

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO**

BIANCA GUIMARÃES FURTADO

**COMPOSIÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM *Molossus molossus* (Pallas,
1766) (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) EM AMBIENTE DE MATA ATLÂNTICA NO
SUL DO BRASIL**

CRICIÚMA

2018

BIANCA GUIMARÃES FURTADO

COMPOSIÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) EM AMBIENTE DE MATA ATLÂNTICA NO SUL DO BRASIL

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para obtenção do grau de Bacharel no Curso de Ciências Biológicas na Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Carvalho
Coorientadora: Prof. Dra. Geovana Dagostim Savi

CRICIÚMA

2018

COMPOSIÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) EM AMBIENTE DE MATA ATLÂNTICA NO SUL DO BRASIL

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para obtenção do grau de Bacharel no Curso de Ciências Biológicas na Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Carvalho
Coorientadora: Prof. Dra. Geovana Dagostim Savi

Criciúma, 19 de Novembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fernando Carvalho - Doutor – Universidade do Extremo Sul Catarinense-UNESC- Orientador

Prof. Meline de Oliveira dos Santos Morais - Mestre - Universidade do Extremo Sul Catarinense-UNESC

Prof. Mainara Figueiredo Cascaes – Mestre - Universidade do Extremo Sul Catarinense-UNESC

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço o apoio dos meus pais durante este processo, nunca deixaram de apoiar minhas decisões e na busca da realização dos meus sonhos.

Agradecer também o apoio e paciência do meu namorado, por ter estado ao meu lado nesta etapa, me confortando e me auxiliando também.

Agradecer o apoio da minha família que sei que de longe está torcendo por mim. Sou feliz por ter escolhido este curso e muito grata por ter sido apoiada, principalmente pelo o meu tio e grande exemplo de profissional Biólogo, Professor Sandro Peil (in memorium), que apesar de não estar mais entre nós sei que está me olhando lá de cima, feliz e vibrando neste momento.

Agradeço imensamente ao meu orientador Fernando Carvalho pela paciência e auxílio recebido, pela determinação e conhecimentos transmitidos.

Não tenho palavras para agradecer a minha Coorientadora Geovana Dagostim Savi, por toda paciência e dedicação, toda parceria e aprendizado, ao longo deste período, sem dúvidas se não fosse por seu auxílio não estaria concluindo esta etapa.

Novamente agradeço a total parceria e disponibilidade da equipe do laboratório de Desenvolvimento de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos-LADEBIMA (Iparque), coordenado pelo Elídio Angioletto, que me proporcionaram isto. E por todo auxílio desta equipe incrível do laboratório, do apoio, dos momentos divertidos, e de descontração durante esta etapa.

Agradeço também a parceria do Laboratório de Zoologia e Ecologia de Vertebrados- LABZEV, por ter me acolhido e por todo auxílio nos campos, e pela parceria dos integrantes do laboratório.

E por fim agradeço a todos os meus amigos que me ajudaram de certa forma, com quem compartilhei algum momento, de desabafo, aos que me ouviram tanto nos momentos difíceis, quanto nos bons momentos, durante esta etapa.

Muito Obrigada!!!

“O mundo tornou-se perigoso, porque os homens aprenderam a dominar a natureza antes de dominarem a si mesmos.”

Albert Schweitzer

RESUMO

Nas duas últimas décadas o número de doenças infecciosas aumentou e isso pode estar relacionado com agentes patogênicos, transmitidos por diferentes hospedeiros. Dentre estes hospedeiros, os morcegos, por utilizarem como abrigo locais favoráveis a propagação de fungos, apresentam interação com potenciais agentes patogênicos. Pouco se conhece sobre a microbiota associada a estes animais e para o Brasil, apenas um único trabalho foi desenvolvido até o momento. Diante do exposto o objetivo do presente estudo foi analisar a composição de fungos filamentosos da região rostral de *Molossus molossus*, em ambiente de Mata Atlântica no Sul do Brasil. O estudo foi realizado no município de Treviso, região Sul de Santa Catarina, em um abrigo antrópico de *Molossus molossus*. Para a captura dos morcegos foram realizadas duas saídas de campo, nas quais os morcegos foram capturados com redes-de-neblina, instaladas na saída do abrigo. Após capturados, de cada indivíduo foi obtida uma amostra da região rostral, sendo utilizado para isso swab umedecidos em solução salina. As amostras foram encaminhadas para laboratório onde ocorreu o isolamento, e classificação macromorfológica dos fungos. Posteriormente, foram utilizados meios de cultura seletivos e observadas micromorfológicamente pela técnica de microcultivo. Foram capturados 15 indivíduos de *Molossus molossus*, nos quais foram identificados 19 morfoespécies de fungos, abrangendo cinco gêneros fúngicos. Dentre os *taxa* registrados foram classificados como pouco constante *Aspergillioides* sp.2, (47%), *Penicillium* sp.1 (33%), *Chrysonilia* sp. (33%), *Cladosporium* sp. (27%). E em termos de abundância, *Penicillium* sp.1 (34% da amostra), *Aspergillioides* sp.2 (21%) e *Aspergillus* sp.2 (11%) foram os mais abundantes nas amostras. Os dados demonstram ocorrência de uma elevada riqueza de fungos na região rostral de *Molossus molossus* na Mata Atlântica, riqueza essa que é superior àquela observada para outros biomas brasileiros. Essa característica pode estar relacionada com o método de identificação dos grupos fúngicos, mas também com características do ambiente (maior umidade), o que pode favorecer a ocorrência de fungos. Os gêneros fúngicos identificados no presente estudo já foram observados em morcegos em outras regiões, inclusive alguns sendo associados a doenças (micoses) em animais silvestres, plantas e também em humanos. Estudos que demonstrem a ocorrência de tais associações são importantes, tanto para prevenir potenciais doenças, assim como, para projetos de conservação dos morcegos.

Palavras-chave: Abrigos. Doenças Infecciosas. Identificação Fúngica. Quirópteros. Morcegos.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa de localização da área de estudo demonstrando a localização do município de Treviso na região Sul de Santa Catarina e em detalhe a delimitação do município e a posição onde encontra-se a colônia de <i>Molossus molossus</i> avaliada no presente estudo.....	16
Figura 2 - Imagem demonstrando procedimento de captura de indivíduos <i>Molossus molossus</i> , com redes-de-neblina posicionada na saída do abrigo, no município de Treviso, no Sul de Santa Catarina.....	17
Figura 3. Microscopia óptica de 400x mostrando fungos filamentosos isolados e identificados da região nasal de <i>Molossus molossus</i> após crescimento em microcultivo, conforme o indicado na Tabela 1 (Id.) para cada Gênero e Subgênero	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 METODOLOGIA	16
3.1 ÁREA DE ESTUDO.....	16
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.2.1 Captura dos morcegos e coleta de amostras	17
3.2.2 Isolamento das amostras	18
3.2.4 Análise de dados	20
4. RESULTADOS.....	21
5 DISCUSSÃO	23
6 CONCLUSÕES	27
REFERÊNCIAS.....	28
APÊNDICES	33

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas, houve aumento no número de doenças infecciosas, as quais, dentre outros fatores, podem ser causadas por agentes patogênicos transmitidos por diferentes hospedeiros (HEITMAN, 2011; FISHER et al., 2012), incluindo alguns fungos (Reino Fungi). Algumas espécies fúngicas possuem potencial para atuar como agentes patogênicos afetando tanto animais, quanto também plantas, podendo levar a mortes e em casos mais graves, provocando a extinção local de populações e espécies de hospedeiros (FISHER et al., 2012).

Os fungos abrangem entre 1,5 à cinco milhões de espécies, as quais estão divididas nos filos Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Microsporídia e Neocallimastigomycota (HIBBETT et al., 2007; HEITMAN, 2011). Segundo os mesmos autores, este *taxa* abrange organismos que apresentam grande importância econômica e ambiental, assim como, aqueles que provocam doenças infecciosas. Os fungos são classificados como unicelulares, como exemplo temos as leveduras, e espécies patogênicas (TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. 2012). São organismos heterotróficos e eucariotos que obtêm carbono e energia de outros organismos (CARRIS; LITTLE; STILES, 2012). A reprodução deste grupo ocorre por meio de esporos possuindo um corpo (talo), composto de células tubulares microscópicas chamadas hifas que se entrelaçam formando o micélio, originando as colônias comumente chamadas de mofo (Bolors) (BURTON; ENGELKIRK, 2005; CARRIS, LITTLE, STILES, 2012). Quando o crescimento ocorre em meio de cultura é possível observar nas colônias formadas as características macromorfológicas do micélio. Estas auxiliam na sua identificação devido a diferenciação de acordo com o gênero e espécie, de acordo com as características das colônias que as diferenciam (TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. 2012). Dos quais, algumas espécies fungicas como os saprófitos, vivem na matéria orgânica, na água e no solo, enquanto que outros, como os fungos parasitas, vivem na superfície ou no interior de animais e de vegetais (BURTON; ENGELKIRK, 2005).

Alguns fungos possuem distribuição cosmopolita (BURTON; ENGELKIRK, 2005), característica esta que é influenciada também pela atividade antrópica, a qual modifica os ambientes naturais, podendo aumentar a incidência de fungos

patogênicos, os quais podem diminuir a biodiversidade, inclusive com implicações na saúde humana e no ecossistema (FISCHER et al., 2012). Grupos fúngicos que possuem associação com animais possuem a capacidade de se desenvolver tanto em vertebrados como invertebrados (CARRIS; LITTLE; STILES, 2012), onde podem tanto causar problemas, assim como, auxiliar estes grupos (BURTON; ENGELKIRK, 2005). Um exemplo de atuação benéfica dos fungos aos animais, é o caso das formigas que cultivam fungos para quebrar a celulose e a lignina presente nas plantas, provendo glicose na qual elas podem digerir. Das mais de 100 mil espécies conhecidas de fungos apenas cerca de 200 são patogênicas aos seres humanos e animais (TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. 2012).

As doenças infecciosas emergentes ocasionadas por estes organismos podem afetar ambientes terrestres, dulcícolas e marinhos, causando surtos, (epizoonóticos) ou até afetar populações em escalas globais, o que é definido como panzoótico (DASZAK, 2001). A União Internacional de Conservação da Natureza (IUCN) avalia o status de conservação da fauna e flora em âmbito global, sendo que das 833 espécies em extinção, quatro por cento (31 espécies) foram relacionadas a doenças infecciosas (FISCHER et al., 2012).

Doenças de pele ocasionadas por fungos patogênicos, como as micoses, podem constituir ameaça a vida selvagem, reduzindo a população de diversas espécies como corais, répteis não aves e anfíbios (SHAPIRO et al., 2015). Um exemplo desta interação é o fungo *Aspergillus sydowii* (Ascomycota), considerado um agente infeccioso epizoonótico, que causou a morte em massa dos corais da espécie *Gorgonia ventalina* Linnaeus, 1758 (GEISER et al., 1998). Para serpentes, há também registro de infecção causada por fungos, provocada pela espécie fúngica *Ophidiomyces ophiodiicola* (FRANKLINOS et al., 2017). Esta doença teve os primeiros relatos em 2008, causando infecção de pele em cascavéis (ALLENDER et al., 2011), inclusive com registro de morbidade e mortalidade (FRANKLINOS et al., 2017). Outro caso é o do fungo que causa infecções na pele de anfíbios *Batrachochytrium dendrobatidis* (Chytridiomycota), descoberto em 1998 (FISCHER et al., 2012; ORTEGA, 2016). Este fungo afetou mais de 500 espécies em 54 países, causando uma das maiores perdas de biodiversidade já documentada (FISHER et al., 2012).

Alguns grupos de animais, como por exemplo, os morcegos, por utilizarem como abrigos cavernas, grutas e ocos de árvores que são ambientes

favoráveis à propagação dos fungos, apresentam grande interação com agentes de potencial patogênico (TENCATE et al., 2012). Dentre as interações já descritas, destaca-se os dermatófitos, os fungos filamentosos as leveduras oportunistas e as patogênicas que já foram isoladas em amostras de fezes e das fossas nasais de morcegos (TENCATE et al., 2012; SHAPIRO et al., 2015).

Assim como observado em outros grupos de vertebrados, para os morcegos, as interações com fungos podem ser desvantajosas. No ano de 2006, no nordeste dos Estados Unidos, uma nova doença foi descoberta afetando populações de morcegos, a qual foi denominada como síndrome do nariz branco (BLEHERT, 2009). Esta doença já foi reportada em várias espécies, como por exemplo, *Eptesicus fuscus* (Beauvois, 1796), *Myotis austroriparius* (Rhoads, 1897), *Myotis grisescens* (Howell, 1909), *Myotis leibii* (Audubon & Bachman, 1842), *Myotis lucifugus* (Le Conte, 1831), *Myotis septentrionalis* (Trouessart, 1897), *Myotis sodalis* (Miller & Allen, 1928), *Myotis velifer* (Allen, 1890), *Perimyotis subflavus* (Cuvier, 1832). Considerada uma epidemia mortal em algumas partes dos Estados Unidos e Canadá, causando a morte de aproximadamente um milhão de morcegos, essa doença é causada pelo fungo *Geomyces destructans* (Ascomycota) (VOYRON, 2011). Estima-se que a síndrome do nariz branco, possa ser muito devastadora para algumas espécie de morcegos, tais como *Myotis lucifugus* que possui 99% de chance de ser extinto nos próximos 16 anos, decorrente principalmente pela infecção deste fungo (FISCHER et al., 2012).

Todos estes registros de interação entre morcegos e fungos foram feitos em regiões de clima temperado. Para áreas sob influência de clima Tropical e subtropical, é praticamente inexistente o conhecimento sobre estas interações. Para os morcegos neotropicais, com ênfase nas espécies brasileiras, muito pouco se conhece sobre a microbiota associada a estes animais, onde apenas um único trabalho que foi realizado até o momento (TENCATE et al., 2012).

Os morcegos são importantes elementos em ambientes naturais, onde devido a sua alta plasticidade alimentar, podem atuar como controladores de espécies de insetos, polinizadores e dispersores (FLEMING et al., 1972), interagindo com inúmeros elementos do ambiente (BERNARD; FENTON 2007), desempenhando importante papel no funcionamento dos ecossistemas (KALKO 1998; BERNARD, 2001). Atualmente mais de 1.300 espécies de morcegos já foram descritas no mundo, representando quase um quarto das espécies de mamíferos

(FENTON, SIMMONS, 2014). No Brasil ocorrem 180 espécies (NOGUEIRA et al., 2014; MORATELLI, DIAS, 2015; GREGORIN et al., 2016), das quais ao menos 50 possuem registros confirmados em Santa Catarina (PASSOS et al., 2010; CARVALHO; FABIÁN, 2011; CHEREM; ALTHOFF, 2016; CARVALHO et al., 2017; ALTHOFF et al. 2018).

Entre as famílias que ocorrem no estado de Santa Catarina, Molossidae possui registro de 10 espécies (PASSOS et al., 2010; CARVALHO et al., 2017; ALTHOFF et al., 2018). Nesta família insere-se a espécie *Molossus molossus* (Pallas, 1766), a qual será objeto do presente estudo. Esta espécie é considerada de porte médio, e possuem algumas características como, orelhas arredondadas e unidas junto à linha média acima da cabeça, pelos no dorso em cores que variam de castanho-escuro ao marrom-avermelhado, e além disso possuem um tufo de pelos direcionado ventralmente no lábio superior (WEBER, 2013; REIS et al., 2017). Esta espécie possui hábito insetívoro, consumindo grande variedade de artrópodes (WEBER, 2013). É considerada uma espécie sinantrópica, ocorrendo com grande frequência em áreas urbanas, onde utiliza construções humanas como abrigo (SOUZA, 2011).

Possui ampla distribuição, abrangendo América do Norte, América Central, América do Sul, Suriname, Guianas, Venezuela, Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, Paraguai, Brasil, Argentina e Uruguai (EDGER, 2007). No Brasil se distribui em todos os estados (BARROS, 2014; REIS et al., 2017), sendo considerada como de baixo risco de extinção em âmbito estadual, nacional ou mundial (CONSEMA, 2011; MMA, 2014; BARQUEZ et al., 2015). Diante do exposto a problemática deste estudo se propõe conhecer a micobiota associada aos morcegos da espécie *Molossus molossus* no Sul do Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Analisar a composição de fungos filamentosos da região rostral de *Molossus molossus*, em Ambiente de Mata Atlântica no Sul do Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

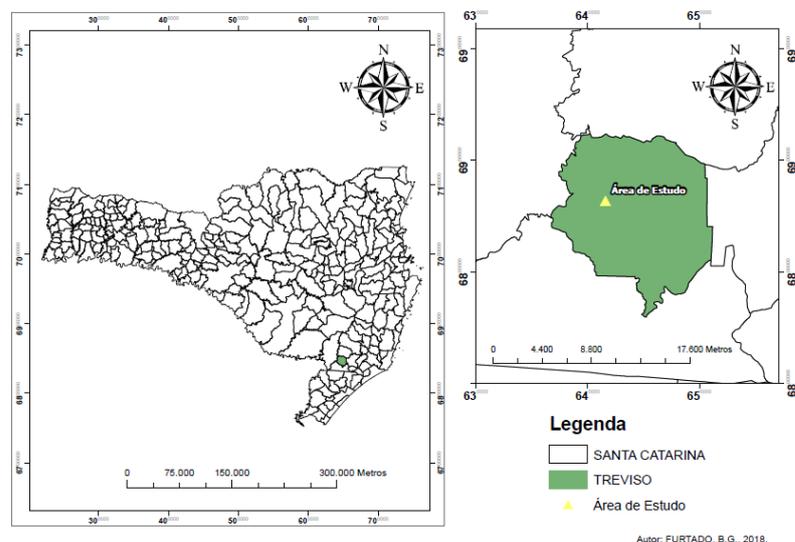
- Identificar quais gêneros fúngicos estão presentes na região rostral de *Molossus molossus*, em ambiente de Mata Atlântica no Sul do Brasil.
- Analisar a frequência de ocorrência dos diferentes *taxa* de fungos filamentosos presentes na região rostral de *Molossus molossus*, em ambiente de Mata Atlântica no Sul do Brasil.

3 METODOLOGIA

3.1 ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado na Região Sul do estado de Santa Catarina, no município de Treviso (Figura 1), em um abrigo antrópico de *Molossus molossus* (644857.13 m E 6847641.21 m S, UTM). A área onde o abrigo está localizado corresponde a um remanescente florestal pertencente a formação de Floresta Ombrófila Densa Submontana, segundo classificação fitogeográfica (IBGE, 2004). De acordo com a classificação de Köppen, o clima de Santa Catarina, é subtropical úmido e apresenta os tipos climáticos *Cfa* e *Cfb*, sem estação de seca definida (ALVARES et al., 2014). O clima na área de estudo, é predominantemente do tipo climático *Cfa*, apresentando temperaturas médias do ar no mês mais quente maiores que 22° C, e precipitação anual média de 1.600 mm (ALVARES et al., 2014). A estrutura em que a colônia está instalada, é constituída por uma construção de pequeno porte (quatro metros x três metros), não habitada, sendo utilizada com pequena frequência pela comunidade local. Os morcegos estão alojados no forro, desta construção e a entrada e saída utilizada pelos mesmos, situa-se a 4,5 m do solo aproximadamente.

Figura 1 - Mapa de localização da área de estudo demonstrando a localização do município de Treviso na região Sul de Santa Catarina e em detalhe a delimitação do município e a posição onde encontra-se a colônia de *Molossus molossus* avaliada no presente estudo.



Fonte: Da Autora, 2018.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Captura dos morcegos e coleta de amostras

Para captura dos morcegos foram realizadas duas saídas de campo. Os morcegos foram capturados com redes-de-neblina (PERACCHI; NOGUEIRA, 2014), as quais foram instaladas nas saídas do abrigo (Figura 2). Após capturados, os morcegos foram contidos em sacos individuais de tecidos e encaminhados para base de campo. A identificação taxonômica dos espécimes foi realizada com auxílio de chave de identificação (GREGORIN; TADDEI 2002; DÍAZ et al., 2016). As autorizações para captura e manipulação dos animais foram obtidas junto ao SISBIO (53718-1) e ao Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade do Extremo Sul Catarinense (065/2018-1) (ANEXO A).

Figura 2 - Imagem demonstrando procedimento de captura de indivíduos *Molossus molossus*, com redes-de-neblina posicionada na saída do abrigo, no município de Treviso, no sul de Santa Catarina.



Fernando Carvalho

Fonte: Carvalho (2018).

A coleta das amostras de fungos na região rostral dos morcegos foi realizada com auxílio de swab estéril. Após captura, o swab foi previamente umedecido em um tubo de ensaio com 10 mL de solução salina a 0,9%, e levemente friccionado em toda a superfície da região rostral do morcego, rodando o swab em 360° (ABNT, 2018). Em seguida o swab foi alocado em tubos contendo 1 mL de solução salina a 0,9%. Os tubos foram identificados com a data e numerados subsequentemente. Todo o material coletado foi transportado para o laboratório de Desenvolvimento de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos-LADEBIMA, em uma caixa de cooler para as análises posteriores.

Todos os materiais utilizados para a coleta, tubos de ensaio com solução salina a 0,9%, foram previamente esterilizados por vapor saturado sob pressão em autoclave, a 121°C, e 1,2 atm, evitando-se assim a contaminação das amostras. Após a coleta das amostras os morcegos foram soltos nos mesmos locais de captura.

3.2.2 Isolamento das amostras

Primeiramente, para realizar o isolamento das amostras, em capela de fluxo laminar, os tubos de ensaio contendo os swabs foram agitados e uma alíquota de cada amostra foi transferida para a placa de petri contendo meio de cultura ágar batata dextrose (PDA). A amostra foi espalhada sobre o meio de acordo com o método de espalhamento, chamado de Spread-plate (SILVA et al., 2010; TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. 2012) com auxílio de alça de drigalski, a qual foi previamente esterilizada.

Realizado o procedimento de isolamento, as placas foram incubadas em estufa microbiológica a 27°C ± 2°C por até sete dias. Após incubação, foi realizado a contagem dos fungos filamentosos em um contador de colônias, para a quantificação dos gêneros e dos isolados, para a análise de dados posteriormente (SILVA et al., 2010).

3.2.3 Identificação dos gêneros fúngicos

As colônias foram previamente classificadas e isoladas de acordo com as características macromorfológicas, observando-se características como textura (exemplos: algodonosas, aveludadas, pulverulentas), pigmentação do verso e reverso e tamanho (PITT, HOCKING, 2009). As colônias foram repicadas para meios de cultura seletivos para diferentes gêneros fúngicos e incubados novamente por sete dias. Os meios de cultura utilizados foram: Ágar extrato de malte (MEA), 25% Glicerol nitrato (GN25) e extrato de levedura Czapek (CYA), e Meio Ágar Extrato de Levedura (YES), para identificação prévia dos gêneros. Para confirmação dos gêneros fúngicos, foi realizado a técnica de microcultivo.

A técnica de microcultivo foi realizada em placa de Petri estéril, onde foi adicionado suporte de vidro contendo uma lâmina. Na parte superior desta lâmina, foram acondicionados cinco centímetros do meio de cultura sólido Czapek-doc. Neste meio, com auxílio de alça bacteriológica, cubos de aproximadamente um milímetro de cada colônia crescida foram acrescentados, em seguida foi adicionada uma lamínula sobre as colônias. No interior da placa, foi acrescentado um pedaço de algodão, umedecido com água destilada estéril. As placas foram então incubadas de três a cinco dias a $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Após este período, a lamínula contendo o crescimento das colônias fúngicas foi removida e transferida para uma lâmina contendo uma gota de corante lactofenol azul de algodão. As lâminas coradas foram visualizadas em microscópio óptico, em aumento de 100 e 400 vezes. A partir da observação das características macroscópicas e microscópicas, os gêneros fúngicos foram identificados com auxílio da chave de identificação de acordo com Pitt e Hocking (2009) e outros trabalhos na literatura também foram consultados para confirmação na identificação dos gêneros (RAPER; FENNEL, 1965; PITT J., 1979; NELSON P. E; TOUSSOUN T. A.; MARASSAS W. F. O 1983; PETERSON, 2000; FRISVAD et al., 2004; SAMSON, R. A. HONG S. B, FRISVAD J.C., 2006).

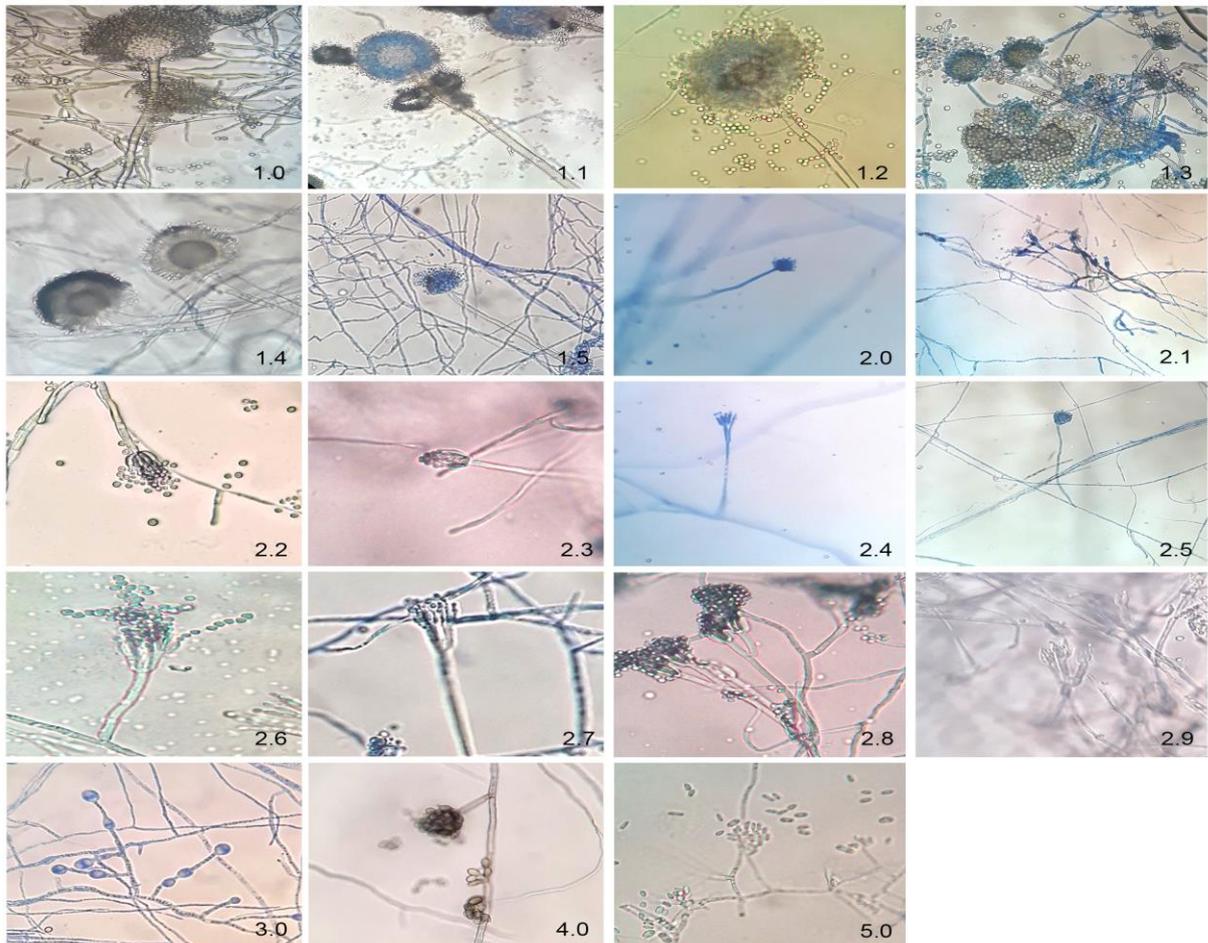
3.2.4 Análise de dados

A análise da composição de fungos foi realizada com base no número de *taxa* identificados, o qual foi atribuído como sendo a riqueza específica. Também calculamos a frequência de ocorrência dos *taxa* de fungos, sendo que para esta análise, cada indivíduo de *Molossus molossus* foi considerado como uma amostra. A frequência foi então determinada pela seguinte fórmula: Número de amostras que o tipo fúngico foi registrado, dividido pelo número total de amostras (indivíduos de *Molossus molossus*), multiplicado por 100 para obter-se um percentual. Com base neste índice os *taxa* foram classificados como: raro – aqueles com frequência inferior a 25%; pouco frequentes – aqueles com frequência superior a 25,1 e menor que 50% e; constantes – aqueles com frequência superior a 50,1% da amostra. Por fim, também foi calculada a abundância relativa de cada *taxa* de fungo na amostra, sendo que para isso foi utilizado o número de colônias como sendo uma métrica de abundância.

4. RESULTADOS

A análise de 15 indivíduos de *Molossus molossus* revelou a presença de 19 morfoespécies de cinco gêneros de fungos, associados a região rostral desta espécie de morcego (Tabela 1; Figura 3). Dentre os taxa registrados foram classificados como pouco frequente *Aspergillioides* sp.2, (47%), *Penicillium* sp.1 (33%), *Chrysonilia* sp. (33%), *Cladosporium* sp. (27%), sendo todos os demais taxa incluídos na categoria de raro (Tabela 1). Cabe destacar que nenhum dos taxa analisados foi considerado como constante. Em termos de abundância, *Penicillium* sp.1 (34% da amostra), *Aspergillioides* sp.2 (21%) e *Aspergillus* sp.2 (11%) foram os mais abundantes na amostra (Tabela 1).

Figura 3. Microscopia óptica de 400x mostrando fungos filamentosos isolados e identificados da região nasal de *Molossus molossus* após crescimento em microcultivo, conforme o indicado na Tabela 1 (Id.) para cada Gênero e Subgênero (Incubação de 3 dias).



Fonte: Da autora, 2018.

Tabela 1. Tabela com os dados de identificação a nível de gênero e morfotipo, juntamente com a análise da frequência relativa e abundância relativa dos taxa de fungos encontrados em região rostral de *M. molossus*, em ambiente de Mata Atlântica no sul do Brasil.

Taxa	Id.	FR		Índice	N. colônias	Abundância	
		N	(%)			(%)	
Gênero <i>Aspergillus</i>							
<i>Aspergillus</i> sp.1	1.0	1	7	Rara	1		0,6
<i>Aspergillus</i> sp.2	1.1	2	13	Rara	18		11
<i>Aspergillus</i> sp.3	1.2	2	13	Rara	2		1
<i>Circumdati</i> sp.1	1.3	1	7	Rara	1		0,6
<i>Circumdati</i> sp.2	1.4	1	7	Rara	2		1
<i>Fumigati</i> sp.1	1.5	1	7	Rara	2		1
Gênero <i>Penicillium</i>							
<i>Aspergillioides</i> sp.1	2.0	3	20	Rara	9		5
<i>Aspergillioides</i> sp.2	2.1	7	47	Pouco Frequente	35		21
<i>Aspergillioides</i> sp.3	2.2	1	7	Rara	4		3
<i>Aspergillioides</i> sp.4	2.3	1	7	Rara	1		0,6
<i>Aspergillioides</i> sp.5	2.4	2	13	Rara	3		2
<i>Penicillium</i> sp.1	2.5	5	33	Pouco Frequente	60		34
<i>Penicillium</i> sp.2	2.6	1	7	Rara	2		1
<i>Penicillium</i> sp.3	2.7	1	7	Rara	7		4
<i>Furcatum</i> sp.1	2.8	1	7	Rara	2		1
<i>Furcatum</i> sp.2	2.9	1	7	Rara	2		1
Gênero <i>Chrysonilia</i>							
<i>Chrysonilia</i> sp.	3.0	5	33	Pouco Frequente	12		7
Gênero <i>Cladosporium</i>							
<i>Cladosporium</i> sp.	4.0	4	27	Pouco Frequente	4		3
Gênero <i>Moniliella</i>							
<i>Moniliella</i> sp.	5.0	1	7	Rara	1		0,6

Fonte: Da autora, 2018.

5 DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente estudo indicaram alta riqueza de fungos, associados a região rostral de *Molossus molossus* na Mata Atlântica. Se comparado por exemplo com o Cerrado e Pantanal, o número de *taxas* observados aqui foi 61% maior que o registrado nestes ambientes para a mesma espécie de morcego (SHAPIRO et al., 2015). Apesar deste ser o único trabalho com este enfoque no Brasil, o que limita comparações, algumas inferências podem ser feitas na tentativa de compreender esse padrão. A primeira delas se refere ao método de identificação dos fungos, o qual no estudo de Shapiro et al. (2015) foi molecular. Esse método tende a fornecer uma identificação mais precisa dos *taxa*, o que pode resultar em menor riqueza específica. A segunda se refere ao ambiente em que os estudos foram realizados Shapiro et al. (2015), estudaram a relação de fungos e morcegos em ambiente de Cerrado, com transição de Pantanal, sendo que no primeiro ambiente foram registrados três *taxa* de fungos, enquanto que no Pantanal foram quatro. Por ser a Mata Atlântica um bioma com maior umidade, quando comparado a Cerrado e Pantanal, não se descarta que essa característica influencie na riqueza específica de fungos.

As condições climáticas, principalmente aquelas relacionadas a temperatura e umidade afetam a sobrevivência (KOKUREWICZ et al., 2016) e a capacidade de dispersão dos fungos (OLSEN et al., 2011). Considerando que ambientes tropicais são aqueles com maior diversidade de fungos (MAIA, 2005), não se descarta que esse padrão se repita também na Mata Atlântica. Entretanto, se compararmos somente o número de *taxa* registrados, trabalhos realizados em outras regiões, como por exemplo, na Austrália, América do Norte e Itália, descrevem um número muito maior ao observado no presente estudo – até 149 *taxa* (VOYRON et al., 2011; JOHNSON et al., 2013; KOKUREWICZ et al., 2016; HOLZ et al., 2018), o que contrariaria o padrão de que área tropicais tenderiam a ter maior riqueza de fungos. Possivelmente, além do clima outros fatores também podem estar relacionados, como por exemplo, amostragem em diferentes partes do corpo dos morcegos, coleta em carcaças e amostragem no ambiente, como realizado nos estudos citados acima.

Apesar desta ser uma linha de investigação recente, com apenas um trabalho desenvolvido no Brasil (SHAPIRO et al., 2015), devido ao crescente número

de doenças infecciosas, alguns estudos foram também realizados com enfoque sobre micoses oportunistas em morcegos no Brasil. Por exemplo, em Rondônia, 80% dos morcegos analisados apresentaram infecções causadas por *Malassezia* sp. (GANDRA et al., 2008). Já, para morcegos capturados em São Paulo, no trato gastrointestinal foram isolados os fungos *Aspergillus* sp. (29% da amostra), *Microsporium* sp. e *Penicillium* sp. (6% cada), *Tricophyton* sp. e zigomicetos (4% cada) e *Fusarium* sp. (2%) (TENCATE et al., 2012). Em um estudo mais recente *Histoplasma capsulatum* foi observado em baço e fígado de *Molossus molossus* coletados em áreas urbanas de São Paulo (PAZ et al., 2018). Isso demonstra que as interações entre morcegos e fungos são extremamente complexas, e que seu entendimento é parte fundamental da biologia e ecologia das espécies, assim como, uma ferramenta para programas de conservação e saúde ambiental.

Dentre os gêneros isolados, *Aspergillioides* sp.2 (Figura 3, Id. 2.1) foi classificado como pouco frequente (47%), porém é o que se mostra mais frequente em relação a classificação dos outros taxa identificados no presente estudo. Este é um subgênero de *Penicillium*, o qual também foi o gênero mais frequente observado em *Molossus molossus*, em áreas de Cerrado e Pantanal (SHAPIRO et al., 2015). Esse gênero fúngico é considerado como onipresente, oportunista e saprófito (PITT; HOCKING, 2009). Além disso, de acordo com levantamento recentemente realizado por Yadav et al. (2018), *Penicillium* é um dos fungos mais comuns em vários ambientes, como o solo, o ar e ambientes extremos. Segundo Pitt e Hocking (2009), este fungo é nutricionalmente pouco exigente e por isso, é capaz de se desenvolver em qualquer ambiente, considerando uma ampla gama de parâmetros físico-químicos, tais como variações de temperatura, pH e salinidade. Também é possível destacar que alguns fungos como *Penicillium* spp., ou *Cladosporium* spp., podem colonizar ampla variedade de espécies de morcegos ou ao abrigo que estes animais utilizam (SHAPIRO et al., 2015), o que explicaria sua alta frequência.

Algumas espécies de fungos associados aos morcegos podem ter um potencial patogênico principalmente por habitarem ambientes como cavernas, grutas e ocos de árvores, ambientes que favorecem a propagação dos fungos (TENCATE et al., 2012). Para ambiente de Cerrado e Pantanal, não houve indicação de que os fungos isolados fossem patogênicos aos morcegos, mas, alguns dos isolados como *Aspergillus terreus*, *Cladosporium*, e *Paecilomyces*, podem causar infecções oportunísticas em outros organismos (SHAPIRO et al., 2015). O gênero *Aspergillus*,

possui um potencial ocasional de infectar hospedeiros, como plantas, insetos, pássaros e mamíferos (SEYEDMOUSAVI et al., 2015). Os mesmos autores argumentam ainda que, aspergilose é um termo guarda-chuva que abrange ampla gama de doenças, como micose e micotoxicoses, causando alergias, disfunção do sistema imunológico, infecções de órgãos internos, e também inflamações na retina, pulmões peritônio e sistema uretral. Ou seja são condições localizadas a infecções fatais disseminadas em humanos e vários animais, causada por fungos do gênero *Aspergillus*. Esse táxon produz um grande número de esporos, o que explica o potencial de causar esta ampla gama de doenças, o que poderia ser prejudicial para a saúde animal e humana (KOKUREWICKZ et al., 2016).

Considerando que *Molossus molossus* é um morcego sinantrópico, a presença de *Aspergillus* sp. associado a essa espécie deve ser motivo de estudos futuros uma vez que algumas espécies deste grupo fungico são patogênicas aos seres humanos (KUONG-CHUI; SUGUI, 2013; SEYEDMOUSAVI et al., 2015). Entretanto, para que essa característica possa ser avaliada é necessário que os fungos sejam identificados a nível de espécie, o que não foi possível no presente estudo. Segundo Shapiro et al., 2015, em relação as espécies identificadas em seu estudo nenhum se mostrou patógeno em relação aos morcegos, apenas *A. Terréus*, *Cladosporium* sp. e *Paecilomyces* sp. foram identificados como patógenos a outros organismos, causando infecções oportunisticas, em cavalos, e cachorros domésticos, também em répteis (FOLEY, NORRIS, JANG, 2002), e em humanos (PERFECT, SCHELL, 1996; WOOLHOUSE, GOWTAGE-SEQUERIA, 2005). Sendo que duas destas estas espécies citadas, são pertencentes a dois gêneros, encontrados no presente estudo. Não houve registro no atual estudo do gênero (*Geomyces*) causador da Síndrome do Nariz Branco-WNS.

As interações entre fungos e morcegos possivelmente são redes complexas, as quais ainda demandam melhor conhecimento sobre suas estruturas e componentes. Outro fator que dificulta a compreensão destas relações é o fato de que mesmo dentro da mesma espécie, na mesma área geográfica, uma complexa microbiota está associada aos morcegos (SHAPIRO et al., 2015). Além disto considera-se que os microfungos tropicais retratem um universo praticamente inexplorado de biodiversidade. Devido a isso são necessários estudos sobre os fungos para contribuir com o conhecimento sobre a diversidade dos mesmos nos ecossistemas, principalmente naqueles inexplorados (MAIA, 2005).

A Mata Atlântica é um exemplo disso, onde mesmo abrigando grande parte da população brasileira, com inúmeros centros de pesquisas, é um dos ecossistemas menos conhecidos em específico, para a microbiota associada aos morcegos deste Bioma, sabe-se muito pouco (MAIA, 2005). Isto se torna ainda mais preocupante visto o cenário atual de degradação e alteração do Bioma, assim como, do panorama obscuro para a conservação que surge no horizonte do país. Considerando o potencial patógeno que alguns *taxa* de fungos possuem, torna-se necessário conhecer a diversidade local de cada grupo de organismos na Mata Atlântica, fornecendo subsídios para estratégias de preservação e prevenção a disseminação e introdução de organismos patogênicos no meio natural (MAIA et al. 2005; FISHER et al., 2012; SHAPIRO et al., 2015).

6 CONCLUSÕES

Mesmo que pontuais, os dados obtidos no presente estudo demonstram que, ao menos em *Molossus molossus*, uma rica micobiota de fungos filamentosos possui associação com a região rostral desta espécie de morcego. O número total de *taxa* registrado foi superior ao observado em outros biomas brasileiros, entretanto, deve ser analisado com cautela, uma vez que o método de amostragem e o tipo de clima podem estar influenciando os dados.

Fungos dos *taxa Aspergillioides* foram os mais frequentes. Esse subgênero está inserido no gênero *Penicillium*, o que foi o mais frequente também em outros ambientes. Possivelmente este padrão deve-se ao fato de ser um grupo com grande potencial de ocorrência sob diferentes condições abióticas.

Não foram identificados fungos com potencial patógeno para os morcegos, ou para a população humana. Entretanto, deve ser dada atenção ao grupo *Aspergillus*, para o qual algumas espécies podem causar problemas a saúde humana. Para que isso seja avaliado com mais detalhe é necessário que se faça identificação ao nível de espécie, o que não foi aqui realizado.

A pesquisa sobre a micobiota associada aos morcegos da Mata Atlântica ainda é recente, entretanto, devido a alteração dos ambientes naturais é imprescindível que novos estudos sejam realizados. Sugere-se que não apenas os morcegos insetívoros sejam amostrados, mas também aqueles com outros hábitos alimentares, como por exemplo, frugívoros, nectarívoros, e hematófagos. Isso fornecerá um panorama mais aprofundado sobre as interações entre fungos e morcegos, assim como, fornecerá dados importantes para a conservação das espécies e principalmente, sobre ameaças futuras a fauna.

REFERÊNCIAS

- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **INT 300**: Instrução para coleta em superfície e Exposição Ambiental. 1 ed. [S.l.], 2018. 1 p. Disponível em:
<<http://www.drpio.com.br/labalimentos/files/3e740e0c3fb2be957754c7c96543d73d.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2018.
- ALLENDER, M. C. et al. *Chrysosporium* sp. Infection in Eastern *Massasauga* Rattlesnakes. *Emerging Infectious Diseases*, [S.l.], v. 17, n. 12, p.2383-2384, 2011. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC)**. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.3201/eid1712.110240>>. Acesso em: 02 nov. 2017.
- ALTHOFF, S. L. et al. First record of *Molossops neglectus* for the state of Santa Catarina. **Check List**, v.14, n.1, p.167-172, 2018.
- ALVARES, C. A. et al. **Köppen's climate classification map for Brazil**. *Meteorologische Zeitschrift*, Vol. 22, No. 6, 711–728. 2014. Disponível em:
<http://www.lerf.eco.br/img/publicacoes/Alvares_etal_2014.pdf> Acesso: 30 set. 2017.
- BARQUEZ, R. et al. *Molossus molossus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 2015. Disponível em:
<e.T13648A22106602. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T13648A22106602.en> >. Acesso em: 02 nov. 2017.
- BARROS, M. AS. First record of *Molossus molossus* (Pallas, 1766) (Mammalia: Chiroptera) in the state of Rio Grande do Norte, northeastern Brazil. **Check List**, v. 10, n. 6, p. 1520-1524, 2014.
- BERNARD, E. & M.B. FENTON. Bats in a fragmented landscape: Species composition, diversity and habitat interactions in savannas of Santarém, Central Amazonia, Brazil. **Biological Conservation** 34: 332-343. 2007.
- BERNARD, E. Vertical stratification of bat communities in primary forests of Central Amazon, Brazil. **Journal Of Tropical Ecology**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.115-126. 2001. Mensal. Cambridge University Press (CUP).
- BLEHERT, D. S. et al. Bat White-Nose Syndrome: **An Emerging Fungal Pathogen?**. *Science*, [s.l.], v. 323, n. 5911, p.227-227. 2009. American Association for the Advancement of Science (AAAS). Disponível em:
<<http://DX.DOI.ORG/10.1126/SCIENCE.1163874>>. Acesso em: 02 nov. 2017.
- BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, Paul G. **Programa Livro- Texto: Microbiologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. 426 p.
- CARRIS, L. M., LITTLE, C. R., STILES, C. M. Introduction to Fungi. **The Plant Health Instructor**. 2012. Disponível em:
<<https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/PathogenGroups/Pages/IntroFungi.aspx>>. Acesso em: 27 out. 2017.

CARVALHO, F. et al. Ampliação de distribuição de *Eumops Patagonicus* (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) e primeiro registro em ambiente de Restinga na Costa Leste do Brasil. **Mastozoologia Neotropical, em prensa, Mendonza**. Copyright, SAREM. 2017.

CARVALHO, F.; FABIÁN, M. E. Mammalia, Chiroptera, Phyllostomidae, *Platyrrhinus recifinus* (O. Thomas, 1901): First confirmed record in the state of Santa Catarina, Southern Brazil. **Check List**, v. 7, p. 139-141, 2011.

CHEREM, J. J.; ALTHOFF, S. L. Mamíferos de uma área de estepe ombrófila nos estados de Paraná e Santa Catarina, Sul do Brasil. **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, v. 73, p. 42–50, 2016.

CONSEMA. Reconhece a Lista Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção no Estado de Santa Catarina e dá outras providências. In: **Resolução Consema** nº 002, de 6 de dezembro de 2011, Florianópolis: Diário Oficial de Santa Catarina. P. 2-8, 2011.

DASZAK, P. C., A. A, HYATT, D. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. **Acta Tropica**, Elsevier. p. 103–116. 2001.

DIAZ, M. M.; SOLARI, S.; AGUIRRE, L. F. **Clave de identificación de los murciélagos de Sudamérica**. Publication Especial Nº 2, PCMA (Programa de Conservación de los Murciélagos de Argentina), p. 160. 2016.

EGER J.; L. Family Molossidae P. Gervais 1856. In: GARDNER A.; L. (Ed.) **Mammals of South America: Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats**. University of Chicago Press, Chicago, 399-440. 2007.

FENTON, M. B.; SIMMONS, N. B. **Bats: A World of Science and Mystery**. Chicago: University of Chicago Press, 240 p. 2014.

FISHER, M. C. et al. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. **Nature**, [S.l.], v. 484, n. 7393, p.186-194, 11 abr. 2012. Springer Nature. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature10947>>. Acesso em: 27 out. 2017.

FLEMING, T. H.; HOOPER, E. T.; WILSON, D. E. Three Central American Bat Communitis: Structure, Reproductive Cycles, and Movement Patterns. **Ecology**, [s.l.], v. 53, n. 4, p.555-569, jul. Mensal. Wiley.1972. Disponível em: <<https://esajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2307/1934771>>. Acesso em: 6 nov. 2018.

FOLEY, J. E.; NORRIS, C. R.; JANG, S. S. Paecilomycosis in Dogs and Horses and a Review of the Literature. **American College Of Veterinary Internal Medicine**. [s.l.], p. 238-243. 2002.

FRANKLINOS, L. H. V. et al. Emerging fungal pathogen *Ophidiomyces ophiodiicola* in wild European snakes. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.2-7, 19 jun. 2017.

Springer Nature. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-03352-1>>. Acesso em: 02 nov. 2017.

FRISVAD, J. C. et al. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. **Studies In Mycology**, [s.l.], v. 1, n. 50, p.23-43, 2004. Anual. Disponível em: <[http://orbit.dtu.dk/en/publications/new-ochratoxin-a-producing-species-of-aspergillus-section-circumdati-\(259c8fdc-c54e-4a72-a22d-348b3c7204bd\).html](http://orbit.dtu.dk/en/publications/new-ochratoxin-a-producing-species-of-aspergillus-section-circumdati-(259c8fdc-c54e-4a72-a22d-348b3c7204bd).html)>. Acesso em: 15 out. 2018.

GANDRA, R. F. et al. *Malassezia* spp. in Acoustic Meatus of Bats (*Molossus molossus*) of the Amazon Region, Brazil. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 165, n. 1, p.21-26, 29 nov. 2008. Mensal. Springer Nature. Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/Malassezia-spp.-in-Acoustic-Meatus-of-Bats-of-the-Gandra-Gambale/f053288d847ae88821879157b4bf1539809c32bb>>. Acesso em: 6 nov. 2018.

GEISER, D. M. et al. Cause of sea fan death in the West Indies. **Nature**, [S.l.], v. 394, n. 6689, p.137-138, 9 jul. 1998. Springer Nature. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/28079>>. Acesso em: 2 nov. 2017.

GREGORIN, R. et al. A new species of *Eumops* (Chiroptera: Molossidae) from southeastern Brazil and Bolivia. **Mammalian Biology - Zeitschrift Für Säugetierkunde**, [s.l.], v. 81, n. 3, p.235-246, maio 2016. Elsevier BV. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1616504716300039?via=ihub>>. Acesso em: 2 nov. 2017.

GREGORIN, R.; TADDEI, V. A. Chave artificial para a identificação de Molossídeos brasileiros (Mammalia, Chiroptera). **Mastozoologia Neotropical**, v.9, n.11, p.13-32, 2002.

HEITMAN, J. Microbial pathogens in the fungal kingdom. **Fungal Biology Reviews**, [S.l.], v. 25, n. 1, p.48-60, mar. 2011. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbr.2011.01.003>>. Acesso em: 02 nov. 2017.

HIBBETT, D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, [s.l.], v. 111, n. 5, p.509-547, maio 2007. Elsevier BV. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0953756207000615?via=ihub>>. Acesso em: 2 nov. 2017.

HOLZ, P. H. et al. Two subspecies of bent-winged bats (*Miniopterus orianae bassanii* and *oceanensis*) in southern Australia have diverse fungal skin flora but not *Pseudogymnoascus destructans*. **Plos One**, [s.l.], v. 13, n. 10, p.1-19, 10 out. 2018. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0204282>>. Acesso em: 18 nov. 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa Série Brasil – Vegetação**. [S.l.]: Escala 1:5 000 000. 2004. Disponível em: <

<https://www.ibge.gov.br/geociencias-novoportal/todos-os-produtos-geociencias/10872-vegetacao.html?edicao=15937&t=acesso-ao-produto> >. Acesso em: 9 Dez. 2018.

JOHNSON, L. J. A. N. et al. Psychrophilic and Psychrotolerant Fungi on Bats and the Presence of *Geomyces* spp. on Bat Wings Prior to the Arrival of White Nose Syndrome. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 79, n. 18, p.5465-5471, 28 jun. 2013. Mensal. American Society for Microbiology. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3754168/>>. Acesso em: 6 nov. 2018.

KALKO, E. K. V. Organisation and diversity of tropical bats communities through space and time. **Zoology**, v. 101, p. 281-297, 1998.

KOKUREWICZ, T. et al. Bats Increase the Number of Cultivable Airborne Fungi in the “Nietoperek” Bat Reserve in Western Poland. **Microbial Ecology**, [s.l.], v. 72, n. 1, p.36-48, 15 abr. 2016. Mensal. Springer Nature. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4902831/>>. Acesso em: 30 out.

KWON-CHUNG, K. J.; SUGUI, J. A. *Aspergillus fumigatus* - What Makes the Species a Ubiquitous Human Fungal Pathogen? **Pearls**. [s.l.], p. 1-4. dez. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3857757/pdf/ppat.1003743.pdf>>. Acesso em: 5 nov. 2018.

MAIA, Leonor Costa. **Ministério do Meio Ambiente. Brasília-DF**. Fungos. In: BRASILIA-DF. Kátia Cavalcanti Pôrto. Ministério do Meio Ambiente (Org.). Diversidade Biológica e Conservação da Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco. Brasília-df: [s.n.], 2005. Cap. 4. p. 75-106. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/14_Biodiv_14_Cap04a.pdf>. Acesso em: 3 out. 2018.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE- MMA. **Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção**. Portaria nº444: 121-126, 2014.

MORATELLI, R.; DIAS, D. A new species of nectar-feeding bat, genus *Lonchophylla*, from the Caatinga of Brazil (Chiroptera, Phyllostomidae). **Zookeys**, v.514, p.73-91, 2015.

NELSON P. E; TOUSSOUN T. A.; MARASSAS W. F. O. **Fusarium species: an illustrated manual for identification**. University Park (PA): The Pennsylvania State University Press; 1983.p. 193.

NOGUEIRA, M. R. et al. **Checklist of Brazilian bats, with comments on original Records**. Check List, v. 10, n. 4.p.808–821. 2014.

OLSEN, L. et al. **Fungal Diseases: An Emerging Threat to Human, Animal, and Plant Health**. Washington Dc: The National Academic Press, 2011. 488 p. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22259817>>. Acesso em: 2 nov. 2018.

ORTEGA, Jorge. **Sociality in Bats**. Springer, México. 2016.p.1-301.

PASSOS, F. C. et al. **Morcegos da Região Sul do Brasil: análise comparativa da riqueza de espécies, novos registros e atualizações nomenclaturais (Mammalia, Chiroptera)**. Iheringia, v. 100, n. 1, p. 25-34. 2010.

PAZ, G. S. et al. Infection by *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus spp.* and *Paracoccidioides brasiliensis* in bats collected in urban areas. **Transboundary And Emerging Diseases**, [s.l.], p.1-9, 16 set. 2018. Mensal. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1111/tbed.12955>. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.12955>>. Acesso em: 6 nov. 2018.

PERACCHI, A. L.; NOGUEIRA, M. R. **Métodos de captura de quirópteros em áreas silvestres**. In: REIS, Nelo Roberto dos et al. Técnicas de Estudos Aplicadas Aos Mamíferos Silvestres Brasileiros. [S.l.]: Technical Books, 2014. 42-58.

PERFECT, J. R.; SCHELL, W. A. The New Fungal Opportunists Are Coming. **Duke University Medical Center**. Chicago, p. 112-118.1996.

PETERSON, S.W. Phylogenetic relationships in *Aspergillus* based on rDNA sequence analysis. In **Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus. Classification**. 2000.

PITT J.I. **The genus Penicillium and its teleomorphics states Eupenicillium and Talaromyces**. London: Academic Press: 1979.p. 634.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3. ed. New York: Springer, 2009 .p.524.

RAPER K.B, FENNEL D.I. **The genus Aspergillus**. Baltimore (MD): The Williams & Wilkings.1965. p. 686.

REIS, N. R. et al. **História Natural dos Morcegos Brasileiros: Chave de Identificação de Espécies**. Rio de Janeiro: Technical Books. 2017. 416 p.

REIS, N. R. et.al. **Morcegos do Brasil**. Londrina, PR. 2007.p. 17-253.

SAMSON, R. A.; HONG S.B, FRISVAD J.C. Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. **Med Mycol**. 2006.p. 133-148.

SEYEDMOUSAVI, S. et al. *Aspergillus* and aspergilloses in wild and domestic animals: a global health concern with parallels to human disease. **Medical Mycology**, [s.l.], v. 53, n. 8, p.765-797, 26 ago. 2015. Mensal. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <
<https://academic.oup.com/mmy/article/53/8/765/982881>>. Acesso em: 6 nov. 2018.

SHAPIRO, J. T. et al. Characterization of fungi associated with the nasal hairs of Molossid bats. **Fungal Ecology**, [S.l.], v. 18, p.126-129, dez. 2015. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.005>>. Acesso em: 27 out. 2017.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4th ed. São Paulo: Varela; 2010.p. 624.

SOUZA, D. A. S. **Análise morfométrica de *Molossus molossus* (Chiroptera, Molossidae) ao longo de um gradiente latitudinal no Brasil**. 2011. 65 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Biociências, Da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/30220>>. Acesso em: 28/7/2018.

TENCATE, L. N. et al. Estudo da microbiota fúngica gastrintestinal de morcegos (Mammalia, Chiroptera) da região noroeste do estado de São Paulo: potencial zoonótico. **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**. São Paulo, p. 146-152. 18 abr. 2012. Disponível em: <<https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/40271/43161>>. Acesso em: 2 nov. 2017.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. **Microbiologia**,10. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2012. 1-967 p.

VOYRON, S. et al. First mycological investigations on italian bats. *Hystrix, The Italian Journal of Mammalogy*, [s.l.], v. 22, n. 1, p.189-197, 24 set. 2011.

WEBER, M. M.; RAMON, C.; CÁCERES, N. C. **Mamíferos do Rio Grande do Sul**. Santa Maria: UFSM, 554 p. 2013.

WOOLHOUSE, M. E. J.; GOWTAGE-SEQUERIA, S. Host Range and Emerging and Reemerging Pathogens. **Emerging Infectious Diseases**. [S.l.], p. 1842-1847. dez. 2005.

YADAV, A. N. et al. Biodiversity of the Genus *Penicillium* in Different Habitats. **New And Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**, [s.l.], p.3-18, 2018. Anual. Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444635013000016>>. Acesso em: 6 nov. 2018.

APÊNDICE

APÊNDICE A- Certificado do projeto submetido á CEUA - Comitê de Ética para o Uso de Animais da Universidade do Extremo Sul Catarinense.



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **08/05/2018**.

Título do projeto	OCORRÊNCIA DE FUNGOS EM REGIÃO ROSTRAL DE MOLOSSUS MOLOSSUS (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) NA REGIÃO SUL DO BRASIL
Project title	OCCURRENCE OF FUNGI IN THE ROSTRAL REGION OF MOLOSSUS MOLOSSUS (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) IN THE SOUTHERN REGION OF BRAZIL
Número do protocolo Protocol number	065/2018-1 – Versão 01
Pesquisador principal Principal Investigator	FERNANDO CARVALHO
Pesquisadores Researchers	Luana da Silva Biz, Gabriel Preuss Custódio.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	09/05/2018 a 31/12/2018
Nº da Solicitação ou Autorização SISBIO	Licença permanente nº 53718-1
Atividade (s)	Captura de animais silvestres in situ Marcação de animais silvestres in situ
Nº de animais	Por ser um projeto que utiliza como modelo animais silvestres, não é possível determinar a idade dos animais, quantidade de indivíduos por sexo e total.
Espécies/Grupos Taxonômicos	Chiroptera; Molossidae; <i>Molossus molossus</i> (Pallas, 1766) - morcego
Local (is) de realização das atividades	Laboratório de Zoologia e Ecologia de Vertebrados, Bloco do Horto Florestal, sala 07

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes.

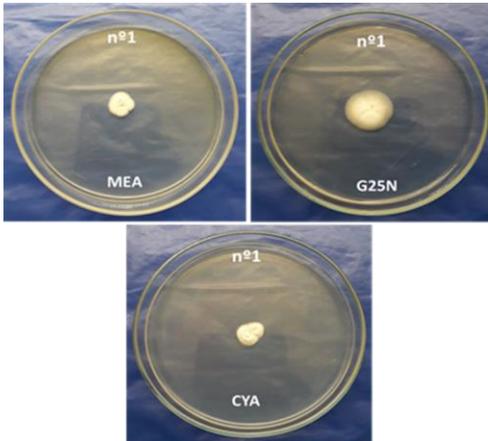
May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.


Samira da Silva Valvassori
Coordenadora do CEUA

Criciúma, 08 de maio de 2018.

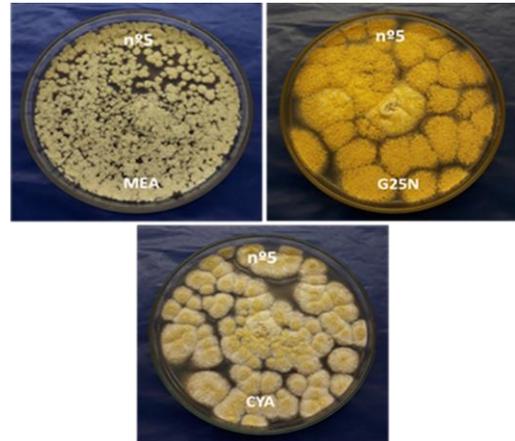
APÊNDICE B- Placas de meios de cultura, PDA, MEA, G25N, CYA e YES usados para identificação de gêneros Fúngicos da região nasal de *Molossus molossus*, mostrando o cultivo isolado de cada fungo identificado (incubação de 7 dias).

1.0-*Aspergillus* sp.1



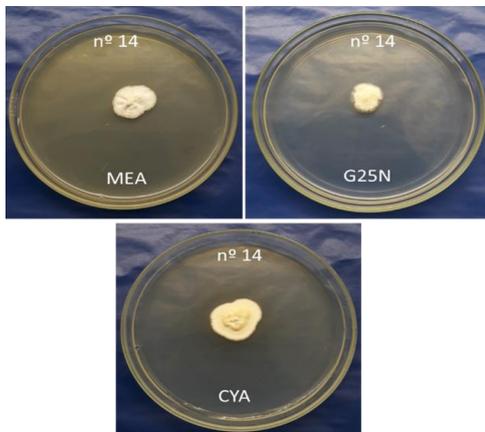
Fonte: Da Autora, 2018.

1.1-*Aspergillus* sp.2



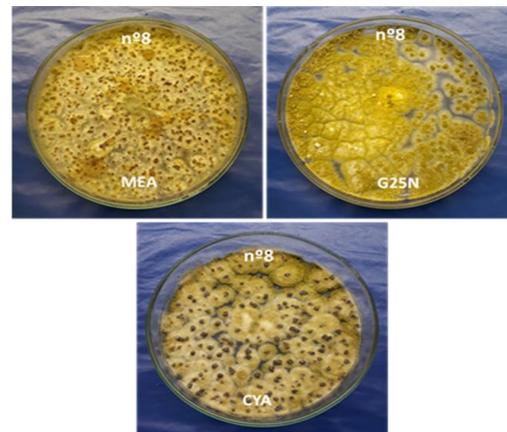
Fonte: Da Autora, 2018.

1.2-*Aspergillus* sp.3



Fonte: Da Autora, 2018.

1.3-*Circumdati* sp.1

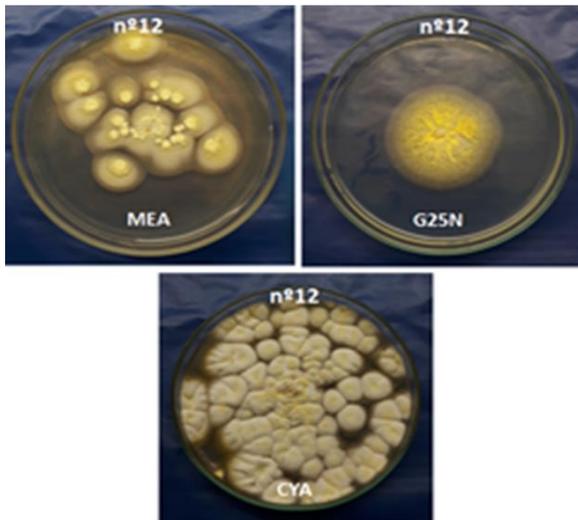


Fonte: Da Autora, 2018.

(CONTINUA NA Pg:35)

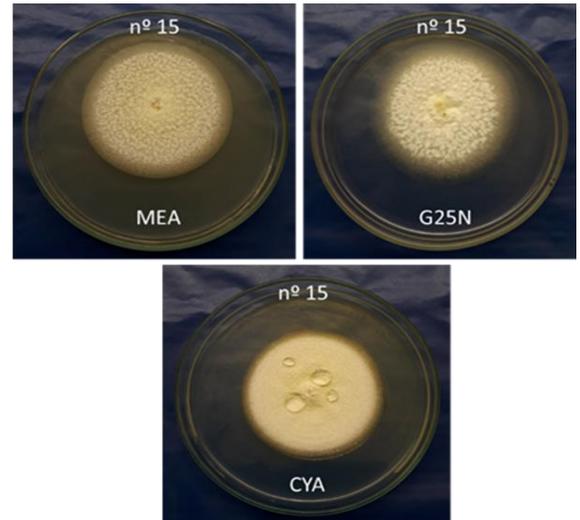
APÊNDICE C - Placas de meios de cultura, PDA, MEA, G25N, CYA e YES usados para identificação de gêneros Fúngicos da região nasal de *Molossus molossus*, mostrando o cultivo isolado de cada fungo identificado (incubação de 7 dias) (CONTINUAÇÃO).

1.4-*Circumdati* sp.2



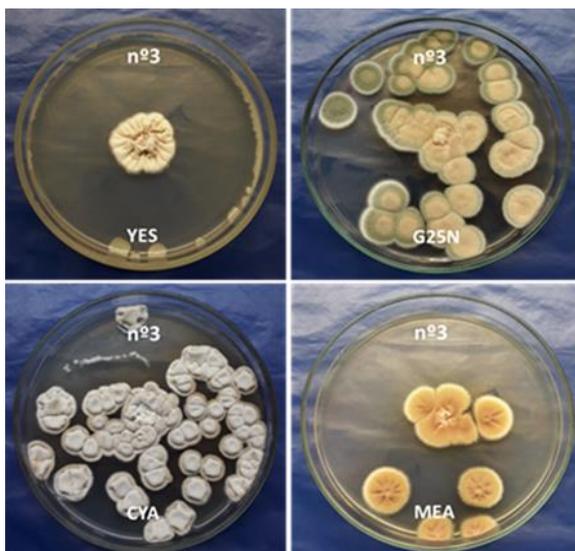
Fonte: Da Autora, 2018.

1.5-*Fumigati* sp.1



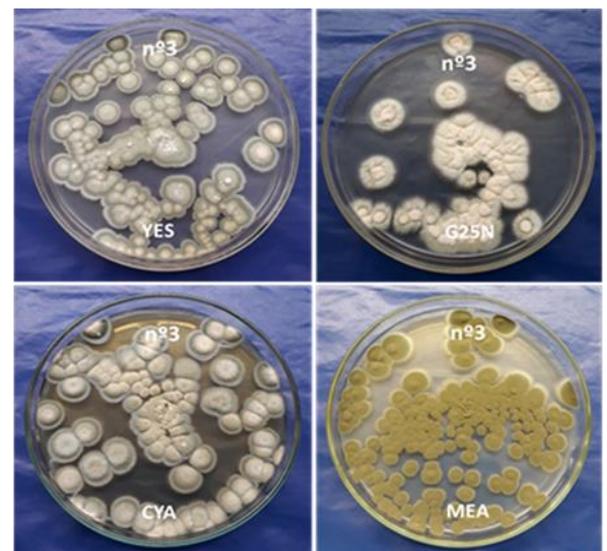
Fonte: Da Autora, 2018.

2.0-*Aspergillioides* sp.1



Fonte: Da Autora, 2018.

2.1-*Aspergillioides* sp.2

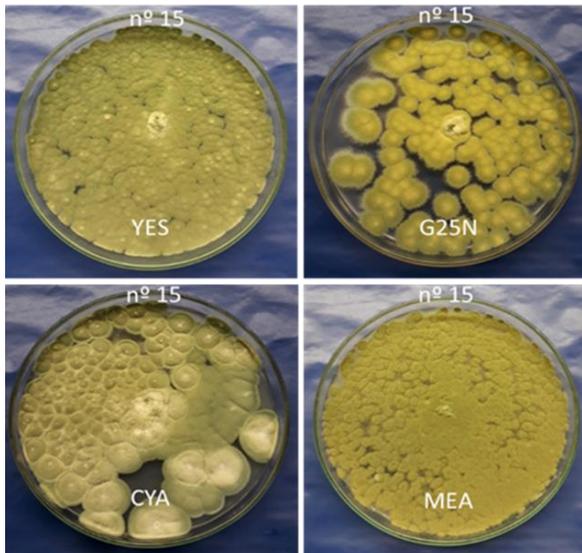


Fonte: Da Autora, 2018.

(CONTINUA NA PG: 36)

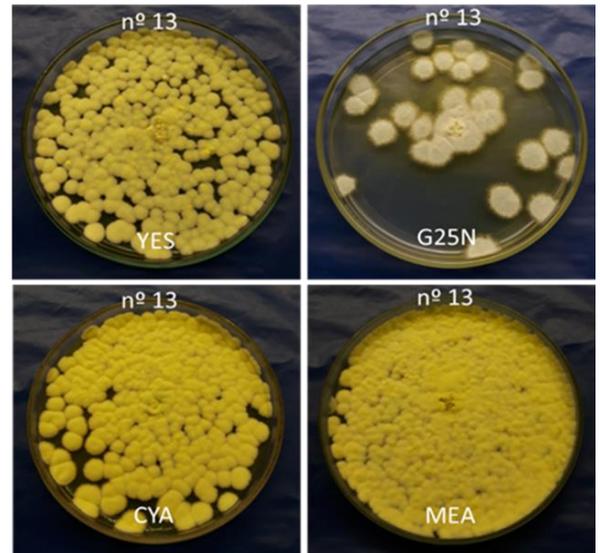
APÊNDICE D - Placas de meios de cultura, PDA, MEA, G25N, CYA e YES usados para identificação de gêneros Fúngicos da região nasal de *Molossus molossus*, mostrando o cultivo isolado de cada fungo identificado (incubação de 7 dias), e o nº do indivíduo. (CONTINUAÇÃO).

2.2-*Aspergillioides* sp.3



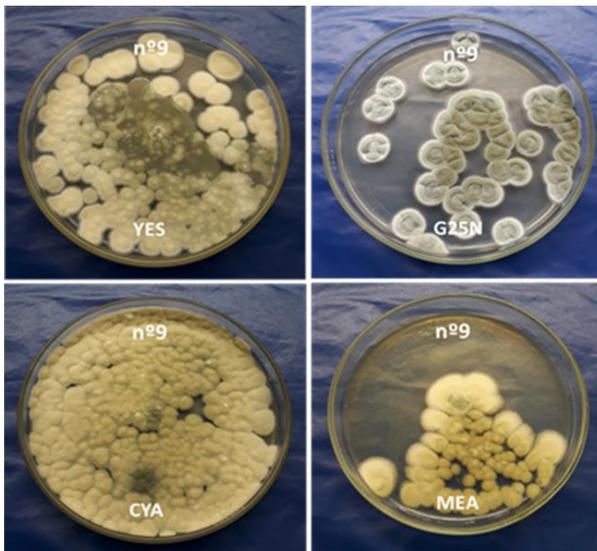
Fonte: Da Autora, 2018.

2.3-*Aspergillioides* sp.4



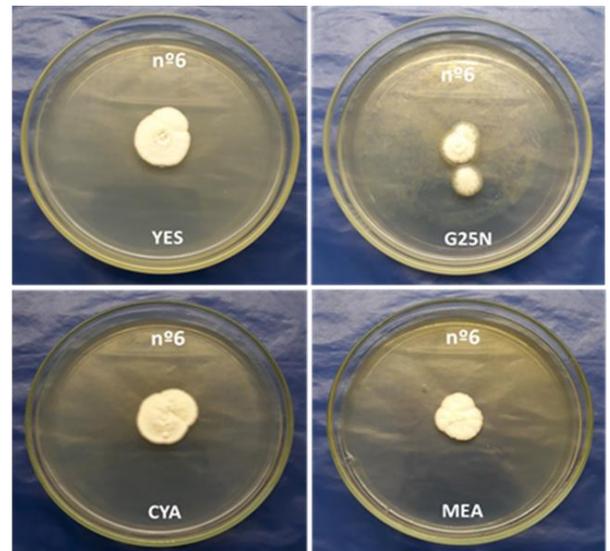
Fonte: Da Autora, 2018.

2.4-*Aspergillioides* sp.5



Fonte: Da Autora, 2018.

2.5-*Penicillium* sp.1

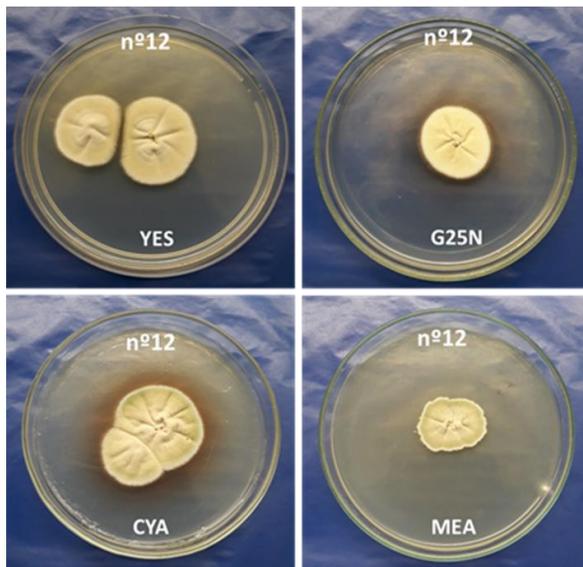


Fonte: Da Autora, 2018.

(CONTINUA NA Pg: 37)

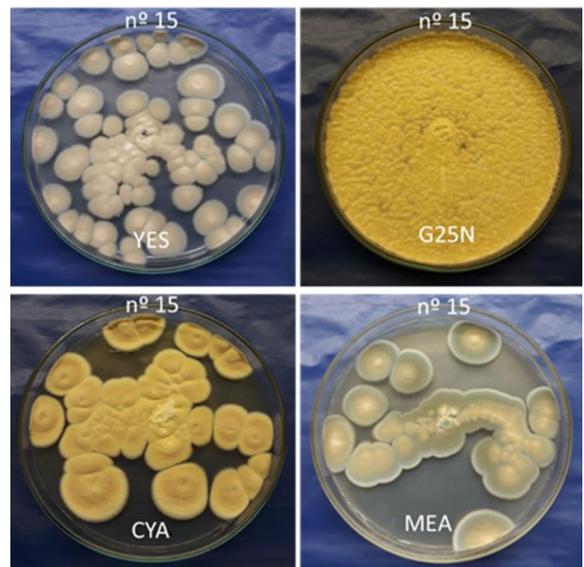
APÊNDICE E - Placas de meios de cultura, PDA, MEA, G25N, CYA e YES usados para identificação de gêneros Fúngicos da região nasal de *Molossus molossus*, mostrando o cultivo isolado de cada fungo identificado (incubação de 7 dias) (CONTINUAÇÃO).

2.6-*Penicillium* sp.2



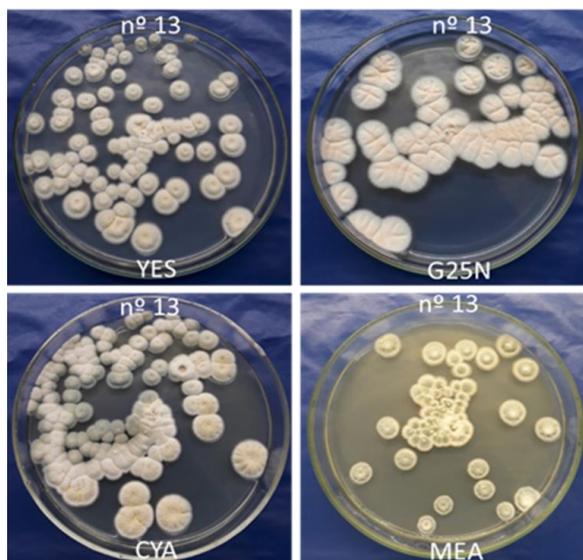
Fonte: Da Autora, 2018.

2.7-*Penicillium* sp.3



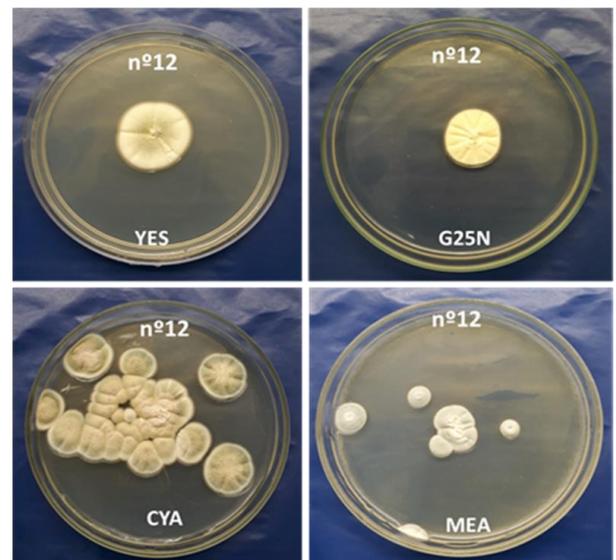
Fonte: Da Autora, 2018.

2.8- *Furcatum* sp.2



Fonte: Da Autora, 2018.

2.9-*Furcatum* sp.1

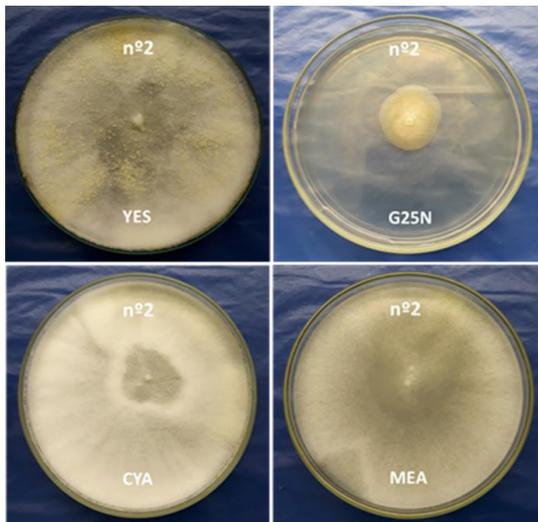


Fonte: Da Autora, 2018.

(CONTINUAÇÃO Pg: 38)

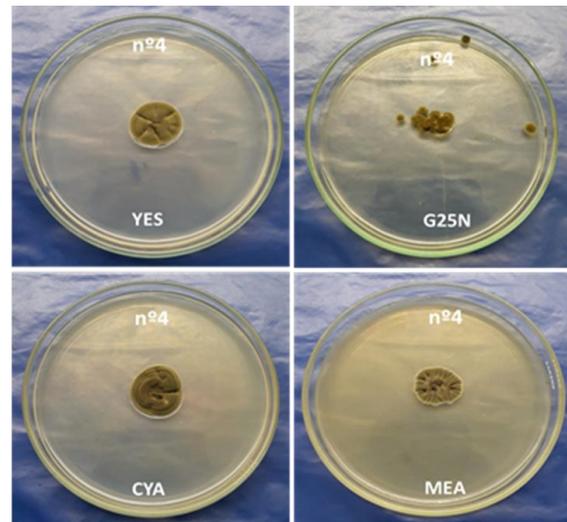
APÊNDICE F - Placas de meios de cultura, PDA, MEA, G25N, CYA e YES usados para identificação de gêneros Fúngicos da região nasal de *Molossus molossus*, mostrando o cultivo isolado de cada fungo identificado (incubação de 7 dias) (CONTINUAÇÃO).

3.0-*Chrysonilia* sp.



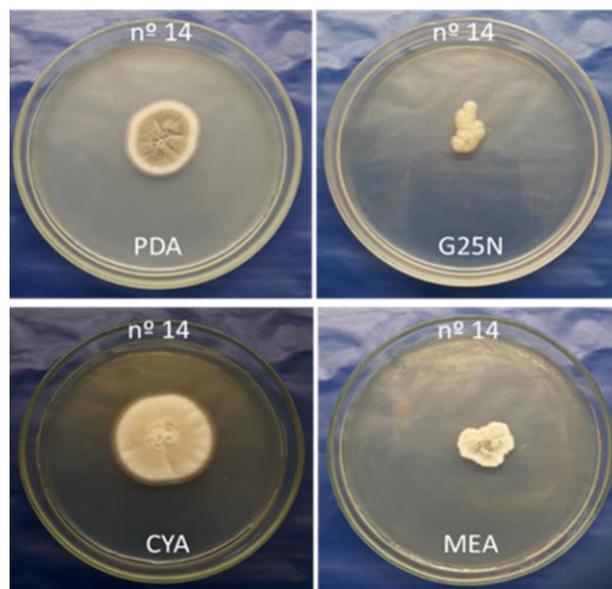
Fonte: Da Autora, 2018.

4.0-*Cladosporium* sp.



Fonte: Da Autora, 2018.

3.0-*Chrysonilia* sp.



Fonte: Da Autora, 2018.