

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ISABELLE CRISTINA LOPES DA SILVA

PERFIL ENZIMÁTICO DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea*
RELACIONADOS A DOENÇA CROMOBLASTOMICOSE

CURITIBA

2020

ISABELLE CRISTINA LOPES DA SILVA

PERFIL ENZIMÁTICO DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea*
RELACIONADOS A DOENÇA CROMOBLASTOMICOSE

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Vânia Aparecida Vicente

Coorientador: Prof. Dr. Diogo Robl

CURITIBA

2020

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Silva, Isabelle Cristina Lopes da
Perfil enzimático das linhagens do gênero *Fonsecaea* relacionados a
doença cromoblastomicose. / Isabelle Cristina Lopes da Silva. – Curitiba,
2020.

176 p.: il.

Orientadora: Vânia Aparecida Vicente

Coorientador: Diogo Robl

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia,
Parasitologia e Patologia.

1. Leveduras. 2. Ascomiceto. 3. Cromoblastomicose. 4. Enzimas.
4. Virulência (Microbiologia) 5. Ecologia. I. Título. II. Vicente, Vânia
Aparecida. III. Diogo Robl. IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia,
Parasitologia e Patologia.

CDD (22. ed.) 579.5



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MICROBIOLOGIA,
PARASITOLOGIA E PATOLOGIA - 40001016044P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ISABELLE CRISTINA LOPES DA SILVA** intitulada: **Perfil enzimático das linhagens do gênero *Fonsecaea* relacionados a doença cromoblastomicose**, sob orientação da Profa. Dra. VANIA APARECIDA VICENTE, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 05 de Junho de 2020.

Assinatura Eletrônica

08/06/2020 18:27:28.0

VANIA APARECIDA VICENTE

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

11/06/2020 20:59:06.0

MARIANA MACHADO FIDELIS DO NASCIMENTO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

12/06/2020 11:18:17.0

RENATA RODRIGUES GOMES

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Centro Politécnico - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-1695 - E-mail: posmpp@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 43130

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 43130

Aos meus pais, Ulisses e Simone.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e pelas oportunidades que me deu até aqui.

A Universidade Federal do Paraná (UFPR) e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia (PPGMPP) pelos ensinamentos ao longo desse tempo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Aos meus orientadores Profa. Dra. Vânia Aparecida Vicente e Prof. Dr. Diogo Robl, pela orientação, oportunidade, incentivo e por toda confiança e atenção neste período.

A Dra. Conceição de Maria Pedrozo e Silva de Azevedo pelo envio do coco babaçu, contribuindo para a realização dos ensaios enzimáticos.

As alunas Rafaela, Beatriz e Aline da UFSC orientadas do Dr. Diogo Robl, pelos ensinamentos nos testes enzimáticos e por me acolher no laboratório.

A Profa. Dra. Juliana F. de Moura, Profa. Dra. Larissa M. Alvarenga e seus alunos (LIMQ) por permitirem e auxiliarem no uso dos equipamentos que foram utilizados para realizar os testes deste trabalho.

Também sou muito grata aos amigos do Labmicro em especial Morgana e Jason pela amizade, carinho, companheirismo e por tornarem os dias mais leves.

Aos amigos maravilhosos que a vida me trouxe durante esses anos, vocês sempre me apoiaram e me incentivaram apesar de estarem distantes.

A minha família, Ulisses Rogério da Silva, Simone Boava Lopes da Silva e João Victor Lopes da Silva por sempre me apoiarem e incentivarem os meus propósitos de vida.

Ao meu namorado, Luis Felipe Tavares da Rocha, por toda paciência, apoio, companheirismo ao longo destes anos, especialmente durante este período.

Muito obrigada!

Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade.

Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível.

(Charles Chaplin)

RESUMO

As leveduras negras são fungos ascomicetos pigmentados de desenvolvimento lento que ocupam diversos nichos ecológicos nos ecossistemas. Estes fungos estão presentes no ambiente como sapróbios, enquanto que algumas espécies são agentes etiológicos de diversas infecções em hospedeiros animais. As espécies com relevância clínica estão taxonomicamente acomodadas na ordem Chaetothyriales dentro da família Herpotrichiellaceae, reunindo entre outros agentes causais da doença cromoblastomicose uma micose que apresenta lesões cutâneas, subcutâneas ou disseminadas, caracterizada pela presença de corpos muriformes no tecido do hospedeiro. Estudos genômicos realizados com as leveduras negras pertencentes à ordem Chaetothyriales demonstram a existência de genes que codificam enzimas hidrolíticas e oxidativas associadas à patogenicidade e a ecologia. Neste contexto, o objetivo principal deste estudo foi avaliar o perfil enzimático das diferentes linhagens de *Fonsecaea* ambientais e clínicas visando elucidar mecanismos de virulência e ecologia das espécies. Foi realizado o cultivo das linhagens do gênero *Fonsecaea* em condições similares as apresentadas no meio ambiente e no hospedeiro humano e animal, foi quantificado a atividade enzimáticas das enzimas lacase, protease, lipase e pectinase utilizando ferramentas estatísticas ($p < 0,05$). Sendo observado que as linhagens apresentam diferentes perfis enzimáticos, com destaque para *F. pedrosoi* que obteve a maior produção de lacase, lipase, protease no meio BHI evidenciando a patogenicidade da espécie, mas também foi demonstrado produção de pectinase no meio coco babaçu justificando assim sua presença da espécie em tecidos vegetais. No meio lignocelulósico foi observado maior produção de protease, lipase e lacase pelas linhagens de origem clínica *F. brasiliensis* e *F. multimorphosa* e de origem ambiental *F. monophora* e *F. erecta* evidenciando assim uma natureza oportunista. Além disso, verificou-se que a composição do meio de cultivo pode regular a produção enzimática. Esses dados concluem que os fungos dematiáceos são capazes de degradar substratos vegetais e animais, demonstrando que espécies da ordem Chaetothyriales podem colonizar nichos ambientais e hospedeiros animais e que leveduras negras do gênero *Fonsecaea* apresentam diferentes perfis enzimáticos, os quais podem estar associados à ecologia e o potencial de virulência dessas espécies.

Palavras-chave: Leveduras negras; Cromoblastomicose; *Fonsecaea* sp.; Enzimas hidrolíticas; Ecologia; Fator de virulência.

ABSTRACT

Black yeast are melanized ascomycetous fungi, present in many ecological niches and ecosystems. The species associated human and animal infections belong to the Chaetothyriales order, Herpotrichiellaceae family. Chromoblastomycosis is a neglected disease characterized by cutaneous, subcutaneous or disseminated lesions, characterized by the presence of muriform cells in the host tissue. The major etiological agent of chromoblastomycosis is *Fonsecaea pedrosoi*. Genomic studies of black yeast belong to the Chaetothyriales, observed the presence of genes that encode enzymes associated with pathogenic and the adaptation of ecological niches of these fungi. In this context, this study aim to evaluate the enzymatic profile of the different environmental and clinical strains of *Fonsecaea* in order to elucidate mechanisms of virulence, ecology and enzymatic biotechnological application of the species. To elucidate this, the strains were cultivation in lignolytic substrates and conditions similar to the host and enzymatic tests were done for enzymes laccase, lipase, protease and pectinase using statistical tools ($p < 0.05$). It being observed that the strains present different enzymatic profiles, with emphasis on *F. pedrosoi*, which obtained the highest production of laccase, lipase, protease in BHI medium, showing the pathogenicity of the species, but also demonstrated the production of pectinase in the babassu coconut medium, thus justifying its presence of the species in plant tissues. In the lignocellulosic environment, a greater production of protease, lipase and laccase was observed by the lines of clinical origin *F. brasiliensis* and *F. multimorphosa* and of environmental origin *F. monophora* and *F. erecta*, thus showing an opportunistic nature. In addition, it was found that the composition of the culture medium regulate enzyme production. These data conclude that dematiaceous fungi are capable of degrading plant and animal substrates, demonstrating that species of the order Chaetothyriales can colonize environmental niches and animal hosts and that black yeasts of the genus *Fonsecaea* have different enzymatic profiles, which may be associated with ecology and the virulence potential of these species.

Keywords: Black yeast; Chromoblastomycosis; *Fonsecaea* sp.; Hidrolytic enzymes; Ecology; Virulence factor.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1- Aspectos clínicos da Cromoblastomicose	24
Figura 2- Biossíntese da melanina	27
Figura 3- Estruturas de virulência em modelos experimentais e humanos	28
Figura 4- Morfologia das espécies do gênero <i>Fonsecaea</i>	33
Figura 5- Reações catalisadas por lipases em soluções aquosas e não aquosas	41
Figura 6- Organização da estrutura da parede celular vegetal	44

CAPÍTULO II

Figura 7- Cultivo submerso das linhagens do gênero <i>Fonsecaea</i> em caldo BHI	87
Figura 8- Cultivo submerso das linhagens do gênero <i>Fonsecaea</i> em meio líquido com coco babaçu	88
Figura 9 - Proteínas totais das linhagens do gênero <i>Fonsecaea</i> nos meios de cultivo BHI e CB	89
Figura 10- Produção de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero <i>Fonsecaea</i> nos meios de cultivo BHI e CB	91
Figura 11- Produção de lipase (U/mg) das linhagens do gênero <i>Fonsecaea</i> nos meios de cultivo BHI e CB	93
Figura 12- Produção de lacase (u/mg) das linhagens do gênero <i>Fonsecaea</i> nos meios de cultivo BHI E CB	95
Figura 13- Produção de pectinase (u/mg) das linhagens do gênero <i>Fonsecaea</i> nos meios de cultivo BHI E CB	97

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1- Linhagens clínicas e ambientais do gênero <i>Fonsecaea</i>	82
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBM	-	Cromoblastomicose
et al.	-	Colaboradores
EPIs	-	Equipamento de proteção individual
pH	-	Potencial Hidrogeniônico
PKS	-	Policetídeo sintase
IgM	-	Imunoglobulinas M
CoA	-	Coenzima
UV	-	Ultravioleta
HPAs	-	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
EC	-	Enzymes Commission
ABTS	-	Ácido 2,2' - azino-bis (3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
STB	-	Septoria tritici blotch
CMRP	-	Coleções Microbiológicas da Rede Paranaense
CBS	-	Westerdijk Fungal Biodiversity Institute
ATCC	-	American Type Culture Collection
BHI	-	Brain Heart Infusion
DNS	-	Dinitrosalícílico
pNPP	-	p-nitrofenol palmitato
pNP	-	p-nitrofenol
IL	-	Índice de atividade de lipase
PCR	-	Polymerase Chain Reaction
DNA	-	Ácido desoxirribonucleico
ITS	-	Internal transcribed spacer
RCA	-	Rolling Circle Amplification
RNA	-	Ácido ribonucleico
NCBI	-	National Center for Biotechnology Information
sp.	-	Espécie
CB	-	Meio Coco babaçu

LISTA DE SÍMBOLOS

®	-	Marca registrada
β	-	Beta
α	-	Alfa
°C	-	Graus celcius
%	-	Porcentagem
μmol	-	micromol
hs	-	horas
rpm	-	Rotação por minuto
mL	-	microlitros
G	-	Força gravitacional
min	-	Minutos
U	-	Unidade de atividade enzimática
mg	-	miligrama
μL	-	microlitro
nm	-	nanômetro
mM	-	milimolar
L	-	Litro
M	-	Molar
min	-	minutos
ng	-	nanogramas
g	-	Gramas
kDa	-	quilodalton
ε-	-	Coeficiente de extinção molar

SUMÁRIO

PREFÁCIO	15
CAPÍTULO I :DELINEAMENTO DA DISSERTAÇÃO	16
1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2. OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3. REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1 LEVEDURAS NEGRAS.....	22
3.1.1 Importância clínica da ordem Chaetothyriales	23
3.1.2 Fatores de virulência.....	25
3.2 ASPECTOS ECOLÓGICOS E MOLECULARES DAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Fonsecaea</i>	31
3.3 ENZIMAS FÚNGICAS: ECOLOGIA, PATOGENICIDADE E APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA	38
3.3.1 Protease	39
3.3.2 Lipase	41
3.3.3 Enzimas lignocelulolíticas	44
3.3.3.1 Celulases e Hemicelulases	46
3.3.3.2 Pectinases	47
3.3.3.3 Lacases	49
3.3.4 Regulação da expressão gênica e metabólica na produção de enzimas fúngicas	51
CAPÍTULO II: PERFIL ENZIMÁTICO DAS LINHAGENS DO GENÊRO <i>Fonsecaea</i> RELACIONADOS À DOENÇA CROMOBLASTOMICOSE	75
RESUMO	77
ABSTRACT	78
1 INTRODUÇÃO	79
2 MATERIAIS E MÉTODOS	82
2.1 LINHAGENS ESTUDADAS	82
2.2 MATÉRIA PRIMA	82
2.3 MEIOS DE CULTIVO	83
2.4 PRODUÇÃO DO EXTRATO ENZIMÁTICO	83

2.5 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS	84
2.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA	84
2.6.1 Protease	85
2.6.2 Lipase	85
2.6.3 Lacase	86
2.6.4 Pectinase	86
3 RESULTADOS	87
3.1 CULTIVO SUBMERSO E PROTEÍNA TOTAL	87
3.2 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PROTEASE	90
3.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LIPASE	92
3.4 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LACASE	94
3.5 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PECTINASE	96
4 DISCUSSÃO	99
5 CONCLUSÃO	103
REFERÊNCIAS	104
CAPÍTULO III- CONSIDERAÇÕES FINAIS	109
CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	110
REFERÊNCIAS	111
APÊNDICE 1 - REAGENTES UTILIZADOS	136
APÊNDICE 2 - DADOS ESTATÍSTICOS	139

PREFÁCIO

Este estudo foi dividido em três capítulos distintos.

O Capítulo I consiste no delineamento da dissertação, incluindo uma introdução geral, com detalhamento dos objetivos propostos para esse estudo, bem como uma revisão de literatura que aborda os principais aspectos sobre leveduras negras, cromoblastomicose e epidemiologia da doença e os fatores de virulência associados à doença. Nesta revisão também são abordados tópicos como papel das enzimas na patogenicidade e na ecologia deste grupo de fungos.

No Capítulo II é detalhado a análise da atividade enzimática das leveduras negras pertencentes ao gênero *Fonsecaea* de origem ambiental e clínica.

No Capítulo III encontram-se as considerações gerais e perspectivas futuras deste estudo.

CAPÍTULO I :DELINEAMENTO DA DISSERTAÇÃO

1 INTRODUÇÃO GERAL

As leveduras negras são fungos heterogêneos do filo Ascomycota, classificados na ordem Chaetothyriales, no qual apresentam crescimento lento e coloração negra devido à presença de melanina nas células vegetativas e reprodutivas (DE HOOG et al., 2000). E estão amplamente distribuídas no como sapróbios, enquanto que algumas espécies são agentes etiológicos de diversas infecções em hospedeiros humanos e animais como a Cromoblastomicose, Micetoma e Feohifomicose (WALKER; MCGINNIS, 2014; SEYEDMOUSAVI et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2017).

A cromoblastomicose (CBM) é uma micose de implantação causada por traumas associados com material de origem vegetal, levando a uma hiperproliferação do fungo no tecido subcutâneo do hospedeiro, devido à formação de corpos muriformes, descritas como estruturas multiseptadas e extremamente pigmentada, que resistem à resposta imune do hospedeiro garantindo a sobrevivência do agente no tecido do hospedeiro e consequentemente o estabelecimento da doença (QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

Para diagnosticar a doença são utilizadas técnicas como microscopia direta, cultura, exame histopatológico e análise molecular (ANDRADE et al., 2007; QUEIROZ-TELLES et al., 2017), enquanto que o tratamento é através da administração de antifúngicos por um longo período, às vezes é necessário combinar outras terapias como cirurgia ou quimioterapia (SANTOS et al., 2007; BONIFAZ; VÁZQUEZGONZÁLEZ; PERUSQUÍA-ORTIZ, 2010; QUEIROZ-TELLES; SANTOS, 2012; QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

Os principais agentes etiológicos causadores dessa doença são leveduras negras dos gêneros *Cladophialophora*, *Exophiala*, *Fonsecaea*, *Phialophora* e *Rhinocladiella*, os quais são filogeneticamente reunidos na família Herpotrichiellaceae (QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

As principais espécies dos gêneros *Cladophialophora* e *Fonsecaea* são distribuídas em duas clades filogenéticas: “carrioni” e “bantiana”. Na clade carrioni a principal espécie é a *Cladophialophora carrioni*, agente etiológico da doença cromoblastomicose, amplamente encontrada na América Central (GONZÁLES et al., 2013), cuja infecção está associada ao trauma com espinhos da planta cactos (*Stenocereus* sp.). A clade bantiana reúne espécies associadas a infecções fúngicas,

dos quais os hospedeiros podem ser animais e humanos, assim como, espécies ambientais que ainda não foram relacionadas com infecções em hospedeiros animais (VICENTE et al., 2013). Dentro desta clade as espécies do gênero *Fonsecaea* formam um grupamento reunindo os principais agentes da cromoblastomicose, como as espécies crípticas *F. pedrosoi*, *F. monophora*, *F. nubica* e a recentemente descrita *F. pugnacius* (NIMRICHER et al., 2005; VICENTE et al., 2013 AZEVEDO et al., 2015; QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

Apesar de causarem a mesma doença, há uma diferenciação quanto a disseminação no tecido, *F. pedrosoi* e *F. nubica* causam apenas infecção subcutânea (DE HOOG et al., 2004; NAJAFZADEH et al., 2010a), enquanto que *F. monophora* e a *F. pugnacius* causam também infecção sistêmica (DE HOOG et al., 2004; NAJAFZADEH et al., 2010b; AZEVEDO et al., 2015). As espécies que possuem como hospedeiro principal os animais são *F. multimorphosa* e *F. brasiliensis* que causam infecção disseminada em gatos e em caranguejos (NAJAFZADEH et al., 2011b; VICENTE et al., 2012). Ainda dentro deste gênero existem espécies de origem ambiental, como *F. erecta* e *F. minima*, as quais foram isoladas de plantas vivas (VICENTE et al., 2013).

Um dos principais fatores de virulência verificado nas leveduras negras é a presença de melanina na parede celular das células vegetativas e reprodutivas (TEIXEIRA et al., 2017; SEYEDMOUSAVI et al., 2014). Este pigmento confere resistência à célula fúngica contra as células do sistema imune do hospedeiro, pois reduz a fagocitose, protege contra derivados de oxigênio e nitrogênio e enzimas hidrolíticas (JACOBSON, 2000; NOSANCHUK; CASADEVALL, 2003). As melaninas fúngicas são formadas pela oxidação de diversos compostos fenólicos realizados pelas fenoloxidades que são divididas em dois subgrupos as lacases e tirosinases que são enzimas secretadas pelo metabolismo secundário de vários fungos (FENG et al., 2012; MORENO et al., 2017). As leveduras negras também são capazes de crescer em ambientes ricos em hidrocarbonetos aromáticos e também de assimilar esses componentes, demonstrando um grande potencial para biorremediação de poluentes e locais contaminados com compostos aromáticos (SANTOS et al., 2007; BADALI et al., 2008; SEYEDMOUSAVI et al., 2014; BLASI et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2017). Tal habilidade pode explicar a afinidade de algumas espécies de migrarem para o sistema nervoso central dos hospedeiros que possuem compostos aromáticos de

carbono similares aos encontrados nos derivados de petróleo, tais como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (PRENAFRETA- BOLDÚ et al., 2019).

Outro importante fator de virulência descrito nos fungos dematiáceos seria a termotolerância que está relacionado com a temperatura máxima de crescimento destes fungos e a capacidade de tolerar a temperatura corporal do hospedeiro, sendo assim uma condição essencial para a patogenicidade (DE HOOG et al., 2011).

Os fungos filamentosos patogênicos utilizam as enzimas para degradar as barreiras estruturais dos hospedeiros, sendo assim considerado um importante fator de virulência (MONOD et al., 2002). Diante disso, enzimas hidrolíticas como protease, lipase, glucanase entre outras, são produzidas por essa classe de fungos para facilitar a invasão do patógeno no tecido do hospedeiro e eliminar alguns mecanismos de defesa do sistema imunológico (SABANERO LÓPEZ et al., 2017). A literatura relata a produção de enzimas proteolíticas extracelulares produzidas por *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* assim como a associação destas com o processo de infecção fúngica no hospedeiro (NAGLIK et al., 2003; CHEN et al., 2010).

No estudo de Sabanero López e colaboradores (2017) evidenciaram a atividade proteolítica em *Sporothrix schenckii*, permitindo a colonização do patógeno no epitélio do hospedeiro, a partir da hidrólise de proteínas estruturais como colágeno e elastina. Hansakon e autores (2019) demonstraram que a presença de lacase em *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, é capaz de modular a resposta dos macrófagos e células T do sistema imunológico do hospedeiro, promovendo o crescimento do fungo nas células alveolares e disseminação do fungo para o cérebro.

Além disso, estudos genômicos realizados com as leveduras negras pertencentes à ordem Chaetothyriales demonstram a existência de genes que codificam enzimas hidrolíticas e oxidativas associadas à patogenicidade e a adaptação de nichos ecológicos desses fungos (MORENO et al., 2018; ALTENHOFF et al., 2019;). No estudo de Vicente et al. (2017) foi observado a presença de genes que codificam enzimas envolvidas na biossíntese da melanina como as lacases, peroxidases e também enzimas degradadoras de polissacarídeos como pectina, celulose e hemicelulose que estão presentes no material vegetal.

Além disso, as enzimas fúngicas possuem uma ampla aplicação na indústria em diversos setores entre estes a indústria têxtil, alimentícia, farmacêutica e cosméticos, de couro, efluentes e agroquímicos entre outros (BHAT et al, 2000). As

lacases fúngicas tem sido utilizada em diversos processos industriais como a deslignificação e branqueamento da polpa lignocelulítica, degradação de corantes e fibras na indústria têxtil, remoção enzimática de compostos fenólicos de bebidas, biorremediação e desintoxicação de poluentes aromáticos, devido à capacidade de oxidar diversos substratos orgânicos e inorgânicos (RODRÍGUEZ- COUTO, 2019). As proteases fúngicas são amplamente utilizadas na indústria de alimentos modificando as características físicas- químicas e sensoriais dos alimentos, na indústria farmacêutica destaca-se o uso de collagenases em produtos estéticos e em procedimentos médicos de remoção de manchas ou queimadura (DA SILVA, 2017). As lipases fúngicas podem contribuir extensivamente para o crescimento da indústria de bioprocessos, devido à capacidade de catalisar reações envolvidas no bioprocessamento de matérias-primas ou síntese de produtos químicos orgânicos (MALDONADO et al., 2014). Diante disso, essas enzimas são utilizadas na indústria de alimentos para a remoção de gorduras de carnes, degomação de óleos vegetais, produção de sucos de frutas, no tratamento de águas residuais ou efluentes e também catalisam reações de transesterificação de óleos vegetais para a produção de biodiesel (SARMAH et al., 2017).

Assim, dentro deste contexto, tem-se como hipótese principal deste trabalho que fungos negros apresentam diferentes perfis enzimáticos, os quais devem ser devidamente elucidados e desta forma objetiva-se estabelecer com base na produção enzimática, o perfil ecológico das espécies e elucidar sua capacidade de colonização em hospedeiros vegetais e animais, visando aprofundar o entendimento entre o meio ambiente e a implantação no tecido dos hospedeiros animais.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil enzimático das diferentes linhagens de *Fonsecaea* ambientais e clínicas visando elucidar mecanismos de virulência, ecologia e aplicação biotecnológica enzimática das espécies.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir enzimas proteolíticas, glicohidrolíticas e oxidativas a partir das linhagens clínicas e ambientais de *Fonsecaea*;
- Quantificar a atividade enzimática das linhagens de *Fonsecaea* cultivadas em substratos lignocelulósicos;
- Quantificar a atividade enzimática das linhagens de *Fonsecaea* cultivada em condições que se assemelham ao hospedeiro animal;
- Correlacionar o perfil enzimático das linhagens de *Fonsecaea* cultivadas em condições que se assemelham ao meio ambiente e ao hospedeiro animal.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 LEVEDURAS NEGRAS

As leveduras negras são fungos heterogêneos do filo Ascomycota pertencentes às ordens Dothideales e Chaetothyriales (TEIXEIRA et al., 2017). Esses fungos possuem uma variação ecológica complexa, sendo encontrados em condições adversas e extremas, como superfícies rochosas, nichos tóxicos, mas algumas espécies são consideradas como patógenos oportunistas (VICENTE et al., 2017). Os fungos dematiáceos recebem essa denominação devido à presença de pigmento escuro, a melanina na parede celular das células vegetativas e reprodutivas e também são capazes de produzir células leveduriformes melanizadas, durante uma parte do seu ciclo de vida (DE HOOG et al., 2000).

Estes agentes estão distribuídos mundialmente, sendo encontrados em regiões de clima tropical, semi-árido e até mesmo em regiões glaciais (NASCIMENTO et al., 2017). Estas leveduras são organismos oligotróficos pelo fato de se desenvolverem em condições extremas como altas temperaturas, radiação ultravioleta, estresse osmótico, baixa concentração de nutrientes entre outros (NASCIMENTO, 2013; TEIXEIRA et al., 2017).

As leveduras negras pertencentes à ordem Dothideales possuem uma habilidade adaptativa de sobreviver em condições ambientais hostis (NIMRICHTER et al., 2005; TORRES-GUERRERO et al., 2012; SEYEDMOUSAVI et al., 2013; WALKER, MCGINNIS; 2014), enquanto que os membros da ordem Chaetothyriales são agentes etiológicos de diversas infecções em hospedeiros humanos como a Cromoblastomicose, uma infecção subcutânea e crônica, caracterizada pela presença de corpos muriformes; Micetoma, uma infecção dos tecidos profundos, presença de grânulos micóticos e Feohifomicose, presença de hifas septadas e estruturas de reprodução de coloração escura, no tecido do hospedeiro (SEYEDMOUSAVI et al., 2014; WALKER; MCGINNIS, 2014; TEIXEIRA et al., 2017).

No que diz respeito à ordem Chaetothyriales, esta reúne organismos sapróbios e patógenos oportunistas, sendo as espécies de maior importância clínica pertencem à família Herpotrichiellaceae. As principais espécies clínicas desta família são dos gêneros *Exophiala*, *Cladophialophora*, *Cyphellophora*, *Fonsecaea*, *Phialophora* e *Rhinochlamydia* (TEIXEIRA et al., 2017), as quais apresentam ecologia

dupla demonstrando um potencial biotecnológico na degradação de hidrocarbonetos e um perfil patogênico quando associado a um hospedeiro (SEYEDMOUSAVI et al., 2014; BLASI et al., 2017). A presença de caroteno, paredes espessas, diferenciação em células muriformes, fase leveduriforme, presença de melanina, assimilação de hidrocarbonetos aromáticos esses são alguns dos fatores de virulência importantes dos fungos deste grupo (WALKER; MCGINNIS; 2014; VICENTE et al., 2017).

3.1.1 Importância clínica da ordem Chaetothyriales

Os fungos negros pertencentes à ordem Chaetothyriales são agentes etiológicos de micoses em humanos como micetoma, caracterizada pela presença de grânulos negros com hifas distorcidas; feohifomicose, no qual a infecção ocorre de forma superficial até sistêmica, observa-se a presença de hifas e estruturas de reprodução de coloração escura no tecido do hospedeiro e a cromoblastomicose que é uma infecção subcutânea ou cutânea crônica, caracterizada pela presença de corpos muriformes (HAY; ASHBEE, 2016; QUEIROZ-TELLES et al., 2017b; TEIXEIRA et al., 2017).

Os fungos dematiáceos geralmente causam infecções subcutânea ou cutânea localizada, mas algumas espécies como *Exophiala dermatitidis* possuem a capacidade de alternar entre o crescimento hifal em condições hidrofóbicas e leveduriforme em condições hidrofílicas, esta estratégia facilita a disseminação hematogênica do fungo no hospedeiro humano (DE HOOG et al., 2014; BORAL et al., 2018). Essa habilidade também é observada nas espécies *F. pugnacius* e *F. monophora* que são agentes causais da cromoblastomicose, no qual a infecção ocorre a partir de um trauma no tecido do hospedeiro podendo se disseminar para alguns órgãos como o cérebro (DE AZEVEDO et al., 2015).

As espécies de levedura negra associadas à cromoblastomicose são prevalentemente dos gêneros *Cladophialophora*, *Phialophora* e *Fonsecaea*, a doença se desenvolve a partir da implantação dos agentes etiológicos no tecido do hospedeiro, podendo ou não avançar para os tecidos subcutâneos com uma reação tecidual granulomatosa, purulenta e fibrótica (QUEIROZ-TELLES et al., 2017). Quando o sistema imune do hospedeiro é ativado ocorre à formação dos corpos muriformes, que são estruturas arredondadas acastanhadas, com múltiplos septos de paredes grossas (WALKER; MCGINNIS; 2014). A doença é mais frequente em

regiões tropicais e subtropicais, com maior prevalência nos seguintes países México, Cuba, Venezuela, República Dominicana, Colômbia, Índia, Austrália e Brasil (KRZYŚCIAK; PINDYCKA-PIASZCZYŃSKA; PIASZCZYŃSKI, 2014; QUEIROZ-TELLES, 2015; QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

Os casos desta doença estão fortemente ligados à atividade agrícola, manipulação de resíduos vegetais sem fazer o uso de equipamentos de proteção individual (EPIs), estes fatores favorecem a infecção do fungo através da implantação do material vegetal, sendo que as extremidades inferiores como pés e mãos são frequentemente acometidas (VICENTE et al., 2013; DE AZEVEDO et al., 2015).

As manifestações clínicas da doença são classificadas em leve, moderada e grave, de acordo com o avanço da doença no hospedeiro. As lesões iniciais da cromoblastomicose são geralmente pápulas eritematosas que aumentam gradativamente exibindo morfologias diferenciadas, como nódulos verrucosos, tumores e placas tipo psoríase, podendo ocorrer disseminação para os vasos linfáticos e a complicação mais frequente dessa doença seria a infecção secundária (Figura 1) (SANTOS et al., 2007). Esta doença apresenta um desenvolvimento lento no qual o início da infecção não apresenta sintomas, mas à medida que a doença avança pode ocorrer prurido intenso e dor localizada (QUEIROZ-TELLES, 2015; QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

FIGURA 1- ASPECTOS CLÍNICOS DA CROMOBLASTOMICOSE



LEGENDA: (A) Lesão inicial. (B) Lesões nodulares. (C) Lesão tumoral. (D) Lesão cicatricial. (E) Lesão verrucosa. (F) Lesão em placa atrófica. FONTE: Adaptada de AVELAR-PIRES et al. (2013); BADALI et al. (2008); QUEIROZ-TELLES et al. (2017).

O diagnóstico da doença é realizado por microscopia direta e cultura da lesão ou exame histopatológico buscando corpos muriformes de coloração marrom, com forma arredondada e septos espessos (SANTOS et al., 2007; QUEIROZ-TELLES et al., 2017). Também são utilizadas em laboratórios outras técnicas para diagnosticar a doença como técnicas sorológicas, ensaios intradérmicos, métodos moleculares e genes específicos para identificação das espécies fúngicas (TORRES-GUERRERO et al., 2012; WALKER; MCGINNIS, 2014).

A cromoblastomicose apresenta um baixo índice de cura e uma alta recorrência, principalmente nas infecções severas. Alguns fatores dificultam o tratamento dessa doença entre eles o tamanho, extensão e local da lesão; o agente etiológico; presença de infecções secundárias entre outros (QUEIROZ-TELLES et al., 2017). Diante disso não existe um padrão para o tratamento da cromoblastomicose, mas geralmente para o tratamento é adotado a terapia combinada, ou seja, combinando a administração de antifúngicos sistêmicos com, por exemplo, o Itraconazol e métodos físicos como cirurgia e fototerapia (HEIDRICH et al., 2017; KRZYŚCIAK; PINDYCKA-PIASZCZYŃSKA; PIASZCZYŃSKI, 2014; QUEIROZ-TELLES, 2015).

Os mecanismos de defesa do hospedeiro contra a doença são mediados por células como neutrófilos e macrófagos que realizam o processo fagocítico, porém a melanina impede a destruição efetiva da célula fúngica (FENG; DE HOOG, 2017). Estudos mostram que além dos macrófagos, células de Langerhans e dendrócitos parecem estar envolvidas em menor escala na fagocitose (DA SILVA, 2004; DE AZEVEDO et al., 2015). O papel da imunidade humoral contra a doença ainda não está elucidado, mas sabe-se da presença de anticorpos com ações antimicrobianas direta em pacientes com cromoblastomicose (SANTOS et al., 2007). A resposta humoral é caracterizada pelos altos níveis de anticorpos IgM, que sinalizam o desenvolvimento lento do fungo e a presença de altos níveis de anticorpos anti-melanina, interferindo na ação do sistema complemento (TORRES-GUERRERO et al., 2012).

3.1.2 Fatores de virulência

Os fatores de virulência contribuem para a natureza oportunista dos agentes infecciosos pertencentes à ordem Chaetothyriales (VICENTE et al., 2012). Assim

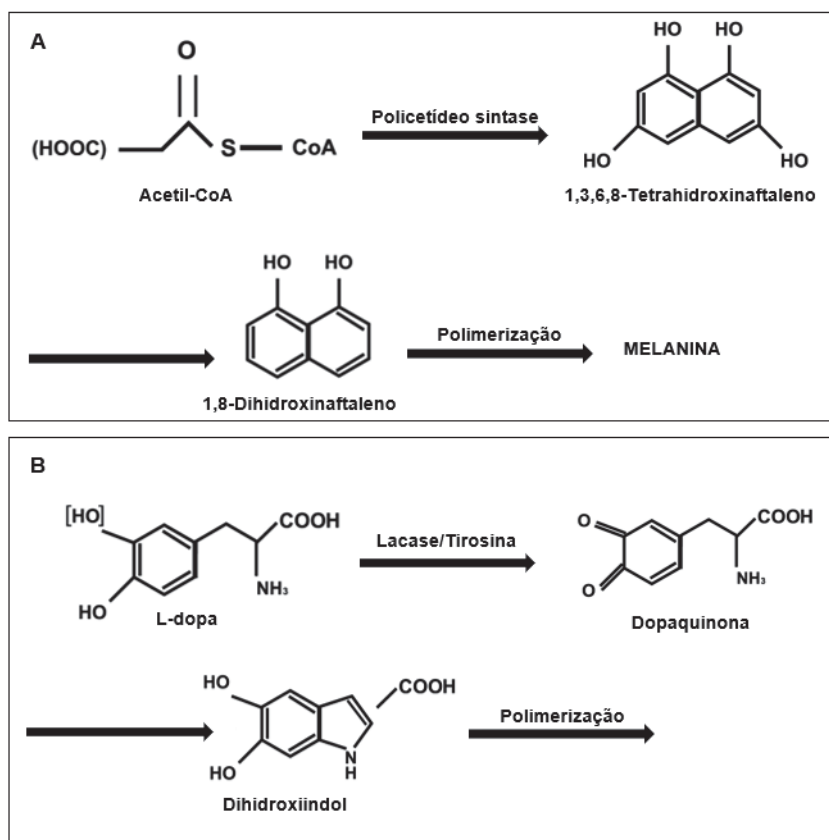
como, permitem que leveduras negras se desenvolvam em temperaturas elevadas, ambientes que apresentem variações de pH e deficiência de nutrientes entre outros (GOSTINCAR, 2011).

Dentre os fatores de virulência das leveduras negras está a presença da melanina na parede celular das células vegetativas e reprodutivas, sendo responsável pela coloração acastanhada característica deste grupo (SEYEDMOUSAVI et al., 2014; QUEIROZ-TELLES et al., 2017; VICENTE et al., 2017). Este pigmento confere resistência às células fúngicas contra as células efectoras do sistema imune, reduzindo a fagocitose; eliminando radicais livres como reativos de oxigênio/nitrogênio e enzimas hidrolíticas (JACOBSON, 2000; NOSANCHUK; CASADEVALL, 2003).

Nos fungos a biossíntese da melanina é realizada através de três vias principais, a via 1,8-dihidroxi-naftaleno (DHN), a via L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-dopa) e a via de degradação da L-tirosina (Figura 2) (BLOIS, 1978; SCHINDLER et al., 2019). A via DHN-melanina foi descrita como a mais frequentemente encontrada em fungos negros e a sua produção está diretamente relacionada com a patogenicidade dos fungos da ordem Chaetothyriales (JB CORDERO; CASADEVALL, 2020). A DHN melanina é uma molécula carregada negativamente, hidrofóbica e de peso molecular elevado, o processo de formação da melanina se dá através de reações de dimerização e polimerização catalisadas por fenoloxidasas, principalmente lacases (SMITH; CASADEVALL, 2019).

Nesta via, a molécula precursora é o acetil coA, no qual é substrato para policetídeo sintase (PKS). Esta reação enzimática gera o produto 1,3,6,8-tetra-hidroxinaftaleno (1,3,6,8-THN) que em seguida através de reações sucessivas de redução e desidratação produzem o composto 1,8-dihidroxinaftaleno (DHN), no qual é a subunidade do polímero melanina. Na via da L-dopa a precursora tirosina ou L-dopa é oxidado pelas enzimas fenoloxidasas, entre elas a tirosina e a lacase. Gerando como produto o composto dopaquinona, que através de diversas reações de oxirredução produzirá di-hidroxiindol, a subunidade do polímero melanina (EISENMAN; CASADEVALL, 2011; SCHINDLER et al., 2019).

FIGURA 2: BIOSSÍNTESE DA MELANINA



LEGENDA: (A) Síntese da melanina a partir da via DHN. (B) Síntese da melanina a partir da via L-dopa e L-tirosina. FONTE: EISENMAN; CASADEVALL (2011); LI et al. (2016).

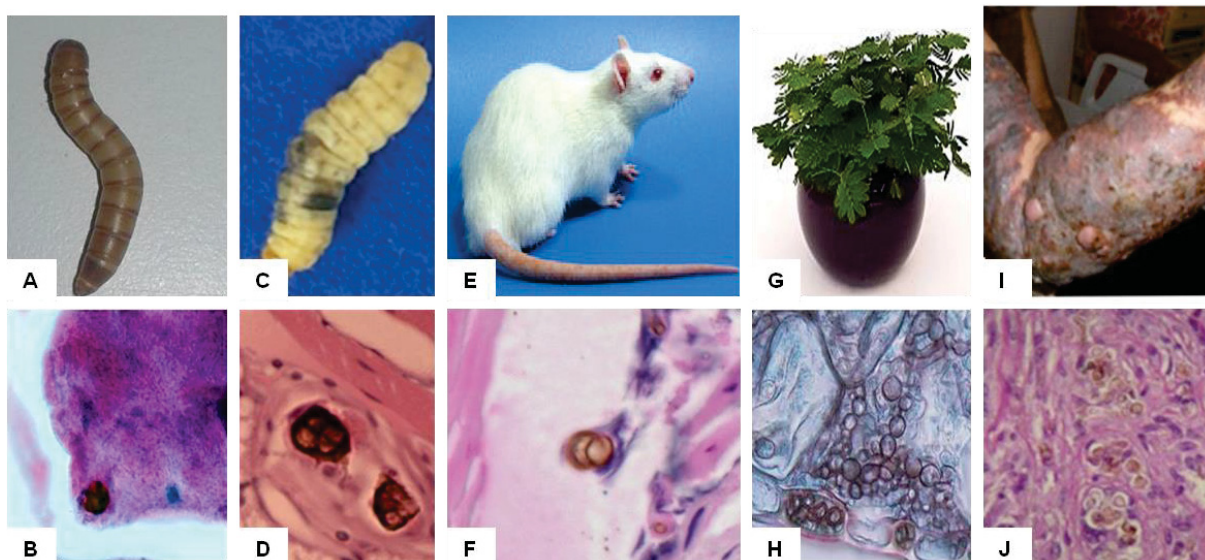
No processo de infecção fúngica a melanina exerce uma função importante, pois está envolvida na diferenciação das células fúngicas em corpos muriformes no tecido do hospedeiro e na proteção contra antifúngicos (VICENTE et al., 2017).

Os corpos muriformes são estruturas acastanhadas, com super deposição de melanina formando septos, apresentam um crescimento meristemático e se formam por meio de uma reação inflamatória purulenta e granulomatosa (SEYEDMOUSAVI et al., 2014). Esses achados diferenciam a cromoblastomicose das demais micoses como a feohifomicose e micetoma, causadas também pelos mesmos agentes etiológicos (GIMENES, 2007).

A observação de corpos muriformes no tecido do hospedeiro é o principal diagnóstico para cromoblastomicose, no qual são consideradas formas invasivas e evasivas do sistema imune (SIQUEIRA et al., 2017). Pelo fato destas estruturas apresentarem um papel significativo na patogênese, estudos procuram elucidar a formação destas e o seu potencial de virulência utilizando modelos experimentais

vegetais e animais que reproduzam a doença cromoblastomicose (Figura 3) (SALGADO, 2010).

FIGURA 3- ESTRUTURAS DE VIRULÊNCIA EM MODELOS EXPERIMENTAIS E HUMANOS



LEGENDA: (A) Larvas de *Tenebrio molitor* infectadas com *F. pedrosoi*. (B) Histopatológico de larvas *Tenebrio molitor* infectados com *F. pedrosoi* evidenciando corpos muriformes. (C) Larvas de *Galleria mellonella* inoculadas com *F. monophora*. (D) Formação de corpos muriformes em tecido das larvas *G. mellonella* infectadas com *F. monophora*. (E) Modelo animal rato Wistar utilizado para estudo da cromoblastomicose. (F) Corte histopatológico do tecido de rato Wistar inoculado com *F. pedrosoi*. (G) Planta viva de *Mimosa pudica* inoculadas com *F. pedrosoi*. (H) Células pseudomiceliais em raiz de *Mimosa pudica* inoculada com *F. pedrosoi*. (I) Histopatológico do tecido cutâneo evidenciando células acastanhadas. (J) Célula muriforme, caracterizando cromoblastomicose. FONTE: Adaptado de AZEVEDO et al. (2015); QUEIROZ-TELLES et al. (2017); FORNARI et al. (2018); HUANG et al. (2018); LIMA et al. (2020).

Os modelos animais descritos na literatura para estudo da cromoblastomicose, compreendem hospedeiros invertebrados como *Tenebrio molitor* (DE SOUZA et al., 2018) e *Galleria mellonella* (HUANG et al., 2018) e hospedeiros vertebrados como camundongos BALB/c (FORNARI et al., 2018) e rato Wistar (LIMA et al., 2020).

Além disso, a literatura apresenta estudos realizados em tecido vegetal com a finalidade de elucidar a rota de infecção da doença, relatos de pacientes associam a infecção destes agentes a um trauma com o material vegetal, caracterizando-a como uma doença de implantação (QUEIROZ-TELLES et al., 2017). A literatura descreve a presença dos agentes causadores da doença em detritos vegetais como a casca de

coco babaçu (*Orbignya phalerata*) e espinhos da planta *Mimosa pudica* (SALGADO et al., 2004, NASCIMENTO et al., 2017). No entanto estudos *in vitro* demonstram que os isolados procedentes de planta viva são caracterizados molecularmente como uma espécie distinta das espécies de procedência clínica (DE HOOG et al., 2014). Fornari e colaboradores (2018) demonstram a capacidade de espécies crípticas de *Fonsecaea* sobreviverem no tecido de plantas vivas.

Outros importantes fatores de virulência das leveduras negras que determinam a patogenicidade deste grupo seriam a termotolerância e a adesão microbiana (DE HOOG et al., 2000; SANTOS et al., 2007; BADALI et al., 2008). Os fungos negros possuem a capacidade de tolerar a temperatura do corpo humano (37°C) evidenciando o potencial destes fungos de causarem infecções oportunistas em animais (WANG et al., 2019; ZAJC et al., 2019), assim como o desenvolvimento fúngico eficiente em temperaturas extremas, como regiões semi-áridas e polares (JIANG et al., 2016).

A adesão fúngica no tecido do hospedeiro é mediada por adesinas que são polissacarídeos extracelulares hidrofílicos expressos nos conídios com afinidade por manose, essas moléculas facilitam a fixação dos propágulos nas células do tecido do hospedeiro e a internalização fúngica (SEYEDMOUSAVI et al., 2014; LIPKE, 2018; NATH, 2019). A aderência de células fúngicas ao tecido do hospedeiro depende de diversos fatores entre eles a hidrofobicidade da parede celular fúngica que é realizada principalmente por lipídeos como a glicosilceramida, permitindo assim que os fungos dematiáceos se diferenciem em corpos muriformes que são estruturas resistentes a ação das células efectoras do sistema imune do hospedeiro (KRASOWSKA; SINGLER, 2014; BORAL et al., 2018).

Os fungos negros também possuem a capacidade de assimilar hidrocarbonetos, estes são encontrados no meio ambiente e apresentam uma natureza química diversificada abrangendo formas simples como os alcanos e formas complexas que seriam os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) como o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BLASI et al., 2016). Os fungos promovem a degradação de compostos aromáticos através de reações de transformações parciais, mineralização e a utilização destes compostos como única fonte de carbono para o crescimento fúngico (PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2006).

A capacidade de degradação dos hidrocarbonetos presente neste grupo de fungos está diretamente relacionada com a secreção de enzimas extracelulares que

iniciam uma cadeia de reações químicas oxidativas aleatórias resultando em produtos oxidados alifáticos e aromáticos (MCGENITY, 2019). Dentre as enzimas que catalizam esses compostos estão as peroxidases e lacases, no qual são capazes de degradar compostos fenólicos presentes no material lignocelulósico (ARANDA, 2016). Além disso, a literatura descreve o envolvimento da enzima intracelular citocromo P-450 monoxigenase na biotransformação de hidrocarbonetos aromáticos e xenobióticos (PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2006; ARANDA, 2016; PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2019).

Esta habilidade de assimilar estes compostos é considerada um grande potencial de virulência, pelo fato desses compostos apresentarem alta similaridade estrutural com os neurotransmissores monoaromáticos e componentes da neuromelanina (PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2006). A espécie *Cladophialophora bantiana* é talvez o exemplo mais representativo, pelo fato de ser patogênica e estar associada quase que exclusivamente a infecções cerebrais (TEIXEIRA et al., 2017; PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2019).

Mas esta inter-relação entre os fungos negros que assimilam hidrocarbonetos e são patogênicos ainda precisa ser elucidada, pois algumas espécies são filogeneticamente similares como relatado no estudo de Badali et al. (2011), as espécies *Cladophialophora psammophila* e *Cladophialophora bantiana* possuem filogenia similar, porém a *C. psammophila* assimila tolueno mas não apresenta virulência como a *C. bantiana*. Assim como, tem espécies de leveduras que são patogênicas e apresentam um potencial de degradação de hidrocarbonetos desconhecido, como é o caso da *Rhinochlamydia mackenziei* que no estudo de Moreno et al. (2018) é relatado a presença de diversos genes relacionados com a assimilação do tolueno, porém essa habilidade ainda não foi confirmada quando cultivada no substrato.

Por outro lado, esses fungos hidrocarbonoclasticos podem ser utilizados em processos biotecnológicos para a remoção destes compostos de locais contaminados, como a biofiltração do ar poluído (PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2019). Esse bioprocessos é composto por um sistema biologicamente aberto com uma coluna de compostos poliméricos e minerais sob essa matriz forma-se um biofilme dos fungos que degradam os hidrocarbonetos e no interior desta coluna circula um fluxo de ar poluído com compostos orgânicos voláteis (LEBRERO et al., 2016). A utilização de leveduras negras em biofiltros para o tratamento de compostos monoaromáticos,

como alquibenzenos, tolueno e estireno tem sido estudada extensivamente como demonstra o estudo de Prenafeta-Boldú et al. (2018) no qual as espécies *C. psammophila*, *C. cladosporioides* e *Neohortaea acidophila* eliminaram 96% dos compostos orgânicos voláteis presentes no ar do interior do laboratório. Na ordem Chaetothyriales a assimilação de alquibenzenos parece ser predominante em espécies que pertencem ao gênero *Exophiala*, *Cladophialophora* e *Fonsecaea* (PRENAFETA-BOLDÚ et al., 2012).

3.2 ASPECTOS ECOLÓGICOS E MOLECULARES DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Fonsecaea*

Os membros da ordem Chaetothyriales exibem uma ecologia complexa e são geralmente isolados de substratos vegetais, madeira, solo e matéria orgânica em decomposição (VICENTE et al., 2017). Assim como, são capazes de tolerar habitat com pouca disponibilidade de nutrientes, temperaturas elevadas, radiação ultravioleta, estresse osmótico, solos contaminados com hidrocarbonetos, em superfícies de rochas entre outros (STERFLINGER, 2006; AMETRANO et al., 2019). A filogenia da ordem Chaetothyriales é composta pela clade bantiana no qual agrupam espécies patogênicas e ambientais dos gêneros *Fonsecaea* e *Cladophialophora* (DE HOOG et al., 2014). No clado carrioni encontra-se *C. carrionii*, sendo o principal agente causal da cromoblastomicose em regiões de clima árido e semi-árido, e *Phialophora verrucosa*, que também é um agente associado a doença, porém de forma rara. Espécies como *Exophiala dermatitidis* são incluídas no clado dermatitidis e o clado europaea é composto por espécies do gênero *Cyphellophora*. No clado jeanselmei são agrupados alguns agentes da doença cromoblastomicose como *Exophiala jeanselmei*, *E. spinifera*, *Rhinocladiella aquaspersa* e *R. tropicalis* (GOMES et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2017).

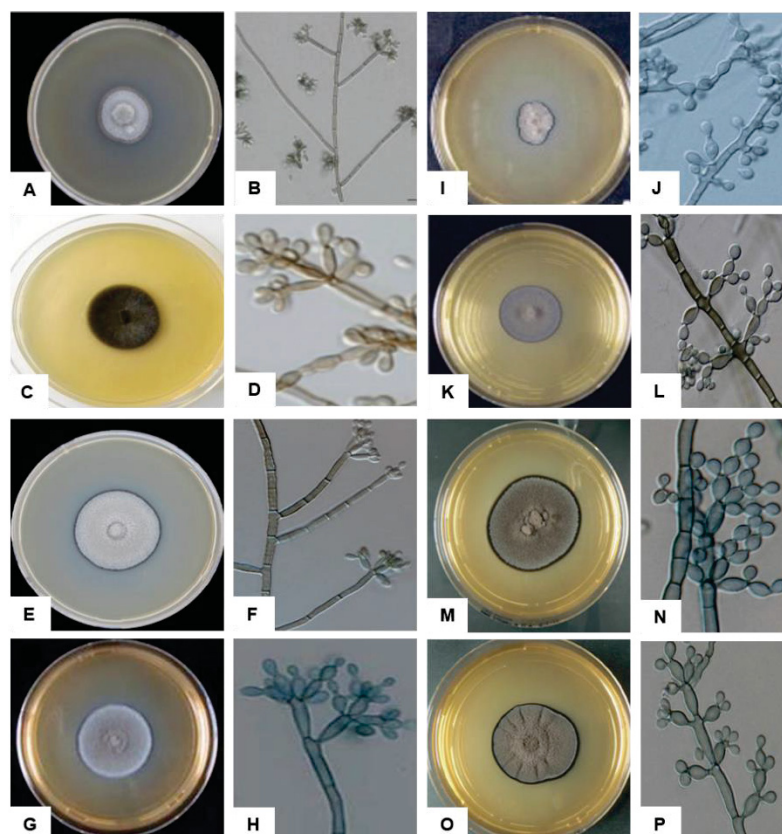
Dentro desta ordem há pelo menos cinco famílias reconhecidas entre estas estão a Chaetothyriaceae, Cyphellophoraceae, Epibryaceae, Herpotrichiellaceae e Trichomeriaceae (TEIXEIRA et al., 2017). A família Herpotrichiellaceae abriga espécies sapróbias e patógenos oportunistas, no qual são agentes causais de infecções em humanos e animais como a cromoblastomicose e feohifomicose (SEYEDMOUSAVI et al., 2014). Os principais gêneros que abrangem esta família

estão *Exophiala*, *Cladophialophora*, *Cyphellophora*, *Fonsecaea*, *Phialophora* e *Rhinocladiella* (TEIXEIRA et al., 2017; VICENTE et al., 2017).

O gênero *Fonsecaea* possui espécies que estão associadas ao desenvolvimento da cromoblastomicose, assim como espécies que são agentes causais de infecção disseminada em animais, além de espécies consideradas sapróbias de origem ambiental (Figura 4). Estes agentes apresentam o desenvolvimento lento, possuem colônia com aspecto aveludado ou algodinoso, com coloração olivácea. Os conidióforos são pouco diferenciados e com coloração variando de marrom claro a marrom escuro. Os conídios são simpodiais e se desenvolvem em cadeias ramificadas e curtas (VICENTE et al, 2012; VICENTE et al., 2013).

Dentre as oito espécies do gênero *Fonsecaea* quatro são consideradas agentes causais de cromoblastomicose em humanos, tais como *F. pedrosoi*, *F. monophora*, *F. nubica* e *F. pugnacius* (QUEIROZ-TELLES et al., 2017). Sabe-se que a *F. pedrosoi* é endêmica na América do Sul, enquanto que a *F. nubica* apresenta uma distribuição mundial e a *F. monophora* está expandindo na América do Sul como na Ásia, principalmente no sul da China (DENG et al, 2015; SHI et al., 2016). *F. pugnacius* é uma espécie que possui a capacidade de disseminar a infecção para o cérebro e outros órgãos (AZEVEDO et al., 2015). O potencial invasivo se difere entre as espécies do gênero *Fonsecaea*, diante disso *F. pedrosoi* e *F. nubica* estão associadas estritamente a cromoblastomicose e a formação de corpos muriformes, enquanto que *F. monophora* e *F. pugnacius* podem ser associadas também a feohifomicose, pelos relatos de infecção disseminada no cérebro e outros órgãos com hifas no tecido (VICENTE et al., 2017).

Entretanto as espécies *F. erecta* e *F. minima* possuem a capacidade de colonizar tecidos vegetais (VICENTE et al., 2013; FORNARI et al., 2018). *F. brasiliensis* e *F. multimorphosa* são espécies capazes de causar infecção em hospedeiros animais, como caranguejo e gato (NAJAFZADEH et al., 2011b; VICENTE et al., 2012).

FIGURA 4- MORFOLOGIA DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Fonsecaea*

LEGENDA: (A e B) *F. pedrosoi*. (C e D) *F. pugnacius*. (E e F). *F. monophora*. (G e H) *F. nubica*. (I e J) *F. multimorphosa*. (K e L) *F. brasiliensis*. (M e N) *F. erecta*. (O e P) *F. minima*. FONTE: Adaptada de AZEVEDO et al. (2015), QUEIROZ-TELLES (2015), REVANKAR; SUTTON (2011), NAJAFZADEH et al. (2010a), NAJAFZADEH et al. (2011a), VICENTE et al. (2012) e VICENTE et al. (2013).

As espécies *F. pedrosoi*, *F. monophora*, *F. nubica* agentes causais da doença cromoblastomicose, raramente tem sido recuperadas do meio ambiente, principalmente de substratos vegetais em decomposição, embora sejam filogeneticamente muito próximas das espécies isoladas de plantas vivas, são caracterizadas como espécies diferentes (VICENTE et al., 2013).

O isolamento de leveduras negras do ambiente tem sido considerado um desafio, pois existem diversas espécies de fungos patogênicos com diferentes perfis de patogenicidade e níveis de virulência, além do fato de apresentar várias interações com diversos substratos e habitats (ANDRADE et al., 2007; SUN et al., 2010; TSUI et al., 2011; HAMZEHEI et al., 2013). As espécies patógenas apresentam o ciclo de vida composto e um potencial de patogenicidade o que justifica a baixa ocorrência ambiental e o alto índice de infecção em hospedeiros animais (BADALI et al., 2008; NAJAFZADEH et al., 2010; 2011a).

Diversos estudos identificam a presença de leveduras negras em amostras ambientais, mas dificilmente essas espécies são isoladas de amostras clínicas, não podendo ser consideradas estritamente ambientais. Vicente et al. (2013) isolaram leveduras negras do gênero *Fonsecaea* de material vegetal em decomposição, mas quando comparadas molecularmente com a linhagem tipo, somente duas espécies foram identificadas como *F. pedrosoi* e *F. monophora*.

Salgado e colaboradores (2004) relatam um isolamento de *F. pedrosoi* de espinhos de *Mimosa pudica* e a relação deste com a infecção no paciente. A identificação do isolado foi feita somente por micromorfologia e não foi possível isolar o patógeno dos demais espinhos da planta, sendo assim é necessário mais estudos para elucidar os nichos ecológicos e as vias de disseminação dessa espécie (VICENTE et al., 2008; KRZYŚCIAK; PINDYCKA-PIASZCZYŃSKA; PIASZCZYŃSKI, 2014).

No estudo de Lima et al. (2020) relatam o isolamento de linhagens pertencentes a ordem Chaetothyriales de insetos sociais, como potenciais agentes de cromoblastomicose. Dentre as linhagens isoladas neste estudo está a *F. pedrosoi* isolada do ninho de cupim, no qual apresentou um potencial de virulência semelhante à linhagem de origem clínica. O potencial de virulência da linhagem foi confirmado em modelos experimentais animais como *Tenebrio molitor* e rato Wistar, no qual foram observadas estruturas semelhantes a corpos muriformes.

Além disso, as leveduras negras também vêm sendo isoladas de habitats criados pelo homem como tanques de gasolina (DELGADILLO-ORDÓÑEZ et al., 2017), instalações de banho a vapor e máquinas de lavar louças (BABIC et al., 2017). Alguns fatores como a umidade, altas temperaturas e pH alcalino favorecem a presença desses fungos nestes ambientes onde sapróbios regularmente não são encontrados (ZALAR et al., 2011). A presença de melanina, termotolerância e produção de polissacarídeos extracelulares são alguns dos fatores de virulência que permitem a sobrevivência das leveduras negras nestes ambientes (DE HOOG et al., 2000; STERFLINGER et al., 2006; VICENTE et al., 2008). No estudo de Badic et al. (2017) relata o isolamento de *E. dermatitidis* de máquinas de lavar louça, um importante patógeno oportunista capaz de causar infecções em humanos. A presença dessa espécie em amostras residuais de água, em aerossóis quentes liberados da máquina de lavar louça pode indicar uma rota de infecção e uma contaminação ambiental cíclica.

Os estudos que caracterizam os microrganismos encontrados no meio ambiente são realizados por métodos de isolamento, obtenção de colônias, caracterização morfológica e ferramentas moleculares no qual podem ser usadas para avaliar de forma rápida e confiável a diversidade biológica (TEHRANI et al., 2014; QUEIROZ-TELLES et al., 2017). A amplificação de domínios gênicos é uma ferramenta essencial para identificação de espécies, no caso dos fungos a região genômica ITS (do inglês Internal Transcribed Spacer) do RNA ribossômico é considerada o marcador mais indicado para a identificação de fungos, a validação da região é devido à reprodutibilidade, sensibilidade e especificidade permitindo distinguir espécies na maioria dos táxons fúngicos (SCHOCH et al., 2012; IRINYI et al., 2015; BADOTTI et al., 2017).

Porém devido à diversidade genética do reino pode ser necessária a utilização de mais de um marcador para identificação em nível de espécie (QUEIROZ-TELLES et al., 2017). Dentre os marcadores utilizados para distinção de gêneros são o fator de alongação (TEF1) e β -tubulina (BT2) (MEYER et al., 2019; TEKPINAR et al., 2019), no que diz respeito a fatores de virulência alguns genes podem ser utilizados como o Citocromo P-450 que é relacionado à síntese de melanina e com a degradação de hidrocarbonetos (BADIC et al., 2017), no caso os marcadores relacionados com a formação de citoesqueleto e com estágios do ciclo celular entre eles actina (ACT) e ciclo de divisão celular 42 (Cdc42) (TAKESHITA; FISCHER, 2019).

A amplificação de ácidos nucleicos pelo método de PCR continua juntamente com o sequenciamento de DNA tem sido a ferramenta molecular mais utilizada para identificação de fungos cultiváveis, por se tratar de um método rápido e preciso. Contudo, apesar da PCR ser um método acurado na detecção de fungos isolados do ambiente, a técnica apresenta limitações devido à presença de substâncias que possam inibir as reações ou acarretar resultados falsos positivos (LIBERT et al., 2016).

Outras técnicas de biologia molecular têm sido desenvolvidas a fim de aperfeiçoar a identificação de espécies filogeneticamente próximas. Uma dessas técnicas é a amplificação em círculo rolante (RCA – do inglês Rolling Circle Amplification), que consiste na amplificação isothermal do DNA com alta sensibilidade, em conjunto com a utilização de sondas cadeados que são oligonucleotídeos circuláveis que reconhecem sequências adjacentes no DNA alvo (NAJAFZADEH, 2011). A amplificação por RCA elimina o risco de replicação de sequências inespecíficas, podendo ser utilizada para distinguir espécies estritamente

relacionadas, bem como identificar polimorfismos em um único nucleotídeo e a expressão de RNAm em células individuais (FURUIE, 2014; TEHRANI et al., 2014; QUEIROZ-TELLES, 2015). No estudo de Voidaleski et al. (2018) demonstrando a utilização da técnica molecular de RCA para detectar *F. pedrosoi* em amostras ambientais como solo, material em decomposição e folhas da planta *Solanum paniculatum* procedentes de áreas endêmicas para a doença cromoblastomicose. Schneider e colaboradores (2019) projetaram iniciadores específicos utilizando o gene da proteína de ligação ao centrômero (CBF5) para identificar espécies patogênicas do gênero *Fonsecaea* a partir da técnica de amplificação em círculo rolante.

Têm sido estudadas novas técnicas que possam elucidar a ecologia e aspectos epidemiológicos deste grupo de fungos, dentre elas a metagenômica no qual consiste em um conjunto de técnicas moleculares independentes de cultivo capaz de acessar a grande maioria dos microrganismos, inclusive os incultiváveis e, assim, facilitar o estudo da diversidade taxonômica e funcional, além de poder compreender melhor os processos e interações microbianas (HANDELSMAN et al., 1998; DE SOUZA, 2016). Essa técnica permite a identificação de uma microbiota encontrada em uma determinada amostra ambiental, a partir da extração total do material genético presente na amostra e clonagem desse material obtendo assim uma biblioteca de sequências metagenômicas (EKKERS et al., 2012). Nessas bibliotecas é possível estudar a expressão de genes e funções microbianas anteriormente desconhecidas, bem como a descoberta de novos produtos para fins biotecnológicos e aplicação industrial (SATHYA; KHAN, 2014).

Atualmente também tem sido aplicada a tecnologia de sequenciamento de alto rendimento para compreender melhor a base genética da patogenicidade e adaptação a diversos nichos ecológicos das leveduras negras (MORENO et al., 2018). As metodologias do sequenciamento de alto rendimento tem a capacidade de realizar o sequenciamento direto de milhões de moléculas DNA através de uma pequena quantidade de amostra, podendo ser aplicada para sequenciar genomas completos, metagenomas, RNA-seq entre outros (GOODWIN et al., 2016; MC COMBIE et al., 2019).

Dentro da ordem Chaetothyriales atualmente tem em torno de 27 espécies com o genoma completamente sequenciado depositados no banco de dados NCBI, este conjunto compreende espécies associadas à degradação de hidrocarbonetos, a insetos sociais e sapróbios também está incluso os patógenos oportunistas envolvidos

em infecções disseminadas (MORENO et al., 2018). A partir da análise genômica comparativa é possível identificar genes homólogos que desempenham um papel crítico na adaptação de nichos ecológicos desses fungos ao longo da evolução (SONNHAMMER; KOONIN, 2002; MORENO et al., 2018; ALTENHOFF et al., 2019). No estudo de Teixeira e colaboradores (2017) foi relatada a duplicação de diversos genes em várias famílias de proteínas quando comparado os genomas de leveduras negras, entre essas proteínas estão citocromo P-450, bombas de efluxo de drogas, transportadores de membrana e enzimas como álcool desidrogenase e aldeído desidrogenase, no qual estão diretamente associados com a adaptação desses fungos em habitats extremos.

O estudo de Vicente et al. (2017) também relata uma análise genômica comparativa do gênero *Fonsecaea* com leveduras negras filogeneticamente próximas pertencentes a ordem Chaetotryiales. Diante disso a partir da anotação de genes ortólogos foram identificados regiões gênicas associadas à ecologia e patogenicidade das leveduras negras, dentre os domínios amplamente presentes nas espécies do gênero *Fonsecaea* que estão relacionados aos habitats extremos estão às enzimas da família monooxigenases e desidrogenases que metabolizam xenobióticos e as enzimas que degradam polissacarídeos presentes em substratos vegetais e animais como quitinase, hemicelulose e pectinase. Entretanto os domínios proteicos associados à patogenicidade estão relacionados com a biossíntese da melanina, no qual foram observadas múltiplas cópias de genes das enzimas que participam da biossíntese da melanina como as fenoloxidasas, também foi relatado neste estudo à presença de enzimas da família das peptidases que estão envolvidas no processo de morte celular e reações inflamatórias.

Além disso, estudos genômicos demonstram que alguns genes estão potencialmente relacionados à virulência das leveduras negras como o gene *Xeg1* e *Gr-Vap1* no qual estão associado à infecção fúngica em plantas induzindo a morte programada das células vegetais (LOZANO-TORRES et al., 2012; MA et al., 2015), o gene *Amr1* é um indutor da biossíntese de melanina (CHO et al., 2012; SAHARAN et al., 2015) e o gene *RpfF* que apresenta um atividade proteolítica e regula a formação de biofilme dos patógenos oportunistas (SUPPINGER et al., 2016; VICENTE et al., 2017).

A análise das sequências gênicas presentes nos genomas das leveduras negras é uma das abordagens utilizadas atualmente para elucidar processos

adaptativos e patogênese desse grupo, porém pesquisas demonstram a aplicação das metodologias da era pós-genômica como o transcriptoma, proteômica e metabolômica para compreender melhor o perfil ecológico dos fungos melanizados e elucidar sua capacidade de colonização em hospedeiros vegetais e animais (BLASI et al., 2017; MORENO et al., 2018).

3.3 ENZIMAS FÚNGICAS: ECOLOGIA, PATOGENICIDADE E APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA

As enzimas são na maioria dos casos proteínas globulares solúveis sintetizadas por organismos de origem vegetal, animal ou microbiológica que catalisam reações químicas específicas (LEHNINGER; NELSON; COX, 2014). No qual são classificadas em seis classes, com relação às reações que catalisam, entre elas estão as oxidorreduases (reações de oxirredução); transferases (reações de transferência de uma molécula para outra); hidrolases (reações de hidrólise); isomerases (reações intramoleculares, formando isômeros); liases (catalisadores que rompem ligações); ligases (catalisadores de ligações covalentes entre moléculas) (LIU; KOKARE, 2017).

As enzimas estão associadas à ecologia dos fungos pelo fato de participarem do processo de catálise de carboidratos e compostos orgânicos, no qual são utilizados como fonte de carbono e energia para o desenvolvimento destes fungos no meio ambiente. Além disso, a capacidade catalítica das enzimas pode estar relacionada com a patogenicidade em hospedeiros vegetais e animais (MORENO et al., 2017; BERLEMONT, 2017).

A diversidade de enzimas secretadas por fungos com o passar dos anos se tornou um grupo de produtos interessantes para os processos industriais, são produzidas pelo método de fermentação em um substrato líquido ou sólido e podem ser aplicadas em diversos setores industriais como ramo alimentício, farmacêutico agroindustrial e têxtil. Dentre as vantagens da utilização de enzimas na indústria, é destacado o fato de ser um produto natural, que apresenta alto grau de especificidade e ainda por apresentar uma atividade que pode ser regulada, através da modificação de parâmetros como pH e temperatura (BON; FERRARA; CORVO, 2008; LIU; KOKARE, 2017).

3.3.1 **Protease**

As proteases (E.C.3.4) também conhecidas como peptidases e enzimas proteolíticas, compreendem a classe de enzimas que catalisam ligações peptídicas (RAO et al., 1998). Devido à complexidade deste grupo as peptidases podem ser classificadas de acordo com três critérios: especificidade, tipo catalítico e homologia. Com relação à especificidade são subdividas em exopeptidases quando a clivagem da ligação peptídica ocorre na porção terminal da proteína e endopeptidases quando a atividade da enzima ocorre nas ligações peptídicas internas (RAWLINGS; BATEMAN, 2019). No caso do sítio catalítico as enzimas são subdivididas conforme os grupos químicos envolvidos no mecanismo catalítico, como serina peptidase possui serina no seu centro catalítico (WARD et al., 2009).

As proteases extracelulares microbianas tem demonstrado um potencial biotecnológico em aplicações industriais, assim como pode contribuir para a virulência de alguns organismos patogênicos (SOUZA, 2015). Os fungos são as fontes mais procuradas para a produção de proteases extracelulares devido a várias vantagens técnicas e econômicas, como a produção em larga escala em um tempo relativamente curto por métodos de fermentação (NOVELLI et al., 2016). Em geral essas enzimas são mais estáveis quando comparadas com suas homólogas de plantas e animais, além disso, apresentam uma facilidade na separação da biomassa do sobrenadante da cultura (GUPTA et al., 2002a; SAVITHA et al., 2011).

No processo de produção dessas enzimas existem alguns mecanismos regulatórios, como o meio de cultivo, pH, temperatura, tempo de incubação, fonte de carbono, nitrogênio e enxofre, presença de proteína exógena, aeração e densidade de inoculação (GUPTA et al., 2002b; SINGH et al., 2016).

Estudos comprovam a secreção de peptidases por fungos patogênicos e saprófitos, porém Semenova e colaboradores (2017) relata que os fungos produzem peptidases diferentes conforme o nicho ecológico que habitam. Neste estudo foi observada a produção de peptidase do tipo tripsina pelos fungos patogênicos, no qual está relacionado com a capacidade de colonizar o hospedeiro e superar as barreiras de defesa e amino peptidases pelos fungos saprófitos que está relacionada com a degradação proteica do meio ambiente para obtenção de nutrientes.

A literatura demonstra a atividade das enzimas proteolíticas em ascomicetos podendo ser sapróbios ou patogênicos (SINGH et al., 2016; SNYMAN et al., 2019).

Os ascomicetos mais isolados do ambiente que secretam protease pertencem aos gêneros *Aspergillus* sp. (SALIHI et al., 2017); *Penicillium* sp. (OMRANE BENMAD et al., 2018); *Fusarium* sp. (APASTAMBH; BAIG, 2017); *Trichoderma* sp. (PALOHEIMO et al., 2016). Assim como, dentro deste filo também é relatada a atividade de protease em fungos entomopatogênicos pertencentes ao gênero *Metharhizium* e *Beauveria* (WANG et al., 2019), fungos fitopatogênicos como *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Magnaporthiopsis poae* (CHANDRASEKARAN et al., 2016) e em agentes causais de infecção fúngica em humanos como *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *Sporothrix schenckii* e *Paracoccidioides brasiliensis* (MERCER; STEWART, 2019; SABARENO LÓPEZ et al., 2017; BORMAN; SUMMERBELL, 2015; PARENTE et al., 2010).

Além dos processos de cultivo para obtenção das proteases fúngicas, também há o desenvolvimento de técnicas moleculares como as análises genômicas que demonstram o potencial de produção e a diversidade de peptidases secretadas por ascomicetos (SEMENOVA et al., 2017; NOVELLI et al., 2016). Através de uma análise genômica comparativa de leveduras negras da ordem Chaetotryiales realizada nos estudos de Vicente et al. (2017) e Teixeira et al. (2017) foi revelado a abundância de três classes principais de peptidases em leveduras negras sendo estas serina, cisteína e metalopeptidases, também demonstraram que essas enzimas estão envolvidas no processo morte celular, invasão no sistema imune do hospedeiro e processos inflamatórios, evidenciando o potencial de virulência das linhagens que compõe essa ordem.

A literatura evidencia a possibilidade da produção de peptidases das formas micelial e parasitária das leveduras negras através do cultivo em meio definido e complexo, sendo esta enzima uma das principais responsáveis pela interação patógeno-hospedeiro pelo fato de participarem de eventos importante como a diferenciação celular, proliferação e diferenciação das células fúngicas (PALMEIRA et al., 2006a; GRANATO et al., 2015). Essa capacidade é observada no estudo de Palmeira et al. (2006) e (2018) no qual a espécie *F. pedrosoi* apresenta atividade proteolítica tanto na forma micelial como na forma parasitária caracterizada pelos corpos muriformes.

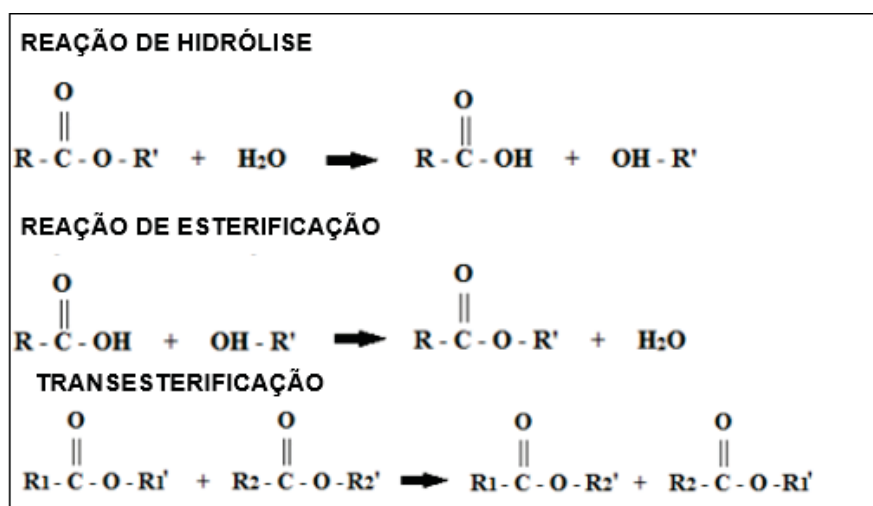
A ampla diversidade de proteases produzidas por fungos despertou interesse em diversos ramos industriais entre estes a indústria alimentícia, que utilizam essas enzimas no processo de amaciamento das carnes e clarificação de cervejas e outras

indústrias como as de detergente, de couro e farmacêutica (SINGH et al., 2016). No processo de fabricação de pães na indústria alimentícia são utilizadas peptidases isoladas de *A. oryzae* para hidrolisar a principal proteína da farinha de trigo que seria o glúten aumentando a qualidade do produto em termos de cor, suavidade e textura (SOUZA et al., 2015). Proteases alcalinas e neutras produzidas por fungos também podem ser utilizadas no processo de coagulação do leite, no qual a partir da hidrólise da proteína do leite são fornecidos peptídeos bioativos com potencial para serem utilizados como fonte nutricional em casos de intolerância infantil às proteínas do leite (DA SILVA, 2017). Durante o processo curtimento do couro cru na indústria utilizam-se proteases alcalinas produzidas por fungos como *Aspergillus flavus* (BANERJEE; RAY, 2017).

3.3.2 Lipase

As enzimas lipolíticas podem ser classificadas em três grandes grupos baseando-se na especificidade do substrato: lipases (EC.3.1.1.3), esterases (EC.3.1.1.1) e fosfolipases (EC.3.1.1.3). São enzimas capazes de catalisar reações de hidrólise de ésteres carboxílicos formando ácidos graxos livres, quando em condições não aquosas catalisam reações reversas como esterificação ou transesterificação produzindo acilgliceróis (Figura 5) (JAEGER; EGGERT, 2002; SALIHU; ALAM, 2012).

FIGURA 5- REAÇÕES CATALISADAS POR LIPASES EM SOLUÇÕES AQUOSAS E NÃO AQUOSAS



FONTE: Adaptado de MENDES (2019).

As lipases em sua maioria são glicoproteínas com massa molecular de 20 kDa, ponto isoelétrico variando de 4 a 5 e com atividade ótima entre uma faixa de pH de 6.0 a 8.0. Porém essas propriedades podem variar de acordo com a fonte de produção da enzima e a isoforma gerada (ALOULOU et al 2006; PASCOAL et al, 2018).

O sítio ativo das lipases é composto por serina, histidina e um resíduo ácido (ácido aspártico ou glutâmico), esta sequência conservada desempenha um papel importante no mecanismo de hidrólise das lipases, atuando na clivagem de ligações ésteres presente em acilgliceróis para liberar ácidos graxos e glicerol (TREVISAN, 2014; PASCOAL et al, 2018).

As principais fontes de obtenção de lipases têm sido os microrganismos, embora estas também sejam produzidas por plantas e animais (MEHTA et al., 2017). As enzimas são produzidas geralmente pelo processo de fermentação, em sua maioria são enzimas extracelulares, facilitando o processo de filtração e purificação (GUTARRA et al., 2009). As lipases extracelulares são secretadas em grandes quantidades por alguns fungos filamentosos, pertencentes aos gêneros *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* spp., *Rhizomucor* sp. e *Thermomyces* sp., *Beauveria* sp., *Alternaria* sp. (MEHTA et al., 2017; WADIA; JAIN, 2018).

No caso dos fungos negros, *Alternaria* tem sido relatado como um dos principais gêneros produtores de lipase como relatado nos estudos de Iftikhar et al. (2015) e Singh (2011) no qual a linhagem *A. brassicicola* apresentava atividade lipolítica acima de 3, 2 U/mL. O gênero *Aureobasidium* também é um fungo negro produtor de lipase como demonstrado no estudo de Li et al. (2019) no qual foi obtido a purificação e produção de 17,7 U/mL da enzima lípase a partir de cultivo submerso de *A. pullulans* pertencente a ordem Dothideales.

Diversos fatores são empregados na produção das lipases para aumentar a eficiência do processo, como as fontes de carbono e nitrogênio, pH, suplementação dos meios de cultivo com uma solução de minerais, temperatura, agitação e aeração (KUMAR et al. 2011; MEGHWASHI; VASHISHTHA, 2018). Os principais substratos indicados pela literatura para induzir a produção de lipase em fungos são azeite, tributirina, Tween 20 e Tween 80 (GEOFFRY, ACHUR, 2018).

Sabe-se que fungos filamentosos são ótimos produtores de lipase pelo fato de apresentarem propriedades catalíticas essenciais para diversas aplicações industriais, algumas destas características é a capacidade de hidrolisar a ligação éster, a transesterificação de triglicerídeos, a resolução de misturas racêmicas, bem como de sintetizar a ligação éster na interface entre substrato e água (GEOFFRY; ACHUR, 2018). Diante disso as lipases fúngicas de *A. niger*, *A. oryzae*, *Mucor meihei* e *Rhizopus oryzae* são utilizados na indústria alimentícia principalmente no processo de panificação e produção de queijos (NEGI, 2018). As lipases fúngicas também são utilizadas como aditivos na indústria de detergentes, a lipase mais utilizada atualmente foi isolada do fungo *Thermomyces* sp., porém com o desenvolvimento de pesquisas nesta área foram caracterizados lipases de outros fungos como *Talaromyces thermophilus* que apresentam resistência ao pH alcalino e tolerância a surfactantes presentes na lavagem comercial (PÉREZ et al., 2019). Além disso, é relatada a utilização de lipases fúngicas em processos biotecnológicos como a biorremediação, no qual as principais espécies pertencentes aos gêneros *Trichoderma*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mortierella*, *Beauveria* e *Engyodontium* são algumas espécies que possuem a capacidade de tolerar uma variedade de poluentes e podem ser aplicadas para a biorremediação de locais com derramamento de óleo (ISLAM; DATTA, 2015).

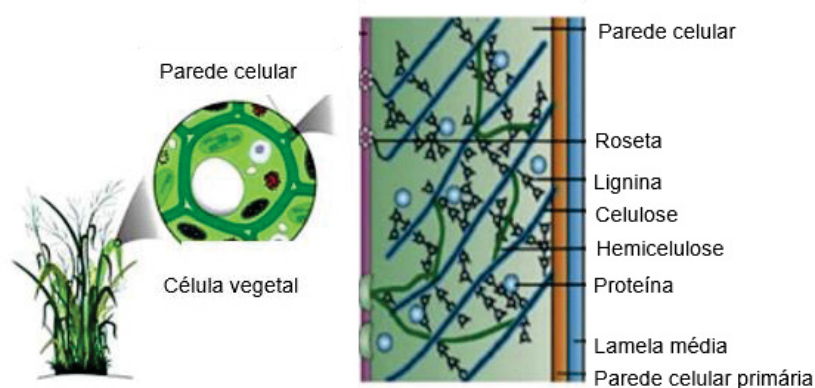
Entretanto, as enzimas lipase e fosfolipase fúngicas também são relatadas como um importante fator de virulência durante o processo de infecção e colonização do patógeno no hospedeiro, porém existe uma diferença na ação catalítica dessas enzimas as lipases são capazes de hidrolisar os triacilgliceróis que estão presentes no tecido adiposo do hospedeiro, enquanto que as fosfolipases possui ação nos glicerofosfolípidos que possuem uma molécula de fosfato em sua estrutura e é um dos principais componentes da membrana plasmática celular (BARRIUSO et al., 2016; TOTH et al., 2017; BARMAN et al., 2018; ALOULOU et al., 2018). Os principais fungos descritos na literatura que produzem lipases e causam infecção em humanos são *Cryptococcus neoformans*, *A. fumigatus*, *Candida albicans* e *Malassezia furfur* (IYALLA, 2016; TEE et al., 2019). Além disso, a partir de análises genômicas de alguns patógenos humanos foi possível observar a presença de genes que codificam lipase como relatado no estudo de Barman et al. (2018) no qual é observado diversas sequências gênicas de fosfolipase em *A. fumigatus*, *C. albicans*, *C. neoformans*, *Alternaria alternata*, *S. schenckii* e *Paracoccidioides brasiliensis*.

3.3.3 Enzimas lignocelulolíticas

As enzimas lignocelulolíticas tem a capacidade de hidrolisar porções polissacarídicas, como a celulose e hemicelulose (PIMENTEL, 2019). Esse grupo de enzimas atua na degradação completa da biomassa vegetal (KUMAR, 2019).

A biomassa lignocelulósica é constituída por fibras de celulose e hemicelulose envolvidas por uma matriz amorfa de lignina, unidas por ligações covalentes, formando uma complexa rede resistente a ataques microbianos (Figura 6). Neste complexo também estão presentes traços de pectina e compostos nitrogenados e inorgânicos (MORI et al., 2015; CAI et al., 2017).

FIGURA 6- ORGANIZAÇÃO DA ESTRUTURAL DA PAREDE CELULAR VEGETAL



LEGENDA: Origem e componentes estruturais da lignocelulose. FONTE: Adaptado de CANILHA et al. (2010); MANAVALAN et al. (2015).

O principal componente estrutural das fibras lignocelulósicas é a celulose que fornece força e estabilidade para as paredes celulares (ARANTES; SADDLER, 2010; GUERRIERO et al., 2015). Sua estrutura representa um homopolissacarídeo linear constituído por monômeros de D-glicose unidos por ligações glicosídicas do tipo β -1,4 (STELTE et al., 2011). A hemicelulose é o segundo maior componente dos materiais vegetais, sua estrutura corresponde a um heteropolissacarídeo ramificado constituído por monômeros de pentoses (β -D-xilose e β -D-arabinose), hexoses (β -D-manose, β -D-glicose e β -D-galactose), e ácidos urônicos, como ácido α -D-glucurônico, ácido α -D-4-O-metilgalacturônico e ácido α -D-galacturônico, sendo a xilose a mais abundante (BAKER et al., 2019).

A lignina é um constituinte importante da parede celular vegetal que confere rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques microbiológicos e mecânicos (RALPH et al., 2019). São formadas por monômeros de fenilpropanóides (álcool coferílico, álcool p-cumarílico e álcool sinapílico), distribuídas de forma irregular na estrutura (PENG et al., 2012). A pectina são polissacarídeos estruturais constituídos por resíduos de ácido galacturônico ligados por ligações α -1,4 (TAPRE; JAIN, 2014; KUMAR et al., 2019). Essa substância está presente na lamela média e na parede celular primária das células vegetais, contribuindo para a força mecânica e para as propriedades físicas da célula (PLÁCIDO; CAPAREDA, 2015).

Segundo a literatura os ascomicetos inclusive as leveduras negras são os melhores produtores de enzimas lignocelulolíticas, em sua maioria apresentam uma natureza sapróbia, no qual produzem naturalmente essas enzimas que hidrolisam completamente o material vegetal presente nos habitats que colonizam, podendo assim utilizar esses compostos como fonte de carbono e energia para o desenvolvimento destes fungos no meio ambiente (KUMAR et al., 2019).

Diante disso, nos últimos anos tem aumentado o interesse da utilização dessas enzimas em processos biotecnológicos no ramo industrial, como por exemplo, no processo de branqueamento da polpa do papel na indústria de papel e celulose (DA SILVA et al., 2017) e também a utilização das enzimas na biorremediação de xenobióticos como corantes presentes em efluentes das indústrias têxteis (MAHMOOD et al., 2017; EL ENSHASY et al., 2017; BAKER et al., 2019). As enzimas lignocelulolíticas também são amplamente utilizadas na indústria alimentícia principalmente no processamento de frutas e vegetais, particularmente na produção de sucos e extração do óleo vegetal cuja principal objetivo é acelerar e aumentar a eficiência o processo de extração da matéria-prima vegetal (TOUSHIK et al., 2017). Recentemente estas enzimas também foram aplicadas na produção de biocombustíveis de segunda geração atuando no processo de degradação da biomassa lignocelulósica presente na matéria-prima e redução dos compostos tóxicos presentes nos hidrolisados da biomassa (PLÁCIDO; CAPAREDA, 2015; NAYAK et al., 2020).

3.3.3.1 Celulases e Hemicelulases

As celulases (EC 3.2.1) hidrolisam ligações glicosídicas entre os resíduos de glicose da cadeia de celulose. De acordo com o local de ação na fibra de celulose dessas enzimas, são distribuídas em endoglucanases que atuam na catalisação da hidrólise da celulose, rompendo as ligações glicosídicas β (1-4), liberando oligossacarídeos de diversos graus de polimerização (COUGHLAN; LJUNGDAHL, 1988; HIMMEL et al., 2018); exoglucanases catalisam a quebra das ligações glicosídicas, nas extremidades redutoras e não redutoras das cadeias (XUE et al., 2017) e a β -glucosidase que faz a hidrólise completa da celulose, liberando D-glicose a partir de produtos da ação das exoglucanases, como a celobiose (VOUTILAINEN et al., 2007; LEITE et al., 2008).

As enzimas celulolíticas possuem uma ampla aplicação industrial, principalmente na área de alimentos, ração animal, indústria química e têxtil. Dentre as características desejáveis em celulases para aplicação industrial, destaca-se a capacidade de atuar em temperatura elevada, como a cima de 40 °C e a estabilidade térmica durante o processo de fermentação (SAJITH et al., 2016).

A literatura relata que os principais fungos produtores de celulase pertencem aos gêneros *Aspegillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Mucor* (EFFIONG et al., 2019). No estudo de Marques et al. (2016) é relatada produção de endoglucanase e β -glucosidase por fungos pertencentes a outros gêneros como *Cladosporium*, *Phomopsis*, *Trichoderma*, *Botryosphaeria* que apresentaram atividade de endoglucanase variando de 64 a 88 U/g e os gêneros *Saccharicola*, *Paecilomyces*, *Ustilaginoidea* e *Botryosphaeria* apresentaram atividade de β -glucosidase variando de 21 a 51 U/g. As linhagens desse estudo passaram por um processo de cultivo em estado sólido cuja o substrato enzimático foi bagaço de cana e farelo de trigo.

No processo de hidrólise da hemicelulose é necessário um conjunto de enzimas principais e acessórias, pelo fato de ser um polissacarídeo ramificado de difícil desestabilização (PIMENTEL, 2019). Dentre as enzimas hemicelulolíticas, temos as xilanases (EC 3.2.1.8) e β -xilosidase como enzimas principais responsáveis pela degradação da xilana, hidrolisando as ligações 1,4- β -D-xilosídicas liberando xilose e demais xilo-oligossacarídeos (BRIGHAM et al., 2018). A acetil xilana esterases (EC 3.1.1.72) e as α -L-arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55) são enzimas acessórias, atuam removendo as cadeias laterais da hemicelulose (GUPTA et al., 2019).

Diversas espécies de fungos termófilos e mesófilos são capazes de produzir xilanase incluindo *Talaromyces emersonii*, *Paecilomyces variotii*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. e *Fusarium* sp. (GUPTA et al., 2019). Além disso, no estudo Robl e colaboradores (2013) demonstraram que os fungos endofíticos *Aspergillus niger*, *Trichoderma atroviride*, *Alternaria* sp., *Annulohypoxylon stigyum* e *Talaromyces wortmannii* são excelentes produtores de hemicelulases, utilizando como substrato o bagaço de cana.

No caso dos fungos melanizados estudos como de Bankeeree et al. (2016) no qual a espécie *A. pullulans* apresentou atividade de xilanase a partir do cultivo submerso em Tween 80 sendo relatado uma produção enzimática de 10 U/mL em 72 horas de cultivo. Guan e colaboradores (2016) demonstraram a produção de xilana por *Cladosporium oxysporum*, no qual foi isolado de resíduos agrícolas em decomposição e apresentou produção enzimática máxima de 55, 92 U/mL em meio líquido com substratos contendo xilana na sua composição.

Através da expansão do sequenciamento genômico de fungos estudos como de Berlemont (2017) no qual proporcionaram a identificação de genes e proteínas envolvidas na degradação de polissacarídeos a partir de uma análise sistemática de diversos genomas fúngicos. Neste estudo então foram observadas 9.003 sequências gênicas envolvidas na degradação de polissacarídeos, no qual codificam enzimas como celulasas e hemicelulasas.

3.3.3.2 Pectinases

As pectinases constituem um grupo de enzimas que catalisam a degradação das substâncias pécticas, através de reações de despolimerização e desesterificação e são classificadas de acordo com a preferência pelo substrato, pelo modo que catalisam o ácido galacturônico dos polímeros pécticos e pelo tipo de clivagem (GARG et al., 2016; RUIZ et al., 2017).

Diante disso, as pectinases são classificadas com base no seu modo de ação em poligalacturonase, pectina esterase, pectina liase e pectato-liase (AMIN et al., 2019). As protopectinases solubilizam a protopectina e formam pectina solúvel, pectina metil esterases e pectina acetil esterases eliminam resíduos metoxila e acetil da pectina que dão origem ao ácido poligalacturônico, a poligalacturonase quebra as ligações α -1,4-glicosídicas entre os resíduos galacturônicos por hidrólise e elimina

trans- reações (REBELLO et al., 2017). Dentre todas as enzimas pectinolíticas a poligalacturonase é a mais utilizada comercialmente pelo fato de hidrolisar a cadeia principal da pectina (SAADOUN et al., 2013).

As pectinases ácidas são utilizadas na indústria de bebidas, principalmente no processo de clarificação, enquanto as alcalinas são utilizadas na indústria têxtil, na indústria de papel e na extração de óleos (NIGHOJKAR et al., 2019). As pectinases produzidas por *Aspergillus niger* são utilizadas na produção do suco de maçã, no processo de esmagamento da fruta a pectina presente aumenta a viscosidade e turbidez do produto, por isso ação das pectinases degradando as substâncias pécticas melhoram a qualidade do produto (REBELLO et al., 2017). As poligalacturonase produzidas por *A. niger*, *Byssoschlamys fulva* e *Mucor circinelloides* são utilizadas na fermentação de folhas de chá da planta *Camellia sinensis*, essa enzima atua aumentando da produção de compostos fenólicos e consequentemente melhorando a qualidade do chá (THAKUR; GUPTA, 2012).

A fonte primária da produção das pectinases industriais são os microrganismos, sendo 50% produzidas por fungos e leveduras, 35% por bactérias e os 15% restantes são de origem vegetal (AMIN et al., 2019). A literatura relata que as principais fontes produtoras de pectinases em fungos são *A. niger*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemous*, *M. hiemalis*, *Penicillium jensenii*, *P. citrinum* e *Trichoderma viride* (REBELLO et al., 2017). Os estudos de Akram et al. (2016) e Bhattacharyya et al. (2020) reforçam que espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Penicillium* isoladas de material vegetal são excelentes produtores de pectinase.

No estudo de Hassan Moubasher et al. (2015) demonstra o potencial de produção da enzima pectinase em *Alternaria alternata* no qual é um fungo negro conhecido como patógenos de vegetais, mas pode causar infecções no trato respiratório de humanos com doenças respiratórias pré-existentes. A produção de pectinase no grupo das leveduras negras também é relatada no estudo de Vicente et al. (2017) que através de uma análise comparativa de genomas das espécies pertencentes ao gênero *Fonsecaea* observaram a presença de genes que codificam enzimas associadas a degradação de polissacarídeos como a pectina. Além disso, entre as espécies desse gênero o número de famílias de enzimas degradadoras de pectina foi mais frequente em *F. erecta* do que nas outras espécies.

3.3.3.3 Lacases

As lacases são polifenol-oxidases no qual possuem três tipos de átomos de cobre em seu centro catalítico e são também conhecidas como multicobreoxidases. A massa molecular varia de 50 a 130 kDa, cuja fração de carboidratos se constitui principalmente de manose, N-acetilglicosamina e galactose (AGRAWAL et al., 2018). Existem várias isoformas de lacases, no qual estão associadas às condições de cultivo, ao estado fisiológico do microrganismo e principalmente se há algum indutor no meio, como íons de cobre (MEHRA et al., 2018). Essas enzimas tem a capacidade de oxidar diversos compostos fenólicos, sendo substratos naturais como fenóis, polifenóis, fenóis metoxilados ou até mesmo substratos sintéticos como o ABTS (2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolina-6-sulfonato) e a siringaldazina (4-Hidroxi-3,5-Dimetoxibenzaldeidazina) (UPADHYAY et al., 2016). As reações de catálise das enzimas lacase podem ser de dois tipos oxidação direta que consiste na oxidação direta do substrato utilizando oxigênio como redutor e assim formando radicais livres de fenoxi e moléculas de água e a oxidação indireta no qual o substrato é oxidado na presença de um mediador (SENTHIVELAN et al., 2016).

Atualmente os principais microrganismos produtores de lacase são os fungos de podridão branca, sendo que a espécie *Tramete versicolor* é um dos mais estudados fungos da podridão branca da madeira produtor de lacase (PINHEIRO et al., 2019). Além disso, a literatura demonstra o potencial de produção da enzima em outras espécies fúngicas como *Aspergillus niger*, *Pleurotus pulmonarius*, *Rhizopus* sp. entre outros (WANG et al., 2019; MYASOEDOVA et al., 2017).

A produção de lacase nas leveduras negras está associada à sua ecologia pelo fato de colonizarem ambientes como substratos vegetais, matéria orgânica em decomposição, madeira e solo contaminados com hidrocarbonetos (STERFLINGER, 2006; VICENTE, 2000). Diante disso, esses fungos utilizam essas enzimas para degradar componentes presentes nestes habitats e obter nutrientes para o desenvolvimento fúngico, dentre as moléculas catalisadas pelas lacases fúngicas está à estrutura complexa de polifenóis que constitui a lignina um dos principais componentes da parede celular de vegetais (PLÁCIDO, CAPAREDA, 2015). Além disso, as leveduras negras possuem um potencial fisiológico de degradação enzimática de hidrocarbonetos como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, através

da produção de diversas enzimas incluindo a lacase (PRENAFETA BOLDÚ et al., 2019).

No entanto as enzimas multicobreoxidases também estão envolvidas na patogenicidade das leveduras negras, pelo fato de sintetizar a melanina um pigmento que confere resistência às células fúngicas contra as células efetoras do sistema imune, reduz a fagocitose e elimina radicais livres como reativos de oxigênio/nitrogênio, além de estar envolvida na diferenciação das células fúngicas em corpos muriformes no tecido do hospedeiro e na proteção contra antifúngicos (SMITH, CASADEVALL, 2019).

No estudo de Nascimento e colaboradores (2017) é demonstrado o potencial de produção de lacase em fungos melanizados dos gêneros *Cladophialophora*, *Exophiala*, *Rhinocladiella* e *Veronaea*, através de testes em meio sólido contendo o substrato da enzima o ABTS. A produção de lacase também é observada no estudo de Myasoedova et al. (2017) no qual foi realizado cultivo em meio líquido de *Cladosporium herbarium* utilizando também como substrato o ABTS, apresentando uma atividade específica de lacase de 0,85 U/mL. No estudo de Moreno et al. (2017) foi observado a presença de genes codificadores de lacase em espécies clínicas e ambientais, evidenciando o potencial de produção das enzimas lacases por leveduras negras do gênero *Fonsecaea*.

Devido à capacidade de oxidar diversos compostos aromáticos as lacases são enzimas com um grande interesse na indústria e em processos biotecnológicos (UPADHYAY et al., 2016). Dentre as várias aplicações desta enzima podemos destacar a síntese de corantes sintéticos e polímeros que agem no branqueamento da madeira, remoção de polifenóis em cerveja e também no processamento de alimentos e bebidas, análises de drogas e produção de etanol (POLIZELI; RAI, 2014; GONÇALVES; SILVA; CAVACO-PAULO, 2015; MISHRA et al., 2019). Além de ser aplicada no processo de biorremediação de ambientes contaminados, pela capacidade de degradar moléculas xenobióticas em estruturas menos tóxicas (BONUGLI-SANTOS et al., 2015).

3.3.4 Regulação da expressão gênica e metabólica na produção de enzimas fúngicas

A regulação da expressão gênica em fungos filamentosos através do pH é considerado um dos sistemas mais importante nos fungos que possuem capacidade de crescer uma ampla faixa de pH (MARTINS et al., 2019). Além disso, esse sistema influencia na produção de enzimas extracelulares fúngicas, pois tendo um ambiente de cultivo alcalino obtém-se uma fosfatase alcalina e em condições ácidas obtém-se uma fosfatase ácida, por exemplo (PEÑALVA; ARST, 2002; PRUSKY et al., 2016). Esses sistemas de regulação gênica pelo pH foi demonstrado por Dorn (1965) utilizando linhagens mutantes de *Aspergillus nidulans*, no qual apresentavam mutação nos genes *pal* (expressa um fosfatase alcalina) e *pac* (expressa uma fosfatase ácida). Esses mutantes foram cultivados em meio com uma ampla faixa de pH e foi observado que atividade de fosfatase alterava conforme o pH do meio de cultivo, concluindo que esses genes poderiam ser estruturais ou genes reguladores.

Caddick e colaboradores (1986) confirma a hipótese de que os genes *palA*, *B*, *C* e os genes *E*, *F* e *pacC* estão envolvidos na regulação da expressão do gene da fosfatase pelo pH e que mutações nesses genes modificariam a produção da enzima extracelular em *Aspergillus nidulans* em função do pH do meio. Tilburn e autores (1995) propõem que o gene *pacC* codifica uma proteína reguladora de transcrição, ou seja, quando o crescimento é em meio ácido a proteína *pacC* não funciona como ativador transcricional de genes alcalinos, no entanto em condições de cultivo alcalino a proteína *pacC* ativa transcrição de genes alcalinos, tendo a produção de fosfatase alcalina somente.

Durante o processo de desenvolvimento dos fungos no ambiente, ocorre a secreção de pequenas moléculas que modificam o pH ambiental e induzem a expressão de genes dependentes de *pacC* (PRUSKY et al., 2016). A produção de amônia seria uma dessas moléculas que alteram o pH do ambiente juntamente com a concentração de carbono, pois no estudo de Bi et al. (2015) as altas concentrações de carbono no meio inibem a produção de amônia tornando assim o meio mais ácido, porém quando há baixas concentrações de carbono no meio ocorre a alcalinização e o acúmulo de amônia também é observado, assim como a indução do gene *pacC*.

Este estudo sugere que o equilíbrio entre a produção de amônia e a concentração de carbono no ambiente regulam a expressão de genes induzidos por *pacC*.

A modulação do pH no ambiente de desenvolvimento fúngico também está relacionada com a patogenicidade, pois a acidificação do ambiente é uma estratégia para danificar os tecidos do hospedeiro facilitando a colonização do patógeno (VYLKOVA, 2017). Fungos fitopatogênicos pertencentes aos gêneros *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. secretam substâncias como ácido cítrico para acidificar o tecido do hospedeiro e diminuir a atividade das espécies reativas de oxigênio produzidas pelo hospedeiro (BI et al., 2015). Da mesma forma os patógenos humanos como *Candida albicans* acidificam o ambiente de maneira dependente de carboidratos, permitindo a produção de proteases no qual são enzimas envolvidas no desenvolvimento da infecção fúngica (NAGLIK et al., 2003). No entanto a alcalinização do ambiente a partir do acúmulo de amônia, também ativa a expressão de fatores de virulência como a produção de esporos assexuados, secreção de enzimas líticas, formação de melanina e a adesão fúngica no hospedeiro (VYLKOVA, 2017).

A manipulação dos genes responsáveis pela regulação da expressão das enzimas tem sido um dos mecanismos mais utilizados na indústria para aumentar a produção das enzimas fúngicas de interesse (KELLER, 2019). Esse processo está relacionado com um grupo de proteínas denominadas fatores de transcrição, essas proteínas reconhecem e se ligam a uma região específica do DNA do fungo, no qual são denominados sítios de ligação dos fatores de transcrição. Os fatores de transcrição possuem um papel importante na repressão ou ativação desses genes e regulam a expressão dos mesmos no genoma do organismo (LEE; YOUNG, 2013).

A transcrição de genes que expressam glicohidrolases em fungos filamentosos é regulada por fatores de transcrição que podem ativar ou reprimir a expressão dos genes no genoma desses fungos, esses podem ser vários dentro do filo Ascomycota (MACH-AIGNER et al., 2008). Os fatores de transcrição *Cre1*, *CreA* e *Ace1* são responsáveis pela repressão dos genes regulados pela glicose, no qual a inibição ocorre a partir da ligação desse fator na região promotora dos genes alvos que expressam as enzimas celulasas e hemicelulasas (ALAM; KELLY, 2016; HAN et al., 2020; ZHANG et al., 2016). Além disso, existem fatores de transcrição que ativam a expressão dos genes das enzimas celulolíticas como *Xyr1* que é um ativador de xilanase (SELLA et al., 2015), *Ace2* que são ativadores de celulase (PORTNOY et al., 2010), *AraR* e *Xlnr* que atuam na regulação da via catabólica da pentose em fungos

filamentosos (RAULO et al., 2016). Esses fatores de transcrição regulam ou ativam a expressão de glicohidrolases em fungos filamentosos pertencentes principalmente aos gêneros *Aspergillus niger*, *Neurospora crassa* e *Trichoderma reesei* (XU et al., 2019).

Além de fatores genéticos também existem fatores fisiológicos que regulam o metabolismo dos fungos durante o processo de produção enzimática (ELISASHVILI; KACHLISHVILI, 2009). Dentre esses fatores está relacionado à capacidade do fungo produzir enzimas sendo esse um fator limitante para o rendimento enzimático (BERLEMONT et al., 2017). As fontes de nitrogênio disponíveis no ambiente para o crescimento dos fungos também é um fator fisiológico crucial para a atividade enzimática, porém as vias metabólicas de nitrogênio são reguladas por fatores de transcrição do tipo *GATA* que ativa a transcrição gênica na ausência de nutrientes de nitrogênio como amônio e glutamina (XIONG et al., 2017; TODD, 2016). Em *A. nidulans*, *A. fumigatus* e *A. oryzae* é expresso o fator de transcrição *areA*, enquanto que em *C. albicans* é encontrado o *GLN3* e *GAT1* e no patógeno *P. roqueforti* ocorre a expressão de outro fator o *nmc* (SNYMAN et al., 2019).

Uma maneira também utilizada para melhorar à produção industrial das enzimas principalmente de enzima lignocelulolíticas seria o co-cultivo de fungos no processo de fermentação (ELISASHVILI, KACHLISHVILI, 2009). No estudo de Copete-Pertuz et al. (2019) no qual analisou a produção de enzimas lignolíticas através do co-cultivo dos fungos *Trichoderma viride*, *A. terreus* e *Leptosphaerulina* sp., evidenciando que atividade enzimática melhorou significativamente.

A literatura relata um amplo estudo na regulação gênica em ascomycetos com relação ao pH e as fontes de carbono/nitrogênio presentes no meio de cultivo para produção de diversas enzimas (ELISASHVILI; KACHLISHVILI, 2009; MARTINS et al., 2019; KELLER, 2019). Porém, em leveduras negras esta é uma vertente que deve ser explorada, pois pode proporcionar ferramentas que contribuam para elucidar a ecologia, patogenicidade e o potencial biotecnológico das leveduras negras.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, K.; CHATURVEDI, V.; VERMA, P. Fungal laccase discovered but yet undiscovered. **Bioresources and Bioprocessing**, 2018.
- AKRAM, S.; MANDANA, B. Isolation and Optimization of Pectinase Enzyme Production One of Useful Industrial Enzyme in *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*, *Penicillium chrysogenum*. **Biological Journal of Microorganism**, 2019.
- ALAM, M. A.; KELLY, J. M. Proteins interacting with CreA and CreB in the carbon catabolite repression network in *Aspergillus nidulans*. **Current Genetics**, p. 669–683, 2016.
- ALOULO, A.; RODRIGUEZ, J.A.; PUCCINELLI, D.; MOUZ, N.; LECLAIRE, J.; LEBLOND, Y.; CARRIERE, F. Purification and biochemical characterization of the LIP2 lipase from *Yarrowia lipolytica*. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2007.
- ALOULO, A.; RAHIER, R.; ARHAB, Y.; NOIRIEL, A.; ABOUSALHAM, A. Phospholipases: An Overview. **Methods in Molecular Biology**, p. 69–105, 2018.
- ALTENHOFF, A.M.; GLOVER, N.M.; DESSIMOZ, C. Inferring Orthology and Paralogy. **Methods in molecular biology**, 2019.
- AMETRANO, C.G.; MUGGIA, L.; GRUBE, M. Extremotolerant Black Fungi from Rocks and Lichens. **Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance**, p. 119-143, 2019.
- AMIN, F.; BHATTI, H.N.; BILAL, M. Recent advances in the production strategies of microbial pectinases-A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.122, p. 1017- 1026, 2019.
- APASTAMBH, A. R.; BAIG, M. M. V. Proteolytic enzyme production by *Fusarium oxysporium* under solid-state fermentation. **International Journal of Life Sciences and Technology**, p. 106-108, 2017.
- ARANDA, E. Promising approaches towards biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons with Ascomycota fungi. **Current Opinion in Biotechnology**, p. 1–8, 2016.
- ARANTES, V., SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnol Biofuels**, 2010.
- AVELAR-PIRES, C.; SIMOES-QUARESMA, J.A.; MACEDO, G.M.M.; XAVIER, M.B.; BRITO, A.C. Revisiting the clinical and histopathological aspects of patients with chromoblastomycosis from the Brazilian amazon region. **Archives of Medical Research**, v. 44, p.302-306, 2013.
- BABIČ, M. N.; ZUPANČIČ, J.; GUNDE-CIMERMAN, N.; DE HOOG, S.; ZALAR, P. Ecology of the Human Opportunistic Black Yeast *Exophiala dermatitidis* Indicates Preference for Human-Made Habitats. **Mycopathologia**, p. 201–212, 2017.

BADALI, H.; GUEIDAN, C.; NAJAFZADEH, M.J.; BONIFAZ, A.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; DE HOOG, G.S. Biodiversity of the genus *Cladophialophora*. **Studies in Mycology**, v. 61, p. 175–191, 2008.

BADALI, H.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; GUARRO, J.; KLAASSEN, C.; MEIS, J.F.; DE HOOG, G.S. *Cladophialophora psammophila*, a novel species of Chaetothyriales with a potential use in the bioremediation of volatile aromatic hydrocarbons. **Fungal Biology**, p.1019–1029, 2011.

BADOTTI, F.; DE OLIVEIRA, F.S.; GARCIA, C.F.; VAZ, A.B.M.; FONSECA, L.C.; NAHUM, L.A.; OLIVEIRA, G.; GÓES-NETO, A. Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). **BMC Microbiology**, 2017.

BAKER, P.; TIROUMALECHETTY, A.; MOHAN, R.; YADAV, A.; SINGH, S.; MISHRA, S.; GUPTA A. Fungal Enzymes for Bioremediation of Xenobiotic Compounds. **Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi**, 2019.

BANERJEE, G.; RAY, A. K. Impact of microbial proteases on biotechnological industries. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, p.119–143, 2017.

BANKEEREE, W.; LOTRAKUL, P.; PRASONGSUK, S.; KIM, S.W.; PUNNAPAYAK, H. Enhanced Production of Cellulase-Free Thermoactive Xylanase Using Corncob by a Black Yeast, *Aureobasidium pullulans* CBS 135684. **Korean Chemical Engineering Research**, 2016.

BARMAN, A.; GOHAIN, D.; BORA, U.; TAMULI, R. Phospholipases play multiple cellular roles including growth, stress tolerance, sexual development, and virulence in fungi. **Microbiological Research**, p. 55- 69, 2018.

BARRIUSO, J.; VAQUERO, M. E.; PRIETO, A.; MARTÍNEZ, M. J. Structural traits and catalytic versatility of the lipases from the *Candida rugosa* -like family: A review. **Biotechnology Advances**, p. 874–885, 2016.

BERLEMONT, R. Distribution and diversity of enzymes for polysaccharide degradation in fungi. **Scientific Reports**, 2017.

BHAT, M.K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v.18, p. 355-83, 2000.

BHATTACHARYYA, U.; PAUL, P.; MUSTAFI, S.; SEN, C.; GUPTA, M.; ROYCHOUDHURY, B. Isolation of pectinolytic fungi from rotten tomato, brinjal and banana. **Biotechnology and Biological Sciences**, 2020.

BI, F.; BARAD, S.; MENT, D.; LURIA, N.; DUBEY, A.; CASADO, V.; GLAM, N.; MÍNGUEZ, J.D.; ESPESO, E.A.; FLUHR, R.; PRUSKY, D. Carbon regulation of environmental pH by secreted small molecules that modulate pathogenicity in phytopathogenic fungi. **Molecular Plant Pathology**, 2016.

BLASI, B.; POYNTNER, C.; RUDAVSKY, T.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; DE HOOG, G.S.; TAFER, H.; STERFLINGER, K. Pathogenic yet environmentally friendly? Black fungal candidates for bioremediation of pollutants. **Geomicrobiology Journal**, v.33, p. 308– 317, 2016.

BLASI, B.; TAFER, H.; KUSTOR, C.; POYNTNER, C.; LOPANDIC, K.; STERFLINGER, K. Genomic and transcriptomic analysis of the toluene degrading black yeast *Cladophialophora immunda*. **Scientific Reports**, 2017.

BON, E.P.S; FERRARA, M.A; CORVO, M.L. Enzimas em biotecnologia –produção, aplicações e mercado. **Editora Interciência**, p 506, 2008.

BONIFAZ, A.; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, D.; PERUSQUÍA-ORTIZ, A.M. Subcutaneous mycoses: chromoblastomycosis, sporotrichosis and mycetoma. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v.8, n.8, p. 619-27, 2010.

BONUGLI-SANTOS, R.C.; VASCONCELOS, M. R. D.; PASSARINI, M. R. Z.; VIEIRA, G.; LOPES, V. C. P.; MAINARDI, P. H.; DOS SANTOS, J. A.; DUARTE, L. D.; OTERO, I. V. R.; YOSHIDA, A. M. D.; FEITOSA, V.A.; PESSOA, A.; SETTE, L. D. Marine-derived fungi: Diversity of enzymes and biotechnological applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 269, p. 1-15, 2015.

BORAL, H.; METIN, B.; DÖĞEN, A.; SEYEDMOUSAVI, S.; ILKIT, M. Overview of selected virulence attributes in *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum* and *Exophiala dermatitidis*. **Fungal Genetics and Biology**, p. 92–107, 2018.

BORMAN, A.; SUMMERBELL, R. *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, and Agents of Superficial Mycoses. **Manual of clinical microbiology**, v. 2, p. 2128-2152.

BRIGHAM, J.; ADNEY, W.; HIMMEL, M.E. Hemicellulases: Diversity and Applications. **Chemistry**, 2018.

CADDICK, M.X.; ARST, H.N.JR. Genes estruturais para fosfatos em *Aspergillus nidulans*. **Genetics Research**, p. 83–91, 1986.

CAI, J.; HE, Y.; YU, X.; BANKS, S. W.; YANG, Y.; ZHANG, X.; YU, Y.; LIU, R.; BRIDGWATER, A. V. Review of physicochemical properties and analytical characterization of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, p. 309–322, 2017.

CANILHA, L.; MILAGRES, A. M. F.; SILVA, S. S. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através da pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, v. 44, p. 48-54, 2010.

CHANDRASERAKAN, M.; THANAGVELU, B.; CHUN, S. C.; SATHIYABAMA, M. Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity. **Journal of General Plant Pathology**, 2016.

CHEN, J.; YI, J.; LIU, L.; YIN, S.; CHEN, R.; LI, M.; YE, C.; ZHANG, Y.; LAI, M. Substrate adaptation of *Trichophyton rubrum* secreted endoproteases. **Microbial pathogenesis**, v. 48, 2010.

CHO, Y.; SRIVASTAVA, A.; OHM, R. A.; LAWRENCE, C. B.; WANG, K.-H.; GRIGORIEV, I. V.; MARAHATTA, S. P. Transcription Factor Amr1 Induces Melanin Biosynthesis and Suppresses Virulence in *Alternaria brassicicola*. **PLoS Pathogens**, 2012.

COPETE-PERTUZ, L. S.; ALANDETE-NOVOA, F.; PLÁCIDO, J.; CORREA-LONDOÑO, G. A.; MORA-MARTÍNEZ, A. L. Enhancement of ligninolytic enzymes production and decolourising activity in *Leptosphaerulina* sp. by co-cultivation with *Trichoderma viride* and *Aspergillus terreus*. **Science of The Total Environment**, p. 1536–1545, 2019.

CORDERO, R. J. B.; CASADEVALL, A. Melanin. **Current Biology**, 2020.

COUGHLANM, P.; LJUNGDAHLL, G. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems. In Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation. **FEMS Symposium**, n. 43, p. 11-30, 1988.

DA SILVA, R.R. Bacterial and Fungal Proteolytic Enzymes: Production, Catalysis and Potential Applications. **Applied Biochemistry Biotechnology**, p. 1–19, 2017.

DA SILVA, R.R.; PEDEZZI, R.; SOUTO, T.B. Exploring the bioprospecting and biotechnological potential of white-rot and anaerobic Neocallimastigomycota fungi: peptidases, esterases, and lignocellulolytic enzymes. **Applied Microbiology Biotechnology**, p. 3089–310, 2017.

DE AZEVEDO, C.M.P.S.; GOMES, R.R.; VICENTE, V.A.; SANTOS, D.W.C.L.; MARQUES, S.G.; NASCIMENTO, M.M.F.; ANDRADE, C.E.W.; SILVA, R.R.; QUEIROZ-TELLES, F.; DE HOOG, G.S. *Fonsecaea pugnacius*, a novel agent of disseminated chromoblastomycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n.8, 2015.

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.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENE, J.; FIGUERAS, M. J. Atlas of Clinical Fungi, 4ª ed. Centraalbureau voor Schimmel cultures, Utrecht/Universitat. Rovira i Virgili, Reus. 2014.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FIGUERAS, M. J. Atlas of clinical fungi, 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Universitat Rovira i Virgili, Utrecht, 2000.

DE HOOG, S.G.; ATTILI-ANGELIS, D.; VICENTE, V.A.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; QUEIROZ-TELLES, F. Molecular ecology and pathogenic potential of *Fonsecaea* Species. **Medical Mycology**, v. 42, p. 405-416, 2004.

DE SOUZA, P.C.; CALONI, C.C.; WILSON, D.; ALMEIDA, R.S. An Invertebrate Host to Study Fungal Infections, Mycotoxins and Antifungal Drugs: *Tenebrio molitor*. **Journal of Fungi**, 2018.

DE SOUZA, R.C. Metagenômica taxonômica e funcional em solos agrícolas do norte do Paraná e do Distrito Federal. Tese (Doutorado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia), Universidade Federal do Paraná, 2016.

DELGADILLO-ORDOÑEZ, N. C.; POSADA-SUÁREZ, R.L.; ELKIN, M.; CEPEDA-HERNÁNDEZ, M.L.; NIEVES JIMENA, S. Aislamiento e identificación de levaduras degradadoras de hidrocarburos aromáticos, presentes en tanques de gasolina de vehículos urbanos. **Revista Colombiana de Biotecnología**, p. 141-151, 2017.

DENG, S.; TSUI, C.K.M.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; YANG, L.; NAJAFZADEH, M.J.; BADALI, H.; LI, R.; HAGEN, F.; MEIS, J.F.; SUN, J.; DOLATABADI, S.; PAPIEROK, B.; PAN, W.; DE HOOG, G.S.; LIAO, W. Global spread of human chromoblastomycosis is driven by recombinant *Cladophialophora carrionii* and predominantly clonal *Fonsecaea* species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.9, 2015.

DORN, G. Genetic analysis of phosphatases in *Aspergillus nidulans*. **Genet. Res. Cambr.**, p. 13–26, 1965.

EFFIONG, T.E.; ABDULSALAMI, M.S.; EGBE, N.E.; BAKARE, V. Screening of Fungi Isolates from Soil, Pulp WasteWater and Rotten Wood for Cellulase Producing Potentials. **Journal of Applied Sciences Environmental Management**, v. 23, 2019.

EISENMAN, H.C.; CASADEVALL, A. Synthesis and assembly of fungal melanin. **Applied Microbiology Biotechnology**, p. 931–940, 2012.

EKKERS, D. M.; CRETOIU, M. S.; KIELAK, A. M.; VAN ELSAS, J. D. The great screen anomaly—a new frontier in product discovery through functional metagenomics. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 1005-1020, 2012.

EL ENSHASY, H. A.; HANAPI, S. Z.; ABDEL GALIL, S. A.; MALEK, R. A.; PAREEK, A. Mycoremediation: Decolourization Potential of Fungal Ligninolytic Enzymes. **Mycoremediation and Environmental Sustainability**, p. 69–104, 2017.

ELISASHVILI, V.; KACHLISHVILI, E. Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white-rot Basidiomycetes. **Journal of Biotechnology**, v. 144, p. 37-42, 2009.

FENG, P.; DE HOOG, G.S. *Fonsecaea* and Chromoblastomycosis. **Current Progress in Medical Mycology**, 2017.

FORNARI, G.; GOMES, R.R.; DEGENHARDT-GOLDBACH, J.; SANTOS, S.S.D.; ALMEIDA, S.R.D.; SANTOS, G.D.D.; MURO, M.D.; BONA, C.; SCOLA, R.H.; TRINDADE, E.S.; BINI, I.H.; FERREIRA-MABA, L.S.; KESTRING, D.R.; NASCIMENTO, M.M.F.D.; LIMA, B.J.F.D.S.; VOIDALESKI, M.F.; STEINMACHER, D.A.; SOLEY, B.D.S.; DENG, S.; BOCCA, A.L.; DA SILVA, M.B.; SALGADO, C.G.; DE AZEVEDO, C.M.P.S.; VICENTE, V.A.; DE HOOG, S. A Model for Trans-Kingdom Pathogenicity in *Fonsecaea* Agents of Human Chromoblastomycosis. **Frontiers Microbiology**, 2018.

FURUIE, J.L.; SUN, J.; DO NASCIMENTO, M.F.; GOMES, R.R.; WACULICZANDRADE, C. E.; SESSEGOLO, G. C.; RODRIGUES, A.M.; GALVÃO-DIAS, M.A.; DE CAMARGO, Z.P.; QUEIROZ-TELLES, F.; NAJAFZADEH, M.; DE HOOG, S.G.; VICENTE, V. A. Molecular identification of *Histoplasma capsulatum* using rolling circle amplification. **Mycoses**, v.59, p.12–19, 2016.

GARG, G.; SINGH, A.; KAUR, A.; SINGH, R.; KAUR, J.; MAHAJAN, R. Microbial pectinases: an ecofriendly tool of nature for industries. **3 Biotech**, 2016.

GEOFFRY, K.; ACHUR, R. N. Screening and production of lipase from fungal organisms. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 241–253, 2018.

GIMENES, V.M.F.; SOUZA, M.G.; FERREIRA, K.S.; MARQUES, S.G.; GONÇALVES, A.G.; SANTOS, D.V.C.L.; SILVA, C.M.P.; ALMEIDA, S.R. Cytokines and lymphocyte proliferation in patients with different clinical forms of chromoblastomycosis. **Microbes and Infection**, v.7 p. 708-713, 2005.

GOMES, R. R.; VICENTE, V.A.; AZEVEDO, C.M.; SALGADO C.G.; DA SILVA M.B.; QUEROZ-TELLES, F.; MARQUES, S.G.; SANTOS D.W.; DE ANDRADE, T.S.; TAKAGI, E.H.; CRUZ, K.S.; FORNARI, G.; HAHN, R.C.; SCROFERNEKER, M.L; CALIGINE, R.B.; RAMIREZ- CASTRILLON, M.; DE ARAÚJO, D.P.; HEIDRICH, D.; COLOMBO, A.L.; DE HOOG, G.S. Molecular Epidemiology of Agents of Human Chromoblastomycosis in Brazil with the Description of Two Novel Species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, p. 1-20, 2016.

GONÇALVES, I.; SILVA, C.; CAVACO-PAULO, A. Ultrasound enhanced laccase applications. **Green Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 1362-1374, 2015.

GONZÁLEZ, G. M.; ROJAS, O.C.; GONZÁLEZ, J.G.; KANG, Y.; DE HOOG, G.S. Chromoblastomycosis caused by *Rhinocladiella aquaspersa*. **Medical Mycology Case Reports**, v. 2, p.148–151, 2013.

GOODWIN, S.; MCPHERSON, J. D.; MCCOMBIE, W. R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. **Nature Reviews Genetics**, p. 333–351, 2016.

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

GRANATO, M. Q.; MASSAPUST, P. A.; ROZENTAL, S.; ALVIANO, C. S.; SANTOS, A. L. S.; KNEIPP, L. F. 1,10-phenanthroline inhibits the metallopeptidase secreted

by *Phialophora verrucosa* and modulates its growth, morphology and differentiation. **Mycopathologia**, p. 231–242, 2015.

GUAN, G.-Q.; ZHAO, P.-X.; ZHAO, J.; WANG, M.-J.; HUO, S.-H.; CUI, F.-J.; JIANG, J.-X. Production and Partial Characterization of an Alkaline Xylanase from a Novel Fungus *Cladosporium oxysporum*. **BioMed Research International**, p. 1–7, 2016.

GUERRIERO, G.; HAUSMAN, J.-F.; STRAUSS, J.; ERTAN, H.; SIDDIQUI, K. S. Lignocellulosic biomass: Biosynthesis, degradation, and industrial utilization. **Engineering in Life Sciences**, p. 1–16, 2017.

GUPTA, P.K.; CHOUDHARY, S.; CHANDRANANTHI, C.; EVELINE, J.S.; SUSHMITHA, S.P.; HIREMATH, L.; SRIVASTAVA, A.K.; KUMAR, S.N. Fungal Biodiversity Producing Xylanase Enzymes Involved in Efficient Uses of Xylanolysis. **Mycodegradation of Lignocelluloses**, p. 51-63, 2019.

GUPTA, R.; BEG, Q.K; LORENZ, P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. **Applied Microbiology Biotechnology**, p.15-32, 2002.

GUTARRA, M. L. E.; GODOY, M.G.; MAUGERI, F.; RODRIGUES, M.L.; FREIRE, D.M.; CASTILHO, LR. Production of an acidic and thermostable lipase of the mesophilic fungus *Penicillium simplicissimum* by solid-state fermentation. **Bioresource technology**, v. 100, p. 5249-5254, 2009.

HAMZEHEI, H.; YAZDANPARAST, S.A.; DAVOUDI, M.M.; KHODAVAISY, S.; GOLEHKHEYLI, M.; ANSARI, S.; DE HOOG, G.S.; BADALI, H. Use of rolling circle amplification to rapidly identify species of *Cladophialophora* potentially causing human infection. **Mycopathologia**, v. 175, p. 431-438; 2013.

HAN, L.; TAN, Y.; MA, W.; NIU, K.; HOU, S.; GUO, W.; LIU, Y.; FANG, X. Precision engineering of the transcription factor Cre1 in *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*) for efficient cellulase production in the presence of glucose. **BioRxynv**, 2020.

HANDELSMAN, J.; RONDON, M. R.; BRADY, S. F.; CLARDY, J.; GOODMAN, R. M. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. **Chemistry & Biology**, p. 245–249, 1998.

HANSKON, A.; NGAMSKULRUNGROJ, P.; ANGKASEKWINAI, P. Contribution of laccase expression to immune response against *Cryptococcus gattii* infection. **Infection and immunity**, 2019.

HASSAN MOUBASHER, A.-A.; MOHAMED MOHARRAM, A.; AHMED ISMAIL, M.; HAMDY ABDEL-HAFEEZ, M. "Soil fungi in banana plantations in assiut governorate and some enzymatic potential of the most common species". **Journal of Basic and Applied Research International**, p. 51-65, 2015.

HAY, R.J.; ASHBEE, H.R. Fungal Infections. **Rook's Textbook of Dermatology**, 2016.

HEIDRICH, D.; GONZÁLEZ, G.M.; PAGANIC, D.M.; RAMÍREZ-CASTRILLÓN, M.; SCROFERNEKERA, M. L. Chromoblastomycosis caused by *Rhinocladiella similis*: Case report. **Medical Mycology Case Reports**, v.16, p. 25–27, 2017.

HIMMEL, M.E.; ADNEY, W.S.; BAKER, J.O.; NIEVES, R.A.; THOMAS, S.R. Cellulases: Structure, Function and Application. **Engineering & Technology, Environment & Agriculture**, 2018.

HUANG, X.; LIU, Y.; XI, L.; ZENG, K.; MYLONAKIS, E. *Galleria mellonella* as a model invertebrate host for the study of muriform cells of dematiaceous fungi. **Future Microbiology**, p.1021–1028, 2018.

IFITIKHAR, T.; ABDULLAH, R.; IQTEDAR, M.; KALEEM, A.; AFTAB, M.; NIAZ, M.; SIDRA.; TABASSUM, B.; MAJEED, H. Production of lipase by *Alternaria* sp. (mb1 2810) through optimization of environmental conditions using submerged fermentation technique. **International Journal of Biosciences**, v.7, p. 178-186, 2015.

IRINYI, L.; SERENA, C.; GARCIA-HERMOSO, D.; ARABATZIS, M.; DESNOS-OLLIVIER, M.; VU, D.; CARDINALI, G.; ARTHUR, I.; NORMAND, A.C.; GIRALDO, A.; DA CUNHA, K.C.; SANDOVAL-DENIS, M.; HENDRICKX, M.; NISHIKAKU, A.S.; DE AZEVEDO MELO, A.S.; MERSEGUEL, K.B.; KHAN, A.; PARENTE ROCHA, J.A.; SAMPAIO, P.; DA SILVA BRIONES, M.R.; FERREIRA, R.C.; DE MEDEIROS MUNIZ, M.; CASTAÑÓN-OLIVARES, L.R.; ESTRADA-BARCENAS, D.; CASSAGNE, C.; MARY, C.; DUAN, S.Y.; KONG, F.; SUN, A.Y.; ZENG, X.; ZHAO, Z.; GANTOIS, N.; BOTTEREL, F.; ROBERTSE, B.; SCHOCH, C.; GAMS, W.; ELLIS, D.; HALLIDAY, C.; CHEN, S.; SORRELL, T.C.; PIARROUX, R.; COLOMBO, A.L.; PAIS, C.; DE HOOG, G.S.; ZANCÓPE-OLIVEIRA, R.M.; TAYLOR, M.L.; TORIELLO, C.; DE ALMEIDA SOARES, C.M.; DELHAES, L.; STUBBE, D.; DROMER, F.; RANQUE, S.; GUARRO, J.; CANO-LIRA, J.F.; ROBERT, V.; VELEGRAKI, A.; MEYER, W. . International Society of Human and Animal Mycology (ISHAM)-ITS reference DNA barcoding database—the quality controlled standard tool for routine identification of human and animal pathogenic fungi. **Medical Mycology**, 2015.

ISLAM, R.; DATTA, B. Diversity of chitinases and their industrial potential. **International Journal of Applied Research**, p. 55- 60, 2015.

IYALLA, C. A review of the virulence factors of pathogenic fungi. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, 2016.

JACOBSON E, S. Pathogenic roles for fungal melanins. **Clinical Microbiology Veterinary**, v. 13, p.708–717, 2000.

JAEGER, K.E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. **Current Opinion In Biotechnology**, p.390-397, 2002.

JIANG, H.; LIU, N.; LIU, G.; CHI, Z.; WANG, J.M.; ZHANG, L.L.; CHI, Z. M. Melanin production by a yeast strain XJ5-1 of *Aureobasidium melanogenum* isolated from the Taklimakan desert and its role in the yeast survival in stress environments. **Extremophiles**, p. 567–577, 2016.

KELLER, N.P. Fungal secondary metabolism: regulation, function, and drug discovery. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, 2019.

KRASOWSKA, A.; SIGLER, K. How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 2014.

KRZYSCIĄK, P. M.; PINDYCKA-PIASZCZYŃSKA, P.; PIASZCZYŃSKI, M., Chromoblastomycosis, **Postępy Dermatologii i Alergologii**, v. 5, p. 310-21, 2014.

KUMAR, A. Myco-Degradation of Lignocellulose: An Update on the Reaction Mechanism and Production of Lignocellulolytic Enzymes by Fungi. **Mycodegradation of Lignocelluloses**, p.81-117, 2019.

KUMAR, S; KATTIYAR, N.; INGLE, P.; NEGI, S. Use of evolutionary operation (evop) factorial design technique to develop a bioprocess using grease waste as a substrate for lipase production. **Bioresource technology**, v. 102, n. 7, p. 4909-4912, 2011.

LEBRERO, R.; LÓPEZ, J.C.; LEHTINEN, I.; PÉREZ, R.; QUIJANO, G.; MUÑOZ, R. Exploring the potential of fungi for methane abatement: performance evaluation of a fungal-bacterial biofilter. **Chemosphere**, p. 97–106, 2016.

LEE, T.I.; YOUNG, R. A. Transcriptional Regulation and Its Misregulation in Disease. **Elsevier**, v. 152, n. 6, p.1237-1251, 2013.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2014. 1336 p.

LEITE, R. S. R.; ALVES-PRADO, H. F.; CABRAL, H.; PAGNOCCA, F.C.; GOMES, E.; DA-SILVA, R. Production and characteristics comparison of crude β -glucosidases produced by microorganisms *Thermoascus aurantiacus* e *Aureobasidium pullulans* in agricultural wastes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 6, p. 391–395, 2008.

LI, Y.; LIU, T.; ZHAO, M.; ZHANG, H.; FENG, F. Screening, purification, and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* isolated from stuffed buns steamers. **Journal of Zhejiang University-Science B**, p.332–342, 2019.

LIBERT, X.; CHASSEUR, C.; PACKEU, A.; BUREAU, F.; ROOSENS, N. H.; DE KEERSMAECKER, S. J. C. A molecular approach for the rapid, selective and sensitive detection of *Exophiala jeanselmei* in environmental samples: development and performance assessment of a real-time PCR assay. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 1377–1392, 2016.

LIMA, B.J.F.D.S.; VOIDALESKI, M.F.; GOMES, R.R.; FORNARI, G.; BARBOSA SOARES, J.M.; BOMBASSARO, A.; SCHNEIDER, G.X.; SOLEY, B.D.S.; AZEVEDO, C.D.M.P.E.S.D.; MENEZES, C.; MORENO, L.F.; ATTILI-ANGELIS, D.; KLISIEWICZ, D.D.R.; HOOG, S.D.; VICENTE, V.A. Selective isolation of agents of

chromoblastomycosis from insect-associated environmental sources. **Fungal Biology**, 2020.

LIPKE, P. What We Do Not Know about Fungal Cell Adhesion Molecules. **Journal of Fungi**, 2018.

LIU, X.; KOKARE, C. Microbial Enzymes of Use in Industry. **Biotechnology of Microbial Enzymes**, p.267–298, 2017.

LOZANO-TORRES, J. L.; WILBERS, R. H.; GAWRONSKI, P.; BOSHOFEN, J. C.; FINKERS-TOMCZAK, A.; CORDEWENER, J. H.; AMERICA, H.P.A.; OVERMARS, H.A.; KLOOSTER, J.W.V.; BARANOWSKI, L.; SOBCZARK, M.; ILYAS, M.; VAN DER HOORN, R.A.L.; SCHOOTS, A.; DE WIT, P.J.G.M.; BAKKER, J.; GOVERSE, A.; SMANT, G. Dual disease resistance mediated by the immune receptor Cf-2 in tomato requires a common virulence target of a fungus and a nematode. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, p. 10119–10124, 2012.

MA, Z.; SONG, T.; ZHU, L.; YE, W.; WANG, Y.; SHAO Y.; DONG, S.; ZHANG, Z.; DOU, D.; ZHENG, X.; TYLER, B.M.; WANG, Y. A *Phytophthora sojae* Glycoside hydrolase 12 protein is a major virulence factor during soybean infection and is recognized as a PAMP. **The Plant Cell**, p. 2057–2072, 2015.

MACH-AIGNER, A. R.; PUCHER, M. E.; STEIGER, M. G.; BAUER, G. E.; PREIS, S. J.; MACH, R. L. Transcriptional Regulation of *xyr1*, Encoding the Main Regulator of the Xylanolytic and Cellulolytic Enzyme System in *Hypocrea jecorina*. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 6554–6562, 2008.

MAHMOOD, R.T.; ASAD, M.J.; ASGHER, M.; GULFRAZ, M.; MUKHTAR, T. Analysis of Lignolytic Enzymes and Decolorization of Disperse Violet S3LR, Yellow Brown S2RFL, Red W4BS, Yellow SRLP and Red S3B by Brown rot fungi. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 54, p. 407-413, 2017.

MALDONADO, R.R.; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; POZZA, E.L.; COSTA, F.A.A.; MAUGERI FILHO, F.; RODRIGUES, M.I. Production of lipase from *Geotrichum candidum* using corn steep liquor in different bioreactors. **Journal of the American Chemical Society**, v. 91, n. 12, p. 1999- 2009, 2014.

MANAVALAN, T.; MANAVALAN, A.; HEESE, K. Characterization of Lignocellulolytic Enzymes from White-Rot Fungi. **Current Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 485-498, 2015.

MARQUES, N. P.; DE CASSIA PEREIRA, J.; GOMES, E.; DA SILVA, R.; ARAÚJO, A. R.; FERREIRA, H.; BOCCHINI, D. A. Cellulases and xylanases production by endophytic fungi by solid state fermentation using lignocellulosic substrates and enzymatic saccharification of pretreated sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, p.66–75, 2018.

MARTINS, M. P.; MARTINEZ-ROSSI, N. M.; SANCHES, P. R.; GOMES, E. V.; BERTOLINI, M. C.; PEDERSOLI, W. R.; ROSSI, A. The pH Signaling Transcription Factor PAC-3 Regulates Metabolic and Developmental Processes in Pathogenic Fungi. **Frontiers in Microbiology**, 2019.

MCCOMBIE, W. R.; MCPHERSON, J. D.; MARDIS, E. R. Next-Generation Sequencing Technologies. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, 2019.
MCGENITY, T. J. Microbial Communities Utilizing Hydrocarbons and Lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology. Ed.1. **Springer Nature Switzerland**, 2019.

MCGINNIS, M.R.; LEMON, S.M.; WALKER, D.H.; DE HOOG, G.S.; HAASE, G. Fatal cerebritis caused by a new species of *Cladophialophora*. **Stud Mycol**, p.166–171, 1999.

MEGHWANSI, G. K.; VASHISHTHA, A. Biotechnology of Fungal Lipases. **Fungi and Their Role in Sustainable Development: Current Perspectives**, p.383–411, 2018.

MEHRA, R.; MUSCHIOLO, J.; MEYER, A. S.; KEPP, K. P. A structural-chemical explanation of fungal laccase activity. **Scientific Reports**, 2018.

MEHTA, A.; BODH, U.; GUPTA, R. Fungal lipase: a review. **Journal of Biotech Research**, p. 58- 77, 2017.

MENDES, D.B. Seleção de fungos filamentosos produtores de lipases com potencial de aplicação para a produção de biodiesel por catálise enzimática. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) Universidade Federal do Tocantins, 2019.

MERCER, D.K.; STEWART, C.S. Keratin hydrolysis by dermatophytes. **Medical Mycology**, v. 57, p. 13-22, 2019.

MEYER, W.; IRINYI, L.; HOANG, M. T. V.; ROBERT, V.; GARCIA-HERMOSO, D.; DESNOS-OLLIVIER, M.; YURAYART, C.; TSANG, C.C.; LEE, C.Y.; WOO, C.Y.P.; PCHELIN, I.M.; UHRLAB, S.; NENOFF, P.; CHINDAMPORN, A.; CHEN, S.; HEBERT, P.D.N.; SORRELL, T. C. Database establishment for the secondary fungal DNA barcode -Translational Elongation Factor 1 α (TEF1 α). **Genome**, 2019.

MISHRA, A.; KUMAR, S.; BHATNAGAR, A. Potential of Fungal Laccase in Decolorization of Synthetic Dyes. **Microbial Wastewater Treatment**, p. 127–15, 2019.

MONOD, M.; CAPOCCIA, S.; LÉCHENNE, B.; ZAUGG, CH.; HOLDOM, M. Secreted proteases from pathogenic fungi. **International Journal of Medical Microbiology**, p. 405- 419, 2002.

MORENO, L. F.; VICENTE, V. A.; DE HOOG, S. Black yeasts in the omics era: Achievements and challenges. **Medical Mycology**, p. 32–41, 2018.

MORENO, L., F.; FENG, P.; WEISS, V. A.; VICENTE, V. A.; STIELOW, B.; DE HOOG, S. Phylogenomic analyses reveal the diversity of laccase-coding genes in *Fonsecaea* genomes. **PLoS ONE**, v. 12, e0171291, 2017.

MORENO, L.F.; AHMED, A.A.O.; BRANKOVICS, B.; CUOMO, C.A.; MENKEN, S.B.J.; TAJ-ALDEEN, S.J.; FAIDAH, H.; STIELOW, J.B.; DE M TEIXEIRA, M.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X, VICENTE, V.A.; DE HOOG, S. Genomic understanding of an infectious brain disease from the desert. **G3**, 2018.

MORI, T.; TSUBOI, Y.; ISHIDA, N. Multidimensional highresolution magic angle spinning and solution-state NMR characterization of ¹³C-labeled plant metabolites and lignocellulose, **Scientific Reports**, p. 1–12, 2015.

MYASOEDOVA, N. M.; RENFELD, Z. V.; PODIEIABLONSKAIA, E. V.; SAMOILOVA, A. S.; CHERNYKH, A. M.; CLASSEN, T.; PIETRUSZKA, J.; KOLOMYTSEVA, M.P.; GOLOVLEVA, L. A. Novel laccase—producing ascomycetes. **Microbiology**, p. 503–511, 2017.

NAGLIK, J.R.; CHALLACOMBE, S.J.; HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. **Microbiol Mol Biol Ver**, v. 67, p.400–28, 2003.

NAJAFZADEH, M. J.; SUN, J.; VICENTE, V.A.; DE HOOG, G.S. Rapid identification of fungal pathogens by rolling circle amplification using *Fonsecaea* as a model. **Mycoses**, v. 54, p. 577–582, 2011b.

NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; VICENTE, V.; XI, L.; VAN DEN ENDE, A. H.; DE HOOG, G.S. *Fonsecaea nubica* sp. nov, a new agent of human chromoblastomycosis revealed using molecular data, **Medical Mycology**, v. 48, p. 800-6, 2010a.

NASCIMENTO, M. M. F. Ecologia Molecular de Leveduras Negras. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

NASCIMENTO, M. M. F.; VICENTE, V.A.; BITTENCOURT, J.V.M.; GELINSKI, J.M.L.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; ROMERO-GÜIZA, M.; FORNARI, D.; GOMES R.R.; SANTOS, G.D.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; DE AZEVEDO, C.D.M.P.S.; DE HOOG, D.S. Diversity of opportunistic black fungi on babassu coconut shells, a rich source of esters and hydrocarbons. **Fungal Biology**, v.121, p. 488-500, 2017.

NATH, A. Prediction and molecular insights into fungal adhesins and adhesin like proteins. **Computational Biology and Chemistry**, p. 333–340, 2019.

NAYAK, S.K.; MISHRA, B.B.; MOHAPATRA, S.; MISHRA, S.S.; PAUL, M.; THATOI, H. Lignolytic Enzymes from Fungus: A Consolidated Bioprocessing Approach for Bioethanol Production. **Frontiers in Soil and Environmental Microbiology**, p. 167-180, 2020.

NEGI, S. Lipases: A Promising Tool for Food Industry. **Green Bio-Processes**, p.181–198, 2018.

NETT, J.E. *Candida auris*: An emerging pathogen “incognito”? **PLoS Pathog**, 2019.

NIGHOJKAR, A.; PATIDAR, M. K.; NIGHOJKAR, S. Pectinases: Production and Applications for Fruit Juice Beverages. **Processing and Sustainability of Beverages**, p. 235–273, 2019.

NIMRICHTER, L.; CERQUEIRA, M.D.; LEITÃO, E.A.; MIRANDA, K.; NAKAYASU, E.S.; ALMEIDA, S.R.; ALMEIDA, I.C.; ALVIANO, C.S.; BARRETO-BERGTER, E.; RODRIGUES, M.L. Structure, cellular distribution, antigenicity, and biological functions of *Fonsecaea pedrosoi* ceramide monohexosides. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 7860–7868, 2005.

NOSANCHUK; J. D., CASADEVALL, A. The contribution of melanin to microbial pathogenesis. **Cell. Microbiol.** v. 5, p. 203–223, 2003.

NOVELLI, P. K.; BARROS, M. M.; FLEURI, L. F. Novel inexpensive fungi proteases: Production by solid state fermentation and characterization. **Food Chemistry**, p. 119–124, 2016.

OMRANE BENMRAD, M.; MOUJEHED, E.; BEN ELHOUL, M.; MECHRI, S.; BEJAR, S.; ZOUARI, R.; JAOUADI, B. Production, purification, and biochemical characterization of serine alkaline protease from *Penicillium chrysogenum* strain X5 used as excellent bio-additive for textile processing. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 1002–1016, 2018.

PALMEIRA, V. F.; GOULART, F. R. V.; GRANATO, M. Q.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; KNEIPP, L. F.; SANTOS, A. L. S. *Fonsecaea pedrosoi* Sclerotic Cells: Secretion of Aspartic-Type Peptidase and Susceptibility to Peptidase Inhibitors. **Frontiers in Microbiology**, 2018.

PALMEIRA, V. F.; KNEIPP, L. F.; ALVIANO, C. S.; SANTOS, A. L. S. The major chromoblastomycosis fungal pathogen, *Fonsecaea pedrosoi*, extracellularly releases proteolytic enzymes whose expression is modulated by culture medium composition: implications on the fungal development and cleavage of key's host structures. **FEMS Immunology Medical Microbiology**, p. 21–29, 2006.

PALOHEIMO, M.; HAARMANN, T.; MÄKINEN, S.; VEHEMAANPERÄ, J. Production of Industrial Enzymes in *Trichoderma reesei*. **Gene Expression Systems in Fungi: Advancements and Applications**, 2016.

PARENTE, J. A.; SALEM-IZACC, S. M.; SANTANA, J. M.; PEREIRA, M.; BORGES, C. L.; BAILÃO, A. M.; SOARES, C. M. A secreted serine protease of *Paracoccidioides brasiliensis* and its interactions with fungal proteins. **BMC microbiology**, 2010.

PASCOAL, A.; ESTEVINHO, L.M.; MARTINS, I.M.; CHOUPINA, A.B., REVIEW: Novel sources and functions of microbial lipases and their role in the infection mechanisms. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, p.119-126, 2018.

PENALVA, M. A.; ARST, H. N. Regulation of Gene Expression by Ambient pH in Filamentous Fungi and Yeasts. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, p. 426–446, 2002.

PENG, F.; PENG, P.; XU, F.; SUN, R.-C. Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 4, p. 879-903, 2012.

PÉREZ, M. M.; GONÇALVES, E. C. S.; VICI, A. C.; SALGADO, J. C. S.; DE MORAES POLIZELI, M. DE L. T. Fungal Lipases: Versatile Tools for White Biotechnology. **Nonparametric Statistics**, p. 361–404, 2019.

PIMENTEL, P.S. S. R. Desenvolvimento de coquetéis enzimáticos a partir de diferentes fungos filamentosos e aplicação na hidrólise da biomassa lignocelulósica. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, 2019.

PINHEIRO, V. E.; MICHELIN, M.; VICI, A. C.; DE ALMEIDA, P. Z.; TEIXEIRA DE MORAES POLIZELI, M.L. *Trametes versicolor* laccase production using agricultural wastes: a comparative study in Erlenmeyer flasks, bioreactor and tray. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2019.

PLÁCIDO, J.; CAPAREDA, S. Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production. **Bioresour. Bioprocess**, 2015.

POLIZELI, M.L.T.M; RAI, M. Fungal Enzymes.1 ed, **Boca Raton** ,2014.

PORTNOY, T.; MARGEOT, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; LE CROM, S.; BEN CHAABANE, F.; LINKE, R.; KUBICEK, C. P. Differential Regulation of the Cellulase Transcription Factors XYR1, ACE2, and ACE1 in *Trichoderma reesei* Strains Producing High and Low Levels of Cellulase. **Eukaryotic Cell**, p.262–271, 2010.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; DE HOOG, G. S.; SUMMERBELL, R. C. Fungal Communities in Hydrocarbon Degradation. **Microbial Communities Utilizing Hydrocarbons and Lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology**, p. 307–342, 2019.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; ROCA, N.; VILLATORO, C.; VERA, L.; DE HOOG, G. S. Prospective application of melanized fungi for the biofiltration of indoor air in closed bioregenerative systems. **Journal of Hazardous Materials**, 2018.

PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; GUIVERNAU, M.; GALLASTEGUI, G.; VIÑAS, M.; DE HOOG, G.S.; ELÍAS, A. Fungal/ bacterial interactions during the biodegradation of TEX hydrocarbons (toluene, ethylbenzene and p-xylene) in gas biofilters operated under xerophilic conditions. **FEMS Microbiology Ecology**, p. 722–734, 2012.

PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; SUMMERBELL, R.; DE HOOG, G.S. Fungi growing on aromatic hydrocarbons: biotechnology's unexpected encounter with biohazard. **FEMS. Microbiology Reviews**, p. 109–130, 2006.

PRUSKY, D.; BARAD, S.; MENT, D.; BI, F. The pH modulation by fungal secreted molecules: a mechanism affecting pathogenicity by postharvest pathogens. **Israel Journal of Plant Sciences**, p. 22–30, 2016.

QUEIROZ-TELLES, F. Chromoblastomycosis: A Neglected Tropical Disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 57(19), p. 46-50, 2015.

QUEIROZ-TELLES, F.; DE HOOG, S.G.; SANTOS, D.C.; SALGADO, C.G.; VICENTE, V.A.; BONIFAZ, A.; ROILIDES, E.; XI, L.; AZEVEDO, A.M.P; SILVA, M.B.; PANA, Z.D.; COLOMBO, A.L.; WALSH, T. J. Chromoblastomycosis: a neglected global disease. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, p. 233-276, 2017.

QUEIROZ-TELLES, F.; HOOG, G. S.; SANTOS, D. W. C. L.; SALGADO, C. G.; VICENTE, V. A.; BONIFAZ, A.; ROILIDES, E.; XI, L.; AZEVEDO, C. M. P. S.; SILVA, M. B.; PANA, Z. D.; COLOMBO, A. L.; WALSH, T. J. Chromoblastomycosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 233-276, 2017b.

QUEIROZ-TELLES, F.; SANTOS, D.W.C.L. Chromoblastomycosis in the Clinical Practice. **Current Fungal Infection Reports**, v.6, p.312-9, 2012.

RALPH, J.; LAPIERRE, C.; BOERJAN, W. Lignin structure and its engineering **Current Opinion in Biotechnology**, v. 56, p. 240- 249, 2019.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial peptidases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 03, p. 597–635, 1998.

RAULO, R.; KOKOLSKI, M.; ARCHER, D. B. The roles of the zinc finger transcription factors XlnR, ClrA and ClrB in the breakdown of lignocellulose by *Aspergillus niger*. **AMB Express**, 2016.

RAWLINGS, N. D.; BATEMAN, A. Origins of peptidases. **Biochimie**, 2019.

REBELLO, S.; ANJU, M.; ANEESH, E.M.; SINDHU, R.; BINOD, P.; PANDEY, A. Recent advancements in the production and application of microbial pectinases: an overview. **Reviews Environmental Science Biotechnology**, p. 381–394, 2017.

REVANKAR, S. G. *Cladophialophora bantiana* brain abscess in an immunocompetent patient. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 22(4), p. 149-150, 2011.

ROBL, D.; DELABONA, P.D.S.; MERGEL, C.M.; ROJAS, J.D.; COSTA, P.D.S; PIMENTEL, I.C.; VICENTE, V.A.; PRADELLA, J.G.D.C.; PADILLA, G. The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. **BMC Biotechnol**, 2013.

RODRÍGUEZ- COUTO, S. Fungal Laccase: A Versatile Enzyme for Biotechnological Applications. **Fungal Biology**, p. 429-457, 2019.

RUIZ, H. A.; RODRÍGUEZ-JASSO, R. M.; HERNANDEZ-ALMANZA, A.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; AGUILAR, C. N. Pectinolytic Enzymes. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**, p. 47–71, 2017.

SAADOUN, I.; DAWAGREH, A.; JARADAT, Z.; ABABNEH, Q. Influence of culture conditions on pectinase production by *Streptomyces* sp (strain J9). **International Journal Life Science and Medical Research**, 2013.

SABARENO LÓPEZ, M; FLORES VILLAVICENCIO, L.L.; SOTO ARREDONDO, K.; BARBOSA SABANERO, G.; VILLAGOMEZ-CASTRO, J.C.; CRUZ JIMENEZ, G.; SANDOVAL BERNAL, G.; TORRES GURRERO, H. Proteases of *Sporothrix schenckii*: Cytopathological effects on a host-cell model. **Revista Iberoamericana Micología**, 2018.

SAHARAN, S.G.; MEHTA, N.; MEENA, P.D. Infection Process, Pathogenesis and Disease Cycle. **Alternaria Diseases of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management**, 2016.

SAJITH, S. An Overview on Fungal Cellulases with an Industrial Perspective. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v.6, 2016.

SALGADO, C. G. Fungal x host interactions in Chromoblastomycosis. **Virulence**, p. 3–5, 2010.

SALGADO, C.G.; SILVA, J.P.; DINIZ, J.A.P.; SILVA, M.B.; COSTA, P.F.; TEIXEIRA, C.; SALGADO, U.I. Isolation of *Fonsecaea pedrosoi* from thorns of *Mimosa pudica*, a probable natural source of chromoblastomycosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, p.33-36, 2004.

SALIHI, A.; ASODEH, A.; ALIABADIAN, M. Production and biochemical characterization of an alkaline protease from *Aspergillus oryzae* CH93. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 827–835, 2017.

SALIHU, A.; ALAM, M.Z.; ABDULKARIM, M.I.; SALLEH, H.M. Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. **Resour Conservation Recycling**, p. 36-44, 2012.

SANTOS, A.L.S.; PALMEIRA, V.F.; ROZENTAL, S.; KNEIPP, L.F.; NIMRICHTER, L.; ALVIANO, D.S.; RODRIGUES, M.L.; ALVIANO, C.S. Biology and pathogenesis of *Fonsecaea pedrosoi*, the major etiologic agent of chromoblastomycosis. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, p.570-591, 2007.

SARMAH, N.; REVATHI, D.; SHEELU, G.; YAMUNA RANI, K.; SRIDHAR, S.; MEHTA, B.V.; SUMANA, C. Recent advances on sources and industrial applications of lipases. **Biotechnology Progress**, p. 5–28, 2017.

SATHYA, T. A.; KHAN, M. Diversity of glycosyl hydrolase enzymes from metagenome and their application in food industry. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 11, p. 2149-2156, 2014.

SAVITHA, S.; SADHASIVAM, S.; SWAMINATHAN, K. Fungal protease: Production, purification and compatibility with laundry detergents and their wash performance. **Journal of the Taiwan Institute Chemical Engineers**, v. 42, p.298-304, 2011.

SCHINDLER, M.; SAWADA, H.; TIETJEN, K.; HAMADA, T.; HAGIWARA, H.; BANABA, S. Melanin Synthesis in the Cell Wall. **Modern Crop Protection Compounds**, p. 879–909, 2019.

SCHNEIDER, G.X.; GOMES, R.R.; BOMBASSARO, A.; ZAMARCHI, K.; VOIDALESKI, M.F.; COSTA, F.F.; LEÃO, A. C. R.; LIMA, B. J. F. S.; SOLEY, B.S.; COLOMBO, I. R.; CÂNDIDO, G. Z.; NAJAFZADEH, M. J.; SUN, J.; DE AZEVEDO, C. M. P. S.; MARQUES, S. G.; DE HOOG, G. S.; VICENTE, V. A. New Molecular Markers Distinguishing *Fonsecaea* Agents of Chromoblastomycosis. **Mycopathologia**, 2019.

SCHOCH, C.L.; SEIFERT, K.A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J.L.; LEVESQUE, C.A.; CHEN, W. Fungal barcoding consortium. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, p. 6241–46, 2012.

SELLA, L.; GAZZETTI, K.; CASTIGLIONI, C.; SCHÄFER, W.; D'OVIDIO, R.; FAVARON, F. The *Fusarium graminearum* Xyr1 transcription factor regulates xylanase expression but is not essential for fungal virulence. **Plant Pathology**, 2015.

SEMENOVA, T. A.; DUNAEVSKY, Y. E.; BELJAKOVA, G. A.; BORISOV, B. A.; SHAMRAICHUK, I. L.; BELOZERSKY, M. A. Extracellular peptidases as possible markers of fungal ecology. **Applied Soil Ecology**, p. 1–10, 2017.

SENTHIVELAN, T.; KANAGARAJ, J.; PANDA, R. C. Recent trends in fungal laccase for various industrial applications: An eco-friendly approach - A review. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, p.19–38, 2016.

SEYEDMOUSAVI, S.; GUILLOT, J.; DE HOOG, G. S. Phaeohyphomycoses, emerging opportunistic diseases in animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, p. 19–35, 2013.

SEYEDMOUSAVI, S.; NETEA, G.M.; MOUTON, J. W.; MELCHERS, W. J. G.; VERWEIJ, P. E.; DE HOOG, G. S. Black yeasts and their filamentous relatives: principles of pathogenesis and host defense. **Clinical Microbiology Reviews**, v.27, p. 527–542, 2014.

SHI, D.; ZHANG, W.; LU, G.; DE HOOG, G.S.; LIANG, G.; MEI, H.; ZHENG, H.; SHEN, Y.; LIU, W. Chromoblastomycosis due to *Fonsecaea monophora* misdiagnosed as sporotrichosis and cutaneous tuberculosis in a pulmonary tuberculosis patient. **Medical Mycology Case Reports**, v.11, p.57–60, 2016.

SING, R.; MITTAL, A.; KUMAR, M.; MEHTA, P.K. Microbial Protease in Commercial Applications. **Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, 2016.

SINGH, A. K.; MUKHOPADHYAY, M. Overview of Fungal Lipase: A Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2011.

SIQUEIRA, I. M.; DE CASTRO, R.J.A.; LEONHARDT, L.C.M.; JERÔNIMO, M.S.; SOARES, A.C.; RAIOL, T.; NISHIBE, C.; ALMEIDA, N.; TAVARES, A.H.; HOFFMAN, C.; BOCCA, A.L. Modulation of the immune response by *Fonsecaea pedrosoi* morphotypes in the course of experimental chromoblastomycosis and their role on inflammatory response chronicity. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, 2017.

SMITH, D. F. Q.; CASADEVALL, A. The Role of Melanin in Fungal Pathogenesis for Animal Hosts. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, 2019.

SNYMAN, C.; THERON, L.; DIVOL, B. Understanding the regulation of extracellular protease gene expression in fungi: a key step towards their biotechnological applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2019.

SONNHAMMER, E.L.; KOONIN, E.V. Orthology, paralogy and proposed classification for paralog subtypes. **Trends Genetics**, 2002.

SOUZA, P.M.D. Produção de proteases por fungos filamentosos isolados do cerrado do centro-oeste brasileiro. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

STELTE, W.; HOLM, J. K.; SANADI, A. R.; BARSBERG, S.; AHRENFELDT, J.; HENRIKSEN, U. B. A study of bonding and failure mechanisms in fuel pellets from diferente biomass resources. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 910-918, 2011.

STERFLINGER, K. Black Yeasts and Meristematic Fungi: Ecology, Diversity and Identification. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. The Yeast Handbook. **Springer**, 2006.

SUN, J.; NAJAFZADH, M.J.; VICENTE, V.A.; XI, L.; DE HOOG, G.S. Rapid detection of pathogenic fungi using loop-mediated isothermal amplification, exemplified by *Fonsecaea* agents of chromoblastomycosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 80, p.19-24, 2010.

SUPPIGER, A.; ESHWAR, A. K.; STEPHAN, R.; KAEVER, V.; EBERL, L.; LEHNER, A. The DSF type quorum sensing signalling system RpfF/R regulates diverse phenotypes in the opportunistic pathogen *Cronobacter*. **Scientific Reports**, 2016.

TAKESHITA, N.; FISCHER, R. The Cytoskeleton and Polarity Markers During Polarized Growth of Filamentous Fungi. **Biology of the Fungal Cell**, v. 8, p.43–62 2019.

TAPRE, A. R.; JAIN, R. K. Pectinases: enzymes for fruit processing industry. **International Food Research Journal**, p. 447-453, 2014.

TEE, C.; SEI, Y.; KAJIWARA, S. Secreted Hydrolytic and Haemolytic Activities of *Malassezia* Clinical Strains. **Mycopathologia**, p. 227–238, 2019.

TEHRANI, S.J.; ALIABADIAN, M.; FATA, A.; NAJAFZADEH, M. J. Rolling circle amplification (RCA): an approach for quick detection and identification of fungal species. **Journal of Mycology Research**, v. 1, p. 55-62, 2014.

TEIXEIRA, M.M.; MORENO, L.F.; STIELOW, B. J.; MUSZEWSKA, A.; HAINAUT, M.; GONZAGA, L.; ABOUELLEIL, A.; PATANÉ, J.S.L.; PRIEST, M.; SOUZA, R.; YOUNG, S.; FERREIRA, K.S.; ZENG, Q.; DA CUNHA, M.M.L.; GLADKI, A. ; BARKER, B.; VICENTE, V.A.; DE SOUZA, E.M.; ALMEIDA, S.; HENRISSAT, B.; VASCONCELOS, A.T.R.; DENG, S.; VOGLMAYR, H.; MOUSSA, T.A.A.; GORBUSHINA, A.; FELIPE, M. S.S.; CUOMO, C. A.; DE HOOG, G. S. Exploring the genomic diversity of black yeasts and relatives (Chaetothyriales, Ascomycota). **Studies in Mycology**, v. 86, p. 1–28, 2017.

TEKPINAR, A. D.; KALMER, A. Utility of various molecular markers in fungal identification and phylogeny. **Nova Hedwigia**, p.187–224, 2019.

THAKUR, J.; GUPTA, R. Improvement of tea leaves fermentation through pectinases. **Acta Microbiol Immunol Hung**, p. 321–334, 2012.

TILBURN, J.; SARKAR, S.; WIDDICK, D.A.; ESPESO, E.A.; OREJAS, M.; MUN-GROO, J.; PEN-ALVA, M.A.; ARST, H.N.JR. The *Aspergillus* PacC zinc finger transcription factor mediates regulation of both acid-and alkaline-expressed genes by ambient pH. **EMBO J.**, p. 779–790, 1995.

TODD, R. B. Regulation of Fungal Nitrogen Metabolism. **Biochemistry and Molecular Biology**, p. 281–303, 2016.

TORRES-GUERRERO, E.; ISA-ISA, R.; ISA, M.; ARENAS, R. Chromoblastomycosis. **Clinics in Dermatology**, v.30, p.403-408, 2012.

TOTH, R.; TOTH, A.; VAGVOLGYI, C.; GACSER, A. *Candida parapsilosis* Secreted Lipase as an Important Virulence Factor. **Current Protein and Peptide Science**, v.18, n.10, p. 1043-1049, 2017.

TOUSHIK, S. H.; LEE, K.-T.; LEE, J.-S.; KIM, K.-S. Functional Applications of Lignocellulolytic Enzymes in the Fruit and Vegetable Processing Industries. **Journal of Food Science**, p. 585–593, 2017.

TREVISAN, H. C. Enzimas como agentes biotecnológicos. Ribeirão Preto. **Editora Legis Summa**. 400p, 2014.

TSUI, C.K.M.; WOODHALL, J.; CHEN, W.; LEVESQUE, C.A.; LAU, A.; SCHOENS, C.D.; BACHIENS, C.; NAJAFZADEH, M.J.; DE HOOG, G.S. Molecular techniques for pathogen identification and fungus detection in the environment. **IMA Fungus**, v. 2, p.177- 189, 2011.

UPADHYAY, P.; SHRIVASTAVA, R.; AGRAWAL, P. K. Bioprospecting and biotechnological applications of fungal laccase. **3 Biotech**, 2016.

VICENTE, V.A.; NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; GOMES, R.R.; ROBL, D.; MARQUES, S.G.; AZEVEDO, C.M.P.S.; DE HOOG, GS. Environmental siblings of black agents of human chromoblastomycosis. **Fungal Diversity**, 2013.

VICENTE, V. A. Isolamento e caracterização de fungos da cromoblastomicose. Tese (doutorado em Agronomia, Área de concentração: Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Universidade de São Paulo, p. 181, 2000.

VICENTE, V. A.; RIBEIRO, O.; NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; GUERRA, R.S.; MIESCH, S.; OSTRENSKY, A.; MEIS, J. F.; KLAASSEN, C. H.; DE HOOG, G.S.; BOEGER, W. A. Black yeast-like fungi associated with lethargic crab disease (LCD) in the mangrove-land crab, *Ucides cordatus* (Ocypodidae). **Veterinary Microbiology**, v. 158, p.109–122, 2012.

VICENTE, V.A.; WEISS, V.A.; BOMBASSARO, A.; MORENO, L. F.; COSTA, F. F.; RAITTZ, R.T.; LEÃO, A.C.; GOMES, R.R.; BOCCA, A.L.; FORNARI, G.; DE CASTRO, R.J.A.; SUN, J.; FAORO, H.; TADRA-SFEIR, M.Z.; BAURA, V.; BALSANELLI, E.; ALMEIDA, S.R.; DOS SANTOS, S.S.; TEIXEIRA, M.D.M.; SOARES, F.M.S.; DO NASCIMENTO, M.M.F.; PEDROSA, F.O.; STEFFENS, M.B.; ATTILI-ANGELIS, D.; NAJAFZADEH, M.J.; QUEIROZ-TELLES, F.; SOUZA, E.M.; DE HOOG, G. S. Comparative genomics of sibling species of *Fonsecaea* associated with human chromoblastomycosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n.1924, 2017.

VOUTILAINEN, S. P.; BOER, H.; LINDER, M. B.; PURANEN, T.; ROUVINEN, J.; VEHEMAANPERA, J.; KOIVULA, A. Heterologous expression of *Melanocarpus albomyces* cellobiohydrolase Cel7B, and random mutagenesis to improve its thermostability. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 3, p. 234–243, 2007.

VOIDALESKI, M.F. Bioprospecção de *Fonsecaea pedrosoi* em amostras ambientais por amplificação em círculo rolante (RCA). Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Paraná- Programa de Pós-graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, 2018.

VYLKOVA, S. Environmental pH modulation by pathogenic fungi as a strategy to conquer the host. **PLOS Pathogens**, 2017.

WADIA, T.; JAIN, S. Isolation, Screening and Identification of Lipase Producing Fungi from Oil Contaminated Soil of Shani Mandir Ujjain. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.6, 2017.

WALKER, D.H.; MCGINNIS, M.R. Diseases caused by fungi. **Pathobiology of Human Disease**, 2014.

WANG, F.; XU, L.; ZHAO, L.; DING, Z.; MA, H.; TERRY, N. Fungal Laccase Production from Lignocellulosic Agricultural Wastes by Solid-State Fermentation: A Review. **Microorganisms**, 2019.

WANG, M.; DANESI, P.; JAMES, T. Y.; AL-HATMI, A. M. S.; NAJAFZADEH, M. J.; DOLATABADI, S.; DE HOOG, S. Comparative pathogenicity of opportunistic black yeasts in *Aureobasidium*. **Mycoses**, 2019.

- WANG, J.; LOVETT, B.; RAYMOND, J.; LEGER, ST. The secretome and chemistry of *Metarhizium*; a genus of entomopathogenic fungi. **Fungal Ecology**, p.7-11, 2019.
- WARD, O. P.; RAO, M. B.; KULKARNI, A. Proteases, Production. **Encyclopedia of Microbiology**, p. 495-511, 2009.
- XIONG, Y.; WU, V. W.; LUBBE, A.; QIN, L.; DENG, S.; KENNEDY, M.; GLASS, N. L. A fungal transcription factor essential for starch degradation affects integration of carbon and nitrogen metabolism. **PLOS Genetics**, 2017.
- XU, X.; FAN, C.; SONG, L.; LI, J.; CHEN, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, W. A Novel CreA-Mediated Regulation Mechanism of Cellulase Expression in the Thermophilic Fungus *Humicola insolens*. **International Journal of Molecular Sciences**, 2019.
- XUE, D.; LIN, D.; GONG, C.; PENG, C.; YAO, S. Expression of a bifunctional cellulase with exoglucanase and endoglucanase activities to enhance the hydrolysis ability of cellulase from a marine *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, p.115–122, 2016.
- ZAJC, J.; GOSTINČAR, C.; ČERNOŠA, A.; GUNDE-CIMERMAN, N. Stress-Tolerant Yeasts: Opportunistic Pathogenicity Versus Biocontrol Potential. **Genes**, 2019.
- ZALAR, P.; NOVAK, M.; DE HOOG, G.S.; GUNDE-CIMERMAN, N. Dishwashers a manmade ecological niche accommodating human opportunistic fungal pathogens. **Fungal Biology**, v. 115, p. 997–1007, 2011.
- ZHANG, T.; WANG, N.-F.; LIU, H.-Y.; ZHANG, Y.-Q.; YU, L.-Y. Soil pH is a key determinant of soil fungal community composition in the Ny-Ålesund region, svalbard (High Arctic). **Frontiers Microbiology**, 2016.
- ZHANG, Y.; TANG, B.; DU, G. Production of Cellulases by *Rhizopus stolonifer* from Glucose-Containing Media Based on the Regulation of Transcriptional Regulator CRE. J. **Microbiology Biotechnology**, 2017.

**CAPÍTULO II: PERFIL ENZIMÁTICO DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea*
RELACIONADOS À DOENÇA CROMOBLASTOMICOSE**

PERFIL ENZIMÁTICO DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* RELACIONADOS À DOENÇA CROMOBLASTOMICOSE

Isabelle Cristina Lopes da Silva¹, Morgana F. Voidaleski¹, Gabriela Xavier Schneider¹, Edson José Mazarotto¹, Conceição de Maria Pedrozo e Silva de Azevedo², Diogo Robl³, Sybren De Hoog⁴, Vânia Aparecida Vicente^{1*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia; Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Patologia Básica; Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

² Departamento de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, Vila Bacanga, Maranhão, Brasil.

³ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

⁴ Micologia Médica, Centro de Biodiversidade Fúngica, Utrecht, Holanda.

* Autor correspondente: Vânia Aparecida Vicente

RESUMO

O gênero *Fonsecaea* possui espécies que estão associadas ao desenvolvimento da cromoblastomicose, assim como espécies que são agentes causais de infecção disseminada em animais, além de espécies consideradas sapróbias de origem ambiental. A cromoblastomicose é a principal doença causada pelas leveduras negras deste gênero, é uma micose subcutânea crônica que está diretamente relacionada com a exposição dos trabalhadores rurais ao material vegetal contaminado. Análises genômicas comparativas de leveduras negras do gênero *Fonsecaea* demonstram a presença de genes que codificam enzimas associadas a dupla ecologia apresentada por esse grupo de fungos exibindo um perfil tolerante a nichos ambientais extremos e um perfil patógeno oportunista quando em tecido hospedeiro. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo quantificar a atividade enzimática das leveduras negras do gênero *Fonsecaea* e avaliar a associação destas enzimas com a ecologia, patogenicidade e o potencial biotecnológico destes fungos. A partir do método de cultivo submerso as linhagens foram cultivadas em condições similares as encontradas no meio ambiente e no hospedeiro animal e através da análise estatística utilizando teste Tukey ($p < 0,05$) observamos que a espécie *F. pedrosoi* apresentou um perfil enzimático maior para as enzimas protease (4149 mg tripsina/mg), lipase (0,69 U/mg) e lacase (1,25 U/mg) em comparação com as demais linhagens cultivadas no meio BHI, assim como também foi observado a capacidade de produzir pectinase em um meio lignocelulósico. Esses dados evidenciam a patogenicidade e a presença desta espécie no meio ambiente. No meio contendo substrato lignocelulósico foi observado maior produção de protease, lipase e lacase pelas linhagens de origem clínica *F. brasiliensis* CBS 119710 e *F. multimorphosa* CBS 980.96 e de origem ambiental *F. erecta* CBS 125763 e *F. monophora* CMRP 2543 evidenciando assim um perfil oportunista destas linhagens. As linhagens apresentaram crescimento em ambos os meios testados, sendo que o meio contendo coco babaçu se demonstrou um excelente substrato para o cultivo de leveduras negras. Esses dados corroboram com a hipótese de que os fungos dematiáceos são capazes de degradar substratos vegetais e animais e associação destas com a ecologia e patogenicidade deste grupo de fungos.

Palavras-chave: Cromoblastomicose; *Fonsecaea* sp.; Hidrolases; Oxidases; Ecologia; Patogenicidade.

ABSTRACT

The genus *Fonsecaea* colonize niches in the environment and some species are associated with the development of chromoblastomycosis, as well as species that are agents that cause disseminated infection in animals. Chromoblastomycosis is the main disease caused by black yeasts of this genus, it is a chronic subcutaneous mycosis that is directly related to the exposure of agricultural workers and contaminated plant material. Comparative genomic analysis of black yeasts of the genus *Fonsecaea* demonstrate the presence of genes that encode enzymes associated with double ecology. Thus, this work aimed to quantify an enzymatic activity of black yeasts of the genus *Fonsecaea* and to evaluate an association of these enzymes with ecology, pathogenic and biotechnological potential of these fungi. The strains from the environment and animal hosts were cultivated using the submerged culture method under similar conditions and the enzymatic activity was due to statistical Tukey test ($p < 0.05$). The results observed from the analysis of *F. pedrosoi* shows a higher enzyme profile for protease enzymes (4149 mg trypsin/mg), lipase (0.69 U/mg) and laccase (1.25 U/mg) compared to other strains grown in BHI medium, as was also observed the ability to produce pectinase in a lignocellulosic medium. These data show the pathogenicity and the presence of this species in the environment. No medium containing lignocellulosic substrate was found to have greater production of protease, lipase and laccase by the strains of clinical origin *F. brasiliensis* CBS 119710 and *F. multimorphosa* CBS 980.96 and environmental origin *F. erecta* CBS 125763 and *F. monophora* CMRP 2543 thus showing an opportunistic profile of these strains. As the studied strains grow in both tested media, the level of coconut shown to be an excellent substrate for cultivation of black yeasts. These data corroborate the hypothesis that the affected fungi are capable of degrading plant and animal substrates and their association with the ecology and pathogenicity of this group of fungi.

Keywords: Chromoblastomycosis; *Fonsecaea* sp.; Genomic; Enzymes; Ecology; Pathogenicity.

1 INTRODUÇÃO

O gênero fúngico *Fonsecaea* é composto por espécies associadas à cromoblastomicose, no qual é caracterizada por uma doença subcutânea ou cutânea crônica em pacientes imunocompetentes em que se desenvolvem lesões nodulares e células acastanhadas multiseptadas resultantes da resposta imune granulomatosa (VICENTE et al., 2013; QUEIROZ-TELLES et al., 2017). O gênero pertence à família Herpotrichiellaceae, no qual também compreendem espécies sapróbias de origem ambiental e agentes causais de infecção disseminada em animais (DE AZEVEDO et al., 2015; GOMES et al., 2016).

Esses fungos possuem um ciclo de vida complexo, podendo estar presentes em condições adversas e extremas, como superfícies rochosas, clima árido e semiárido, nichos tóxicos e patógenos oportunistas (NASCIMENTO et al., 2017; PRENAFETA-BÓLDU et al., 2019). Também são chamados de fungos dematiáceos por apresentarem melanina em sua parede celular, entretanto também possuem a capacidade de assimilar hidrocarbonetos e tolerar a temperatura corporal do hospedeiro (TEIXEIRA et al., 2017). Essas particularidades são consideradas fatores de virulência, pois auxiliam na evasão do sistema imune do hospedeiro durante o processo de infecção (SEYEDMOUSAVI et al., 2014).

A cromoblastomicose é considerada uma doença tropical negligenciada, que está diretamente relacionada com a exposição de trabalhadores rurais ao material vegetal contaminado com as leveduras negras, que através de um trauma são inoculadas no hospedeiro permitindo a hiperproliferação fúngica no tecido epidérmico, caracterizada pela presença de corpos muriformes (WALKER; MCGINNIS; 2014; QUEIROZ-TELLES et al., 2017). O conhecimento sobre a ocorrência ambiental desses agentes infecciosos é essencial para elucidar as vias de infecção da doença, porém estudos demonstram a dificuldade de isolamento dessas espécies clínicas de substratos vegetais, pois na sua maioria são isoladas espécies semelhantes estritamente ambientais (VICENTE et al., 2014; FORNARI et al., 2018; LIMA et al., 2020). A *F. pedrosoi* é a principal espécie relacionada à doença, cuja maior incidência de casos se concentra no estado do Maranhão, Brasil (GOMES et al., 2016).

Os genomas das espécies de *Fonsecaea* demonstram a presença abundante de genes que codificam proteínas com propriedade catalítica como a aldeído desidrogenase e monooxidases, no qual estão associadas ao metabolismo oxidativo

de xenóbioticos, a família das multicobreoxidasas que estão envolvidas no processo de biossíntese da melanina e uma grande variedade de enzimas que degradam polissacarídeos que são complexos presentes na estrutura de vegetais (TEIXEIRA et al., 2017; VICENTE et al., 2017). A existência desses genes no genoma dessas espécies sugere o envolvimento das enzimas na dupla ecologia apresentada por esse grupo de fungos exibindo um perfil tolerante a nichos ambientais extremos e um perfil patógeno oportunista quando no tecido do hospedeiro (BLASI et al., 2016; MORENO et al., 2017).

As enzimas hidrolíticas desempenham um papel importante na adesão e invasão destes agentes infecciosos no hospedeiro, sendo assim considerado também como um fator de virulência (BLASI et al., 2016; SABANERO LÓPEZ et al., 2017). As proteases extracelulares, por exemplo, possuem a capacidade de hidrolisar o colágeno e elastina, que são proteínas responsáveis por manter a estrutura do tecido epidérmico (SNYMAN et al., 2019). As lacases fúngicas, por exemplo, estão envolvidas no processo de degradação da lignina, no qual é um dos constituintes da biomassa vegetal e na biodegradação de compostos aromáticos como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (SHANKAR et al., 2019; PRENAFETA-BÓLDU et al., 2019).

A literatura relata a produção de enzimas hidrolítica e oxidativas a partir do cultivo em meio líquido de fungos melanizados como demonstrado no estudo de Bennamoun e autores (2016) investigaram a atividade de poligalacturonase em *Aureobasidium pullulans* usando como substrato bagaço de tomate. No estudo executado por Saxena e colaboradores (2017) isolados de solo pertencentes ao gênero *Cladosporium* apresentou altos níveis de atividade proteolítica. Em uma análise de atividade enzimática de fungos isolados da Antártica, realizado por Martorell e autores (2018) leveduras negras do gênero *Phialophora* apresentaram atividade de diversas enzimas sendo a xilanase a mais abundante.

As enzimas fúngicas são amplamente utilizadas em processos biotecnológicos e industriais, por apresentarem um processo de produção mais rápido e de menor custo (ARNAU et al., 2020). As lipases fúngicas são utilizadas na indústria de alimentos para a remoção de gorduras de carnes, degomação de óleos vegetais e no tratamento de águas residuais ou efluentes. As peptidases são utilizadas na indústria alimentícia principalmente no amaciamento das carnes e clarificação de cervejas e em outras indústrias como as de detergente, de couro e farmacêutica (SING et al.,

2016). As enzimas responsáveis pela degradação da biomassa vegetal como celulase, hemicelulase e ligninases são utilizadas para a produção de biocombustíveis (SHARMA et al., 2017). As pectinases atuam na degradação de substâncias pécicas durante a produção de sucos de frutas, diminuindo viscosidade e turbidez do produto (REBELLO et al., 2017). As lacases fúngicas se destacam na indústria principalmente na síntese de corantes e polímeros agindo no branqueamento da madeira (POLIZELI; RAI, 2014; MISHRA et al., 2019).

Assim, dentro deste contexto o objetivo deste trabalho é quantificar a atividade enzimática de linhagens do gênero *Fonsecaea*, os quais podem contribuir para elucidar a ecologia, potencial de virulência e determinar espécies potencialmente viáveis para processos industriais de interesse biotecnológico.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 LINHAGENS ESTUDADAS

Neste estudo foram utilizadas linhagens clínicas e ambientais do gênero *Fonsecaea*, depositadas no Centro de Biodiversidade Fúngica (Fungal Biodiversity Centre) /Holanda e na Coleção de Cultura Microbiológicas da Rede Paranaense (CMRP), sumarizadas na Tabela 1. Para controle positivo das atividades enzimáticas foram utilizadas as linhagens *Cladophialophora exuberans* CMRP 1176 e *Aspergillus brasiliensis* ATCC® 16404. As linhagens foram mantidas em ágar Sabouraud a 28 °C.

TABELA 1- LINHAGENS CLÍNICAS E AMBIENTAIS DO GÊNERO *Fonsecaea*

Espécies	Linhagens	Substrato/ Localização
<i>Fonsecaea monophora</i>	CBS 102248	Cromoblastomicose/Paraná, Brasil.
<i>Fonsecaea monophora</i>	CMRP 2543	Casca de coco babaçu/Maranhão, Brasil.
<i>Fonsecaea pedrosoi</i> ^T	CBS 271.37	Cromoblastomicose/América do Sul
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	CMRP 3076	Ninho de cupim/Maranhão, Brasil.
<i>Fonsecaea brasiliensis</i> ^T	CBS 119710	Carangueijo/Sergipe, Brasil.
<i>Fonsecaea brasiliensis</i>	CMRP 2988	Material vegetal em decomposição/Maranhão, Brasil.
<i>Fonsecaea erecta</i> ^T	CBS 125763	Espinho Japécanga (Smilacaceae)/Bacabeira, Maranhão, Brasil.
<i>Fonsecaea multimorphosa</i> ^T	CBS 980.96	Feohifomicose em gato/Queensland, Austrália.
<i>Fonsecaea nubica</i> ^T	CBS 269.64	Cromoblastomicose/Camarões.
<i>Fonsecaea pugnacius</i> ^T	CBS 139214	Lesão de pele, Homem/Cidelandia, Maranhão, Brasil.

FONTE: AUTOR, 2020.

T, linhagem tipo; CMRP, Cultura Microbiológicas de Rede Paranaense; CBS, Fungal Biodiversity Centre.

2.2 SUBSTRATO LIGNOCELULÓSICO

Foi utilizado o substrato o coco babaçu na composição do meio CB, no qual as amostras foram obtidas no estado do Maranhão, Brasil. O epicarpo do coco foi separado do mesocarpo e endocarpo com o auxílio do estilete, sendo retirado fibras lignocelulolítica de comprimento médio de 2 cm, estas foram lavadas duas vezes com água destilada e esterilizados a 121°C por 20 minutos, em seguida foram secas em estufa a 60°C por 12 horas. Posteriormente as fibras lignocelulolíticas do epicarpo do

coco babaçu foram adicionadas na composição do meio CB para a produção do extrato enzimático das linhagens do gênero *Fonsecaea*.

2.3 MEIOS DE CULTIVO

Para a produção do extrato enzimático das linhagens do gênero *Fonsecaea* foram preparados dois meios de cultivo. O meio A contendo 37 g/L⁻¹ do caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) (Kasvi), que é composto por infusão de cérebro e coração, dextrose e peptona e o meio B um meio líquido contendo coco babaçu (CB) com a seguinte composição: 1 g/L⁻¹ de peptona; 1 mL Tween 80; 28 mg/L⁻¹ CuSO₄; 2 g/L⁻¹ KH₂PO₄; 1,4 g/L⁻¹ (NH₄)₂SO₄; 0,3 g/L⁻¹ uréia; 0,3 g/L⁻¹ MgSO₄ · 7H₂O; 0,3 g/L⁻¹ CaCl₂; 5 mg/L⁻¹ FeSO₄ · 7H₂O; 14 mg/L⁻¹; ZnSO₄ · 7H₂O; 16 mg/L⁻¹ MnSO₄ · 7H₂O; 2 mg/L⁻¹ CaCl₂ · 6 H₂O e 10 g/L⁻¹ de fibra lignocelulolítica de coco babaçu. O pH do meio A foi ajustado para 7.4 e do meio B para 5.0 e ambos foram esterilizados a 121°C por 20 minutos.

2.4 PRODUÇÃO DO EXTRATO ENZIMÁTICO

A produção do extrato enzimático das linhagens do gênero *Fonsecaea* foi preparada a partir de uma solução de esporos realizada em microtubos com 1 mL de solução salina a 0,085 % (v/v) e fragmentos 1 cm² de colônias das linhagens cultivadas em ágar Sabouraud por 7 dias, estes foram homogeneizados em agitador de tubos (Fisatom Equipamentos Científicos Ltda.) por 2 minutos e inoculados 1,00 x 10⁶ esporos/mL de meio de cultivo em um Erlenmeyer (250mL) contendo o volume de 100 mL dos meios de cultivo para a produção do extrato enzimático. As linhagens inoculadas no meio A foram incubadas a 37°C enquanto que as linhagens do meio B foram incubadas a 28°C e ambos foram cultivados por 168 horas em um agitador rotativo refrigerado (Nova Técnica Indústria e Comércio de Equipamentos para Laboratório Ltda.) a 150 rpm, foram feitas duplicata dos cultivos para cada linhagem testada. As condições de cultivo estabelecidas no meio A se assemelham as condições encontradas no hospedeiro animal enquanto que as condições do meio B recorda o nicho ambiental das leveduras negras. Foram retiradas alíquotas de 20 mL de ambos os meios de cultivo nos tempos de 72 e 168 horas, estas foram centrifugadas (Nova Técnica Indústria e Comércio de Equipamentos para Laboratório

Ltda.) a 1500 g, 4°C por 15 minutos. As amostras que apresentaram concentrações enzimáticas indetectáveis foram concentradas. Assim, o sobrenadante dos cultivos submersos foram filtrados utilizando um filtro de 40 µm e um dispositivo de ultrafiltração Amicon® Ultra-15 10k (Merck Millipore), seguida de uma centrifugação (Nova Técnica Indústria e Comércio de Equipamentos para Laboratório Ltda.) a 1500 g, 4°C por 40 min, no qual foi separado o extrato enzimático da biomassa fúngica. Foram mensuradas as atividades enzimáticas de protease, lipase, pectinase e lacase, assim como a quantidade de proteínas totais para cada extrato enzimático obtido das linhagens avaliadas.

2.5 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS

A quantidade de proteína foi determinada usando o método descrito por Bradford (1976) com albumina sérica bovina como padrão. A dosagem foi realizada em microplaca de 96 poços, com fundo chato, no qual foi adicionado 80 µL do extrato enzimático e 20 µL do reagente Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad Laboratories) e a leitura da absorbância a 595 nm foi realizada em leitor de microplacas (Celer Biotecnologia S.A) após 5 minutos. O experimento foi realizado em duplicata para cada linhagem avaliada. A quantificação da proteína total presente nos extratos enzimáticos foi verificada mediante a comparação com uma curva padrão, no qual foi construída a partir de diluições crescentes de albumina de soro bovino (BSA) (Sigma-Aldrich) variando de 4 a 80 mg/mL.

2.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

As atividades enzimáticas volumétricas das enzimas: lipase, protease, lacase e pectinase, foram quantificadas considerando uma unidade enzimática como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 µmol do substrato por minuto, por mL. Para fins de padronização a atividade enzimática específica (U/mg proteína) foi calculada a partir dos valores das atividades enzimáticas volumétricas (U/mL⁻¹) dividido pela concentração de proteína total (mg/mL⁻¹) presente nos extratos brutos.

Os resultados de atividade enzimática específica foram analisados no software estatístico GraphPad Prism 8.2.1, no qual foi utilizado uma análise ANOVA de duas vias com post-hoc teste de Tukey considerando um nível de significância de 5%.

Sendo que os gráficos foram expressos em média de atividade enzimática específica das linhagens do gênero *Fonsecaea* juntamente com o erro padrão da média.

2.6.1 Protease

Para o teste enzimático de protease foi utilizado o Kit de Ensaio Colorimétrico de Protease (ThermoFisher Scientific). A atividade total de protease foi expressa em função da quantidade de tripsina (mg de tripsina/mL).

2.6.2 Lipase

Atividade de hidrólise lipolítica foi realizada a partir da adaptação da metodologia descrita por Brabcová et al. (2010). A determinação da atividade enzimática foi feita utilizando o substrato sintético p-nitrofenil palmitato (pNPP). Este método baseia-se na reação de hidrólise do p-nitrofenol palmitato pela enzima lipase formando como produtos ácido palmítico e p-nitrofenol (pNP), cuja presença pode ser quantificada por espectrofotometria.

O teste foi realizado em microplaca com 96 poços, com fundo V, adicionado uma mistura de reação contendo 50 uL da solução substrato 6,6 mg de p-nitrofenil palmitato (Sigma-Aldrich) diluído em 10 mL de Tampão borato (pH 8,0), misturado com 800 uL de álcool isopropílico, 200 uL Triton X-100 (Sigma-Aldrich) e 5,5 mg de goma arábica (Sigma-Aldrich) e 100 uL do extrato enzimático bruto e incubadas no termociclador (Thermo Fisher Scientific) a 30°C por 60 minutos. O experimento foi realizado em triplicata para cada extrato bruto avaliado. Para a inativação enzimática a microplaca com 96 poços, com fundo V, foi incubada no termociclador (Thermo Fisher Scientific) a 100°C por 4 minutos e em seguida realizado a leitura da absorbância a 410 nm em leitor de microplaca (Celer Biotecnologia S.A).

Os valores de absorbância obtido na atividade lipolítica das amostras foram comparados com uma curva padrão de p-nitrofenol em diferentes concentrações, no qual foi considerado que uma unidade de lipase foi definida como a quantidade de p-nitrofenol liberado (1 μ mol) por minuto, nas condições do ensaio.

2.6.3 Lacase

A atividade enzimática de lacase foram realizadas tendo como base o estudo de Karp et al. (2012). A reação enzimática de lacase foi realizada em uma cubeta de quartzo 10 mm, no qual foi adicionado uma mistura contendo 100 uL de uma solução do substrato sintético ABTS (Sigma-Aldrich) (2,2-azino-bis-3- etilbenzotiazolina-6-sulfônico) a 20 mM em tampão citrato de sódio (0,1 M pH 3,0), 100 uL dos extratos fúngicos e 800 uL do tampão citrato de sódio (pH 3,0). As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV/VIS (BEL Engineering LTD) a 420 nm ($\epsilon = 3,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) durante o período de 1 minuto. Uma unidade de atividade enzimática é definida como quantidade (em μmol) de produto liberado (ABTS oxidado) por minuto por mL de amostra.

2.6.4 Pectinase

A atividade enzimática de pectinase foi adaptada segundo a metodologia proposta por Miller et al. (1959). O princípio do método de dosagem dos açúcares redutores pelo 3,5- dinitro salicilato (DNS), consiste em uma reação de oxirredução cuja a enzima cede elétrons para reduzir o reagente DNS a 3-amino-5-nitro-salicilato, podendo ser quantificada por espectrofotometria.

A reação enzimática foi realizada em microplaca de 96 poços, com fundo V, no qual foi adicionado 40 uL de Tampão citrato (0,05 mol/L pH 4,8), 50 uL da solução de polissacarídeo contendo pectina cítrica (Sigma-Aldrich), 10 uL dos extratos fúngicos e incubadas no termoclicador (Thermo Fisher Scientific) a 37°C por 10 minutos. Para inativação da enzima foi adicionado 100 uL da solução de ácido 3-5-dinitrosalicílico (DNS) (Sigma-Aldrich) e incubado no termociclador (Thermo Fisher Scientific) a 95°C por 5 minutos. As leituras de absorbância foram realizadas em leitor de placas (Celer Biotecnologia S.A) a 540 nm e o experimento foi realizado em triplicata para cada linhagem selecionada.

A atividade enzimática de pectinase foi determinada a partir da quantidade de açúcares redutores liberados a partir da reação com o substrato de polissacarídeo, utilizando a glicose como padrão.

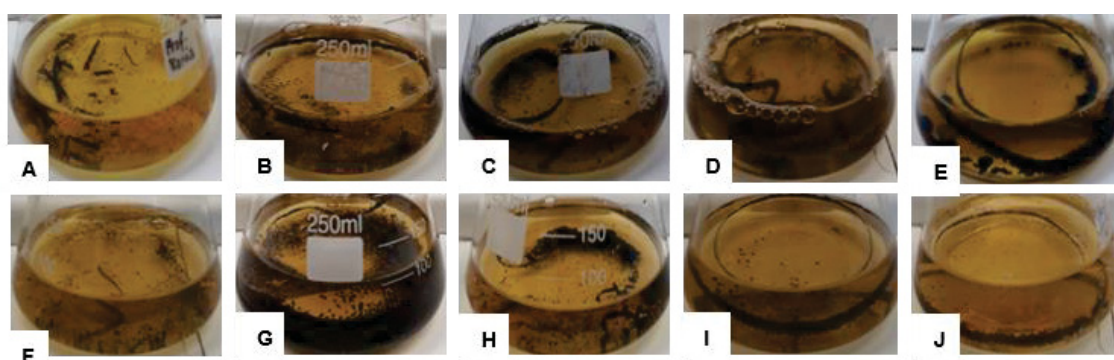
3 RESULTADOS

3.1 CULTIVO SUBMERSO E PROTEÍNA TOTAL

As linhagens do gênero *Fonsecaea* apresentaram crescimento em ambos os meios de cultivo testados para produção enzimática, como demonstrada na Figura 7 e 8.

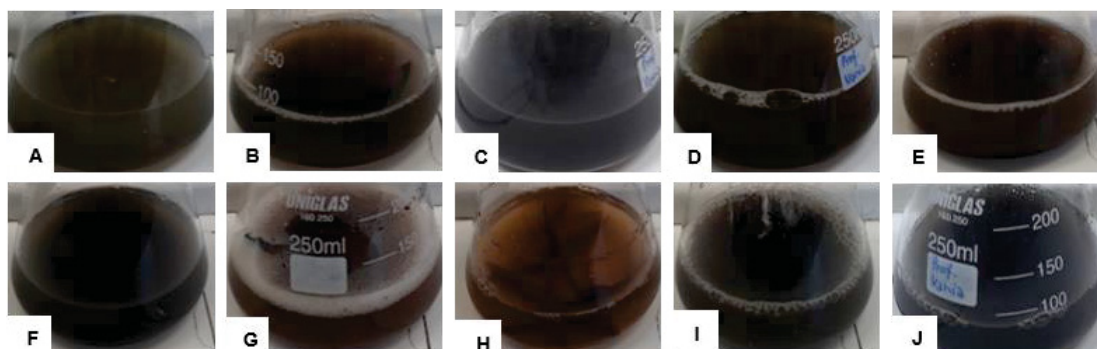
No meio caldo BHI a biomassa fúngica formada apresentou características de crescimento filamentososo, sendo observada a formação de micélio pigmentado remanescente arranjado em corpos esféricos precipitados no fundo do recipiente e manteve o padrão de coloração amarela original do meio de cultivo. Enquanto o meio líquido CB apresentou mais homogêneo e com uma tonalidade escura, também foi observado turbidez nos cultivos deste meio. O crescimento das linhagens obtido no meio líquido BHI ocorreu como o esperado pelo fato de ser um meio com nutrientes de cérebro e coração, dextrose que é uma fonte de carboidrato utilizada pelos fungos e peptona que fornece nitrogênio, vitaminas, enxofre e carbono para as culturas fúngicas. No entanto, o meio contendo coco babaçu se demonstrou um bom meio para o crescimento desse grupo de fungos, mesmo contendo uma fonte de carbono recalcitrante a hidrólise.

FIGURA 7- CULTIVO SUBMERSO DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* EM CALDO BHI



LEGENDA: (A) *F. pedrosoi* CBS 271.37. (B) *F. pedrosoi* CMRP 3076. (C) *F. monophora* CBS 102248. (D) *F. monophora* CMRP 2543. (E) *F. brasiliensis* CBS 119710. (F) *F. brasiliensis* CMRP 2988. (G) *F. nubica* CBS 269.64. (H) *F. multimorphosa* CBS 980.96. (I) *F. erecta* CBS 125463. (J) *F. pugnacius* CBS 139214. FONTE: Autor, 2020.

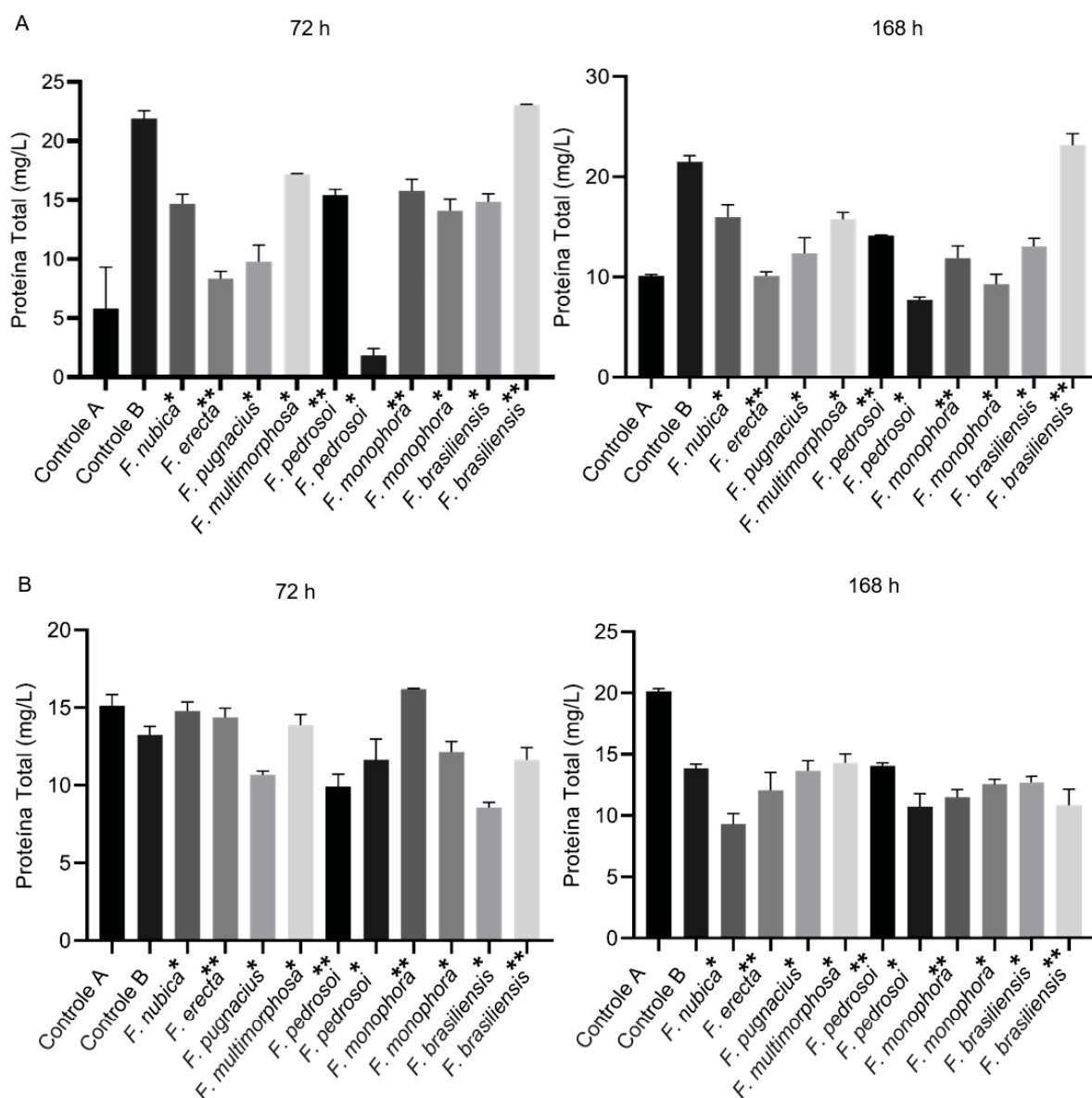
FIGURA 8- CULTIVO SUBMERSO DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* EM MEIO LÍQUIDO COM COCO BABAÇU



LEGENDA: (A) *F. pedrosoi* CBS 271.37. (B) *F. pedrosoi* CMRP 3076. (C) *F. monophora* CBS 102248. (D) *F. monophora* CMRP 2543. (E) *F. brasiliensis* CBS 119710. (F) *F. brasiliensis* CMRP 2988. (G) *F. nubica* CBS 269.64. (H) *F. multimorphosa* CBS 980.96. (I) *F. erecta* CBS 125463. (J) *F. pugnacius* CBS 139214. FONTE: Autor, 2020.

O crescimento das linhagens do gênero *Fonsecaea* pode ser estimado comparativamente através da quantidade de proteína total secretada nos meios de cultivo. Através dos dados de proteína total analisados pelo teste de Tukey (Apêndice 2), foi possível inferir diferença estatística ($p < 0,05$) entre a linhagem *F. brasiliensis* CMRP 2988 que produziu maior quantidade de proteína total em 72 h (23,07 mg/L) e 168 h (23,15 mg/L) de cultivo em meio líquido BHI em relação as demais linhagens testadas. Além disso, a linhagem de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 apresentou significância em relação as demais linhagens ($p < 0,05$) e demonstrou a menor concentração de proteína total secretada neste meio em ambos os tempos. A quantidade de proteína total secretada no meio BHI pelas linhagens do gênero *Fonsecaea* variaram de 2 a 23 mg/L no tempo de 72 h e 7 a 23 mg/L no tempo de 168 h de cultivo (Figura 9).

FIGURA 9 - PROTEÍNAS TOTAIS DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* NOS MEIO DE CULTIVO BHI E CB



LEGENDA: (A) Cultivo meio BHI. (B) Cultivo meio CB. (*) Linhagem clínica. (**) Linhagem ambiental. Controle A, *Cladophialophora exuberans* CMRP 1176; Controle B *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404; *F. nubica* CBS 269.64; *F. erecta* CBS 125463; *F. pugnacius* CBS 139214; *F. multimorphosa* CBS 980.96; *F. pedrosoi* CMRP 3076; *F. pedrosoi* CBS 271.37; *F. monophora* CMRP 2543; *F. monophora* CBS 102248; *F. brasiliensis* CBS 119710; *F. brasiliensis* CMRP 2988. Fonte: A autora (2020).

A Figura 9 demonstra que a linhagem de origem ambiental *F. monophora* CMRP 2543 produziu a maior concentração de proteína total, enquanto que a linhagem de origem clínica *F. brasiliensis* CBS 119710 obteve o menor valor de proteína total em 72 h de cultivo no meio CB, verificou-se diferença estatística entre

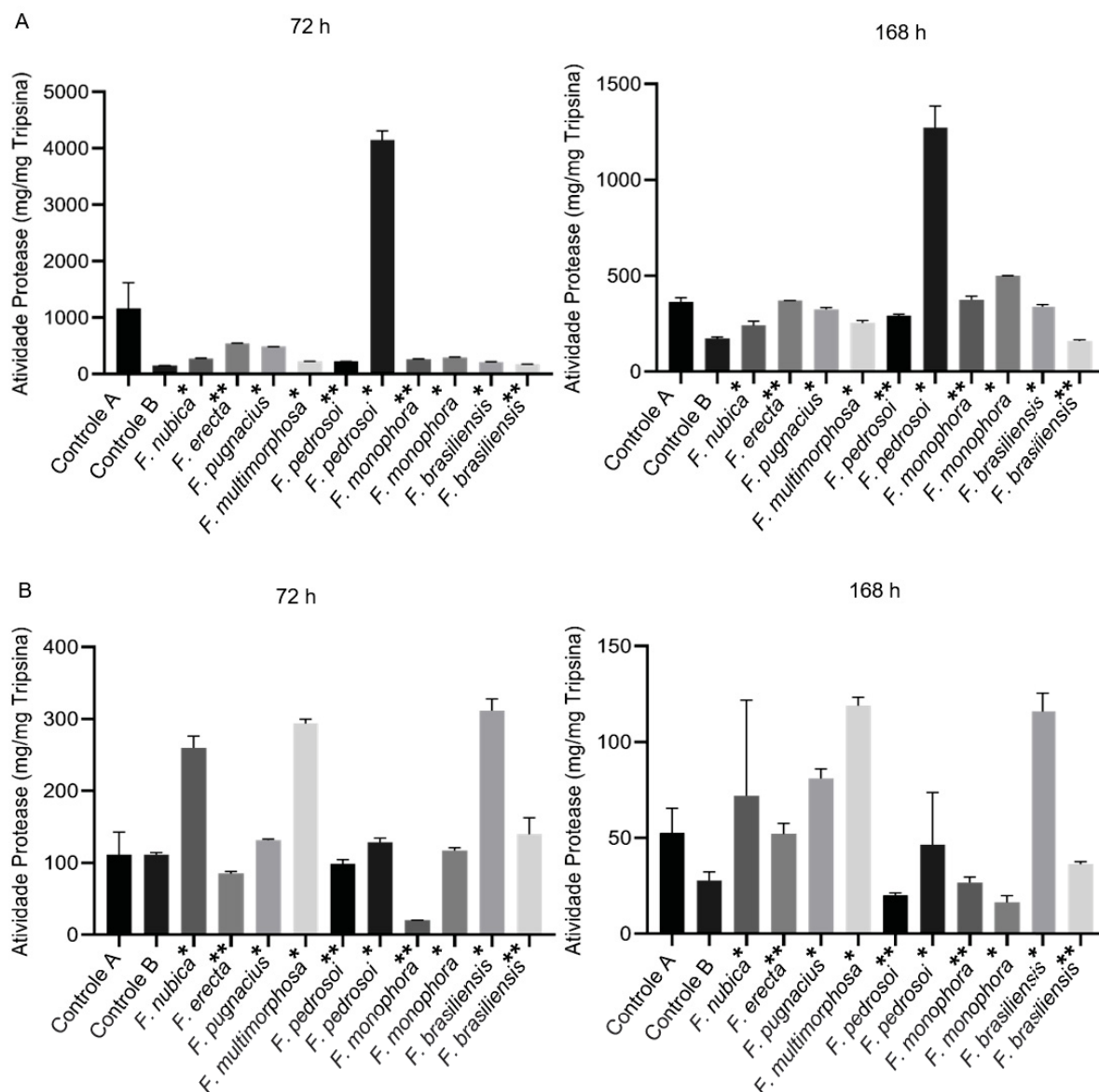
estas linhagens ($p < 0,0001$). Além disso, não foi detectado diferença estatística entre as linhagens *F. pedrosoi* CMRP 3076 e *F. multimorphosa* CBS 980.96 que apresentaram os maiores valores de proteína total e nas linhagens *F. nubica* CBS 269.64 e *F. brasiliensis* CMRP 2988 que possuem a menor concentração de proteína total em 168 hs de cultivo no meio contendo coco babaçu. Os valores de proteína total neste meio variaram de 8 a 16 mg/L no tempo de 72 h e 9 a 14 mg/L no tempo de 168 h (Apêndice 2).

Esses dados mostram que apesar da diferente morfologia micelial entre os cultivos no meio BHI e CB (Figura 7 e 8) as linhagens cresceram comparativamente na mesma proporção. Na análise post-hoc do teste Tukey realizada para comparar o crescimento das linhagens do gênero *Fonsecaea* no meios de cultivo BHI e CB observa-se diferença estatística ($p < 0,05$) nas linhagens *F. pedrosoi* CBS 271.37, *F. brasiliensis* CMRP 2899 em 72 h de cultivo e na linhagem *F. brasiliensis* CBS 119710 em ambos os tempos de cultivo (Apêndice 2).

3.2 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PROTEASE

A atividade específica de protease das linhagens do gênero *Fonsecaea* foram determinadas a partir da análise estatística post-hoc utilizando o teste de Tukey, observou-se que todas as linhagens estudadas apresentaram atividade proteolítica quando cultivadas em caldo BHI. A linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 apresentou maior produção de protease no cultivo BHI em ambos os tempos, sendo que em 72 h houve diferença estatística ($p < 0,05$) na produção de protease que foi de 4149 mg/mg Tripsina em comparação com as demais linhagens testadas (Apêndice 2). Em 168 h a produção de protease pela linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 foi de 1272 mg/mg Tripsina, observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) em relação a todas as linhagens do gênero *Fonsecaea*. Entretanto, na Figura 10 verificou-se um aumento na atividade de protease em 168 h de cultivo, exceto as linhagens *F. nubica* CBS 269.64, *F. brasiliensis* CMRP 2899 e *F. pedrosoi* CBS 271.37.

FIGURA 10- PRODUÇÃO DE PROTEASE (mg/mg Tripsina) DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* NOS MEIOS DE CULTIVO BHI E CB



LEGENDA: (A) Cultivo meio BHI. (B) Cultivo meio CB. (*) Linhagem clínica. (**) Linhagem ambiental. Controle A, *Cladophialophora exuberans* CMRP 1176; Controle B *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404; *F. rubica* CBS 269.64; *F. erecta* CBS 125463; *F. pugnacius* CBS 139214; *F. multimorphosa* CBS 980.96; *F. pedrosoi* CMRP 3076; *F. pedrosoi* CBS 271.37; *F. monophora* CMRP 2543; *F. monophora* CBS 102248; *F. brasiliensis* CBS 119710; *F. brasiliensis* CMRP 2988. Fonte: A autora (2020).

A atividade proteolítica no meio líquido CB demonstrada na Figura 10, ressalta que ambas as linhagens do gênero *Fonsecaea* apresentaram atividade de protease em um meio lignocelulósico com menor concentração proteica em relação ao meio BHI. Destaque para a linhagens de origem clínica *F. brasiliensis* CBS 119710 (311 mg/mg Tripsina), *F. multimorphosa* CBS 980.96 (294 mg/mg Tripsina) e *F. rubica* CBS

269.64 (260 mg/mg Tripsina) que apresentaram valores de atividade enzimática similares e superiores em comparação com as demais linhagens e os controles em 72 h de cultivo, porém não foi detectado diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em comparação com as demais linhagens do gênero *Fonsecaea*. No tempo de 168 h de cultivo as linhagens de origem clínica *F. multimorphosa* CBS 980.96 e *F. brasiliensis* CBS 119710 apresentam a maior produção de protease, entretanto não houve diferença estatística ($p < 0,05$) em relação a todas as linhagens testadas.

Através da comparação estatística entre os meios de cultivo BHI e CB realizada pelo teste Tukey foi possível observar que a composição do meio pode influenciar estatisticamente ($p < 0,05$) na produção de protease das linhagens de origem clínica, *F. pedrosoi* CBS 271.37 e *F. monophora* CBS 102248 e nas linhagens de origem ambiental *F. erecta* CBS 125763, *F. pedrosoi* CMRP 3076 e *F. monophora* CMRP 2543 (Apêndice 2).

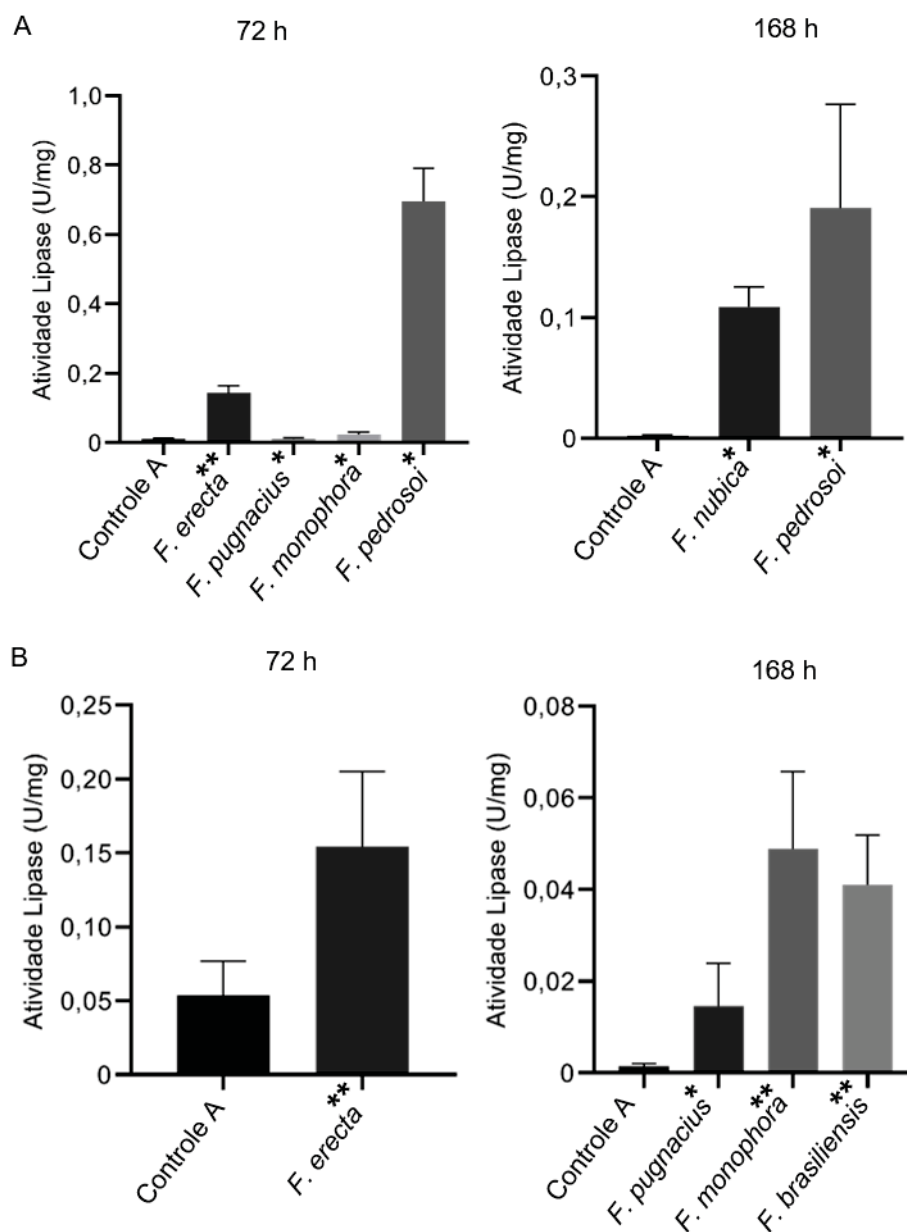
3.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LIPASE

A atividade de lipase dos sobrenadantes dos cultivos de BHI e CB foram dosadas, através do substrato pNP-palmitato e os dados foram analisados estatisticamente pelo teste Tukey. Dentre as linhagens somente algumas espécies apresentaram atividade lipolítica no cultivo em caldo BHI, sendo a *F. nubica* CBS 269.64, *F. pedrosoi* CBS 271.37, *F. monophora* CBS 102248, *F. erecta* CBS 125763 e *F. pugnacius* CBS 139214. Em 72 h de cultivo observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) na linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 que apresentou a maior produção de lipase (0,69 U/mg) em relação as linhagens do gênero *Fonsecaea* analisadas (Apêndice 2). Além disso, a linhagem *F. nubica* CBS 269.64 apresenta atividade lipolítica exclusivamente em 168 h de cultivo, no entanto foi demonstrado diferença estatística ($p < 0,0001$) somente com a linhagem de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 (Figura 11).

A Figura 11 demonstra uma redução da produção de lipase pela linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 em 168 h de cultivo no meio BHI (0,19 U/mg), no qual observa-se diferença estatística ($p < 0,05$) na atividade enzimática em relação as demais linhagens estudadas. Porém, observa-se na Figura 13 que as linhagens *F. monophora* CBS 102248, *F. erecta* CBS 125763 e *F. pugnacius* CBS 139214 não apresentaram atividade de lipase no período de 168 h de cultivo em meio BHI, entretanto o teste de

Tukey inferiu diferença estatística ($p < 0,05$) destas linhagens em relação a atividade enzimática da linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 (Apêndice 2).

FIGURA 11- PRODUÇÃO DE LIPASE (U/mg) DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* NOS MEIOS DE CULTIVO BHI E CB



LEGENDA: (A) Cultivo meio BHI. (B) Cultivo meio CB. (*) Linhagem clínica. (**) Linhagem ambiental. Controle A, *Cladophialophora exuberans* CMRP 1176; *F. rubica* CBS 269.64; *F. erecta* CBS 125463; *F. pugnacius* CBS 139214; *F. pedrosoi* CBS 271.37; *F. monophora* CMRP 2543; *F. monophora* CBS 102248; *F. brasiliensis* CMRP 2988. Fonte: A autora (2020).

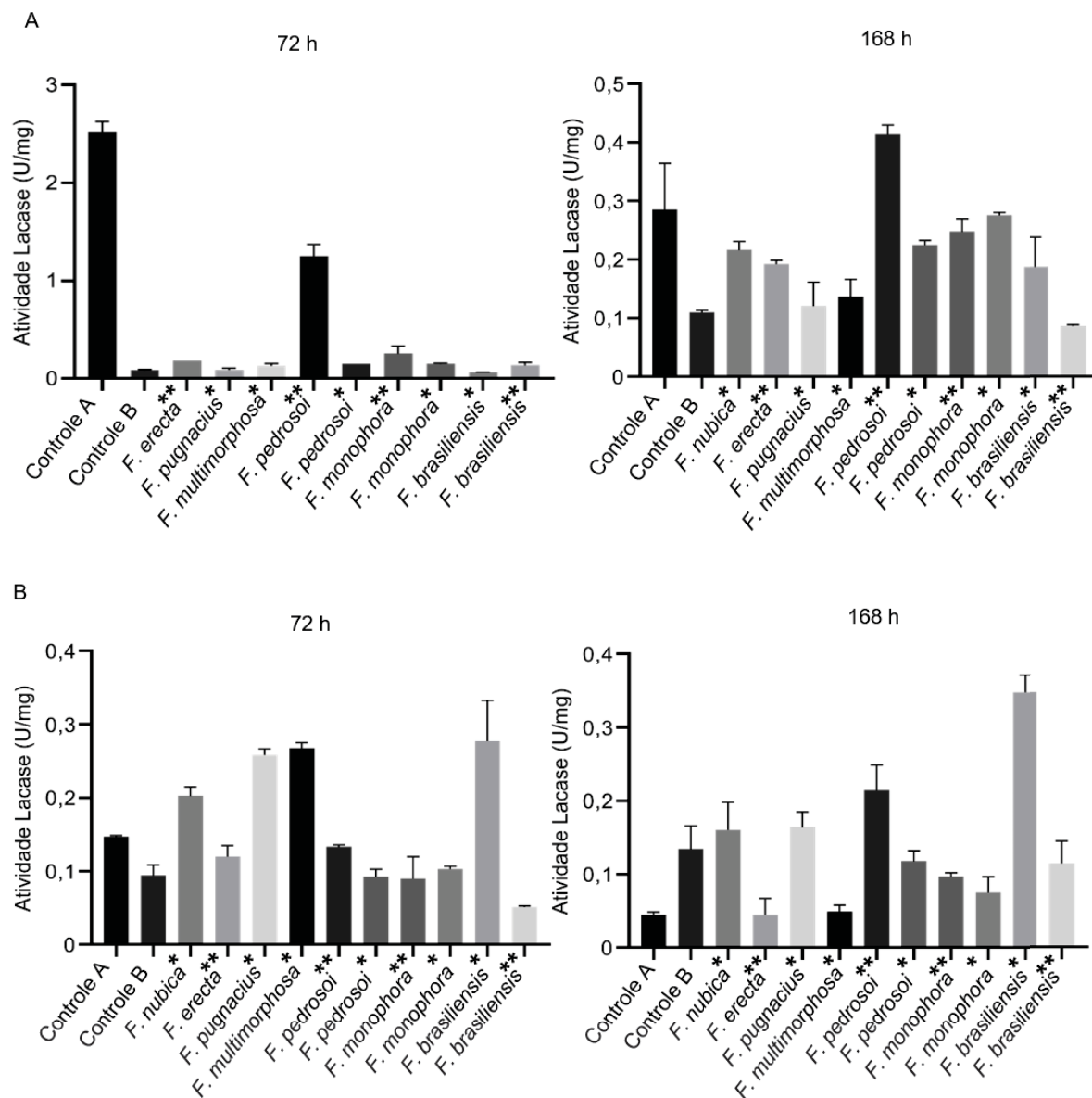
A Figura 11, ressalta a produção de lipase no meio CB pelas linhagens de origem ambiental *F. brasiliensis* CMRP 2988, *F. erecta* CBS 125763, *F. monophora* CMRP 2543 e *F. pugnacius* CBS 139214 de origem clínica. Em 72 h somente a linhagem de origem ambiental *F. erecta* CBS 125763 apresentou atividade lipolítica (0,15 U/mg) no meio CB significativa ($p < 0,005$) em comparação com as demais linhagens estudadas. No tempo de 168hs de cultivo a linhagem de origem ambiental *F. monophora* CMRP 2543 apresentou a maior produção de lipase (0,048 U/mg), contudo o teste Tukey não inferiu significância ($p < 0,0001$) em relação as demais linhagens do gênero *Fonsecaea* (Apêndice 2).

O teste Tukey realizado para comparar a atividade lipolítica entre as linhagens do gênero *Fonsecaea* nos meios BHI e CB, demonstra influência estatística somente no crescimento da linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 em relação aos meios de cultivo testados (Apêndice 2).

3.4 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE LACASE

A atividade de lacase dos cultivos no meio BHI e CB foi determinada através da oxidação do substrato ABTS e os dados foram analisados estatisticamente pelo teste Tukey. Diante disso, todas as linhagens estudadas do gênero *Fonsecaea* apresentaram produção de lacase quando cultivadas em caldo BHI. A linhagem que apresentou maior produção de lacase significativa ($p < 0,05$) em comparação com as demais linhagens testadas no meio BHI foi a linhagem de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37, sendo que a produção de lacase em 72 h de cultivo foi de 1,25 U/mg (Apêndice 2). Além disso, a linhagem *F. nubica* CBS 269.64 apresenta atividade de lacase exclusivamente em 168 h de cultivo neste meio (Figura 12), sendo observada diferença estatística em relação a linhagem de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 (Apêndice 2).

FIGURA 12- PRODUÇÃO DE LACASE (U/mg) DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* NOS MEIOS DE CULTIVO BHI E CB



LEGENDA: (A) Cultivo meio BHI. (B) Cultivo meio CB. (*) Linhagem clínica. (**) Linhagem ambiental. Controle A, *Cladophialophora exuberans* CMRP 1176; Controle B *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404; *F. nubica* CBS 269.64; *F. erecta* CBS 125463; *F. pugnaci* CBS 139214; *F. multimorphosa* CBS 980.96; *F. pedrosoi* CMRP 3076; *F. pedrosoi* CBS 271.37; *F. monophora* CMRP 2543; *F. monophora* CBS 102248; *F. brasiliensis* CBS 119710; *F. brasiliensis* CMRP 2988. Fonte: A autora (2020).

Na Figura 12 em 168 h cultivo observa-se que a linhagem de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 (0,41 U/mg) mantém a maior produção de lacase significativa ($p < 0,05$) em comparação com as demais linhagens testadas, neste meio também verificou-se um aumento na produção de lacase, exceto as linhagens de origem clínica

F. pugnacius CBS 139214 e *F. pedrosoi* CBS 271.37 e a linhagem de origem ambiental *F. brasiliensis* CMRP 2899 (Apêndice 2).

A atividade de lacase no meio CB demonstrada na Figura 12, ressalta que ambas as linhagens do gênero *Fonsecaea* apresentaram atividade de lacase. A linhagem que apresentou maior produção de lacase em 72 h de cultivo no meio CB foi *F. brasiliensis* CBS 119710 de origem clínica (0,27 U/mg), superando os valores dos controles e das demais linhagens testadas. No entanto, a análise de Tukey inferiu diferença estatística da linhagem *F. brasiliensis* CBS 119710 em relação as demais linhagens do gênero, exceto a linhagem de origem clínica *F. multimorphosa* CBS 980.96 e *F. pedrosoi* CMRP 3076 de origem ambiental. Em 168 h de cultivo observa-se que a linhagem de origem clínica *F. brasiliensis* CBS 119710 permanece com a maior produção de lacase (0,34 U/mg) no meio CB, inferindo significância estatística ($p < 0,05$) em comparação com as demais linhagens estudadas (Apêndice 2).

Além disso, a Figura 12 também demonstra um aumento na produção de lacase pelas linhagens de origem ambiental *F. brasiliensis* CMRP 2899 e *F. erecta* CBS 125763 de origem ambiental no período de 168 h de cultivo em meio CB, porém não foi detectado diferença estatística ($p < 0,05$) entre estas linhagens (Apêndice 2).

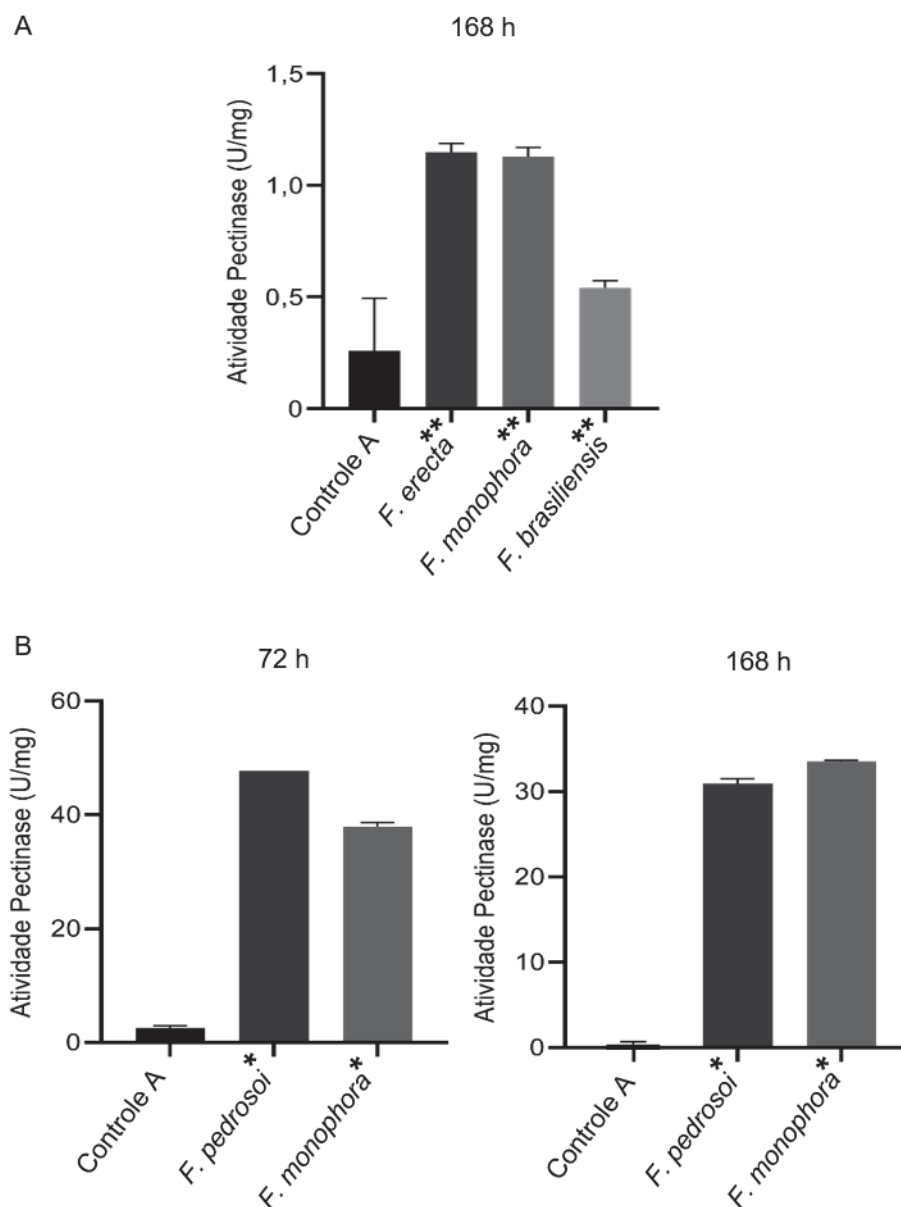
A análise estatística post-hoc Tukey realizada para comparar a atividade de lacase entre as linhagens do gênero *Fonsecaea* nos meios BHI e CB, demonstra influência estatística no crescimento das linhagens de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 e *F. brasiliensis* CBS 119710 em ambos os meios de cultivo testados (Apêndice 2).

3.5 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PECTINASE

A atividade de pectinase foi dosada a partir da concentração de açúcares redutores presentes nos extratos fúngicos através da redução do substrato DNS e os dados foram analisados estatisticamente pelo teste Tukey. As linhagens que apresentaram atividade de pectinase em 168 h de cultivo em caldo BHI foram *F. erecta* CBS 125763, *F. brasiliensis* CMRP 2988 e *F. monophora* CMRP 2543 de origem ambiental. Na Figura 13 observa-se que as linhagens *F. erecta* CBS 125763 e *F. monophora* CMRP 2543 apresentaram a maior produção de pectinase quando comparado com as demais linhagens e o controle *A. brasiliensis* ATCC 16404,

entretanto não houve diferença estatística ($p < 0,05$) neste tempo de cultivo no meio BHI (Apêndice 2).

FIGURA 13- PRODUÇÃO DE PECTINASE (U/mg) DAS LINHAGENS DO GÊNERO *Fonsecaea* NOS MEIOS DE CULTIVO BHI E CB



LEGENDA: (A) Cultivo meio BHI. (B) Cultivo meio CB. (*) Linhagem clínica. (**) Linhagem ambiental. Controle A, *Cladophialophora exuberans* CMRP 1176; *F. erecta* CBS 125463; *F. pedrosoi* CMRP 3076; *F. pedrosoi* CBS 271.37; *F. monophora* CMRP 2543; *F. monophora* CBS 102248; *F. brasiliensis* CMRP 2988. Fonte: A autora (2020).

No meio CB verificou-se que somente as linhagens de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 e *F. monophora* CBS 102248 apresentaram atividade de pectinase (Figura 13). Sendo que a linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 apresentou os maiores valores de atividade de pectinase no tempo de 72 horas (47,7 U/mg), enquanto que em 168 horas a linhagem *F. monophora* CBS 102248 demonstra a maior produção de pectinase (33,5 U/mg) no meio CB, ambos demonstram diferença estatística ($p < 0,05$) no teste Tukey em comparação com todas as linhagens do gênero *Fonsecaea* testadas (Apêndice 2).

A análise estatística post- hoc Tukey realizada para comparar a atividade de pectinase entre as linhagens do gênero *Fonsecaea* nos meios BHI e CB, demonstra influência estatística no crescimento das linhagens de origem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 e *F. monophora* CBS 102248 em ambos os meios de cultivo testados (Apêndice 2).

4 DISCUSSÃO

Os fungos melanizados da ordem Chaetothyriales possuem um ciclo de vida complexo sendo encontrados em condições ambientais adversas como, por exemplo, a capacidade de desenvolvimento em altas temperaturas e baixa disponibilidade de nutrientes ou como a habilidade de metabolizar compostos tóxicos, mas algumas espécies possuem relevância clínica por causarem doenças em hospedeiros animais e humanos (QUEIROZ-TELLES et al., 2017).

A cromoblastomicose é a mais comum dentre as micoses causadas por fungos dematiáceos sendo uma doença de implantação causada por leveduras negras da ordem Chaetothyriales principalmente a família Herpotrichiellaceae, no qual estes agentes são inoculados a partir de um evento traumático com material vegetal, como espinhos de plantas ou lascas de madeira favorecendo a hiperproliferação fúngica no tecido epidérmico do hospedeiro (FENG; DE HOOG, 2017).

A literatura relata que a partir de estudos genômicos comparativos de espécies de leveduras negras é possível observar a presença de diversos genes envolvidos na adaptação fúngica em fontes ambientais assim como um estilo de vida associado a animais. O genoma desse grupo de fungos abriga genes que codificam enzimas hidrolíticas e oxidativas, como as proteases que estão relacionadas com a virulência dos fungos negros, as lacases que participam da biossíntese de melanina e da degradação de compostos aromáticos presentes no ambiente e enzimas que degradam polissacarídeos que são moléculas encontradas em material vegetal como a pectinase (VICENTE et al., 2017; LI et al., 2016; MORENO et al., 2018).

Além dos estudos genômicos é observado na literatura a capacidade das leveduras negras produzirem oxidases. Nascimento et al. (2017) utilizou um meio de cultura sólido contendo o substrato ABTS para determinar a atividade de lacase em espécies da ordem Chaetothyriales. A literatura também relata a capacidade de produção enzimática em cultivo submerso de fungos negros da ordem Dothideales e Capnodiales, como demonstrado no estudo de Li et al. (2019) no qual espécies do gênero *Aerobasidium* produzem lipase em cultivo submerso contendo Tween 80 como substrato. Os estudos de Guan et al. (2016) e Myasoedova et al. (2017) relatam a produção de xilanase e lacase por espécies do gênero *Cladosporium*. Entretanto, atualmente não realizaram a quantificação de enzimas extracelulares das espécies que compõe a ordem Chaetothyriales, sendo assim este é o primeiro trabalho que

realiza a dosagem sistemática de enzimas extracelulares de linhagens patogênicas e ambientais de *Fonsecaea* cultivadas em meio de cultura em condições semelhantes à natureza oportunista e sapróbia destes fungos.

No presente estudo foi analisado a produção de enzimas hidrolíticas e oxidativas pelas linhagens do gênero *Fonsecaea* com o objetivo de elucidar a ecologia e patogenicidade dessas espécies. As atividades enzimáticas entre as linhagens do gênero *Fonsecaea* foram comparadas estatisticamente ($p < 0,05$) demonstrando que as espécies pertencentes a este gênero apresentaram perfis enzimáticos diferentes em relação às espécies e a origem. Vale ressaltar que a linhagem *F. pedrosoi* CBS 271.37 de origem clínica apresentou maior produção de protease, lipase e lacase no meio BHI, evidenciando o potencial patogênico desta espécie corroborando assim com a literatura que relata que estas enzimas possuem uma ação catalítica que permiti a desintegração das membranas epiteliais, fato que facilita a ancoragem da hifa para dentro do citoplasma da célula facilitando a hiperproliferação fúngica no tecido do hospedeiro (TOTH et al., 2017; VICENTE et al., 2017; BATRA et al., 2019). Além disso, estes resultados evidenciam as informações descritas na literatura, pois esta espécie é o principal agente etiológico de cromoblastomicose em humanos, também é considerada uma espécie altamente clonal e endêmica em regiões úmidas como Brasil e China, no entanto poucos trabalhos relatam o isolamento da espécie e seu habitat ambiental permanece desconhecido (DENG et al., 2015; GOMES et al., 2016).

No meio contendo substrato lignocelulósico observou-se estatisticamente através do teste Tukey maior produção de protease, lipase e lacase pelas linhagens *F. multimorphosa* CBS 980.96 e *F. brasiliensis* CBS 119710 de origem clínica e *F. monophora* CMRP 2543 e *F. erecta* CBS 125763 de origem ambiental, sugerindo a natureza oportunista desses agentes etiológicos como demonstrado na literatura em que são isolados leveduras negras ordem Chaetothyriales de substratos vegetais como casca de palmeira, solo e material em decomposição (VICENTE et al., 2013; VOIDALESKI et al., 2018).

Em relação a produção de pectinase pelas linhagens do gênero *Fonsecaea* observamos que as linhagens de origem ambiental *F. monophora* CMRP 2543 e *F. erecta* CBS 125763 apresentam a maior produção desta enzima em cultivo submerso no meio BHI no qual se assemelha as condições do hospedeiro animal, sugerindo assim que estas espécies eventualmente possam ser inoculados no tecido subcutâneo do hospedeiro a partir de um trauma com material vegetal, esta hipótese

é evidenciada na literatura pois estas espécies são frequentemente encontradas do meio ambiente e visto que existem relatos na literatura da espécie *F. monophora* causar infecção disseminada em humanos e animais (VICENTE et al., 2012; SEYEDMOUSAVI et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2017).

No caso da espécie *F. erecta* ainda não existe relatos clínicos na literatura de infecção em humanos, mas estudos *in vivo* em modelos animais evidenciam o potencial de virulência desta espécie como o estudo de Fornari et al. (2018) que realizou teste de virulência das espécies *F. pedrosoi* e *F. monophora* que são linhagens de origem clínica e *F. erecta* de origem ambiental utilizando modelo animal (*Tenebrio molitor* e camundongo BalbC) e vegetal (*Mimosa pudica* e *Bactris gasipaes*), confirmando a ecologia dupla destes fungos pois as espécies clínicas possuem a capacidade de sobreviver no interior das plantas e que a espécie ambiental demonstrou virulência no modelo animal.

No meio contendo coco babaçu observou-se que a linhagem clínica *F. pedrosoi* CBS 271.37 apresentou a maior atividade de pectinase indicando que embora esta espécie tenha um perfil enzimático preferencialmente relacionado ao hospedeiro animal como relatado na literatura, também é demonstrado a habilidade de produzir enzimas degradadoras de polissacarídeos justificando assim sua presença no meio ambiente mesmo que com baixa frequência de isolamento (SALGADO et al., 2004; VICENTE et al., 2014).

Alguns relatos da literatura descrevem o isolamento de leveduras negras de substratos vegetais como o coco babaçu que é uma palmeira encontrada na região norte e nordeste do Brasil, especialmente no Maranhão (FERRARI; SOLER, 2015; NASCIMENTO et al., 2017). A exploração desta planta proporciona diversos produtos que podem ser aplicados na indústria alimentícia e cosmética, sendo assim um meio de contribuir para a economia da região rural (MANIGLIA; TAPIA-BLÁCIDO, 2016). Estudos relatam que o coco babaçu é composto por três partes sendo que no epicarpo estão presentes as fibras lignocelulolíticas constituído de celulose, hemicelulose e lignina (MACHADO et al., 2017; AMARAL et al., 2019; FONTELES et al., 2016), o mesocarpo que é constituído principalmente por amido do tipo amilopectina (BASTOS ARARUNA et al., 2020) e o endocarpo que é armazenado amêndoa por este fato é rico em lipídeos (FERRARI; SOLER, 2015). Além disso, também é observada a presença abundante de compostos orgânicos voláteis como alcanos, cetonas, aldeídos e terpenóides na composição do coco babaçu (MARTINI et al., 2018;

NASCIMENTO et al., 2017). Apesar da literatura não relatar a presença de pectina nas fibras lignocelulolítica do coco babaçu a presença deste polissacarídeo é relatada em outros vegetais como a cana-de-açúcar demonstrada no trabalho de De Souza et al. (2013) que descreve a presença de polissacarídeos na parede celular da cana-de-açúcar como a lignina e pectina. Diante disso, a capacidade das leveduras negras de crescerem em um meio contendo coco babaçu e produzir enzimas que degradam estruturas vegetais como observada neste estudo, sugerindo também que o coco babaçu seja um ambiente favorável para a colonização das leveduras negras.

Estes resultados demonstraram que espécies clínicas e sapróbias do gênero *Fonsecaea* são capazes de produzir lipase, protease e lacase que são importantes fatores de virulência durante o processo de infecção em animais e humanos, assim como também apresentaram atividade de pectinase que degradam a pectina um dos componentes presentes no material vegetal. Esses dados sugerem a capacidade desses fungos de degradarem substratos vegetais e animais, demonstrando que espécies patogênicas da ordem Chaetothyriales podem colonizar nichos ambientais e hospedeiros animais (VICENTE et al., 2017).

Além disso, os dados de atividade enzimática corroboram com os encontrados por Kjaerbolling et al. (2020) que através de análises genômica observou a existência de genes que regulam a produção de enzimas degradadoras de polissacarídeos e enzimas relacionadas a patogenicidade de diversas espécies do gênero *Aspergillus* e a relação destas enzimas com a patogenicidade e a natureza saprofítica. Esta relação também é comprovada pelo estudo de Pini e colaboradores (2017) no qual conclui que linhagens clínicas e ambientais de *Cryptococcus neoformans* apresentam diferentes perfis enzimáticos e que as fenoloxidasas e fosfolipases podem estar relacionadas com a virulência deste patógeno.

Através do teste Tukey observou-se influência estatística entre o crescimento das linhagens do gênero *Fonsecaea* nos meios de cultivo BHI e coco babaçu, evidenciando assim que a composição do meio e os parâmetros de cultivo regulam a produção enzimática destes fungos, como relatado na literatura em que fatores fisiológicos regulam o metabolismo de ascomicetos durante o processo de produção enzimática como a variação do pH extracelular, a presença íons metálicos e açúcares como a glicose (SAXENA et al., 2017; DU et al., 2018; KUMAR et al. 2015; ALAM; KELLY, 2016).

5 CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos neste estudo pode-se afirmar que leveduras negras do gênero *Fonsecaea* possuem diferentes perfis enzimáticos para as enzimas testadas, estas podem estar envolvidas no processo de patogenicidade e ecologia das espécies, o que está de acordo com a literatura consultada. Este foi o primeiro trabalho que determina o perfil enzimático das espécies do gênero *Fonsecaea* utilizando condições que se assemelham ao corpo humano e o meio ambiente. Diante disso, é possível observar que a espécie *F. pedrosoi* produz altas concentrações de enzimas associadas a virulência evidenciando a maior associação desta espécie com o hospedeiro animal, porém também possui capacidade de produzir enzimas degradadoras de polissacarídeos justificando assim sua presença no meio ambiente. No caso das espécies *F. brasiliensis* e *F. monophora* foi possível observar uma associação maior com uma natureza oportunista como relatado na literatura o isolamento frequente destas espécies em substratos vegetais. Diante destes resultados concluímos que apesar da espécie *F. erecta* ser frequentemente isolada do ambiente, demonstra um perfil enzimático oportunista mesmo que ainda não existam relatos clínicos na literatura de infecção em humanos, porém estudos *in vivo* em modelos animais evidenciam o potencial de virulência desta espécie.

Além disso, nossos dados demonstram influência estatística entre o crescimento das linhagens do gênero *Fonsecaea* nos meios de cultivo BHI e coco babaçu e a produção enzimática destas linhagens este fato pode contribuir para elucidar a rota de infecção e o potencial de virulência das leveduras negras.

REFERÊNCIAS

- ALAM, M. A.; KELLY, J. M. Proteins interacting with CreA and CreB in the carbon catabolite repression network in *Aspergillus nidulans*. **Current Genetics**, p. 669–683, 2016.
- AMARAL, H. R.; CIPRIANO, D. F.; SANTOS, M. S.; SCHETTINO, M. A.; FERRETI, J. V. T.; MEIRELLES, C. S.; PEREIRA, V.S.; CUNHA, A.G.; EMMERICH F.G.; FREITAS, J. C. C. Production of high-purity cellulose, cellulose acetate and cellulose-silica composite from babassu coconut shells. **Carbohydrate Polymers**, 2019.
- BASTOS ARARUNA, F.; OLIVEIRA SOUSA ARARUNA, F.; LIMA ALVES PEREIRA, L. P.; ARANHA BRITO, M. C.; VERAS QUELEMES, P.; DE ARAÚJO-NOBRE, A. R.; DE OLIVEIRA, T.M.; DA SILVA, D.A.; ALMEIDA LEITE, J.R.S.; COUTINHO, D.F.; ROCHA BORGES, M.O.; ROMÃO BORGES, A. C. Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and their antimicrobial applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, 2020.
- BATRA, N.; KAUR, H.; MOHINDRA, S.; SINGH, S.; SHAMANTH, A. S.; RUDRAMURTHY, S. M. *Cladosporium sphaerospermum* causing brain abscess, a saprophyte turning pathogen. **Journal de Mycologie Médicale**, 2019.
- BRABCOVÁ, J.; ZAREVÚCKA, M.; MACKOVÁ, M. Differences in hydrolytic abilities of two crude lipases from *Geotrichum candidum* 4013. **Yeast**, p.1029–1038, 2010.
- BRADFORD, M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram quantities of Protein utilizing the Principle of Protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p 248-254.1976.
- DE SOUZA, A. P.; LEITE, D. C. C.; PATTATHIL, S.; HAHN, M. G.; BUCKERIDGE, M. S. Composition and Structure of Sugarcane Cell Wall Polysaccharides: Implications for Second-Generation Bioethanol Production. **BioEnergy Research**, p. 564–579, 2013.
- DENG, S.; TSUI, C.K.M.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; YANG, L.; NAJAFZADEH, M.J.; BADALI, H.; LI, R.; HAGEN, F.; MEIS, J.F.; SUN, J.; DOLATABADI, S.; PAPIEROK, B.; PAN, W.; DE HOOG, G.S.; LIAO, W. Global spread of human chromoblastomycosis is driven by recombinant *Cladophialophora carrionii* and predominantly clonal *Fonsecaea* species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.9, 2015.
- DU, W.; SUN, C.; WANG, J.; WANG, B.; YAO, Z.; QU, F.; XIA, J.; XIE, W.; SUN, J.; DUAN, D. Isolation, identification of a laccase-producing fungal strain and enzymatic properties of the laccase. **3 Biotech**, 2018.
- FENG, P.; DE HOOG, G.S. *Fonsecaea* and Chromoblastomycosis. **Current Progress in Medical Mycology**, p. 333- 353, 2017.

FERRARI, R. A.; SOLER, M. P. Obtention and characterization of coconut babassu derivatives. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 291-296, 2015.

FONTELES, C. A. L.; BRITO, G. F.; REIS SOBRINHO, J. F.; ALVES, T. S.; BARBOSA, R. Chemical Treatment and Characterization of Fiber of Babassu Coconut Epicarp (*Orbignya phalerata*) for Application in Polymeric Composite. **Materials Science Forum**, 2016.

FORNARI, G.; GOMES, R.R.; DEGENHARDT-GOLDBACH, J.; SANTOS, S.S.D.; ALMEIDA, S.R.D.; SANTOS, G.D.D.; MURO, M.D.; BONA, C.; SCOLA, R.H.; TRINDADE, E.S.; BINI, I.H.; FERREIRA-MABA, L.S.; KESTRING, D.R.; NASCIMENTO, M.M.F.D.; LIMA, B.J.F.D.S.; VOIDALESKI, M.F.; STEINMACHER, D.A.; SOLEY, B.D.S.; DENG, S.; BOCCA, A.L.; DA SILVA, M.B.; SALGADO, C.G.; DE AZEVEDO, C.M.P.S.; VICENTE, V.A.; DE HOOG, S. A Model for Trans-Kingdom Pathogenicity in *Fonsecaea* Agents of Human Chromoblastomycosis. **Front. Microbiol.**, 2018.

GOMES, R. R.; VICENTE, V.A.; AZEVEDO, C.M.; SALGADO C.G.; DA SILVA M.B.; QUEROZ-TELLES, F.; MARQUES, S.G.; SANTOS D.W.; DE ANDRADE, T.S.; TAKAGI, E.H.; CRUZ, K.S.; FORNARI, G.; HAHN, R.C.; SCROFERNEKER, M.L.; CALIGINE, R.B.; RAMIREZ- CASTRILLON, M.; DE ARAÚJO, D.P.; HEIDRICH, D.; COLOMBO, A.L.; DE HOOG, G.S. Molecular Epidemiology of Agents of Human Chromoblastomycosis in Brazil with the Description of Two Novel Species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, p. 1-20, 2016.

GUAN, G.-Q.; ZHAO, P.-X.; ZHAO, J.; WANG, M.-J.; HUO, S.-H.; CUI, F.-J.; JIANG, J.-X. Production and Partial Characterization of an Alkaline Xylanase from a Novel Fungus *Cladosporium oxysporum*. **BioMed Research International**, p. 1–7, 2016.

KARP, S.G.; FARACO, V.; AMORE, A.; BIROLO, L.; GIANGRANDE, C.; SOCCOL, V.T.; PANDEY, A.; SOCCOL, C.R. Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse. **Bioresource technology**, 114, 735-739, 2012.

KJÆRBØLLING, I.; VESTH, T.; FRISVAD, J. C.; NYBO, J. L.; THEOBALD, S.; KILDGAARD, S.; PETERSEN, T.I.; KUO, A.; SATO, A.; LYHNE, L.K.; KOGLE, M.E.; WIEBENGA, A.; SUN, R. S.; LUBBERS, R.J.M.; MÄKELÄ, M.R.; BARRY, K.; CHOVIATIA, M.; CLUM, A.; DAUM, C.; HARIDAS, S.; HE, G.; LABUTTI, K.; LIPZEN, A.; MONDO, S.; PANGILINAN, J.; RILEY, R.; SALAMOV, A.; SIMMONS, B.A.; MAGNUSON, J.K.; HENRISSAT, B.; MORTENSEN, U.H.; LARSEN, T. O.; VRIES, R.P.; GRIGORIEV, I.V.; MACHIDA, M.; BAKER, S.E.; ANDERSEN, M. R. A comparative genomics study of 23 *Aspergillus* species from section Flavi. **Nature Communications**, 2020.

KUMAR, A.; SHARMA, K. K.; KUMAR, P.; RAMCHIARY, N. Laccase isozymes from *Ganoderma lucidum* MDU-7: Isolation, characterization, catalytic properties and differential role during oxidative stress. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, p. 68–75, 2015.

LI, X. Q.; GUO, B. L.; CAI, W. Y.; ZHANG, J. M.; HUANG, H. Q.; ZHAN, P.; VICENTE, V.A.; STIELOW, B.; SUN, J.F.; DE HOOG, G. S. The role of melanin pathways in extremotolerance and virulence of *Fonsecaea* revealed by de novo assembly transcriptomics using illumina paired-end sequencing. **Studies in Mycology**, p.1–18, 2016.

LI, Y.; LIU, T.; ZHAO, M.; ZHANG, H.; FENG, F. Screening, purification, and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* isolated from stuffed buns steamers. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B**, p.332–342, 2019.

MACHADO, N.A.F.; ANDRADE, H.A.F.; PARRA-SERRANO, L.J.; FURTADO, M.B.; SILVA-MATOS, R.R.S.; FARIAS, M.F.; FURTADO, J.L.B. Technological Characterization and use of Babassu residue (*Orbygnia phalerata* Mart.) in Partcleboard. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, 2017.

MANIGLIA, B. C.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Isolation and characterization of starch from babassu mesocarp. **Food Hydrocolloids**, p. 47–55, 2016.

MARTINI, W.S.; PORTO, B. L. S.; OLIVEIRA, M. A. L.; SANT'ANA, A. C. Comparative Study of the Lipid Profiles of Oils from Kernels of Peanut, Babassu, Coconut, Castor and Grape by GC-FID and Raman Spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.29, n.2, 2018.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
MORENO, L. F., AHMED, A. A. O., BRANKOVICS, B., CUOMO, C. A., MENKEN, S. B. J., TAJ-ALDEEN, S. J.; FAIDAH, H.; STIELOW, J.B.; TEIXEIRA, M.M.;

MYASOEDOVA, N.M.; RENFELD, Z.V.; PODIEIABLONSKAIA, E.V.; SAMOILOVA, A.S.; CHERNYKH, A.M.; CLASSEN, T.; PIETRUSZKA, J.; KOLOMYTSEVA, M.P.; GOLOVLEVA, L.A. Novel laccase—producing ascomycetes. **Microbiology**, p. 503–511, 2017.

NASCIMENTO, M. M. F.; VICENTE, V.A.; BITTENCOURT, J.V.M.; GELINSKI, J.M.L.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; ROMERO-GÜIZA, M.; FORNARI, D.; GOMES R.R.; SANTOS, G.D.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; DE AZEVEDO, C.D.M.P.S.; DE HOOG, D.S. Diversity of opportunistic black fungi on babassu coconut shells, a rich source of esters and hydrocarbons. **Fungal Biology**, v.121, p. 488-500, 2017.

PINI, G.; FAGGI, E.; CAMPISI, E. Enzymatic characterization of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* strains isolated in Italy. **Revista Iberoamericana de Micología**, p. 77–82, 2017.

PRUSKY, D.; BARAD, S.; MENT, D.; BI, F. The pH modulation by fungal secreted molecules: a mechanism affecting pathogenicity by postharvest pathogens. **Israel Journal of Plant Sciences**, p. 22–30, 2016.

QUEIROZ-TELLES, F.; DE HOOG, S.G.; SANTOS, D.C.; SALGADO, C.G.; VICENTE, V.A.; BONIFAZ, A.; ROILIDES, E.; XI, L.; AZEVEDO, A.M.P.; SILVA, M.B.; PANA, Z.D.; COLOMBO, A.L.; WALSH, T. J. Chromoblastomycosis: a neglected global disease. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, p. 233-276, 2017.

SALGADO, C.G.; SILVA, J.P.; DINIZ, J.A.P.; SILVA, M.B.; COSTA, P.F.; TEIXEIRA, C.; SALGADO, U.I. Isolation of *Fonsecaea pedrosoi* from thorns of *Mimosa pudica*, a probable natural source of chromoblastomycosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, p.33-36, 2004.

SAXENA, J.; CHOUDHARY, N.; GUPTA, P.; SHARMA, M.M.; SINGH, A. Isolation and Characterization of Neutral Proteases Producing Soil fungus *Cladosporium* sp PAB2014 Strain FGCC/BLS2: Process Optimization for Improved Enzyme Production. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v.76, p. 707-713, 2017.

SEYEDMOUSAVI, S.; NETEA, G.M.; MOUTON, J. W.; MELCHERS, W. J. G.; VERWEIJ, P. E.; DE HOOG, G. S. Black yeasts and their filamentous relatives: principles of pathogenesis and host defense. **Clinical Microbiology Reviews**, v.27, p. 527–542, 2014.

TEIXEIRA, M.M.; MORENO, L.F.; STIELOW, B. J.; MUSZEWSKA, A.; HAINAUT, M.; GONZAGA, L.; ABOUELLEIL, A.; PATANÉ, J.S.L.; PRIEST, M.; SOUZA, R.; YOUNG, S.; FERREIRA, K.S.; ZENG, Q.; DA CUNHA, M.M.L.; GLADKI, A.; BARKER, B.; VICENTE, V.A.; DE SOUZA, E.M.; ALMEIDA, S.; HENRISSAT, B.; VASCONCELOS, A.T.R.; DENG, S.; VOGLMAYR, H.; MOUSSA, T.A.A.; GORBUSHINA, A.; FELIPE, M. S.S.; CUOMO, C. A.; DE HOOG, G. S. Exploring the genomic diversity of black yeasts and relatives (Chaetothyriales, Ascomycota). **Studies in Mycology**, v. 86, p. 1–28, 2017.

TOTH, R.; TOTH, A.; VAGVOLGYI, C.; GACSER, A. *Candida parapsilosis* Secreted Lipase as an Important Virulence Factor. **Current Protein and Peptide Science**, v.18, n.10, p. 1043-1049, 2017.

VICENTE, V. A.; RIBEIRO, O.; NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; GUERRA, R.S.; MIESCH, S.; OSTRENSKY, A.; MEIS, J. F.; KLAASSEN, C. H.; DE HOOG, G.S.; BOEGER, W. A. Black yeast-like fungi associated with lethargic crab disease (LCD) in the mangrove-land crab, *Ucides cordatus* (Ocypodidae). **Veterinary Microbiology**, v. 158, p.109–122, 2012.

VICENTE, V.A.; NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; ROMES, R.R.; ROBL, D.; MARQUES, S.G.; AZEVEDO, C.M.P.S.; DE HOOG, G.S. Environmental siblings of black agents of human chromoblastomycosis. **Fungal Diversity**, 2013.

VICENTE, V.A.; NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; ROMES, R.R.; ROBL, D.; MARQUES, S.G.; AZEVEDO, C.M.P.S.; DE HOOG, G.S., Environmental siblings of black agents of human chromoblastomycosis. **Fungal Diversity**, 2014.

VICENTE, V.A.; WEISS, V.A.; BOMBASSARO, A.; MORENO, L. F.; COSTA, F. F.; RAITTZ, R.T.; LEÃO, A.C.; GOMES, R.R.; BOCCA, A.L.; FORNARI, G.; DE CASTRO, R.J.A.; SUN, J.; FAORO, H.; TADRA-SFEIR, M.Z.; BAURA, V.; BALSANELLI, E.; ALMEIDA, S.R.; DOS SANTOS, S.S.; TEIXEIRA, M.D.M.; SOARES, F.M.S.; DO NASCIMENTO, M.M.F.; PEDROSA, F.O.; STEFFENS, M.B.;

ATTILI-ANGELIS, D.; NAJAFZADEH, M.J.; QUEIROZ-TELLES, F.; SOUZA, E.M.; DE HOOG, G. S. Comparative genomics of sibling species of *Fonsecaea* associated with human chromoblastomycosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n.1924, 2017.

VOIDALESKI, M.F. Bioprospecção de *Fonsecaea pedrosoi* em amostras ambientais por amplificação em círculo rolante (RCA). Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Paraná- Programa de Pós-graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, 2018.

CAPÍTULO III- CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os fungos melanizados da ordem Chaetothyriales possuem uma natureza sapróbia, porém algumas espécies possuem relevância clínica por causarem doenças em animais e humanos (QUEIROZ-TELLES et al., 2017). A micose mais comum causada por fungos dematiáceos da ordem Chaetothyriales seria a cromoblastomicose no qual a inoculação do agente etiológico no tecido hospedeiro está associada a um evento traumático com material vegetal (FENG; DE HOOG, 2017).

Devido à ecologia dupla das leveduras negras diversos estudos genômicos buscam genes envolvidos na adaptação fúngica em fontes ambientais assim como um estilo de vida associado a animais. O genoma desse grupo de fungos abriga genes que codificam enzimas hidrolíticas e oxidativas, como as proteases que estão relacionadas com a virulência dos fungos negros, as lacases que participam da biossíntese de melanina e da degradação de compostos aromáticos presentes no ambiente e enzimas que degradam polissacarídeos que são moléculas encontradas em material vegetal como a pectinase (VICENTE et al., 2017; LI et al., 2016; MORENO et al., 2018).

Diante disso, o objetivo dessa dissertação foi avaliar a produção enzimática das diferentes linhagens de *Fonsecaea* ambientais e clínicas, visando elucidar mecanismos de virulência, ecologia e aplicação biotecnológica das espécies.

No entanto, no capítulo II da presente dissertação é detalhada a determinação da atividade enzimática destas linhagens, sendo que as leveduras negras do gênero *Fonsecaea* de origem ambiental e clínica são capazes de produzir enzimas proteolíticas, glicohidrolíticas e oxidativas, como anteriormente visto em estudo genômicos das espécies pertencentes a este gênero. No entanto, a linhagem *F. pedrosoi* de origem clínica se destacou na produção de lacase, protease e lipase no cultivo em meio BHI, evidenciando o potencial de patogenicidade da espécie em humanos. Além disso, as espécies *F. monophora*, *F. brasiliensis* e *F. erecta* apresentaram um perfil enzimático de natureza oportunista, evidenciando a presença destas no meio ambiente e capacidade eventual de causar infecção em hospedeiros animais. Além disso, a espécie *F. pedrosoi* de origem clínica possui a capacidade de produzir enzimas que degradam polissacarídeos como pectinase, comprovando a presença deste agente em substratos vegetais e também a capacidade de hidrolisar

esses polissacarídeos vegetais complexos utilizando-os como fonte de energia (NGUYEN et al., 2019; VICENTE et al., 2017).

Nexte contexto, os resultados demonstram a capacidade desses fungos de degradarem substratos vegetais e animais através da produção de enzimas hidrolíticas e oxidativas e que as espécies patogênicas da ordem Chaetothyriales podem colonizar nichos ambientais e hospedeiros animais, assim como espécies ambientais presentes nesta ordem também podem apresentar virulência, esses dados confirmam a hipótese relatada por Vicente et al. (2017) e Fornari et al. (2018) que concluíram o mesmo utilizando modelos animais (*Galleria mellonella* e *Tenebrio molitor*) para testar a virulência de espécies do gênero *Fonsecaea* de origem ambiental e modelos vegetais (*Mimosa pudica* e *Bactris gasipaes*) que reforçam a hipótese de que esses fungos permanecem na epiderme das plantas podendo assim infectar o hospedeiro a partir de uma trauma com material vegetal.

A fim de obter a caracterização completa das enzimas dos extratos enzimáticos obtidos neste trabalho sugere-se uma análise proteômica, no qual poderá fornecer uma identificação das proteínas secretadas no meio de cultivo e os genes codificadores. Atualmente a análise proteômica tem se demonstrado ser o método mais eficaz para a identificação de proteínas extracelulares em fungos, este método também é adequado para estudar a expressão de proteínas em várias condições de cultivo (CHU et al., 2000).

A PCR em tempo real visando comparar a expressão dessas enzimas nas espécies do gênero *Fonsecaea* e em um modelo animal invertebrado representa mais uma perspectiva a ser aplicada na elucidação da expressão de enzimas a partir da extração de RNA das linhagens de *Fonsecaea* utilizando o modelo de infecção *Tenebrio molitor* e sendo realizada a PCR em tempo real para amplificação dos principais genes que codificam as enzimas lacase, protease, lipase e pectinase neste grupo de fungos, este estudo encontr-se em andamento.

Portanto, para entender completamente a regulação do metabolismo são necessários mais informações sobre a expressão gênica e de outros mecanismos moleculares. A análise de PCR em tempo real utilizando primers específicos são ferramentas de pesquisa indispensáveis, pois proporcionam maiores informações sobre a biologia da interação patógeno- hospedeiro e a ecologia desses organismos (DEEPAK et al., 2007).

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, K.; CHATURVEDI, V.; VERMA, P. Fungal laccase discovered but yet undiscovered. **Bioresources and Bioprocessing**, 2018.
- AKRAM, S.; MANDANA, B. Isolation and Optimization of Pectinase Enzyme Production One of Useful Industrial Enzyme in *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae*, *Penicillium chrysogenum*. **Biological Journal of Microorganism**, 2019.
- ALAM, M. A.; KELLY, J. M. Proteins interacting with CreA and CreB in the carbon catabolite repression network in *Aspergillus nidulans*. **Current Genetics**, p. 669–683, 2016.
- ALOULO, A.; RAHIER, R.; ARHAB, Y.; NOIRIEL, A.; ABOUSALHAM, A. Phospholipases: An Overview. **Methods in Molecular Biology**, p. 69–105, 2018.
- ALOULO, A.; RODRIGUEZ, J.A.; PUCCINELLI, D.; MOUZ, N.; LECLAIRE, J.; LEBLOND, Y.; CARRIERE, F. Purification and biochemical characterization of the LIP2 lipase from *Yarrowia lipolytica*. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2007.
- ALTENHOFF, A.M.; GLOVER, N.M.; DESSIMOZ, C. Inferring Orthology and Paralogy. **Methods in molecular biology**, 2019.
- AMARAL, H. R.; CIPRIANO, D. F.; SANTOS, M. S.; SCHETTINO, M. A.; FERRETI, J. V. T.; MEIRELLES, C. S.; PEREIRA, V.S.; CUNHA, A.G.; EMMERICH F.G.; FREITAS, J. C. C. Production of high-purity cellulose, cellulose acetate and cellulose-silica composite from babassu coconut shells. **Carbohydrate Polymers**, 2019.
- AMETRANO, C.G.; MUGGIA, L.; GRUBE, M. Extremotolerant Black Fungi from Rocks and Lichens. **Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance**, p. 119-143, 2019.
- AMIN, F.; BHATTI, H.N.; BILAL, M. Recent advances in the production strategies of microbial pectinases-A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.122, p. 1017- 1026, 2019.
- APASTAMBH, A. R.; BAIG, M. M. V. Proteolytic enzyme production by *Fusarium oxysporium* under solid-state fermentation. **International Journal of Life Sciences and Technology**, p. 106-108, 2017.
- ARANDA, E. Promising approaches towards biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons with Ascomycota fungi. **Current Opinion in Biotechnology**, p. 1–8, 2016.
- ARANTES, V., SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnol Biofuels**, 2010.
- ARNAU, J.; YAYER, D.; HJORT, C.M. Strategies and Challenges for the Development of Industrial Enzymes Using Fungal Cell Factories. **Grand Challenges in Biology and Biotechnology**, 2020.

AVELAR-PIRES, C.; SIMOES-QUARESMA, J.A.; MACEDO, G.M.M.; XAVIER, M.B.; BRITO, A.C. Revisiting the clinical and histopathological aspects of patients with chromoblastomycosis from the Brazilian amazon region. **Archives of Medical Research**, v. 44, p.302-306, 2013.

BABIČ, M. N.; ZUPANČIČ, J.; GUNDE-CIMERMAN, N.; DE HOOG, S.; ZALAR, P. Ecology of the Human Opportunistic Black Yeast *Exophiala dermatitidis* Indicates Preference for Human-Made Habitats. **Mycopathologia**, p. 201–212, 2017.

BADALI, H.; GUEIDAN, C.; NAJAFZADEH, M.J.; BONIFAZ, A.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; DE HOOG, G.S. Biodiversity of the genus *Cladophialophora*. **Studies in Mycology**, v. 61, p. 175–191, 2008.

BADALI, H.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; GUARRO, J.; KLAASSEN, C.; MEIS, J.F.; DE HOOG, G.S. *Cladophialophora psammophila*, a novel species of Chaetothyriales with a potential use in the bioremediation of volatile aromatic hydrocarbons. **Fungal Biology**, p.1019–1029, 2011.

BADOTTI, F.; DE OLIVEIRA, F.S.; GARCIA, C.F.; VAZ, A.B.M.; FONSECA, L.C.; NAHUM, L.A.; OLIVEIRA, G.; GÓES-NETO, A. Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). **BMC Microbiology**, 2017.

BAKER, P.; TIROUMALECHETTY, A.; MOHAN, R.; YADAV, A.; SINGH, S.; MISHRA, S.; GUPTA A. Fungal Enzymes for Bioremediation of Xenobiotic Compounds. **Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi**, 2019.

BANERJEE, G.; RAY, A. K. Impact of microbial proteases on biotechnological industries. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, p.119–143, 2017.

BANKEEREE, W.; LOTRAKUL, P.; PRASONGSUK, S.; KIM, S.W.; PUNNAPAYAK, H. Enhanced Production of Cellulase-Free Thermoactive Xylanase Using Corncob by a Black Yeast, *Aureobasidium pullulans* CBS 135684. **Korean Chemical Engineering Research**, 2016.

BARMAN, A.; GOHAIN, D.; BORA, U.; TAMULI, R. Phospholipases play multiple cellular roles including growth, stress tolerance, sexual development, and virulence in fungi. **Microbiological Research**, p. 55- 69, 2018.

BARRIUSO, J.; VAQUERO, M. E.; PRIETO, A.; MARTÍNEZ, M. J. Structural traits and catalytic versatility of the lipases from the *Candida rugosa* -like family: A review. **Biotechnology Advances**, p. 874–885, 2016.

BASTOS ARARUNA, F.; OLIVEIRA SOUSA ARARUNA, F.; LIMA ALVES PEREIRA, L. P.; ARANHA BRITO, M. C.; VERAS QUELEMES, P.; DE ARAÚJO-NOBRE, A. R.; DE OLIVEIRA, T.M.; DA SILVA, D.A.; ALMEIDA LEITE, J.R.S.; COUTINHO, D.F.; ROCHA BORGES, M.O.; ROMÃO BORGES, A. C. Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and

their antimicrobial applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, 2020.

BATRA, N.; KAUR, H.; MOHINDRA, S.; SINGH, S.; SHAMANTH, A. S.; RUDRAMURTHY, S. M. *Cladosporium sphaerospermum* causing brain abscess, a saprophyte turning pathogen. **Journal de Mycologie Médicale**, 2019.

BENAMOUN, L.; HILIGSMANN, S.; DAKHMOUCHE, S.; AIT-KAKI, A.; LABBANI, F.-Z.; NOUADRI, T.; MERAIHI, Z.; TURCHETTI, B.; BUZZINI, P.; THONART, P. Production and Properties of a Thermostable, pH—Stable Exo-Polygalacturonase Using *Aureobasidium pullulans* Isolated from Saharan Soil of Algeria Grown on Tomato Pomace. **Foods**, 2016.

BERLEMONT, R. Distribution and diversity of enzymes for polysaccharide degradation in fungi. **Scientific Reports**, 2017.

BHAT, M.K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v.18, p. 355-83, 2000.

BHATTACHARYYA, U.; PAUL, P.; MUSTAFI, S.; SEN, C.; GUPTA, M.; ROYCHOUDHURY, B. Isolation of pectinolytic fungi from rotten tomato, brinjal and banana. **Biotechnology and Biological Sciences**, 2020.

BI, F.; BARAD, S.; MENT, D.; LURIA, N.; DUBEY, A.; CASADO, V.; GLAM, N.; MÍNGUEZ, J.D.; ESPESO, E.A.; FLUHR, R.; PRUSKY, D. Carbon regulation of environmental pH by secreted small molecules that modulate pathogenicity in phytopathogenic fungi. **Molecular Plant Pathology**, 2016.

BLASI, B.; POYNTNER, C.; RUDAVSKY, T.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; DE HOOG, G.S.; TAFER, H.; STERFLINGER, K. Pathogenic yet environmentally friendly? Black fungal candidates for bioremediation of pollutants. **Geomicrobiology Journal**, v.33, p. 308– 317, 2016.

BLASI, B.; TAFER, H.; KUSTOR, C.; POYNTNER, C.; LOPANDIC, K.; STERFLINGER, K. Genomic and transcriptomic analysis of the toluene degrading black yeast *Cladophialophora immunda*. **Scientific Reports**, 2017.

BON, E.P.S; FERRARA, M.A; CORVO, M.L. Enzimas em biotecnologia –produção, aplicações e mercado. **Editora Interciência**, p 506, 2008.

BONIFAZ, A.; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, D.; PERUSQUÍA-ORTIZ, A.M. Subcutaneous mycoses: chromoblastomycosis, sporotrichosis and mycetoma. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v.8, n.8, p. 619-27, 2010.

BONUGLI-SANTOS, R.C.; VASCONCELOS, M. R. D.; PASSARINI, M. R. Z.; VIEIRA, G.; LOPES, V. C. P.; MAINARDI, P. H.; DOS SANTOS, J. A.; DUARTE, L. D.; OTERO, I. V. R.; YOSHIDA, A. M. D.; FEITOSA, V.A.; PESSOA, A.; SETTE, L. D. Marine-derived fungi: Diversity of enzymes and biotechnological applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 269, p. 1-15, 2015.

BORAL, H.; METIN, B.; DÖĞEN, A.; SEYEDMOUSAVI, S.; ILKIT, M. Overview of selected virulence attributes in *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum* and *Exophiala dermatitidis*. **Fungal Genetics and Biology**, p. 92–107, 2018.

BORMAN, A.; SUMMERBELL, R. *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, and Agents of Superficial Mycoses. **Manual of clinical microbiology**, v. 2, p. 2128-2152, 2011.

BRABCOVÁ, J.; ZAREVÚCKA, M.; MACKOVÁ, M. Differences in hydrolytic abilities of two crude lipases from *Geotrichum candidum* 4013. **Yeast**, p.1029–1038, 2010.

BRADFORD, M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram quantities of Protein utilizing the Principle of Protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p 248-254.1976.

BRIGHAM, J.; ADNEY, W.; HIMMEL, M.E. Hemicellulases: Diversity and Applications. **Chemistry**, 2018.

CADDICK, M.X.; ARST, H.N.JR. Genes estruturais para fosfatos em *Aspergillus nidulans*. **Genetics Research**, p. 83–91, 1986.

CAI, J.; HE, Y.; YU, X.; BANKS, S. W.; YANG, Y.; ZHANG, X.; YU, Y.; LIU, R.; BRIDGWATER, A. V. Review of physicochemical properties and analytical characterization of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, p. 309–322, 2017.

CANILHA, L.; MILAGRES, A. M. F.; SILVA, S. S. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através da pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, v. 44, p. 48-54, 2010.

CHANDRASERAKAN, M.; THANAGVELU, B.; CHUN, S. C.; SATHIYABAMA, M. Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity. **Journal of General Plant Pathology**, 2016.

CHEN, J.; YI, J.; LIU, L.; YIN, S.; CHEN, R.; LI, M.; YE, C.; ZHANG, Y.; LAI, M. Substrate adaptation of *Trichophyton rubrum* secreted endoproteases. **Microbial pathogenesis**, v. 48, 2010.

CHO, Y.; SRIVASTAVA, A.; OHM, R. A.; LAWRENCE, C. B.; WANG, K.-H.; GRIGORIEV, I. V.; MARAHATTA, S. P. Transcription Factor Amr1 Induces Melanin Biosynthesis and Suppresses Virulence in *Alternaria brassicicola*. **PLoS Pathogens**, 2012.

CHU, P. W.; YAP, M.N.; WU, C.Y.; HUANG, C.M.; PAN, F.M.; TSENG, M.J.; CHEN, S.T. A proteomic analysis of secreted proteins from xylaninduced *Bacillus* sp. strain K-1. **Electrophoresis**, p. 1740–1745, 2000.

COLLA, L. M.; PRIMAZ, A. L.; BENEDETTI, S.; LOSS, R. A.; DE LIMA, M.; REINEHR, C. O.; BERTOLINI, T.E.; COSTA, J. A. V. Surface response methodology for the optimization of lipase production under submerged fermentation by filamentous fungi. **Brazilian Journal of Microbiology**, p. 461–467, 2016.

COPETE-PERTUZ, L. S.; ALANDETE-NOVOA, F.; PLÁCIDO, J.; CORREA-LONDOÑO, G. A.; MORA-MARTÍNEZ, A. L. Enhancement of ligninolytic enzymes production and decolourising activity in *Leptosphaerulina* sp. by co-cultivation with *Trichoderma viride* and *Aspergillus terreus*. **Science of The Total Environment**, p. 1536–1545, 2019.

CORDERO, R. J. B.; CASADEVALL, A. Melanin. **Current Biology**, 2020.
COUGHLANM, P.; LJUNGDAHLL, G. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems. In Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation. **FEMS Symposium**, n. 43, p. 11-30, 1988.

DA SILVA, R.R. Bacterial and Fungal Proteolytic Enzymes: Production, Catalysis and Potential Applications. **Applied Biochemistry Biotechnology**, p. 1–19, 2017.

DA SILVA, R.R.; PEDEZZI, R.; SOUTO, T.B. Exploring the bioprospecting and biotechnological potential of white-rot and anaerobic Neocallimastigomycota fungi: peptidases, esterases, and lignocellulolytic enzymes. **Applied Microbiology Biotechnology**, p. 3089–310, 2017.

DE AZEVEDO, C.M.P.S.; GOMES, R.R.; VICENTE, V.A.; SANTOS, D.W.C.L.; MARQUES, S.G.; NASCIMENTO, M.M.F.; ANDRADE, C.E.W.; SILVA, R.R.; QUEIROZ-TELLES, F.; DE HOOG, G.S. *Fonsecaea pugnacius*, a novel agent of disseminated chromoblastomycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n.8, 2015.

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.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENE, J.; FIGUERAS, M. J. Atlas of Clinical Fungi, 4^a ed. Centraalbureau voor Schimmel cultures, Utrecht/Universitat. Rovira i Virgili, Reus. 2014.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; FIGUERAS, M. J. Atlas of clinical fungi, 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Universitat Rovira i Virgili, Utrecht, 2000.

DE HOOG, S.G.; ATTILI-ANGELIS, D.; VICENTE, V.A.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; QUEIROZ-TELLES, F. Molecular ecology and pathogenic potential of *Fonsecaea* Species. **Medical Mycology**, v. 42, p. 405-416, 2004.

DE SOUZA, A. P.; LEITE, D. C. C.; PATTATHIL, S.; HAHN, M. G.; BUCKERIDGE, M. S. Composition and Structure of Sugarcane Cell Wall Polysaccharides: Implications

for Second-Generation Bioethanol Production. **BioEnergy Research**, p. 564–579, 2013.

DE SOUZA, P.C.; CALONI, C.C.; WILSON, D.; ALMEIDA, R.S. An Invertebrate Host to Study Fungal Infections, Mycotoxins and Antifungal Drugs: *Tenebrio molitor*. **Journal of Fungi**, 2018.

DE SOUZA, R.C. Metagenômica taxonômica e funcional em solos agrícolas do norte do Paraná e do Distrito Federal. Tese (Doutorado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia), Universidade Federal do Paraná, 2016.

DEEPAK, S.A.; KOTTAPALLI, K.R.; RAKWAL, R.; OROS, G.; RANGAPPA, K.S.; IWAHASHI, H.; AGRAWAL, G.K. Real-Time PCR: Revolutionizing Detection and Expression Analysis of Genes. **Current Genomics**, p. 234–251, 2007.

DELGADILLO-ORDOÑEZ, N. C.; POSADA-SUÁREZ, R.L.; ELKIN, M.; CEPEDA-HERNÁNDEZ, M.L.; NIEVES JIMENA, S. Aislamiento e identificación de levaduras degradadoras de hidrocarburos aromáticos, presentes en tanques de gasolina de vehículos urbanos. **Revista Colombiana de Biotecnología**, p. 141-151, 2017.

DENG, S.; TSUI, C.K.M.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; YANG, L.; NAJAFZADEH, M.J.; BADALI, H.; LI, R.; HAGEN, F.; MEIS, J.F.; SUN, J.; DOLATABADI, S.; PAPIEROK, B.; PAN, W.; DE HOOG, G.S.; LIAO, W. Global spread of human chromoblastomycosis is driven by recombinant *Cladophialophora carrionii* and predominantly clonal *Fonsecaea* species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.9, 2015.

DORN, G. Genetic analysis of phosphatases in *Aspergillus nidulans*. **Genet. Res. Cambr.**, p. 13–26, 1965.

DU, W.; SUN, C.; WANG, J.; WANG, B.; YAO, Z.; QU, F.; XIA, J.; XIE, W.; SUN, J.; DUAN, D. Isolation, identification of a laccase-producing fungal strain and enzymatic properties of the laccase. **3 Biotech**, 2018.

EFFIONG, T.E.; ABDULSALAMI, M.S.; EGBE, N.E.; BAKARE, V. Screening of Fungi Isolates from Soil, Pulp WasteWater and Rotten Wood for Cellulase Producing Potentials. **Journal of Applied Sciences Environmental Management**, v. 23, 2019.

EISENMAN, H. C.; GREER, E. M.; MCGRAIL, C. W. The role of melanins in melanotic fungi for pathogenesis and environmental survival. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2020.

EISENMAN, H.C.; CASADEVALL, A. Synthesis and assembly of fungal melanin. **Applied Microbiology Biotechnology**, p. 931–940, 2012.

EKKERS, D. M.; CRETOIU, M. S.; KIELAK, A. M.; VAN ELSAS, J. D. The great screen anomaly—a new frontier in product discovery through functional metagenomics. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 1005-1020, 2012.

EL ENSHASY, H. A.; HANAPI, S. Z.; ABDEL GALIL, S. A.; MALEK, R. A.; PAREEK, A. Mycoremediation: Decolourization Potential of Fungal Ligninolytic Enzymes. **Mycoremediation and Environmental Sustainability**, p. 69–104, 2017.

ELISASHVILI, V.; KACHLISHVILI, E. Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white-rot Basidiomycetes. **Journal of Biotechnology**, v. 144, p. 37-42, 2009.

FENG, P.; DE HOOG, G.S. *Fonsecaea* and Chromoblastomycosis. **Current Progress in Medical Mycology**, 2017.

FERRARI, R. A.; SOLER, M. P. Obtention and characterization of coconut babassu derivatives. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 291-296, 2015.

FONTELES, C. A. L.; BRITO, G. F.; REIS SOBRINHO, J. F.; ALVES, T. S.; BARBOSA, R. Chemical Treatment and Characterization of Fiber of Babassu Coconut Epicarp (*Orbignya phalerata*) for Application in Polymeric Composite. **Materials Science Forum**, 2016.

FORNARI, G.; GOMES, R.R.; DEGENHARDT-GOLDBACH, J.; SANTOS, S.S.D.; ALMEIDA, S.R.D.; SANTOS, G.D.D.; MURO, M.D.; BONA, C.; SCOLA, R.H.; TRINDADE, E.S.; BINI, I.H.; FERREIRA-MABA, L.S.; KESTRING, D.R.; NASCIMENTO, M.M.F.D.; LIMA, B.J.F.D.S.; VOIDALESKI, M.F.; STEINMACHER, D.A.; SOLEY, B.D.S.; DENG, S.; BOCCA, A.L.; DA SILVA, M.B.; SALGADO, C.G.; DE AZEVEDO, C.M.P.S.; VICENTE, V.A.; DE HOOG, S. A Model for Trans-Kingdom Pathogenicity in *Fonsecaea* Agents of Human Chromoblastomycosis. **Front. Microbiol.**, 2018.

FURUIE, J.L.; SUN, J.; DO NASCIMENTO, M.F.; GOMES, R.R.; WACULICZANDRADE, C. E.; SESSEGOLO, G. C.; RODRIGUES, A.M.; GALVÃO-DIAS, M.A.; DE CAMARGO, Z.P.; QUEIROZ-TELLES, F.; NAJAFZADEH, M.; DE HOOG, S.G.; VICENTE, V. A. Molecular identification of *Histoplasma capsulatum* using rolling circle amplification. **Mycoses**, v.59, p.12–19, 2016.

GARG, G.; SINGH, A.; KAUR, A.; SINGH, R.; KAUR, J.; MAHAJAN, R. Microbial pectinases: an ecofriendly tool of nature for industries. **3 Biotech**, 2016.

GEOFFRY, K.; ACHUR, R. N. Screening and production of lipase from fungal organisms. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 241–253, 2018.

GIMENES, V.M.F.; SOUZA, M.G.; FERREIRA, K.S.; MARQUES, S.G.; GONÇALVES, A.G.; SANTOS, D.V.C.L.; SILVA, C.M.P.; ALMEIDA, S.R. Cytokines and lymphocyte proliferation in patients with different clinical forms of chromoblastomycosis. **Microbes and Infection**, v.7 p. 708-713, 2005.

GOMES, R. R.; VICENTE, V.A.; AZEVEDO, C.M.; SALGADO C.G.; DA SILVA M.B.; QUEROZ-TELLES, F.; MARQUES, S.G.; SANTOS D.W.; DE ANDRADE, T.S.; TAKAGI, E.H.; CRUZ, K.S.; FORNARI, G.; HAHN, R.C.; SCROFERNEKER, M.L.; CALIGINE, R.B.; RAMIREZ- CASTRILLON, M.; DE ARAÚJO, D.P.; HEIDRICH, D.; COLOMBO, A.L.; DE HOOG, G.S. Molecular Epidemiology of Agents of Human

Chromoblastomycosis in Brazil with the Description of Two Novel Species. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, p. 1-20, 2016.

GONÇALVES, I.; SILVA, C.; CAVACO-PAULO, A. Ultrasound enhanced laccase applications. **Green Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 1362-1374, 2015.

GONZÁLEZ, G. M.; ROJAS, O.C.; GONZÁLEZ, J.G.; KANG, Y.; DE HOOG, G.S. Chromoblastomycosis caused by *Rhinocladiella aquaspersa*. **Medical Mycology Case Reports**, v. 2, p.148–151, 2013.

GOODWIN, S.; MCPHERSON, J. D.; MCCOMBIE, W. R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. **Nature Reviews Genetics**, p. 333–351, 2016.

GOSTINČAR, C.; ZAJC, J.; LENASSI, M.; PLEMENITAŠ, A.; DE HOOG, S.; AL-HATMI, A. M. S.; GUNDE-CIMERMAN, N. Fungi between extremotolerance and opportunistic pathogenicity on humans. **Fungal Diversity**, 2018.

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

GRANATO, M. Q.; MASSAPUST, P. A.; ROZENTAL, S.; ALVIANO, C. S.; SANTOS, A. L. S.; KNEIPP, L. F. 1,10-phenanthroline inhibits the metallopeptidase secreted by *Phialophora verrucosa* and modulates its growth, morphology and differentiation. **Mycopathologia**, p. 231–242, 2015.

GUAN, G.-Q.; ZHAO, P.-X.; ZHAO, J.; WANG, M.-J.; HUO, S.-H.; CUI, F.-J.; JIANG, J.-X. Production and Partial Characterization of an Alkaline Xylanase from a Novel Fungus *Cladosporium oxysporum*. **BioMed Research International**, p. 1–7, 2016.

GUERRIERO, G.; HAUSMAN, J.-F.; STRAUSS, J.; ERTAN, H.; SIDDIQUI, K. S. Lignocellulosic biomass: Biosynthesis, degradation, and industrial utilization. **Engineering in Life Sciences**, p. 1–16, 2017.

GUPTA, P.K.; CHOUDHARY, S.; CHANDRANANTHI, C.; EVELINE, J.S.; SUSHMITHA, S.P.; HIREMATH, L.; SRIVASTAVA, A.K.; KUMAR, S.N. Fungal Biodiversity Producing Xylanase Enzymes Involved in Efficient Uses of Xylanolysis. **Mycodegradation of Lignocelluloses**, p. 51-63, 2019.

GUPTA, R.; BEG, Q.K.; LORENZ, P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. **Applied Microbiology Biotechnology**, p.15-32, 2002.

GUTARRA, M. L. E.; GODOY, M.G.; MAUGERI, F.; RODRIGUES, M.L.; FREIRE, D.M.; CASTILHO, LR. Production of an acidic and thermostable lipase of the mesophilic fungus *Penicillium simplicissimum* by solid-state fermentation. **Bioresource technology**, v. 100, p. 5249-5254, 2009.

HAMZEHEI, H.; YAZDANPARAST, S.A.; DAVOUDI, M.M.; KHODAVAISY, S.; GOLEHKHEYLI, M.; ANSARI, S.; DE HOOG, G.S.; BADALI, H. Use of rolling circle

amplification to rapidly identify species of *Cladophialophora* potentially causing human infection. **Mycopathologia**, v. 175, p. 431-438; 2013.

HAN, L.; TAN, Y.; MA, W.; NIU, K.; HOU, S.; GUO, W.; LIU, Y.; FANG, X. Precision engineering of the transcription factor Cre1 in *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*) for efficient cellulase production in the presence of glucose. **BioRxynv**, 2020.

HANDELSMAN, J.; RONDON, M. R.; BRADY, S. F.; CLARDY, J.; GOODMAN, R. M. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. **Chemistry & Biology**, p. 245–249, 1998.

HANSAKON, A.; NGAMSKULRUNGROJ, P.; ANGKASEKWINAL, P. Contribution of laccase expression to immune response against *Cryptococcus gattii* infection. **Infection and immunity**, 2019.

HASSAN MOUBASHER, A.-A.; MOHAMED MOHARRAM, A.; AHMED ISMAIL, M.; HAMDY ABDEL-HAFEEZ, M. "Soil fungi in banana plantations in assiut governorate and some enzymatic potential of the most common species". **Journal of Basic and Applied Research International**, p. 51-65, 2015.

HAY, R.J.; ASHBEE, H.R. Fungal Infections. **Rook's Textbook of Dermatology**, 2016.

HEIDRICH, D.; GONZÁLEZ, G.M.; PAGANIC, D.M.; RAMÍREZ-CASTRILLÓN, M.; SCROFERNEKERA, M. L. Chromoblastomycosis caused by *Rhinocladiella similis*: Case report. **Medical Mycology Case Reports**, v.16, p. 25–27, 2017.

HIMMEL, M.E.; ADNEY, W.S.; BAKER, J.O.; NIEVES, R.A.; THOMAS, S.R. Cellulases: Structure, Function and Application. **Engineering & Technology, Environment & Agriculture**, 2018.

HUANG, X.; LIU, Y.; XI, L.; ZENG, K.; MYLONAKIS, E. *Galleria mellonella* as a model invertebrate host for the study of muriform cells of dematiaceous fungi. **Future Microbiology**, p.1021–1028, 2018.

IFITIKHAR, T.; ABDULLAH, R.; IQTEDAR, M.; KALEEM, A.; AFTAB, M.; NIAZ, M.; SIDRA.; TABASSUM, B.; MAJEED, H. Production of lipase by *Alternaria* sp. (mbl 2810) through optimization of environmental conditions using submerged fermentation technique. **International Journal of Biosciences**, v.7, p. 178-186, 2015.

IRINYI, L.; SERENA, C.; GARCIA-HERMOSO, D.; ARABATZIS, M.; DESNOS-OLLIVIER, M.; VU, D.; CARDINALI, G.; ARTHUR, I.; NORMAND, A.C.; GIRALDO, A.; DA CUNHA, K.C.; SANDOVAL-DENIS, M.; HENDRICKX, M.; NISHIKAKU, A.S.; DE AZEVEDO MELO, A.S.; MERSEGUEL, K.B.; KHAN, A.; PARENTE ROCHA, J.A.; SAMPAIO, P.; DA SILVA BRIONES, M.R.; FERREIRA, R.C.; DE MEDEIROS MUNIZ, M.; CASTAÑÓN-OLIVARES, L.R.; ESTRADA-BARCENAS, D.; CASSAGNE, C.; MARY, C.; DUAN, S.Y.; KONG, F.; SUN, A.Y.; ZENG, X.; ZHAO, Z.; GANTOIS, N.; BOTTEREL, F.; ROBERTSE, B.; SCHOCH, C.; GAMS, W.; ELLIS, D.; HALLIDAY, C.; CHEN, S.; SORRELL, T.C.; PIARROUX, R.; COLOMBO, A.L.; PAIS, C.; DE HOOG, G.S.; ZANCÓPE-OLIVEIRA, R.M.; TAYLOR, M.L.; TORIELLO, C.; DE

ALMEIDA SOARES, C.M.; DELHAES, L.; STUBBE, D.; DROMER, F.; RANQUE, S.; GUARRO, J.; CANO-LIRA, J.F.; ROBERT, V.; VELEGRAKI, A.; MEYER, W. International Society of Human and Animal Mycology (ISHAM)-ITS reference DNA barcoding database—the quality controlled standard tool for routine identification of human and animal pathogenic fungi. **Medical Mycology**, 2015.

ISLAM, R.; DATTA, B. Diversity of chitinases and their industrial potential. **International Journal of Applied Research**, p. 55- 60, 2015.

IYALLA, C. A review of the virulence factors of pathogenic fungi. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, 2016.

JACOBSON E, S. Pathogenic roles for fungal melanins. **Clinical Microbiology Veterinary**, v. 13, p.708–717, 2000.

JAEGER, K.E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, p.390-397, 2002.

JIANG, H.; LIU, N.; LIU, G.; CHI, Z.; WANG, J.M.; ZHANG, L.L.; CHI, Z. M. Melanin production by a yeast strain XJ5-1 of *Aureobasidium melanogenum* isolated from the Taklimakan desert and its role in the yeast survival in stress environments. **Extremophiles**, p. 567–577, 2016.

KARP, S.G.; FARACO, V.; AMORE, A.; BIROLO, L.; GIANGRANDE, C.; SOCCOL, V.T.; PANDEY, A.; SOCCOL, C.R. Characterization of laccase isoforms produced by *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation of sugarcane bagasse. **Bioresource technology**, 114, 735-739, 2012.

KELLER, N.P. Fungal secondary metabolism: regulation, function, and drug discovery. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, 2019.

KJÆRBØLLING, I.; VESTH, T.; FRISVAD, J. C.; NYBO, J. L.; THEOBALD, S.; KILDGAARD, S.; PETERSEN, T.I.; KUO, A.; SATO, A.; LYHNE, L.K.; KOGLE, M.E.; WIEBENGA, A.; SUN, R. S.; LUBBERS, R.J.M.; MÄKELÄ, M.R.; BARRY, K.; CHOVIATIA, M.; CLUM, A.; DAUM, C.; HARIDAS, S.; HE, G.; LABUTTI, K.; LIPZEN, A.; MONDO, S.; PANGILINAN, J.; RILEY, R.; SALAMOV, A.; SIMMONS, B.A.; MAGNUSON, J.K.; HENRISSAT, B.; MORTENSEN, U.H.; LARSEN, T. O.; VRIES, R.P.; GRIGORIEV, I.V.; MACHIDA, M.; BAKER, S.E.; ANDERSEN, M. R. A comparative genomics study of 23 *Aspergillus* species from section Flavi. **Nature Communications**, 2020.

KRASOWSKA, A.; SIGLER, K. How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 2014.

KRZYSCIAK, P. M.; PINDYCKA-PIASZCZYNSKA, P.; PIASZCZYNSKI, M., Chromoblastomycosis, **Postępy Dermatologii i Alergologii**, v. 5, p. 310-21, 2014.

KUMAR, A. Myco-Degradation of Lignocellulose: An Update on the Reaction Mechanism and Production of Lignocellulolytic Enzymes by Fungi. **Mycodegradation of Lignocelluloses**, p.81-117, 2019.

KUMAR, A.; SHARMA, K. K.; KUMAR, P.; RAMCHIARY, N. Laccase isozymes from *Ganoderma lucidum* MDU-7: Isolation, characterization, catalytic properties and differential role during oxidative stress. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, p. 68–75, 2015.

KUMAR, S; KATTIYAR, N.; INGLE, P.; NEGI, S. Use of evolutionary operation (evop) factorial design technique to develop a bioprocess using grease waste as a substrate for lipase production. **Bioresource technology**, v. 102, n. 7, p. 4909-4912, 2011.

LEBRERO, R.; LÓPEZ, J.C.; LEHTINEN, I.; PÉREZ, R.; QUIJANO, G.; MUÑOZ, R. Exploring the potential of fungi for methane abatement: performance evaluation of a fungal-bacterial biofilter. **Chemosphere**, p. 97–106, 2016.

LEE, T.I.; YOUNG, R. A. Transcriptional Regulation and Its Misregulation in Disease. **Elsevier**, v. 152, n. 6, p.1237-1251, 2013.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2014. 1336 p.

LEITE, R. S. R.; ALVES-PRADO, H. F.; CABRAL, H.; PAGNOCCA, F.C.; GOMES, E.; DA-SILVA, R. Production and characteristics comparison of crude β -glucosidases produced by microorganisms *Thermoascus aurantiacus* e *Aureobasidium pullulans* in agricultural wastes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 6, p. 391–395, 2008.

LI, X. Q.; GUO, B. L.; CAI, W. Y.; ZHANG, J. M.; HUANG, H. Q.; ZHAN, P.; VICENTE, V.A.; STIELOW, B.; SUN, J.F.; DE HOOG, G. S. The role of melanin pathways in extremotolerance and virulence of *Fonsecaea* revealed by de novo assembly transcriptomics using illumina paired-end sequencing. **Studies in Mycology**, p.1–18, 2016.

LI, Y.; LIU, T.; ZHAO, M.; ZHANG, H.; FENG, F. Screening, purification, and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* isolated from stuffed buns steamers. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B**, p.332–342, 2019.

LIBERT, X.; CHASSEUR, C.; PACKEU, A.; BUREAU, F.; ROOSENS, N. H.; DE KEERSMAECKER, S. J. C. A molecular approach for the rapid, selective and sensitive detection of *Exophiala jeanselmei* in environmental samples: development and performance assessment of a real-time PCR assay. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 1377–1392, 2016.

LIMA, B.J.F.D.S.; VOIDALESKI, M.F.; GOMES, R.R.; FORNARI, G.; BARBOSA SOARES, J.M.; BOMBASSARO, A.; SCHNEIDER, G.X.; SOLEY, B.D.S.; AZEVEDO, C.D.M.P.E.S.D.; MENEZES, C.; MORENO, L.F.; ATTILI-ANGELIS, D.; KLISIEWICZ, D.D.R.; HOOG, S.D.; VICENTE, V.A. Selective isolation of agents of

chromoblastomycosis from insect-associated environmental sources. **Fungal Biology**, 2020.

LIPKE, P. What We Do Not Know about Fungal Cell Adhesion Molecules. **Journal of Fungi**, 2018.

LIU, X.; KOKARE, C. Microbial Enzymes of Use in Industry. **Biotechnology of Microbial Enzymes**, p.267–298, 2017.

LOZANO-TORRES, J. L.; WILBERS, R. H.; GAWRONSKI, P.; BOSHOVEN, J. C.; FINKERS-TOMCZAK, A.; CORDEWENER, J. H.; AMERICA, H.P.A.; OVERMARS, H.A.; KLOOSTER, J.W.V.; BARANOWSKI, L.; SOBCZARK, M.; ILYAS, M.; VAN DER HOORN, R.A.L.; SCHOOTS, A.; DE WIT, P.J.G.M.; BAKKER, J.; GOVERSE, A.; SMANT, G. Dual disease resistance mediated by the immune receptor Cf-2 in tomato requires a common virulence target of a fungus and a nematode. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, p. 10119–10124, 2012.

MA, Z.; SONG, T.; ZHU, L.; YE, W.; WANG, Y.; SHAO Y.; DONG, S.; ZHANG, Z.; DOU, D.; ZHENG, X.; TYLER, B.M.; WANG, Y. A *Phytophthora sojae* Glycoside hydrolase 12 protein is a major virulence factor during soybean infection and is recognized as a PAMP. **The Plant Cell**, p. 2057–2072, 2015.

MACHADO, N.A.F.; ANDRADE, H.A.F.; PARRA-SERRANO, L.J.; FURTADO, M.B.; SILVA-MATOS, R.R.S.; FARIAS, M.F.; FURTADO, J.L.B. Technological Characterization and use of Babassu residue (*Orbygnia phalerata* Mart.) in Particleboard. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, 2017.

MACH-AIGNER, A. R.; PUCHER, M. E.; STEIGER, M. G.; BAUER, G. E.; PREIS, S. J.; MACH, R. L. Transcriptional Regulation of *xyr1*, Encoding the Main Regulator of the Xylanolytic and Cellulolytic Enzyme System in *Hypocrea jecorina*. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 6554–6562, 2008.

MAHMOOD, R.T.; ASAD, M.J.; ASGHER, M.; GULFRAZ, M.; MUKHTAR, T. Analysis of Lignolytic Enzymes and Descolorization of Disperse Violet S3LR, Yellow Brown S2RFL, Red W4BS, Yellow SRLP and Red S3B by Brown rot fungi. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 54, p. 407–413, 2017.

MALDONADO, R.R.; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; POZZA, E.L.; COSTA, F.A.A.; MAUGERI FILHO, F.; RODRIGUES, M.I. Production of lipase from *Geotrichum candidum* using corn steep liquor in different bioreactors. **Journal of the American Chemical Society**, v. 91, n. 12, p. 1999- 2009, 2014.

MANAVALAN, T.; MANAVALAN, A.; HEESE, K. Characterization of Lignocellulolytic Enzymes from White-Rot Fungi. **Current Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 485-498, 2015.
MANIGLIA, B. C.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Isolation and characterization of starch from babassu mesocarp. **Food Hydrocolloids**, p. 47–55, 2016.

MARQUES, N. P.; DE CASSIA PEREIRA, J.; GOMES, E.; DA SILVA, R.; ARAÚJO, A. R.; FERREIRA, H.; BOCCHINI, D. A. Cellulases and xylanases production by endophytic fungi by solid state fermentation using lignocellulosic substrates and

enzymatic saccharification of pretreated sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, p.66–75, 2018.

MARTINI, W.S.; PORTO, B. L. S.; OLIVEIRA, M. A. L.; SANT'ANA, A. C. Comparative Study of the Lipid Profiles of Oils from Kernels of Peanut, Babassu, Coconut, Castor and Grape by GC-FID and Raman Spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.29, n.2, 2018.

MARTINS, M. P.; MARTINEZ-ROSSI, N. M.; SANCHES, P. R.; GOMES, E. V.; BERTOLINI, M. C.; PEDERSOLI, W. R.; ROSSI, A. The pH Signaling Transcription Factor PAC-3 Regulates Metabolic and Developmental Processes in Pathogenic Fungi. **Frontiers in Microbiology**, 2019.

MARTORELL, M. M.; RUBERTO, L. A. M.; FERNÁNDEZ, P. M.; DE FIGUEROA, L. I. C.; MAC CORMACK, W. P. Biodiversity and enzymes bioprospection of Antarctic filamentous fungi. **Antarctic Science**, p. 1–10, 2018.

MCCOMBIE, W. R.; MCPHERSON, J. D.; MARDIS, E. R. Next-Generation Sequencing Technologies. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, 2019.

MCGENITY, T. J. Microbial Communities Utilizing Hydrocarbons and Lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology. Ed.1. **Springer Nature Switzerland**, 2019.

MCGINNIS, M.R.; LEMON, S.M.; WALKER, D.H.; DE HOOG, G.S.; HAASE, G. Fatal cerebritis caused by a new species of *Cladophialophora*. **Stud Mycol**, p.166–171, 1999.

MEGHWANSHI, G. K.; VASHISHTHA, A. Biotechnology of Fungal Lipases. **Fungi and Their Role in Sustainable Development: Current Perspectives**, p.383–411, 2018.

MEHRA, R.; MUSCHIOL, J.; MEYER, A. S.; KEPP, K. P. A structural-chemical explanation of fungal laccase activity. **Scientific Reports**, 2018.

MEHTA, A.; BODH, U.; GUPTA, R. Fungal lipase: a review. **Journal of Biotech Research**, p. 58- 77, 2017.

MENDES, D.B. Seleção de fungos filamentosos produtores de lipases com potencial de aplicação para a produção de biodiesel por catálise enzimática. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) Universidade Federal do Tocantins, 2019.

MERCER, D.K.; STEWART, C.S. Keratin hydrolysis by dermatophytes. **Medical Mycology**, v. 57, p. 13-22, 2019.

MEYER, W.; IRINYI, L.; HOANG, M. T. V.; ROBERT, V.; GARCIA-HERMOSO, D.; DESNOS-OLLIVIER, M.; YURAYART, C.; TSANG, C.C.; LEE, C.Y.; WOO, C.Y.P.; PCHELIN, I.M.; UHRLAB, S.; NENOFF, P.; CHINDAMPORN, A.; CHEN, S.; HEBERT, P.D.N.; SORRELL, T. C. Database establishment for the secondary fungal DNA barcode -Translational Elongation Factor 1 α (TEF1 α). **Genome**, 2019.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MISHRA, A.; KUMAR, S.; BHATNAGAR, A. Potential of Fungal Laccase in Decolorization of Synthetic Dyes. **Microbial Wastewater Treatment**, p. 127–15, 2019.

MONOD, M.; CAPOCCIA, S.; LÉCHENNE, B.; ZAUGG, CH.; HOLDOM, M. Secreted proteases from pathogenic fungi. **International Journal of Medical Microbiology**, p. 405- 419, 2002.

MORENO, L. F., AHMED, A. A. O., BRANKOVICS, B., CUOMO, C. A., MENKEN, S. B. J., TAJ-ALDEEN, S. J.; FAIDAH, H.; STIELOW, J.B.; TEIXEIRA, M.M.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; VICENTE, V.A.; DE HOOG, S. Genomic Understanding of an Infectious Brain Disease from the Desert. **G3**, v.8 2018.

MORENO, L. F.; VICENTE, V. A.; DE HOOG, S. Black yeasts in the omics era: Achievements and challenges. **Medical Mycology**, p. 32–41, 2018.

MORENO, L., F.; FENG, P.; WEISS, V. A.; VICENTE, V. A.; STIELOW, B.; DE HOOG, S. Phylogenomic analyses reveal the diversity of laccase-coding genes in *Fonsecaea* genomes. **PLoS ONE**, v. 12, e0171291, 2017.

MORI, T.; TSUBOI, Y.; ISHIDA, N. Multidimensional highresolution magic angle spinning and solution-state NMR characterization of ¹³C-labeled plant metabolites and lignocellulose, **Scientific Reports**, p. 1–12, 2015.

MORSI, R.; BILAL, M.; IQBAL, H. M. N.; ASHRAF, S. S. Laccases and peroxidases: The smart, greener and futuristic biocatalytic tools to mitigate recalcitrant emerging pollutants. **Science of The Total Environment**, 2020.

MYASOEDOVA, N.M.; RENFELD, Z.V.; PODIEIABLONSKAIA, E.V.; SAMOILOVA, A.S.; CHERNYKH, A.M.; CLASSEN, T.; PIETRUSZKA, J.; KOLOMYTSEVA, M.P.; GOLOVLEVA, L.A. Novel laccase—producing ascomycetes. **Microbiology**, p. 503–511, 2017.

NAGLIK, J.R.; CHALLACOMBE, S.J.; HUBE, B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. **Microbiol Mol Biol Ver**, v. 67, p.400–28, 2003.

NAJAFZADEH, M. J.; SUN, J.; VICENTE, V.A.; DE HOOG, G.S. Rapid identification of fungal pathogens by rolling circle amplification using *Fonsecaea* as a model. **Mycoses**, v. 54, p. 577–582, 2011b.

NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; VICENTE, V.; XI, L.; VAN DEN ENDE, A. H.; DE HOOG, G.S. *Fonsecaea nubica* sp. nov, a new agent of human chromoblastomycosis revealed using molecular data, **Medical Mycology**, v. 48, p. 800-6, 2010a.

NASCIMENTO, M. M. F. Ecologia Molecular de Leveduras Negras. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

NASCIMENTO, M. M. F.; VICENTE, V.A.; BITTENCOURT, J.V.M.; GELINSKI, J.M.L.; PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; ROMERO-GÜIZA, M.; FORNARI, D.; GOMES R.R.; SANTOS, G.D.; GERRITS VAN DEN ENDE, A.H.G.; DE AZEVEDO, C.D.M.P.S.; DE HOOG, D.S. Diversity of opportunistic black fungi on babassu coconut shells, a rich source of esters and hydrocarbons. **Fungal Biology**, v.121, p. 488-500, 2017.

NATH, A. Prediction and molecular insights into fungal adhesins and adhesin like proteins. **Computational Biology and Chemistry**, p. 333–340, 2019.

NAYAK, S.K.; MISHRA, B.B.; MOHAPATRA, S.; MISHRA, S.S.; PAUL, M.; THATOI, H. Lignolytic Enzymes from Fungus: A Consolidated Bioprocessing Approach for Bioethanol Production. **Frontiers in Soil and Environmental Microbiology**, p. 167-180, 2020.

NEGI, S. Lipases: A Promising Tool for Food Industry. **Green Bio-Processes**, p.181–198, 2018.

NETT, J.E. *Candida auris*: An emerging pathogen “incognito”? **PLoS Pathog**, 2019.

NIMRICHTER, L.; CERQUEIRA, M.D.; LEITÃO, E.A.; MIRANDA, K.; NAKAYASU, E.S.; ALMEIDA, S.R.; ALMEIDA, I.C.; ALVIANO, C.S.; BARRETO-BERGTER, E.; RODRIGUES, M.L. Structure, cellular distribution, antigenicity, and biological functions of *Fonsecaea pedrosoi* ceramide monohexosides. **Infection and Immunity**, v. 73, p. 7860– 7868, 2005.

NOSANCHUK; J. D., CASADEVALL, A. The contribution of melanin to microbial pathogenesis. **Cell. Microbiol.** v. 5, p. 203–223, 2003.

NOVELLI, P. K.; BARROS, M. M.; FLEURI, L. F. Novel inexpensive fungi proteases: Production by solid state fermentation and characterization. **Food Chemistry**, p. 119–124, 2016.

ODA, K.; KAKIZONO, D.; YAMADA, O.; IEFUJI, H.; AKITA, O.; IWASHITA, K. Proteomic Analysis of Extracellular Proteins from *Aspergillus oryzae* Grown under Submerged and Solid-State Culture Conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 3448–3457, 2006.

OMRANE BENMRAD, M.; MOUJEHED, E.; BEN ELHOUL, M.; MECHRI, S.; BEJAR, S.; ZOUARI, R.; JAOUADI, B. Production, purification, and biochemical characterization of serine alkaline protease from *Penicillium chrysogenum* strain X5 used as excellent bio-additive for textile processing. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 1002–1016, 2018.

PALMEIRA, V. F.; GOULART, F. R. V.; GRANATO, M. Q.; ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S.; KNEIPP, L. F.; SANTOS, A. L. S. *Fonsecaea pedrosoi* Sclerotic Cells: Secretion of Aspartic-Type Peptidase and Susceptibility to Peptidase Inhibitors. **Frontiers in Microbiology**, 2018.

PALMEIRA, V. F.; KNEIPP, L. F.; ALVIANO, C. S.; SANTOS, A. L. S. The major chromoblastomycosis fungal pathogen, *Fonsecaea pedrosoi*, extracellularly releases

proteolytic enzymes whose expression is modulated by culture medium composition: implications on the fungal development and cleavage of key's host structures. **FEMS Immunology Medical Microbiology**, p. 21–29, 2006.

PALOHEIMO, M.; HAARMANN, T.; MÄKINEN, S.; VEHEMAANPERÄ, J. Production of Industrial Enzymes in *Trichoderma reesei*. **Gene Expression Systems in Fungi: Advancements and Applications**, 2016.

PARENTE, J. A.; SALEM-IZACC, S. M.; SANTANA, J. M.; PEREIRA, M.; BORGES, C. L.; BAILÃO, A. M.; SOARES, C. M. A secreted serine protease of *Paracoccidioides brasiliensis* and its interactions with fungal proteins. **BMC microbiology**, 2010.

PASCOAL, A.; ESTEVINHO, L.M.; MARTINS, I.M.; CHOUPINA, A.B., REVIEW: Novel sources and functions of microbial lipases and their role in the infection mechanisms. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, p.119-126, 2018.

PENALVA, M. A.; ARST, H. N. Regulation of Gene Expression by Ambient pH in Filamentous Fungi and Yeasts. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, p. 426–446, 2002.

PENG, F.; PENG, P.; XU, F.; SUN, R.-C. Fractional purification and bioconversion of hemicelluloses. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 4, p. 879-903, 2012.

PÉREZ, M. M.; GONÇALVES, E. C. S.; VICI, A. C.; SALGADO, J. C. S.; DE MORAES POLIZELI, M. DE L. T. Fungal Lipases: Versatile Tools for White Biotechnology. **Nonparametric Statistics**, p. 361–404, 2019.

PIMENTEL, P.S. S. R. Desenvolvimento de coquetéis enzimáticos a partir de diferentes fungos filamentosos e aplicação na hidrólise da biomassa lignocelulósica. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, 2019.

PINHEIRO, V. E.; MICHELIN, M.; VICI, A. C.; DE ALMEIDA, P. Z.; TEIXEIRA DE MORAES POLIZELI, M.L. *Trametes versicolor* laccase production using agricultural wastes: a comparative study in Erlenmeyer flasks, bioreactor and tray. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2019.

PINI, G.; FAGGI, E.; CAMPISI, E. Enzymatic characterization of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* strains isolated in Italy. **Revista Iberoamericana de Micología**, p. 77–82, 2017.

PINTO, L.; GRANJA, L. F. Z.; ALMEIDA, M. A. DE.; ALVIANO, D. S.; SILVA, M. H. DA; EJZEMBERG, R.; ROZENTAL, S.; ALVIANO, C. S. Melanin particles isolated from the fungus *Fonsecaea pedrosoi* activates the human complement system. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, 2018.

PLÁCIDO, J.; CAPAREDA, S. Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production. **Bioresour. Bioprocess**, 2015.

POLIZELI, M.L.T.M; RAI, M. Fungal Enzymes.1 ed, **Boca Raton** ,2014.

PORTNOY, T.; MARGEOT, A.; SEIDL-SEIBOTH, V.; LE CROM, S.; BEN CHAABANE, F.; LINKE, R.; KUBICEK, C. P. Differential Regulation of the Cellulase Transcription Factors XYR1, ACE2, and ACE1 in *Trichoderma reesei* Strains Producing High and Low Levels of Cellulase. **Eukaryotic Cell**, p.262–271, 2010.

POYNTNER, C.; BLASI, B.; ARCALIS, E.; MIRASTSCHIJSKI, U.; STERFLINGER, K.; TAFER, H. The Transcriptome of *Exophiala dermatitidis* during Ex-vivo Skin Model Infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 2016.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; DE HOOG, G. S.; SUMMERBELL, R. C. Fungal Communities in Hydrocarbon Degradation. **Microbial Communities Utilizing Hydrocarbons and Lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology**, p. 307–342, 2019.

PRENAFETA-BOLDÚ, F. X.; ROCA, N.; VILLATORO, C.; VERA, L.; DE HOOG, G. S. Prospective application of melanized fungi for the biofiltration of indoor air in closed bioregenerative systems. **Journal of Hazardous Materials**, 2018.

PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; GUIVERNAU, M.; GALLASTEGUI, G.; VIÑAS, M.; DE HOOG, G.S.; ELÍAS, A. Fungal/ bacterial interactions during the biodegradation of TEX hydrocarbons (toluene, ethylbenzene and p-xylene) in gas biofilters operated under xerophilic conditions. **FEMS Microbiology Ecology**, p. 722–734, 2012.

PRENAFETA-BOLDÚ, F.X.; SUMMERBELL, R.; DE HOOG, G.S. Fungi growing on aromatic hydrocarbons: biotechnology's unexpected encounter with biohazard. **FEMS. Microbiology Reviews**, p. 109–130, 2006.

PRUSKY, D.; BARAD, S.; MENT, D.; BI, F. The pH modulation by fungal secreted molecules: a mechanism affecting pathogenicity by postharvest pathogens. **Israel Journal of Plant Sciences**, p. 22–30, 2016.

QUEIROZ-TELLES, F. Chromoblastomycosis: A Neglected Tropical Disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 57(19), p. 46-50, 2015.

QUEIROZ-TELLES, F.; DE HOOG, S.G.; SANTOS, D.C.; SALGADO, C.G.; VICENTE, V.A.; BONIFAZ, A.; ROILIDES, E.; XI, L.; AZEVEDO, A.M.P.; SILVA, M.B.; PANA, Z.D.; COLOMBO, A.L.; WALSH, T. J. Cromoblastomycosis: a neglected global disease. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, p. 233-276, 2017.

QUEIROZ-TELLES, F.; HOOG, G. S.; SANTOS, D. W. C. L.; SALGADO, C. G.; VICENTE, V. A.; BONIFAZ, A.; ROILIDES, E.; XI, L.; AZEVEDO, C. M. P. S.; SILVA, M. B.; PANA, Z. D.; COLOMBO, A. L.; WALSH, T. J. Chromoblastomycosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 233-276, 2017b.

QUEIROZ-TELLES, F.; SANTOS, D.W.C.L. Chromoblastomycosis in the Clinical Practice. **Current Fungal Infection Reports**, v.6, p.312-9, 2012.

RALPH, J.; LAPIERRE, C.; BOERJAN, W. Lignin structure and its engineering **Current Opinion in Biotechnology**, v. 56, p. 240- 249, 2019.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial peptidases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 03, p. 597–635, 1998.

RAULO, R.; KOKOLSKI, M.; ARCHER, D. B. The roles of the zinc finger transcription factors XlnR, ClrA and ClrB in the breakdown of lignocellulose by *Aspergillus niger*. **AMB Express**, 2016.

RAWLINGS, N. D.; BATEMAN, A. Origins of peptidases. **Biochimie**, 2019.
 REBELLO, S.; ANJU, M.; ANEESH, E.M.; SINDHU, R.; BINOD, P.; PANDEY, A. Recent advancements in the production and application of microbial pectinases: an overview. **Reviews Environmental Science Biotechnology**, p. 381–394, 2017.
 REBELLO, S.; ANJU, M.; ANEESH, E.M.; SINDHU, R.; BINOD, P.; PANDEY, A. Recent advancements in the production and application of microbial pectinases: an overview. **Reviews Environmental Science Biotechnology**, p. 381–394, 2017.

REVANKAR, S. G. *Cladophialophora bantiana* brain abscess in an immunocompetent patient. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 22(4), p. 149-150, 2011.

ROBL, D.; DELABONA, P.D.S.; MERGEL, C.M.; ROJAS, J.D.; COSTA, P.D.S.; PIMENTEL, I.C.; VICENTE, V.A.; PRADELLA, J.G.D.C.; PADILLA, G. The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. **BMC Biotechnol**, 2013.

RODRÍGUEZ- COUTO, S. Fungal Laccase: A Versatile Enzyme for Biotechnological Applications. **Fungal Biology**, p. 429-457, 2019.

RUIZ, H. A.; RODRÍGUEZ-JASSO, R. M.; HERNANDEZ-ALMANZA, A.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; AGUILAR, C. N. Pectinolytic Enzymes. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**, p. 47–71, 2017.

SAADOUN, I.; DAWAGREH, A.; JARADAT, Z.; ABABNEH, Q. Influence of culture conditions on pectinase production by *Streptomyces* sp (strain J9). **International Journal Life Science and Medical Research**, 2013.

SABARENO LÓPEZ, M; FLORES VILLAVICENCIO, L.L.; SOTO ARREDONDO, K.; BARBOSA SABANERO, G.; VILLAGOMEZ-CASTRO, J.C.; CRUZ JIMENEZ, G.; SANDOVAL BERNAL, G.; TORRES GURRERO, H. Proteases of *Sporothrix schenckii*: Cytopathological effects on a host-cell model. **Revista Iberoamericana Micología**, 2018.

SAHARAN, S.G.; MEHTA, N.; MEENA, P.D. Infection Process, Pathogenesis and Disease Cycle. **Alternaria Diseases of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management**, 2016.

SAJITH, S. An Overview on Fungal Cellulases with an Industrial Perspective. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v.6, 2016.

SALGADO, C. G. Fungal x host interactions in Chromoblastomycosis. **Virulence**, p. 3–5, 2010.

SALGADO, C.G.; SILVA, J.P.; DINIZ, J.A.P.; SILVA, M.B.; COSTA, P.F.; TEIXEIRA, C.; SALGADO, U.I. Isolation of *Fonsecaea pedrosoi* from thorns of *Mimosa pudica*, a probable natural source of chromoblastomycosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, p.33-36, 2004.

SALIHI, A.; ASOODEH, A.; ALIABADIAN, M. Production and biochemical characterization of an alkaline protease from *Aspergillus oryzae* CH93. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 827–835, 2017.

SALIHU, A.; ALAM, M.Z.; ABDULKARIM, M.I.; SALLEH, H.M. Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. **Resour Conservation Recycling**, p. 36-44, 2012.

SANTOS, A.L.S.; PALMEIRA, V.F.; ROZENTAL, S.; KNEIPP, L.F.; NIMRICHTER, L.; ALVIANO, D.S.; RODRIGUES, M.L.; ALVIANO, C.S. Biology and pathogenesis of *Fonsecaea pedrosoi*, the major etiologic agent of chromoblastomycosis. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 31, p.570-591, 2007.

SARMAH, N.; REVATHI, D.; SHEELU, G.; YAMUNA RANI, K.; SRIDHAR, S.; MEHTA, B.V.; SUMANA, C. Recent advances on sources and industrial applications of lipases. **Biotechnology Progress**, p. 5–28, 2017.

SATHYA, T. A.; KHAN, M. Diversity of glycosyl hydrolase enzymes from metagenome and their application in food industry. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 11, p. 2149-2156, 2014.

SAV, H.; OZAKKAS, F.; ALTINBAS, R.; KIRAZ, N.; TÜMGÖR, A.; GÜMRAL, R.; DÖGEN, A.; ILKIT, M.; DE HOOG, G. S. Virulence markers of opportunistic black yeast in *Exophiala*. **Mycoses**, 2016.

SAVITHA, S.; SADHASIVAM, S.; SWAMINATHAN, K. Fungal protease: Production, purification and compatibility with laundry detergents and their wash performance. **Journal of the Taiwan Institute Chemical Engineers**, v. 42, p.298-304, 2011.

SAXENA, J.; CHOUDHARY, N.; GUPTA, P.; SHARMA, M.M.; SINGH, A. Isolation and Characterization of Neutral Proteases Producing Soil fungus *Cladosporium* sp PAB2014 Strain FGCC/BLS2: Process Optimization for Improved Enzyme Production. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v.76, p. 707-713, 2017.

SCHINDLER, M.; SAWADA, H.; TIETJEN, K.; HAMADA, T.; HAGIWARA, H.; BANABA, S. Melanin Synthesis in the Cell Wall. **Modern Crop Protection Compounds**, p. 879–909, 2019.

SCHNEIDER, G.X.; GOMES, R.R.; BOMBASSARO, A.; ZAMARCHI, K.; VOIDALESKI, M.F.; COSTA, F.F.; LEÃO, A. C. R.; LIMA, B. J. F. S.; SOLEY, B.S.; COLOMBO, I. R.; CÂNDIDO, G. Z.; NAJAFZADEH, M. J.; SUN, J.; DE AZEVEDO, C.

M. P. S.; MARQUES, S. G.; DE HOOG, G. S.; VICENTE, V. A. New Molecular Markers Distinguishing *Fonsecaea* Agents of Chromoblastomycosis. **Mycopathologia**, 2019.

SCHOCH, C.L.; SEIFERT, K.A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J.L.; LEVESQUE, C.A.; CHEN, W. Fungal barcoding consortium. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, p. 6241–46, 2012.

SELLA, L.; GAZZETTI, K.; CASTIGLIONI, C.; SCHÄFER, W.; D'OVIDIO, R.; FAVARON, F. The *Fusarium graminearum* Xyr1 transcription factor regulates xylanase expression but is not essential for fungal virulence. **Plant Pathology**, 2015.

SEMENOVA, T. A.; DUNAEVSKY, Y. E.; BELJAKOVA, G. A.; BORISOV, B. A.; SHAMRAICHUK, I. L.; BELOZERSKY, M. A. Extracellular peptidases as possible markers of fungal ecology. **Applied Soil Ecology**, p. 1–10, 2017.

SENTHIVELAN, T.; KANAGARAJ, J.; PANDA, R. C. Recent trends in fungal laccase for various industrial applications: An eco-friendly approach - A review. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, p.19–38, 2016.

SEYEDMOUSAVI, S.; GUILLOT, J.; DE HOOG, G. S. Phaeohyphomycoses, emerging opportunistic diseases in animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, p. 19–35, 2013.

SEYEDMOUSAVI, S.; NETEA, G.M.; MOUTON, J. W.; MELCHERS, W. J. G.; VERWEIJ, P. E.; DE HOOG, G. S. Black yeasts and their filamentous relatives: principles of pathogenesis and host defense. **Clinical Microbiology Reviews**, v.27, p. 527–542, 2014.

SHANKAR, S.; SINGH, S.; SHIKHA, M.A.; RAM, S. Strategic Role of Fungal Laccases in Biodegradation of Lignin. **Fungal Biology**, 2019.

SHARMA, H.K.; XU, C.; QIN, W. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts: An Overview. **Waste Biomass Valor**. 2017.

SHI, D.; ZHANG, W.; LU, G.; DE HOOG, G.S.; LIANG, G.; MEI, H.; ZHENG, H.; SHEN, Y.; LIU, W. Chromoblastomycosis due to *Fonsecaea monophora* misdiagnosed as sporotrichosis and cutaneous tuberculosis in a pulmonary tuberculosis patient. **Medical Mycology Case Reports**, v.11, p.57–60, 2016.

SING, R.; MITTAL, A.; KUMAR, M.; MEHTA, P.K. Microbial Protease in Commercial Applications. **Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, 2016.

SINGH, A. K.; MUKHOPADHYAY, M. Overview of Fungal Lipase: A Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2011.

SIQUEIRA, I. M.; DE CASTRO, R.J.A.; LEONHARDT, L.C.M.; JERÔNIMO, M.S.; SOARES, A.C.; RAIOL, T.; NISHIBE, C.; ALMEIDA, N.; TAVARES, A.H.; HOFFMAN, C.; BOCCA, A.L. Modulation of the immune response by *Fonsecaea pedrosoi*

morphotypes in the course of experimental chromoblastomycosis and their role on inflammatory response chronicity. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, 2017.

SMITH, D. F. Q.; CASADEVALL, A. The Role of Melanin in Fungal Pathogenesis for Animal Hosts. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, 2019.

SNYMAN, C.; THERON, L.; DIVOL, B. Understanding the regulation of extracellular protease gene expression in fungi: a key step towards their biotechnological applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2019.

SONNHAMMER, E.L.; KOONIN, E.V. Orthology, paralogy and proposed classification for paralog subtypes. **Trends Genetics**, 2002.

SOUZA, P.M.D. Produção de proteases por fungos filamentosos isolados do cerrado do centro-oeste brasileiro. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

STELTE, W.; HOLM, J. K.; SANADI, A. R.; BARSBERG, S.; AHRENFELDT, J.; HENRIKSEN, U. B. A study of bonding and failure mechanisms in fuel pellets from diferente biomass resources. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 910-918, 2011.

STERFLINGER, K. Black Yeasts and Meristematic Fungi: Ecology, Diversity and Identification. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. The Yeast Handbook. **Springer**, 2006.

SUN, J.; NAJAFZADH, M.J.; VICENTE, V.A.; XI, L.; DE HOOG, G.S. Rapid detection of pathogenic fungi using loop-mediated isothermal amplification, exemplified by *Fonsecaea* agents of chromoblastomycosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 80, p.19-24, 2010.

SUPPIGER, A.; ESHWAR, A. K.; STEPHAN, R.; KAEVER, V.; EBERL, L.; LEHNER, A. The DSF type quorum sensing signalling system RpfF/R regulates diverse phenotypes in the opportunistic pathogen *Cronobacter*. **Scientific Reports**, 2016.

TAKESHITA, N.; FISCHER, R. The Cytoskeleton and Polarity Markers During Polarized Growth of Filamentous Fungi. **Biology of the Fungal Cell**, v. 8, p.43–62 2019.

TAPRE, A. R.; JAIN, R. K. Pectinases: enzymes for fruit processing industry. **International Food Research Journal**, p. 447-453, 2014.

TEE, C.; SEI, Y.; KAJIWARA, S. Secreted Hydrolytic and Haemolytic Activities of *Malassezia* Clinical Strains. **Mycopathologia**, p. 227–238, 2019.

TEHRANI, S.J.; ALIABADIAN, M.; FATA, A.; NAJAFZADEH, M. J. Rolling circle amplification (RCA): an approach for quick detection and identification of fungal species. **Journal of Mycology Research**, v. 1, p. 55-62, 2014.

TEIXEIRA, M.M.; MORENO, L.F.; STIELOW, B. J.; MUSZEWSKA, A.; HAINAUT, M.; GONZAGA, L.; ABOUELLEIL, A.; PATANÉ, J.S.L.; PRIEST, M.; SOUZA, R.; YOUNG,

S.; FERREIRA, K.S.; ZENG, Q.; DA CUNHA, M.M.L.; GLADKI, A. ; BARKER, B.; VICENTE, V.A.; DE SOUZA, E.M.; ALMEIDA, S.; HENRISSAT, B.; VASCONCELOS, A.T.R.; DENG, S.; VOGLMAYR, H.; MOUSSA, T.A.A.; GORBUSHINA, A.; FELIPE, M. S.S.; CUOMO, C. A.; DE HOOG, G. S. Exploring the genomic diversity of black yeasts and relatives (Chaetothyriales, Ascomycota). **Studies in Mycology**, v. 86, p. 1–28, 2017.

TEKPINAR, A. D.; KALMER, A. Utility of various molecular markers in fungal identification and phylogeny. **Nova Hedwigia**, p.187–224, 2019.

THAKUR, J.; GUPTA, R. Improvement of tea leaves fermentation through pectinases. **Acta Microbiol Immunol Hung**, p. 321–334, 2012.

TILBURN, J.; SARKAR, S.; WIDDICK, D.A.; ESPESO, E.A.; OREJAS, M.; MUNGROO, J.; PEN-ALVA, M.A.; ARST, H.N.JR. The *Aspergillus* PacC zinc finger transcription factor mediates regulation of both acid-and alkaline-expressed genes by ambient pH. **EMBO J.**, p. 779–790, 1995.

TODD, R. B. Regulation of Fungal Nitrogen Metabolism. **Biochemistry and Molecular Biology**, p. 281–303, 2016.

TORRES-GUERRERO, E.; ISA-ISA, R.; ISA, M.; ARENAS, R. Chromoblastomycosis. **Clinics in Dermatology**, v.30, p.403-408, 2012.

TOTH, R.; TOTH, A.; VAGVOLGYI, C.; GACSER, A. *Candida parapsilosis* Secreted Lipase as an Important Virulence Factor. **Current Protein and Peptide Science**, v.18, n.10, p. 1043-1049, 2017.

TOUSHIK, S. H.; LEE, K.-T.; LEE, J.-S.; KIM, K.-S. Functional Applications of Lignocellulolytic Enzymes in the Fruit and Vegetable Processing Industries. **Journal of Food Science**, p. 585–593, 2017.

TREVISAN, H. C. Enzimas como agentes biotecnológicos. Ribeirão Preto. **Editora Legis Summa**. 400p, 2014.

TSUI, C.K.M.; WOODHALL, J.; CHEN, W.; LEVESQUE, C.A.; LAU, A.; SCHOENS, C.D.; BACHIENS, C.; NAJAFZADEH, M.J.; DE HOOG, G.S. Molecular techniques for pathogen identification and fungus detection in the environment. **IMA Fungus**, v. 2, p.177- 189, 2011.

UPADHYAY, P.; SHRIVASTAVA, R.; AGRAWAL, P. K. Bioprospecting and biotechnological applications of fungal laccase. **3 Biotech**, 2016.

VICENTE, V. A. Isolamento e caracterização de fungos da cromoblastomicose. Tese (doutorado em Agronomia, Área de concentração: Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Universidade de São Paulo, p. 181, 2000.

VICENTE, V. A.; RIBEIRO, O.; NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; GUERRA, R.S.; MIESCH, S.; OSTRENSKY, A.; MEIS, J. F.; KLAASSEN, C. H.; DE HOOG, G.S.; BOEGER, W. A. Black yeast-like fungi associated with lethargic crab disease (LCD) in

the mangrove-land crab, *Ucides cordatus* (Ocypodidae). **Veterinary Microbiology**, v. 158, p.109–122, 2012.

VICENTE, V.A.; NAJAFZADEH, M.J.; SUN, J.; GOMES, R.R.; ROBL, D.; MARQUES, S.G.; AZEVEDO, C.M.P.S; DE HOOG, GS Environmental siblings of black agents of human chromoblastomycosis. **Fungal Diversity**, 2013.

VICENTE, V.A.; WEISS, V.A.; BOMBASSARO, A.; MORENO, L. F.; COSTA, F. F.; RAITTZ, R.T.; LEÃO, A.C.; GOMES, R.R.; BOCCA, A.L.; FORNARI, G.; DE CASTRO, R.J.A.; SUN, J.; FAORO, H.; TADRA-SFEIR, M.Z.; BAURA, V.; BALSANELLI, E.; ALMEIDA, S.R.; DOS SANTOS, S.S.; TEIXEIRA, M.D.M.; SOARES, F.M.S.; DO NASCIMENTO, M.M.F.; PEDROSA, F.O.; STEFFENS, M.B.; ATTILI-ANGELIS, D.; NAJAFZADEH, M.J.; QUEIROZ-TELLES, F.; SOUZA, E.M.; DE HOOG, G. S. Comparative genomics of sibling species of *Fonsecaea* associated with human chromoblastomycosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n.1924, 2017.

VOIDALESKI, M.F. Bioprospecção de *Fonsecaea pedrosoi* em amostras ambientais por amplificação em círculo rolante (RCA). Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Paraná- Programa de Pós-graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, 2018.

VOUTILAINEN, S. P.; BOER, H.; LINDER, M. B.; PURANEN, T.; ROUVINEN, J.; VEHEMAANPERA, J.; KOIVULA, A. Heterologous expression of *Melanocarpus albomyces* cellobiohydrolase Cel7B, and random mutagenesis to improve its thermostability. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 3, p. 234–243, 2007.

VYLKOVA, S. Environmental pH modulation by pathogenic fungi as a strategy to conquer the host. **PLOS Pathogens**, 2017.

WADIA, T.; JAIN, S. Isolation, Screening and Identification of Lipase Producing Fungi from Oil Contaminated Soil of Shani Mandir Ujjain. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.6, 2017.

WALKER, D.H.; MCGINNIS, M.R. Diseases caused by fungi. **Pathobiology of Human Disease**, 2014.

WANG, F.; XU, L.; ZHAO, L.; DING, Z.; MA, H.; TERRY, N. Fungal Laccase Production from Lignocellulosic Agricultural Wastes by Solid-State Fermentation: A Review. **Microorganisms**, 2019.

WANG, J; LOVETT, B; RAYMOND, J; LEGER, ST. The secretome and chemistry of *Metarhizium*; a genus of entomopathogenic fungi. **Fungal Ecology**, p.7-11, 2019.
WARD, O. P.; RAO, M. B.; KULKARNI, A. Proteases, Production. **Encyclopedia of Microbiology**, p. 495-511, 2009.

XIONG, Y.; WU, V. W.; LUBBE, A.; QIN, L.; DENG, S.; KENNEDY, M.; GLASS, N. L. A fungal transcription factor essential for starch degradation affects integration of carbon and nitrogen metabolism. **PLOS Genetics**, 2017.

XU, X.; FAN, C.; SONG, L.; LI, J.; CHEN, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, W. A Novel CreA-Mediated Regulation Mechanism of Cellulase Expression in the Thermophilic Fungus *Humicola insolens*. **International Journal of Molecular Sciences**, 2019.

XUE, D.; LIN, D.; GONG, C.; PENG, C.; YAO, S. Expression of a bifunctional cellulase with exoglucanase and endoglucanase activities to enhance the hydrolysis ability of cellulase from a marine *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, p.115–122, 2016.

ZAJC, J.; GOSTINČAR, C.; ČERNOŠA, A.; GUNDE-CIMERMAN, N. Stress-Tolerant Yeasts: Opportunistic Pathogenicity Versus Biocontrol Potential. **Genes**, 2019.

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

ZHANG, T.; WANG, N.-F.; LIU, H.-Y.; ZHANG, Y.-Q.; YU, L.-Y. Soil pH is a key determinant of soil fungal community composition in the Ny-Ålesund region, svalbard (High Arctic). **Frontiers Microbiology**, 2016.

ZHANG, Y.; TANG, B.; DU, G. Production of Cellulases by *Rhizopus stolonifer* from Glucose-Containing Media Based on the Regulation of Transcriptional Regulator CRE. **J. Microbiology Biotechnology**, 2017.

APÊNDICE 1 - REAGENTES UTILIZADOS

Ágar Sabouraud Dextrose (ASD)

Dextrose 40 g

Peptona 10 g

Ágar 15 g

Água destilada 1000 mL

Autoclavar por 20 min a 121°C.

Caldo de Infusão de Cérebro e Coração (BHI)

37 g caldo BHI

Cloranfenicol 0,05 g

Água destilada 1000 mL

Autoclavar por 20 min a 121°C.

Meio líquido contendo coco babaçu

Peptona 1g

1mL Tween 80

10% (v/v) solução de sais

23 mg/L CuSO_4

10 g de casca de coco babaçu

Água destilada 1000 mL

Autoclavar por 20 min a 121°C.

Solução de Sais

KH_2PO_4 20g

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 14g

Uréia 3 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 3 g

CaCl_2 3 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,05 g

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,014 g

$\text{MnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,016 g

$\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 0,02 g

Água destilada 1000 mL

Ajustar o pH para 4,8.

Tampão citrato 0,05 mol/L

Ácido cítrico anidro 9,67 g

Citrato de sódio dihidratado 14,07 g

Água destilada 1000 mL.

Solução de 2,2'-Azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS)

Tampão citrato 0,05 mo/L 10 mL

ABTS 109,6 mg.

Solução de polissacarídeo

Dissolver 0,5% do polissacarídeo em 100 mL de água destilada.

Solução de ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS)

Ácido dinitro-3,5-salicílico 10,6 g

Fenol 7,6 mL

Hidróxido de sódio 19,8 g

Meta-bissulfito de sódio 8,3 g

Tartarato de sódio e potássio tetrahidratado 306 g

Água destilada 1416 mL.

Solução atividade enzimática de lipase

p-nitrofenol palmitato 3,3 mg

Goma arábica 5,5 mg

Triton X-100 100 µL

Álcool isopropílico 400 µL

Tampão borato pH 8.0 10 mL.

Tampão borato pH 8.0

Cloreto de sódio 7,02 g

Ácido bórico 3,09 g

Hidróxido de sódio 1N 24 mL

Albumina Bovina 4 g
Água destilada 976 mL.

Hidróxido de sódio 1N
Hídrido de sódio 0,4 g
10 mL de água destilada.

APÊNDICE 2 - DADOS ESTATÍSTICOS

Tabela 1- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	14,69	8,35	6,34	**	0,0013
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	14,69	9,78	4,90	*	0,0379
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	14,69	17,19	-2,50	ns	0,9693
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	14,69	15,41	-0,72	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	14,69	2,01	12,68	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	14,69	15,76	-1,08	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	14,69	14,10	0,59	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,69	14,85	-0,16	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,69	23,07	-8,38	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	8,35	9,78	-1,44	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	8,35	17,19	-8,84	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	8,35	15,41	-7,06	***	0,0002
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	8,35	2,01	6,34	**	0,0013
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	8,35	15,76	-7,42	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	8,35	14,10	-5,75	*	0,0224
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	8,35	14,85	-6,50	***	0,0009
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	8,35	23,07	-14,72	****	<0,0001
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	9,78	17,19	-7,40	***	0,0006

Tabela 1- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	9,78	15,41	-5,62	**	0,0075
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	9,78	2,01	7,78	****	<0,0001
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	9,78	15,76	-5,98	**	0,0032
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	9,78	14,10	-4,31	ns	0,2613
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	9,78	14,85	-5,07	*	0,0266
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	9,78	23,07	-13,28	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	17,19	15,41	1,78	ns	0,9996
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	17,19	2,01	15,18	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	17,19	15,76	1,42	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	17,19	14,10	3,09	ns	0,9085
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	17,19	14,85	2,34	ns	0,9849
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	17,19	23,07	-5,88	*	0,0466
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	15,41	2,01	13,40	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	15,41	15,76	-0,36	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	15,41	14,10	1,31	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	15,41	14,85	0,56	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	15,41	23,07	-7,66	***	0,0004
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	2,01	15,76	-13,76	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	2,01	14,10	-12,09	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	2,01	14,85	-12,84	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	2,01	23,07	-21,06	****	<0,0001

Tabela 1- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	15,76	14,10	1,67	ns	0,9998
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	15,76	14,85	0,92	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	15,76	23,07	-7,30	***	0,0008
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,10	14,85	-0,75	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,10	23,07	-8,97	***	0,0001
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,85	23,07	-8,22	****	<0,0001

Tabela 2- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	15,99	10,12	5,87	**	0,0042
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	15,99	12,37	3,63	ns	0,3635
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	15,99	15,76	0,23	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	15,99	14,15	1,85	ns	0,9993
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	15,99	7,73	8,27	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	15,99	11,88	4,12	ns	0,1718
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	15,99	9,29	6,70	***	0,0005
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	15,99	13,05	2,94	ns	0,7349
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	15,99	23,15	-7,16	***	0,0002

Tabela 2- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	10,12	12,37	-2,24	ns	0,9686
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	10,12	15,76	-5,64	**	0,0072
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	10,12	14,15	-4,02	ns	0,3782
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	10,12	7,73	2,40	ns	0,9799
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	10,12	11,88	-1,75	ns	0,9983
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	10,12	9,29	0,83	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	10,12	13,05	-2,93	ns	0,742
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	10,12	23,15	-13,03	****	<0,0001
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	12,37	15,76	-3,40	ns	0,4825
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	12,37	14,15	-1,78	ns	0,9996
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	12,37	7,73	4,64	ns	0,1624
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	12,37	11,88	0,49	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	12,37	9,29	3,07	ns	0,6652
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	12,37	13,05	-0,69	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	12,37	23,15	-10,78	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	15,76	14,15	1,62	ns	0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	15,76	7,73	8,04	***	0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	15,76	11,88	3,89	ns	0,2493
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	15,76	9,29	6,47	***	0,0009
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	15,76	13,05	2,71	ns	0,8413
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	15,76	23,15	-7,39	****	<0,0001

Tabela 2- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI (continuação).

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias		Significância	Valor de p
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	14,15	7,73	6,42	*	0,018	
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	14,15	11,88	2,27	ns	0,9891	
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	14,15	9,29	4,85	ns	0,1157	
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,15	13,05	1,10	ns	>0,9999	
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,15	23,15	-9,00	****	<0,0001	
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	7,73	11,88	-4,15	ns	0,3236	
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	7,73	9,29	-1,57	ns	>0,9999	
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	7,73	13,05	-5,33	ns	0,0505	
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	7,73	23,15	-15,42	****	<0,0001	
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	11,88	9,29	2,58	ns	0,8896	
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	11,88	13,05	-1,18	ns	>0,9999	
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	11,88	23,15	-11,27	****	<0,0001	
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	9,29	13,05	-3,76	ns	0,3031	
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	9,29	23,15	-13,86	****	<0,0001	
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	13,05	23,15	-10,10	****	<0,0001	

Tabela 3- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significânci a	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	14,78	14,39	0,39	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	14,78	10,67	4,12	ns	0,1914
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	14,78	13,87	0,92	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	14,78	9,92	4,87	*	0,0486
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	14,78	11,65	3,14	ns	0,6508
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	14,78	16,21	-1,42	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	14,78	12,14	2,65	ns	0,8772
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,78	8,58	6,21	**	0,0025
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,78	11,65	3,14	ns	0,6508
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	14,39	10,67	3,73	ns	0,1771
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	14,39	13,87	0,52	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	14,39	9,92	4,48	*	0,0369
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	14,39	11,65	2,75	ns	0,6873
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	14,39	16,21	-1,81	ns	0,9976
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	14,39	12,14	2,26	ns	0,9163
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,39	8,58	5,82	**	0,0013
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,39	11,65	2,75	ns	0,6873
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	10,67	13,87	-3,20	ns	0,412
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	10,67	9,92	0,75	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	10,67	11,65	-0,98	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	10,67	16,21	-5,54	*	0,0118

Tabela 3- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 proteína total		Média 2 proteína total		Diferença entre		Significância	Valor de
	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	médias	p			
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	10,67	12,14	-1,47	ns	0,9994			
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	10,67	8,58	2,09	ns	0,9569			
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	10,67	11,65	-0,98	ns	>0,9999			
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	13,87	9,92	3,95	ns	0,1141			
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	13,87	11,65	2,22	ns	0,9259			
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	13,87	16,21	-2,34	ns	0,9572			
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	13,87	12,14	1,73	ns	0,9944			
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	13,87	8,58	5,29	**	0,005			
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	13,87	11,65	2,22	ns	0,9259			
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	9,92	11,65	-1,73	ns	0,9944			
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	9,92	16,21	-6,29	**	0,0021			
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	9,92	12,14	-2,22	ns	0,9259			
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	9,92	8,58	1,34	ns	0,9998			
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	9,92	11,65	-1,73	ns	0,9944			
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	11,65	16,21	-4,56	ns	0,0887			
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	11,65	12,14	-0,49	ns	>0,9999			
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	11,65	8,58	3,07	ns	0,4882			
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	11,65	11,65	0,00	ns	>0,9999			
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	16,21	12,14	4,07	ns	0,207			
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	16,21	8,58	7,63	****	<0,0001			
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	16,21	11,65	4,56	ns	0,0887			

Tabela 3- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	12,14	8,58	3,56	ns	0,2367
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	12,14	11,65	0,49	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	8,58	11,65	-3,07	ns	0,4882

Tabela 4- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	9,29	12,07	-2,78	ns	0,8272
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	9,29	13,66	-4,36	ns	0,2366
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	9,29	14,29	-5,00	*	0,0373
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	9,29	14,05	-4,76	ns	0,1315
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	9,29	10,73	-1,44	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	9,29	11,50	-2,21	ns	0,9911
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	9,29	12,56	-3,27	ns	0,5792
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	9,29	12,69	-3,40	ns	0,5076
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	9,29	10,83	-1,54	ns	0,9998
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	12,07	13,66	-1,59	ns	0,9996
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	12,07	14,29	-2,22	ns	0,9259
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	12,07	14,05	-1,98	ns	0,9929

Tabela 4- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	12,07	10,73	1,34	ns	0,9998
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	12,07	11,50	0,57	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	12,07	12,56	-0,49	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	12,07	12,69	-0,62	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	12,07	10,83	1,24	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	13,66	14,29	-0,64	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	13,66	14,05	-0,39	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	13,66	10,73	2,93	ns	0,7607
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	13,66	11,50	2,16	ns	0,9932
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	13,66	12,56	1,10	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	13,66	12,69	0,96	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	13,66	10,83	2,83	ns	0,8061
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	14,29	14,05	0,25	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	14,29	10,73	3,56	ns	0,2366
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	14,29	11,50	2,79	ns	0,8203
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	14,29	12,56	1,73	ns	0,9944
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,29	12,69	1,60	ns	0,998
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,29	10,83	3,46	ns	0,2786
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	14,05	10,73	3,32	ns	0,5522
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	14,05	11,50	2,55	ns	0,9589
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	14,05	12,56	1,49	ns	0,9999

Tabela 4- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 proteína total (mg/L)	Média 2 proteína total (mg/L)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,05	12,69	1,36	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	14,05	10,83	3,22	ns	0,6062
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	10,73	11,50	-0,77	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	10,73	12,56	-1,83	ns	0,9893
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	10,73	12,69	-1,96	ns	0,9773
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	10,73	10,83	-0,10	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	11,50	12,56	-1,06	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	11,50	12,69	-1,19	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	11,50	10,83	0,67	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	12,56	12,69	-0,13	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	12,56	10,83	1,73	ns	0,9944
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	12,69	10,83	1,86	ns	0,987

Tabela 5- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média proteína total (mg/L) no meio BHI	Média proteína total (mg/L) no meio CB	Diferença entre as médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	8,35	14,39	-6,04	ns	0,06
<i>F. nubica</i> CBS 269.64	14,69	14,78	-0,09	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	9,78	10,67	-0,89	ns	>0,9999

Tabela 5- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo nos meios BHI e CB (continuação).

Linhagens	Média proteína total (mg/L) no meio BHI	Média proteína total (mg/L) no meio CB	Diferença entre as médias	Significância	Valor de p
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	17,19	13,87	3,32	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	15,41	9,92	5,50	ns	0,17
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	2,01	11,65	-9,64	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	15,76	16,21	-0,45	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248	14,10	12,14	1,96	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	23,07	11,65	11,42	***	0,00
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	14,85	8,58	6,28	*	0,04

Tabela 6- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média proteína total (mg/L) no meio BHI	Média proteína total (mg/L) no meio CB	Diferença entre as médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	10,12	12,07	-1,95	ns	0,5906
<i>F. nubica</i> CBS 269.64	15,99	9,29	6,70	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	12,37	13,66	-1,29	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	15,76	14,29	1,47	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	14,15	14,05	0,10	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	7,73	10,73	-3,01	ns	0,0858
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	11,88	11,50	0,38	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248	9,29	12,56	-3,27	ns	0,9825

Tabela 6- Teste de comparação múltiplas de Tukey dos valores de proteína total (mg/L) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo nos meios BHI e CB. (continuação)

Linhagens	Média proteína total (mg/L) no meio BHI	Média proteína total (mg/L) no meio CB	Diferença entre as médias	Significância	Valor de p
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	23,15	10,83	12,32	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	13,05	12,69	0,36	****	<0,0001

Tabela 7- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Média 2 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	277,10	539,00	-261,90	ns	0,9989
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	277,10	487,70	-210,60	ns	0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	277,10	228,60	48,50	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	277,10	223,60	53,53	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	277,10	4149,00	-3872,00	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	277,10	265,70	11,38	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	277,10	293,20	-16,05	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	277,10	214,60	62,47	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	277,10	171,60	105,50	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	539,00	487,70	51,32	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	539,00	228,60	310,40	ns	0,9955
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	539,00	223,60	315,50	ns	0,9949

Tabela 7- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Média 2 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	539,00	4149,00	-3610,00	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	539,00	265,70	273,30	ns	0,9985
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	539,00	293,20	245,90	ns	0,9994
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	539,00	214,60	324,40	ns	0,9937
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	539,00	171,60	367,40	ns	0,9839
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	487,70	228,60	259,10	ns	0,999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	487,70	223,60	264,10	ns	0,9988
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	487,70	4149,00	-3661,00	****	<0,0001
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	487,70	265,70	222,00	ns	0,9998
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	487,70	293,20	194,60	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	487,70	214,60	273,10	ns	0,9985
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	487,70	171,60	316,10	ns	0,9948
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	228,60	223,60	5,03	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	228,60	4149,00	-3921,00	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	228,60	265,70	-37,11	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	228,60	293,20	-64,54	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	228,60	214,60	13,98	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	228,60	171,60	57,01	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	223,60	4149,00	-3926,00	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	223,60	265,70	-42,15	ns	>0,9999

Tabela 7- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de		Média 2 atividade de		Diferença entre	Significância	Valor de p
	protease (mg/mg tripsina)		protease (mg/mg tripsina)	médias			
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	223,60		293,20	-69,58	ns		>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	223,60		214,60	8,95	ns		>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	223,60		171,60	51,98	ns		>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	4149,00		265,70	3883,00	****		<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	4149,00		293,20	3856,00	****		<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	4149,00		214,60	3934,00	****		<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	4149,00		171,60	3978,00	****		<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	265,70		293,20	-27,43	ns		>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	265,70		214,60	51,09	ns		>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	265,70		171,60	94,12	ns		>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	293,20		214,60	78,52	ns		>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	293,20		171,60	121,60	ns		>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	214,60		171,60	43,03	ns		>0,9999

Tabela 8- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 atividade de		Média 2 atividade de		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
	protease (mg/mg tripsina)		protease (mg/mg tripsina)				
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	240,90		371,10		-130,20	ns	0,3584
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	240,90		325,20		-84,38	ns	0,8385
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	240,90		254,70		-13,83	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	240,90		293,60		-52,75	ns	0,9911
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	240,90		1272,00		-1031,00	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	240,90		375,90		-135,10	ns	0,3165
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	240,90		500,50		-259,60	**	0,0069
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	240,90		339,80		-98,94	ns	0,6904
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	240,90		160,90		79,93	ns	0,8756
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	371,10		325,20		45,83	ns	0,9971
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	371,10		254,70		116,40	ns	0,496
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	371,10		293,60		77,46	ns	0,8941
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	371,10		1272,00		-900,60	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	371,10		375,90		-4,85	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	371,10		500,50		-129,40	ns	0,3657
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	371,10		339,80		31,27	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	371,10		160,90		210,10	*	0,0328
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	325,20		254,70		70,54	ns	0,9369
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	325,20		293,60		31,63	ns	0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	325,20		1272,00		-946,50	****	<0,0001

Tabela 8- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Média 2 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	325,20	375,90	-50,68	ns	0,9934
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	325,20	500,50	-175,20	ns	0,0988
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	325,20	339,80	-14,56	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	325,20	160,90	164,30	ns	0,138
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	254,70	293,60	-38,92	ns	0,9993
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	254,70	1272,00	-1017,00	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	254,70	375,90	-121,20	ns	0,445
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	254,70	500,50	-245,80	*	0,0106
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	254,70	339,80	-85,10	ns	0,832
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	254,70	160,90	93,77	ns	0,7465
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	293,60	1272,00	-978,10	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	293,60	375,90	-82,31	ns	0,8564
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	293,60	500,50	-206,90	*	0,0364
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	293,60	339,80	-46,19	ns	0,9969
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	293,60	160,90	132,70	ns	0,3366
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	1272,00	375,90	895,80	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	1272,00	500,50	771,20	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	1272,00	339,80	931,90	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	1272,00	160,90	1111,00	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	375,90	500,50	-124,60	ns	0,4116

Tabela 8- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Média 2 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	375,90	339,80	36,12	ns	0,9996
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	375,90	160,90	215,00	*	0,0281
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	500,50	339,80	160,70	ns	0,1539
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	500,50	160,90	339,60	***	0,0007
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	339,80	160,90	178,90	ns	0,0883

Tabela 9- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Média 2 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	260,30	85,25	175,10	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	260,30	131,80	128,50	***	0,0007
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	260,30	294,00	-33,67	ns	0,8027
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	260,30	98,62	161,70	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	260,30	128,90	131,40	***	0,0006
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	260,30	20,29	240,00	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	260,30	117,30	143,00	***	0,0003
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	260,30	311,80	-51,51	ns	0,3171
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	260,30	140,00	120,30	**	0,0013

Tabela 9- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de	Média 2 atividade de	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
	protease (mg/mg tripsina)	protease (mg/mg tripsina)			
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	85,25	131,80	-46,54	ns	0,4373
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	85,25	294,00	-208,70	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	85,25	98,62	-13,37	ns	0,9997
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	85,25	128,90	-43,70	ns	0,5161
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	85,25	20,29	64,97	ns	0,1152
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	85,25	117,30	-32,05	ns	0,8419
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	85,25	311,80	-226,60	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	85,25	140,00	-54,71	ns	0,2531
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	131,80	294,00	-162,20	****	<0,0001
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	131,80	98,62	33,17	ns	0,815
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	131,80	128,90	2,85	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	131,80	20,29	111,50	**	0,0026
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	131,80	117,30	14,49	ns	0,9994
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	131,80	311,80	-180,00	****	<0,0001
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	131,80	140,00	-8,17	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	294,00	98,62	195,40	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	294,00	128,90	165,00	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	294,00	20,29	273,70	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	294,00	117,30	176,70	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	294,00	311,80	-17,84	ns	0,9965

Tabela 9- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens		Média 1 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Média 2 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899		294,00	140,00	154,00	***	0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37		98,62	128,90	-30,33	ns	0,8791
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543		98,62	20,29	78,33	*	0,0383
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248		98,62	117,30	-18,68	ns	0,995
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710		98,62	311,80	-213,20	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899		98,62	140,00	-41,34	ns	0,5846
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543		128,90	20,29	108,70	**	0,0032
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248		128,90	117,30	11,65	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710		128,90	311,80	-182,90	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899		128,90	140,00	-11,01	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248		20,29	117,30	-97,01	**	0,0081
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710		20,29	311,80	-291,50	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899		20,29	140,00	-119,70	**	0,0014
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710		117,30	311,80	-194,50	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899		117,30	140,00	-22,66	ns	0,9789
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899		311,80	140,00	171,90	****	<0,0001

Tabela 10- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 atividade de		Média 2 atividade de		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
	protease (mg/mg tripsina)	protease (mg/mg tripsina)	protease (mg/mg tripsina)	protease (mg/mg tripsina)			
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	71,90		52,01		19,90	ns	0,999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	71,90		81,05		-9,14	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	71,90		118,90		-47,04	ns	0,7307
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	71,90		20,01		51,89	ns	0,6216
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	71,90		46,55		25,35	ns	0,9927
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	71,90		26,67		45,24	ns	0,7692
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	71,90		16,41		55,49	ns	0,5398
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	71,90		115,90		-44,04	ns	0,7935
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	71,90		36,32		35,58	ns	0,9287
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	52,01		81,05		-29,04	ns	0,9803
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	52,01		118,90		-66,94	ns	0,3126
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	52,01		20,01		31,99	ns	0,9625
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	52,01		46,55		5,45	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	52,01		26,67		25,34	ns	0,9928
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	52,01		16,41		35,60	ns	0,9285
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	52,01		115,90		-63,94	ns	0,3652
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	52,01		36,32		15,69	ns	0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	81,05		118,90		-37,90	ns	0,8992
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	81,05		20,01		61,04	ns	0,4213
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	81,05		46,55		34,49	ns	0,9405

Tabela 10- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de		Média 2 atividade de		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
	protease (mg/mg tripsina)		protease (mg/mg tripsina)				
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	81,05		26,67		54,38	ns	0,5649
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	81,05		16,41		64,64	ns	0,3525
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	81,05		115,90		-34,90	ns	0,9362
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	81,05		36,32		44,73	ns	0,7797
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	118,90		20,01		98,94	*	0,0449
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	118,90		46,55		72,39	ns	0,2316
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	118,90		26,67		92,28	ns	0,0688
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	118,90		16,41		102,50	*	0,0356
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	118,90		115,90		3,00	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	118,90		36,32		82,63	ns	0,1261
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	20,01		46,55		-26,54	ns	0,9897
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	20,01		26,67		-6,66	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	20,01		16,41		3,60	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	20,01		115,90		-95,94	ns	0,0544
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	20,01		36,32		-16,31	ns	0,9998
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	46,55		26,67		19,88	ns	0,999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	46,55		16,41		30,14	ns	0,9746
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	46,55		115,90		-69,40	ns	0,2738
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	46,55		36,32		10,23	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	26,67		16,41		10,26	ns	>0,9999

Tabela 10- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Média 2 atividade de protease (mg/mg tripsina)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	26,67	115,90	-89,28	ns	0,0832
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	26,67	36,32	-9,65	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	16,41	115,90	-99,54	*	0,0432
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	16,41	36,32	-19,91	ns	0,999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	115,9	36,32	79,63	ns	0,1514

Tabela 11- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média atividade de protease (mg/mg tripsina) no meio BHI	Média atividade de protease (mg/mg tripsina) no meio CB	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	539,00	85,25	453,75	****	<0,0001
<i>F. nubica</i> CBS 269.64	277,10	260,30	16,80	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	487,70	131,80	355,90	***	0,0004
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	228,60	294,00	-65,40	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	223,60	98,62	124,98	ns	0,9925
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	4149,00	128,90	4020,10	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	265,70	20,29	245,41	ns	0,0855
<i>F. monophora</i> CBS 102248	293,20	117,30	175,90	ns	0,6868

Tabela 11- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo nos meios BHI e CB. (continuação)

Linhagens	Média atividade de protease (mg/mg tripsina) no meio BHI	Média atividade de protease (mg/mg tripsina) no meio CB	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	171,60	140,00	31,60	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	214,60	311,80	-97,20	ns	>0,9999

Tabela 12- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de protease (mg/mg tripsina) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média atividade de protease (mg/mg tripsina) no meio BHI	Média atividade de protease (mg/mg tripsina) no meio CB	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	371,10	52,01	319,090	**	0,0026
<i>F. nubica</i> CBS 269.64	240,90	71,90	169,000	ns	0,762
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	325,20	81,05	244,150	ns	0,09
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	254,70	118,90	135,800	ns	0,9748
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	293,60	20,01	273,590	*	0,0248
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	1272,00	46,55	1225,450	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	375,90	26,67	349,230	***	0,0005
<i>F. monophora</i> CBS 102248	500,50	16,41	484,090	****	<0,0001
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	160,90	36,32	124,580	ns	0,1946
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	339,80	115,90	223,900	ns	0,9928

Tabela 13- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 atividade de		Média 2 atividade de		Diferença entre	Significância	Valor de p
	lipase (U/mg)	lipase (U/mg)	lipase (U/mg)	médias			
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,14	0,01	0,13	ns	0,3262		
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,14	0,70	-0,55	**	0,0015		
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,14	0,02	0,12	ns	0,4001		
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,01	0,70	-0,69	***	0,0005		
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,01	0,02	-0,01	ns	0,9995		
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,70	0,02	0,67	***	0,0006		
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	0,00	0,14	-0,14	ns	0,0615		
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,00	0,01	-0,01	ns	>0,9999		
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,00	0,02	-0,02	ns	>0,9999		
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,00	0,70	-0,70	***	<0,0001		

Tabela 14- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 atividade de	Média 2 atividade de	Diferença entre	Significância	Valor de p
	lipase (U/mg)	lipase (U/mg)			
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,11	0,19	-0,08	ns	0,5557
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	0,11	0,00	0,11	ns	0,4067
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,11	0,00	0,11	ns	0,4067
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,11	0,00	0,11	ns	0,4067
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,00	0,19	-0,19	**	0,0018
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,00	0,19	-0,19	**	0,0018

Tabela 14- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de lipase (U/mg)	Média 2 atividade de lipase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,19	0,00	0,19	**	0,0018

Tabela 15- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 atividade de lipase (U/mg)	Média 2 atividade de lipase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,15	0,00	0,15	*	0,028
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,15	0,00	0,15	*	0,028
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,15	0,00	0,15	*	0,028
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999

Tabela 16- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 atividade de lipase (U/mg)	Média 2 atividade de lipase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,01	0,05	-0,03	ns	0,2657
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,01	0,04	-0,03	ns	0,4297
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,05	0,04	0,01	ns	0,9541
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,00	0,01	-0,01	ns	>0,9999

Tabela 16- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de lipase (U/mg)	Média 2 atividade de lipase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,00	0,05	-0,05	ns	0,9998
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,00	0,04	-0,04	ns	>0,9999

Tabela 17- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média atividade de lipase (U/mg) no meio BHI	Média atividade de lipase (U/mg) no meio CB	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	0,14	0,15	-0,01	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,01	0,00	0,01	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,70	0,00	0,70	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248	0,02	0,00	0,02	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999

Tabela 18- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lipase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média atividade de lipase (U/mg) no meio BHI	Média atividade de lipase (U/mg) no meio CB	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64	0,11	0,00	0,11	ns	0,4067
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,00	0,01	-0,01	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,19	0,00	0,19	***	0,0004
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,00	0,05	-0,05	ns	0,9998
<i>F. monophora</i> CBS 102248	0,00	0,00	0,00	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,00	0,04	-0,04	ns	>0,9999

Tabela 19- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)	Média 2 atividade de lacase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,18	0,25	-0,07	ns	0,9934
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,18	0,09	0,09	ns	0,9715
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,18	0,13	0,05	ns	0,9996
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,18	1,25	-1,07	****	<0,0001
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,18	0,15	0,03	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,18	0,15	0,03	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,18	0,06	0,12	ns	0,8861
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,18	0,13	0,05	ns	0,9998
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,25	0,09	0,16	ns	0,5743

Tabela 19- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)	Média 2 atividade de lacase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,25	0,13	0,12	ns	0,8446
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,25	1,25	-1,00	****	<0,0001
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,25	0,15	0,10	ns	0,9436
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,25	0,15	0,11	ns	0,9337
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,25	0,06	0,19	ns	0,4028
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,25	0,13	0,12	ns	0,8636
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,09	0,13	-0,04	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,09	1,25	-1,16	****	<0,0001
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,09	0,15	-0,06	ns	0,9981
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,09	0,15	-0,06	ns	0,9987
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,09	0,06	0,03	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,09	0,13	-0,04	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,13	1,25	-1,12	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,13	0,15	-0,02	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,13	0,15	-0,02	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,13	0,06	0,07	ns	0,9972
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,13	0,13	0,00	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	1,25	0,15	1,10	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	1,25	0,15	1,10	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	1,25	0,06	1,19	****	<0,0001
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	1,25	0,13	1,12	****	<0,0001

Tabela 19- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio BHI. (continuação).

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)	Média 2 atividade de lacase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,15	0,15	0,00	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,15	0,06	0,09	ns	0,977
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,15	0,13	0,02	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,15	0,06	0,09	ns	0,9817
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,15	0,13	0,02	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,06	0,13	-0,07	ns	0,9959

Tabela 20- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)	Média 2 atividade de lacase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	0,22	0,23	-0,01	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,22	0,19	0,02	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,22	0,12	0,10	ns	0,6384
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,22	0,14	0,08	ns	0,8265
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,22	0,41	-0,20	*	0,0288
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,22	0,25	-0,03	ns	0,9998
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,22	0,28	-0,06	ns	0,965
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,22	0,19	0,03	ns	0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,22	0,09	0,13	ns	0,2676
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,23	0,19	0,03	ns	0,9997
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,23	0,12	0,10	ns	0,5302

Tabela 20- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI. (continuação).

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)		Média 2 atividade de lacase (U/mg)		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,23		0,14		0,09	ns	0,7296
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,23		0,41		-0,19	*	0,0392
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,23		0,25		-0,02	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,23		0,28		-0,05	ns	0,9887
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,23		0,19		0,04	ns	0,9988
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,23		0,09		0,14	ns	0,2043
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,19		0,12		0,07	ns	0,8901
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,19		0,14		0,06	ns	0,9771
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,19		0,41		-0,22	*	0,0128
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,19		0,25		-0,06	ns	0,9773
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,19		0,28		-0,08	ns	0,7887
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,19		0,19		0,01	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,19		0,09		0,11	ns	0,5024
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,12		0,14		-0,02	ns	>0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,12		0,41		-0,29	**	0,0012
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,12		0,25		-0,13	ns	0,2926
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,12		0,28		-0,15	ns	0,1246
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,12		0,19		-0,07	ns	0,9289
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,12		0,09		0,03	ns	0,9994
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,14		0,41		-0,28	**	0,002
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,14		0,25		-0,11	ns	0,4559

Tabela 20- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI. (continuação).

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)	Média 2 atividade de lacase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,14	0,28	-0,14	ns	0,2114
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,14	0,19	-0,05	ns	0,9892
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,14	0,09	0,05	ns	0,9867
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,41	0,25	0,17	ns	0,086
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,41	0,28	0,14	ns	0,2098
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,41	0,19	0,23	*	0,0106
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,41	0,09	0,33	***	0,0004
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,25	0,28	-0,03	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,25	0,19	0,06	ns	0,9576
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,25	0,09	0,16	ns	0,0971
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,28	0,19	0,09	ns	0,7261
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,28	0,09	0,19	*	0,0381
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,19	0,09	0,10	ns	0,5687

Tabela 21- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)	Média 2 atividade de lacase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	0,20	0,09	0,11	ns	0,0616
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,20	0,12	0,08	ns	0,2529
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,20	0,26	-0,06	ns	0,708
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,20	0,27	-0,07	ns	0,5328

Tabela 21- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)		Média 2 atividade de lacase (U/mg)		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,20		0,13		0,07	ns	0,4582
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,20		0,09		0,11	ns	0,0522
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,20		0,10		0,10	ns	0,106
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,20		0,28		-0,07	ns	0,3648
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,20		0,05		0,15	**	0,0063
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,09		0,12		-0,03	ns	0,9964
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,09		0,26		-0,17	**	0,0029
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,09		0,27		-0,17	**	0,0018
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,09		0,13		-0,04	ns	0,9376
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,09		0,09		0,00	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,09		0,10		-0,01	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,09		0,28		-0,18	**	0,0011
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,09		0,05		0,04	ns	0,9282
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,12		0,26		-0,14	*	0,0124
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,12		0,27		-0,15	**	0,0076
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,12		0,13		-0,01	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,12		0,09		0,03	ns	0,9918
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,12		0,10		0,02	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,12		0,28		-0,16	**	0,0046
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,12		0,05		0,07	ns	0,4673
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,26		0,27		-0,01	ns	>0,9999

Tabela 21- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)		Média 2 atividade de lacase (U/mg)		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,26		0,13		0,13	*	0,0261
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,26		0,09		0,17	**	0,0025
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,26		0,10		0,16	**	0,0049
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,26		0,28		-0,02	ns	0,9999
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,26		0,05		0,21	***	0,0004
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,27		0,13		0,13	*	0,0159
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,27		0,09		0,18	**	0,0016
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,27		0,10		0,16	**	0,0031
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,27		0,28		-0,01	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,27		0,05		0,22	***	0,0003
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,13		0,09		0,04	ns	0,9068
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,13		0,10		0,03	ns	0,9907
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,13		0,28		-0,14	**	0,0094
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,13		0,05		0,08	ns	0,259
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,09		0,10		-0,01	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,09		0,28		-0,19	***	0,001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,09		0,05		0,04	ns	0,954
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,10		0,28		-0,17	**	0,0019
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,10		0,05		0,05	ns	0,7901
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,28		0,05		0,23	***	0,0002

Tabela 22- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)		Média 2 atividade de lacase (U/mg)		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. erecta</i> CBS 125763	0,16		0,12		0,04	ns	0,971
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,16		0,04		0,12	ns	0,1163
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,16		0,16		0,00	ns	>0,9999
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,16		0,05		0,11	ns	0,1445
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,16		0,21		-0,05	ns	0,8815
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,16		0,10		0,06	ns	0,7542
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,16		0,08		0,09	ns	0,4066
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,16		0,35		-0,19	**	0,0044
<i>F. nubica</i> CBS 269.64 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,16		0,11		0,05	ns	0,9507
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,12		0,04		0,07	ns	0,5923
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,12		0,16		-0,05	ns	0,952
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,12		0,05		0,07	ns	0,6731
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,12		0,21		-0,10	ns	0,2669
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,12		0,10		0,02	ns	>0,9999
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,12		0,08		0,04	ns	0,9694
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,12		0,35		-0,23	***	0,0007
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,12		0,11		0,00	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,04		0,16		-0,12	ns	0,0994
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,04		0,05		0,00	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,04		0,21		-0,17	**	0,0095
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,04		0,10		-0,05	ns	0,898
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,04		0,08		-0,03	ns	0,9975

Tabela 22- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de		Média 2 atividade de		Diferença entre	Significância	Valor de p
	lacase (U/mg)	lacase (U/mg)	lacase (U/mg)	médias			
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,04	0,35	-0,30	****	<0,0001		
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,04	0,11	-0,07	ns	0,6534		
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,16	0,05	0,11	ns	0,1239		
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,16	0,21	-0,05	ns	0,9167		
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,16	0,10	0,07	ns	0,6992		
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,16	0,08	0,09	ns	0,3588		
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,16	0,35	-0,18	**	0,0051		
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,16	0,11	0,05	ns	0,9244		
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,05	0,21	-0,17	*	0,0119		
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,05	0,10	-0,05	ns	0,941		
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,05	0,08	-0,03	ns	0,9995		
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,05	0,35	-0,30	****	<0,0001		
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,05	0,11	-0,06	ns	0,7325		
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,21	0,10	0,12	ns	0,1085		
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,21	0,08	0,14	*	0,0396		
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,21	0,35	-0,13	ns	0,0528		
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,21	0,11	0,10	ns	0,2297		
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	0,10	0,08	0,02	ns	0,9999		
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,10	0,35	-0,25	***	0,0003		
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,10	0,11	-0,02	ns	>0,9999		
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,08	0,35	-0,27	***	0,0001		

Tabela 22- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio CB. (continuação)

Linhagens	Média 1 atividade de lacase (U/mg)		Média 2 atividade de lacase (U/mg)		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. monophora</i> CBS 102248 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,08		0,11		-0,04	ns	0,9835
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,35		0,11		0,23	***	0,0006

Tabela 23- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média atividade de lacase (U/mg) no meio BHI		Média atividade de lacase (U/mg) no meio CB		Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	0,18		0,09		0,09	ns	0,9994
<i>F. nubica</i> CBS 269,64	0,00		0,20		-0,20	ns	0,0617
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,25		0,12		0,13	ns	0,7822
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,09		0,26		-0,17	ns	0,2862
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,13		0,27		-0,14	ns	0,7163
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	1,25		0,13		1,12	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,15		0,09		0,06	ns	>0,9999
<i>F. monophora</i> CBS 102248	0,15		0,10		0,05	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,13		0,05		0,08	ns	0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,06		0,28		-0,21	*	0,0336

Tabela 24- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de lacase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média atividade de lacase (U/mg) no meio BHI	Média atividade de lacase (U/mg) no meio CB	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	0,23	0,12	0,11	ns	0,9781
<i>F. nubica</i> CBS 269.64	0,22	0,16	0,06	ns	>0,9999
<i>F. pugnacius</i> CBS 139214	0,19	0,04	0,15	ns	0,5716
<i>F. multimorphosa</i> CBS 980.96	0,12	0,16	-0,04	ns	>0,9999
<i>F. pedrosoi</i> CMRP 3076	0,14	0,05	0,09	ns	0,9992
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,41	0,21	0,20	ns	0,0722
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	0,25	0,10	0,15	ns	0,5293
<i>F. monophora</i> CBS 102248	0,28	0,08	0,20	ns	0,0684
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,09	0,11	-0,03	ns	>0,9999
<i>F. brasiliensis</i> CBS 119710	0,19	0,35	-0,16	ns	0,3972

Tabela 25- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de pectinase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo em meio BHI.

Linhagens	Média 1 atividade de pectinase (U/mg)	Média 2 atividade de pectinase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. monophora</i> CMRP 2543	1,15	1,13	0,02	ns	0,9995
<i>F. erecta</i> CBS 125763 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	1,15	0,54	0,60	ns	0,0809
<i>F. monophora</i> CMRP 2543 vs. <i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	1,13	0,54	0,59	ns	0,0888

Tabela 26- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de pectinase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 72 horas e 168 horas de cultivo em meio CB.

Linhagens	Tempo (hs)	Média 1 atividade de pectinase (U/mg)	Média 2 atividade de pectinase (U/mg)	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	72	47,78	37,97	9,807	**	0,0013
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37 vs. <i>F. monophora</i> CBS 102248	168	30,95	33,52	-2,564	*	0,0221

Tabela 27- Teste de comparação múltiplas de Tukey da atividade de pectinase (U/mg) das linhagens do gênero *Fonsecaea* em 168 horas de cultivo nos meios BHI e CB.

Linhagens	Média atividade de pectinase (U/mg) no meio BHI	Média atividade de pectinase (U/mg) no meio CB	Diferença entre médias	Significância	Valor de p
<i>F. erecta</i> CBS 125763	1,15	0,00	1,15	ns	0,1407
<i>F. pedrosoi</i> CBS 271.37	0,00	30,95	-30,95	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CBS 102248	0,00	33,52	-33,52	****	<0,0001
<i>F. monophora</i> CMRP 2543	1,13	0,00	1,13	ns	0,1549
<i>F. brasiliensis</i> CMRP 2899	0,54	0,00	0,54	ns	0,9581