

ISABEL CRISTINA DA ROCHA CÉSAR

**CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS DO QUEIJO
MINAS ARTESANAL DA REGIÃO DA CANASTRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

César, Isabel Cristina da Rocha, 1992-
C421c Caracterização de fungos filamentosos do queijo minas artesanal da região
2019 da Canastra / Isabel Cristina da Rocha César. - Viçosa, MG, 2019.
vii, 61f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Guilherme Prado Martin.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.50-61.

1. Micologia. 2. Fungos. 3. Maturação de queijo. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Microbiologia. Programa de Pós-Graduação em
Microbiologia Agrícola. II. Título.

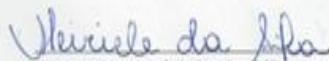
CDD 22 ed. 579.5

ISABEL CRISTINA DA ROCHA CÉSAR

**CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS DO QUEIJO
MINAS ARTESANAL DA REGIÃO DA CANASTRA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

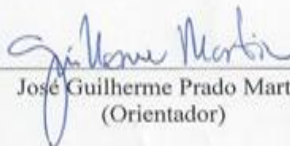
APROVADA: 29 de julho de 2019.



Meiriele da Silva
(Coorientadora)



Célia Lucia de Luces Fortes Ferreira



José Guilherme Prado Martin
(Orientador)

Dedico
À minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS porque sem a ação dele na minha vida, nada disso seria possível de acontecer.

Agradeço à minha família pela motivação, apoio, compreensão e por sempre ter acreditado em mim.

Agradeço aos meus queridos amigos Leonardo, Gabriel, Cleonice e Ramila pelas alegrias do dia a dia e pelo conhecimento compartilhado.

Agradeço às minhas amigas Juliana e Carla pelos conselhos diários e pelos momentos de descontração.

Agradeço aos colegas de classe Mirele, Osiel, Jéssica, Adriele e Marlon pelos momentos de dificuldade compartilhados, pelos grupos de estudo realizados, além das risadas e piadas do cotidiano.

Agradeço aos colegas Emiliane, Tomás e Karen, do Laboratório de Micorrizas, por sempre estarem dispostos a me ajudar nos momentos em que precisei.

Agradeço à Samara pelo companheirismo na realização dos experimentos.

Agradeço à Suzana pelo auxílio durante a realização das coletas das amostras na Serra da Canastra, pelas risadas durante a viagem e principalmente pela amizade e carinho que construímos em tão pouco tempo.

Agradeço ao professor Jonas por ter contribuído com o acesso aos produtores, bem como nos guiado até as propriedades produtoras dos queijos da Canastra juntamente com os motoristas Júnior e Ismael, e à técnica do Instituto Federal de Bambuí, pelo preparo dos materiais utilizados em parte dos experimentos.

À Profa. Célia Lucia de Lucas Fortes Ferreira, pela contribuição na concepção e revisão desse trabalho.

Agradeço à minha coorientadora Meiriele Silva, sem a sua ajuda a realização deste trabalho não seria possível.

Agradeço ao meu orientador Guilherme Martin pela ajuda durante a realização das coletas das amostras na Serra da Canastra, pelos conhecimentos transmitidos e principalmente pela paciência.

Agradeço à professora Catarina por disponibilizar os kits de extração para a realização das etapas moleculares deste trabalho.

À professora Marisa pela disponibilidade da capela de fluxo para a realização dos repiques dos fungos.

Agradeço ao professor Olinto do Departamento de Fitopatologia pela disponibilidade do microscópio para a obtenção das imagens.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais (IFMG) Campus Bambuí, instituição parceira desse projeto.

À APROCAN (Associação dos Produtores de Queijo Canastra), pela colaboração e apoio para o desenvolvimento da presente pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento do projeto (Processo APQ-04407-17).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, na modalidade bolsa de estudo.

Enfim, agradeço a todos que diretamente ou indiretamente me ajudaram de alguma forma, seja com palavras de apoio ou com conhecimentos compartilhados. Todos vocês moram no meu coração.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Queijo Minas Artesanal (QMA)	3
2.1.1 Aspectos legais da produção de QMA	5
2.2 QMA da Microrregião da Canastra	6
2.2.1 Fabricação do Queijo Canastra	8
2.3 Maturação	11
2.4 Fungos em Queijos Maturados.....	12
2.4.1 Principais fungos encontrados em Queijos Maturados.....	14
2.4.1.1 <i>Aspergillus</i> spp	14
2.4.1.2 <i>Penicillium</i> spp	15
2.4.1.3 <i>Geotrichum</i> spp	16
2.4.1.4 <i>Fusarium</i> spp	17
2.4.1.5 <i>Mucor</i> spp	18
2.4.1.6 <i>Diaporthe</i> spp	19
2.4.1.7 <i>Trichothecium roseum</i>	20
2.4.1.8 <i>Debaryomyces hansenii</i>	21
2.4.1.9 <i>Moniliella casei</i>	22
2.4.1.10 <i>Kodamaea ohmeri</i>	23
3. OBJETIVOS.....	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos Específicos	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Delineamento Experimental	24
4.2 Amostras das Câmaras de maturação	25
4.3 Isolamento dos fungos do Queijo Minas Artesanal (QMA)	25
4.4 Manutenção dos isolados	26
4.5 Extração de DNA total das amostras dos queijos	26
4.6 Identificação Molecular	26
4.6.1 Eletroforese	27
4.6.2 Análise de Sequências	28
4.7 Identificação dos gêneros fúngicos dos isolados do ambiente	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 Coleta dos Queijos	28
5.2 Identificação molecular dos isolados dos queijos	32
5.3 Identificação dos isolados do ambiente	39
6. CONCLUSÕES	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

RESUMO

CESAR, Isabel Cristina da Rocha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2019. **Caracterização de fungos filamentosos do queijo minas artesanal da região da Canastra.** Orientador: José Guilherme Prado Martin. Coorientadora: Meiriele da Silva.

Produzido desde o início do século XIX, o Queijo Minas Artesanal (QMA) constitui um dos mais antigos e tradicionais queijos produzidos no Brasil. Sua produção é caracterizada pelo uso de leite cru recém-ordenhado em propriedades rurais, geralmente sendo submetido à maturação. De grande importância econômica, a fabricação do QMA é responsável pela geração de renda de inúmeros produtores rurais. Durante o processo de maturação, o complexo ecossistema microbiano dos queijos começa a se desenvolver, sendo que a diversidade microbiana determinará suas características organolépticas finais. Durante sua maturação, tanto os microrganismos iniciantes, que se desenvolvem primeiro, como aqueles microrganismos que não atuaram na acidificação inicial, participam ativamente desse processo. Dentre as principais fontes de microrganismos não adicionados intencionalmente no produto incluem-se a matéria-prima, os manipuladores, equipamentos, o ar e as salas de maturação. Dependendo das condições de umidade e temperatura das salas de maturação de queijos, os fungos podem se multiplicar rapidamente. Dessa maneira, a presença de fungos ambientais nesses locais constitui um fator importante, uma vez que são responsáveis por uma maturação desejável ou indesejável, uma vez que atuam alterando sabor, aparência e coloração do produto. Este estudo teve como objetivo caracterizar a microbiota de fungos filamentosos de QMA produzidos nos nove municípios produtores da região da Serra da Canastra. Para a obtenção dos isolados, técnicas como isolamento direto e suabe foram utilizadas. Os mesmos foram identificados por meio de sequenciamento da região ITS utilizando-se os primers ITS1 e ITS4. Dentre os isolados presentes no QMA, o fungo predominante foi *Fusarium solani* (21,8%), seguido de *Geotrichum candidum* (16,4%), *Aspergillus versicolor* (16,4%), *Penicillium westerdijkiae* (11%), *Penicillium steckii* (7,3%), *Mucor circinelloides* (3,6%), *Mucor* sp. (3,6%), *Penicillium citrinum* (3,6%), *Fusarium oxysporum* (3,6%), *Fusarium lichenicola* (1,81%), *Aspergillus nomius* (1,81%), *Diaporthe infecunda* (1,81%), *Trichothecium roseum* (1,81%), *Debaryomyces hansenii* (1,82%), *Kodamaea ohmeri* (1,82%) e *Moniliella* sp. (1,82%). A partir desses resultados, foi possível observar a variação da diversidade de espécies presentes no QMA da Serra da Canastra dentre as propriedades produtoras.

ABSTRACT

CESAR, Isabel Cristina da Rocha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2019. **Characterization of filamentous fungi of artisanal minas cheese from Canastra region.** Adviser: José Guilherme Prado Martin. Co-adviser: Meiriele da Silva.

The Artisanal Minas Cheese (AMC) is considered the most traditional cheese produced in Brazil. Its manufacturing is characterized by the use of raw milk in rural properties, being generally submitted to ripening. The AMC production is responsible for the income generation of several rural producers. During its maturation process, the complex microbial ecosystem of the cheeses begins to develop, and the microbial diversity will determine the final organoleptic characteristics of the product. During its ripening, both the starting microbial acid producers as well as the other components of the endogenous microbiota participate actively in the process. Among the main sources of microorganisms not intentionally added to the product (endogenous starter culture known as pingo) are the raw material, manipulators, equipment, air and maturation rooms. This study aimed to characterize the mycobiota of filamentous fungi from AMC produced in nine municipalities from Serra da Canastra region. Direct isolation and swab techniques were used to obtain the isolates; the identification was performed by the sequencing considering ITS1 and ITS4 regions. Among the isolates present in the AMC, the predominant fungus was *Fusarium solani* (21.8%), followed by *Geotrichum candidum* (16.4%), *Aspergillus versicolor* (16.4%), *Penicillium westerdijkiae* (11.0%), *Penicillium steckii* (7.3%), *Mucor circinelloides* (3.6%), *Mucor* sp. (3.6%), *Penicillium citrinum* (3.6%), *Fusarium oxysporum* (3.6%), *Fusarium lichenicola* (1.81%), *Aspergillus nomius* (1.81%), *Diaporthe infecunda* (1.81%), *Trichothecium roseum* (1.81%), *Debaryomyces hansenii* (1.82%), *Kodamaea ohmeri* (1.82%) and *Moniliella* sp. (1.82%). From these results, it was possible to observe the diversity of fungi species in AMC from Serra da Canastra, which may vary according to the producer property.

1. INTRODUÇÃO

Produzido desde o início do século XIX, o Queijo Minas Artesanal (QMA) constitui um dos mais antigos e tradicionais queijos produzidos no Brasil. Sua produção é caracterizada pelo uso de leite cru recém-ordenhado em propriedades rurais, geralmente sendo submetido à maturação. Sendo de grande importância econômica, a fabricação do QMA é responsável pela geração de renda de inúmeros produtores rurais.

Além de possuir importância econômica, cultural e social, o QMA apresenta características sensoriais peculiares em função das condições de manejo e maturação, da região produtora, do ambiente e principalmente da presença de um ecossistema microbiano complexo proveniente do leite cru e do fermento endógeno, denominado de “pingo”. Este conjunto de fatores influencia diretamente na qualidade final dos queijos.

Dentre as etapas de importância no modo de fazer do QMA destaca-se a adição do pingo (cultura endógena). Alguns produtores fazem, eventualmente, o uso da “rala”, prática que visa a substituir o pingo em caso de perda ou contaminação. Uma das diferenças existentes no modo de produção dos queijos de uma região para a outra consiste no modo de prensagem: queijos produzidos nas regiões da Canastra, Cerrado e Campo das Vertentes são prensados com o auxílio de um tecido, conhecido como “volta ao mundo”, ao contrário da região do Serro, onde os queijos são pressionados utilizando-se apenas as mãos; dessa maneira, cada região gera um produto com características finais distintas.

O QMA tradicional geralmente apresenta-se isento de fungos em sua superfície, pois durante muito tempo sua presença era indesejável e descaracterizava o produto. Dessa forma, durante a maturação os queijos eram lavados ou escovados no intuito de eliminar os fungos ao longo das viragens. Considerando-se a evolução do QMA, a presença de fungos em sua superfície, participando ativamente do processo de maturação, consiste em um fato novo, relativamente recente.

Durante o processo de maturação, o complexo ecossistema microbiano dos queijos começa a se desenvolver, sendo que a diversidade microbiana determinará suas características organolépticas finais. Durante sua maturação, tanto as culturas iniciadoras quanto aqueles microrganismos não inoculados – como os fungos – participam ativamente desse processo. Dentre as principais fontes de microrganismos

não adicionados intencionalmente no produto podem-se citar a matéria-prima, os manipuladores, os equipamentos, o ar e as salas de maturação.

Dependendo das condições de umidade e temperatura das salas de maturação de queijos, diversos fungos podem se multiplicar rapidamente; dessa maneira, a presença desses microrganismos no ambiente de produção/maturação constitui um fator importante, uma vez que podem provocar alterações no sabor e aparência do produto. Além disso, destaca-se ainda a possibilidade de desenvolvimento de fungos potencialmente micotoxigênicos, representando um problema de saúde pública. Dentre os gêneros fúngicos produtores de micotoxinas e envolvidos na contaminação de alimentos durante o processamento, destacam-se *Aspergillus* e *Penicillium*.

Nesse contexto, tendo em vista que QMA contendo fungos em sua superfície têm sido comercializados sem o conhecimento das espécies associadas, a caracterização dessa microbiota contribuirá para um melhor entendimento acerca da segurança do produto final, bem como do seu papel benéfico na maturação do QMA.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Queijo Minas Artesanal (QMA)

Os queijos produzidos de maneira artesanal estão presentes em várias regiões do mundo, apresentando ampla variedade quanto às características sensoriais, microbiológicas e físico-químicas. Sua produção é caracterizada pela maneira tradicional de elaboração, com limitado grau de mecanização (KUPIEC e REVELL, 1998). No Brasil, a Lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002 define o queijo artesanal como aquele produzido a partir do leite integral de vaca, cru e fresco, beneficiado e retirado na propriedade de origem. O produto final deve apresentar-se isento de conservantes e corantes, massa uniforme, consistência firme, cor e sabores próprios (MINAS GERAIS, 2002). Recentemente, com a aprovação da lei do selo ARTE nº 13.680 de 14 de junho de 2018, o queijo artesanal é definido como aquele elaborado a partir da matéria-prima de origem animal, a partir de técnicas manuais e por quem tenha o domínio integral do processo. O alimento é submetido ao controle do serviço de inspeção oficial, apresenta fabricação genuína e individualizada e que mantenha a singularidade e as características culturais, regionais ou tradicionais.

Dentre os quatro ingredientes principais do produto, destacam-se o leite cru, o pingo, o sal e o coalho. O “pingo”, também conhecido como cultura endógena, é definido como o fermento resultante da dessoragem dos queijos já salgados e coletado de um dia para o outro, sendo, portanto, um soro fermentado com determinada quantidade de sal, que pode agir como um inibidor de algumas fermentações indesejáveis e que confere ao queijo características físico-químicas e organolépticas específicas (DORES, 2007).

Sendo considerado como patrimônio da população mineira, o QMA começou a ser produzido inicialmente nas regiões do Serro, Canastra, Cerrado e Araxá (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2011) (Figura 1). Posteriormente, outras regiões, como Serra do Salitre, Triângulo Mineiro e Campo das Vertentes, foram incluídas (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2014) (Figura 2). Em função da temperatura, altitude, umidade relativa do ar, tipo de solo e pastagens, os queijos destas regiões possuem características próprias que lhes conferem uma identidade regional (EMATER, 2004).

Para que os produtores estejam aptos a produzir o QMA e habilitados a comercializar o seu produto é necessário que as propriedades produtoras sejam cadastradas pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) e reconhecidas pela Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais (EMATER), no intuito de garantir a segurança microbiológica do alimento, a partir do atendimento às Boas Práticas de Fabricação, bem como o controle sanitário do rebanho, fortalecimento e incentivo à organização dos produtores e, sobretudo, definir a cadeia produtiva do queijo artesanal mineiro (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2009). Além disso, a comercialização entre os estados só é permitida mediante a presença do selo ARTE nesses produtos (MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2019).



Figura 1 – Regiões Serro, Canastra, Cerrado e Araxá como produtoras do Queijo Minas Artesanal. Fonte: IMA (2011).

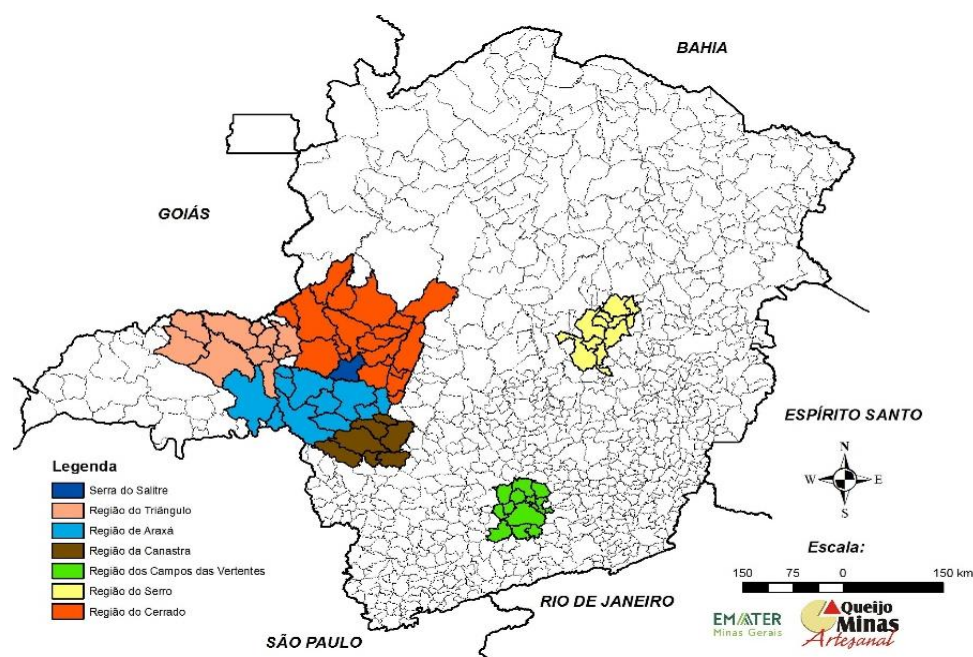


Figura 2 – Inclusão das regiões Serra do Salitre, Triângulo Mineiro e Campo das Vertentes como produtoras do Queijo Minas Artesanal. Fonte: IMA (2014).

2.1.1 Aspectos legais da produção de QMA

Segundo a portaria nº 1.736 de 27 de julho de 2017, a comercialização dos queijos só é permitida desde que o produto seja submetido ao processo de maturação durante 22 dias. No intuito de preservar a segurança microbiológica desse alimento, o governo do Estado de Minas Gerais lançou leis específicas para o QMA, como a lei estadual N° 19.492 de 31 de janeiro de 2011, que visa estabelecer critérios como o funcionamento e o controle da produção desses queijos, qualidade no processamento, na obtenção da água, matéria-prima e adequação das queijarias, equipamentos, manipuladores, utensílios, além de determinar os respectivos parâmetros microbiológicos.

Dentre as portarias relacionadas às boas práticas agropecuárias que regulamentam a produção do QMA, destacam-se: Portaria nº 517, de 14 de junho de 2002 que estabelece normas de defesa sanitária para rebanhos fornecedores de leite para a produção de queijo Minas Artesanal (MINAS GERAIS, 2002a); Portaria N° 518, de 14 de junho de 2002, que dispõe sobre requisitos básicos dos materiais, equipamentos e instalações para o fabrico do queijo (MINAS GERAIS, 2002b); e Portaria N° 523, de 3

de julho de 2002, que estabelece normas sobre as boas práticas de manipulação, fabricação e condições higiênico-sanitárias (MINAS GERAIS, 2002c).

No intuito de melhorar cada vez mais a produção do QMA, em 12 de dezembro de 2006 foi criada a portaria nº 818, que dispõe sobre a aprovação do regulamento técnico para a produção do queijo Minas artesanal, normas dos procedimentos para a coleta de amostras, parâmetros para a avaliação de risco, documentos necessários para o cadastro junto ao programa queijo artesanal da EMATER- MG e as regras de rotulagem do produto (MINAS GERAIS, 2006). Em agosto de 2008 é criado o decreto nº 44.864, que dispõe sobre a delimitação da área e situações para a produção, embalagem, transporte e comercialização, bem como a qualidade do produto e água utilizada (MINAS GERAIS, 2008).

2.2 QMA da Microrregião da Canastra

De acordo com a portaria 1.687 de 23 de dezembro de 2016, a produção de queijo Minas artesanal na microrregião da Canastra é realizada de modo tradicional nos municípios de Bambuí, Delfinópolis, Medeiros, Piumhi, São Roque de Minas, São Batista do Glória, Vargem Bonita, Córrego Danta e Tapiraí (Figura 3). A produção dos queijos desta região é principalmente comercializada nos mercados de São Paulo e Belo Horizonte, sendo de grande relevância a nível econômico, uma vez que é a principal fonte de renda e empregos para muitos agricultores familiares (ALMEIDA e FERNANDES, 2004).

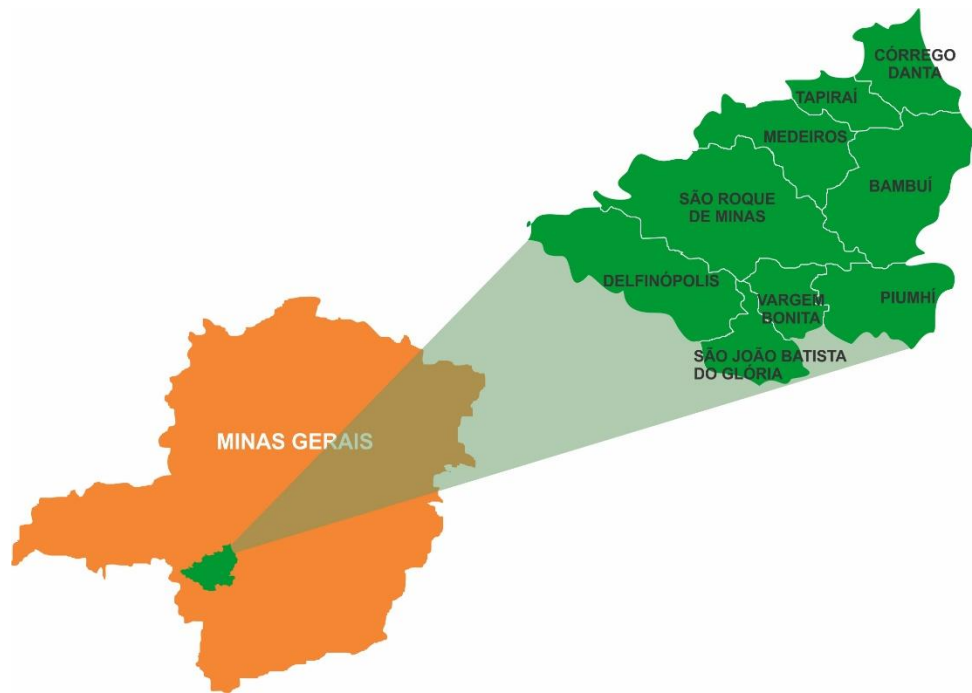


Figura 3 – Municípios da região da Serra da Canastra onde há produção de queijo Canastra. Fonte: Adaptado de EMATER (2004).

Fatores edafoclimáticos típicos da Serra da Canastra contribuem positivamente para o processo produtivo do queijo e também favorecem o desenvolvimento de bactérias endógenas responsáveis por seu sabor característico. A microbiota endógena do leite cru, além de produzir substâncias capazes de inibir a presença de microrganismos patogênicos, apresenta forte influência na proteólise e lipólise, resultando em compostos responsáveis pelas características de textura e aroma.

Dentre as principais características do queijo da Canastra, podem-se citar: 1) fabricação com leite de vaca cru, uso do pingo (microrganismos endógenos), coalho e sal; 2) consistência semidura com tendência à macia; 3) textura compacta; 4) cor branco-amarelada; 5) crosta fina, amarelada, sem trincas; 6) sabor ligeiramente ácido, não picante; 7) formato cilíndrico com peso de 1 a 2 kg, diâmetro de 15 a 17 cm e altura de 4 a 6 cm (Figura 4) (ALMEIDA e FERNANDES, 2004).



Figura 4 – Queijo Minas Artesanal da região da Serra da Canastra. Fonte: a autora.

2.2.1 Fabricação do Queijo da Canastra

Segundo a Lei estadual 14.185/2002, o queijo da Canastra é produzido de modo artesanal e obedece a normas regulamentadas que abrangem a produção de queijos artesanais produzidos a partir de leite cru, beneficiados nas queijarias das propriedades rurais, sem utilização de técnicas industriais (INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA, 2002). A Figura 5 ilustra seu fluxograma de produção. Após a ordenha (manual ou mecânica), o leite é filtrado e transferido para o tanque de fabricação, onde é adicionada a cultura endógena (“pingo”) e o coalho. A coalhada, resultante da coagulação da massa durante 50 a 60 minutos, é, então, cortada e mantida em repouso por cerca de 5 minutos, seguida de agitação lenta. A partir deste momento, faz-se a enformagem com a compressão da massa nas formas cobertas por um tecido (“volta ao mundo”). Em seguida, é realizado o processo de salga seca de 6 a 12 horas. É na fase final dessa etapa que se faz a coleta do “pingo”, a ser utilizado na produção do dia seguinte. Finalmente, os queijos são desenformados no dia posterior e submetidos ao processo de maturação, que visa alcançar as características sensoriais desejadas do produto. Antes de serem comercializados, os queijos são submetidos ao processo de maturação por um período mínimo de 22 dias para o QMA (MINAS GERAIS, 2017). Durante este processo, o queijo é virado diariamente, escovado ou lavado no intuito de

impedir o crescimento de fungos (QMA tradicional). Em contraste, nos últimos anos alguns produtores decidiram inovar seu produto, permitindo o desenvolvimento de fungos em seus queijos, sendo considerados como QMA “de casca florida” ou “novo” QMA. A Figura 6 ilustra algumas etapas do processo de fabricação do queijo da Canastra.

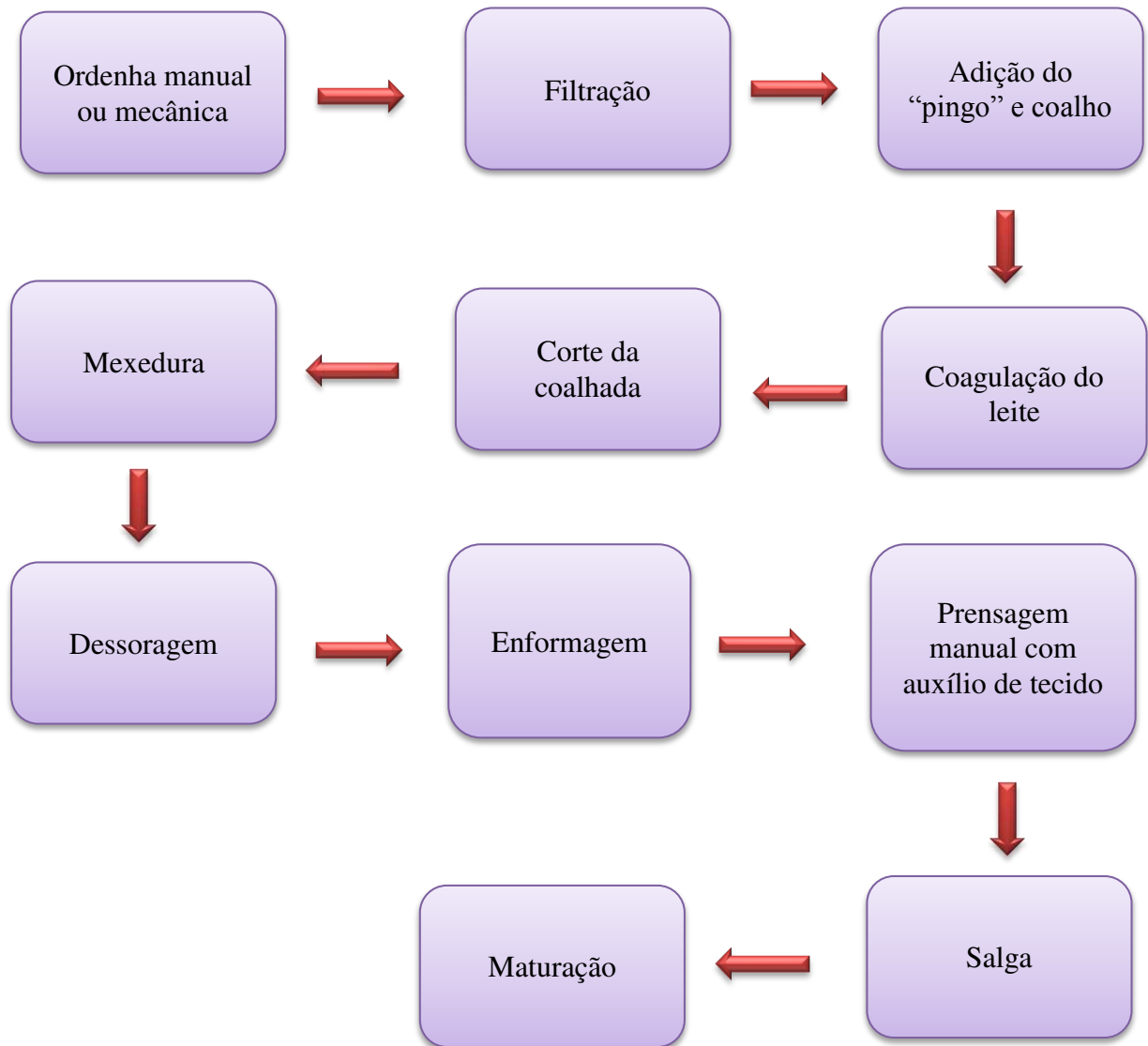


Figura 5 – Fluxograma de produção do Queijo da Canastra. Fonte: Adaptado de Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) (2002).



Figura 6 – Etapas do processo de fabricação do queijo da Canastra (A): Ordenha; (B): Pré-filtração; (C): Enformagem; (D): Salga; (E): Coleta do “pingo”; (F): Maturação. Fonte: a autora.

2.3 Maturação

A maturação de um queijo corresponde ao período em que o produto permanece em condições de umidade e temperatura específicas. Durante este processo, podem ocorrer transformações microbiológicas e bioquímicas, como proteólise e lipólise, responsáveis pelo desenvolvimento do sabor e aroma do queijo (McSWEENEY, 2004). Segundo a lei nº 1736 de 27 de julho de 2017, o queijo da Canastra deve ser submetido ao processo de maturação durante 22 dias, no qual trata-se de uma etapa obrigatória e permite que a microbiota endógena, especialmente as bactérias produtoras do ácido láctico (BAL), antagonize e iniba os possíveis patógenos presentes no leite. Dessa forma, ao final deste processo, o QMA encontra-se seguro para o consumo (MINAS GERAIS, 2017).

Por se tratar de uma matriz alimentar rica nutricionalmente e microbiologicamente, o leite apresenta uma microbiota composta por microrganismos desejáveis como as BAL, e indesejáveis, como os microrganismos patogênicos e deterioradores (FRANCIOSI et al., 2009). As BAL podem ser divididas em bactérias iniciadoras (SLAB) ou maturadoras e estão envolvidas no processo de maturação dos queijos. O primeiro grupo fermenta a lactose com elevada produção de ácido láctico, como *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*/*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, dentre outros. Já os microrganismos maturadores consistem em um grupo heterogêneo e auxiliam no processo de maturação dos queijos, sendo representados pelas espécies do gênero *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Pediococcus* (GOBBETI et al., 2002; COEURET et al., 2004). Esse grupo está envolvido na capacidade de fermentar o açúcar e desenvolver o *flavour*, aroma e textura do produto, bem como na conservação do alimento que está associada à redução do pH como consequência da produção de ácidos orgânicos resultantes da fermentação de açúcares, além da capacidade de produzir agentes antimicrobianos.

Nos queijos, as BAL produzem ácido láctico responsável por acelerar a coagulação do leite auxiliando na sinérese do soro, além de contribuir para o sabor, textura e corpo (AWAD et al., 2007). Porém, a principal função atribuída ao ácido produzido por essas bactérias é a antimicrobiana, no qual atua acidificando o meio e antagonizando bactérias indesejáveis. Outra característica comum entre as BAL é a produção de bacteriocinas, de extrema importância para a maturação e segurança dos queijos. Esses peptídeos possuem a capacidade de inibir microrganismos competidores, incluindo formadores de

esporos e patogênicos, como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, entre outros (FRICOURT et al., 1994; NOONPAKDEE et al., 2009; HU et al., 2013).

A microbiota secundária está relacionada às BAL maturadoras, bactérias propiônicas, fungos filamentosos e leveduras, que se desenvolvem na superfície de alguns queijos maturados (BERESFORD e WILLIAMS, 2004). Bactérias propiônicas e *Brevibacterium linens* também se encontram presentes, no qual produtos do seu metabolismo contribuem para o desenvolvimento do sabor e textura em determinados queijos (SORHAUG e ORDAL, 1974). Leveduras também são naturalmente encontradas, devido à boa adaptação em substrato rico em lipídios, proteínas, ácidos orgânicos e açúcares. Contribuem para o desenvolvimento do sabor, aroma e textura devido à proteólise, lipólise, utilização de ácido lático e fermentação da lactose (McSWEENEY, 2004).

Fungos filamentosos também atuam na maturação de uma grande variedade de queijos, presentes tanto na superfície como no interior da massa. Possuem atividade bioquímica expressiva e tem importante papel na modificação do queijo, contribuindo para a formação de sabores e aromas típicos (BERESFORD e WILLIAMS, 2004; McSWEENEY, 2004; BERESFORD, et al., 2001).

2.4 Fungos em Queijos Maturados

A presença de fungos em certos tipos de queijos é interessante para o processo de maturação, devido ao importante papel que desempenham na textura e sabor, a exemplo dos queijos Camembert, Roquefort e Stilton (BENKERROUM, 2016; GILLOT, et al., 2015; ROPARS, et al., 2014).

Fungos como *Geotrichum candidum*, por exemplo, além de produzirem lipases e proteases que contribuem para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos no queijo Camembert, também são competidores importantes com contaminantes indesejáveis no queijo, como *L. monocytogenes* (WOUTERS, et al., 2002; NIELSEN, et al., 1998). Outro exemplo trata-se de *Penicillium roqueforti*, que é muito utilizado na maturação de queijos como Gorgonzola e Roquefort, o qual confere a coloração típica azulada (devido à produção de esporos) bem como características sensoriais relacionadas à intensa lipólise e proteólise causada por enzimas fúngicas extracelulares (FONTAINE, et al., 2015).

Por outro lado, a presença de fungos filamentosos em queijos também pode se constituir em um problema. *Penicillium* e *Aspergillus* estão entre os deteriorantes mais comuns em alimentos, causando alterações no sabor, textura e aparência do produto. Em queijos, seus principais efeitos indesejáveis relacionam-se com proteólise na casca de alguns tipos de queijos semiduros, modificação do sabor, aparecimento de manchas de cores diversas, além da rejeição do produto pelo consumidor (HERMANNNS, et al., 2006).

Além disso, alguns fungos são produtores de micotoxinas, substâncias tóxicas formadas durante o metabolismo secundário dos fungos. O envenenamento por micotoxinas é chamado de micotoxicose e dentre os sintomas envolvidos destacam-se náuseas, vômitos, falta de coordenação dos movimentos (ou ataxia) e morte. Os produtos que geralmente podem veicular micotoxinas para o homem ou animais são: produtos agrícolas, rações industrializadas, leite e derivados, dentre outros (DINIZ, 2002). Em queijos em que se utilizam culturas fúngicas para auxiliar no processo de maturação foram detectados a presença de roquefortina C em queijos azuis, além da presença do ácido micofenólico (KOKKONEN, JESTOI, RIZZO, 2005).

O gênero *Aspergillus* apresenta espécies micotoxigênicas, tais como *Aspergillus flavus*, *A. bombycus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. ochraceus*, *A. tamarrii*, *A. pseudotamarrii*, *A. parvisclerotigenus* e *A. rambellii*; suas toxinas, em especial as aflatoxinas, podem causar efeitos mutagênico, teratogênico e carcinogênico (FRISVAD, et al., 2004). A contaminação de derivados lácteos por aflatoxinas decorre do uso de leite contaminado por aflatoxina M1, uma vez que o animal ingere o alimento contaminado com aflatoxina B1, posteriormente biotransformada no fígado em aflatoxina M1 e, por fim, excretada no leite. No queijo, a concentração de aflatoxina tende a aumentar, devido sua interação com a caseína da massa, bem como pelo fato do produto perder umidade ao longo do processo de maturação (HUSSEIN e BRASEL, 2001). Apesar de alguns estudos revelarem baixíssimos níveis de aflatoxina M1 em diversos tipos de queijos, outros detectaram elevados níveis de aflatoxina (850 ng/kg) em queijos turcos, reforçando que o risco para a saúde não deve ser subestimado (AYDEMIR, et al., 2010).

2.4.1 Principais fungos encontrados em queijos maturados

2.4.1.1 *Aspergillus* spp.

Pertencentes à família *Aspergillaceae* e filo *Ascomycota*, os fungos do gênero *Aspergillus* compreendem mais de 200 espécies; dentre as envolvidas na indústria alimentícia, destacam-se *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus sojae* utilizadas em alimentos fermentados, como saquê e molho de soja (SAMSON, et al., 2014).

O gênero é considerado um dos mais importantes do ponto de vista industrial, utilizado para a produção de químicos (ácido cítrico, por *Aspergillus niger*); em contraste, são também conhecidos por estarem entre os mais tóxicos deteriorantes de alimentos e rações (como *A. flavus* e *A. parasiticus*), e algumas espécies patogênicas para o homem e animais, como *A. fumigatus*, causando um quadro denominado de aspergilose, resultante da inalação de esporos de *Aspergillus*; os esporos inalados entram no organismo via trato respiratório e germinam, originando hifas dentro dos pulmões, que tendem a invadir também outros tecidos ou órgãos (NAKAMOTO, et al., 2019).

Em relação à morfologia, suas colônias apresentam ampla variação na coloração, de tons de verde, amarelo, cinza, marrom, preto a branco. O gênero produz um conidióforo asseptado e com a base em forma de “T” ou “L”, comumente chamada de “célula pé”, conectada a uma hifa vegetativa. O conidióforo estende-se a partir da célula pé podendo atingir alguns milímetros de comprimento até chegar à vesícula, na qual as células conidiogênicas, métulas e fiálides são formadas, originando os esporos fúngicos (neste caso, os conídios) (Figura 7). As espécies podem ser classificadas como unisseriadas, quando apresentam o conídio ligado diretamente às fiálides; ou bisseriadas, quando apresentam estruturas especializadas que ficam entre a vesícula e as fiálides, designadas métulas (PERRONE, et al., 2007; KLICH, 2002).

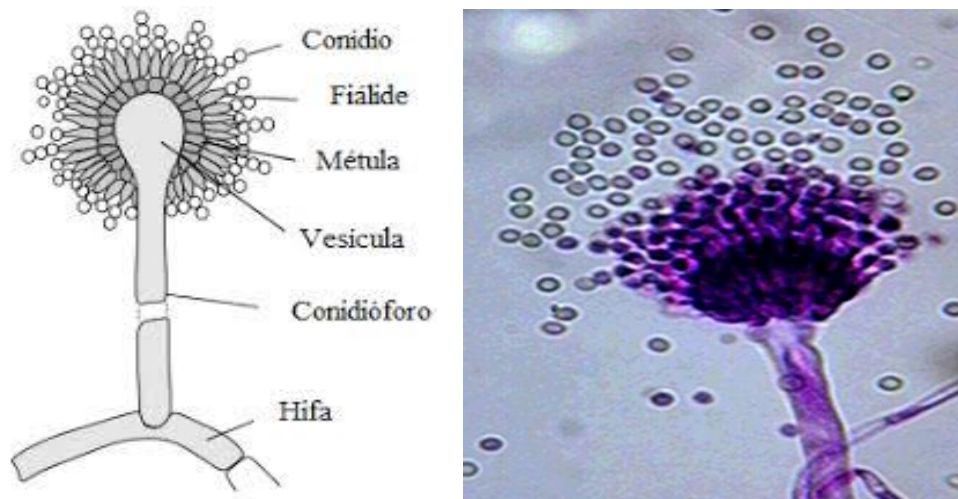


Figura 7 – Morfologia do gênero *Aspergillus*. Fonte: www.inspq.qc.ca/moulds/aspergillus.

2.4.1.2 *Penicillium* spp.

Pertencente ao filo Ascomycota e família *Aspergillaceae*, o gênero *Penicillium* contempla atualmente mais de 350 espécies, comumente encontradas no solo, ar, ambientes internos e vários produtos alimentícios. Na natureza sua principal função é a decomposição de materiais orgânicos, podendo causar podridões pós-colheita (SAMSON e FRISVAD, 2004). Em contraste, algumas espécies apresentam impactos positivos, sendo utilizados na indústria alimentícia para a produção de queijos como Roquefort, Camembert e outros, além de diversas outras aplicações (PITTET, 2001; SAMSON e FRISVAD, 2004).

Produzem hifas septadas, sendo geralmente conectadas por anastomose (Figura 8) (HOUBRAKEN e SAMSON, 2011). Os conidióforos surgem como ramos do micélio e são frequentemente perpendiculares ao substrato. A estrutura do conidióforo consiste de um estipe que pode ser estreito ou alargado. No ápice do estipe encontram-se as células conidiogênicas, denominadas fiálides. As fiálides podem incidir diretamente no ápice do estipe ou em células de apoio denominadas métulas e ramos. No interior das fiálides os conídios são formados, sendo esses microscópicos, uninucleados, unicelulares e com formas que variam de cilíndricas a globosas (HOUBRAKEN e SAMSON, 2011; FRISVAD, et al., 2004).

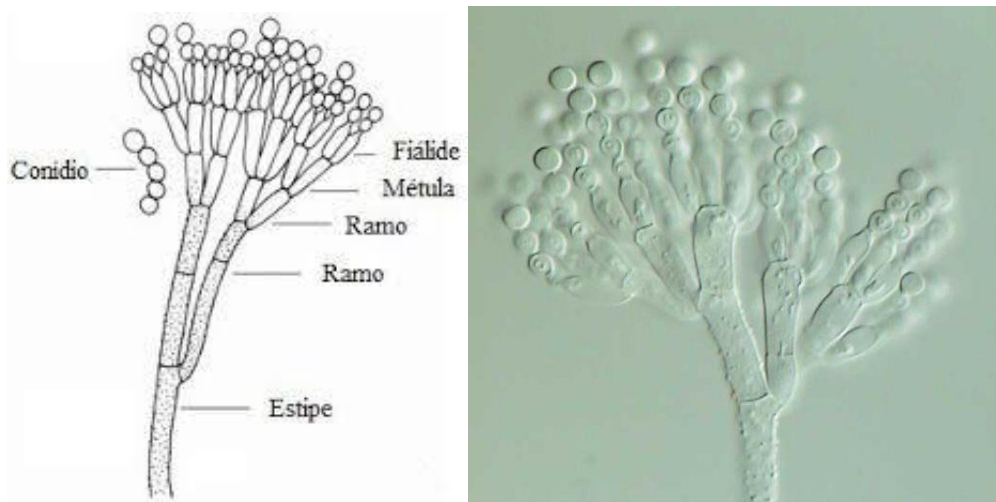


Figura 8 – Morfologia do gênero *Penicillium*. Fonte: www.mycology.edu.br.

2.4.1.3 *Geotrichum* spp.

O gênero *Geotrichum* pertence ao filo *Ascomycota*, família *Dipodascaceae*. Trata-se de um gênero dimórfico que comumente apresenta colônias de coloração creme (ALPER, FRENETTE, LABRIE, 2011). Algumas espécies podem ser encontradas em ambientes como leite, solo, água e patógenos de plantas. Além disso, existem espécies que podem estar relacionadas a doenças do sistema respiratório e trato gastrointestinal de humanos, causando infecções oportunistas conhecidas por geotricoses (ALPER, FRENETTE, LABRIE, 2011; HOOG e SMITH, 2004; GENTE, et al., 2002).

Na indústria alimentícia, a espécie de maior relevância consiste em *G. candidum*, sendo utilizada como cultura adjunta devido à atividade proteolítica que apresenta, e por ser parte da microbiota natural do leite cru, desempenhando um papel importante na maturação de queijos tipo Camembert. Em contraste, também consiste em um agente deteriorador de diversos alimentos, acarretando em perdas econômicas consideráveis à indústria (LESSARD, et al., 2014; MARCELINO, et al., 2001; MOLIMARD et al., 1997).

A microscopia de *Geotrichum* (Figura 9) consiste na presença de hifas e artroconídios – que resultam da fragmentação de hifas indiferenciadas – de coloração hialina, unicelulares, apresentando-se em cadeias. Podem apresentar forma arredondada ou retangular nas extremidades.

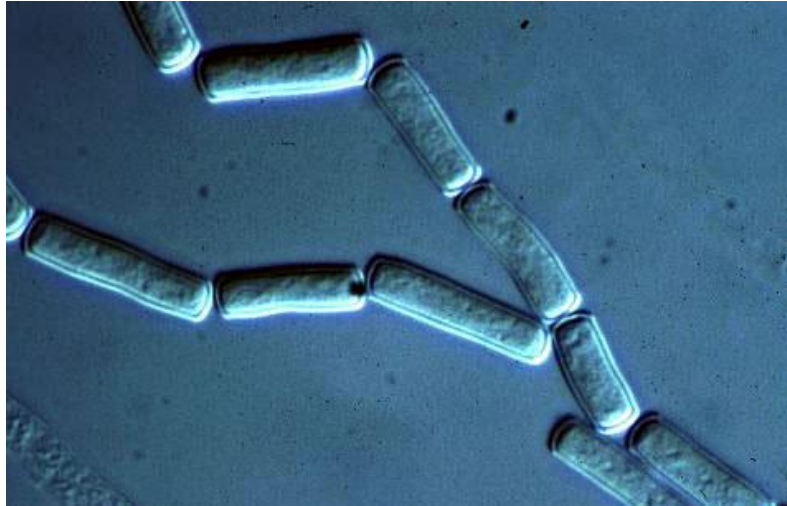


Figura 9 – Microscopia de *Geotrichum candidum*. Fonte: www.drfungus.org.

2.4.1.4 *Fusarium* spp.

Conhecido como patógeno de plantas em todo o mundo, várias espécies pertencentes ao gênero *Fusarium* são capazes de infectar e colonizar diversos cereais, como arroz, trigo, milho, aveia e outros, e tem acarretado em uma redução significativa no rendimento e na qualidade de muitas outras culturas. Apresenta uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo em praticamente todos os ambientes, com espécies cosmopolitas e outras de ocorrência restrita a determinadas regiões, predominantemente tropicais e subtropicais ou em condições de clima frio das regiões temperadas (DUAN, et al., 2016; COVARELLI, et al., 2012 ; GORTZ, et al., 2008; McMULLEN, et al., 1997; KEMP, PRETORIUS, WINGFIELD, 1996). Apesar desse gênero ser encontrado comumente em plantações, sua presença já foi detectada em queijos produzidos a partir do leite de ovinos e caprinos no sul da Itália (MONTAGNA, et al., 2004).

Espécies do gênero *Fusarium* podem produzir macroconídios hialinos, geralmente septados, possuindo as células basais e apicais diferenciadas. Os macroconídios podem apresentar formas delgadas, com aspecto de agulha; com curvatura dorsal e ventral; com a curvatura do lado dorsal mais pronunciada que no lado ventral; com as células apical e basal; ou em formato de gancho, afilados (Figura 10A). Os microconídios podem apresentar forma oval, reniformes ou alantoides, obovóides com a base truncada, piriformes ou globosos (Figura 10 B) (LESLIE e SUMMERELL, 2006).

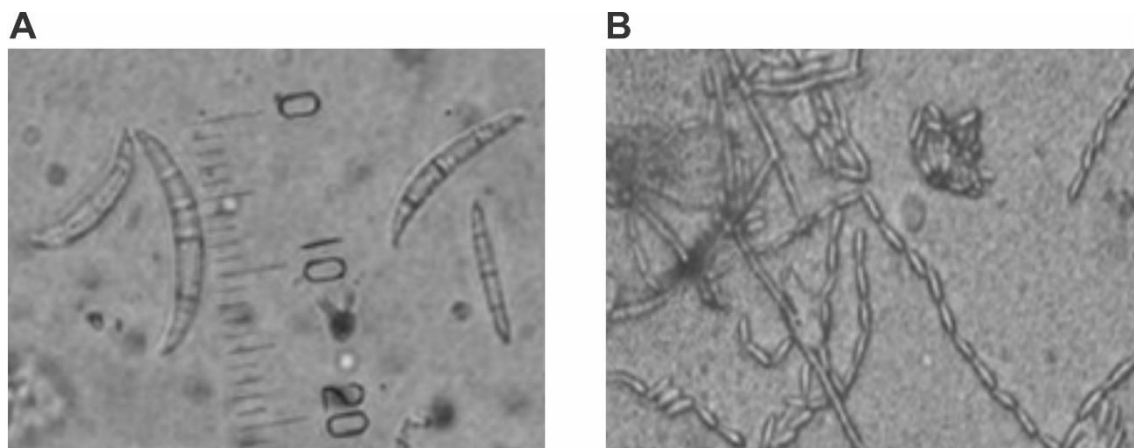


Figura 10 – Microscopia de *Fusarium*. (A) Macroconídios delgados e fortemente curvados em forma de foice e com uma média de três septos; (B) Microconídios em longas cadeias. Fonte: WALKER, et al. (2016).

2.4.1.5 *Mucor* spp.

Pertencente à família *Mucoraceae* e filo *Zygomycota*, o gênero *Mucor* é amplamente distribuído na natureza. Dentre os principais representantes do gênero, destacam-se *M. circinelloides*, *M. indicus*, *M. ramosissimus* e *M. racemosus* (RIBES et al., 2000).

Algumas espécies de *Mucor* já foram encontradas em queijos, como a espécie *M. racemosus* encontrado em queijos Divle Cave. Além disso, este gênero também foi detectado em amostras de queijos produzidos no sul da Itália. Dentre as espécies de maior importância na fabricação de queijos, destaca-se *M. circinelloides* devido à atividade coagulante de sua protease que afeta na qualidade do produto, melhorando o sabor e as propriedades funcionais (SALGADO, et al., 2013).

Apesar de ser um fungo utilizado comercialmente na indústria de alimentos, devido à alta atividade proteolítica e lipolítica de algumas espécies, estes microrganismos são considerados patógenos oportunistas (MA, et al., 2006; HAN, et al., 2001). Porém, a infecção causada pelos mesmos é extremamente rara em hospedeiros saudáveis, sugerindo que a patogenicidade destes fungos está relacionada principalmente a um estado alterado no sistema de defesa do hospedeiro, como em pacientes com leucemia, anemia e diabetes (CHAYAKULKEEREE, GHANNOUM, PERFECT, 2006; RIBEIRO, et al., 2013; VIRALLY, et al., 2002).

Espécies do gênero *Mucor* tem crescimento muito acelerado, inclusive em temperaturas superiores a 37°C. Quanto à morfologia microscópica (Figura 11), são constituídos de hifas cenocíticas de aspecto hialino, largas e irregulares e com ramificações em ângulo próximo de 90°. No ápice dos esporangióforos é possível observar esporângios de formato esférico apresentando em seu interior grande quantidade de esporangiósporos. Quanto ao aspecto macromorfológico, possuem colônias com uma textura “algodonosa” elevada e volumosa, com tonalidade branca ou amarelada nos primeiros dias, tornando-se cinza ou castanha durante o período de maturação dos esporângios (DOMSCH, et al., 1980).

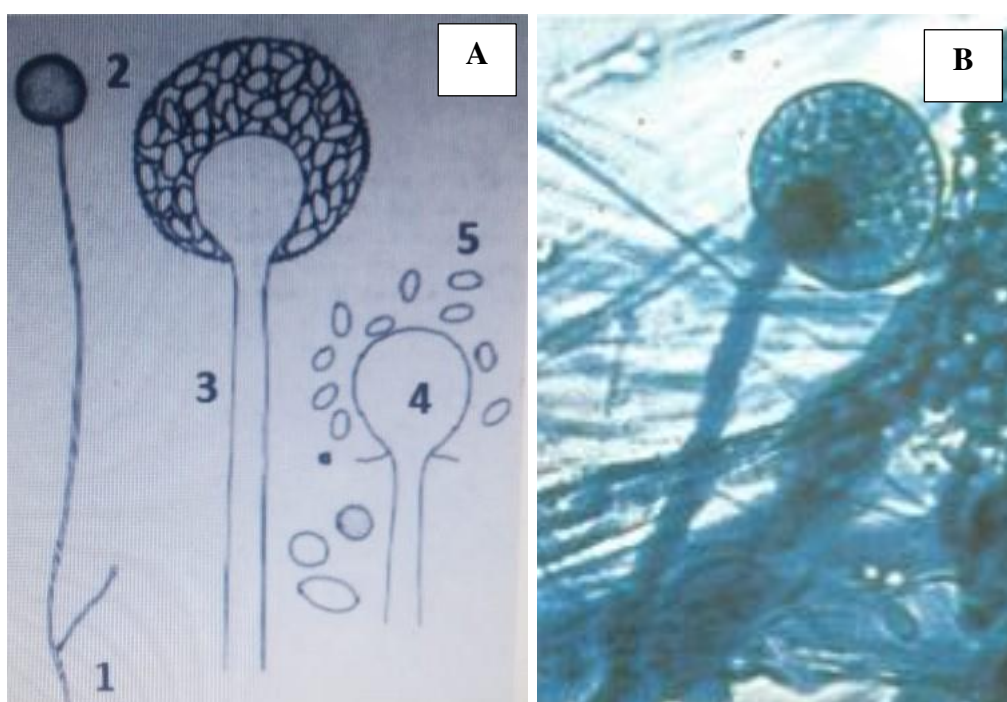


Figura 11 – Estruturas reprodutivas de *Mucor* sp. (A) Hifas cenocíticas (1), Esporângio (2), Esporangióforo (3), Columela (4), Esporangiósporos (5); (B) Microscopia de *Mucor* sp. Fonte: www.mycology.edu.br.

2.4.1.6 *Diaporthe* spp.

O gênero *Diaporthe*, pertencente à família *Diaporthaceae* e ao filo *Ascomycota*, é caracterizado por ser um fungo pleomórfico, isto é, possuir a fase sexuada e fase assexuada (UDAYANGA, et al., 2011; DIOGO, SANTOS, PHILLIPS, 2010). Apesar da presença desse gênero não ter sido relatada em queijos, algumas espécies tem sido descritas como fitopatogênicas, saprofíticas, endofíticas e também como agentes

causadores de doenças em seres humanos (GOMES, et al., 2013; GARCIA-REYNE, et al., 2011).

Este gênero possui um grande potencial para a bioprospecção, como desenvolvimento de novos produtos para a indústria médica e agricultura. Alguns metabólitos secundários produzidos por *Diaporthe* spp. podem apresentar efeitos antibacterianos (SPECIAN, et al., 2015). Quanto às estruturas microscópicas, pode-se observar a presença de conidióforos lisos, hialinos, não ramificados e cilíndricos (figura 12 A). Os conídios apresentam-se hialinos, com formato ovóide à elipsóide (figura 12 B). Quanto ao aspecto macromorfológico, apresenta colônias brancas com bordas acinzentadas (UDAYANGA, et al., 2014).

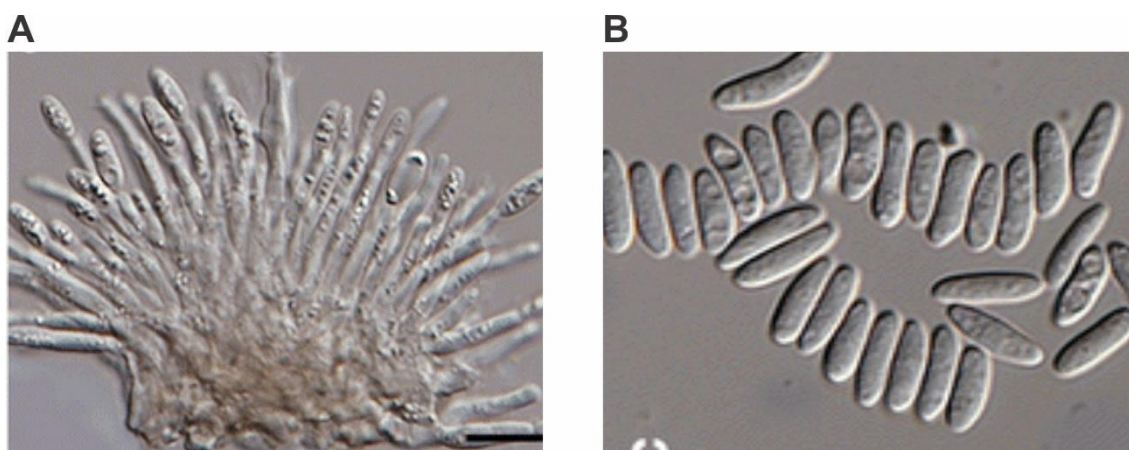


Figura 12 – Estruturas reprodutivas de *Diaporthe* (A) Conidióforos hialino; (B) Conídios em formato ovóide. Fonte: UDAYANGA et al. (2014).

2.4.1.7 *Trichothecium roseum*

Espécies do gênero *Trichothecium* pertencentes ao filo Ascomycota e ordem *Hypocreales* têm sido uma fonte rica de metabólitos secundários, como *T. roseum*, relatado como produtor de pelo menos 29 metabólitos secundários distintos (KWON, et al., 2013). Estudos realizados detectaram sua presença em plantações de tomates e uvas; embora seja considerado um fungo saprofítico e fitopatogênico, este já foi encontrado em queijos maturados em palhas de centeio na França (HAN, et al., 2012; OH, NAM, YOON, 2014).

A estrutura microscópica de *T. roseum* (Figura 13) consiste em conidióforos longos, delgados e septados. Os conídios são hialinos ou de cores vivas, de forma

ovóide ou elipsoide, que se apresentam em cadeias em disposição de ziguezague (OH, et al., 2014).

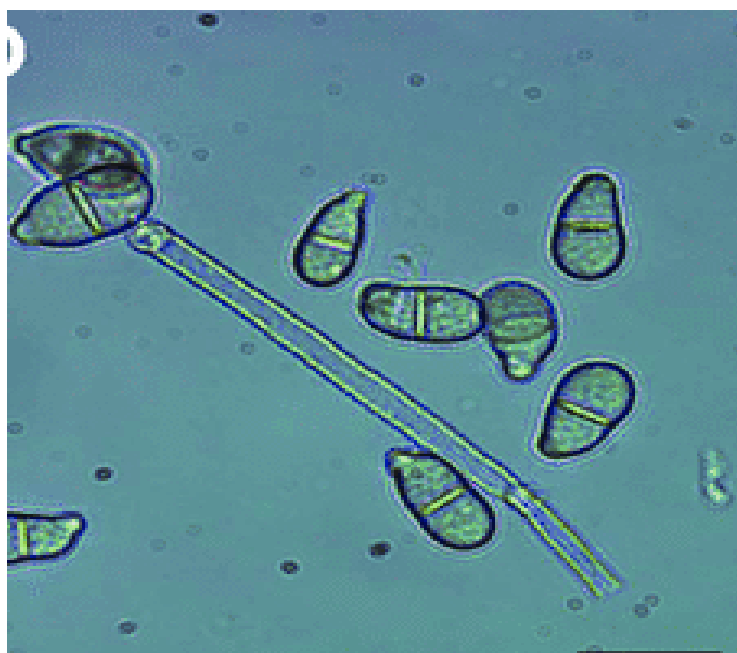


Figura 13 – Estruturas reprodutivas de *T. roseum*. Fonte: HAN et al. (2012).

2.4.1.8 *Debaryomyces hansenii*

Debaryomyces corresponde a um gênero de leveduras que pode ser encontrado no ar, em plantas, no solo e em produtos como leite e derivados. A presença de leveduras em produtos lácteos é relevante para modular a ecologia da casca de alguns tipos de queijos, onde metabolizam principalmente o ácido láctico, permitindo, desta forma, o desenvolvimento de um ecossistema microbiano complexo, composto por vários grupos bacterianos e fungos filamentosos. Na indústria alimentícia, a espécie de maior relevância é *D. hansenii*, por se tratar de uma levedura láctea que possui uma intensa atividade proteolítica, apresentando tolerância a baixas temperaturas e a altas concentrações de sal (BAUR, et al., 2015; SUZUKI, et al., 2011).

Debaryomyces hansenii também tem sido relatado como produtor de proteínas killer (toxinas) que atuam especificamente nos componentes da parede celular de células fúngicas, podendo ser utilizada para o controle de perdas pós-colheita acarretadas por fungos (HASHEM e ALAMRI,2009; DAL BELLO, et al., 2008). Dessa

maneira, consiste em um agente biológico que auxilia na redução do uso de compostos químicos, que além de serem fitotóxicos podem causar danos à saúde humana (ÇORBACI e UÇAR, 2017).

2.4.1.9 *Moniliella casei*

Pertencentes ao filo Basidiomycota, as leveduras negras estão reunidas no gênero *Moniliella*. Algumas espécies são utilizadas na indústria devido à sua capacidade de fermentação e de degradação de lipídeos; porém, existem relatos de espécies relacionadas a casos de micoses cutâneas e sistêmicas. Morfologicamente, os membros do gênero podem ser reconhecidos pela formação de colônias negras acinzentadas a oliváceas e reprodução assexuada por brotamento multilateral e pela formação de hifas e artroconídios (THANH, et al., 2012; DE HOOG e GUÉHO, 1984).

Dentre as espécies que já foram isoladas de queijos, destaca-se *Moniliella casei*, que quando cultivada em caldo YM a 25° C apresenta células ovóides, alongadas e cilíndricas (Figura 14). São capazes de crescer em substratos contendo 60% de glicose ou 10% de NaCl e 5% de glicose. Crescem a 35° C, porém não suportam temperaturas mais elevadas (THAN, et al., 2018).

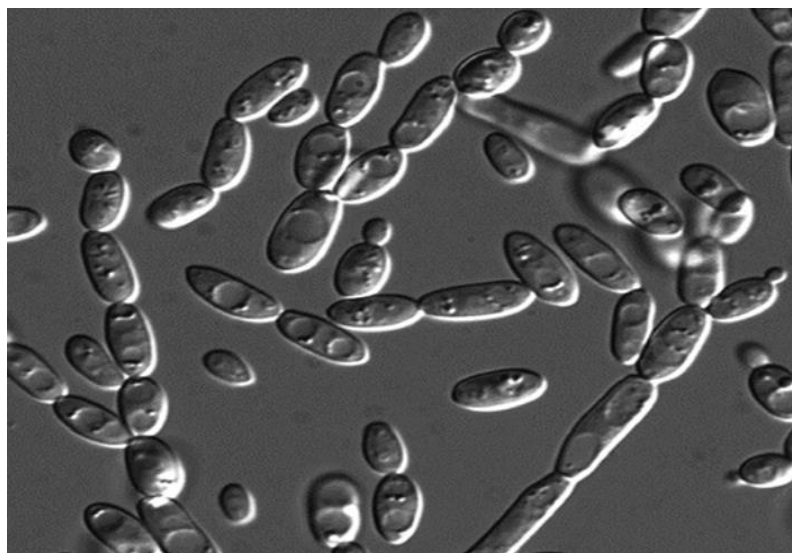


Figura 14 – *Moniliella casei* cultivadas em caldo YM a 25°C. Fonte: THAN et al. (2018).

2.4.1.10 *Kodamaea ohmeri*

Pertencentes ao filo *Ascomycota* e classe *Saccharomycetes*, as espécies que compreendem o gênero *Kodamaea* são representadas principalmente por *K. anthropila*, *K. kakaduensis*, *K. laetipori*, *K. nitidulidarum* e *K. ohmeri* (SUNDARAM, et al., 2011). Dentre essas, a *K. ohmeri* é a de maior importância, devido sua utilização na indústria alimentícia para a fermentação de vegetais. Em contrapartida, trata-se de uma levedura que é considerada patogênica para pacientes imunocomprometidos, embora haja divergências em relação à sua capacidade de causar infecções invasivas em seres humanos (LEE, et al., 2007; PUERTO, et al., 2002; CHOY, et al., 2000; YAMADA, et al., 1995).

Macroscopicamente, pode apresentar uma textura lisa a pregueada e a cor poder ser branca, creme ou marrom clara. Microscopicamente, podem ser observadas estruturas de reprodução sexuada, denominadas de ascos, os quais podem conter de 4 a 8 ascósporos. Variações na morfologia da colônia fazem com que *Kodamaea sp.* sejam frequentemente confundidas com *Cryptococcus* ou *Candida* (SUNDARAM e BIJULAL, 2011).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Caracterizar a microbiota de fungos filamentosos de QMA produzidos em nove municípios produtores que caracterizam a região da Canastra.

3.2 Objetivos Específicos

- Isolar e caracterizar os fungos filamentosos naturalmente presentes em QMA produzidos na região da Canastra;
- Isolar e caracterizar os fungos filamentosos presentes no ambiente de produção dos queijos da região da Canastra;
- Estabelecer um banco de culturas fúngicas típicas de QMA produzidos na região da Canastra para estudos posteriores.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Laboratório de Genética Molecular de Fungos (UFV) e Laboratório de Associações Micorrízicas (UFV).

4.1 Delineamento experimental

Os queijos foram coletados nos nove municípios que compõem a região da Canastra, nos meses de novembro de 2018 e janeiro de 2019. Dentre as 16 propriedades produtoras visitadas, foram coletados 3 queijos de cada. Para a coleta das amostras de paredes e prateleiras das salas de maturação, foram escolhidas 10 regiões distintas aleatórias e amostradas com o auxílio de um suabe, em áreas delimitadas por moldes (10 x 5 cm), totalizando-se 500 cm². Para a obtenção das amostras provenientes do ar interno das câmaras foram utilizadas 3 placas por propriedade (Figura 15). Todas as amostras coletadas foram devidamente identificadas e mantidas em caixa térmica até o momento das análises.

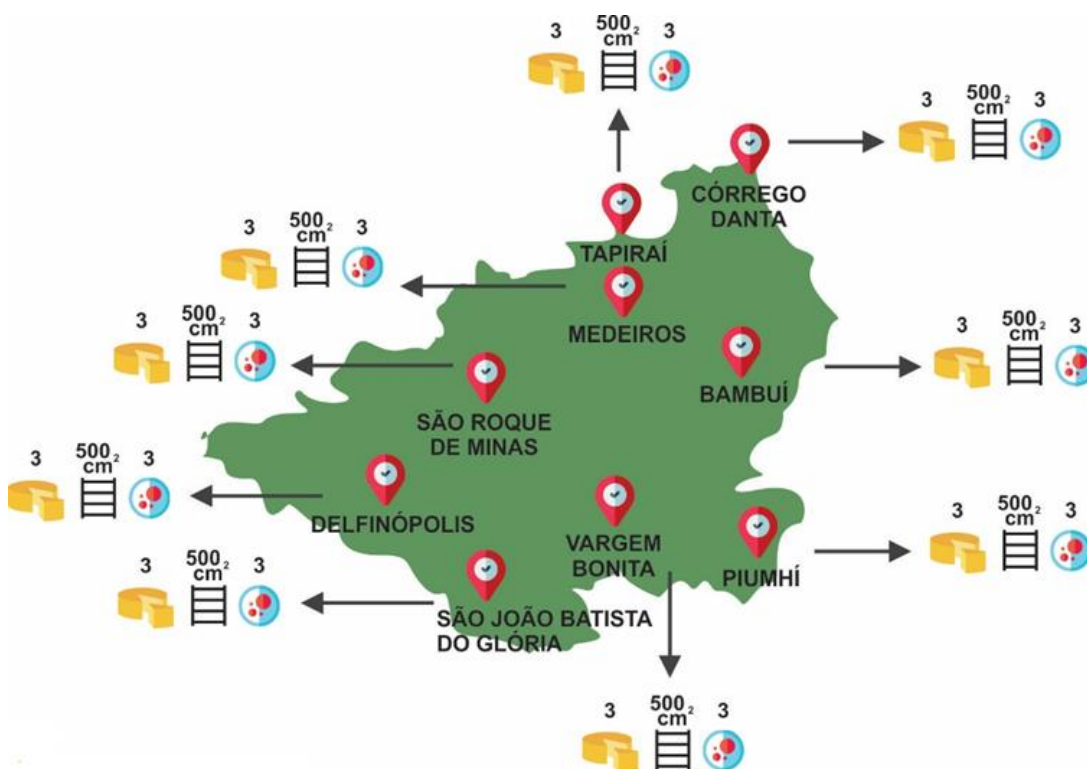


Figura 15 – Delineamento experimental das coletas na região da Canastra.

4.2 Amostras das câmaras de maturação

As amostras das câmaras de maturação foram coletadas conforme descrito no item 4.1. Após a coleta, os suabes foram transferidos para tubos contendo 10 mL de água salina 0,85%, de onde foram realizadas 5 diluições seriadas. Posteriormente, foram pipetados 100 µL das três últimas diluições e transferidos para placas contendo Ágar Extrato de Malte (MEA), no qual as amostras foram espalhadas na superfície utilizando a técnica de *spread plate*. As placas foram incubadas a 25° C durante 7 dias (PINTO, et al., 2007).

Para a amostragem dos fungos anemófilos, foi utilizada a técnica de sedimentação espontânea. Placas de Petri contendo Ágar Batata Dextrose acidificado com ácido tartárico (BDA; pH= 3,5) foram expostas ao ambiente da câmara de maturação por 15 minutos. Posteriormente, as placas foram incubadas a 25°C durante 7 dias (PINTO, et al., 2007).

As colônias obtidas foram repicadas para placas contendo MEA para a obtenção da cultura pura. Antes do plaqueamento, o meio fundido e previamente resfriado foi acrescido de 10 mL de solução alcóolica de cloranfenicol (preparada a partir de 2 g de cloranfenicol diluídos em 200 mL de álcool 95% e esterilizados em aparato de filtração utilizando-se membranas de 0,45 µm de porosidade) (Micropore, São Paulo, Brasil).

4.3 Isolamento dos fungos do Queijo Minas Artesanal (QMA)

Para o isolamento dos fungos a partir dos queijos, foram utilizadas duas técnicas: a técnica do suabe e o isolamento direto. Na primeira, a coleta do material utilizando-se suabe foi realizada em toda a superfície do queijo. O suabe foi, então, transferido para tubos contendo 10 mL de água salina 0,85%, de onde foram realizadas 5 diluições seriadas. Posteriormente, foram pipetados 100 µL das três últimas diluições e transferidos para placas de MEA, no qual as amostras foram espalhadas na superfície do meio utilizando a técnica de *spread plate*. As placas foram incubadas a 25° C durante 7 dias.

No isolamento direto, pequenos fragmentos dos queijos foram selecionados a partir de regiões com colorações diferenciadas. Posteriormente, com o auxílio de uma lupa, foi observado se os fragmentos escolhidos apresentavam estruturas vegetativas ou reprodutivas dos fungos. As respectivas estruturas foram transferidas com o auxílio de

uma alça de repicagem estéril para placas contendo MEA. A partir de cada fragmento de queijo, três repiques foram feitos em meio MEA em pontos equidistantes da placa. As placas foram incubadas a 25° C durante 7 dias. As colônias obtidas utilizando as técnicas (suabe e isolamento direto) foram repicadas para o meio MEA para a obtenção de culturas puras.

4.4 Manutenção dos isolados

Após a obtenção das culturas puras em meio MEA, os isolados obtidos das câmaras de maturação, bem como dos queijos, foram repicados de placas para tubos, no intuito de construir um banco de culturas fúngicas típicas associadas ao QMA da região da Canastra, que foram mantidas sob refrigeração. Os fungos foram repicados periodicamente para evitar o ressecamento.

4.5 Extração de DNA total das amostras dos queijos

No intuito de identificar os isolados obtidos a partir das técnicas do suabe e isolamento direto, foi realizada a raspagem do micélio dos mesmos para extração do DNA. Foi utilizado o kit comercial NucleoSpin® Soil (Macherey Nagel, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante. As amostras foram quantificadas em *nanodrop* (Thermo Scientific NanoDrop, USA), no intuito de verificar a concentração de DNA (ng/ μ L) por amostra, além de se obter a concentração de pureza e de sais, obtidas a partir das razões A260/A280 e A260/A230, respectivamente.

4.6 Identificação molecular

Para a realização da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), foram utilizados 10 μ L do tampão Green Flexi, 4 μ L de cloreto de magnésio ($MgCl_2$), 2 μ L de dNTPs, 2 μ L do primer ITS 1, 2 μ L ITS 4, 0,25 μ L de taq. polimerase, 28,75 μ L de água ultrapura e 1 μ L da amostra de DNA. A região foi amplificada utilizando os primers ITS1 e ITS4 (Figura 16) (Tabela 1).

A amplificação foi realizada utilizando o termociclador (BioRad, Estados Unidos). As condições da PCR foram: 95°C (2 min/1 ciclo); 95° C, 50 ° C, 72° C (1min/39 ciclos); e 72°C (10 min/1 ciclo).

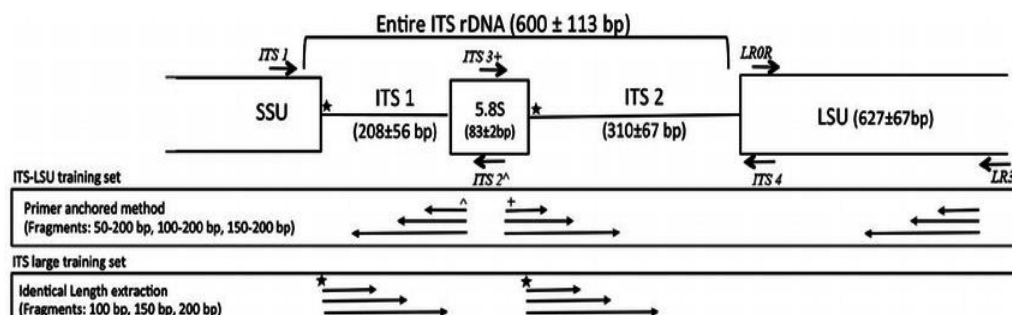


Figura 16 – Região do rDNA com o espaço interno transcrito. Fonte: LUPATINI, et al. (2008).

Tabela 1 – Primers utilizados no PCR (Reação em cadeia da polimerase)

Região	ITS 1 (Forward)	ITS 4 (Reverse)
Primers	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC- 3'

4.6.1 Eletroforese

Alíquotas de DNA foram analisadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% em tampão TBE. A eletroforese foi realizada em cubas contendo solução TBE 1x como tampão de corrida, por 30 minutos sob tensão elétrica de 70V. O gel foi corado utilizando 2 µL de brometo de etídio para 100 mL do gel, visualizadas em um transluminador UV da marca L- PIX CHEMI. As imagens dos géis foram digitalizadas em uma câmera digital e transferidas para o computador para análise.

Alíquotas de produtos de PCR foram analisadas por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão TBE. A eletroforese foi realizada em cubas contendo solução TBE 1x como tampão de corrida, por 30 minutos sob tensão elétrica de 100V. O gel foi corado utilizando-se 6 µL de brometo de etídio para 300 mL do gel, visualizadas em um transluminador UV L-PIX CHEMI (Loccus, Brasil). As imagens dos géis foram digitalizadas em uma câmera digital e transferidas para o computador para análise.

4.6.2 Análise de sequências

As amostras de PCR dos isolados foram enviadas para sequenciamento utilizando o método de Sanger. Para verificação das sequências, utilizou-se o programa MEGA 7.0; em seguida, o programa BLASTn foi usado para comparar sequências resultantes com aquelas mantidas no banco de dados.

4.7 Identificação dos gêneros fúngicos dos isolados do ambiente

Para a identificação dos fungos encontrados no ambiente, foram confeccionadas lâminas a partir de fragmentos coletados, sobre as quais foi acrescentada uma gota de lactoglicerol, preparado na proporção 2:2:1 (água, glicerol e ácido lático, respectivamente). A observação do talo fúngico foi realizada com o auxílio de uma lupa e fragmentos contendo estruturas vegetativas e reprodutivas do fungo a ser identificado foram removidas com o auxílio de uma alça de repicagem e posteriormente transferidos sobre a gota de lactoglicerol. Em seguida, a lâmina foi coberta por uma lamínula e observada no microscópio óptico utilizando a objetiva de 40X. A identificação foi realizada a partir da observação das estruturas reprodutivas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Coleta dos queijos

Durante a coleta dos queijos, dados como as coordenadas geográficas, altitude, data e horário das coletas, foram obtidos por meio do GPS (modelo Etrex Garmin-12 Channel GPS) (Figura 17), bem como informações relacionadas à produção dos queijos de cada propriedade (Tabela 2).

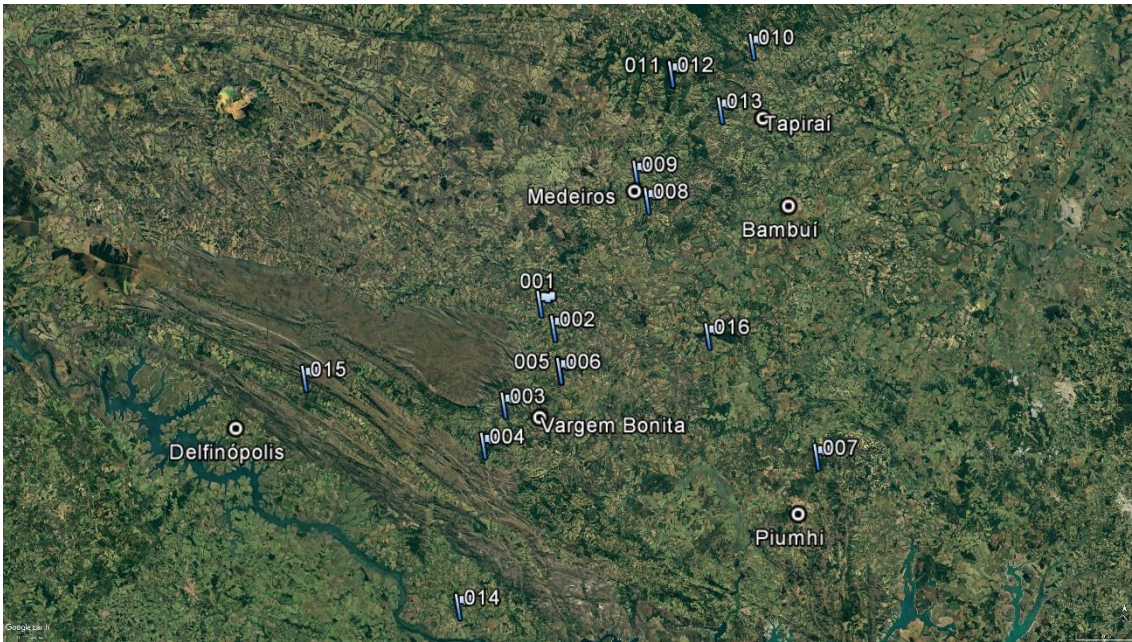


Figura 17 – Mapa com pontos de coleta na região da Canastra, Minas Gerais

Foram feitos registros fotográficos para posterior catalogação, onde é possível serem observadas as principais características de coloração dos queijos, resultados do crescimento dos fungos filamentosos na casca (Figuras 18 e 19).

Tabela 2 – Informações sobre as coletas.

Propriedade	Município	Coordenadas	Altitude	Cadastro IMA?	Características dos fungos nos queijos	Data e horário da coleta
1	São Roque de Minas	S20 11 09.1 W46 21	716 m	Sim	Colônias brancas e coloridas	18/11/18 às 9:15 h
2	São Roque de Minas	S20 13 18.7 W46 20	826 m	Sim	Apenas colônias brancas	18/11/18 às 11:23h
3	Vargem Bonita	S20 20 05.3 W46 25	814 m	Não	Apenas colônias brancas	18/11/18 às 15:16h
4	Vargem Bonita	S20 23 36.6 W46 26	1136 m	Não	Apenas colônias brancas	18/11/18 às 17:07h
5	São Roque de Minas	S20 17 02.9 W46 19	864 m	Não	Colônias diversas colorações	19/11/18 às 11:16h
6	São Roque de Minas	S20 17 02.9 W46 19	870 m	Sim	Colônias brancas e amarelas	19/11/18 às 13:00h
7	Piumhi	S20 24 36.6 W45 55	784 m	Não	Colônias brancas e amarelas	19/11/18 às 17:28h
8	Medeiros	S20 02 03.9 W46 11	824 m	Sim	Colônias brancas, amarelas, cinzas e eventual presença de leveduras alaranjadas e verdes	20/11/18 às 9:47h
9	Medeiros	S19 59 41.3 W46 12	840 m	Sim	Colônias brancas, amarelas e avermelhadas	20/11/18 às 11:09h
10	Córrego D'Anta	S19 48 26.5 W46 01	713 m	Não	Não há colônias	21/11/18 às 8:30h
11	Tapiraí	S19 50 56.7 W46 09	950 m	Sim	Colônias brancas, verdes, pretas, amarelas e avermelhadas	21/11/18 às 11:10h
12	Medeiros	S19 50 56.8 W46 09	1131 m	Sim	Não há colônias	21/11/18 às 14:01h
13	Tapiraí	S19 54 04.8 W46 04	724 m	Sim	Colônias brancas	21/11/18 às 16:07h
14	Bambuí	S20 37 50.9 W46 29	741 m	Sim	Colônias brancas e amarelas	10/01/19 às 12:04h
15	São João Batista do Glória	S20 17 42.2 W46 43	797 m	Em andamento	Colônias brancas	11/01/19 às 10:49h
16	Delfinópolis	S20 13 59.0 W46 05	808 m	Sim	Colônias brancas	12/01/19 às 10:34h

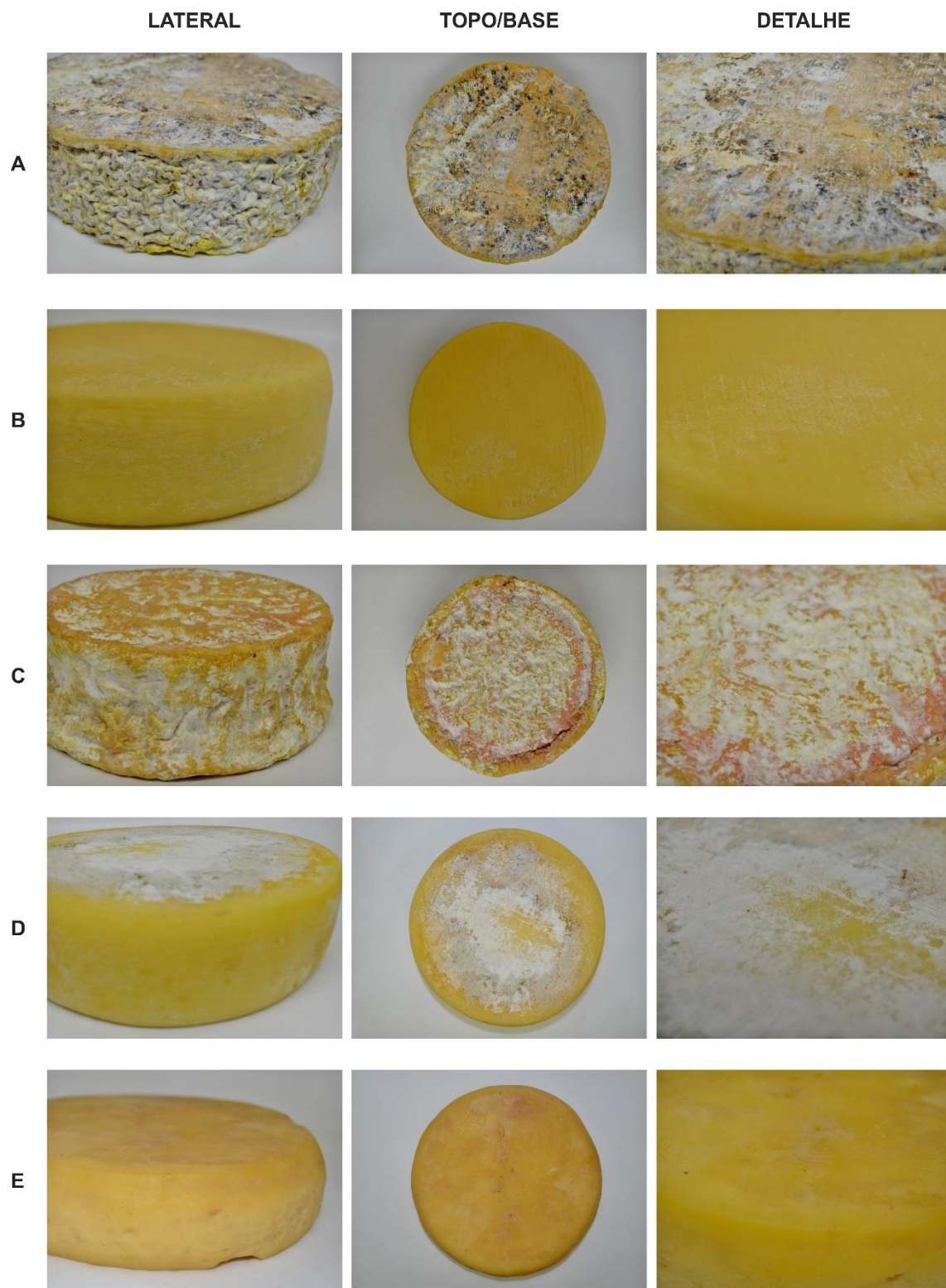


Figura 18 – QMA produzidos em diferentes municípios da Serra da Canastra. (A) São Roque de Minas; (B) Vargem Bonita; (C) Piumhi; (D) Medeiros; (E) Córrego D’Anta.

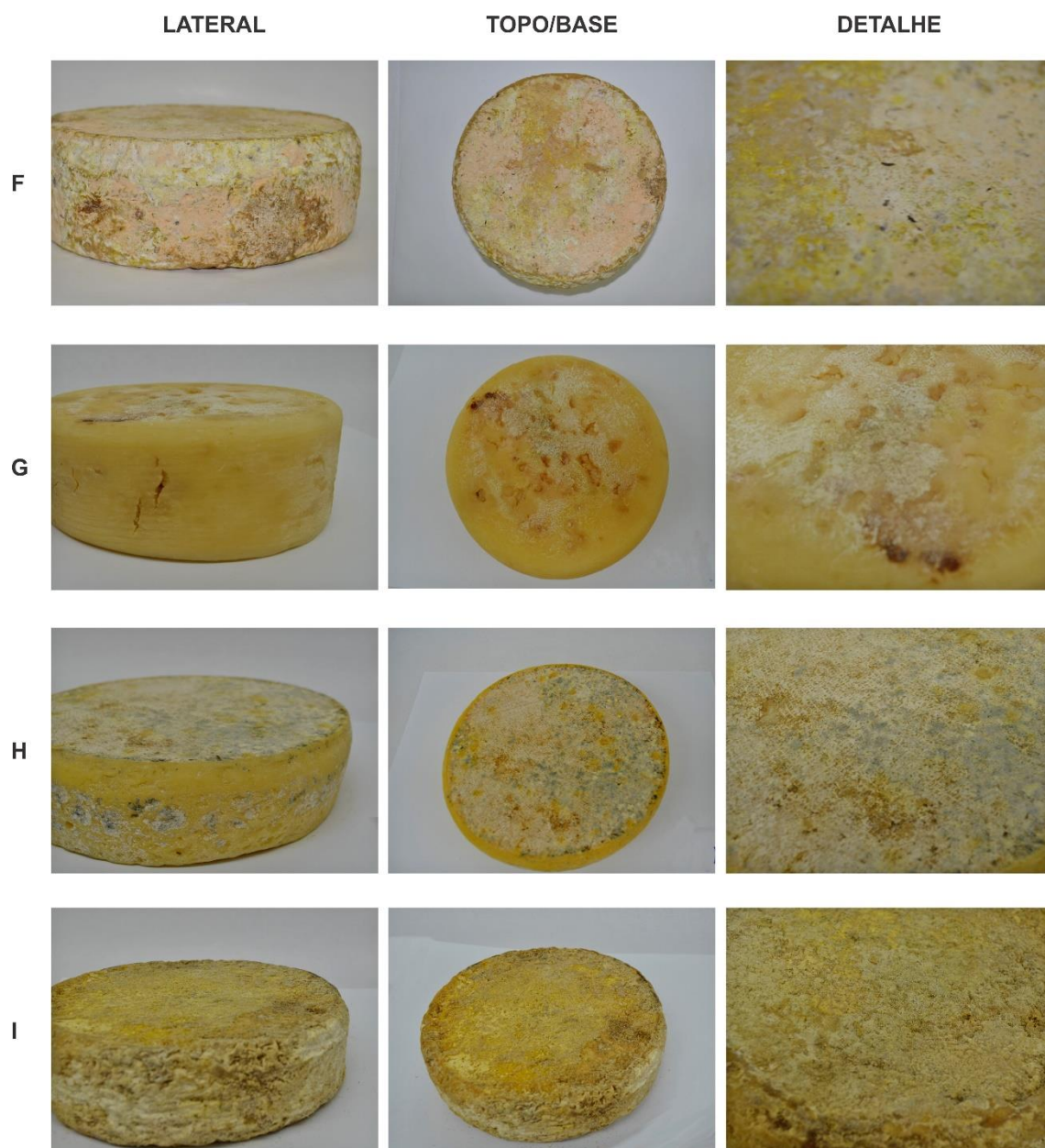


Figura 19 – QMA produzidos em diferentes municípios da Serra da Canastra. (F) Tapiraí; (G) Bambuí; (H) São João Batista do Glória; (I) Delfinópolis.

5.2 Identificação molecular dos isolados dos Queijos

O registro fotográfico dos produtos de amplificação obtidos pode ser visualizado na Figura 20.

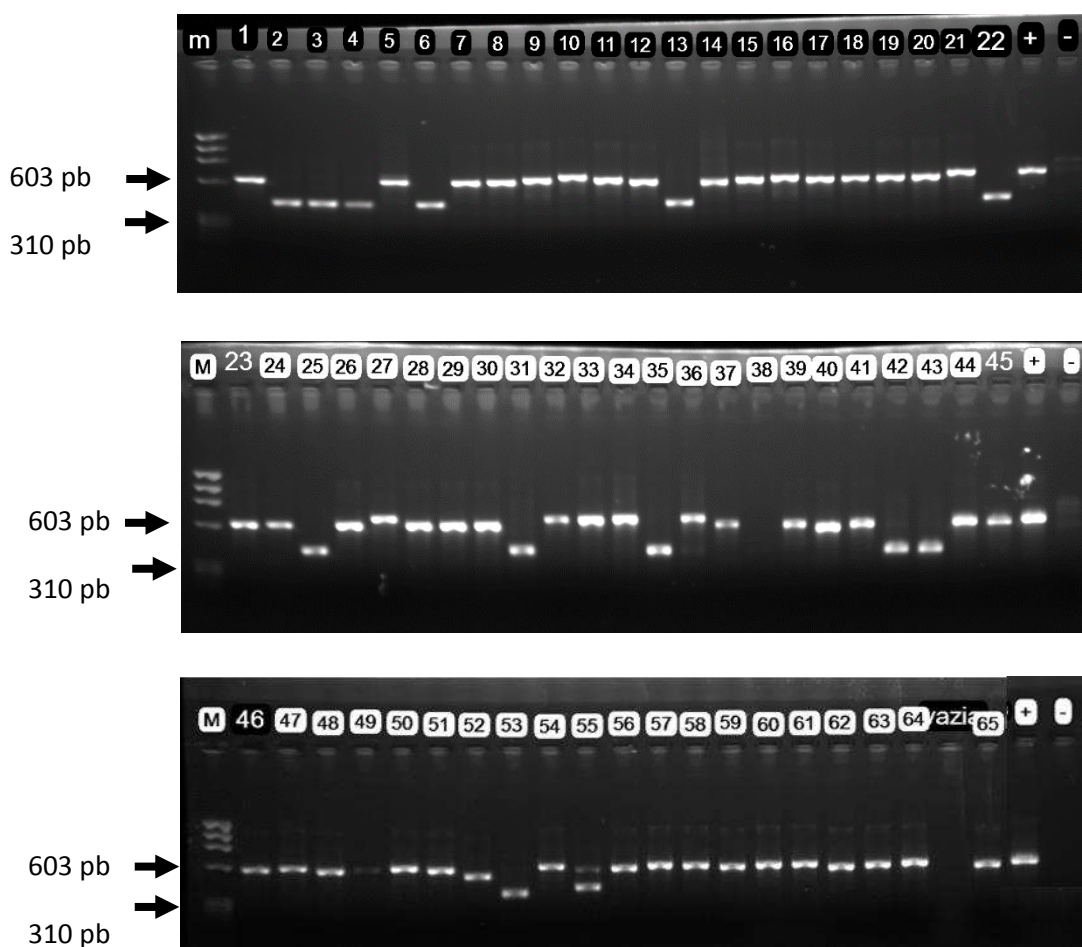


Figura 20 – Produtos de amplificação por PCR dos isolados fúngicos

Os isolados *Geotrichum candidum* e *Kodamaea ohmeri* apresentaram o tamanho de DNA variando entre 310 e 603 pb. Uma das amostras de *G. candidum* apresentou tamanho de 603 pb; essa variação no tamanho do fragmento de um mesmo microrganismo se deve provavelmente a deleções e inserções, fenômenos que podem ocorrer naturalmente no genoma.

Após a realização do sequenciamento utilizando os primers ITS1 e ITS4 (Tabela 3), as sequências foram comparadas no NCBI (banco de dados) utilizando a ferramenta mega BLAST para a identificação das possíveis espécies dos gêneros encontrados. Deve-se ressaltar, entretanto, que apesar de serem indicadas, técnicas moleculares visando à detecção de outras regiões do genoma se fazem necessárias para identificação fidedigna a nível de espécie.

Tabela 3 – Isolados do QMA obtidos da região da Serra da Canastra

Município	Propriedade	Gênero	Provável espécie
São Roque de Minas	1	<i>Geotrichum</i>	<i>G. candidum</i>
	2	<i>Debaryomyces</i>	<i>D. hansenii</i>
		<i>Geotrichum</i> <i>Fusarium</i>	<i>G. candidum</i> <i>F. solani</i>
	5	<i>Aspergillus</i> <i>Fusarium</i> <i>Trichothecium</i>	<i>A. versicolor</i> <i>F. solani</i> <i>T. roseum</i>
6	<i>Geotrichum</i> <i>Fusarium</i>	<i>G. candidum</i> <i>F. solani</i>	
Vargem Bonita	3	<i>Aspergillus</i> <i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	<i>A. versicolor</i> <i>A. westerdijkiae</i> <i>P. steckii</i>
	4	<i>Fusarium</i> <i>Fusarium</i> <i>Penicillium</i> <i>Diaporthe</i>	<i>F. oxysporum</i> <i>F. solani</i> <i>P. steckii</i> <i>Diaporthe sp.</i>
Piumhí	7	<i>Aspergillus</i> <i>Fusarium</i> <i>Fusarium</i>	<i>A. versicolor</i> <i>F. solani</i> <i>F. lichenicola</i>
Medeiros	8	<i>Mucor</i> <i>Mucor</i> <i>Geotrichum</i>	<i>M. circinelloides</i> <i>Mucor sp.</i> <i>G. candidum</i>
	9	<i>Fusarium</i>	<i>F. solani</i>
	12	<i>Penicillium</i>	<i>P. steckii</i>
Córrego D'Anta	10	<i>Fusarium</i>	<i>F. oxysporum</i>
Tapiraí	11	<i>Aspergillus</i> <i>Aspergillus</i>	<i>A. versicolor</i> <i>westerdijkiae</i>
	13	<i>Fusarium</i>	<i>F. solani</i>
Bambuí	14	<i>Aspergillus</i> <i>Aspergillus</i> <i>Fusarium</i> <i>Geotrichum</i> <i>Moniliella</i>	<i>A. versicolor</i> <i>A. westerdijkiae</i> <i>F. solani</i> <i>G. candidum</i> <i>Moniliella sp.</i>
São João Batista do Glória	15	<i>Aspergillus</i> <i>Aspergillus</i> <i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Fusarium</i> <i>Kodamaea</i>	<i>A. nomius</i> <i>A. versicolor</i> <i>A. westerdijkiae</i> <i>P. steckii</i> <i>F. solani</i> <i>K. ohmeri</i>
Delfinópolis	16	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Fusarium</i>	<i>A. westerdijkiae</i> <i>P. citrinum</i> <i>F. solani</i>

O número de isolados obtidos do QMA, prateleiras, paredes e ar por propriedade podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 – Número de isolados obtidos por propriedade

Propriedade	Fonte de isolamento				Isolados por propriedade
	QMA	Prateleira	Parede	Ar	
1	4	1	2	16	23
2	3	-	1	13	17
3	3	-	-	6	9
4	4	-	-	15	19
5	4	-	2	6	12
6	4	-	-	4	8
7	4	1	1	11	17
8	5	-	1	6	12
9	1	-	-	7	8
10	1	-	-	4	5
11	4	-	1	8	13
12	1	1	-	8	10
13	1	-	1	7	9
14	5	1	3	11	20
15	6	3	-	6	15
16	5	1	-	6	12
Total	55	8	12	134	209

Dentre todos os isolados obtidos a partir de QMA (n=55), a espécie mais identificada foi *Fusarium solani* (21,8%), seguida de *Geotrichum candidum* (16,4%), *Aspergillus versicolor* (16,4%), *Aspergillus westerdijkiae* (11%), *Penicillium steckii* (7,3%), *Mucor circinelloides* (3,6%), *Mucor* (3,6%), *Penicillium citrinum* (3,6%), *Fusarium oxysporum* (3,6%), *Fusarium lichenicola* (1,81%), *Aspergillus nomius* (1,81%), *Diaporthe infecunda* (1,81%), *Trichothecium roseum* (1,81%), *Debaryomyces hansenii* (1,82%), *Kodamaea ohmeri* (1,82%) e *Moniliella* (1,82%) (Figura 21).

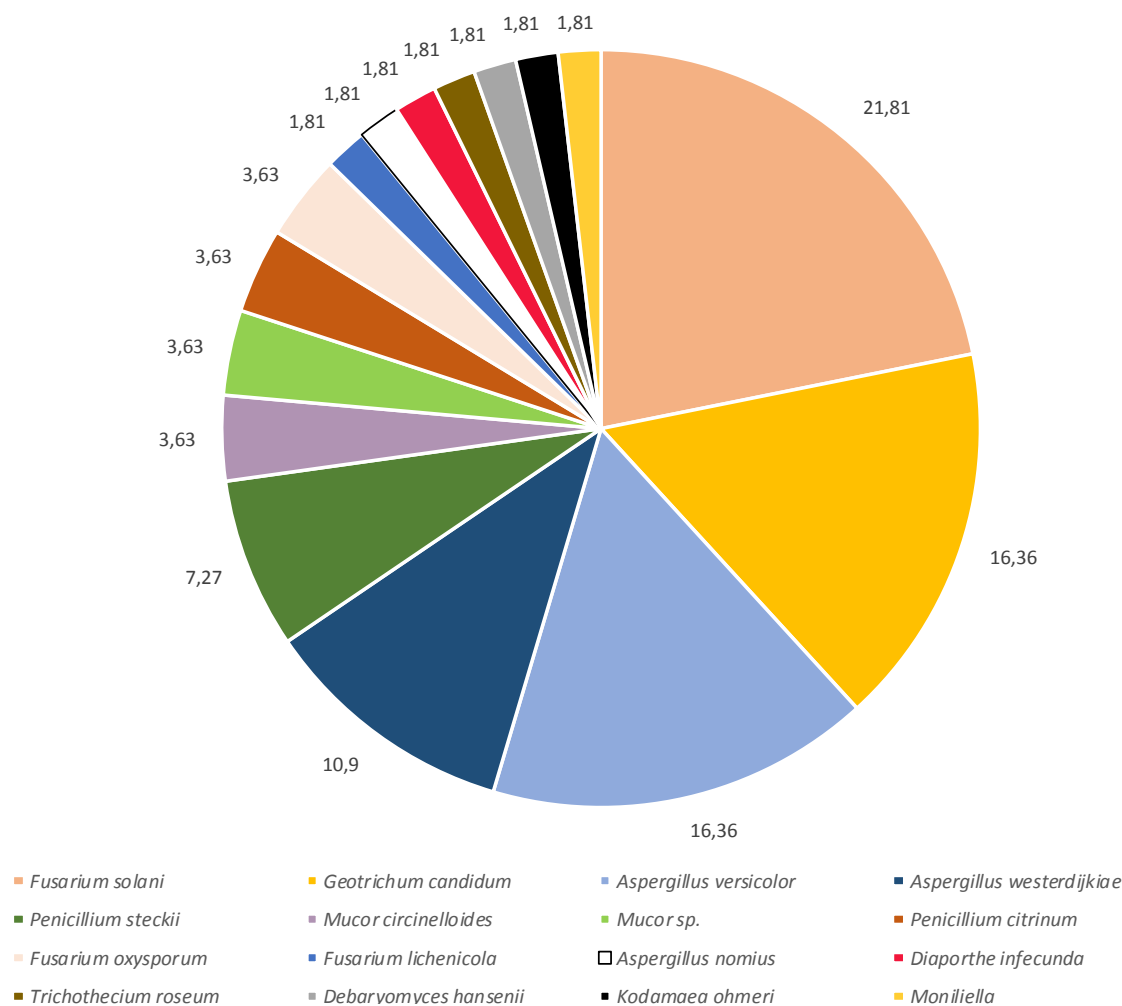


Figura 21 – Percentual dos isolados (n=55) de QMA da Serra da Canastra

Em relação à porcentagem de isolados para cada um dos nove municípios, São Roque de Minas apresentou o maior número (27,2%), conforme o esperado, uma vez que nesse município há o maior número de produtores e que comercializam seus queijos colonizados superficialmente com fungos, sem retirá-los através da lavagem da casca. Em segundo lugar aparece Vargem Bonita (12,7%), seguida de Medeiros (12,7%), São João Batista do Glória (10,9%), Tapiraí (9,1%), Bambuí (9,1%), Delfinópolis (9,1%), Piumhi (7,3%) e Córrego D'Anta (1,9%) (Figura 22).

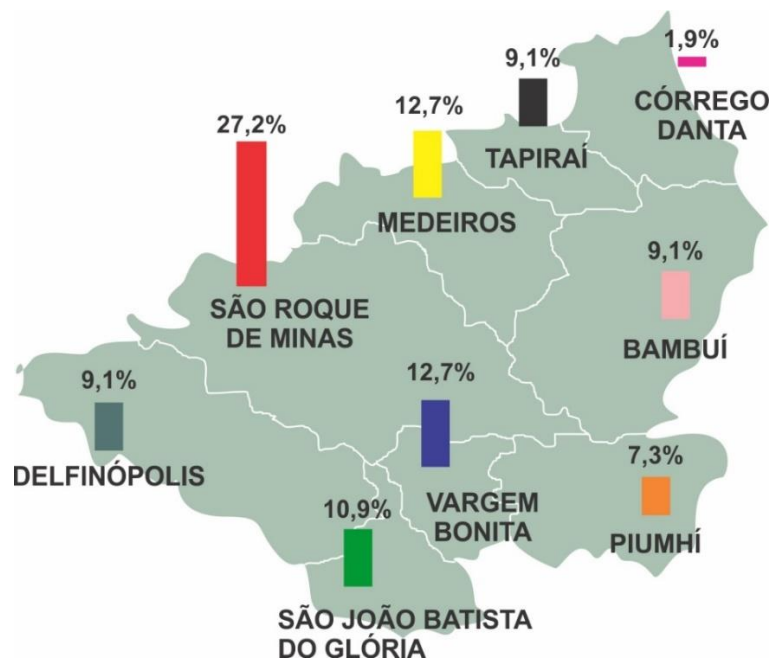


Figura 22 – Percentual de isolados dos queijos por município da região da Canastra.

Os dados acerca dos isolados obtidos dos queijos, considerando-se o total de isoladas para cada um dos municípios que compõem a Serra da Canastra, estão apresentados na Figura 23. Em São Roque de Minas foram obtidos 15 isolados (n=15), com predomínio de *Geotrichum candidum* (7/15), seguido de *Fusarium solani* (5/15); *Aspergillus versicolor* (2/15), *Debaryomyces hansenii* (1/5) e *Trichothecium roseum* (1/15) (Figura 25). Essas duas últimas espécies foram isoladas apenas nesse município. Em Vargem Bonita (n=7), *Penicillium steckii* foi a espécie predominante (2/7), seguido de *Aspergillus* spp. (2/7) e *Fusarium* spp. (2/7). Destaca-se a identificação de *Diaporthe infecunda* (1/7), fungo isolado apenas nesse município. No município de Piunhí (n=4), *Fusarium* foi o gênero predominante (3/4), seguido de *Aspergillus* (1/4). No município de Medeiros (n=7), *Mucor* spp. corresponderam às espécies com maior número de isolados (4/7), seguido de *Fusarium solani* (1/7), *Penicillium steckii* (1/7) e *Geotrichum candidum* (1/7). Em Tapiraí (n=5), *Aspergillus* foi identificado como o gênero em 80% dos isolados (4/5), seguido de *Fusarium* (1/5). Em Bambuí (n=5), foram identificadas espécies de *Aspergillus* (2/5), *Fusarium* (1/5) e *Geotrichum* (1/5), bem como *Moniliella* (1/5), gênero identificado apenas nos queijos desse município. Em São João Batista do Glória (n=6), *Aspergillus* correspondeu ao gênero mais identificado dentre os isolados (3/6), seguido de *Fusarium* (1/6), *Penicillium* (1/6) e *Kodamaea* (1/6). *K. ohmeri* foi identificado apenas no referido município. Em Delfinópolis (n=5), foram identificados

como *Aspergillus westerdijkiae* 40% dos isolados (2/5), bem como *Penicillium citrinum* (2/5); *Fusarium solani* correspondeu a 20% dos isolados obtidos dos queijos (1/5). Por fim, em Córrego D'Anta apenas 1 isolado foi obtido a partir dos queijos, identificado como *Fusarium oxysporum*. Os demais isolados, por corresponderem a leveduras, não foram identificados a nível molecular.

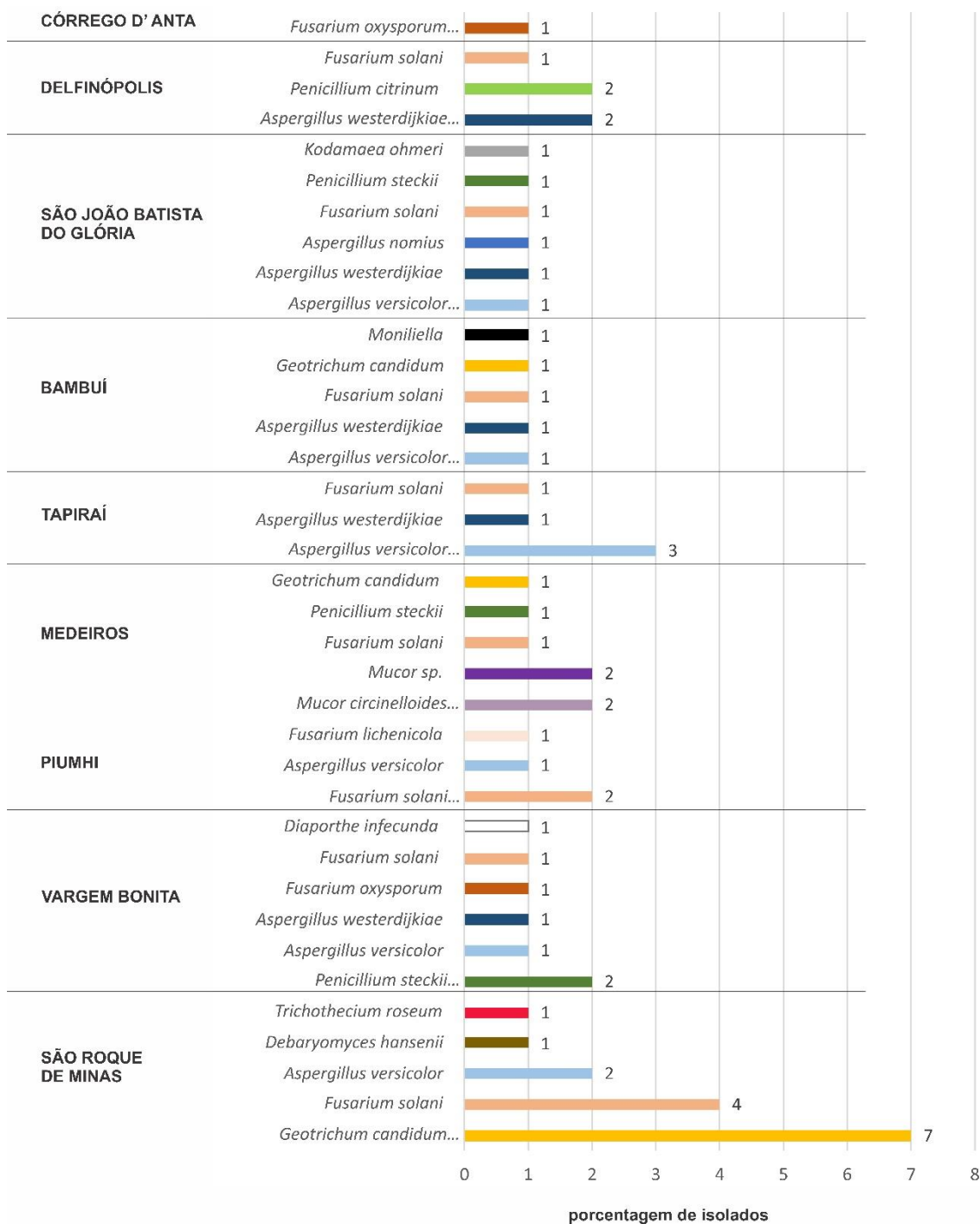


Figura 23 – Número de isolados fúngicos do QMA considerando-se os 9 municípios que constituem a Serra da Canastra.

5.3 Identificação dos isolados do ambiente

Após a identificação microscópica de 134 fungos anemófilos a nível de gênero, foi observado que os que apresentaram predominância nos municípios foram: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Geotrichum* e *Cladosporium* (Figuras 24 e 25). Porém, deve-se destacar que para grande parte dos isolados, não foi possível realizar a identificação a nível de gênero, uma vez que não apresentava estruturas reprodutivas, o que resultou em sua classificação como *Mycelia sterilia* (MS). A identificação desses isolados só seria possível mediante sequenciamento.

Em amostras de São Roque de Minas (SRM) foram obtidos 39 isolados, dos quais *Mycelia sterilia* representou a maior parte (29/39), seguido de *Aspergillus* (6/39), *Cladosporium* (2/39); *Penicillium* (1/39) e *Geotrichum* (1/39) (Figura 24). Em amostras de Vargem Bonita (VB) foram obtidos 21 isolados, identificados como *Mycelia sterilia* (18/21), *Penicillium* (2/21) e *Cladosporium* (1/21). Em Piumhi foram obtidos 11 isolados, dos quais observou-se que *Mycelia sterilia* foi predominante (8/11); seguido de *Aspergillus* (2/11) e *Geotrichum* (1/11). Em amostras de Medeiros foram obtidos 21 isolados e em Delfinópolis, 6 isolados; em ambos os casos, todos os isolados foram identificados como *Mycelia sterilia* (100%). Em Bambuí foram obtidas 11 isolados, identificados como *Mycelia sterilia* (7/11) e *Aspergillus* (4/11). Em amostras de São João Batista do Glória, foram obtidos 6 isolados, correspondentes a *Mycelia sterilia* (3/6), *Aspergillus* (1/6), *Penicillium* (1/6), *Cladosporium* (1/6). Em amostras de Tapiraí foram obtidos 15 isolados, identificados como *Mycelia sterilia* (12/15), *Penicillium* (1/15), *Geotrichum* (1/15) e *Cladosporium* (1/15). Por fim, em amostras de Córrego D'Anta foram obtidos 4 isolados, identificados como *Mycelia sterilia* (3/4) e *Cladosporium* (1/4).

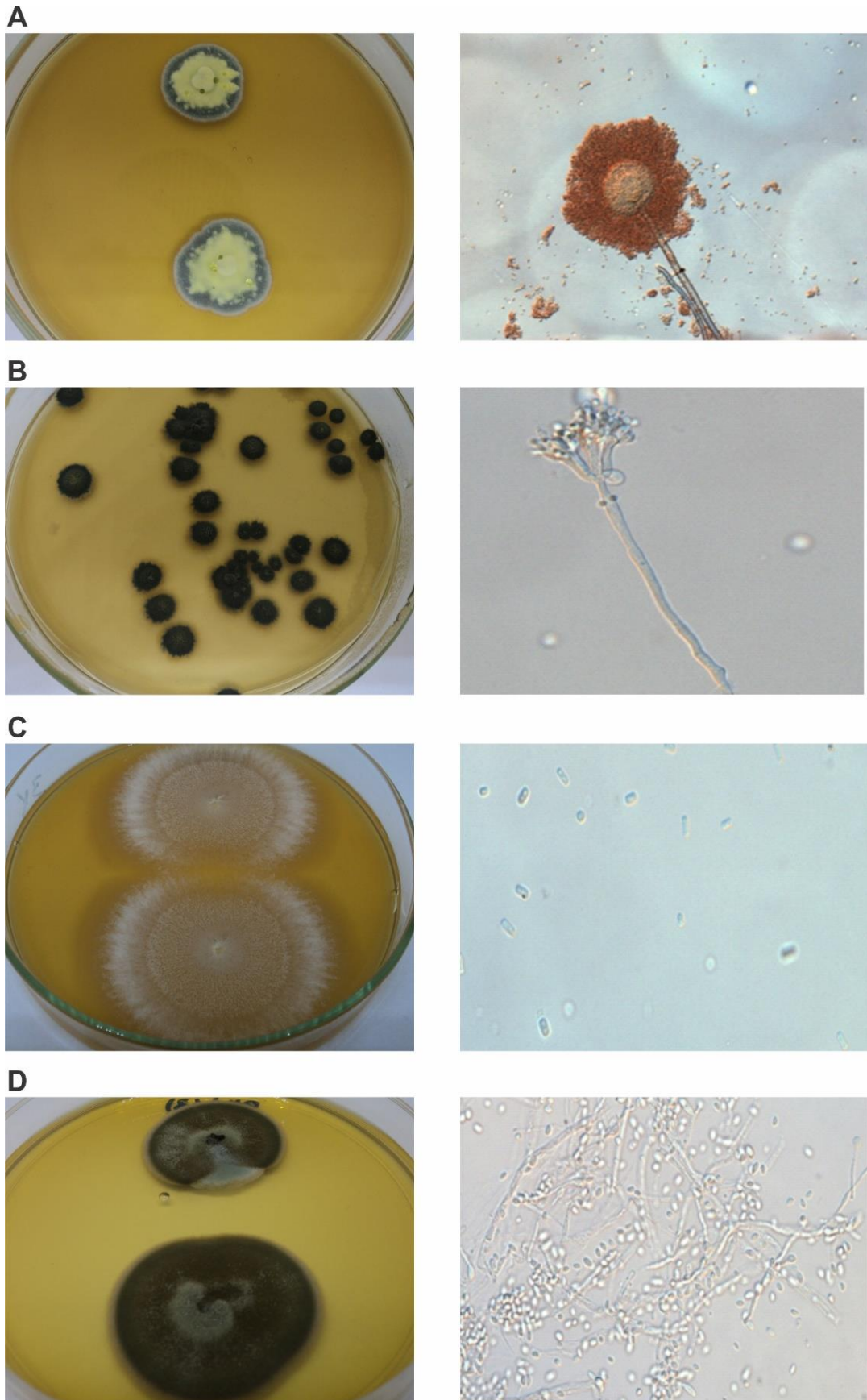


Figura 24 – Fungos anemófilos isolados nas câmaras de maturação (colônias à esquerda e lâminas à direita): (A) *Aspergillus*; (B) *Penicillium*; (C) *Geotrichum*; (D) *Cladosporium*

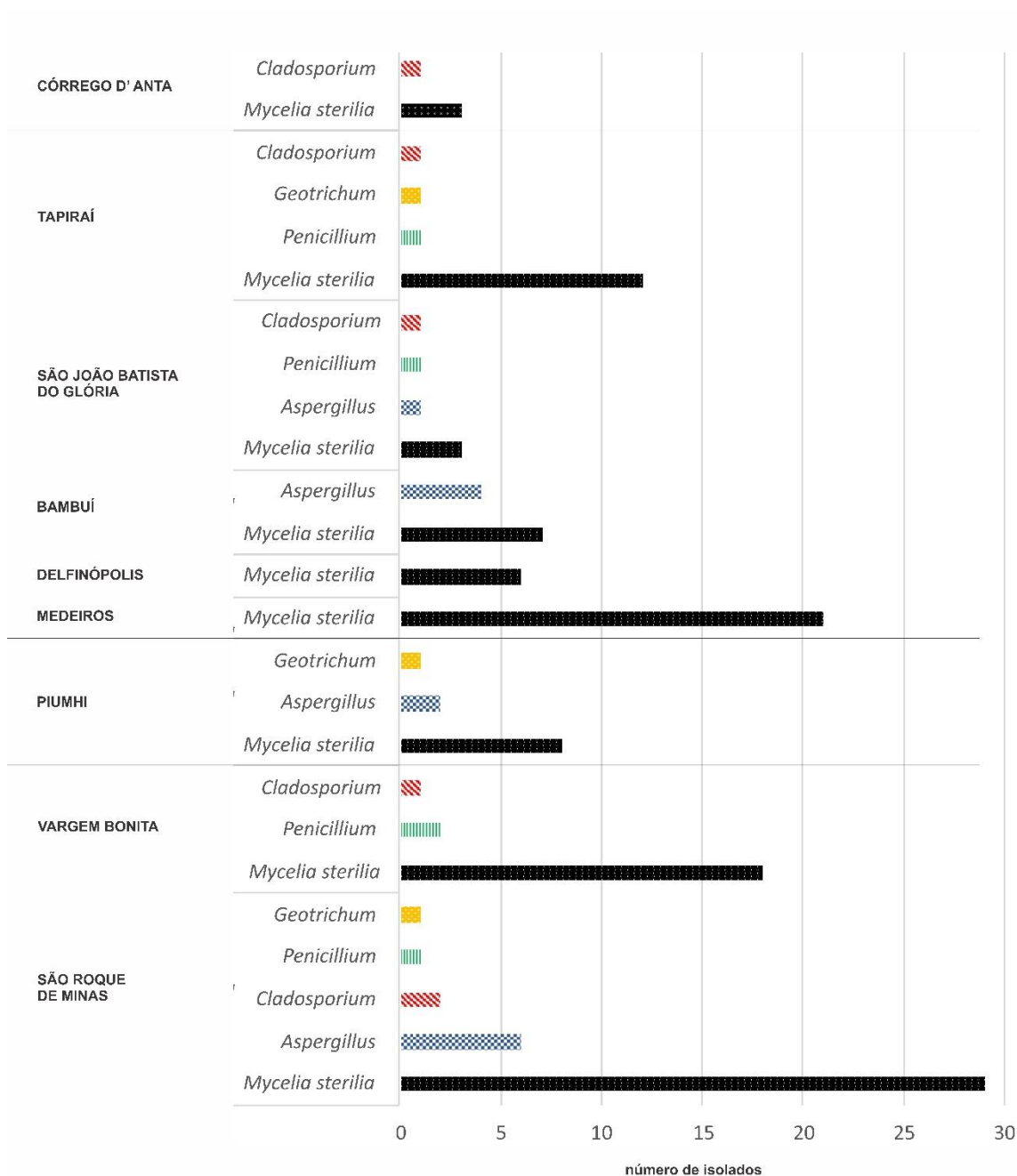


Figura 25 – Fungos anemófilos isolados dos municípios da Serra da Canastra. (A) São Roque de Minas; (B) Vargem Bonita; (C) Tapiraí; (D) Córrego D' Anta; (E) Bambuí; (F) São João Batista do Glória; (G) Piumhí; (H) Medeiros; (I) Delfinópolis.

Das amostras referentes a paredes e prateleiras, foram confeccionadas 20 lâminas para identificação microscópica a nível de gênero. Deve-se ressaltar que umas das limitações dessa etapa foi a pequena quantidade de fungos filamentosos obtida na etapa de isolamento. A técnica do suabe, utilizada na obtenção desses isolados, pode ter favorecido a predominância de leveduras.

Em São Roque de Minas os gêneros fúngicos encontrados em paredes, prateleiras e ar foram *Geotrichum* e *Cladosporium*. Em contraste, *Aspergillus* e *Penicillium* foram isolados somente em amostras do ar. A predominância de *G. candidum* nos queijos produzidos nesse município pode estar relacionada à sua ampla distribuição no ambiente de produção (salas de maturação). Dessa maneira, os resultados aqui obtidos confirmam outras observações descritas na literatura, nas quais os autores descrevem a ocorrência dessa espécie no solo, plantas, água, leite cru e produtos lácteos; além disso, *G. candidum* é comumente encontrado no ar. Além de estar presente nas amostras de São Roque de Minas, o fungo também foi encontrado nos queijos produzidos em Medeiros e Bambuí (Figura 26 A).

A morfologia leveduriforme ou filamentosa de *G. candidum* pode variar, dependendo das características do queijo no qual se encontra (MARCELINO e BENSON, 2014). Geralmente o crescimento de *G. candidum* é observado na superfície do queijo em torno do terceiro dia de maturação. Em queijos como Saint-Marcellin, *G. candidum* recobre a superfície do queijo com uma camada uniforme aveludada e branca (GUEGUÉN e SCHDMIDT, 1992). Já em queijos como Camembert e Brie, o fungo pode estar envolvido também com *P. camemberti*. Em queijos como Reblochon, *G. candidum* apresenta-se em associação com *Brevibacterium*, uma bactéria propiônica; nesse caso, ambos são responsáveis pela crosta branca- avermelhada que esse tipo de queijo apresenta (ARFI, LANDAUD, BONNARME, 2006). Em queijos produzidos no sul da Itália já foi relatada a ocorrência da espécie (MONTAGNA et al., 2004). Além disso, o fungo já foi isolado do queijo Divle Cave, produzido artesanalmente e amadurecido em cavernas envoltos em sacos de pele de cabra em uma pequena aldeia na Turquia (OZTURKOGU-BUDAK, et al., 2016).

Um dos principais efeitos das lipases de *G. candidum* é sua contribuição no desenvolvimento do sabor e textura de várias classes de queijos. Além disso, aminopeptidases de *G. candidum* têm sido relacionadas à redução do gosto amargo em queijo Camembert devido à quebra de peptídeos liberados pelas proteases de *Penicillium camemberti* (BOUTROU et al., 2006). Outros estudos realizados demonstraram que *G. candidum* produz compostos como o ácido D-3-fenilacético, capaz de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos, como *Listeria monocytogenes* (DIEULEVEUX e GUEGUEN, 1998).

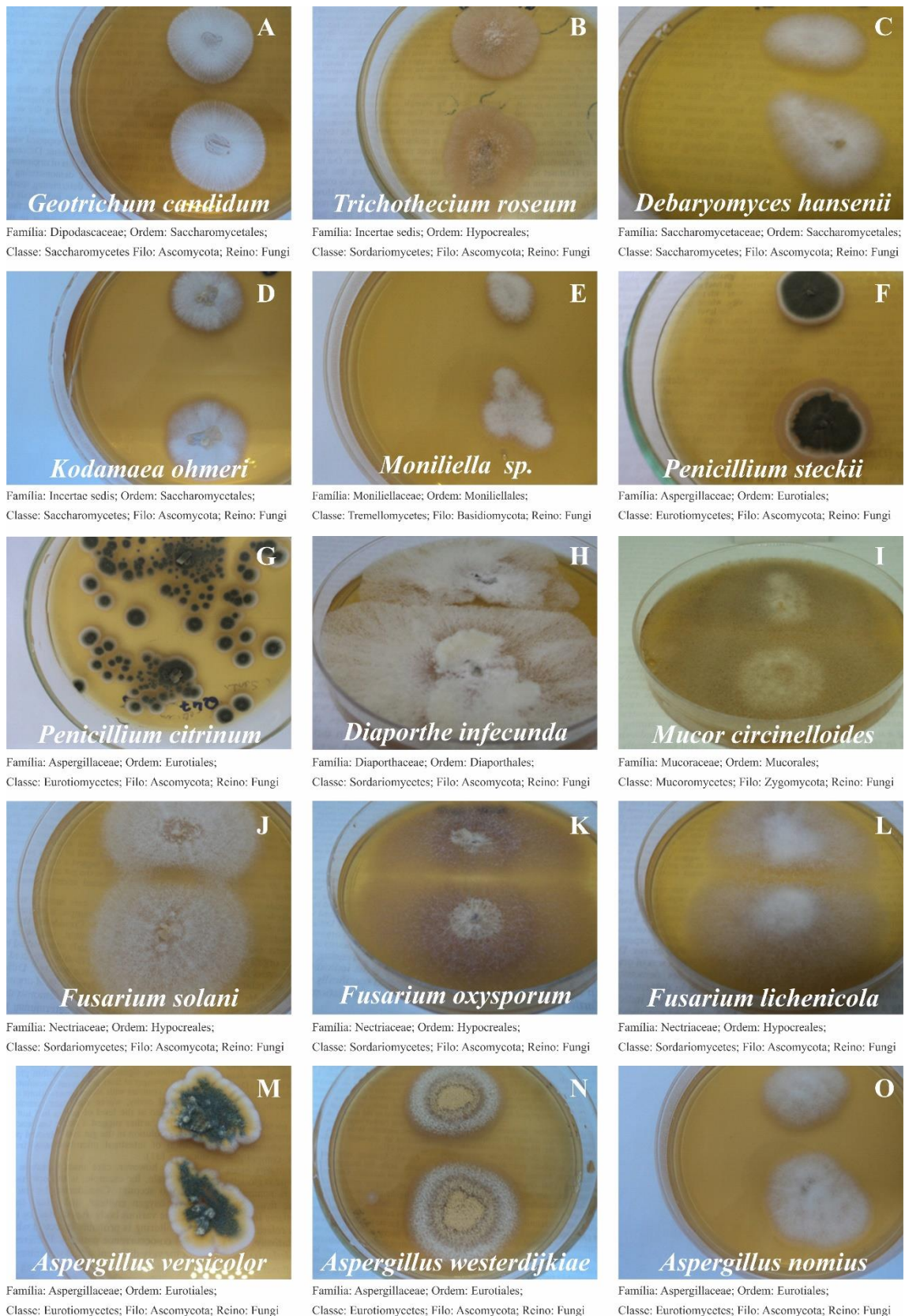


Figura 26 – Fungos filamentosos e leveduras isolados do QMA das propriedades produtoras da Serra da Canastra. A identificação “Incertae sedis” (posição incerta) corresponde a uma nomenclatura taxonômica que indica a impossibilidade de se estabelecer a posição exata de um táxon dentro da classificação.

A atividade proteolítica de *G. candidum* pode provocar uma aparência enrugada na casca, que é conhecida popularmente como “pele de sapo”. Em alguns queijos, essa aparência é desejável, como aqueles feitos a partir de leite de cabra; no entanto, se ocorrer de maneira acentuada, pode acarretar em uma casca escorregadia, característica indesejada. Cabe ressaltar que *G. candidum* não é considerado um agente de intoxicação alimentar e é geralmente seguro, uma vez que nenhuma doença transmitida por alimentos tem sido associada ao consumo de produtos contendo o fungo em questão (MARCELLINO e BENSON, 2014). Pottier et al. (2008) avaliaram a importância de *G. candidum* para a indústria de laticínios francesa e calcularam que este fungo estava presente em cerca de 600.000 toneladas de queijo francês, um terço da produção total. Os autores ainda destacam que, em um ano, o consumo de queijo por pessoa contendo *G. candidum* na França na época foi de 8 kg.

T. roseum foi encontrado somente no município de São Roque de Minas (Figura 26 B). A ocorrência da espécie já foi relatada em queijos produzidos na França, maturados em palhas de centeio. Quando produzido dessa maneira, o uso da palha de centeio favorecia o processo de sucessão fúngica ocorrida na casca do queijo. A espécie está associada principalmente a cereais. Trata-se de um fungo saprofítico e fitopatogênico, encontrado em grãos principalmente em estações de alta precipitação, o que está de acordo com sua ocorrência nos queijos avaliados nesse estudo, coletados durante a época de chuvas. Ao encontrar condições de alta umidade – como o ambiente de cavernas utilizadas para a maturação de alguns queijos – o fungo tem seu crescimento e esporulação estimulados. Outra característica interessante da sua ocorrência em queijos é o favorecimento do crescimento de ácaros; em queijos produzidos em Auvergne, na França, pesquisadores relacionaram a produção de alguns compostos por *T. roseum*, como cis e trans-octa-1,5-dien-3-ol, considerados substâncias atrativas para ácaros em estações úmidas (SHAMSI e ULTANA, 2008; MCPARTLAND e HILLING, 2008; BLANDINO et al., 2003; ISHII et al., 1986). Marcellino e Benson (2014) relatam que embora a contribuição de *T. roseum* no sabor de queijos como Saint-Nectaire não tenha ainda sido estudada, este fungo é conhecido pela sua atividade lipolítica.

Leveduras como *Debaryomyces hansenii* (Figura 26 C), *Kodamaea ohmeri* (Figura 26 D) e *Moniliella* (Figura 26 E) foram encontradas nos municípios de São Roque de Minas, São João Batista do Glória e Bambuí, respectivamente. O desenvolvimento das leveduras *D. hansenii* e *K. ohmeri* em queijos da Canastra está de

acordo com resultados obtidos por outros estudos; os mesmos microrganismos já foram identificados em queijos produzidos na Serra do Salitre, Minas Gerais, bem como nos queijos Divle Cave, produzidos na Turquia (OZTURKOGLU-BUDAK, et al., 2016; LIMA, et al., 2009). Além disso, outros autores verificaram a presença de *D. hansenii* e *K. ohmerii* em queijos, pingo e coalhada da Serra da Canastra (BORELLI, et al., 2006). A presença de leveduras ocorre naturalmente em vários queijos, sobretudo em queijos fabricados a partir do leite cru, podendo ser encontrada em grande quantidade devido sua boa adaptação ao substrato rico em lipídios, proteínas, açúcares e ácidos orgânicos; sua ocorrência é esperada devido ao teor de umidade e concentração de sal que esses produtos apresentam. Além disso, as leveduras apresentam atividade proteolítica e lipolítica que auxiliam no desenvolvimento do sabor e aroma do queijo (BERESFORD e WILLIAMS, 2004). Apesar de *Moniliella* se tratar de uma levedura pouco comum em queijos, sua ocorrência já foi relatada em alimentos cárneos e em seus respectivos ambientes de processamento (THANH, et al., 2012). Ademais, outros estudos detectaram em determinadas espécies de flores no Vietnã (THANH e HIEN, 2018). Acredita-se, portanto, que sua ocorrência em queijos da Canastra provavelmente é decorrente de sua disseminação no ambiente rural.

Em Vargem Bonita não foi identificado nenhum gênero fúngico nas amostras de paredes e prateleiras; porém, o gênero predominante tanto em amostras de queijos como em amostras do ar foi *Penicillium*, o que parece ser, portanto, o agente de dispersão dos fungos nos queijos (VISAGIE, et al., 2014). Dentre as espécies identificadas destacam-se *P. steckii* (Figura 26 F) e *P. citrinum* (Figura 26 G). *Penicillium citrinum* foi encontrado em amostras do queijo somente em Delfinópolis; em outros estudos, o fungo foi encontrado em castanhas chinesas. Outra espécie identificada foi *P. steckii*, que esteve presente nos municípios de Vargem Bonita, Medeiros e São João Batista do Glória. Deve-se destacar que o seu desenvolvimento foi observado em municípios de altas altitudes, com predominância no município de Vargem Bonita, que apresenta a maior altitude dentre as avaliadas nesse estudo. Em outros trabalhos, *P. steckii* foi encontrado em castanhas, grãos de café e em vários tipos de alimentos e rações (OSTRY, MALIR, RUPRICH, 2013; MISLIVEC, BRUCE, GIBSON, 1983).

A presença de outras espécies no queijo que não as relatadas anteriormente devem ser consideradas, uma vez que autores já relataram, por exemplo, a ocorrência natural de *P. roqueforti* em queijos de cavernas produzidos no sul da Itália (ANELLI, et al., 2019). Por outro lado, um estudo baseado na microbiota deteriorante de queijos sugeriu que as

espécies de *Penicillium* mais frequentes são *P. verrucosum*, *P. commune*, *P. palitans* e *P. nalgiovense* (LUND, FILTENBORG, FRISVAD, 1995).

O fungo *Diaporthe infecunda* foi encontrado somente no município de Vargem Bonita (Figura 26 H). Trata-se de um gênero fúngico que compreende espécies patogênicas, endofíticas e saprofiticas, com distribuição em regiões temperadas e tropicais.

Em Medeiros o único gênero encontrado em paredes foi *Cladosporium*, ao contrário das amostras de ar, onde não foi possível isolar nenhum fungo. A predominância de *Mucor* nos queijos deste município provavelmente é devida a uma outra fonte que não a aérea. Trata-se de um gênero bastante disseminado no solo e que é comumente encontrado em queijos maturados em cavernas. Enquanto o crescimento de *Mucor* é típico em queijos tradicionais como Saint-Nectaire e Tomme de Savoie, em queijos como Camembert e Brie a presença deste não apresenta efeitos positivos (MARCELLINO, et al., 2001; MICHEL, HAUWUY, CHAMBA, 2001). O crescimento ótimo de fungos do gênero ocorre em valores de pH de 5,0 a 6,0, atividade de água maior que 0,95 e em uma faixa de temperatura de 20 a 25° C (BRENET, et al., 1972); tais características impactam diretamente no crescimento do fungo; assim, componentes do substrato e temperatura do ambiente no qual o queijo se encontra são imprescindíveis para sua ocorrência.

Dentre as principais espécies, *M. circinelloides* foi encontrada na superfície dos queijos produzidos na Canastra (Figura 26 I). Outros autores relataram a presença da espécie *M. racemosus* em queijos Divle Cave, com reconhecidas atividades proteolítica e lipolítica (OZTURKOGLU-BUDAK, 2016). Embora *Mucor* seja frequentemente onipresente, algumas espécies já foram relatadas ocorrendo especificamente em determinados nichos ecológicos. Protease aspártica extracelular (MCAP) produzida por *M. circinelloides* apresentou atividade coagulante, representando um potencial substituto da quimosina (protease aspártica) de origem animal. As proteases apresentam grande importância durante a fabricação de queijos, pois sua atividade afeta na qualidade do produto, melhorando o sabor e as propriedades funcionais (SALGADO, et al., 2013).

Outros alimentos podem também conter o fungo. Kim et al. (2015) relataram a ocorrência de *M. circinelloides* em amostras de Meju (bolo fermentado de soja), bem como no ar da sala de fermentação desse produto. O revestimento externo dos esporos de *Mucor* apresenta capacidade de absorver umidade; assim, podem se aderir facilmente

a várias superfícies, como roupas, utensílios utilizados na fabricação de queijos, mãos dos produtores, podendo também estar dispersos no ambiente úmido (BRENET, et al., 1972).

Em Piumhi o único gênero encontrado em prateleiras e ar foi *Geotrichum*. *Aspergillus* foi encontrado apenas em amostras do ar. A predominância deste no ar e sua presença nos queijos produzidos neste município podem estar relacionadas. Apesar de *Fusarium* estar em predominância nos queijos e este não ter sido observado em amostras do ambiente, deve-se destacar que a capacidade de esporulação de alguns fungos depende, muitas vezes, do substrato em que se encontra e das condições de incubação.

Dentre as espécies que foram encontradas na superfície dos queijos, a que mais se destacou foi *F. solani* (Figura 26 J), cuja presença foi observada em todos os municípios, exceto Córrego D'Anta. Já *F. oxysporum* (Figura 26 K) estava presente em Vargem Bonita e Córrego D'Anta. A ocorrência dessas espécies provavelmente está relacionada à sua presença no local de produção, uma vez que se trata de um gênero amplamente disperso no ambiente. O contato do fungo com os queijos pode ter ocorrido durante o processo produtivo, seja através da água ou até mesmo pela presença de seus esporos nas roupas dos produtores, uma vez que estes geralmente têm contato direto com o solo ou plantações nas quais muitas espécies do *Fusarium* são consideradas fitopatogênicas. Richard et al. (2007) relataram a presença de *F. solani* e *F. oxysporum* em milho e cevada, respectivamente. Outra espécie encontrada no presente estudo foi *F. lichenicola* (Figura 26 L). Não há relatos de sua presença em queijos; alguns estudos têm relatado sua ocorrência em seres humanos, em amostras de humor aquoso (líquido responsável por nutrir a córnea e o cristalino) de pacientes submetidos à cirurgia de catarata (BAGYALAKSHMI, 2007); e unhas de uma paciente diagnosticada com leucemia promielocítica aguda (RODRÍGUEZ-VILLALOBOS, et al., 2003).

Em Tapiraí o gênero *Cladosporium* se fez presente em amostras do ar e paredes. Em contrapartida, *Penicillium* e *Geotrichum* foram encontrados apenas no ar. Apesar de não terem sido encontrados em amostras de queijos, outros gêneros como *Aspergillus* foram encontrados com frequência.

Em Bambuí, *Cladosporium* se fez presente somente em amostras de parede; já *Aspergillus*, apenas no ar. Pode-se inferir, a partir dessas considerações, que a predominância deste último gênero nos queijos ali produzidos deve estar relacionada à sua deposição natural na superfície dos mesmos.

Em São João Batista do Glória, *Aspergillus* foi predominante tanto no ar quanto nas prateleiras, o que indica as prováveis fontes do microrganismo para queijos produzidos nessa localidade.

Em Delfinópolis, *Cladosporium* esteve presente apenas nas prateleiras. Apesar de nenhum fungo ter sido detectado no ar e *Aspergillus* ser o fungo predominante nos queijos, não se deve descartar a possibilidade do ar se constituir de uma importante fonte, uma vez que a esporulação dos fungos depende diretamente do substrato em que se encontram.

Dentre as prováveis espécies do gênero *Aspergillus* identificadas, destacam-se: *A. versicolor* (Figura 26 M), *A. westerdijkiae* (Figura 26 N) e *A. nomius* (Figura 26 O). Em queijos Ras, produzidos no Egito, *A. versicolor* foi encontrado, acarretando em perdas econômicas devido às alterações indesejáveis que acarreta no produto, como má aparência, descoloração e desenvolvimento de sabores indesejáveis (MARCELLINO e BENSON, 2014). Destaca-se, ainda, o fato de ser uma espécie comumente encontrada no ar, constituindo-se, esta, como uma fonte frequente de contaminação (VUJANOVIC, SMORAGIEWICZ, KRZYSZTYNIAK, 2001). A presença de *A. westerdijkiae* também foi detectada em queijos de caverna produzidos no sul da Itália; nesse tipo de produto, fungos naturalmente presentes nas paredes das cavernas atuam como parte da microbiota secundária para o amadurecimento do queijo (MONTAGNA, et al., 2004). A espécie *A. nomius* foi encontrada em queijos produzidos na Hungria, em amostras de solo, milho e arroz na Tailândia e em castanhas no Brasil (BARANYI, et al., 2015). Provavelmente a ocorrência dessas espécies nos queijos da Canastra está relacionada à sua presença no ar, utensílios utilizados durante a cadeia produtiva e até mesmo do próprio produtor, que pode, após atividades agrícolas, carrear esporos em suas vestimentas ou mãos.

Na propriedade de Córrego D'Anta não foram detectados fungos nas amostras de paredes e prateleiras; em contraste, *Cladosporium* foi identificado no ar. Nesse município foi possível observar a presença de somente um único fungo filamentosos (*F. oxysporum*), com predominância de leveduras nos queijos produzidos na localidade.

6. CONCLUSÕES

- A microbiota de fungos filamentosos do QMA variou conforme a propriedade produtora, considerando-se os 9 municípios que compõem a Serra da Canastra.
- A caracterização dos fungos presentes nos queijos da Serra da Canastra forneceu informações importantes acerca das principais espécies presentes no produto final.
- *Geotrichum candidum*, *Mucor circinelloides*, *Trichothecium roseum* e *Aspergillus westerdijkiae* foram as principais espécies encontradas já referenciadas como de importância na produção de queijos maturados em diversos estudos.
- *Penicillium citrinum* e *P. steckii*, *Fusarium oxysporum* e *Aspergillus versicolor* foram as espécies potencialmente produtoras de micotoxinas. No entanto, sua produção é influenciada por parâmetros intrínsecos do produto – como atividade de água, concentração de sais e pH – bem como pela complexa microbiota do queijo, e novos estudos são necessários para verificar sua presença no produto final.
- As espécies aqui apresentadas deverão ser submetidas a estudos de taxonomia definitiva, uma vez que para se obter a identificação fidedigna a nível de espécie outras regiões do genoma devem ser analisadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRE, D.P.; SILVA, M.R.; SOUZA, M.R.; SANTOS, W.L.M. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria from artisanal Minas cheese against indicator microorganisms. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.54, n. 4, p.424-428, 2002.

ALMEIDA, E.F.L.; FERNANDES, M.R. Caracterização da microrregião da Canastra como produtora do queijo Minas artesanal. São Roque de Minas: EMATER- MG, p. 24-28, 2004.

ALPER, I.; FRENETTE, M.; LABRIE, S. Ribosomal DNA polymorphisms in the yeast *Geotrichum candidum*. **Fungal Biology**, v.115, p.1259–1269, 2011.

ANELLI, P.; HAIDUKOWSKI, M.; EPIFANI, F.; CIMMARUSTI, M. T.; MORETTI, A.; LOGRIECO, A.; SUSCA, A. Fungal mycobiota and mycotoxin risk for traditional artisan Italian cave cheese. **Food microbiology**, v. 78, p. 62-72, 2019.

ARFI, K.; LANDAUD, S.; BONNARME, P. Evidências de distintas vias catabólicas de L- metionina na levedura *Geotrichum candidum* e na bactéria *Brevibacterium*. **Appl Environ Microbiol**, v. 72, p. 2155-2162, 2006.

ASHIQ, S.; HUSSAIN, M.; AHMAD, B. Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants: a review. **Fungal Genetics and Biol**, v. 66, p. 1-10, 2014.

AYDEMIR ATASEVER, M.; ADIGUZEL, G.; ATASEVER, M.; OZTURAN, K. Determination of aflatoxin M1 levels in some cheese types consumed in Erzurum-Turkey. **Kafkas Univ Vet Fak Derg**, v .16, p. 87–91, 2010.

BAGYALAKSHMI, R.; THERESE, K. L.; MADHAVAN, H. N. Application of semi-nested polymerase chain reaction targeting internal transcribed spacer region for rapid detection of panfungal genome directly from ocular specimens. **Indian journal of ophthalmology**, v. 55, n. 4, p. 261, 2007.

BARANYI, N.; JAKSIC, D. D.; ANDREA, P.; NOÉMI, K.; SÁNDRO, K.; ANDRÁS, S.; ANITA, K.; OTTÓ, B.; CSABA, V.; SEGVIC, K. M.; JÁNOS, V. Identification of *Aspergillus* species in Central Europe able to produce G-type aflatoxins. **Acta Biologica Hungarica**, v. 66, n. 3, p. 339-347, 2015.

BAUR, C.; KREWINKEL, M.; KRANZ, B.; NEUBECK, M. V.; WENNING, M.; SCHERER, S.; STOECKEL, M.; HINRICHS, J.; STRESSLER, T.; FISCHER, L. Quantification of the proteolytic and lipolytic activity of microorganisms isolated from raw milk. **International Dairy Journal**, v. 49, p.23-29, 2015.

BBOSA, G. S.; KITYA, D.; ODDA, J.; OGWAL - OKENG, J. Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis. **Health**, v.5, n. 10, p. 14-34, 2013.

BEDARD, L.L.; MASSEY, T.E. Aflatoxin B1-induced DNA damage and its repair. **Cancer letters**, v.241, p.174-183, 2006.

- BENKERROUM, N. Biogenic amines in dairy products: origin, incidence and control means. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 4, p. 801-816, 2016.
- BERESFORD, T.; WILLIAMS, A. The microbiology of cheese ripening. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**, v.1, p.287-318, 2004.
- BERESFORD, T.P.; FITZSIMONS, N.A.; BRENNAN, N.L.; COGAN, T. M. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v.11, p.259- 274, 2001.
- BLANDINO, A.; AL-ASEERI, M. E.; PANDIELLA, S. S.; CANTERO, D.; WEBB, C. Cereal-based fermented foods and beverages. **Food Res Int** , v. 36, p. 527–543, 2003.
- BORELLI, B. M.; FERREIRA, E. G.; LACERDA, I. C. A.; FRANCO, G. R.; ROSA, C. A. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 11, p. 1115-1119, 2006.
- BOUTROU, R.; AZIZA, M.; AMRANE, A. Aumento das atividades proteolíticas de *Geotrichum candidum* e *Penicillium camembertii* em cultura mista. **Enzyme Microb Technol** , v. 39, p. 325-331, 2006.
- BOTTALICO, A.; PERRONE, G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. **Mycotoxins in plant disease**, v. 108, p. 611-624, 2002.
- BRENET, M.; CENTELEGHE, J. L.; MILLIERE, J. B.; RAMET, J. P.; WEBER, F. Etude d'un accident en fromagerie de type Camembert causé par des mucorales. **Dairy Sci Technol** , v. 52, p. 141–148, 1972.
- CASQUETE, R.; BENITO, M. J.; CÓRDOBA, M. G.; MOYANO, S. R.; MARTIN, A. The growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* strains on a cheese model system are influenced by physicochemical factors. **Journal of dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 6987-6996, 2017.
- CASQUETE, R.; BENITO, M. J.; CÓRDOBA, M. G.; MOYANO, S. R.; GÁLVAN, A. I.; MARTÍN, A. Physicochemical factors affecting the growth and mycotoxin production of *Penicillium* strains in a synthetic cheese medium. **LWT**, v. 89, p. 179-185, 2018.
- CHANG, S. C.; WEI, Y. H.; WEI, D. L.; CHEN, Y. Y.; JONG, S. C. Factors affecting the production of eremofortin C and PR toxin in *Penicillium roqueforti*. **Appl Environ Microbiol**, v.57, p.2581– 2585, 1991.
- CHAPMAN, M. E.; SHARPE, A. Microbiologia do queijo. **Dairy Microbiology**, Applied Science Publishers. p. 203- 290, 1990.

CHAYAKULKEEREE, M.; GHANNOUM, M.A.; PERFECT, J.R. Zygomycosis: the re-emerging fungal infection. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.25, n. 4, p.215- 229, 2006.

CHOY, B. Y.; WONG, S. S. Y.; CHAN, T. M.; LAI, K. N. *Pichia ohmeri* peritonitis in a patient on CAPD: response to treatment with amphotericin. **Peritoneal Dialysis International**, v.20, n. 1, 2000.

ÇORBACI, C.; UÇAR, F. B. Production and optimization of killer toxin in *Debaryomyces hansenii* strains. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 60, 2017.

COVARELLI, L.; STIFANO, S.; BECCARI, G.; RAGGI, L.; LATTANZIO, V. M. T.; ALBERTINI, E. Characterization of *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Italy: Fumonisin production, pathogenicity and genetic variability. **Food Microbiol**, v.31, n. 1, p.17-24, 2012.

DAL BELLO, G.; MÓNACO, C.; LAMPUGNANI, G.; ARTETA, N.; ABRAMOFF, C.; RONCO, L.; STOCCO, M. Biocontrol of postharvest grey mould on tomato by yeasts. **Journal of Phytopathol**, v.156, n. 5, p. 257-263, 2008.

DE HOOG, G. S.; GUÉHO, E. Deoxyribonucleic acid base composition and taxonomy of *Moniliella* and allied genera. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 50, n. 2, p. 135-141, 1984.

DIEULEVEUX, V.; VAN, D. D. P.; CHATAUD, J.; GUÉGUEN, M. Purificação e caracterização de compostos anti-*Listeria* produzidos por *Geotrichum candidum*. **Appl Environ Microbiol**, v. 64, p. 800–803., 1998.

DIEULEVEUX, V.; GUEGUEN, M. Efeitos antimicrobianos do ácido D -3-fenilático sobre *Listeria monocytogenes* em meio TSB-YE, leite e queijo. **J Food Prot**, v. 61, p. 1281–1285, 1998.

DINIZ, S.P.S. S. **Micotoxinas**. 2 ed. Campinas: Editora rural, 2002.

DIOGO, E.L.F.; SANTOS, J. M.; PHILLIPS, A. J. L. Phylogeny, morphology and pathogenicity of *Diaporthe* and *Phomopsis* species on almond in Portugal. **Fungal Diversity**, v. 44, n.1, p. 107-115, 2010.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**. London: Academic Press, v.2, 1980.

DUAN, C.; QIN, Z.; YANG, Z.; LI, W.; SUN, S.; ZHU, Z.; WANG, X. Identification of pathogenic *Fusarium* spp. causing maize ear rot and potential mycotoxin production in China. **Toxins**, v.8, n. 6, p. 186, 2016.

DUBEY, M. K.; ZEHRA, A.; AAMIR, M.; MEENA, M.; AHIRWAL, L.; SINGH, S.; SHUKLA, S.; UPADHYAY, R. S.; BUENO-MARI, R.; BAJPAI, V. K. Improvement strategies, cost effective production, and potential applications of fungal glucose oxidase (GOD): current updates. **Front. Microbiol**, v. 8, p.1032, 2017.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DE MINAS GERAIS (EMATER-MG). Caracterização da microrregião da Canastra como produtora de queijo Minas artesanal. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2004. 19p.

FARBER, J. M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology-a review. **Journal of Food Protection**, v.54, n.1, p.58–70, 1991.

FONTAINE, K.; PASSERÓ, E.; VALLONE, L.; HYMERY, N.; COTTON, M.; JANY, J. L.; MOUNIER, J.; COTTON, E. Occurrence of roquefortine C, mycophenolic acid and aflatoxin M1 mycotoxins in blue-veined cheeses. **Food Control**, v. 47, p. 634–640, 2015.

FOX, E. M.; HOWLETT, B. J. Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. **Rev.Microbiol**, v.11, n. 6, p. 481– 487, 2008.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. 3 ed. General Aspects. Elsevier, 2004.

FRISVAD, J.C.; SMEDSGAARD, J.; LARSEN, T. O.; SAMSON, R. A. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by espécies in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. **Stud Mycol**, v.49, n. 201, p. 201-241, 2004.

GARCÍA- REYNE, A.; MORALES, J. M.; ESTEBAN, C. G.; MARTÍN, I.; ERAÑA, I.; MEJE, Y.; LALUEZA, A.; ALASTRUEY- IZQUIERDO, A.; RODRÍGUEZ-TUDELA, J. L.; AGUADO, J. M. Cutaneous infection by *Phomopsis longicolla* in a renal transplant recipient from Guinea: first report of human infection by this fungus. **Transplant Infectious Disease**, v. 13, p. 204-207, 2011.

GARCÍA- RICO, R. O.; GIL-DURÁN, C.; ROJAS- AEDO, J. F.; VACA, I.; FIGUEROA, L.; LEVICÁN, G.; CHÁVEZ, R. Heterotrimeric G protein alpha subunit controls growth, stress response, extracellular protease activity, and cyclopiazonic acid production *Penicillium camemberti*. **Fungal Biology**, v. 121, n.9, p. 754–762, 2017.

GENTE, S.; DESMASURES, N.; PANOFF, J. M.; GUÉGUEN, M. Genetic diversity among *Geotrichum candidum* strains from various substrates studied using RAM and RAPD-PCR. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, n.3, p.491–501, 2002.

GILLOT, G.; JANY, J. L.; COTON, M.; FLOCH, G. L.; DEBAETS, S.; ROPARS, J.; VILLAVIVENCIO- LÓPEZ, M.; DUPONT, J.; BRANCA, A.; GIRAUD, T.; COTON, E. Insights into *Penicillium roqueforti* morphological and genetic diversity. **PLoS One**, v.10, n. 6, p. 987- 989, 2015.

GOMES, R. R.; GLIENKE, C.; VIDEIRA, S. I. R.; LOMBARD, L.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 31, p. 1, 2013.

GORTZ, A.; ERICH- CHRISTIAN, O.; ULRIKE, S.; CEES, W.; INEKE, V.; HEINZ-WILHELM, D. Biodiversity of *Fusarium* species causing ear rot of maize in Germany. **Cereal Res. Commun**, v.36, n.6, p.617–622, 2008.

- GUÉGUEN. M.; SCHMIDT, J. L. Les levures et *Geotrichum candidum*. **Les Groupes Microbiens d'Intérêt Laitier**, v.7, p. 165-219, 1992.
- GROOPMAN, J. D.; CROY, R. G.; WOGAN, G. N. In vitro reactions of aflatoxin B1-adducted DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.78, n.9, p. 5445-5449, 1981.
- HAN, K. S.; LEE, S. C.; LEE, J. P.; SOH, J. W. First Report of Pink Mold Rot on Tomato Fruit Caused by *Trichothecium roseum* in Korea. **Res. Plant Dis**, v. 18, p. 396–398, 2012.
- HAN, B. Z.; ROMBOUTS, F.M.; NOUT, M. J. R. A chinese fermented soybean food. **Int. J. Food Microbiol**, v. 65, n. 1, p.1-10, 2001.
- HASHEM, M.; ALAMRI, S. The biocontrol of postharvest disease (*Botryodiplodia theobromae*) of guava (*Psidium guajava* L.) by the application of yeast strains. **Postharvest Biology and Technology**, v.53, n. 3, p.123-130, 2009.
- HEDAYATI, M. T.; PASQUALOTTO, A. C.; WARN, P. A.; BOWYER, P.; DENNING, D. W. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. **Microbiology**, v.153, n.6, p. 1677–1692, 2007.
- HERMANNNS, G.; PINTO, F. T.; KITAZAWA, S. E.; NOLL, I. B. Fungos e fumonisinas no período pré-colheita do milho. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 7-10, 2006.
- HOOG, G.S.; SMITH, M.T. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. **Stud Mycol**, v.50, p. 489–515, 2004.
- HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R.A. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into tree families. **Studies in Mycolog**, v.70, p. 1-51, 2011.
- HUDECOVÁ, A.; VALÍK, L.; LIPTÁKOVÁ, D. Influence of temperature on the surface growth of *Geotrichum candidum*. **Acta Chimica Slovaca**, v. 2, n. 2, p. 75-87, 2011.
- HUSSEIN, H. S.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.
- HYMERY, N.; VASSEUR, V.; COTON, M.; MOUNIER, J.; JANY, J. L.; BARBIER, G.; COTON, E. Filamentous fungi and mycotoxins in cheese: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n.4, p. 437–456, 2014.
- INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Região do Campo das Vertentes é reconhecida como produtora de Queijo Minas Artesanal. 2009. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/>>. Acessado em: 11 de setembro de 2018.
- INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Lei 14.185 de 31 de janeiro de 2002 que dispõe sobre o processo de produção do queijo minas artesanal, 2002. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br>. Acessado em: 15 de maio de 2019.

ISHII, K.; KOBAYASHI, J.; UENO, Y.; ICHINOE, M. Occurrence of trichothecin in wheat. **Appl Environ Microbiol**, v. 52, p. 331–333, 1986.

JAY, J. M. **Modern microbiologia alimentar**. Chapman e Hall, Nova York. 4 ed, p. 1-701, 1992.

KEMP, G.H.J.; PRETORIUS, Z.A.; WINGFIELD, M.J. *Fusarium* glume spot of wheat: A newly recorded mite-associated disease in south Africa. **Plant disease (USA)**, v.80, p.48–51, 1996.

KIM, D. H.; KIM, S. H.; KWON, S. W.; LEE, J. K.; HONG, S. B. The mycobiota of air inside and outside the meju fermentation room and the origin of meju fungi. **Mycobiology**, v. 43, n. 3, p. 258-265, 2015.

KIM, J. H.; KIM, D. Y.; PARK, H.; EOM, A. H. Two Endophytic *Diaporthe* Species Isolated from the Leaves of *Astragalus membranaceus* in Korea. **Mycobiology**, v. 45, n. 4, p. 430-433, 2017.

KLICH, M. A. Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. **Mycologia**, v. 94, n.1, p.21-27, 2002.

KOPP-HOLTWIESCHE, B.; REHM, H. J. Antimicrobial action of roquefortine. **J. Environ Pathol Toxicol Oncol**, v.10, n. 1- 2, p. 41–44, 1990.

KŐSZEGI, T.; POOR, M. Ochratoxin A: Molecular Interactions, Mechanisms of Toxicity and Prevention at the Molecular Level. **Toxins**, v.8, n.4, p. 111, 2016.

KUPIEC, B.; REVELL, B. Speciality and artisanal cheeses today: the product and the consumer. **British Food Journal**, v. 100, n. 5, p. 236-243, 1998.

KWON, J. H.; CHOI, O.; KANG, D.W.; SHIM, H. S. Pink mold rot on unshiu orange (*Citrus unshiu* Mac.) caused by *Trichothecium roseum*. **Res Plant Dis**, v.19, p.226–228, 2013.

LEE, J. S.; SHIN, J. H.; KIM, M. N.; JUNG, S.I.; PARK, K. H.; CHO, D.; KEE, S. J.; SHIN, M. G.; SUH, S.P.; RYANG, D. W. *Kodamaea ohmeri* isolates from patients in a university hospital: identification, antifungal susceptibility, and pulsed-field gel electrophoresis analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, n.3, p.1005-1010, 2007.

LEGGIERI, M. C.; DECONTARDI, S.; BERTUZZI, T.; PIETRI, A.; BATTILANI, P. Modeling growth and toxin production of toxigenic fungi signaled in cheese under different temperature and water activity regimes. **Toxins**, v. 9, n. 1, 2017.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium laboratory manual**. 1. ed. USA: Blackwell Publishing, 2006.

LESSARD, M. H.; VIEL, C.; BOYLE, B.; GELAIS-ST, D.; LABRIE, S. Metatranscriptome analysis of fungal strains *Penicillium camemberti* and *Geotrichum*

candidum reveal cheese matrix breakdown and potential development of sensory properties of ripened Camembert-type cheese. **BMC Genomics**, v. 15, n.1, p.235, 2014.

LEWIS, P.R.; DONOGHUE, M. B.; COOK, L.; GRANGER, L. V.; HOCKING, A. D. Tremor syndrome associated with a fungal toxin: Sequelae of food contamination. **The medical Journal of Australia**, v. 182, n. 11, p.582–584, 2005.

LIMA, C. D. L. C.; LIMA, L. A.; CERQUEIRA, M. M. O. P; FERREIRA, E. G.; ROSA, C. A. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 61, n. 1, p. 266-272, 2009.

LUND, F.; FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. Associated mycoflora of cheese. **Food Microbiology**, v. 12, p. 173- 180, 1995.

MA, X.C.; YE, M.; WU, L.J.; GUO, D. Microbial transformation of curdione by *Mucor spinosus*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.38, n. 3-4, p. 367-371, 2006.

MAGAN, N.; ALDRED, D. Why do fungi produce mycotoxins? **Food Mycology**, v.1, p. 135-148, 2007.

MARCELLINO, N.; BENSON, D. R. The good, the bad, and the ugly: tales of mold-ripened cheese. **American Society of Microbiology**, v. 1, p. 95-131, 2014.

MARCELLINO, N.; BEUVIER, E.; GRAPPIN, R.; GUÉGUEN, M.; BENSON, D. R. Diversity of *Geotrichum candidum* strains isolated from traditional cheesemaking fabrications in France. **Appl Environ Microbiol**, v. 67, n.10, p.4752-4759, 2001.

MCMULLEN, M.; LUKACH, J.; ENZ, J.; STOVER, R. Environmental conditions associated with *Fusarium* head blight epidemics of wheat and barley in the northern great plains, north américa. **Phytopathology**, v.25, p.777-778, 1997.

McPARTLAND, J. M.; HILLING, K. W. Differentiating powdery mildew from false powdery mildew. **J Ind Hemp**, v. 13, p. 78–87, 2008.

MCSWEENEY, P.L.H. Biochemistry of cheese ripening. **International journal of dairy technology**, v. 57, n. 2- 3, p. 127-144, 2004.

MICHEL, V.; HAUWUY, A.; CHAMBA, J. F. La flore microbienne de laits crus de vache: diversité et influence des conditions de production. **Dairy Sci Technol**, v. 81, p. 575–592, 2001.

MINAS GERAIS. Portaria n° 517 que estabelece normas de defesa sanitária para rebanhos fornecedores de leite para produção de queijo minas artesanal. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Belo Horizonte, 14 de junho de 2002a.

MINAS GERAIS. Portaria n° 518 que dispõe sobre requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para a fabricação do queijo minas artesanal. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Belo Horizonte, 14 de junho de 2002b.

MINAS GERAIS. Portaria nº 523 que dispõe sobre as condições higiênico- sanitárias e boas práticas na manipulação e fabricação do queijo minas artesanal. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Belo Horizonte, 03 de julho de 2002c.

MINAS GERAIS. Portaria nº 818. Regulamento técnico de produção do Queijo Minas Artesanal dá outras providências. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Belo Horizonte, 12 de dezembro de 2006.

MINAS GERAIS. Decreto nº 44.864. Altera o regulamento da lei nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo do Queijo Minas Artesanal. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Belo Horizonte, 01 de agosto de 2008.

MINAS GERAIS. Portaria nº 1736 que dispõe sobre o período de maturação do Queijo Minas Artesanal. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Belo Horizonte, 27 de julho de 2017.

MISLIVEC, P. B.; BRUCE, V. R.; GIBSON, R. Incidence of toxigenic and other molds in green coffee beans. **Journal of Food Protection**, v. 46, n. 11, p. 969-973, 1983.

MOLTO, G.A.; GONZALEZ, H.H.L.; RESNIK, S. L.; GONZALEZ, A.P. Production of trichothecenes and zearalenone by isolates of *Fusarium spp.* from argentinian maize. **Food Additives e Contaminants**, v.14, n.3, p.263-268, 1997.

MOLIMARD, P.; LESSCHAEVE.; ISSANCHOU, S.; BROUSSE, M.; SPINLER, H. E. Effect of the association of surface flora on the sensory properties of mould-ripened cheese. **Le lait**, v.77, n.1, p. 181-187, 1997.

MONTAGNA, M. T.; SANTACROCE, M. P.; SPILOTROS, G.; NAPOLI, C.; MINERVINI, F.; PAPA, A.; DRAGONI, I. Investigation of fungal contamination in sheep and goat cheeses in southern Italy. **Mycopathologia**, v. 158, n. 2, p. 245-249, 2004.

MORO, A.; LIBRÁN, C. M.; BERRUGA, M. I.; ZALACAIN, A.; CARMONA, M. Mycotoxigenic fungal inhibition by innovative cheese cover with aromatic plants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 5, p. 1112–1118, 2013.

NAIDU, A.S. **Natural food antimicrobial systems**. 1 ed. London: CRC press, p.431-462, 2000.

NAKAMOTO, K.; SASAKI, Y.; UCHIYAMA, T.; OHTA, K. Multiple fungus balls in a patient with chronic pulmonary aspergillosis. **Respirology Case Reports**, v. 7, p. 1-3, n. 6, 2019.

NIELSEN, M.S.; FRISVAD, J.C.; NIELSEN, P.V. Colony interaction and secondary metabolite production of cheese-related fungi in dual culture. **Journal of Food Protection**, v. 61, n.8, p. 1023-1029, 1998.

NOBREGA, J.E. **Biodiversidade microbiana, descritores físico-químicos e sensoriais dos queijos artesanais fabricados nas regiões da Serra da Canastra e do Serro, Minas Gerais.** Tese de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2012.

O'BRIEN, N. M.; O'CONNOR, T. P.; O'CALLAGHAN, J.; DOBSON, A. D. W. Toxin cheese biogenic amines and mycotoxins in cheese: chemistry, physics and microbiology. **Elsevier**, v.1, p. 561- 568, 2004.

OH, S. Y.; NAM, K.W.; YOON, D. H. Identification of *Acremonium acutatum* and *Trichothecium roseum* isolated from Grape with White Stain Symptom in Korea. **Mycobiology**, v. 42, n. 3, p. 269-273, 2014.

OSTRY, V.; MALIR, F.; RUPRICH, J. Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. **Toxins**, v. 5, n. 9, p. 1574-1586, 2013.

OZTURKOGLU-BUDAK, S.; BRON, P. A.; WIEBENGA, A.; VRIES, R.P. Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. **International journal of food microbiology**, v. 237, p. 17-27, 2016.

PANELLI, S., BUFFONI, J. N.; BONACINA, C.; FELIGINI, M. Identification of moulds from the Taleggio cheese environment by the use of DNA barcodes. **Food Control**, v.28, p.385–391, 2012.

PERRONE, G.; SUSCA, A.; COZZI, G.; EHRLICH, K.; VARGA, J.; FRISVAD, J. C.; MEIJER, M.; NOONIM, P.; MAHAKARNCHANAKUL, W.; SAMSON, R. A. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Mycology**, v.59, p. 53-66, 2007.

PINTO, A. T.; SCHMIDT, V.; RAIMUNDO, S. A.; RAIHMER, F. Uso de ozônio no controle de fungos em sala de maturação de queijos. **Acta scientiae veterinariae**, v. 35, n. 3, p. 333-337, 2007.

PITTET, A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds: A decade in review. In: COE, W. J. et al. (Ed.). *Mycotoxins and Phycotoxins in perspective at the turn of the millennium*. Wageningen: **Centraalbureau voor Schimmelcultures**, p. 153-172, 2001.

POTTIER, I.; GENTE, S.; VERNOUX, J. P, GUÉGUEN, M. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum*. **Int J Food Microbiol**, v. 126, p. 327–332, 2008.

PUERTO, J.; GARCÍA- MARTOS, P.; SALDARREAGA, A.; RUIZ- ARAGÓN, J.; GARCÍA- AGUDO, R.; AOUFI, S. First report of urinary tract infection due to *Pichia ohmeri*. **European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases**, v.21, n.8, p. 630-631, 2002.

QUARTA, A.; MITA, G.; HAIDUKOWSKI, M.; SANTINO, A.; MULÉ, G.; VISCONTI, A. Assessment of trichothecene chemotypes of *Fusarium culmorum* occurring in Europe. **Food Additives e Contaminants**, v. 22, n. 4, p. 309–315, 2005.

RIBEIRO, E. F. O.; SANTOS, V. M.; PAIXÃO, G. T. G.; CRUZ, L. R.; DANILOW, M. Z.; CAMPOS, V. F. Mucormycosis in a patient with acute myeloid leukemia successfully treated with liposomal amphotericin B associated with deferasirox and hyperbaric oxygen. **Mycopathologia**, v. 175, n. 3-4, p. 295-300, 2013.

RODRÍGUEZ-VILLALOBOS, H.; GEORGALA, A.; BEGUIN, A.; HEYMANS, C.; PYE, G.; CROKAERT, F.; AOUN, M. Disseminated infection due to *Cylindrocarpum (Fusarium) lichenicola* in a neutropenic patient with acute leukaemia: report of a case and review of the literature. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 62-65, 2003.

REDDY, L.; BHOOLA, K. Ochratoxins-food contaminants: impact on human health. **Toxins**, v.2, n.4, p. 771-779, 2010.

REVERBERI, M.; RICELLI, A.; ZJALIC, S.; FABBRI, A.; FANELLI, C. Natural functions of mycotoxins and control of their biosynthesis in fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n.3, p. 899–911, 2010.

RIBES, J. A.; VANOVER-SAMS, C.L.; BAKER, D.J. Zygomycetes in human disease. **Clinical Microbiology Reviews**, v.13, n.2, p.236-301, 2000.

RICHARD, E.; HEUTTE, N.; SAGE, L.; POTTIER, D.; BOUCHARTE, V.; LEBAILLY, P.; GARON, D. Toxigenic fungi and mycotoxins in mature corn silage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 12, p. 2420-2425, 2007.

ROPARS, J.; LÓPEZ- VILLAVIVENCIO, M.; DUPONT, J.; SNIRC, A.; GILLOT, G.; COTTON, M.; JANY, J. L.; COTON, E.; GIRAUD, T. Induction of sexual reproduction and genetic diversity in the cheese fungus *Penicillium roqueforti*. **Evolutionary Applications**, v.7, n.4, p. 433- 441, 2014.

SALGADO, J. A. G.; KANGWA, M.; FERNANDEZ-LAHOURE, M. Cloning and expression of an active aspartic proteinase from *Mucor circinelloides* in *Pichia pastoris*. **BMC microbiology**, v. 13, n. 1, p. 250, 2013.

SAMSON, R.A.; FRISVAD, J. C. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. **Studies in Mycology**, v. 49, p.1-251, 2004.

SAMSON, R. A.; VISAGIE, C. M.; HOUBRAKEN, J.; HONG, S. B.; HUBKA, V.; KLAASEN, C. H. W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K. A.; SUSCA, A.; TANNEY, J. B.; VARGA, J.; KOCSUBE, S.; SZIGETI, G.; YAGUCHI, T.; FRISVAD, J. C. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in mycology**, v. 78, p. 141-173, 2014.

SANZANI, S. M.; REVERBERI, M.; PUNELLI, M.; IPPOLITO, A.; FANELLI, C. Study on the role of patulin on pathogenicity and virulence of *Penicillium expansum*. **Int. J. Food Microbiol**, v.153, n. 3, p.323–331, 2012.

SCHMIDT-HEYDT, M.; GRAF, E.; STOLL, D.; GEISEN, R. The biosynthesis of ochratoxin A by *Penicillium* as one mechanism of adaptation to NaCl rich foods. **Food Microbiology**, v. 29, n. 2, p. 233–241, 2012.

SCHOLLENBERGER, M.; MULLER, H. M.; RUFLE, M.; SUCHY, S.; PLANK, S.; DROCHNER, W. Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. **Mycopathologia**, v.161, n.1, p. 43-52, 2006.

SHAMSI, S.; ULTANA, R. *Trichothecium roseum* Link: a new record of hyphomycetous fungus for Bangladesh. **Bangladesh J Plant Taxon**, v. 15, p. 77–80, 2008

SILVA, J.G. **Características físicas, físico-químicas e sensoriais de queijo Minas artesanal da Canastra**. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2007.

SMITH, J.P.; RAMASWAMY, H.S.; SIMPSON, B. K. Developments in food packaging technology. Part II: Storage aspects. **Trends in Food Science e Technology**, v.1, p.111–118, 1990.

SORHAUG, T.; ORDAL, Z. J. Cell-bound lipase and esterase of *Brevibacterium linens*. **Appl. Environ. Microbiol**, v.27, n.3, p.607–608, 1974.

SPECIAN, V.; ORLANDELLI, R. C.; FELBER, A. C.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. Metabólitos Secundários de Interesse Farmacêutico Produzidos por Fungos Endofíticos. **Journal of Health Sciences**, v. 16, n. 4, p. 345- 351, 2015.

STUDER-ROHR, I.; SCHLATTER, J.; DIETRICH, D. R. Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of ochratoxin A plasma levels in humans. **Arch Toxicol**, v. 74, n.9, p.499-510, 2000.

SUNDARAM, P. S.; BIJULAL, S. *Kodamaea ohmeri* tricuspid valve endocarditis with right ventricular inflow obstruction in a neonate with structurally normal heart. **Ann Pediatr Cardiol**, v.4, n.1, p.77-80, 2011.

SUZUKI, M.; PRASAD, G. S.; KURTZMAN, C. P. *Debaryomyces* Lodder & kreger-van rij (1952). In: **The Yeasts**. Elsevier, p. 361-372, 2011.

TANIWAKI, M. H.; HOCKING, A. D.; PITT, J. I.; FLEET, G. H. Growth of fungi and mycotoxin production on cheese under modified atmospheres. **International Journal of Food Microbiology**, v. 68, n. 1-2, p. 125-133, 2001.

THANH V. N.; HAI, D. A.; HIEN, D. D.; TAKASHIMA, M.; LACHANCE, M. A. *Moniliella carnis* sp. nov. and *Moniliella dehoogii* sp. nov., two novel species of black yeasts isolated from meat processing environments. **International Journal of systematic and evolutionary microbiology**, v.62, n.12, p. 3088- 3094, 2012.

THANH, V. N.; HIEN, D. *Moniliella floricola* sp. nov., a species of black yeast isolated from flowers. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 69, n. 1, p. 87-92, 2018.

THANH, V. N.; HIEN, D. D.; YAGUCHI, T.; SAMPAIO, J. P.; LACHANCE, M. A. *Moniliella sojae* sp. nov., a species of black yeasts isolated from Vietnamese soy paste (tuong), and reassignment of *Moniliella suaveolens* strains to *Moniliella pyrgileucina* sp. nov., *Moniliella casei* sp. nov. and *Moniliella macrospora* emend. comb.

nov. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 68, n. 5, p. 1806-1814, 2018.

TIAN, Y.; TAN, Y.; LIU, N.; LIAO, Y.; SUN, C.; WANG, S.; WU, A. Functional agents to biologically control deoxynivalenol contamination in cereal grains. **Front. Microbiol**, v. 7, p. 395, 2016.

UDAYANGA, D.; MCKENZIE, E.; LIU, X.; CHUKEATIROTE, E. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. **Fungal Diversity**, v.50, p. 189- 225, 2011.

UDAYANGA, D.; CASTLEBURY, L. A.; ROSSMAN, A. Y.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. Insights into the genus *Diaporthe*: phylogenetic species delimitation in the *D. eres* species complex. **Fungal Diversity**, v. 67, n. 1, p. 203-229, 2014.

URAIH, N.; CHIPLEY, J. R. Effects of various acids and salts on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* NRRL 3145. **Microbios**, v. 17, n. 67, p. 51-59, 1976.

VIRALLY, M. L.; RIVELINE, J. P.; VIRALLY, J.; CHEVOJON, P.; REGNARD, J. F.; BELMEKKI, A.; DEVIDAS, A. Pulmonary mucormycosis in a diabetic patient with HIV. **Diabetes Care**, v.25, n. 11, p. 2105, 2002.

VISAGIE, C. M.; HOBRAKEN, J.; FRISVAD, J. C.; HONG, S. B.; KLAASSEN, C. H. W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K. A.; VARGA, J.; YAGUCHI, T.; SAMSON, R. A. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. **Studies in mycology**, v. 78, p. 343-371, 2014.

VUJANOVIC, V.; SMORAGIEWICZ, W.; KRZYSZTYNIAK, K. Airborne fungal ecological niche determination as one of the possibilities for indirect mycotoxin risk assessment in indoor air. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2001.

WALKER, C.; MACIEL, C. G.; MILANESI, P. M.; MUNIZ, M. F. B.; MEZZONO, R.; POLLET, C. S. Morphological, molecular and pathogenicity characterization of *Fusarium acuminatum* and *Fusarium verticillioides* to *Cordia americana* seeds. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 2, p. 463-473, 2016.

WILD, C.P.; TURNER, P. C. The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. **Mutagenesis**, v.17, n. 6, p. 471-481, 2002.

WOUTERS, J.T.M.; AYAD, E. H. E.; HUGENHOLTZ, J.; SMIT, G. Microbes from raw milk for fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 2-3, p. 91-109, 2002.

WU, Q.; VLASTIMIL, D.; LINGLI, H.; KAMIL, K.; XU, W.; GUYUE, C.; ZONGHUI, Y. Metabolic pathways of ochratoxin A. **Current Drug Metab**, v.12, n. 1, p. 1- 10, 2011.

YAMADA, Y.; SUZUKI, T.; MATSUDA, M.; MIKATA, K. The phylogeny of *Yamadazyma ohmeri* (Etchells et Bell) Billon-Grand based on the partial sequences of 18S and 26S ribosomal RNAs: the proposal of *Kodamaea* gen. nov. (*Saccharomycetaceae*). **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.59, n. 6, p.1172-1174,1995.