a 25°C.

Colônia de *P. lilacinus* com 14 dias de crescimento em MA 2% a 25°C.

Colônia de *P. lilacinus* com 14 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Conidióforo de *P. lilacinus* após 7 dias de crescimento em CMA a 25°C.

5. **Medições:** Conídios: 0.21 – 0.32 µm.

6. **Observações:** Colônias de crescimento rápido (60 a 90 mm após 14 dias). No meio CMA, a colônia é rosa clara e pulverulenta. No meio MA 2% é bege no centro e branco nas bordas com textura aveludada. No meio PDA, o fungo é rosáceo e pulverulento. Os conídios são redondos e lisos, estando organizados em ramos nos conidióforos.

7. **Sequenciamento da região ITS:**

A identificação foi realizada com base nas características macro e microscópicas.

Penicillium sp.

1. **Código:** RM32
2. **Data do isolamento:** 01/06/2015
3. **Substrato de origem:** Muro residencial de alvenaria
4. **Foto-caracterização:**



Colônia de *Penicillium* sp. com 14 dias de crescimento em CMA a



Colônia de *Penicillium* sp. com 14 dias de crescimento em MA 2% a



Colônia de *Penicillium* sp. com 14 dias de crescimento em PDA a 25°C.



Conidióforo de *Penicillium* sp. após 7 dias de crescimento em CMA a 25°C.

5. **Medições:** Conídios: 0.15 – 0.24µm.

6. **Observações:** colônias de crescimento rápido com coloração verde oliva. Em relação à textura, as colônias apresentam-se pulverulentas. Os conídios são redondos, lisos e encontram-se em conidióforos ramificados.

7. **Sequenciamento da região ITS:**

A identificação foi realizada com base nas características macro e microscópicas.

6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que ambientes domésticos abrigam diversos fungos, incluindo os melanizados. Os seguintes táxons de fungos negros foram isolados e identificados: *Ascomycota* sp., *Ochroconis mirabilis*, *Cladosporium* sp., *Exophiala alcalophila*, *Rhinochadiella atrovirens* e *Dothideomycete* sp. A esponja de banho do banheiro 1, foi o substrato do qual mais fungos negros foram isolados (n=6), dentre eles *Cladosporium* sp. e *Exophiala alcalophila*, o que demonstra a capacidade desses fungos de sobreviverem em ambientes pouco usuais, com variações de temperatura, umidade e pH, além do contato direto com produtos químicos.

Ochroconis mirabilis é um fungo dematiáceo filamentosos e cosmopolita, que pode ser eventual patógeno humano em pacientes imunocomprometidos (GIRALDO et al., 2014). Assim como a espécie *O. mirabilis*, outras espécies do gênero *Ochroconis*, são conhecidas por serem patógenas oportunistas em humanos (YARITA et al., 2007; WONG et al., 2010; GE et al., 2012).

O gênero *Cladosporium* foi certamente o táxon mais abundantemente encontrado nesse trabalho. Ele foi isolado de vários substratos diferentes, com condições de temperatura, pH, umidade e disposição de nutrientes diferentes umas das outras, demonstrando a versatilidade que o fungo apresenta para vencer as barreiras ambientais expostas e desenvolver-se. Este gênero compreende fungos negros endofíticos de ampla distribuição, que podem ser fitopatógenos (NEGREIRO et al., 2004). Em relação à patogenicidade em animais e humanos os casos são raros, mas existem relatos de infecções (de HOOG et al., 1995; BOUZIANE et al., 2005).

As espécies do gênero *Exophiala* são também conhecidas como agentes infecciosos oportunistas (SUDHADHAM et al., 2008). Lian e de Hoog (2010) mostraram uma possível ligação de infecções cutâneas e fungos negros do gênero *Exophiala* em ambientes domésticos.

Rhinochadiella atrovirens é um fungo dematiáceo que pode causar infecções no sistema nervoso central e é regularmente isolado de madeira de coníferas (PALACIO-HERNANZ et al., 1988). Todavia, poucos registros sobre a espécie são relatados na literatura.

Com relação a ocorrência de fungos negros em ambientes domésticos relatada em outros estudos, de Hoog et al. (2010) isolaram de banheiros residenciais na Holanda, Alemanha e Áustria, vários representantes da ordem Chaetothyriales, incluindo fungos negros

dos gêneros *Exophiala* e *Cladosporium*. Espécies de *Exophiala* também já foram isoladas em saunas na Europa e Ásia (de HOOG et al., 2002) e em lava-louças de vários países (GUNDE-CIMERMAN et al., 2011).

Assim, todos os fungos negros isolados neste trabalho possuem relatos na literatura como agentes de infecções em indivíduos saudáveis e com sistema imune comprometido. Em relação à temperatura, o teste realizado com os fungos negros mostrou resultados que comprovam seu potencial em resistir às variações de temperatura. Nenhum dos fungos negros isolados apresentou crescimento a 37°C, mostrando que estes não possuem capacidade para infectar indivíduos neste ambiente. No entanto, para 13 linhagens pertencentes aos táxons *Ascomycota* sp. (n=2), *Ochroconis mirabilis* (n=1) e *Cladosporium* sp. (n=10) a temperatura de 37°C foi fungistática, indicando que esses fungos possuem adaptações fisiológicas para resistir em temperaturas mais elevadas que a média ambiental.

Fungos hialinos também foram encontrados, como *Rhodotorula mucilaginosa*, *Purpureocillium lilacinum*, *Penicillium* sp. e *Geosmithia* sp. *Rhodotorula mucilaginosa* é um basidiomiceto leveduriforme e cosmopolita (RUSCHE-SKOLARUS et al., 2007, frequentemente associado com enfermidades em humanos, sendo responsável por cerca de 74% das infecções (fungemias) causadas por esse gênero de levedura, tendo como suas maiores vítimas idosos e pacientes com sistema imunológico debilitado (TUON et al., 2008).

Purpureocillium lilacinum é um fungo filamentosos, ubíquo e sapróbio, regularmente isolado do solo, de vegetações em decomposição, em insetos, parasitos nemátodas, e também como contaminante no ar (LUANGSA-ARD et al., 2011). Esse fungo pode causar uma enfermidade conhecida por ceratite, que se trata de uma inflamação na córnea que pode levar a cegueira ((DOMNIZ et al., 2001). Além dos problemas patológicos em humanos, esta espécie também está sendo usada como agente de biocontrole de pestes nemátodas (BRAND et al., 2003; KALELE et al., 2007).

Fungos do gênero *Penicillium* são comumente encontrados em contaminações de alimentos, e são cosmopolitas, presentes no solo, ar e vegetação em decomposição (PITT, 2009). Os representantes do gênero são também conhecidos fitopatógenos por possuírem micotoxinas que podem prejudicar diversos tipos de plantações (PITT, 2009; RIBEIRO et al., 2003).

Geosmithia é um gênero pertencente à ordem Hypocreales, possui espécies termofílicas e que podem também ser patógenos humanos (GIRAULD et al., 2010) e fitopatógenos (KOLARIK et al., 2011).

Portanto, ambientes domésticos apresentam condições favoráveis ao desenvolvimento de uma ampla gama de fungos melanizados e hialinos. Apesar dos testes de temperatura revelarem que os fungos negros isolados neste trabalho provavelmente apresentam baixa virulência, eles podem ocasionar micoses oportunistas e, assim, representarem um fator de risco à saúde.

7. Conclusões

- O isolamento dos fungos revelou que ambientes domésticos albergam um número muito diversificado de fungos, incluindo os fungos negros;
- Os fungos negros isolados neste trabalho são destacados na literatura como potenciais patógenos oportunistas e podem ocasionar infecções em indivíduos em contato com este ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AANEN, D.K.; EGGLETON, P.; ROULAND-LEFÈVRE, C.; GULDBERG-FRØSLEV, T.; ROSENDAHL, S.; BOOMSMA, J.J. The evolution of fungus-growing termites and their mutualistic fungal symbionts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, v. 99, n. 23, p. 14887-14892, 2002.

ALLISON, S. D.; TALBOT, J. M.; TRESEDER, K. K. Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. **Functional Ecology**, n. 22, p. 955–963, 2008.

ALMEIDA, J. M. G. C. F. Yeast community survey in the Tagus estuary. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, n. 53, p. 295-303, 2005.

BERESTETSKIY, A. O. A review of fungal phytotoxins: from basic studies to practical use. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 44, p. 453-465, 2008.

BOLLER, T.; HE, S. Y. Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. **Science** **8**, v. 324, n. 5928, p. 742-744, 2009.

BOUZIANE, H.; LATGE, J. P.; FITTING, C.; MECHERI, S.; LELONG, M.; DAVID, B. Comparison of the allergenic potency of spores and mycelium of *Cladosporium*. **Allergologia et immunopathologia**, v. 33, n. 3, p. 125-30, 2005.

BRAND, D.; ROUSSOS, S.; PANDEY, A.; ZILIOLO, P. C.; POHL, J.; SOCCOL, C. R. Development of a bionematicide with *Paecilomyces lilacinus* to control *Meloidogyne incognita*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 118, p. 81–88, 2003.

BROEKMAN, S.; POHLMANN, O.; BEARDWOOD, E. S.; CORDEMANS DE MEULENAER, E. Ultrasonic treatment for microbiological control of water systems. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 1041–1048, 2010.

BUTLER, M. J.; HENSON, J. M.; DAY, A. W. The dark side of the mycelium: Melanins of Phytopathogenic Fungi. **Annual Review of Phytopathology**, v. 37, p. 447-471, 1999.

CANTRELL, S. A.; DIANESE, J. C.; FELL, J.; GUNDE-CIMERMAN, N.; ZALAR, P. Unusual fungal niches. **Mycologia**, v. 103, n. 6, p. 1161-1174, 2011.

CRUZ, A. S. **Avaliação dos fatores abióticos e bióticos de uma área petroquímica da região de Paulínia, SP, e fotodocumentação dos fungos transientes isolados**. 2010. 134 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

CUETO, M.; JENSEN, P. R.; KAUFFMAN, C.; FENICAL, W.; LOBKOVSKY, M.; CLARDY, J. Pestalone, a new antibiotic produced by a marine fungus in response to bacterial challenge. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 11, p. 1444-1446, 2001.

RO, D. K.; PARADISE, E. M.; OUELLET, M.; FISHER, K. J.; NEWMAN, K. L.; NDUNGU, J. M.; HO, K. A.; EACHUS, R. A.; HAM, T. S.; KIRBY, J.; CHANG, M. C. Y.; WITHERS, S. T.; SHIBA, Y.; SARPONG, R.; KEASLING, D. Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. **Nature**, v. 440, p. 940-943, 2006.

de HOOG, G. S. Evolution of black yeasts: possible adaptation to the human host. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 63, n. 2, p. 105-109, 1993.

de HOOG, G. S.; GUEHO, E.; MASCLAUX, F.; GERRITS VAN DEN ENDE, A. H.; KWON-CHUNG, K. J.; MCGINNIS, M. R. Nutritional physiology and taxonomy of human-pathogenic *Cladosporium-Xylohypha* species. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 33, n. 5, p. 339-347, 1995.

de HOOG, G. S.; QUEIROZ-TELLES, T.; HAASE, G.; FERNANDEZ-ZEPPEFELDT, G.; ATTILI ANGELIS, D.; GERRITS VAN DEN ENDE, A. H. G.; MATOS, T.; PELTROCHE-LLACSAHUANGA, H.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; RAINER, J.; RICHARD-YEGRES, N.; VICENTE, V.; YEGRES, F. Black fungi: clinical and pathogenic approaches. **Medical mycology**, v. 38, p. 243-250, 2000.

de HOOG, G. SYBREN et al. *Exophiala sideris*, a novel black yeast isolated from environments polluted with toxic alkyl benzenes and arsenic. **Fungal Biology**, v. 115, p. 1030-1037, 2011.

de HOOG, G.S, GUARRO, J., FIGUERAS, M.J.; GENE, J. **Atlas of Clinical Fungi**. 2. ed., CBS, Utrecht, Holanda, 2000.

de HOOG, G.S.; VICENTE, V.A.; NAJAFZADEH, M.J.; HARRAK, M.J.; BADALI, H.; SEYEDMOUSAVI, S. Waterborne *Exophiala* species causing disease in cold-blooded Animals. **Persoonia**, v. 27, p. 46–72, 2011.

DOMNIZ, Y.; LAWLESS, M.; SUTTON, G. L.; ROGERS, C. M.; MEAGHER, L. J. Successful treatment of *Paecilomyces lilacinus* endophthalmitis after foreign body trauma to the cornea. **Cornea** 20, p. 109–111, 2001.

DUARTE, A.P.M.; ATTILI-ANGELIS, D.; BARON, N.C.; FORTI, L.C.; PAGNOCCA, F.C. Leaf-cutting ants: an unexpected microenvironment holding human opportunistic black fungi. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.106, n.3, p.465-73, 2014.

DUARTE, A. P. M. **Fungos negros derivados de *Atta* spp.:** diversidade e fatores de virulência. 2013, 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013.

EGIDI, E.; de HOOG, G. S.; ISOLA, D.; ONOFRI, S.; QUAEDVLIEG, W.; DE VRIES, M.; VERKLEY, G. J. M.; STIELOW, J. B.; ZUCCONI, L.; SELBMANN, L. Phylogeny and taxonomy of meristematic rock-inhabiting black fungi in the Dothideomycetes based on multi-locus phylogenies. **Fungal Diversity**, v. 65, p. 127-165, 2014.

FRANK, DANIEL N. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. **Proceedings of the National**

Academy of Sciences of the United States of America (PNAS), v. 104, n. 34, p. 13780-13785, 2007.

GE, Y. P.; LV, G. X.; SHEN, Y. N.; LI, M.; DENG, S. W.; de HOOG, S.; SAMERPITAK, K.; LIU, W. D. First report of subcutaneous phaeohyphomycosis caused by *Ochroconis tshawytschae* in an immunocompetent patient. **Medical Mycology**, v. 50, p. 637–640, 2012.

GORBUSHINA, A. A.; WHITEHEAD, K.; DORNIEDEN, T.; NIESSE, A.; SCHULTE, A.; HEDGES, J. I. Black fungal colonies as units of survival: hyphal mycosporines synthesized by rock-dwelling microcolonial fungi. **Canadian Journal of Botany**, v. 81, n. 2, p. 131-138, 2003.

GOSTINČAR, C.; GRUBE, M.; DE HOOG, G. S.; ZALAR, P.; GUNDE-CIMERMAN, N. Extremotolerance in fungi: evolution on the edge. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, v. 71, p. 2-11, 2010.

GOSTINČAR, C.; GRUBEB, M.; GUNDE-CIMERMAN, N. Evolution of Fungal Pathogens in Domestic Environments. **Fungal biology**, v.115, n. 10, p. 1008-1018, 2011.

GUNDE-CIMERMAN, N.; ZALAR, P.; DE HOOG, G. S.; PLEMENITAS, A. Hypersaline waters in salterns: natural ecological niches for halophilic black yeasts. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, v. 32, p. 235-240, 2000.

GUNDE-CIMERMAN, N.; ZALAR, P.; de HOOG, S.; PLEMENITAS, A. Hypersaline waters in salterns – natural ecological niches for halophilic black yeasts. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, v. 32, p. 235-240, 2000.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v.41, p.95-98, 1999.

HAMADA, N.; ABE, N. Comparison of fungi in bathrooms and sinks. **Biocontrol science**, v.15, p.51-56, 2010.

HARDING, M. W.; MARQUES, L. L. R.; HOWARD, R. J.; OLSON, M. E. Can filamentous fungi form biofilms? **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 11, p. 475-480, 2009.

HASELWANDTER, K.; EBNER, M.R. Microorganisms surviving for 5300 years. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, v.116, p.189–193, 1994.

HOLKER, U.; HOFER, M.; LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, p. 175-186, 2004.

KALELE, D. N.; AFFOKPON, A.; COOSEMANS, J. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 against root knot nematodes in tomato under greenhouse conditions. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v. 72, p. 209–213, 2007.

LI, D. M.; de HOOG, G. S.; SAUNTE, D. M.; VAN DEN ENDE, A. H.; CHEN, X. R. *Coniosporium epidermidis* sp. nov., a new species from human skin. **Studies in mycology**, v. 61, p. 131-136, 2008.

LI, D. M.; LI, R. Y.; DE HOOG, G.S.; WANG, Y. X.; WANG, D. L. *Exophiala asiatica*, a new species from a fatal case in China. **Medical Mycology**, v. 47, n. 1, p. 101-109, 2009.

LIAN, X.; de HOOG, G. S. Indoor wet cells harbour melanized agents of cutaneous infection. **Medical Mycology**, v. 48, n. 4, p. 622-628, 2010.

LUANGSA-ARD, J. J.; HOUBRAKEN, J.; VAN DOORN, T.; HONG, S. B.; BORMAN, A. M.; HYWELJONES, N. L.; SAMSOM, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, v. 321, n. 2, p. 141-149, 2011.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock /Michael T.12^a**. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MATOS, T.; de HOOG, G. S.; DE BOER, A. G.; DE CROM, I.; HAASE, G. High prevalence of the neurotrope *Exophiala dermatitidis* and related oligotrophic black yeasts in sauna facilities. **Mycoses**, v. 45, p. 373-377, 2002.

MEDICINENET. **Definition of pleomorphic**. Disponível em <<http://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=4943>> Acesso em 13 ago. 2015.

MILCU, A.; PARTSCH, S.; LANGEL, R.; SCHEU, S. The response of decomposers (earthworms, springtails and microorganisms) to variations in species and functional group diversity of plants. **Oikos**, v. 112, p. 513-524, 2006.

MUELLER, U.G.; SCHULTZ, T.R.; CURRIE, C.R.; ADAMS, R.M.M.; MALLOCH, D. The Origin of the Attine Ant-Fungus Mutualism. **The Quarterly Review of Biology**, v.76, n.2, 2001.

NETEA, M. G.; FERWERDA, B.; FERWERDA, G.; PLANTINGA, T. S.; WILMENT, J. A.; VAN SPRIEL, A. B.; VENSELAAR, H.; ELBERS, C. C.; JOHNSON, M. D.; CAMBI, A.; HUYSAMEN, C.; JACOBS, L.; JANSEN, T.; VERHEIJEN, K.; MASTHOFF, L.; MORRÉ, S. A.; VRIEND, G.; WILLIAMS, D. L.; PERFECT, J. R.; JOOSTEN, L. A. B.; WIJMENGA, C.; VAN DER MEER, J. W. M.; ADEMA, G. J.; KULLBERG, B. J.; BROWN, G. D. Human Dectin-1 Deficiency and Mucocutaneous Fungal Infections. **The New England Journal of Medicine**, v. 361, p. 1760-1767, 2009.

OMAFUVBE, B. O.; SHONUKAN, O. O.; ABIOSE, S. H. Microbiological and biochemical changes in the traditional fermentation of soybean for 'soy-daddawa' — Nigerian food condiment. **Food Microbiology**, v. 17, p. 469-474, 2000.

PAGNOCCA, F.C.; RODRIGUES, A.; NAGAMOTO, N.S.; BACCI Jr, M. Yeast and filamentous fungi carried by the gynes of leaf-cutting ants. **Antonie Leeuwenhoek**, v.94, p.517-526, 2008.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. 3. ed. Dordrecht: Springer, 2009.

PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; SUMMERBELL, R.C.; de HOOG, G.S. Fungi growing on aromatic hydrocarbons: biotechnology's unexpected encounter with biohazard. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS)**, v.30, p.109– 130, 2006.

REDE BRASILEIRA DE FUNGOS MELANIZADOS. **Cromoblastomycose**. Disponível em <<http://www.prppg.ufpr.br/redefungos/cromblastomycose.html>> Acesso em 13 ago. 2015.

RIBEIRO, S. A. L.; CAVALCANTI, M. A. Q.; FERNANDES, M. J. S.; LIMA, D. M. M. Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializados em Recife, Pernambuco. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p. 223-229, 2003.

RODRIGUEZ, R.; REDMAN, R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, p. 1109-1114, 2007.

RUSCHE-SKOLARUS L. E.; LUCEY B. P.; VO K. D.; SNIDER B. J. Transient encephalopathy in a postoperative non-alcoholic female with Marchiafava-Bignami disease. **Clinical neurology and neurosurgery**, v. 109, n. 8, p. 713-715, 2007.

SAMPAIO, J. P.; GADANHO, M.; SANTOS, S.; DUARTE, F. L.; PAIS, C.; FONSECA, A.; FELL, J. W. Polyphasic taxonomy of the basidiomycetous yeasts genus *Rhodosporidium*: *Rhodosporidium kratochvilovae* and related anamorphic species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology Reading**, n. 51, p. 687-697, 2001.

SATOW, M. M. **Avaliação do método de Iwatsu et al., (1981) para isolamento de leveduras negras do solo, degradadoras de hidrocarbonetos**. 2008. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.

SELBMANN, L.; de HOOG, G. S.; MAZZAGLIA, A.; FRIEDMANN, E. I.; ONOFRI, S. Fungi at the edge of life: cryptoendolithic black fungi from Antarctic desert. **Studies in Mycology**, v. 51, p. 1-32, 2005.

STERFLINGER, K. Black Yeasts and Meristematic Fungi: Ecology, Diversity and Identification. **The Yeast Handbook**, p. 501-514, 2006.

STERFLINGER, KATJA. Black yeasts and meristematic fungi: ecology, diversity and identification. **Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts**, p. 501-514, 2006.

SUDHADHAM, M.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; SIHANONTH, P.; SIVICHAI, S.; CHAIYARAT, R.; MENKEN, S.B.J.; VAN BELKUM, A.; de HOOG, G.S. Elucidation of distribution patterns and possible infection routes of the neurotropic black yeast *Exophiala dermatitidis* using AFLP. **Fungal Biology**, v.115, p.1051-1065, 2011.

SUDHADHAM, M.; PRAKITSIN, S.; SIVICHAI, S.; CHAIYARAT, R.; DORRESTEIN, G. M.; MENKEN, S. B.; DE HOOG, G. S. The neurotropic black yeast *Exophiala dermatitidis* has a possible origin in the tropical rain forest. **Studies in mycology**, v. 61, p. 145-155, 2008.

SUH, S.-O.; McHUGH, J.V.; POLLOCK, D.D.; BLACKWELL, M. The beetle gut: a hyperdiverse source of novel yeasts. **Mycological Research**, v.109, n.3, p.261-265, 2005.

TUON, F. F.; COSTA, S. F. *Rhodotorula* infection. A systematic review of 128 cases from literature. **Revista iberoamericana de micologia**, v. 25, n. 3, p. 135-140, 2008.

VICENTE, V.A.; ATTILI-ANGELIS, D.; PIE, M.R.; QUEIROZ-TELLES, F.; CRUZ, L.M.; NAJAFZADEH, M.J.; de HOOG, G.S.; ZHAO, J.; PIZZIRANI-KLEINER, A. Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection. **Studies in mycology**, v.61, n.1, p.137-144, 2008.

WONG, J. S.; SCHOUSBOE, M. I.; METCALF, S. S.; ENDRE, Z. H.; HEGARTY, J. M.; MAZE, M. J.; KEITH, E. R.; SEAWARD, L. M.; PODMORE, R. G. *Ochroconis gallopava* peritonitis in a cardiac transplant patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Transplant Infectious Disease**, v. 12, p. 455–458, 2010.

YARITA, K.; SANO, A.; MURATA, Y.; TAKAYAMA, A.; TAKAHASHI, Y.; TAKAHASHI, H.; YAGUCHI, T.; OHORI, A.; KAMEI, K.; MIYAJI, M.; NISHIMURA, K. Pathogenicity of *Ochroconis gallopava* isolated from hot spring in Japan and a review of published reports. **Mycopathologia**, v.64, p. 135–147, 2007.

ZADRAZIL, FRANTISEK; PUNIYA, ANIL KUMAR. Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi. **Bioresource Technology**, v. 54, p. 85-87, 1995.

ZALAR, P.; NOVAK, M.; DE HOOG, G. S.; GUNDE-CIMERMAN, N. Dishwashers: a man-made ecological niche accommodating human opportunistic fungal pathogens. **Fungal Biology**, v. 115, p. 997-1007, 2011.

ZHAO, J.; ZENG, J.; de HOOG, G.S.; ATTILI-ANGELIS, D.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X. Isolation and identification of black yeasts by enrichment on atmospheres of monoaromatic hydrocarbons. **Microbial ecology**, v.60, p.149-156, 2010.