

**UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS - UNISINOS
UNIDADE ACADÊMICA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL
NÍVEL MESTRADO**

ALESSANDRA WIRTH

**DESEMPENHO E DIVERSIDADE DE FUNGOS EM REVESTIMENTOS DE
FACHADAS EXTERNAS**

São Leopoldo

2021

ALESSANDRA WIRTH

**DESEMPENHO E DIVERSIDADE DE FUNGOS EM REVESTIMENTOS DE
FACHADAS EXTERNAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Paulo Gomes

São Leopoldo

2021

W799d Wirth, Alessandra.

Desempenho e diversidade de fungos em revestimentos de fachadas externas / Alessandra Wirth. – 2021.

169 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2021.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Bibliotecária: Amanda Schuster – CRB 10/2517)

ALESSANDRA WIRTH

**DESEMPENHO E DIVERSIDADE DE FUNGOS EM REVESTIMENTOS DE
FACHADAS EXTERNAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS

Aprovado em 11 de março de 2021

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luciana Paulo Gomes – PPGEC UNISINOS

Prof. Dr. Marcelo Oliveira Caetano – PPGEC UNISINOS

Prof. Dr. Victor Hugo Valiati – PPGBio UNISINOS

AGRADECIMENTOS À CAPES

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos meus pais, e ao Luís.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e pelas oportunidades que tenho.

Aos meus pais, Quirino e Mariani, por sempre estarem presentes e me dedicarem todo o amor e apoio incondicionais, além de me mostrarem desde cedo o valor da educação.

Ao Luís, meu amor e parceiro de vida, por sempre me apoiar e incentivar.

À minha família e amigos, por todo o apoio, em especial à Gisele, por toda a amizade e por dividir comigo mais essa etapa de nossas vidas.

À professora Dra. Luciana, pela orientação, conhecimento dividido e por acreditar em mim.

Ao professor Dr. Victor, por estar sempre disposto a auxiliar e por todo o aprendizado proporcionado.

Aos profissionais e alunos do Laboratório de Microbiologia e Toxicologia da UNISINOS, em especial à Ana, Alissa, Jéssica, Irene, Renan e Gabi, por todo o auxílio nos procedimentos em laboratório.

Aos colegas, professores e funcionários do PPGEC, e do Laboratório de Saneamento Ambiental, pelo convívio e apoio durante esse período.

E a todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (Madre Teresa de Calcutá).

RESUMO

WIRTH, A. **Desempenho e diversidade de fungos em revestimentos de fachadas externas**. São Leopoldo, 2021. 169 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (Unisinos), São Leopoldo, 2021.

Devido à fatores como a responsabilidade pelas condições de habitabilidade e estética, as fachadas são um dos subsistemas mais relevantes do edifício, possuindo elevados custos de manutenção e execução. O desenvolvimento biológico nestes elementos altera negativamente a estética do edifício, podendo causar a biodeterioração de seus materiais. Além do papel decorativo, tem-se percebido um aumento no interesse da função protetora das tintas, que são aplicadas com o intuito de preservar a superfície das edificações expostas ao intemperismo. Esta pesquisa teve por objetivo continuar o estudo realizado por Labres (2019), analisando o desempenho de duas tintas comerciais aplicadas em quatro fachadas externas com orientações norte e sul, quanto à proliferação de fungos entre 30 e 400 dias de pintura. Os fungos presentes nas superfícies foram coletados, cultivados e identificados através de técnicas de microscopia e sequenciamento de DNA. Microscopicamente identificou-se 12 gêneros nas amostras coletadas. Das amostras sequenciadas, obteve-se 75,86% de acerto ao comparar tais identificações por imagem com os resultados de sequenciamento, possibilitando adicionalmente, o reconhecimento de 6 novos gêneros não identificados morfologicamente. Durante os 400 dias de pintura, encontrou-se os gêneros: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Candida*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mycelia Sterilia*, *Neocucurbitaria*, *Nigrospora*, *Phanerochaete*, *Pithomyces*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* e *Tripospermum*. As maiores abundâncias foram mensuradas no verão, e cada coleta apresentou riquezas similares. Ao comparar os prédios, orientações e estações, percebe-se que existem diferenças significativas com maior abundância de gêneros no tratamento ST (Sem Tinta) em relação à TB (Tinta B). Na análise dos maiores índices de diversidade, os menores valores ocorreram no inverno, orientação sul tanto para ST quanto TB. Os melhores modelos lineares generalizados também apresentaram menores diversidades para TB com biocida, indicando melhor qualidade (ou melhor desempenho) desta em relação a TA (Tinta A), sem biocida.

Palavras-chave: Fungos. Biodeterioração. Tintas. Construção Civil.

ABSTRACT

WIRTH, A. **Performance and Fungi diversity on external facades coatings.** São Leopoldo, 2021. 169 f. Dissertation (Master Degree in Civil Engineering) – Postgraduate Civil Engineering Program, Unisinos, São Leopoldo, 2021.

As a result of factors such as responsibility for aesthetics and habitability conditions, facades are one of the building's most relevant subsystems, which have high maintenance and construction costs. The biological growth and its deposition on surfaces can negatively affect the building aesthetic such as its materials biodeterioration. Besides the decorative aspect of facades, it has been noticed an increasing tendency for ink technology investments regarding its application as a protective coating of building surfaces against weathering. Thus, this work aimed to continue the prior research developed by Labres (2019), evaluating the performance of 2 commercial inks on 4 external facades considering north and south orientations in relation to fungal proliferation between 30 and 400 days of monitoring. The fungi found on exposed surfaces were collected, cultivated, and posteriorly identified by microscopic and DNA sequencing techniques. As result, it was microscopically identified 12 fungi genders. From sequenced samples, it was acquired a correction percentage of 75.86% when comparing the image identifications with the sequencing technique. Additionally, through DNA molecular analysis by sequencing, it was detected 6 new genders not previously identified. Over 400 days of surface monitoring after painting, it was found the following fungi genders: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Candida*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mycelia Sterilia*, *Neocucurbitaria*, *Nigrospora*, *Phanerochaete*, *Pithomyces*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* e *Tripospermum*. The highest relative abundances were observed in summer, and each collect showed similar species richness. When comparing sort of buildings, orientations, and seasons, it was noticed significant differences with more gender abundance between treatments IF (Ink-free) and IB (Ink B). Amongst the highest diversity indexes observed, the lowest levels occurred in the winter under south orientation for treatments IF and IB. The best generalized linear models also showed the lowest diversities for IB, indicating better performance in relation to IA (Ink A).

Keywords: Fungi. Biodeterioration. Inks. Civil Construction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Degradação biológica em fachadas.	41
Figura 2 – Fluxograma do processo de fabricação de tintas látex.	51
Figura 3 - Zoneamento bioclimático brasileiro.	53
Figura 4 – Clima Rio-grandense: classificação de Köppen, temperatura média anual e precipitação acumulada anual.	54
Figura 5 – Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Acremonium</i> sp.	63
Figura 6 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Alternaria</i> sp.	64
Figura 7 - Colônia e microscopia do fungo <i>Aspergillus niger</i>	65
Figura 8 - Colônia e microscopia do fungo <i>Beauveria bassiana</i>	65
Figura 9 - Colônia e microscopia do fungo <i>Candida albicans</i>	66
Figura 10 - Colônia e microscopia do fungo <i>Cercospora zebrina</i> . 2 - Colônia com 30 dias em ágar de extrato de malte. 3 - fascículos conidióforos na superfície da folha. 4 - fascículos conidióforos. 5 - Conidióforo com locus conidiogênico escurecido. 6, 7, 8 - Conídios <i>in vivo</i> . Barras = 10 µm.	67
Figura 11 - Colônia e microscopia do fungo <i>Cladosporium cladosporioides</i>	68
Figura 12 - Colônia e microscopia do fungo <i>Curvularia lunata</i>	68
Figura 13 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Fusarium</i> sp.	69
Figura 14 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Nigrospora</i> sp.	70
Figura 15 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Penicillium</i> sp.	71
Figura 16 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	72
Figura 17 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Pithomyces</i> sp.	72
Figura 18 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Pyrenochaeta</i> sp.	73
Figura 19 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Talaromyces</i> sp.	74
Figura 20 - Colônia e microscopia do fungo do gênero <i>Trichoderma</i> sp.	74
Figura 21 - Microscopia do fungo do gênero <i>Tripospermum</i> sp.	75
Figura 22 – Correlações utilizadas.	83
Figura 23 – Localização das edificações.	84
Figura 24 – Demarcação das áreas de trabalho.	85
Figura 25 – Cronograma de coletas.	91
Figura 26 – Exemplo de catalogação de amostra.	92
Figura 27 – Procedimentos de coleta.	93

Figura 28 – Colônia identificada microscopicamente como <i>Alternaria</i>	109
Figura 29 - Colônia identificada microscopicamente como <i>Aspergillus</i>	110
Figura 30 - Colônia identificada microscopicamente como <i>Beauveria</i>	111
Figura 31 - Colônia identificada microscopicamente como <i>Candida albicans</i>	112
Figura 32 - Colônia identificada microscopicamente como <i>Candida krusei</i>	113
Figura 33 - Colônia identificada microscopicamente como <i>Candida tropicalis</i>	114
Figura 34 – Colônia identificada microscopicamente como <i>Cladosporium</i>	115
Figura 35 – Colônia identificada microscopicamente como <i>Curvularia</i>	116
Figura 36 – Colônia identificada microscopicamente como <i>Fusarium</i>	117
Figura 37 - Colônia identificada microscopicamente como <i>Penicillium</i>	118
Figura 38 – <i>Cercospora</i>	127
Figura 39 - <i>Neocucurbitaria</i>	128
Figura 40 – <i>Phanerochaete</i>	128
Figura 41 - <i>Trichoderma</i>	129
Figura 42 – <i>Talaromyces</i>	129
Figura 43 - <i>Pithomyces</i>	130
Figura 44- Abundância relativa dos 5 gêneros comuns.	136
Figura 45 - Análise de correspondência canônica (CCA).	138
Figura 46 - Boxplot com as medianas do índice de Simpson representadas pelas linhas escuras.	143
Figura 47 - Boxplot com as medianas do índice de Shannon representadas pelas linhas escuras.	143

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Volume de tinta produzido no Brasil em 2019.	43
Gráfico 2 – Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 04.	101
Gráfico 3 – Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 05.	102
Gráfico 4 – Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 07.	102
Gráfico 5 - Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 08.	103
Gráfico 6 - Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 09.	104
Gráfico 7 - Abundância e riqueza de gêneros encontrados nas coletas 07, 08 e 09.	105
Gráfico 8 – Riquezas taxonômicas das amostras sequenciadas.	122
Gráfico 9 – Resumo dos resultados obtidos através da análise molecular.	127

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Amostras escolhidas para sequenciamento.	95
Quadro 2 - Gêneros de fungos identificados nos prédios D07 e B13 durante os 400 dias de análise.	106
Quadro 3 – Amostras sequenciadas.	121
Quadro 4 - Teste estatístico (TUKEY) aplicado a todas as amostras, comparando os tipos de pinturas (Sem Tinta, Tinta A e Tinta B), admitindo a abundância de gêneros de fungos como variável dependente.....	131
Quadro 5 –Teste estatístico (TUKEY) aplicado aos tipos de pinturas (Sem Tinta, Tinta A e Tinta B) para estações do ano (verão e inverno), admitindo a abundância de gêneros de fungos como variável dependente.....	132
Quadro 6 –Teste estatístico (TUKEY) aplicado aos tipos de pinturas (Sem Tinta, Tinta A e Tinta B) para fachadas (norte e sul), admitindo a abundância de gêneros de fungos como variável dependente.....	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fatores de degradação e efeitos sobre o desempenho.	39
Tabela 2 – Grupos de aditivos segundo seu mecanismo de atuação.	45
Tabela 3 – Aditivos e suas funções.	46
Tabela 4 – Biocidas utilizados na armazenagem das tintas.	48
Tabela 5 – Biocidas utilizados para a preservação do filme seco.	49
Tabela 6 – Fatores de influência para germinação e crescimento de fungos.	58
Tabela 7 - Fungos que afetam os materiais de construção.	61
Tabela 8 – Técnicas de amostragem.	76
Tabela 9 – Características das fachadas.	84
Tabela 10 – Informações gerais das tintas aplicadas.	87
Tabela 11 – Ingredientes perigosos citados na FISPQ das tintas aplicadas.	88
Tabela 12 – Equipamentos utilizados.	89
Tabela 13 – Dados obtidos nas coletas realizadas.	100
Tabela 14 - Identificação das amostras enviadas para o sequenciamento.	120
Tabela 15 - Identificação morfológica e molecular por similaridade às sequências disponíveis nos bancos de dados do NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) e BOLD (http://boldsystems.org/index.php/databases).	123
Tabela 16 - Sinônimos homotípicos das espécies encontradas.	126
Tabela 17 – Índices de diversidade, dominância e equitabilidade.	140
Tabela 18 - Valores de cada GLM.	142

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABRAFATI	Associação Brasileira dos Fabricantes de Tintas
AIC	Critério de Akaike
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
B13	Edificação localizada no Campus Unisinos - SL, Prédio 13, Setor B
C	Simpson
CCA	Análise de correspondência canônica
COV	Compostos orgânicos voláteis
D07	Edificação localizada no Campus Unisinos - SL, Prédio 07, Setor D
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FISPQ	Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos
GLM	Modelos lineares generalizados
H'	Índice de Shannon-Weaver
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i> (Espaçador transcrito interno)
J	Equitabilidade de Pielou
NBR	Normas Brasileiras de Regulação
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PDNU	Programa de Desenvolvimento das Nações Unidas
PVAc	Poliacetato de Vinila
rDNA	DNA ribossomal
sp.	Espécie
spp.	Espécies
ST	Sem tinta
TA	Tinta A
TB	Tinta B
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	31
1.1 OBJETIVOS	32
1.1.1 Objetivo Geral	32
1.1.2 Objetivos Específicos	33
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	35
2.1 SUSTENTABILIDADE NAS CONSTRUÇÕES	35
2.2 DURABILIDADE	37
2.3 SISTEMAS DE FACHADAS	40
2.3.1 Tintas	42
2.3.1.1 Composição	43
2.3.1.1.1 Resina	43
2.3.1.1.2 Pigmento	44
2.3.1.1.3 Solvente	45
2.3.1.1.4 Aditivos	45
2.3.1.2 Biocidas	46
2.3.1.3 Fabricação	50
2.4 DESEMPENHO TÉRMICO	52
2.5 FUNGOS NAS EDIFICAÇÕES	54
2.5.1 Presença de fungos	55
2.5.1.1 <i>Acremonium</i> sp.	62
2.5.1.2 <i>Alternaria</i> sp.	63
2.5.1.3 <i>Aspergillus</i> sp.	64
2.5.1.4 <i>Beauveria</i> sp.	65
2.5.1.5 <i>Candida</i> sp.	66
2.5.1.6 <i>Cercospora</i> sp.	66
2.5.1.7 <i>Cladosporium</i> sp.	67
2.5.1.8 <i>Curvularia</i> sp.	68
2.5.1.9 <i>Fusarium</i> sp.	69
2.5.1.10 <i>Mycelia Sterilia</i>	69
2.5.1.11 <i>Nigrospora</i> sp.	70
2.5.1.12 <i>Penicillium</i> sp.	70
2.5.1.13 <i>Phanerochaete</i> sp.	71

2.5.1.14 <i>Pithomyces</i> sp.....	72
2.5.1.15 <i>Pyrenochaeta</i> sp.....	73
2.5.1.16 <i>Talaromyces</i> sp.....	73
2.5.1.17 <i>Trichoderma</i> sp.....	74
2.5.1.18 <i>Tripospermum</i> sp.....	75
2.5.2 Identificação de fungos	75
2.5.3 Ensaio de resistência ao crescimento de fungos	78
2.5.4 Resultados obtidos por Labres (2019).....	80
3 METODOLOGIA.....	83
3.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO E AMOSTRAS	83
3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	85
3.2.1 Preparação da superfície	85
3.2.2 Tintas	86
3.2.3 Equipamentos	88
3.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	89
3.3.1 Coleta.....	89
3.3.2 Inoculação	92
3.3.3 Isolamento e repicagem	93
3.3.4 Armazenamento de fungos	94
3.3.5 Identificação.....	94
3.3.5.1 Identificação morfológica	94
3.3.5.2 Identificação molecular	95
3.3.5.2.1 <i>Extração de DNA e sequenciamento</i>	95
3.3.5.2.2 <i>Análises das sequências e a definição taxonômica molecular</i>	96
3.3.6 Análise estatística.....	97
4 APRESENTAÇÃO, ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	99
4.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	99
4.1.1 Abundância e riqueza das coletas realizadas.	99
4.1.2 Gêneros identificados entre 30 e 400 dias de pintura	105
4.1.2.1 Colônias isoladas nas coletas 07, 08 e 09.....	108
4.1.2.1.1 <i>Alternaria</i>	109
4.1.2.1.2 <i>Aspergillus</i>	110
4.1.2.1.3 <i>Beauveria</i>	111
4.1.2.1.4 <i>Candida</i>	112

4.1.2.1.5 <i>Cladosporium</i>	114
4.1.2.1.6 <i>Curvularia</i>	115
4.1.2.1.7 <i>Fusarium</i>	116
4.1.2.1.8 <i>Penicillium</i>	117
4.1.3 Gêneros identificados molecularmente	119
4.1.4 Análise estatística	130
5 CONCLUSÃO	145
REFERÊNCIAS.....	149
APÊNDICE A – COLÔNIAS ISOLADAS	157

1 INTRODUÇÃO

As construções são vulneráveis às mudanças climáticas (GRYNNING *et al.*, 2017), o que somado à poluição urbana, a baixa qualidade dos materiais de construção, e problemas de projeto e execução, faz com que estas apresentem precocemente altos níveis de degradação e envelhecimento, afetando negativamente aspectos como segurança, estética e durabilidade. (POSSAN e DEMOLINER, 2013).

Alterações indesejáveis nas estruturas ou materiais, ocasionadas por organismos vivos são denominadas como biodeterioração. Este tipo de degradação é responsável por danos físicos ou mecânicos, bioquímicos, ou apenas estéticos, podendo ser comum a atuação conjunta destes três agentes de deterioração. (DI GIUSEPPE, 2013).

Em virtude de seu clima tropical, os edifícios pintados no Brasil estão particularmente sujeitos ao crescimento microbiano, que caso não seja controlado, pode resultar na descoloração superficial, rachaduras, descamação e penetração de água. (SHIRAKAWA, 2011). Além de riscos à saúde humana (SIMON-NOBBE *et al.*, 2008), a presença de fungos nas superfícies de construções também contribui para a degradação da tinta e acabamentos, promovendo consequências sanitárias, efeitos econômicos e sociais. (DI GIUSEPPE, 2013).

Apesar de muitos tipos de micro-organismos serem encontrados nas construções, ainda são desconhecidos seu papel ecológico, impacto na saúde humana e até mesmo aspectos da composição destas comunidades. O que torna imprescindível a necessidade de um melhor entendimento destes aspectos e as condições favoráveis ao seu crescimento, a fim de preservar as edificações deste tipo de degradação e de consequências sociais e econômicas, além de garantir um ambiente saudável. (DI GIUSEPPE, 2013; GILBERT e STEPHENS, 2018).

Graças à sua influência no desempenho e durabilidade das construções, as tintas vêm sendo utilizadas para acabamentos internos e externos, proporcionando grande capacidade de proteção e valorizando a estética do empreendimento. (UEMOTO, 2002). A norma americana ASTM D3273-16 (ASTM, 2016) define um ensaio acelerado para determinar a resistência de revestimentos interiores ao crescimento de mofo (ASTM, 2016). Já em âmbito nacional, pode-se citar quatro normas que determinam métodos para este tipo de análise, a NBR 15301 (ABNT, 2005), NBR 14941 (ABNT, 2011), NBR 15987 (ABNT, 2011) e NBR 15458 (ABNT,

2007). Todas são úteis tanto na estimativa do desempenho destes revestimentos, quanto na avaliação de compostos que possam inibir tal desenvolvimento, porém estas podem não permitir a obtenção de resultados muito próximos aos encontrados no ambiente devido à grande variedade de gêneros de fungos e diferentes parâmetros ambientais que devem ser mensurados.

Com base nos aspectos descritos anteriormente, esta pesquisa se propôs a continuar os estudos já realizados (LABRES, 2019) com o objetivo de verificar o desempenho quanto à proliferação de fungos de dois tipos de tintas aplicadas em quatro fachadas externas em diferentes orientações solares. Também foram realizadas adicionalmente, técnicas de extração e sequenciamento de DNA para a identificação dos gêneros encontrados.

Este trabalho está estruturado em cinco capítulos. No primeiro capítulo há a introdução ao tema abordado e os objetivos geral e específicos. O segundo capítulo expõe os conceitos necessários à elaboração da pesquisa, como a sustentabilidade nas construções, definição de durabilidade e propriedades dos revestimentos, com ênfase nas tintas, apresentação do clima rio-grandense e abordagem à presença de fungos em edificações e seus métodos de identificação.

No terceiro capítulo estão apresentados os procedimentos e materiais necessários para a realização das análises das amostras coletadas nas edificações, como o método de coleta, inoculação, cultivo, armazenamento e identificação dos fungos, além da análise estatística empregada. Os resultados obtidos através das coletas e análises realizadas estão relatados no quarto capítulo. Por fim, o quinto capítulo traz a conclusão e considerações finais sobre o estudo.

1.1 OBJETIVOS

Os objetivos desta pesquisa dividem-se em geral e específicos, e estão descritos a seguir.

1.1.1 Objetivo Geral

Analisar o desempenho de duas tintas comerciais quanto à proliferação de fungos em fachadas externas.

1.1.2 Objetivos Específicos

Para atingir ao objetivo geral desta dissertação foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- a) identificar microscopicamente os fungos presentes no biofilme formado nas superfícies sem pintura e nas revestidas com diferentes tipos de tintas;
- b) comparar a presença de fungos entre os períodos de 30, 101, 248, 276 e 400 dias de pintura, e identificá-los através da extração e sequenciamento de DNA;
- c) avaliar o desempenho das tintas em relação à inibição da proliferação dos fungos ao longo das mudanças de estação e após um ano de aplicação.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Para a fundamentação teórica da pesquisa, são abordados neste capítulo temas relacionados à sustentabilidade nas construções, durabilidade, sistemas de fachadas e seus revestimentos, com ênfase nas tintas, o clima rio-grandense e a presença de fungos nas edificações.

2.1 SUSTENTABILIDADE NAS CONSTRUÇÕES

Nos últimos anos, devido ao momento de transformação do setor da construção civil, qualidade, gestão, tecnologia e sustentabilidade são temas que ganharam espaço entre as empresas. (SOUZA, 2015). Os impactos nocivos do crescimento econômico e aumento do consumo de recursos naturais, assim como a importância do desenvolvimento sustentável, também vem sendo reconhecidos. (WHANG e KIM, 2015; RUSS, HANID e YE, 2018; PDNU, 2019). Khasreen, Banfill e Menzies (2009), com base em outros estudos, complementam que a indústria da construção civil é responsável por até 50% das emissões globais de gases de efeito estufa e agentes de chuva ácida, além de apresentar uma alta porcentagem dos impactos ambientais produzidos pelos países desenvolvidos.

Ademais, o Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2019) aponta que os resíduos oriundos da construção compõem mais de 50% dos resíduos sólidos gerados pelo conjunto das atividades humanas. Desta forma, necessita-se desenvolver ações para a redução do impacto da atividade construtiva no meio ambiente, como a disposição adequada dos resíduos, e tão importante quanto, a promoção de ações que incentivem sua redução diretamente nos canteiros de obras, já que o desperdício destes materiais implica no desperdício de recursos naturais. (SOUZA *et al.*, 2004).

Segundo a Resolução nº 307 do Conama, de 17 de julho de 2002, os resíduos da construção civil são divididos em quatro classes (BRASIL, 2002):

1. Classe A: resíduos reutilizáveis ou recicláveis como agregados (argamassa, concreto, blocos, tijolos e solo);
2. Classe B: resíduos recicláveis para outras destinações (plásticos, papel/papelão, metais, vidros e madeiras);

3. Classe C: resíduos para os quais não foram desenvolvidas tecnologias ou aplicações economicamente viáveis que permitam a sua reciclagem ou recuperação;
4. Classe D: resíduos perigosos oriundos do processo de construção (tintas, solventes, óleos e outros).

Esta resolução sofreu algumas alterações ao longo dos anos, sendo na resolução nº 348, de 16 de agosto de 2004, incluídos na classe D os resíduos que contenham produtos prejudiciais à saúde, como o amianto, e na resolução nº 431 de 24 de maio de 2011, alterou-se a classe de resíduos de gesso de C para B. Através da nº 448 de 18 de janeiro de 2012, foram inseridas e alteradas definições, como por exemplo a caracterização de aterros de resíduos classe A, locais para a reservação de materiais para usos futuros, área de transbordo e triagem de resíduos da construção civil e resíduos volumosos, gerenciamento de resíduos sólidos e gestão integrada de resíduos sólidos. A resolução nº 469 de 29 de julho de 2015, incluiu na classe B as embalagens vazias de tintas imobiliárias, definidas como aquelas “cujo recipiente apresenta apenas filme seco de tinta em seu revestimento interno, sem acúmulo de resíduo de tinta líquida”, sendo que estas devem ser submetidas ao sistema de logística reversa. (BRASIL, 2004; BRASIL 2011; BRASIL 2012; BRASIL, 2015).

Tanto o processo produtivo, quanto a geração de efluentes e resíduos do setor de tintas e vernizes, geram impactos ambientais, como por exemplo, a emissão de compostos orgânicos voláteis (COV), efluentes com altas concentrações de solventes, sólidos suspensos e óleos e graxas. Além disso, devido às contaminações biológicas, as quais as tintas estão sujeitas, tanto na embalagem quanto depois de aplicadas, em sua formulação são adicionados os chamados biocidas, que apresentam função de prevenção ao desenvolvimento destes micro-organismos. Porém estes, como qualquer produto químico, podem representar riscos aos trabalhadores, consumidores e ao meio-ambiente. (FAZENDA, 1995; YAMANAKA *et al.*, 2008).

Para avaliar os danos à saúde que podem ser provocados por estes compostos químicos, são aplicados testes de toxidez, e a seleção de biocidas que preservem o meio ambiente. Fazenda (1995) entende que mesmo biocidas tóxicos não provocarão danos ao meio ambiente em concentrações suficientemente baixas, considerando-se que os biocidas degradáveis são mais seguros por apresentarem baixas

concentrações no ambiente quando comparados aos não degradáveis, sendo que esses últimos tendem a se acumular em animais ou águas subterrâneas.

Como medidas para a diminuição destes impactos, cada vez mais indústrias estão engajadas na substituição de matérias-primas perigosas por outras menos tóxicas e impactantes ambientalmente. Tendo como exemplo, a substituição dos pigmentos de metais pesados, além da substituição de biocidas à base de mercúrio por compostos de isotiazolina e agentes coalescentes para tintas aquosas com baixo teor de COV. (YAMANAKA *et al.*, 2008).

Estas afirmativas demonstram o campo em aberto de pesquisa na área de desempenho de tintas, bem como a associação desta característica à composição do material e também as questões ambientais locais que permitem a maior ou menor proliferação de fungos. O desenvolvimento de tintas que minimizem ou eliminem estes organismos, sem a necessidade de incorporação de elementos tóxicos quando do descarte dos materiais pós-uso são pontos a serem almejados com novos estudos.

2.2 DURABILIDADE

A NBR 15575-1 (ABNT, 2013) define durabilidade como a “capacidade da edificação ou de seus sistemas de desempenhar suas funções, ao longo do tempo e sob condições de uso e manutenção especificadas”. Esta, por sua vez, está diretamente associada ao desempenho dos materiais sob determinadas condições ambientais, não sendo propriedade específica destes elementos. (POSSAN e DEMOLINER, 2013).

Os materiais implementados nos sistemas construtivos das edificações estão susceptíveis à diversas condições de exposição, tanto à fenômenos naturais, relacionadas ao clima da região onde localiza-se a construção, quanto às devidas à sua utilização, como ação do fogo e cargas permanentes. O equilíbrio entre as propriedades do produto aplicado e as condições de exposição, é chamado de desempenho. (SOUZA, 2015).

A NBR 15575-1 (ABNT, 2013) define desempenho como “comportamento em uso de uma edificação e de seus sistemas”. Possan e Demoliner (2013) relacionam a vida útil diretamente com o ambiente de exposição e frequência de ações de manutenção, compreendendo o início do uso e operação da edificação ao ponto em que suas funções deixam de atender às exigências do usuário.

Desempenho e vida útil são conceitos diretamente ligados à durabilidade das edificações ou sistemas construtivos. A avaliação de desempenho do edifício e suas partes, e a modernização das normativas e certificações é extremamente valiosa para o fomento de soluções, produtos e sistemas construtivos inovadores. (SOUZA, 2015). Neste contexto, pode-se citar a importância da norma de desempenho NBR 15575 (ABNT, 2013), que tem como foco as “exigências dos usuários para o edifício habitacional e seus sistemas”. A conservação do cumprimento das exigências de desempenho do edifício ao longo da vida útil é exigência básica quanto à durabilidade, sendo realizadas manutenções, reposições e mantendo as condições normais de uso. (SOUZA, 2015).

Sarja e Vesikari (1996, apud FERREIRA, 2000) listam na Tabela 1 os principais fatores de degradação e seu efeito sobre o desempenho dos materiais.

Tabela 1 - Fatores de degradação e efeitos sobre o desempenho.

Fator de degradação	Processo	Degradação
Mecânicos		
Carregamento estático	Deformação	Deflexão, fissuração, ruptura
Carregamento cíclico	Fadiga, deformação	Deflexão, fissuração, ruptura
Carregamento por impacto	Fadiga	Vibração, fissuração, ruptura
Biológicos		
Micro-organismos	Produção de ácido	Lixiviação
Bactérias	Produção de ácido	Lixiviação
Químicos		
Água pura	Lixiviação	Desagregação do concreto
Ácido	Lixiviação	Desagregação do concreto
Ácido e gases ácidos	Neutralização	Despassivação do aço
Ácido e gases ácidos	Neutralização	Despassivação do aço
Dióxido de carbono	Carbonatação	Despassivação do aço
Cloretos	Penetração	Despassivação do aço
Despassivação do aço + H ₂ O + O ₂	Corrosão	Expansão do aço, perda de aderência
Tensão + cloretos	Corrosão do aço	Ruptura dos tendões de pré-esforço
Sulfatos	Pressão dos cristais	Desagregação do concreto
Agregados (sílica) + álcalis	Reação da sílica	Expansão, desagregação
Agregados + álcalis	Reação do carbonato	Expansão, desagregação
Físicos		
Temperatura e umidade	Expansão / Contração	Deformação restringida
Baixa temperatura + água	Formação de gelo	Desagregação do concreto
Sal descongelante + geada	Transferência de calor	Destacamento do concreto
Gelo (mar)	Abrasão	Destacamento, fissuração
Trânsito	Abrasão	Desgaste e ruptura
Água corrente	Erosão	Danos superficiais
Água turbulenta	Cavitação	Cavidades
Eletr magnéticos		
Eletricidade	Corrosão	Expansão, perda de aderência
Magnetismo	Corrosão	Expansão do aço, perda de aderência

Fonte: Adaptado de Sarja e Vesikari (1996, apud FERREIRA, 2000, p. 35).

2.3 SISTEMAS DE FACHADAS

Segundo a NBR 15575-4 (ABNT, 2013), sistemas de vedação vertical são “partes da edificação habitacional que limitam verticalmente a edificação e seus ambientes, como as fachadas e as paredes ou divisórias internas”. Estes sistemas devem obedecer aos requisitos estabelecidos na NBR 15575 (ABNT, 2013) independentemente do tipo de material empregado e função, e são de suma importância para o conforto e segurança do usuário, além da manutenção da vida útil e durabilidade dos materiais.

Diversos estudos estimam que os custos anuais de operação e manutenção das edificações em uso variam entre 1% e 2% do seu custo inicial. (ABNT, 1999). E sendo as fachadas um subsistema de extrema relevância aos edifícios, tanto pela responsabilidade de habitabilidade e estética, quanto à manutenção das condições ambientais internas, estas possuem elevados custos de manutenção e execução. Devido à sua posição, como o elemento mais exposto aos ataques dos agentes externos de degradação, seus componentes sofrem um processo progressivo de degradação e comprometimento de seu desempenho. (MENDES, 2009; OLIVEIRA, 2009; BRAGA, 2010).

A NBR 15575-4 (ANBT, 2013) diz que as vedações podem funcionar como contraventamento ou sofrer ações de deformações da estrutura, mesmo não sendo prevista aplicação estrutural, além disso devem prover estanqueidade, isolamento térmica e acústica e compartimentação em situações de incêndio.

O desenvolvimento biológico nas fachadas, que altera negativamente a estética do edifício devido ao fluxo colorido (Figura 1), pode ser por vezes observado apenas alguns anos após a implementação de seu revestimento, tendo seu início em locais sujeitos a alta umidade. Geralmente, a colonização dos elementos das fachadas inicia-se rapidamente por bactérias, que são seguidas por algas e cianobactérias. Estes micro-organismos acabam por formar o biofilme primário, que permite a colonização de líquens, musgos e fungos. (BARBEROUSSE, 2006).

Figura 1 – Degradação biológica em fachadas.



Fonte: Barberousse (2006).

Além das condições ambientais as quais o edifício está exposto, sua própria arquitetura pode fornecer condições favoráveis a estes desenvolvimentos, como por exemplo a preferência da colonização por fachadas com menor insolação e, portanto, maior umidade remanescente e escoamento da água na junção de revestimentos diferentes. (BARBEROUSSE, 2006).

Os revestimentos externos aplicados em fachadas possuem características que influenciam no desenvolvimento biológico, são estes (BARBEROUSSE, 2006):

- a) porosidade: além de ser determinante na retenção de umidade e absorção de água por capilaridade, pode permitir a fixação do micro-organismo no material;
- b) higroscopia: determina a capacidade do material de capturar a umidade do ar;
- c) rugosidade: é definida pelo modo de aplicação e textura do material, afeta tanto o tempo pelo qual a água ficará retida na superfície do material e seu fluxo, quanto à ancoragem dos micro-organismos e matéria orgânica.
- d) composição química: influencia o tipo de micro-organismo colonizador e a taxa de colonização. Considerando que cada espécie possui preferências ecológicas distintas, algumas substâncias podem acelerar ou retardar sua implantação.

Devido à sua exposição a ações externas, as tintas são aplicadas em fachadas com função de proteger estes elementos da degradação, além de valorizar esteticamente as edificações. Esta degradação pode ser quantificada através da identificação das diversas deformidades que podem surgir em razão da deterioração natural e precoce das superfícies pintadas. (CHAI *et al.*, 2011). Tanto o crescimento de mofo na superfície quanto a aplicação do revestimento à uma superfície com mofo, podem comprometer o desempenho deste acabamento, já que sua adesão ao substrato é reduzida pela interferência física do bolor ou mofo. (COATINGS *et al.*, 1999).

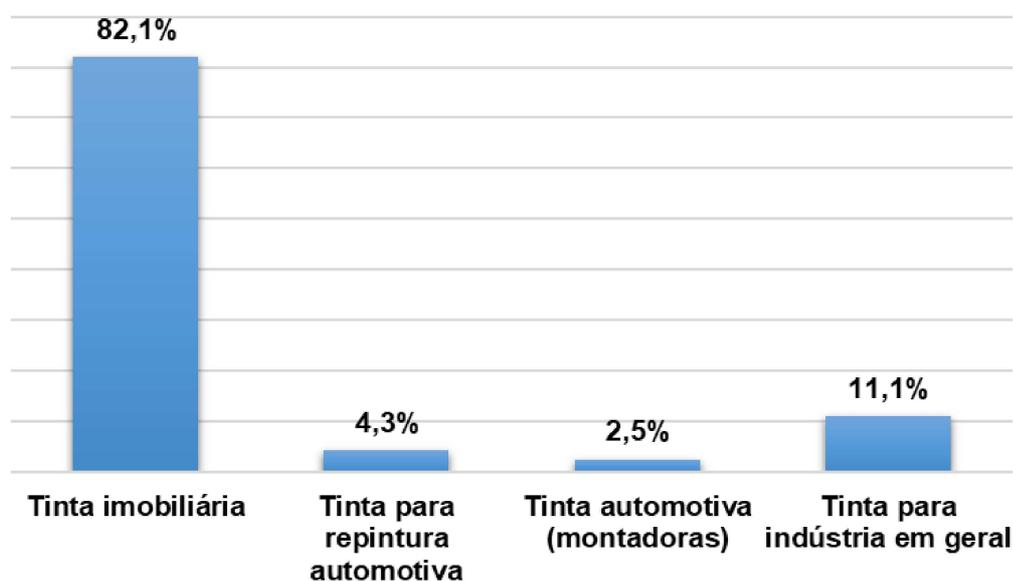
2.3.1 Tintas

As tintas possuem papel decorativo, porém ao longo dos anos, sua função protetora tem despertado maior interesse, passando a ser empregada com a combinação destas duas atribuições. Existem diversos critérios que podem ser utilizados em sua classificação, como seu uso (tintas imobiliárias e tintas industriais) ou em relação ao mecanismo da formação do filme protetor e sua secagem (lacas, látex e termoconvertíveis). Na construção civil, usa-se comumente tintas do tipo látex PVAc (poliacetato de vinila) e acrílico, esmalte sintético, resina epóxi e tinta à óleo. (UEMOTO, 2002; YAMANAKA *et al.*, 2008).

Uemoto e Hehl (1988) dizem que as tintas devem atender à requisitos básicos de desempenho durante sua vida útil, entre eles, proteger o substrato da ação da umidade, não apresentar modificações na capacidade de repelência à água, não permitir o desenvolvimento de micro-organismos em sua superfície e não exibir alterações de cor e brilho superiores ao nível admissível.

No ano de 2019 o Brasil produziu 1,569 bilhões de litros de tinta, demonstrando um crescimento de 1,4% em relação ao ano anterior, o que faz com que o país esteja entre os cinco maiores mercados mundiais para tintas. Do total do volume produzido no mesmo ano, como pode ser observado no Gráfico 1, mais de 80% é constituído pela tinta imobiliária, o que representa 1,289 bilhões de litros. (ABRAFATI, 2019).

Gráfico 1 – Volume de tinta produzido no Brasil em 2019.



Adaptado de ABRAFATI (2020).

2.3.1.1 Composição

As tintas como via de regra, são formadas da mistura de uma parte sólida (com a função de formar a película), uma parte volátil (utilizada como solvente), e aditivos, que são responsáveis por propriedades importantes do revestimento. São diversos os elementos utilizados como componentes básicos para constituição das tintas, sendo estes brevemente descritos a seguir com base nas bibliografias de Fazenda (1995), Uemoto (2002) e Yamanaka *et al.* (2008):

2.3.1.1.1 Resina

É a parte não-volátil da tinta, responsável pela formação do filme e de suas características físicas e químicas, determinando o brilho, a resistência química e física, a secagem e a aderência. Atualmente, as propriedades de resistência e durabilidade superiores às antigas são obtidas por meio de polímeros originados por reações complexas realizadas pela indústria petroquímica ou química. A seguir uma breve descrição de algumas resinas comumente utilizadas:

- a) resinas alquídicas: são poliésteres modificados com ácidos graxos que surgiram para melhorar as propriedades físico-químicas dos óleos utilizados

em tintas, como secagem mais rápida, melhor resistência ao intemperismo e menor tendência ao amarelamento.

- b) resinas epóxi: sua preparação se dá pela introdução do grupo glicidila em uma outra espécie química que contém hidrogênios ativos, sendo a epícloridrina o agente quase universal portador do grupo glicidila e o bisfenol A, a espécie química mais comum com hidrogênios ativos. São usadas na formulação de tintas protetivas de alto desempenho, resistência química, aderência e resistência a abrasão.
- c) resinas acrílicas: são polímeros formados pela polimerização de monômeros acrílicos e metacrílicos, a qual resulta em emulsões acrílicas usadas nas tintas látex.
- d) emulsões vinílicas: São polímeros obtidos na copolimerização em emulsão de acetato de vinila com diferentes monômeros como o acrilato de butila e di-butil maleato. Constituem uma importante classe de veículos para tintas devido a combinarem as características vantajosas dos monômeros acrílicos e vinílicos, como o baixo custo e facilidade de polimerização, além da substituição de solventes orgânicos pelo uso da água.

2.3.1.1.2 Pigmento

É um material sólido e insolúvel no meio, responsável pela cor, opacidade ou ação anticorrosiva, e por refletir a luz. Também é utilizado para dar alvura, cobertura e durabilidade à tinta. Quando relacionado à sua natureza química, pode ser dividido em duas categorias:

- a) pigmentos inorgânicos: são todos os pigmentos brancos e cargas, e grande faixa dos pigmentos coloridos, sintéticos ou naturais, como o dióxido de titânio, óxidos de ferro, zinco e cromo, cromatos de chumbo e zinco.
- b) orgânicos: todos apresentam em sua estrutura química grupamentos cromóforos (responsáveis pela cor) e grupamentos auxocromos (que modificam e/ou intensificam as propriedades da cor), e normalmente não possuem características ou funções anticorrosivas.

2.3.1.1.3 Solvente

Podem ser orgânicos (hidrocarbonetos e oxigenados) ou aquoso (utilizam como fase volátil a água com uma pequena quantidade de líquidos orgânicos compatíveis), têm como objetivo dissolver a resina e proporcionar a viscosidade adequada à tinta. Devem ser incolores, voláteis, quimicamente estáveis, neutros, inodoros ou de odor fraco ou agradável, e com propriedades físicas constantes.

Quimicamente estes produtos podem se classificar em seis diferentes grupos: terpenos, hidrocarbonetos, oxigenados, furanos, nitroparafinas e clorados. E por seu poder de solvência podem ser divididos em três classes:

- I. solventes verdadeiros: que dissolvem ou se misturam em uma determinada resina em quaisquer proporções;
- II. solventes latentes: que só dissolvem ou se misturam em conjunto com outro solvente latente em uma resina;
- III. solventes inativos: não se dissolvem ou se misturam, isoladamente ou em conjunto, com uma resina.

2.3.1.1.4 Aditivos

Substâncias que adicionadas à tinta proporcionam características especiais ao produto, e que, em quantidades pequenas, já interferem na fabricação, estabilidade, aplicabilidade e qualidade do filme. Dificilmente a composição da tinta possui um percentual maior do que 5% de aditivos, podendo estes serem divididos por seu mecanismo de atuação, conforme Tabela 2.

Tabela 2 – Grupos de aditivos segundo seu mecanismo de atuação.

Aditivos de Cinética	Aditivos de Reologia	Aditivos de processo	Aditivos de Preservação
Secantes	Espessantes	Surfactantes	Biocidas
Catalisadores	Niveladores		Estabilizantes de ultravioleta
Antipeles	Antiescorrimento		

Fonte: Adaptado de Fazenda (1995).

A formulação equilibrada da tinta exige um trabalho criterioso e minucioso, já que um aditivo pode assumir vários papéis. A seguir são citados na Tabela 3 alguns dos aditivos empregados e suas funções.

Tabela 3 – Aditivos e suas funções.

Aditivo	Função
Fotoiniciadores	Formação de radicais livres quando submetidos à ação da radiação UV iniciando a cura das tintas de cura por UV.
Secantes	Catalisadores da secagem oxidativa de resinas alquídicas e óleos vegetais polimerizados.
Agentes reológicos	Modificam a reologia das tintas, necessária para se conseguir nivelamento e diminuição do escorrimento.
Inibidores de corrosão	Conferem propriedades anti-corrosivas ao revestimento.
Dispersantes	Melhoram a dispersão dos pigmentos.
Umectante	Nos sistemas aquosos aumentam a molhabilidade de cargas e pigmentos, facilitando a sua dispersão.
Bactericidas	Evitam a degradação do filme da tinta devida à ação de bactérias, fungos e algas.
Coalescentes	Facilitam a formação de um filme contínuo na secagem de tintas base água unindo as partículas do látex.

Fonte: Adaptado de Yamanaka *et al.* (2008).

2.3.1.2 Biocidas

As tintas à base de água são propensas à contaminação e deterioração por algas, bactérias e fungos unicelulares e filamentosos, que utilizam os compostos orgânicos presentes nas tintas como nutrientes para se desenvolverem tanto no filme seco, quanto na tinta úmida. A fim de impedir o comprometimento das funções de decoração e proteção das tintas, são adicionados em sua formulação produtos químicos que possuem uma toxicidade específica para a espécie a ser eliminada, chamados de biocidas. (FAZENDA, 1995; WOODWARD, 2012; DI GIUSEPPE, 2013).

Estes biocidas devem eliminar os micro-organismos, não oferecer riscos aos operadores, usuários e meio ambiente, ou provocar efeitos indesejáveis no produto, e ser eficaz para diferentes formulações. Devido as algas e fungos serem eucariotos, e suas estruturas celulares um pouco mais complexas do que as células bacterianas

procarióticas, os fungicidas e algicidas geralmente são mais tóxicos que os bactericidas. Cabe ressaltar que alguns bactericidas, em concentrações mais altas, são eficazes contra fungos, assim como alguns fungicidas em concentrações mais baixas atuarão como bactericidas. (FAZENDA, 1995; WOODWARD, 2012).

Durante o processo de fabricação pode ocorrer a contaminação destes produtos através da água, matérias-primas ou equipamentos, ocasionando perda da viscosidade, maus odores e descoloração. Para evitar estes problemas, são utilizados alguns dos biocidas listados na Tabela 4, para a conservação das tintas durante a sua armazenagem. (FAZENDA, 1995; WOODWARD, 2012).

Tabela 4 – Biocidas utilizados na armazenagem das tintas.

Nome Químico	CAS Nº.*	Organismos Alvo	Modo de Ação
4,4-dimetiloxazolidina	51200-87-4	Bactérias e fungos	Liberador de formaldeído
5-hidróximetil-1-aza-3,7-dioxabicyclo (3,3,0) octano	56709-13	Bactérias – como bacteriostáticos	Liberador de formaldeído
Hexa-hidro-1,3,5-tris (hidroxietil)-s-triazina	4719-04-4	Bactérias	Liberador de formaldeído
Hexa-hidro-1,3,5-trimetil-s-triazina	7779-27-36	Bactérias	Liberador de formaldeído
1-(3-cloroalil)-3,5,7-triaza-1-azonia-adamantano 2 [(Hidroximetil) amino] etanol	44080-31-3	Bactérias e fungos	Liberador de formaldeído
	34375-28-5	Bactérias e fungos	Inibe o transporte ativo; coagula proteína; hidrólise resulta na liberação de formaldeído
4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona	64359-81-5	Fungos e Algas	Reage com tióis e aminas
(((2-di-hidro-5-metil-3 (2H) -oxazolil) - 1- metiletoxi] metoxi) metoxi] metanol	40382-75-0	Bactérias e fungos	Liberador de formaldeído
	70161-44-3	Bactérias e fungos	Liberador de formaldeído
Hidroximetilglicinato de sódio 1-hidroximetil-3,5-dimetilpirazol	85264-33-1	Bactérias	Inibe a desidrogenase do álcool e o metabolismo do etanol
	35691-65-7	Bactérias, fungos e algas	Possui vários centros de retirada de elétrons
5-cloro-2-metil-3 (H) -isotiazolina + 2-metil-3 (H) -isotiazolina	26172-55-4 e 2682-20-4	Bactérias	Inibe a síntese macromolecular (DNA, RNA, proteínas, etc.) além de formas altamente reativas
1,2-benzisotiazolina-3-ona	2634-22-5	Bactérias	Reage com grupos tiol, especialmente aqueles associados à membrana citoplasmática
2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol	52-51-7	Bactérias	Reage com grupos tiol, especialmente aqueles associados a enzimas
Mistura de 1,2-benzisotiazolino-3-ona + 2-metil-3 (H) -isotiazolina	2634-22-5 e 2682-20-4	Bactérias	Reage com grupos tiol
Mistura de 1,2-benzisotiazolino-3-ona + 2-bromo-2- nitropropano-1,3-diol	2634-22-5 e 52-51-7	Bactérias	Reage com grupos tiol
Mistura de 5-cloro-2-metil-3 (H) - isotiazolina + 2-metil-3 (H) - isotiazolina + 2-bromo-2- nitropropano-1,3-diol	26172-55-4, 2682-20-4 e 52-51-7	Bactérias	Reage com grupos tiol

* Indicador numérico atribuído pelo *Chemical Abstracts Service*, divisão pertencente a Sociedade Americana de Química.

Fonte: Adaptado de Woodward (2012).

Após sua aplicação, as tintas ainda estão suscetíveis à contaminação por micro-organismos, que pode promover a desfiguração, sujeira e perda de adesão, para evitar isso, são adicionados biocidas na preservação do filme seco (Tabela 5). A

eficácia desse composto é considerada maior quando a dose necessária é reduzida e seu espectro e persistência de ação se tornam mais amplo. Normalmente fatores como concentrações utilizadas, duração da aplicação, estabilidade do produto e a temperatura ambiente aumentam sua eficácia, bem como a extensão da colonização, a presença de material orgânico e/ou rachaduras no substrato e as condições de vento ou chuva durante o tratamento podem diminuí-la. Além disso, dependendo do princípio ativo o tipo de substrato, teor de água, tipo de solvente, pH das soluções, a intensidade da luz e as chuvas subsequentes ao tratamento podem afetar de maneiras diversas. (WOODWARD, 2012; DI GIUSEPPE, 2013).

Tabela 5 – Biocidas utilizados para a preservação do filme seco.

(continua)

Nome Químico	CAS Nº*	Organismos Alvo	Modo de Ação
Diodometil-p-tolil sulfona	20018-09-1	Fungos	Reage com componentes celulares nucleofílicos
2-n-octil-4-isotiazolina-3-ona	26530-20-1	Fungos	Reage com tióis e aminas
Butilcarbamato de 3-iodo-2-propinilo	55406-53-6	Fungos e algas	Quelatos metálicos
4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona	64359-81-5	Fungos e algas	Reage com tióis e aminas
1H-benzimidazol-2-ácido ilcarbâmico, éster metílico	10605-21-7	Fungos	Inibe a formação de microtúbulos mitóticos
N- (triclorometiltio) ftalimida	133-07-3	Fungos	-
N' - (3,4-diclorofenil) -N, N-dimetilureia	330-54-1	Algas	Inibe a fotossíntese
2-(tiocianometiltio)-benzotiazol	21564-17-0	Fungos e algas	Reage com tióis; inativa complexos enzimáticos metálicos
N-ciclopropil-N' - (1,1-dimetiletil) -6-(metiltio) -1,3,5-triazina-2,4-diamina	28519-98-0	Algas	Reage com grupos tiol; Inibe a fotossíntese
2,4,5,6-tetracloro isoftalonitrilo	1897-45-6	Fungos e bactérias gram positivas	Reage com aminas; metais quelados; interrompe o transporte de elétrons
2- (tiocianometiltio) -benzotiazol + metileno bis (tiocianato)	21564-17-0 e 6317-18-6	Bactérias, fungos, algas e bactérias anaeróbias	Desacopla a fosforilação oxidativa; reage com tióis
1 - ([2- (2,4-diclorofenil) -4-propil-1,3-dioxolan-2-il] metil) -H-1,2,4-triazol	60207-90-1	Fungos	Inibe a desmetilação do ergosterol nas membranas celulares
Zinco-2-piridinotiol-N-óxido	13463-41-7	Fungos e algas	Quelatos metais necessários
Metaborato de bário	13701-59-2	Bactérias e fungos	Inibe enzimas
Cloridrato de dodecilguanidina	13590-97-1	Bactérias, fungos e algas	Como um surfactante catiônico - perturba as paredes celulares e o citoplasma

(conclusão)

Nome Químico	CAS N ^o *	Organismos Alvo	Modo de Ação
Mistura de 3-iodo-2-propinil butilcarbamato + 1-benzimidazol-2-ilcarbâmico, éster metílico	55406-53-6 e 10605-21-7	Fungos e algas	Inibe a formação de microtúbulos mitóticos
Mistura de 3-iodo-2-propinil butilcarbamato + ácido 1H-benzimidazol-2-ilcarbâmico, éster metílico + N-ciclopropil-N'-(1,1-dimetiletil)-6-(metiltio)-1,3,5-triazina-2,4-diamina	55406-53-6, 10605-21-7 e 28519-98-0	Fungos e algas	Inibe a formação de microtúbulos mitóticos e a fotossíntese
Mistura de butilcarbamato de 3-iodo-2-propinilo + N'-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetilureia	55406-53-6 e 330-54-1	Fungos e algas	Inibe as reações da fotossíntese
Mistura de 3-iodo-2-propinil butilcarbamato + 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona	55406-53-6 e 64359-81-5	Fungos e algas	Reage com tióis e aminas
Mistura de 3-iodo-2-propinil butilcarbamato + -n-octil-4-isotiazolina-3-ona + N'-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetilureia	55406-53-6, 26530-20-1 e 330-54-1	Fungos e algas	Reage com tióis e aminas e inibe a fotossíntese
Mistura de 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona + N-ciclopropil-N'-(1,1-dimetiletil)-6-(metiltio)-1,3,5-triazina-2,4-diamina	64359-81-5 e 28519-98-0	Fungos e algas	Reage com tióis e aminas
Mistura de 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona + 2-n-octil-4-isotiazolina-3-ona	64359-81-5 e 26530-20-1	Fungos e algas	Reage com tióis e aminas
Mistura de 2-n-octil-4-isotiazolina-3-ona + 2,4,5,6-tetracloro isoftalonitrilo + N'-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetilureia	26530-20-1, 1897-45-6 e 330-54-1	Fungos, algas e bactérias gram positivas	Reage com tióis e aminas; metais quelados; inibe a fotossíntese
Mistura de 2,4,5,6-tetracloro isoftalonitrilo + N'-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetilureia	1897-45-6, 330-54-1	Fungos, algas e bactérias gram positivas	Reage com aminas; metais quelados; inibe a fotossíntese
Mistura de éster metílico do ácido N-(3,4-diclorofenil)-N,N-dimetil-ureia + 1H-benzimidazole-2-ilcarbâmico	330-54-1, 10605-21-7	Fungos e algas	Inibe a formação de microtúbulos mitóticos e a fotossíntese

* Indicador numérico atribuído pelo *Chemical Abstracts Service*, divisão pertencente a Sociedade Americana de Química.

Fonte: Adaptado de Woodward (2012).

Di Giuseppe (2013) afirma que a inibição do crescimento microbiano pelo tratamento com biocidas pode persistir por um período de 5 a 10 anos, exceto sob condições contínuas de umidade crescente.

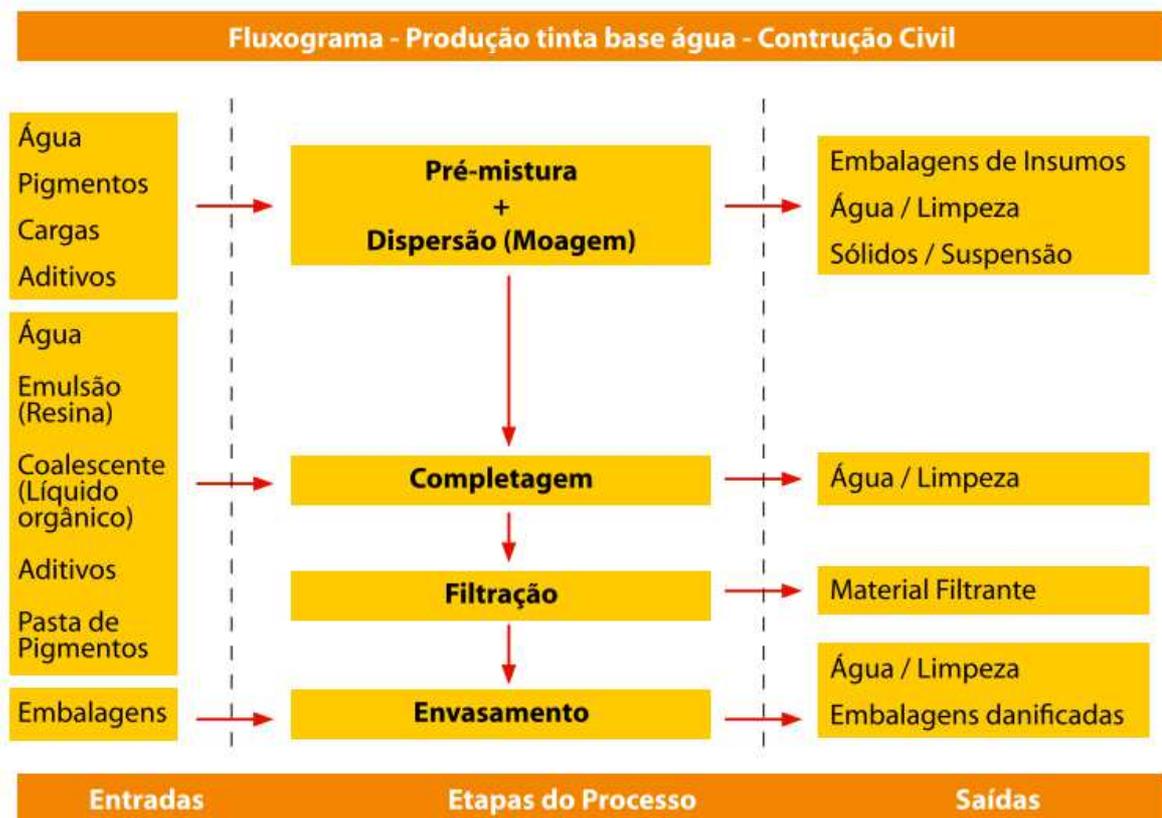
2.3.1.3 Fabricação

O processo de fabricação das tintas se dá através de operações físicas, como mistura, dispersão, completagem, filtração e envase, com a conversão química

acontecendo na produção de seus componentes e na secagem após aplicação. As tintas à base d'água, genericamente denominados como látex, representam 80% do montante de tintas utilizadas no setor da construção civil, sendo sua parte volátil constituída por 98% de água e 2% de compostos orgânicos. Sua produção ocorre conforme o fluxograma apresentado na Figura 2, tendo basicamente as mesmas etapas da tinta à base de solvente (diferencia-se apenas na ordem de adição dos componentes) e segue os seguintes processos (YAMANAKA *et al.*; 2008):

- I. pré-mistura e dispersão: ocorre a mistura da água, pigmentos, cargas e aditivos, e dispersão no mesmo equipamento;
- II. completagem: são adicionadas ao produto da dispersão a água, emulsão, coalescente, aditivos e pigmentos, nesta etapa é feito o acerto da cor e as correções necessárias para que a tinta tenha as características especificadas;
- III. filtração e envasamento: ocorrem simultaneamente.

Figura 2 – Fluxograma do processo de fabricação de tintas látex.



Fonte: Adaptado de Yamanaka *et al.* (2008).

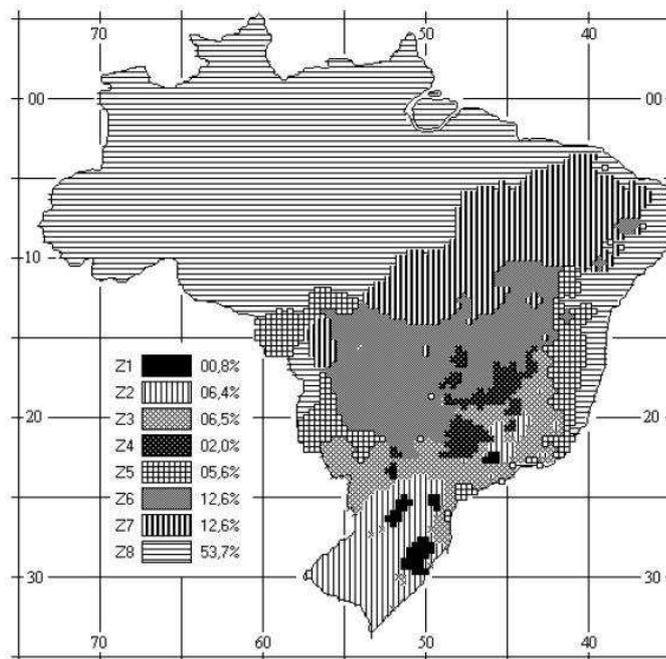
Uma das causas de deterioração das tintas está relacionada ao ataque por ácidos orgânicos ou enzimas, produzidas por fungos para a obtenção dos elementos necessários ao seu desenvolvimento. Neste ataque pode ocorrer a degradação das cadeias de carbono das moléculas que constituem os revestimentos orgânicos (tintas). O método de aplicação, secagem e condições ambientais às quais estão expostas as edificações são aspectos que permitem o surgimento destas falhas, que além de causarem a perda de qualidade visual, comprometem também a função protetora destes materiais. (BARBEROUSSE, 2006; CHAI *et al.*, 2011).

A aplicação de camadas de tintas em superfícies mofadas fornece proteção aos micro-organismos já existentes, impedindo sua remoção e fornecendo nutrientes que facilitam seu crescimento. Além disso, superfícies com presença de mofo ou outras substâncias estranhas podem interferir na adesão da tinta no substrato, para que isso não aconteça deve-se garantir a limpeza e preparação do local antes da pintura. Caso não seja feita uma limpeza eficiente, a película pode apresentar deformidades como a formação de bolhas, rachaduras e descamação. (COATINGS *et al.*, 1999).

2.4 DESEMPENHO TÉRMICO

A NBR 15220-1 (ABNT, 2005) define conforto térmico como a “satisfação psicofisiológica de um indivíduo com as condições térmicas do ambiente”. Com o intuito da otimização do desempenho térmico, a NBR 15220-3 (ABNT, 2005) apresenta diretrizes construtivas relativas a aberturas, paredes e coberturas para cada uma das oito zonas bioclimáticas brasileiras (Figura 3), definidas como a “região geográfica homogênea quanto aos elementos climáticos que interferem nas relações entre ambiente construído e conforto humano”. O estado do Rio Grande do Sul encontra-se compreendido, maioritariamente, na zona bioclimática Z2.

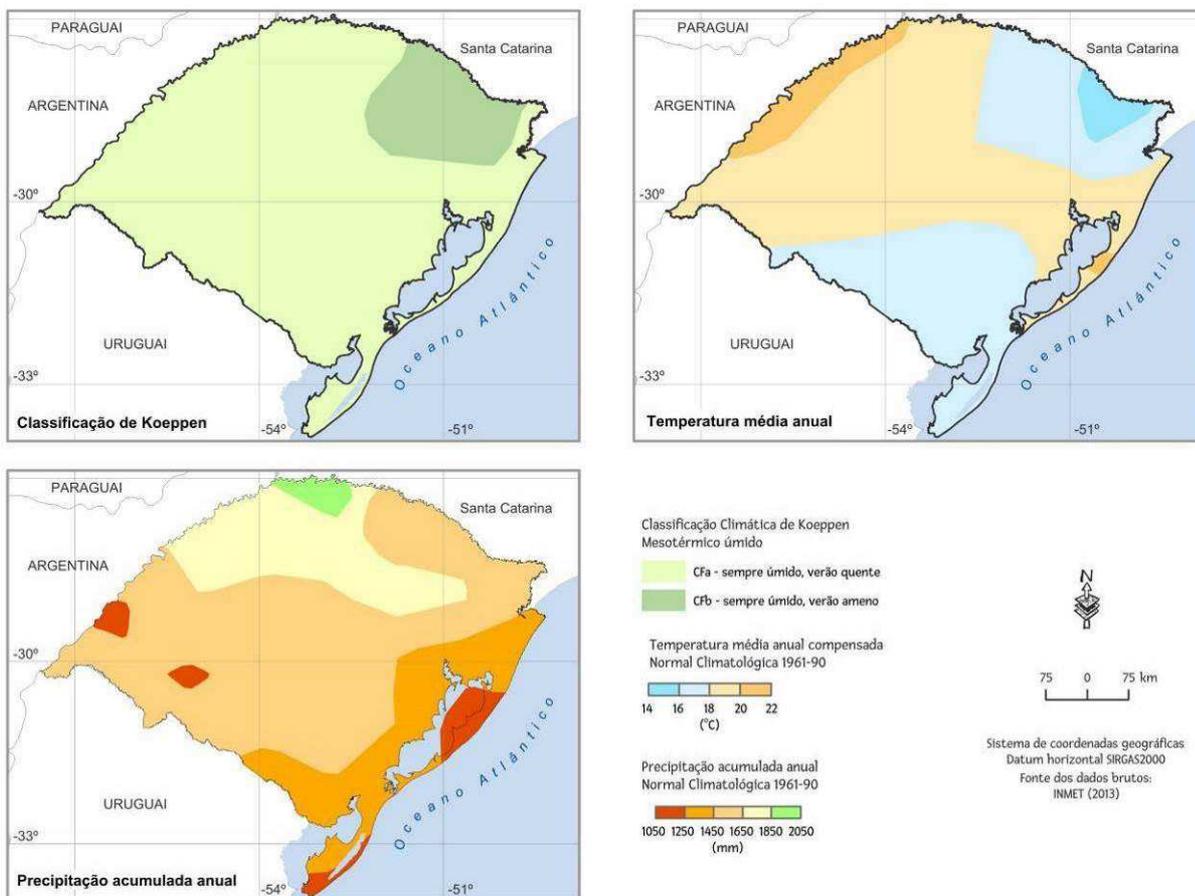
Figura 3 - Zoneamento bioclimático brasileiro.



Fonte: NBR 15220-3 (ABNT, 2005, p. 3).

O Rio Grande do Sul está totalmente incluído na zona temperada, com estações bem definidas. Seu clima é temperado do tipo subtropical, e seguindo a classificação de Köppen é denominado como mesotérmico úmido. Historicamente, conforme pode-se observar na Figura 4, as temperaturas apresentam grande variação sazonal, com média anual entre 14 e 22°C, verões com máximas de 40°C e invernos com mínimas que podem chegar a -10°C e ocorrência de geada. A distribuição das precipitações é relativamente equilibrada ao longo do ano, com menores médias ao sul, e maiores à nordeste. Entretanto, percebem-se mudanças nos últimos anos, como o aumento das temperaturas médias e menor amplitude térmica sazonal, e períodos de estiagem intercalados com maior concentração de precipitações em curtos espaços de tempo. (PESSOA, 2017; FREITAS, 2018; RIO GRANDE DO SUL, 2019).

Figura 4 – Clima Rio-grandense: classificação de Köppen, temperatura média anual e precipitação acumulada anual.



Fonte: Pessoa (2017).

2.5 FUNGOS NAS EDIFICAÇÕES

Pertencentes ao reino *Fungi*, os fungos necessitam de altas taxas de umidade para se desenvolver, são organismos heterotróficos unicelulares ou multicelulares, constituídos por células eucariotas. Podem se alimentar de matéria morta (saprófitos), viver de e em outros organismos (parasitas), sob associação próxima a outros organismos para benefício mútuo (simbióticos), ou ainda obter na degradação de materiais subjacentes os elementos necessários para o seu desenvolvimento. Estes organismos apresentam dois tipos de reprodução: assexuada por esporulação, brotamento ou gemulação e fragmentação; e sexuada, por esporulação. São divididos em dois grupos principais: filamentosos (mofo e bolor) e leveduras (fungos unicelulares). (BARBEROUSSE, 2006; SILVA e SOUZA, 2013; TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

Bolores e leveduras formam colônias visíveis a olho nu com diferenças macroscópicas, tendo os bolores colônias filamentosas que podem ser algodonosas, pulverulentas e aveludadas, com grande variedade de pigmentos, e as leveduras colônias pastosas geralmente variando de cor branca a creme, mas podendo ser também preta ou rosa, dependendo da espécie. (TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

Os fungos filamentosos, são multicelulares e seus filamentos (hifas) podem ser cenocíticas (que não apresentam septos) ou septadas, tendo o micélio (conjunto de hifas) as características morfológicas específicas para cada gênero, como a presença ou falta de pigmentação e crescimento intenso ou discreto. O micélio desenvolvido no interior do substrato, chamado de micélio vegetativo, também exerce função de sustentação e absorção de nutrientes, já o micélio aéreo, o qual cresce acima do meio de cultivo, pode formar o micélio reprodutivo onde, por meio sexuado ou assexuado, são formados os esporos, sendo estes fundamentais para a identificação morfológica da espécie. Já as leveduras não apresentam diferenciação morfológica entre a parte reprodutiva da vegetativa. (SILVA e SOUZA, 2013; TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

Baseados em diversos estudos, Ghosal, Macher e Ahmed (2012) confirmam os benefícios dos fungos à produção de remédios e alimentos, entretanto salientam que estes micro-organismos exercem grandes impactos na saúde e economia devido à sua importância na biodegradação e a patogenicidade de várias espécies, contribuindo para a poluição do ar no interior das edificações. Segundo Sedlbauer (2001) a deterioração relacionada à fungos filamentosos é beneficiada por condições favoráveis de temperatura e umidade, e disponibilidade de nutrientes.

2.5.1 Presença de fungos

Em todas as estruturas construídas por seres humanos, como em qualquer ecossistema, podem-se encontrar micro-organismos, estejam eles no ar, superfícies ou mesmo nos materiais de construção. (GILBERT e STEPHENS, 2018). O biofilme é um revestimento microbiano formado por células coladas umas às outras incorporadas em uma matriz de substância polimérica extracelular. Estes revestimentos formados em superfícies podem conter uma diversidade de organismos, no qual cada grupo desempenha uma função metabólica especializada. (DI GIUSEPPE, 2013).

A presença de fungos e bactérias pode causar a biodeterioração, que se evidencia por alterações nos materiais e é dividida em quatro classes (ALSSOPP; SEAL e GAYLARD, 2004; STERFLINGER e PIÑAR, 2013):

- I. biodeterioração física ou mecânica: o material é rompido pela pressão da locomoção ou crescimento do organismo, sem que este o use como fonte de alimento;
- II. biodeterioração estética: a aceitabilidade do material é prejudicada devido à presença destes organismos ou de seus produtos metabólicos, mesmo sem danos;
- III. biodeterioração química assimilatória: o material serve como fonte de energia ou alimento para o micro-organismo;
- IV. biodeterioração química não assimilatória: os resíduos excretados pelos micro-organismos causam danos químicos aos materiais.

Os fungos precisam de nutrientes para seu desenvolvimento, o que podem incluir carboidratos, proteínas e lipídios, provenientes de ambientes internos. Além disso, estes também podem se desenvolver em materiais inertes, como telhas cerâmicas, obtendo nutrientes de partículas de poeira e componentes solúveis da água. (DI GIUSEPPE, 2013).

Áreas tropicais com alta umidade e temperatura apresentam maiores dificuldades na prevenção do desenvolvimento de fungos, diferentemente de áreas com clima quente e seco. Estima-se que são encontrados no ar contagens de 100 a mais de 1000 esporos fúngicos por m³ dependendo da localização geográfica. (COATINGS *et al.*, 1999).

Para o desenvolvimento de fungos nas edificações, são determinantes os fatores ambientais, propriedades do material e características dos fungos, sendo a disponibilidade de água no material considerada geralmente o elemento mais importante, além da temperatura, nutrientes disponíveis e tempo de exposição. Alguns materiais de construção podem chegar pré-contaminados por estes micro-organismos, tendo cada material um nível crítico de umidade e temperatura para este crescimento. Diferentes tratamentos podem alterar a resistência ao desenvolvimento de fungos, porém, salienta-se que algumas espécies podem sobreviver a períodos e condições desfavoráveis ao seu crescimento. (DI GIUSEPPE, 2013; JOHANSSON,

SVENSSON e EKSTRAND-TOBIN, 2013; JOHANSSON, EKSTRAND-TOBIN e BOK, 2014; ADAMS *et al.* 2016).

Mensah-Attipoe *et al.* (2016) destacam que os materiais de construção expostos à umidade prolongada em sua superfície favorecem o desenvolvimento fúngico, sendo diferenciadores da resistência ao crescimento o aumento na biomassa fúngica e os modos distintos de adaptações influenciados pelo tempo de incubação e teor de umidade de cada espécie. Johansson, Svensson e Ekstrand-Tobin (2013) concluíram que a combinação de temperatura e umidade relativa induzem o crescimento de fungos ao exceder as curvas de limite calculadas. Sedlbauer (2001) listou em seu trabalho os fatores de influência decisivos para a germinação e crescimento de fungos, os quais estão expostos na Tabela 6.

Tabela 6 – Fatores de influência para germinação e crescimento de fungos.

Fator de influência	Parâmetro	Unidade	Faixa de crescimento		Observações
			Mínimo	Máximo	
Temperatura	Temperatura na superfície do componente.	°C	-8	60	Depende das espécies de fungos e da fase de vida (germinação de esporos ou crescimento de micélio).
Umidade	Umidade relativa na superfície do componente.	%	70*	100	
Substrato	Nutrientes e teor de sal.	-	-	-	Os nutrientes também podem ser encontrados em acúmulos de poeira.
Ambiente	Valor de pH da superfície.	-	2	11	O valor do pH também depende da umidade relativa e da temperatura, e é influenciado pelo fungo.
Tempo	Horas por dia.	h/d	1	-	Depende da temperatura e umidade.
Atmosfera	Teor de oxigênio.	%	0.25		Sempre presente.

* Existem fungos conhecidos (*Xeromyces*) que crescem mesmo a partir de uma umidade relativa de 45%.

Fonte: Adaptado de Sedlbauer (2001).

Propriedades como porosidade, capacidade de capilaridade e rugosidade da superfície e o valor do pH são fatores determinantes para a definição da bioreceptividade de um material. Naturalmente percebe-se que paredes não rebocadas ou com superfície altamente ásperas são mais bioreceptivas do que paredes rebocadas e pintadas, já que estes reduzem também a capacidade de retenção de água. (UDAWATTHA *et al.*, 2018).

Em sua pesquisa, Udawattha *et al.* (2018) concluíram que materiais com alta rugosidade, e portanto alta capacidade de retenção de água, mesmo com baixo teor de matéria orgânica, apresentam maior facilidade ao crescimento de fungos do que materiais com baixa rugosidade e alto teor de matéria orgânica, confirmando a maior resistência ao desenvolvimento destes micro-organismos em superfícies lisas.

Pinheiro (2003), embasada em diversos estudos, destaca que os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Cladosporium* estão entre os fungos filamentosos encontrados na biodeterioração de materiais de construção civil, sendo que os fungos do gênero *Aspergillus* participam do mecanismo de biodeterioração de rochas calcárias e arenitos, assim como o gênero *Penicillium*, facilmente encontrado em substratos de natureza mineral.

Coatings *et al.* (1999) lista as seguintes espécies como comuns em revestimentos: *Aureobasidium pullulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavum*, *Alternaria* spp., *Botryodiplodia* spp., *Cephalosporium* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Monilia* spp., *Mucor* spp., *Pacacilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Pestalotia* spp., *Phoma* spp., *Pleospora* spp., *Rhizopus* spp., *Stemphylium* spp. e *Trichoderma* spp. Sendo as duas primeiras, as espécies mais comuns. (COATINGS *et al.*, 1999).

Bach e Rangel (2005), reiteram que as tintas sofrem biodeterioração tanto em estado úmido quanto seco devido aos nutrientes em sua composição. Em várias pesquisas foram descobertos que os gêneros mais comuns em edifícios danificados por umidade são *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Eurotium* e *Chaetomium*, sendo que *Stachybotrys* sp., *Cladosporium* sp e *Aspergillus Niger*, são encontrados em revestimentos, assim como *Aureobasidium* sp., *Alternaria* sp. e *Penicillium* sp., encontrados em tinta seca. (PARJO *et al.*, 2015; ADAMS *et al.*, 2016). Shirakawa, Gaylarde e Gambale (2002), identificaram fungos, tanto entre diferentes camadas de pintura, quanto entre a tinta e o substrato de argamassa. Shirakawa *et al.* (2011) também encontraram em diferentes tipos de tinta látex acrílica os gêneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Pestalotia* e *Curvularia*, que já foram citados como colonizadores comuns de filmes de tinta no Brasil.

Gaylarde e Gaylarde (2005), em sua pesquisa realizada em edifícios da América Latina e Europa, encontraram com pouca frequência fungos em pedras, porém estes constituíram mais de 40% da biomassa encontrada na pintura em edifícios latino-americanos, sendo maior do que em outros substratos.

Na pesquisa de Shirakawa *et al.* (2002) sobre a sequência da colonização por fungos e a influência da incorporação de biocidas nas películas de tinta de dois edifícios da Universidade de São Paulo, pôde-se perceber que os gêneros *Cladosporium* e *Aureobasidium* formavam a maior parte da biomassa fúngica antes da limpeza realizada nas superfícies. Após uma semana da limpeza e pintura, foram detectados os gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Helminthosporium*, *Monascus*, *Nigrospora*, *Phoma*, *Tripaspermum* (ainda não registrado na biomassa de tinta no Brasil) e *Cladosporium*, além de duas leveduras rosa e brancas (que não foram detectadas entre a terceira e 31ª semana). Os gêneros *Alternaria*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Helminthosporium*, *Pestalotia/Pestalotiopsis*, *Monascus*, *Nigrospora*, *Aureobasidium* e *Cladosporium* foram comumente isolados o longo da pesquisa, sendo o último o mais comum. *Aureobasidium* esteve presente precocemente nas superfícies, mas os números caíram a partir da 4ª semana, recuperando após a 26ª semana. *Aspergillus*, *Penicillium*, e *Fusarium*, eram pouco frequentes nas superfícies e não podem ser considerados como espécies pioneiras em colonização.

Os pesquisadores perceberam também que nos meses de verão (novembro a janeiro) houve decréscimo no número de fungos, afetando principalmente os gêneros *Aureobasidium*, *Epicoccum* e *Helminthosporium*. Além disso, mesmo sem diferenças estatisticamente significativas na biodiversidade, notaram um número menor na população de fungos em superfícies com aplicação de biocidas após 13 semanas e continuando por 42 semanas após a pintura. (SHIRAKAWA *et al.*, 2002).

Shirakawa *et al.* (2010) identificaram o gênero *Cladosporium* com maior frequência de todas as amostras de blocos de concreto aerado autoclavado pré-recobertos com selante acrílico e gesso acrílico e pintados com tintas látex analisadas durante os quatro anos de exposição nos três diferentes climas do Brasil. Durante o primeiro ano no clima temperado em Rio Grande, RS, e no clima equatorial em Belém, PA, o gênero *Nigrospora* foi o fungo mais frequente, porém substituído por *Cladosporium* no quarto, que foi o mais frequente desde o primeiro ano no clima tropical em São Paulo, SP. Ademais, no clima tropical a pintura voltada para o sul desenvolveu um maior número de fungos viáveis, já no clima equatorial a colonização por cianobactérias foi favorecida. O clima temperado, foi a única região estudada em que a tinta manteve sua coloração inicial durante os quatro anos de exposição, sugerindo que não houve contribuição para a colonização fúngica significativa.

Percebe-se que o ambiente e as condições climáticas foram os principais aspectos que afetaram a colonização por fungos, sugerindo que sem uma maior consideração do clima, biodiversidade e microclima, o desempenho e eficiência dos biocidas, e impacto ambiental em áreas de chuvas fortes, não pode ser avaliado com precisão.

Ferrari *et al.* (2015) encontraram em sua revisão sobre a influência da deterioração biológica nas propriedades de superfície de materiais de construção os gêneros citados na Tabela 7 como os principais encontrados em superfícies rochosas e pintadas.

Tabela 7 - Fungos que afetam os materiais de construção.

Material	Gêneros de Fungos
Concreto e Rocha	<i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Candida</i> , <i>Capnodiales</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Conisporium</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Geotrichum</i> , <i>Hypocreales</i> , <i>Mycocalicum</i> , <i>Mucor</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Phoma</i> , <i>Sarcinomyces</i> , <i>Sporobolomyces</i> , <i>Taeniolella</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Udeniomyces</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Verticillium</i> .
Superfícies pintadas	<i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Aureobasidium</i> , <i>Cephalosporium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Helminthosporium</i> , <i>Monascus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Nigrospora</i> , <i>Pestalotia</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Pestalotiopsis</i> , <i>Stachybotrys</i> , <i>Stemphyllium</i> , <i>Trametes</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Tripospermum</i> , <i>Ulocladium</i> , <i>Verticillium</i> .
Plástico	<i>Aspergillus</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Hermoconis</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Stemphyllium</i> , <i>Trichoderma</i>

Observação: em negrito os gêneros que aparecem em mais de um dos materiais estudados.

Fonte: Adaptado Ferrari *et al.* (2015).

Silva (2009) realizou um experimento em campo, na Universidade Federal de Santa Maria, para estudar a contaminação fúngica em argamassas pintadas com tinta látex com e sem biocida, e encontrou como principais contaminantes os gêneros *Cladosporium* (presente em todas as estações do ano) e *Penicillium*, além de: *Alternaria*, *Aspergillus aureum*, *A. nigrum*, *Curvularia*, *Phoma*, *Epicoccum*, *Aureobasidium*, *Ulocladium* e *Nigrospora*, sendo os dois primeiros os contaminantes

secundários mais comuns. O fungo *Cladosporium* foi isolado em uma faixa de temperatura média entre 10 a 25°C, e o fungo *Penicillium* em 10°C em uma amostra e acima de 25°C nas demais. A autora também pôde concluir que no outono e primavera ocorreram as maiores incidências de contaminações, com temperatura média de 20°C e umidade relativa do ar de 60 a 80%. Como esperado, através do ensaio efetuado, também foi percebido que a tinta sem biocida apresentou maior diversidade de agentes contaminantes.

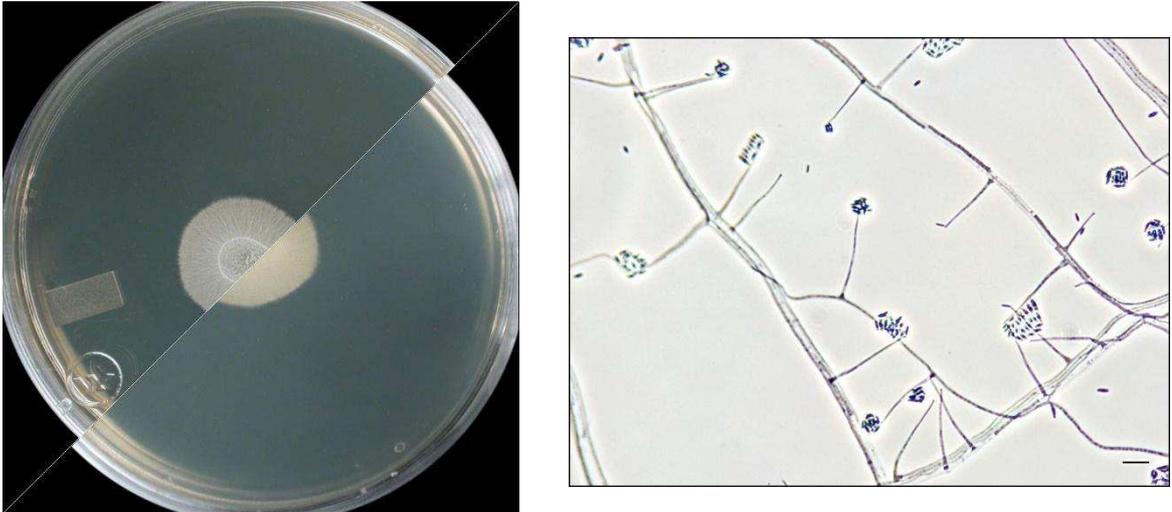
Vacher *et al.* (2010) em seu estudo da suscetibilidade ao crescimento de fungos em vários revestimentos e tintas, determinaram que a composição da cobertura da superfície é tão importante quanto o substrato, ao considerar a bioreceptividade do material e potencial da degradação biológica causada pelo mofo. Portanto, a resistência do material à contaminação por fungos deve se referir à composição exata do revestimento da superfície. (VACHER *et al.*, 2010).

A seguir, com base nos autores Ingold, Dann e Mcdougall (1968), Ellis e Kidd (1998), Lacaz *et al.* (1998), Shirakawa *et al.* (2002), Groenewald *et al.* (2006), Khan *et al.* (2011), Bakhshi (2012), Susanti *et al.* (2015), Trabulsi e Alterthum (2015), Tomé e Marques (2016), INSPQ (2016), Wang *et al.* (2017) e Shah *et al.* (2018), estão brevemente descritas as características básicas dos gêneros comumente encontrados em ambientes externos e internos, que também foram isolados e identificados durante o período de pesquisa.

2.5.1.1 *Acremonium* sp.

Pertencentes ao filo dos ascomicetos, o gênero *Acremonium* (Figura 5) é isolado do material vegetal morto e do solo, mas também apresenta um bom crescimento em ambientes fechados e úmidos, não se desenvolvendo em temperaturas acima de 37°C. Suas colônias geralmente apresentam crescimento lento com aparência úmida, plana ou dobrada no início, e tornando-se felpuda, com o decorrer do tempo. Podem ser de cor branca, cinza, rosa, rosa ou laranja, com verso incolor ou colorido por pigmento rosa. As hifas são septadas e hialinas e seus conídios são hialinos, unicelulares, retos, oblongos ou cilíndricos, geralmente aparecem em aglomerados, bolas ou raramente como cadeias frágeis e principalmente agregados ao ápice de suas fiálides.

Figura 5 – Colônia e microscopia do fungo do gênero *Acremonium* sp.

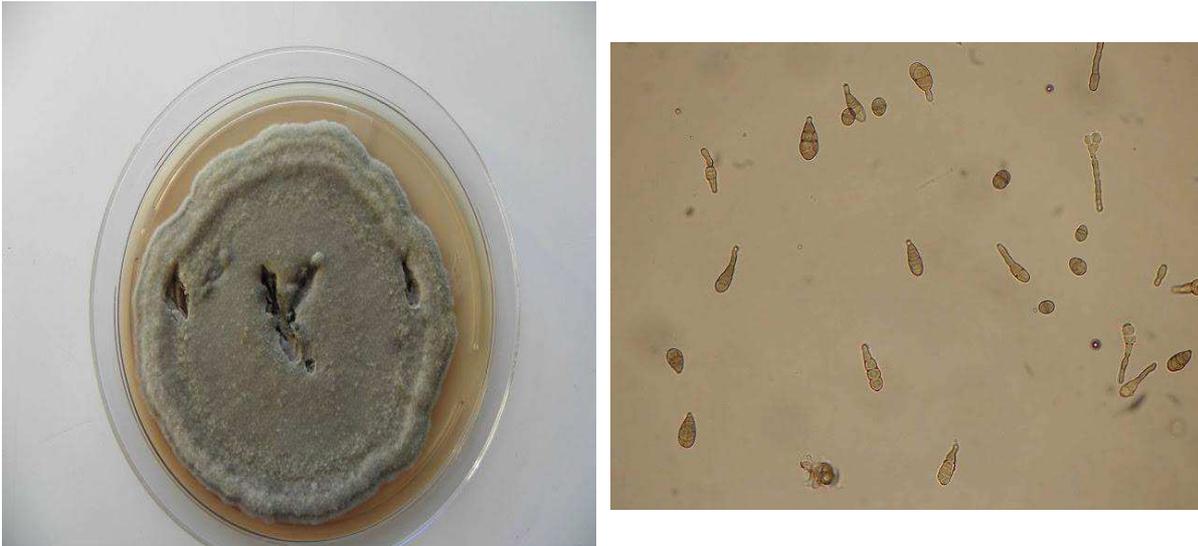


Fonte: INSPQ (2016).

2.5.1.2 *Alternaria* sp.

O gênero *Alternaria* (Figura 6) pertence ao filo de ascomicetos e compreende aproximadamente 50 espécies sendo reconhecido mundialmente como um patógeno comum de plantas e alérgeno no ar, também é um contaminante frequente em edifícios danificados pela água. De crescimento rápido, sua colônia é plana, macia e coberta por hifas acinzentadas, tornando-se, com o tempo, preta esverdeada ou marrom-oliva, com uma borda clara e verso marrom a preto. As hifas são septadas e escuras, e seus conidióforos são curtos, septados e de cor marrom, apresentando grandes conídios ovóides ou elipsóides que possuem septações transversal e longitudinal. Apresenta crescimento em diversos substratos, com faixa ótima de temperatura de 25 a 29°C.

Figura 6 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Alternaria* sp.

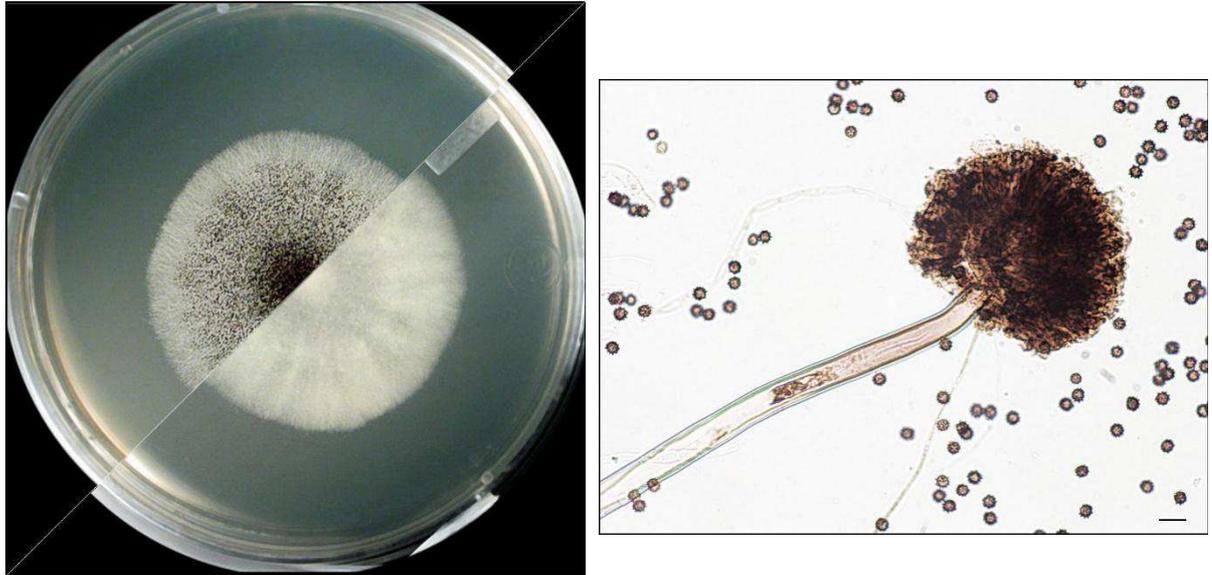


Fonte: Tomé e Marques (2016).

2.5.1.3 *Aspergillus* sp.

O gênero *Aspergillus* pertence ao filo dos ascomicetos e possui aproximadamente 250 espécies, divididas atualmente em sete subgêneros. Suas colônias geralmente apresentam crescimento rápido, de coloração branca, amarela, marrom-amarelada, marrom a preta ou tons de verde. Possui hifas septadas e hialinas, conidióforos, vesículas globosas, fiálides e conídios de parede lisa ou áspera, hialinos ou pigmentados, produzidos em longas cadeias secas que podem ser divergentes ou agregadas em colunas compactas. Sua temperatura ideal de crescimento varia de 20 a 40°C. Algumas das principais espécies como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger* (Figura 7), são comumente encontrados em materiais de construção úmidos e em sistemas de ventilação.

Figura 7 - Colônia e microscopia do fungo *Aspergillus niger*.

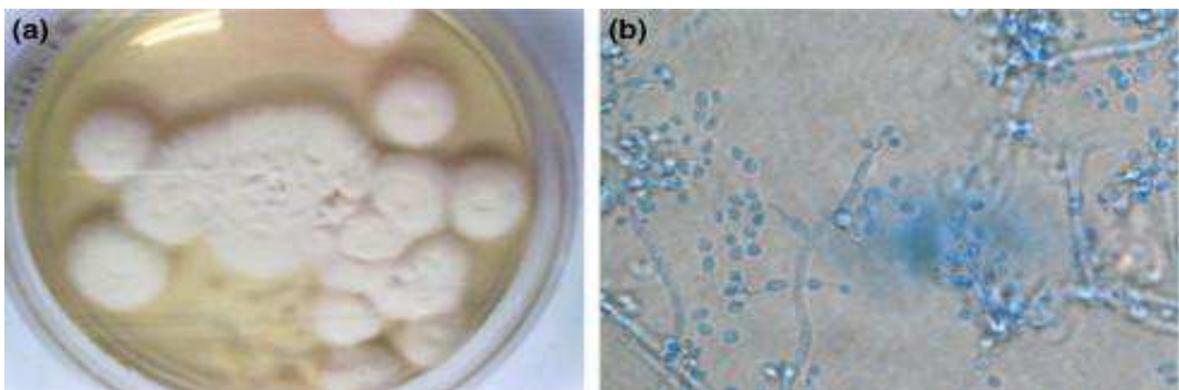


Fonte: INSPQ (2016).

2.5.1.4 *Beauveria* sp.

Este gênero, também pertencente ao filo dos ascomicetos e sinônimo homotípico de *Parengyodontium*, apresenta crescimento lento com textura felpuda, inicialmente brancas, mas depois geralmente tornando-se amarela a rosada, geralmente não excedem 2cm em dez dias a 20°C. É caracterizado pelo desenvolvimento de conídios unicelulares hialinos e globosos ou ovóides que se desenvolvem em ramificações geniculadas ou em zigue-zague. A espécie mais conhecida deste gênero é *Beauveria bassiana* (Figura 8), e a espécie *Beauveria alba* é citada como sinônimo da espécie *Parengyodontium album*.

Figura 8 - Colônia e microscopia do fungo *Beauveria bassiana*.

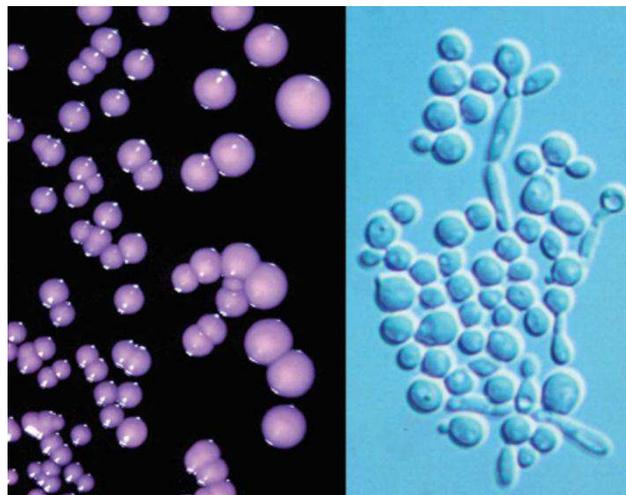


Fonte: Ligozzi *et al.* (2014).

2.5.1.5 *Candida* sp.

Candida é uma levedura também pertencente ao filo dos ascomicetos que compõe a biota humana da mucosa oral, vaginal e do trato gastrointestinal de cerca de 80% da população sadia, também podendo ser isolada da pele. Sua colônia geralmente não apresenta pigmentação, microscopicamente é caracterizada por células globosas a alongadas semelhantes a leveduras ou blastoconídios, que se reproduzem por brotamento multilateral, podem também apresentar pseudo-hifas e ocasionalmente verdadeiras hifas. A espécie *Candida tropicalis* produz pseudo-hifas com blastoconídios transportados isoladamente ou pequenos grumos irregulares. A *Candida krusei* também revela pseudo-hifas ramificadas, com blastoconídios globosos a ovais produzidos aos pares ou agrupados. E a *Candida albicans* (Figura 9), causadora de doenças mais comum em humanos, possui blastoconídios esféricos a subesféricos de tamanho 2-7 x 3-8 μm .

Figura 9 - Colônia e microscopia do fungo *Candida albicans*.



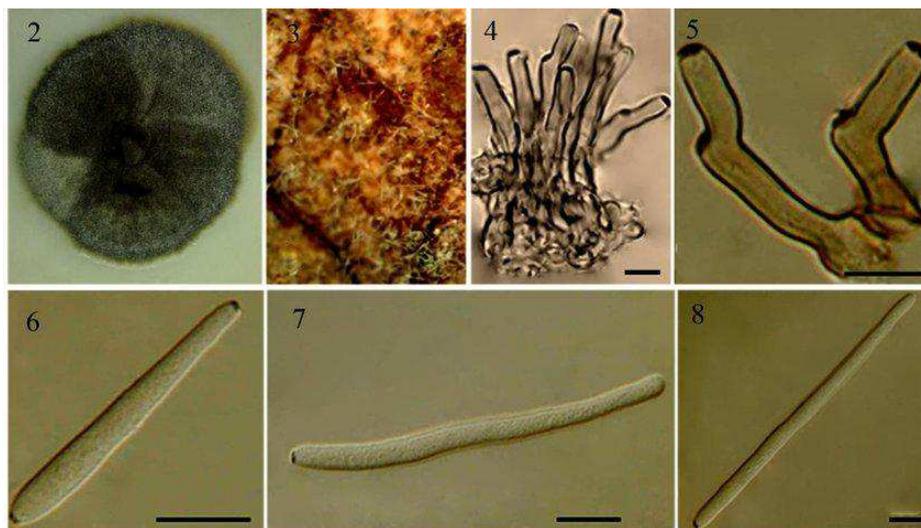
Fonte: Ellis e Kidd (1998).

2.5.1.6 *Cercospora* sp.

Também integrante do filo dos ascomicetos, este patógeno de plantas mundialmente distribuído, é um dos maiores e mais heterogêneos gêneros de hifomicetos, com inúmeras espécies morfológicamente indistinguíveis. Como demonstrado na figura abaixo, suas colônias são lisas a dobradas, de cor branca a cinza-olivácea na superfície, e em sua microscopia pode-se observar conidióforos

retos e subcilíndrico a geniculado-sinuso, septados, sem ramificações e conídios septados cilíndricos solitários, ocasionalmente em cadeias curtas.

Figura 10 - Colônia e microscopia do fungo *Cercospora zebrina*. 2 - Colônia com 30 dias em ágar de extrato de malte. 3 - fascículos conidióforos na superfície da folha. 4 - fascículos conidióforos. 5 - Conidióforo com locus conidiogênico escurecido. 6, 7, 8 - Conídios *in vivo*. Barras = 10 μ m.

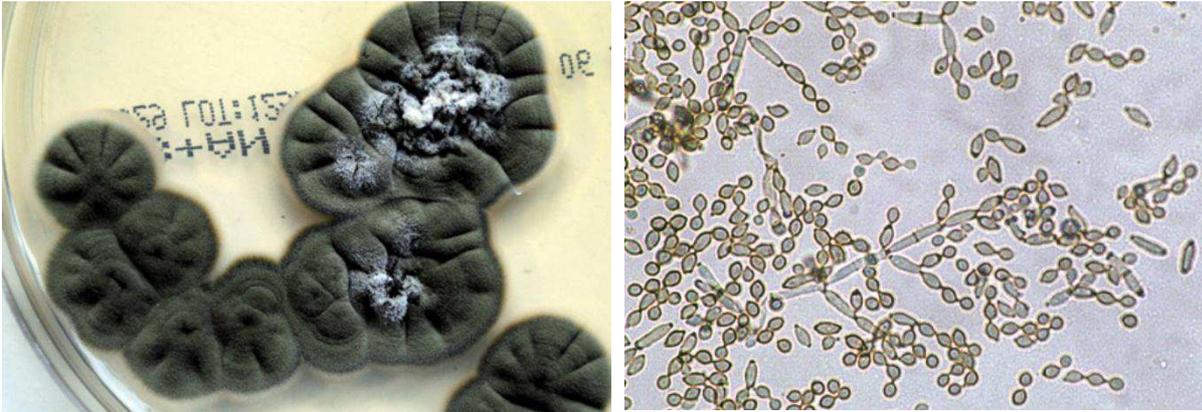


Fonte: Bakhshi (2012).

2.5.1.7 *Cladosporium* sp.

Este gênero pertencente ao filo dos ascomicetos, apresenta mais de 40 espécies nomeadas, e é comumente isolado do solo e da matéria orgânica, sendo encontrado em residências principalmente no ar, tinta e peitoris úmidos. Sua faixa de temperatura de crescimento é bastante variável, tendo crescimento ótimo de 18 a 28°C, com a maioria das espécies crescendo de 30 a 35°C e ainda com crescimento possível, para certas espécies, em temperaturas abaixo de 0°C. Suas colônias apresentam crescimento lento, principalmente marrom-oliváceo a marrom-preto, com textura como camurça tornando-se geralmente pulverulentas com o passar do tempo e inverso preto oliváceo (Figura 11). Possuem hifas septadas escuras, conidióforos eretos e pigmentados. Os conídios são produzidos em cadeias ramificadas, sendo lisos ou equinulados, de uma a quatro células, e possuem um hilo escuro distinto.

Figura 11 - Colônia e microscopia do fungo *Cladosporium cladosporioides*.



Fonte: Ellis e Kidd (1998).

2.5.1.8 *Curvularia* sp.

Fazendo parte do filo dos ascomicetos, o gênero *Curvularia* contém cerca de 80 espécies, que são na sua maioria patógenos no solo ou em plantas. As colônias crescem rapidamente, com textura camurça a felpuda, marrom a marrom escuro com um verso preto. Com conidióforos eretos, retos a flexíveis, septados, e conídios elipsoidais, frequentemente curvados, arredondados nas extremidades com geralmente 3 a 5 septos. Dentre as espécies conhecidas pode-se citar a *Curvularia lunata* (Figura 12), responsável por queratites e sinusites, pode também ser isolado em lesões cutâneas ou sub-cutâneas.

Figura 12 - Colônia e microscopia do fungo *Curvularia lunata*.

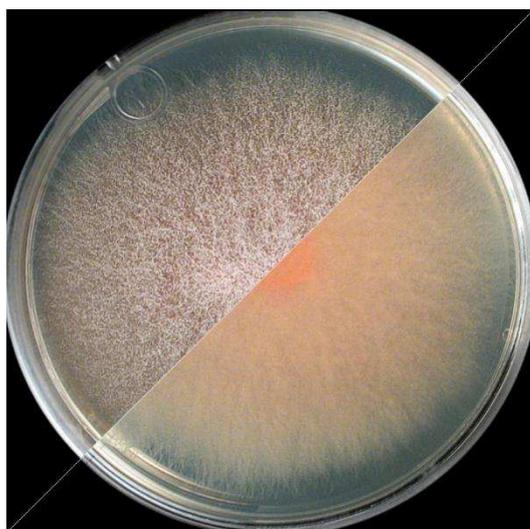


Fonte: Ellis e Kidd (1998).

2.5.1.9 *Fusarium* sp.

Atualmente, o gênero *Fusarium* que faz parte do filo dos ascomicetos, compreende pelo menos 300 espécies, tendo sua maioria encontrada no solo, com alguns patógenos vegetais e outras espécies importantes produtores de micotoxinas. Seu crescimento requer condições de umidade, podendo ser encontrado em materiais de construção e sistema de ar condicionado, sendo um indicativo de umidade no ambiente. As colônias (Figura 13) geralmente crescem rapidamente, em quatro ou cinco dias a 25°C, e apresentam cor branca, creme, castanho, salmão, canela, amarelo, vermelho, violeta, rosa ou roxo, com ou sem um micélio aéreo de algodão, com verso incolor, castanho, vermelho, roxo escuro ou marrom. Esse gênero apresenta produção típica de macroconídios multicelulares hialinos, fusiformes, com hifas septadas hialinas, conidióforos, fiálides, macroconídios e microconídios

Figura 13 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Fusarium* sp.



Fonte: INSPQ (2016).

2.5.1.10 *Mycelia Sterilia*

É um grupo heterogênero de fungos conhecido por seu estágio miceliano, não apresenta esporos e possuem clamidósporos em algumas espécies, nesta ordem incluem-se os fungos que podem apresentar corpos frutíferos assexuados. Devido a estas características sua identificação não é possível apenas por sua microscopia.

2.5.1.11 *Nigrospora* sp.

Este gênero pertencente ao filo dos ascomicetos é isolado como patógeno vegetal e comumente encontrado em ambientes internos, crescendo rapidamente em ágar dextrose de batata a 25°C quando cultivado em laboratório. Possui colônias inicialmente brancas (Figura 14) com conídios pretos e depois acinzentadas a pretas com esporulação abundante. Sua microscopia possui hifas hialinas septadas, conídios solitários lisos, pretos, esféricos ou elipsoides e com compressão dorsoventral.

Figura 14 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Nigrospora* sp.

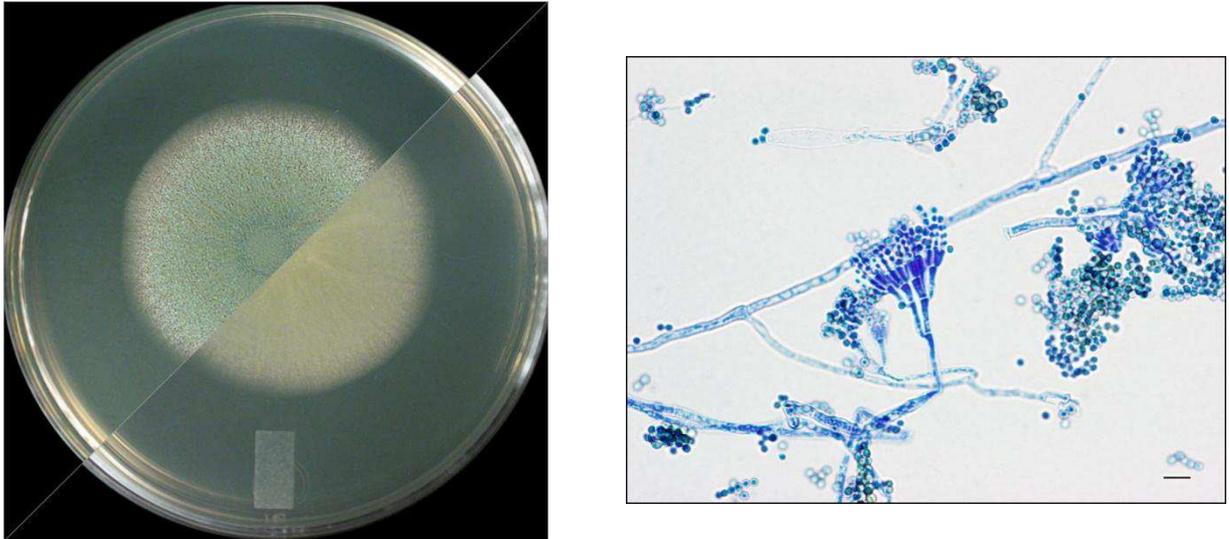


Fonte: Wang *et al.* (2017).

2.5.1.12 *Penicillium* sp.

Este gênero que também integra o filo dos ascomicetos, contém atualmente mais de 350 espécies aceitas, sendo muitas destas contaminantes comuns em vários substratos e conhecidas como potenciais produtoras de micotoxinas. Se desenvolvem em temperaturas entre 5 e 37°C, sendo ideal de 20 a 30°C. É frequentemente encontrado em ambientes danificados pela água e em materiais de construção, como papéis de parede e material de isolamento. As colônias (Figura 15) geralmente crescem rapidamente, em tons de verde ou branco, com verso de cor pálida ou amarelada. As hifas são hialinas septadas com conidióforos ramificados ou não ramificados. As métulas são mais ou menos cilíndricas, de paredes lisas e apresentam 3 a 6 fiáides em forma de frasco, dando origem a longas cadeias pequenos esporos redondos a ovais.

Figura 15 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Penicillium* sp.

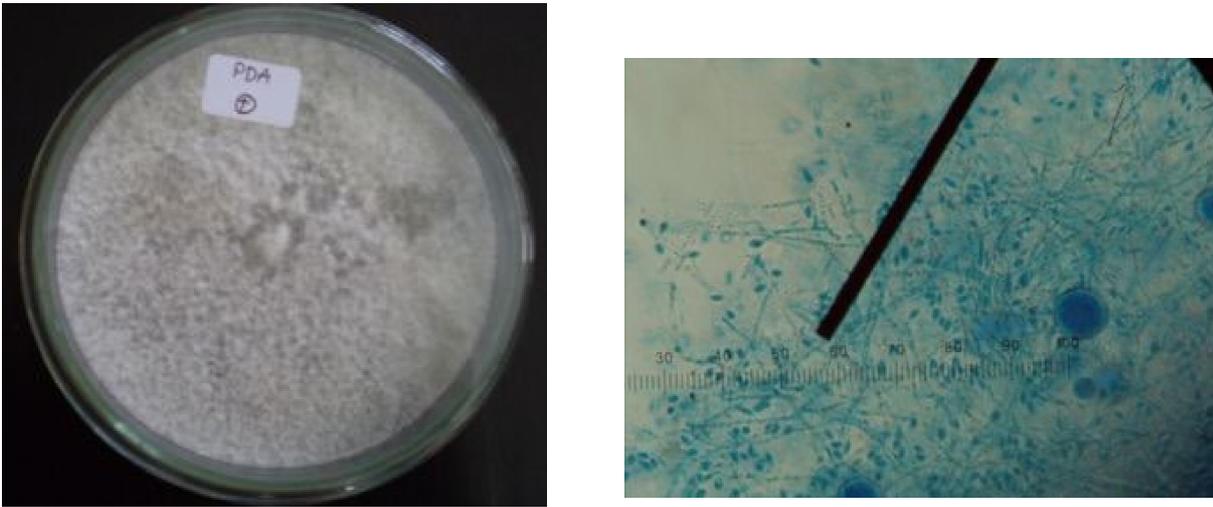


Fonte: INSPQ (2016).

2.5.1.13 *Phanerochaete* sp.

Este gênero é pertencente ao filo dos basidiomicetos. A espécie *Phanerochaete chrysosporium* é um fungo da podridão de madeira conhecido por ter a capacidade de degradar a lignina e uma variedade de poluentes aromáticos, também é utilizado em vários campos da indústria e da biotecnologia devido à sua capacidade de produzir enzimas lignolíticas. Suas colônias são planas, com taxa de crescimento lento em laboratório, com cor branco amarelado e bordas irregulares e textura de algodão. Em sua microscopia pode-se observar hifas septadas, de parede lisa e não ramificadas, esporângio globular de parede espessa e único esporangiofóro não ramificado e clamidiosfóros.

Figura 16 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Phanerochaete chrysosporium*.

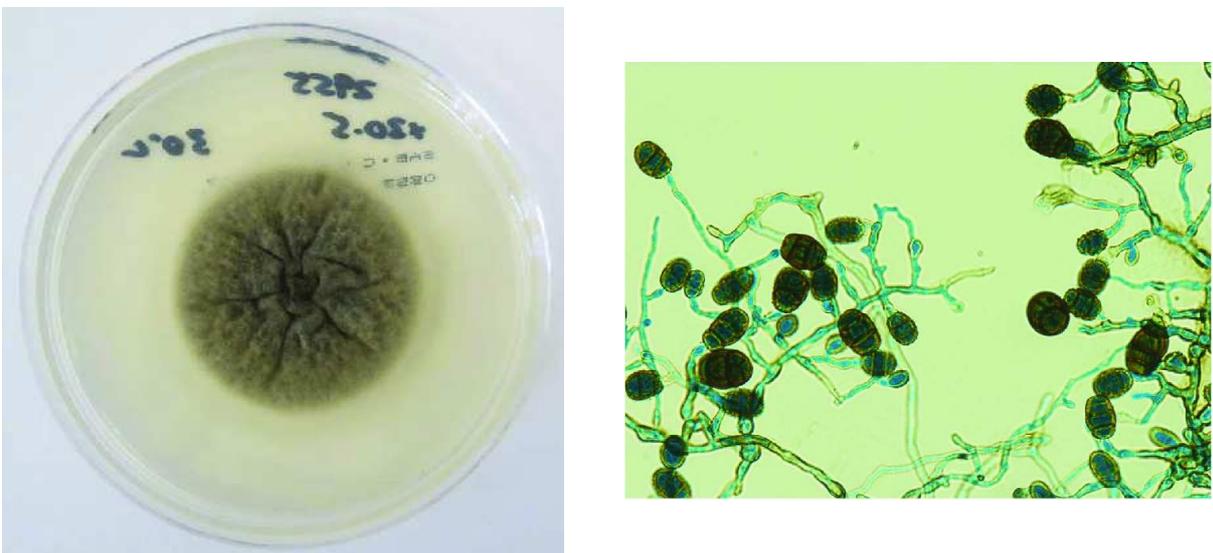


Fonte: Susanti *et al.* (2015).

2.5.1.14 *Pithomyces* sp.

Com cerca de 50 espécies comumente isoladas do solo, materiais vegetais, ar e gesso, este gênero que pertence ao filo dos ascomicetos e apresenta colônias acinzentadas a pretas com textura camurça e crescimento lento (Figura 17). Em sua microscopia pode-se observar conídios multicelulares elípticos, piriformes e oblongos, equinulados e verrucosos, apresentando cores escuras e septados, e hifas dispostas em ramos.

Figura 17 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Pithomyces* sp.

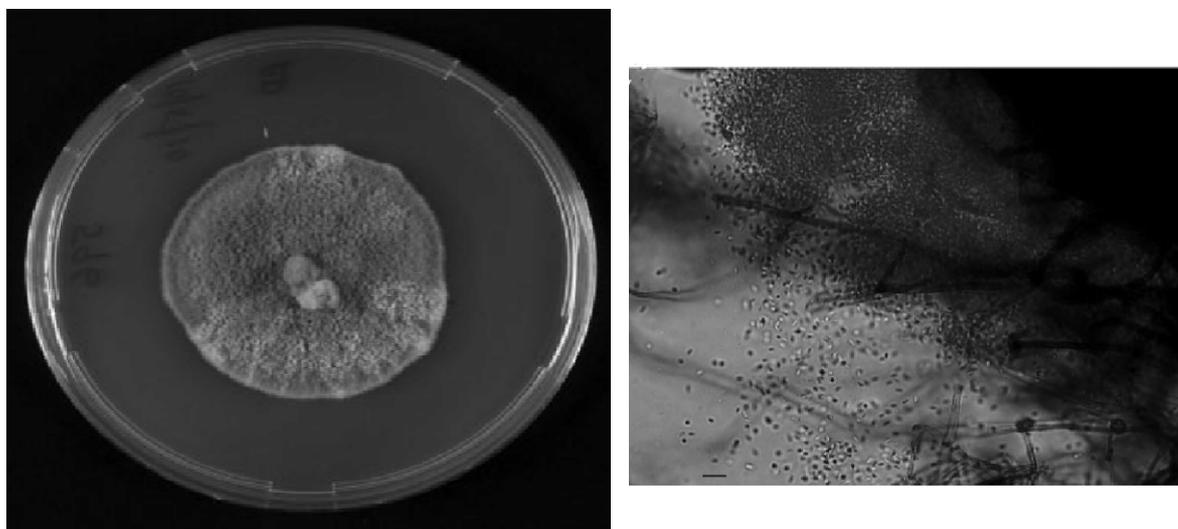


Fonte: Shah *et al.* (2018).

2.5.1.15 *Pyrenochaeta* sp.

Encontrado no solo, ou em restos de madeira e plantas, este gênero é sinônimo homotípico de *Neocucurbitaria* e pertencente ao filo dos ascomiscetos. As colônias (Figura 18) pertencente ao filo dos ascomiscetos apresentam crescimento lento a rápido em temperatura ideal de 30°C, com cor parda-acinzentada. Em sua microscopia pode-se observar picnídios superficiais isolados ou agrupados, ostiolados, preto-acinzentados e picnidioconídios sub-hialinos, elípticos, amarelados produzidos em conidióforos visíveis.

Figura 18 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Pyrenochaeta* sp.

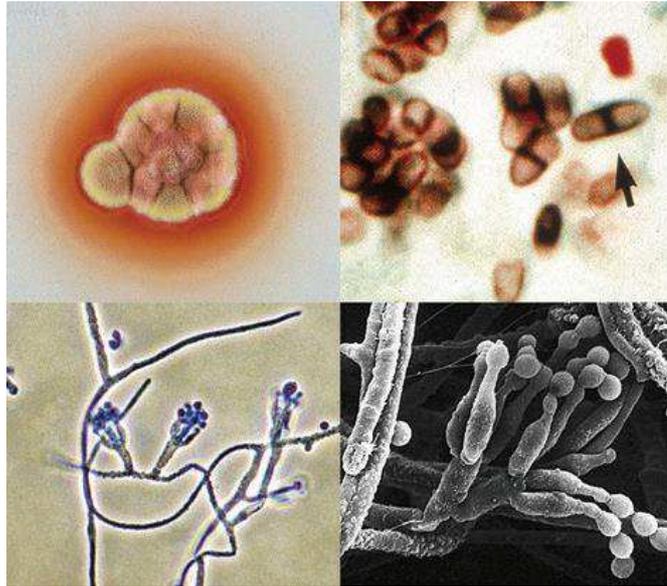


Fonte: KHAN *et al.* (2011).

2.5.1.16 *Talaromyces* sp.

Este gênero também incluso no filo dos ascomicetos apresenta colônias de crescimento rápido (Figura 19) a 25°C e textura de camurça a felpuda inicialmente brancas, tornando-se rosa-acinzentadas a marrons com o passar do tempo. Em sua microscopia pode-se observar os conidióforos que geralmente biverticilam e às vezes monoverticilam, ramos com verticilos terminais de três a cinco métulas, com três a sete fiálides cada e conídios globosos a subglobosos produzidos em sucessão basípeta a partir das fiálides.

Figura 19 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Talaromyces* sp.

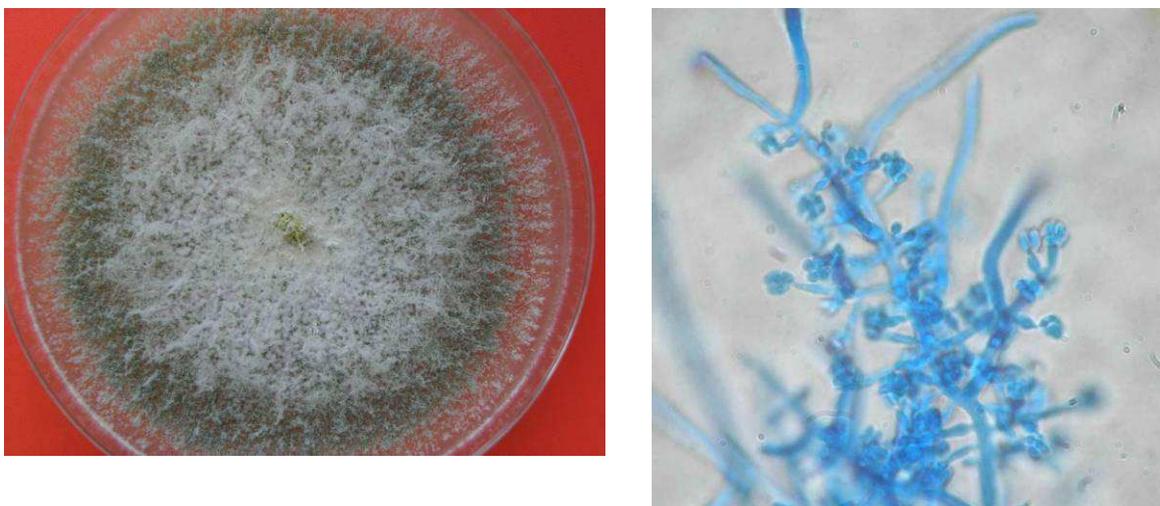


Fonte: Ellis e Kidd (1998).

2.5.1.17 *Trichoderma* sp.

Igualmente incluso no filo dos ascomicetos, este gênero frequentemente isolado de restos de madeira e solo, possui colônias de crescimento rápido em laboratório, inicialmente brancas e felpudas ficando amareladas, verdes a acinzentadas com o tempo. Em sua microscopia pode-se observar seus conidióforos ramificados, com filaídes em forma de frasco, e conídios aglomerados em suas extremidades.

Figura 20 - Colônia e microscopia do fungo do gênero *Trichoderma* sp.

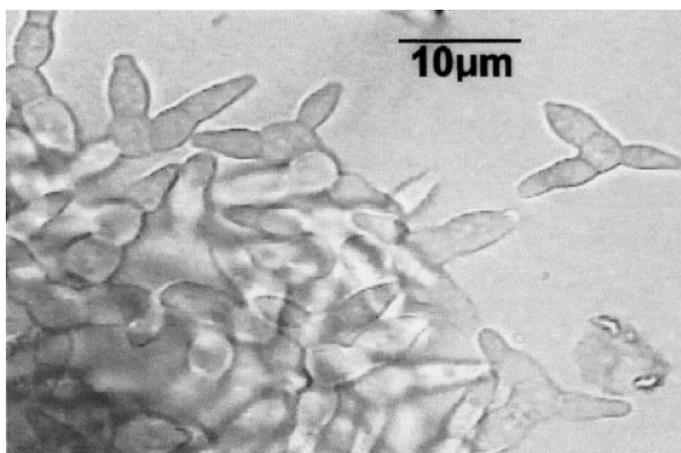


Fonte: Tomé e Marques (2016).

2.5.1.18 *Tripospermum* sp.

Relatado pela primeira vez na biomassa de tinta no Brasil por Shirakawa *et al.* (2002), esse gênero também foi encontrado por micologistas aquáticos reconhecido como um patógeno em plantas e identificado em seres humanos. Pertencente ao filo dos ascomicetos e apresenta crescimento lento com temperatura ideal variando entre 15°C e 20°C. Seu esporo (Figura 21) é hialino a fuscoso, com um eixo principal filamentososo, dobrado de volta a si em um ponto a cerca de um terço ao longo de seu comprimento, e tipicamente três laterais filamentosas retas que surgem relativamente próximas à região dobrada do eixo principal.

Figura 21 - Microscopia do fungo do gênero *Tripospermum* sp.



Fonte: Shirakawa *et al.* (2002).

2.5.2 Identificação de fungos

A primeira medida a ser tomada para que as causas e efeitos de doenças relacionadas às construções sejam resolvidas é a detecção e identificação das espécies dos fungos presentes no edifício. (ANDERSEN *et al.*, 2011). Allsopp, Seal e Gaylarde (2004) afirmam que a amostragem é a fase mais importante da análise microbiológica, já que, mesmo com métodos de detecção sensíveis, se as amostras não forem representativas, estes são inúteis. Sendo assim, os autores afirmam a relevância da amostragem do biofilme, citando algumas das técnicas que podem ser utilizadas, conforme a Tabela 8.

Tabela 8 – Técnicas de amostragem.

Método	Exemplos	Comentários
Esfregar com hastes flexíveis (“swab”)	Superfícies de preparação de alimentos.	Simples, mas difícil de padronizar; apenas uma fração do total de organismos é coletada. Alguns “swabs” são inibitórios.
Raspagem	Oleodutos e materiais minerais.	Mais eficientes que os <i>swabs</i> , mas, materiais estranhos (que podem ser inibitórios) também são coletados.
Lavagem (agitação em líquido).	Tecidos, pequenos espécimes não solúveis.	Um surfactante que não seja antimicrobiano deve ser incluído na água de lavagem.
Placa de contato	Superfícies de edificações, papel	Permite que o arranjo espacial dentro do biofilme seja mantido; adequado apenas para biofilmes finos.
Fita adesiva	Vidros, materiais de construção.	Assim como a placa de contato, mas mais eficiente na remoção de células da superfície; fita deve ser não-inibitória se as células devem ser cultivadas.
Coleta do substrato (material) com biofilme intacto	Películas de tintas, seções de tubos, grãos armazenados.	O melhor para o microbiologista, mas pode danificar o material. O planejamento no estágio de projeto de um sistema permite a incorporação de cupons prontamente removíveis.

Fonte: Adaptado de Allsopp, Seal e Gaylarde (2004).

A identificação de fungos é feita comumente pela observação da morfologia a partir dos esporos capturados ou após seu cultivo, onde devem estar em culturas

puras e isoladas. Este método permitiu a identificação de aproximadamente 90 espécies consideradas comuns e importantes em ambientes fechados, e traz como vantagem a possibilidade de, mesmo com poucos recursos, identificar e separar a maioria dos fungos filamentosos conhecidos em nível específico. Porém, este procedimento possui algumas dificuldades, já que várias espécies de fungos, quando mantidas em cultivo artificial por muito tempo, apresentam um polimorfismo, ou seja, variações de sua forma em função das condições ambientais. Além disso, estes também podem perder a capacidade de esporular por diversos fatores, não apresentando características morfológicas que permitam sua identificação taxonômica. Sendo assim, esta técnica exige tempo e grande experiência. (MELLO; REIS e SILVA, 2011; ADAMS *et al.* 2013; TRABULSI e ALTERTHUM, 2015).

Como alternativa para a identificação mais precisa destes micro-organismos pode-se realizar sua caracterização molecular através de amplificações e sequenciamento direto do DNA ribossomal (rDNA). Estas amplificações de um segmento específico de DNA são aplicações *in vitro* denominados PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). (MELLO; REIS e SILVA, 2011; LORENZ, 2012; MADHAD e SENTHEIL, 2014).

Para que a amplificação por meio dos protocolos que usam PCR seja eficiente, a etapa de extração e purificação de ácidos nucléicos é fundamental. Na extração de DNA são utilizados principalmente dois procedimentos: a lise celular rompendo-se todas as membranas e a purificação, sendo que nesta última o DNA é separado dos restos celulares e das proteínas, visando a obtenção de um DNA sem interferentes para ser utilizado nas amplificações. (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

As regiões conservadas de genes do rDNA, ITS1 e ITS2 (*Internal Transcribed Spacer*) são comumente utilizadas em estudos taxonômicos e de identificação de espécies de fungos. Essas regiões que são amplificadas utilizando-se de *primers* específicos ou universais com posterior sequenciamento da região isolada. As sequências nucleotídicas recuperadas são utilizadas para encontrar por similaridade genética a espécie correspondente em bancos de dados gênicos como o *BoldSystems* (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine) e *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). (MELLO; REIS e SILVA, 2011).

É de suma importância a escolha do método de extração de DNA para que se obtenha DNA genômico de alto rendimento e qualidade, e este dependerá de cada espécie, devido às propriedades singulares de suas células para que permitam a

liberação do DNA. Estes métodos exigem pouco tempo de treinamento para a formação profissional, porém é mais onerosa e implica em um laboratório mais equipado do que a caracterização morfológica. (MELLO; REIS e SILVA, 2011; CHACON-CORTES *et al.*, 2012; MADHAD e SENTHEIL, 2014).

Diversos métodos são disponíveis para a mensuração da diversidade, um parâmetro fundamental para que se tenha um maior conhecimento das comunidades. Entre eles os Índices de Shannon e Simpson, que consistem da riqueza de espécies (número de espécies em uma determinada comunidade) e equitabilidade, destacam-se como amplamente utilizados. (MELO, 2008).

2.5.3 Ensaio de resistência ao crescimento de fungos

É possível obter uma estimativa do desempenho dos produtos ao longo da utilização durante sua vida útil, quando submetido às condições de exposição, através da realização de ensaios e medidas em amostras. Este tipo de avaliação permite “prever o comportamento potencial do edifício e suas partes quando em utilização normal”. (SOUZA, 2015). Segundo Shirakawa *et al.* (2010) são utilizados testes acelerados em laboratório para a definição do tipo e concentração de biocidas, porém estes não consideram parâmetros ambientais que influenciam no desenvolvimento de fungos, como chuva e microbiota local.

Como exemplo destes testes que objetivam a avaliação da resistência à proliferação de fungos na superfície das películas de tintas, podem-se citar a norma americana ASTM D3273-16 (ASTM, 2016) e, em âmbito nacional, as normas NBR 15301 (ABNT, 2005), NBR 14941 (ABNT, 2011), NBR 15987 (ABNT, 2011) e NBR 15458 (ABNT, 2007). Cabe ressaltar que nenhuma das normas descritas nesta seção apresentam critério de aceitação das amostras em relação à classificação obtida nos testes aplicados.

A diretriz ASTM D3273-16 (ASTM, 2016), descreve um ensaio acelerado com duração de quatro semanas, em uma câmara ambiental com condições específicas de umidade e temperatura de operação. São definidos os constituintes construtivos da câmara, propriedades do solo utilizado, intervalo de temperatura e umidade, especificações das amostras ensaiadas e três gêneros de fungos a serem cultivados: *Aureobasidium pullulans*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. Como forma de avaliação das amostras, a norma define apenas uma identificação visual do grau de deterioração

apresentado, sendo empregada uma escala de classificação de 0 a 10, estimando a porcentagem de desfiguração da superfície, com 10 sendo nenhum desfiguramento e 0 completamente desfigurado. (ASTM, 2016).

Entretanto, somente a verificação visual da deterioração das tintas e duração do ensaio pode não ser suficiente, já que na pesquisa realizada por Wirth *et al.* (2019) percebeu-se uma diferença na classificação das amostras entre o período definido pela norma e as 10 semanas de duração do ensaio realizado. Também foram encontrados fungos nas amostras que não apresentavam nenhuma evidência estética de contaminação ou danos físicos, o que demonstra a possibilidade de obter-se resultados equivocados com apenas este critério de análise. (WIRTH *et al.*, 2019).

Com procedimentos, equipamentos e método de análise semelhantes a ASTM D3273-16 (ASTM, 2016), a NBR 15301 (ABNT, 2005) estabelece a “determinação da resistência ao crescimento de fungos sobre tintas, vernizes e complementos em substrato inerte, através da exposição em câmara tropical”, com a incubação de amostras em uma câmara tropical pelo período de quatro semanas, porém utilizando os fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum*, *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria alternata* e *Cladosporium cladosporioides*. A avaliação também é feita de forma visual, tendo uma escala de pontuação de 0 a 5 (0 crescimento não detectado e 5 um crescimento superior a 75% da superfície do corpo-de-prova). (ABNT, 2005).

A NBR 14941 (ABNT, 2011) que tem por objetivo a “determinação da resistência de películas não lixiviadas de tintas, vernizes e complementos, ao crescimento do fungo *Aspegillus niger*, durante 14 dias”. Sua avaliação da resistência também se dá através da visualização a olho nu, porém como diferença da normativa americana, a diretriz brasileira estabelece que o corpo de prova ensaiado deve ser colocado na placa de Petri e incubado durante 14 dias, com avaliações após 7 e 14 dias. Tendo sua escala de classificação baseada no crescimento do fungo sobre o corpo de prova, compreendendo o intervalo de 0 a 5, sendo 0 sem crescimento e 5 com crescimento superior a 76% da superfície do corpo de prova. (ABNT, 2011). A NBR 15987 (ABNT, 2011) segue procedimentos, ensaio e classificação similares, porém com o uso de corpos de prova lixiviados. (ABNT, 2011).

A NBR 15458 (ABNT, 2007) pretende “avaliar o grau de contaminação microbiológica de tintas para construção civil, vernizes e complementos, [...] além de matérias-primas e instalações relacionadas”. Neste método, as amostras retiradas são inoculadas em placas de Petri, e incubadas por até 5 dias, para o caso de avaliação

microbiológica de fungo, tanto no método por estrias quanto em relação aos totais. A avaliação é feita de forma estimada, ou quantificada, sendo a primeira de acordo com o número de colônias encontradas, em uma classificação de 0 à 4 (sendo grau 0 sem crescimento e grau 4 com “crescimento contínuo, não sendo possível distinguir cada colônia separadamente”). A avaliação quantitativa é obtida através da contagem, com seu resultado expresso em Unidade Formadora de Colônia (UFC) com base na amostragem realizada. (ABNT, 2007).

2.5.4 Resultados obtidos por Labres (2019)

Para a obtenção de resultados em relação ao desenvolvimento fúngico em fachadas externas com diferentes tratamentos aplicados, Labres (2019) analisou quatro fachadas com diferentes orientações solares de dois prédios situados na Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS. Para isso, o autor realizou três coletas avaliando as situações originais e após limpeza das paredes com hipoclorito de sódio, e duas nos períodos de 30 e 101 dias de pintura de duas tintas sem e com biocidas, denominadas Tinta A (TA) e Tinta B (TB), respectivamente. Os itens 3.2.1 e 3.2.2 detalham os procedimentos de preparação de superfície e informações das tintas utilizadas, já que esta pesquisa dá continuidade à iniciada por Labres (2019).

Das coletas realizadas foram isoladas 13 colônias de gêneros de fungos distintos, sendo *Alternaria* sp. o mais predominante (porém encontrado na Tinta B apenas na coleta 05), seguido por *Aspergillus* sp. (identificado em todos os tratamentos), *Curvularia* sp., *Cladosporium* sp., *Beauveria* sp., *Mycelia sterilia*, *Penicillium* sp., *Acremonium* sp., *Fusarium* sp., *Cladophialophora* sp., *Nigrospora* sp. e *Tripospermum* sp. Além destas, também foram encontradas uma variedade de colônias das quais não foi possível sua identificação através da microscopia ou morfologia.

Para analisar os dados obtidos, o autor realizou testes ANOVA e Tukey considerando um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Através destes, autor não obteve diferenças significativas entre as orientações solares distintas. Para a comparação de abundância de fungos aos 30 dias de pintura das áreas Sem Tinta (ST) e TA, e TA e TB, através do teste de Tukey, não houve diferenças significativas, assim como no teste de ANOVA aplicado em relação à riqueza entre TA e TB aos 30 e aos 101 dias de pintura. A análise da abundância destes mesmos tipos de

tratamento também não apresentou diferenças significativas para os mesmos períodos mencionados anteriormente.

Porém, o autor obteve diferenças significativas ao analisar a abundância de fungos entre as áreas ST e TB aos 30 dias de pintura e na comparação dos prédios, em relação à abundância e riqueza de fungos.

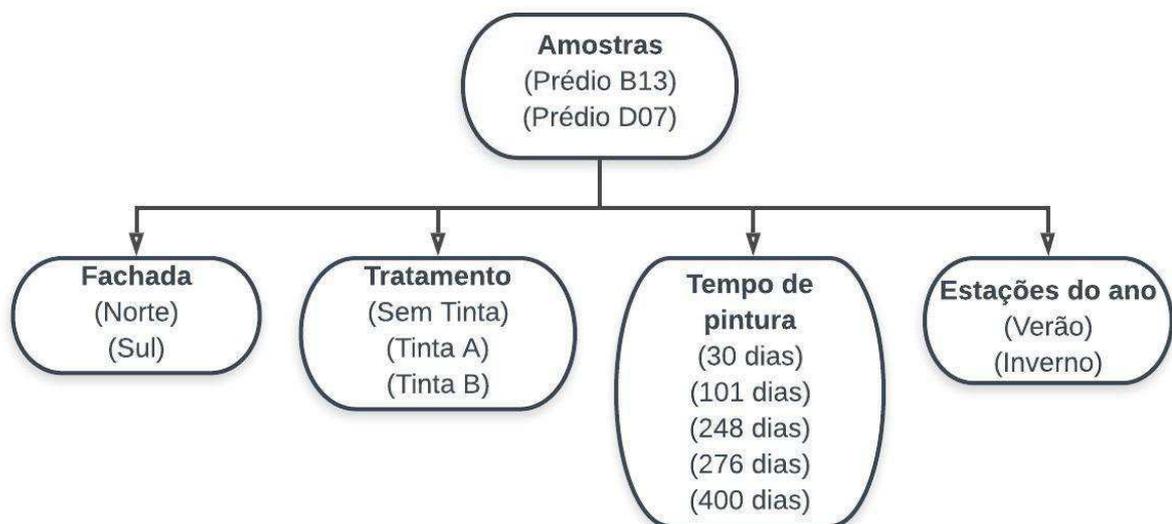
Assim, o autor também concluiu que as áreas sem tratamento possibilitaram o desenvolvimento de quase duas vezes mais colônias do que as demais, e em relação à abundância, a Tinta B apresentou melhor desempenho quando comparada à Tinta A, porém exibiu maior sensibilidade aos diferentes gêneros.

Com o intuito de prosseguir na avaliação do desempenho das tintas, considerando diferentes estações do ano e após um ano de aplicação, adicionalmente à identificação dos fungos através do sequenciamento de DNA, esta pesquisa dá continuidade à iniciada por Labres (2019).

3 METODOLOGIA

Para o cumprimento dos objetivos desse estudo fizeram-se necessárias análises microbiológicas das amostras de tintas coletadas no Campus da UNISINOS em São Leopoldo, que seguiram os procedimentos desenvolvidos por Labres (2019). Na Figura 22 apresenta-se o fluxograma esquemático das correlações utilizadas, sendo extraídas um total de 36 amostras por coletas. Destas, 18 amostras coletadas por prédio, 9 por fachada e 3 por tratamento, analisando 30 a 400 dias de pintura que abrangeram duas estações do ano. Assim, puderam ser comparados os resultados entre prédios, fachadas, tratamentos e estações.

Figura 22 – Correlações utilizadas.

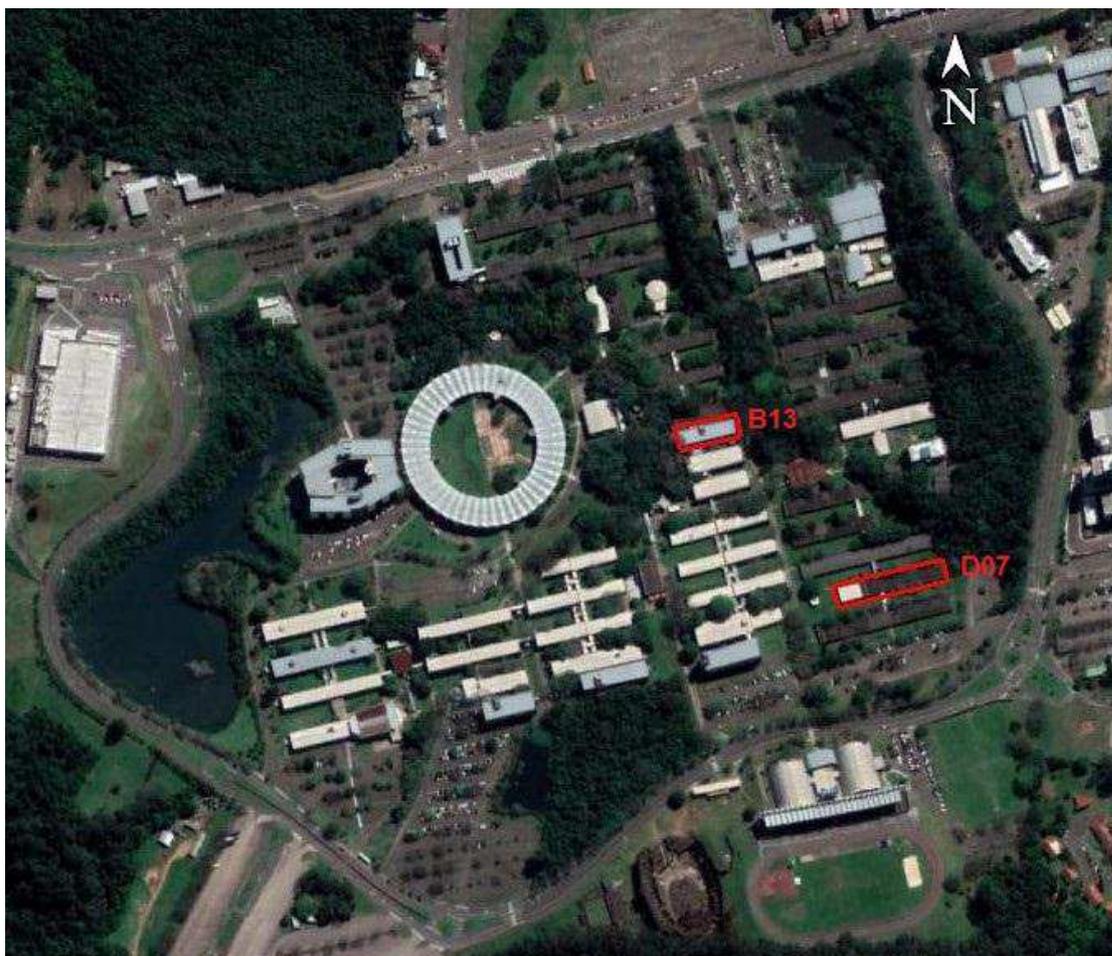


Fonte: Elaborado pela autora.

3.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO E AMOSTRAS

Esta pesquisa, que continua as análises feitas por Labres (2019), foi realizada na cidade de São Leopoldo/RS, em duas edificações situadas no campus da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, nomeadas pela universidade como B13 e D07, localizadas de acordo com o demonstrado na Figura 23.

Figura 23 – Localização das edificações.



Fonte: Elaborado pela autora.

A edificações foram escolhidas por Labres (2019), com base em critérios de sua posição geográfica, aspectos visuais e arquitetônicos, sendo selecionadas para análise, duas fachadas (norte e sul) de cada uma destas construções. Na Tabela 9 estão listadas as características destas áreas de estudo, sendo a rugosidade média da superfície dos revestimentos determinada pela captura de imagens em 3D de um microscópio digital, de magnificação de até 1010x.

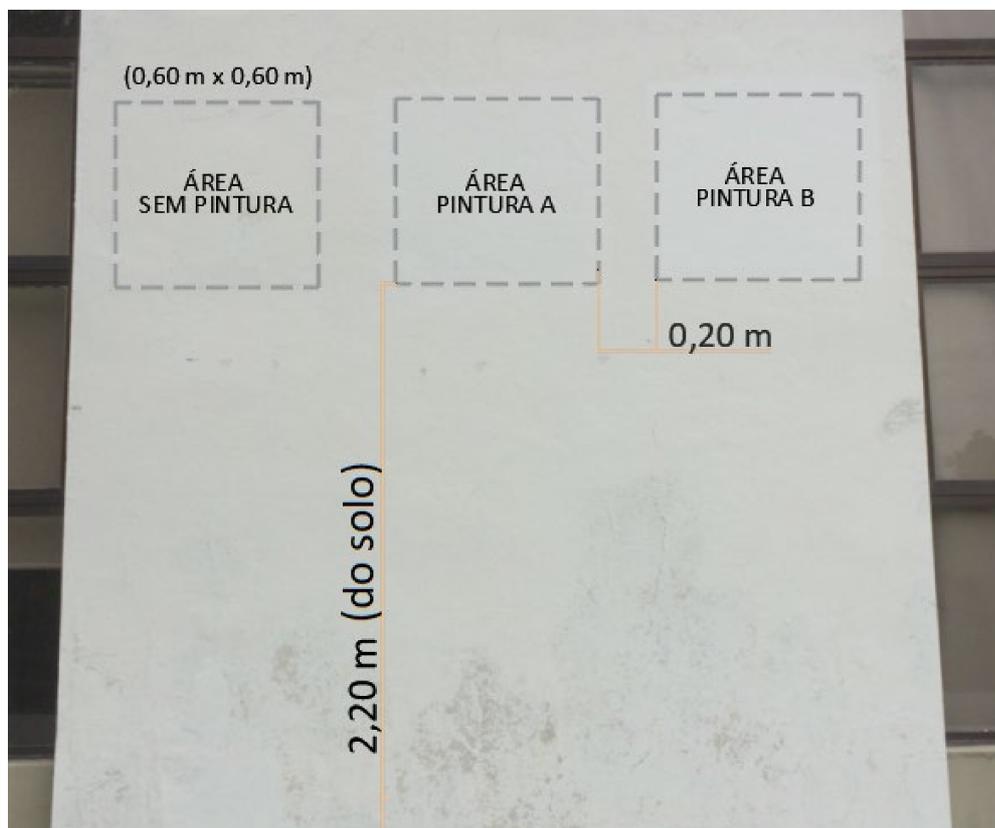
Tabela 9 – Características das fachadas.

Características das fachadas	Prédio			
	B13		D07	
Orientação solar	Norte	Sul	Norte	Sul
Dimensão da fachada escolhida (m)	3,75x3,30	3,00x3,30	2,40x5,00	2,40x5,00
Rugosidade média (μm)	145	170	79	71

Fonte: Elaborado pela autora.

Em cada fachada foram demarcadas três áreas de trabalho, conforme exposto na Figura 24, sendo uma área limpa e sem nenhum tratamento, e duas outras áreas pintadas com duas tintas distintas expostas no item 3.2.2 a seguir.

Figura 24 – Demarcação das áreas de trabalho.



Fonte: Labres (2019).

3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

A seguir estão expostos os materiais e equipamentos que foram utilizados neste trabalho.

3.2.1 Preparação da superfície

A aplicação das tintas foi realizada durante o período analisado por Labres (2019), anteriormente à esta etapa, as fachadas foram desinfetadas e limpas, com uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO) com concentração de 2,5%, o qual agiu por 15 minutos na superfície, sendo posteriormente retirado com lava-jato de alta pressão.

Sete dias após a limpeza, com temperatura de 32°C e umidade relativa do ar de 56%, fez-se a raspagem da película existente e de materiais soltos, lixamento das superfícies com lixas de grãos 180 a 360 e 360 a 400, e limpeza da superfície com vassoura e pano úmido. Então, aplicou-se uma demão de fundo selador nas superfícies conforme orientações do fabricante. Em seguida, após a secagem, foram aplicadas com rolos (um para cada tinta), duas demãos das duas tintas do mercado nacional, indicadas para ambientes internos e externos, seguindo também as indicações dos fabricantes, com tempo de secagem de 4 horas entre demãos. Não houve controle de ambiente ou espessura da película de tinta, já que este procedimento teve como objetivo seguir o mais próximo possível ao praticado pelos consumidores.

3.2.2 Tintas

O critério de escolhas deste material baseou-se na diferença de custos e propriedades distintos dos dois produtos. A intitulada Tinta A (TA), é uma tinta acrílica a base de água, de acabamento fosco, da linha Standard da marca LUXENS, que pode ser considerada de padrão médio. A Tinta B (TB), também acrílica a base de água, da linha Premium Metalatex Bactercryl da marca Sherwin Willians, declara ser poderoso antimifo. A Tabela 10 descreve as informações gerais descritas nas embalagens das tintas aplicadas.

Tabela 10 – Informações gerais das tintas aplicadas.

Informações Gerais	Tinta A	Tinta B
Nome	Standard	Metalatex Bactercyl
Tipo	Acrílica	Acrílica Premium
Uso	Interno e Externo	Interno e Externo
Fabricante	Luxens	Sherwin Willians
Conteúdo	900 mL	900 mL
Lote	0118850	TA2968801
Validade	09/2021	11/2021
Propaganda	Rendimento de até 25m ² ; Ótima cobertura; Sem cheiro.	Poderoso antimofa, alta lavabilidade, resistência superior a umidade e ausência de cheiro.
Composição	Emulsão acrílica modificada, cargas minerais inertes, pigmentos inorgânicos e/ou orgânicos, aditivos especiais, biocidas e água.	Água, bactericidas e fungicidas não metálicos (isotiazolinonas), polímero acrílico modificado, cargas minerais inertes, éteres glicólicos, pigmentos orgânicos e inorgânicos (isentos de chumbo e cromatos) e aditivos.
Normas	NBR 11702; NBR 15079	NBR 11702; ISO 9001; ISO 14001; OHSAS 18001.
Selos de qualidade e ambientais	Participante do Programa Coatings Care; Declara menos COV; Embalagem reciclável.	Embalagem reciclável.

Fonte: Labres (2019).

Na Tabela 11 pode-se observar as informações sobre os ingredientes listados na FISPQ (Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos) que demonstram sua periculosidade. Em sua embalagem, a Tinta B também cita o uso de bactericidas e fungicidas não-metálicos (isotiazolinonas), porém estes não estão citados em sua FISPQ.

Tabela 11 – Ingredientes perigosos citados na FISPQ das tintas aplicadas.

Ingrediente	Fórmula	Tinta		Descrição
		A	B	
Cloro-metil-isotiazolinona	C_4H_4ClNOS	+		Conservante com efeitos antibacterianos e antifúngicos no grupo das isotiazolinonas. É eficaz contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, leveduras e fungos.
Dioxido de titânio	TiO_2	+	+	Apresenta bom desempenho em uma ampla variedade de sistemas à base de água e solventes, fornecendo a alta resistência à calcinação, alta retenção de brilho, alta retenção de tingimento, excelente resistência ao amarelamento causado por restauração prolongada.
Fenoxietanol	$C_8H_{10}O_2$		+	Eficaz como conservante na inativação de doses de teste de micro-organismos gram-negativos e gram-positivos, bem como uma levedura.
Piritiona de Zinco	$C_{10}H_8N_2O_2S_2Zn$		+	Devido à sua baixa solubilidade em água (8 ppm em pH neutro), é adequada para uso em tintas para ambientes externos e outros produtos que fornecem proteção contra mofo e algas. É um algicida eficaz.
Caulino	$Si_2Al_2O_5(OH)_4$	+	+	O mineral é utilizado para completar o óxido de titânio como agente de coloração branca em muitos produtos. É utilizado em algumas tintas e pigmentos, particularmente em tons de branco.
Metassilicato de Sódio	Na_2SiO_3	+		Normalmente é utilizado na produção de pigmentos. É empregado como fonte de sílica solúvel na produção do dióxido de titânio auxiliando na estabilidade e dispersão da tinta.

Legenda:

Presença (+) ou ausência destes ingredientes.

Fonte: Labres (2019).

3.2.3 Equipamentos

Para a realização dos procedimentos necessários às análises microbiológicas como coleta, inoculação, incubação, identificação e extração e PCR, foram utilizados os equipamentos descritos na Tabela 12.

Tabela 12 – Equipamentos utilizados.

Descrição	Fabricante / Modelo	Função
Microscópio Trinocular com câmera AxioCam	Primo Star - Zeiss	Inspeção por imagem com objetivas de 4x, 10x e 40x e oculares de 10x.
Autoclave Vertical	AV-75 - Phoenix	Esterilização de objetos.
Capela de fluxo laminar	MA1550 - Marconi	Área de trabalho estéril.
Estufa Bacteriológica	B2CBE- Deleo	Incubação das colônias dos fungos em placas.
Balança semi-analítica	AD330F - Phox	Pesagem dos meios de cultura e amostras.
Termociclador	T100 Thermal Cyclor	Otimização de PCR.
Espectrofotômetro	Thermo Scientific NanoDrop Lite	Estimativa das concentrações e a qualidade do DNA genômico e quantificação do produto da PCR.
Vortex	BioSan Mini Centrífuga/Vortex Combi-Spin	Homogeneização de amostras.
Incubadora	FINEPCR/CombiSV12	Secagem do pellet.
Centrífuga	FVL-2400N Combi-Spin	Homogeneização de amostras.
Cuba de eletroforese	LCH 7×8	Avaliar o tamanho em pares de bases do produto esperado pela amplificação da PCR.
Fonte de eletroforese	Life Technologies GIBCO BRL Electrophoresis Power Supply Model 250	
Transluminador	Kelly	Visualização das extrações e dos produtos da PCR.

Fonte: Elaborado pela autora.

3.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

3.3.1 Coleta

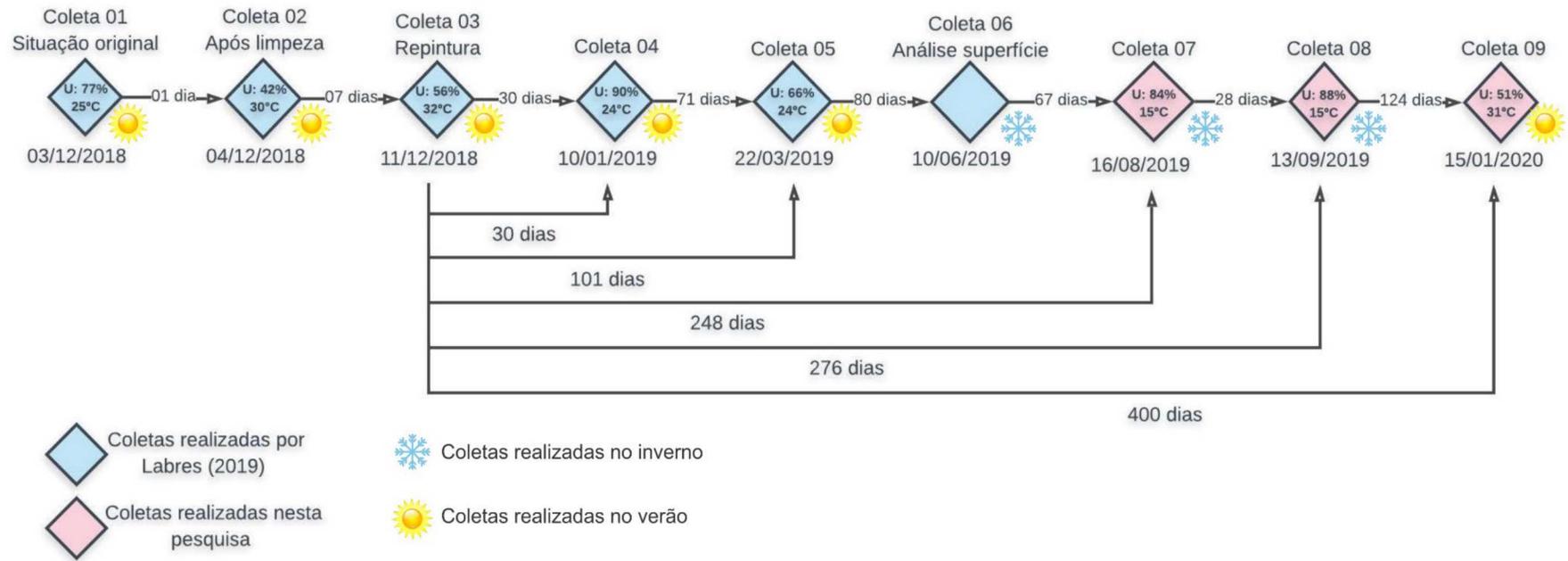
Deu-se continuidade à análise realizada por Labres (2019), continuando as coletas das superfícies, e verificando um total de 36 amostras em cada coleta,

considerando os tipos de tratamento Sem Tinta (ST), pintura com Tinta A (TA) e pintura com Tinta B (TB), aplicadas em duas edificações diferentes e em duas orientações solares (norte e sul), conforme descrições anteriores.

Com o auxílio de um extrator metálico raspou-se uma quantidade de amostra da camada superficial da parede que foi armazenada em um microtubo plástico de centrifugação de 1,5 µl, ambos os materiais estavam esterilizados. Imediatamente após a coleta de todas as amostras, ocorreu o transporte ao laboratório, onde executaram-se os procedimentos detalhados nos itens 3.3.2, 3.3.3, 3.3.4 e 3.3.5.

As coletas foram realizadas conforme o cronograma abaixo (Figura 25), com informações de umidade relativa e temperatura obtidas pela internet (www.weather.com), para a confirmação das características climáticas de cada estação, posteriormente correlacionadas com as demais situações, possibilitando as análises e comparações necessárias para o cumprimento dos objetivos deste trabalho. Vale lembrar que as coletas 01, 02 e 03 ocorreram antes da realização da pintura, e as coletas 04 e 05 (30 e 101 dias) após a aplicação das tintas. Na coleta 06 foi realizada apenas a análise de superfície, não havendo cultivo dos fungos presentes. Todas as coletas, de 01 a 06, foram realizadas por Labres (2019), as demais (07, 08 e 09) foram realizadas nesta pesquisa. Sendo assim, serão analisadas as coletas de 04 a 09.

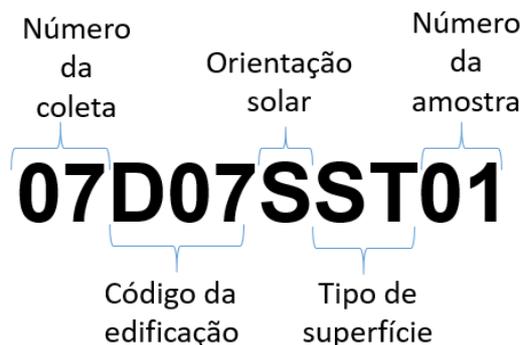
Figura 25 – Cronograma de coletas.



Fonte: Elaborado pela autora.

Após a coleta, as amostras foram catalogadas, contendo as informações de número da coleta (que dará continuidade às já realizadas), código da edificação, letra inicial da orientação solar, código do tipo de superfície, o número da amostra e letra (minúscula) para identificação das culturas puras isoladas, conforme ilustra a Figura 26.

Figura 26 – Exemplo de catalogação de amostra.



Fonte: Elaborado pela autora.

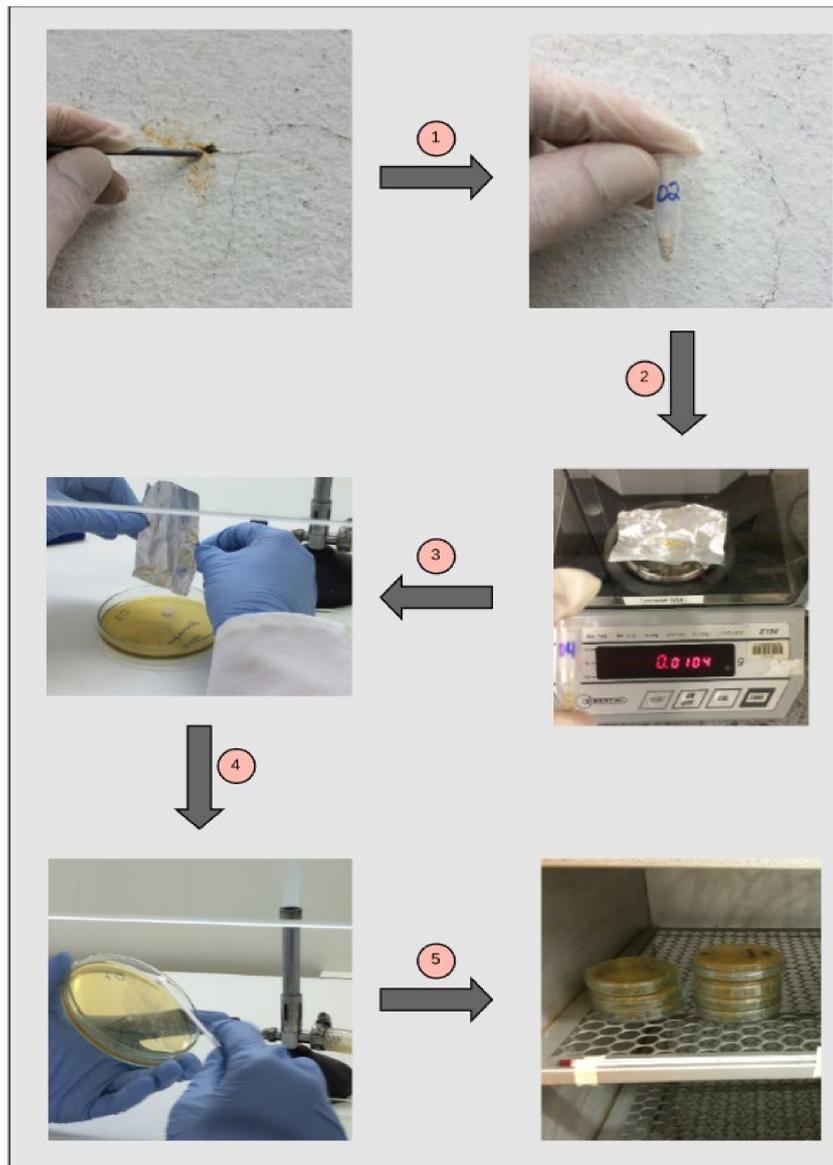
3.3.2 Inoculação

Para o cultivo artificial dos fungos presentes nas amostras foram preparadas as placas de Petri com meio de crescimento Saboraud Dextrose Ágar (sólido), com 65 g/L de pó, diluído em água destilada. Após o processo de esterilização, foram despejados cerca de 25 ml de meio em cada placa, que se manteve em posição horizontal até a solidificação.

Após a coleta, armazenamento e transporte das amostras até o laboratório, estas foram pesadas em balança analítica, admitindo valores entre 0,0090g e 0,0110g. Em seguida, na câmara de fluxo laminar, previamente higienizada e desinfetada com acionamento dos raios UV por cerca de 15 minutos, fez-se a inoculação nas placas de Petri, por meio da técnica de esgotamento por estrias, que consiste na movimentação da alça em “L” realizando estrias na superfície do meio. Por fim, estas foram nomeadas e transferidas a estufa para a incubação, em uma temperatura entre 25°C e 30°C, por um período de 5 dias.

Para um melhor entendimento dos procedimentos realizados desde a coleta até a inoculação, estes estão demonstrados na Figura 27.

Figura 27 – Procedimentos de coleta.



Fonte: Labres (2019).

3.3.3 Isolamento e repicagem

Após o período de 5 dias, as colônias de fungos presentes nas amostras foram nomeadas e isoladas, para posterior identificação de gênero através de sua morfologia. O grande número de colônias e gêneros distintos presentes em cada amostra faz com que o isolamento em culturas puras seja trabalhoso e demorado. Este procedimento é realizado em capela de fluxo laminar previamente esterilizada e com o bico de Bunsen com a chama acesa, seguindo os seguintes procedimentos:

- I. retira-se um pequeno fragmento da cultura de fungo;

- II. coloca-se no centro da placa de Petri, com o mesmo tipo de meio de crescimento;
- III. transfere-se à estufa para a incubação.

Este processo repetiu-se até o isolamento das colônias em culturas puras para posterior identificação. Caso necessário, para o controle das colônias devido a seus períodos de crescimento e esporulação distintos, fez-se a repicagem dos fungos, a qual seguiu os mesmos procedimentos do isolamento.

3.3.4 Armazenamento de fungos

Com as colônias já isoladas realizou-se o armazenamento das amostras, com a finalidade de preservação de uma pequena fração, que posteriormente possibilite seu cultivo. Para isso, com o auxílio da alça, inoculou-se o fungo em um tubo criogênico de 2mL com o mesmo tipo de meio inclinado, que foi posteriormente incubado na estufa. Após o desenvolvimento da colônia, adicionou-se 500µL de vaselina líquida estéril aos tubos, que foram armazenados a 4°C, finalizando o processo.

3.3.5 Identificação

3.3.5.1 Identificação morfológica

Devido ao grande número de colônias isoladas, estas foram divididas em grupos com seus respectivos morfogêneros (quando observados), e identificadas com relação a uma amostra escolhida.

Para a identificação dos fungos através de sua estrutura reprodutiva obedeceram-se aos seguintes passos:

- I. Transferiu-se a placa de Petri até a câmara de fluxo laminar, já esterilizada, com o bico de Bunsen com a chama acesa;
- II. Pingou-se sobre lâmina estéril uma 1 gota de $C_{20}H_2Br_4Cl_4Na_2O_5$ (Floxina) e 1 gota de KOH 3M (Óxido de Potássio).
- III. Pressionou-se a fita adesiva sobre a cultura de fungo e posicionou-se sobre as gotas na lâmina;

- IV. Visualizou-se no microscópio trinocular, modelo Primo Star, com objetivas planacromáticas de 4x, 10x 40x e 100x, e acoplamento de câmera Axiocam e software ZEN.

3.3.5.2 Identificação molecular

Semelhante ao processo de escolha das amostras para identificação microscópica, as colônias isoladas nas coletas 07, 08 e 09, foram divididas em grupos de morfôgenos. Para o processamento, foram escolhidas 35 amostras que abrangeram todos os gêneros identificados microscopicamente, encontrados em todas as situações analisadas, além de dois fungos não identificados encontrados com maior frequência nas amostras, como demonstra o Quadro 1. Este procedimento não foi realizado nos gêneros coletados por Labres (2019), já que estas não se mantiveram viáveis para tais análises.

Quadro 1 – Amostras escolhidas para sequenciamento.

Coleta	7								8								9								
	D07				B13				D07				B13				D07				B13				
Edificação	N		S		N		S		N		S		N		S		N		S		N		S		
Orientação Solar	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	
Tratamento	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	
Gênero do Fungo																									
<i>Alternaria</i>	x	x		x	x		x	x		x	x		x	x		x				x					
<i>Aspergillus</i>			-										x		x		x								
<i>Aureobasidium</i>																								x	
<i>Beauveria</i>		-	-										x	x										x	x
<i>Candida</i>		-	-	-									-	-	-								-	-	-
<i>Chrysonilia</i>	x																							x	x
<i>Cladophialophora</i>																									x
<i>Cladosporium</i>																									x
<i>Curvularia</i>	x																								x
<i>Fusarium</i>	x																								x
<i>Paecilomyces</i>																									x
<i>Penicillium</i>																									x
Não identificado																									x

Legenda:

x: amostra escolhida; -: amostra não escolhida; Células vazias: sem crescimento fúngico;

D07 e B13: Prédios da Unisinos. N: Norte; S: Sul; ST: Sem tinta; TA: Tinta A; TB: Tinta B;

Fonte: Elaborado pela autora.

3.3.5.2.1 Extração de DNA e sequenciamento

As análises foram realizadas a partir das colônias isoladas e armazenadas em microtubos e conservadas à 4 °C. O DNA total de cada uma das colônias de fungos foi isolado utilizando o *PowerSoil® DNA Isolation Kit - MoBio*, seguindo as instruções

do fabricante. As concentrações e a qualidade do DNA genômico foram estimadas em espectrofotometria *UV Nanodrop TM* (Thermo Scientific TM Wilmington, DE), e o produto da extração do DNA foi utilizado para amplificar um fragmento correspondente a região interna do espaçador transcrito (ITS), utilizado como código de barras do DNA pelo Barcode of Life Data System (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine).

A amplificação de um segmento de aproximadamente 550 pb da região ITS foi realizada pela técnica de PCR com os *primers* ITS1 (5'-CTTGGTCATT TAGAGGAAGTAA-3') e ITS4 (5' -TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). As condições para amplificação foram: para um volume de 25 µL de produto, 50-100 ng de amostra de DNA, 0,2 µM de cada *primer*, 200 µM de dNTPs, 1x *buffer*, 2.0 mM MgCl₂, 1 unidade de *Taq DNA polimerase* (Invitogen, Carlsbag, CA, USA) e água ultrapura. As condições para a amplificação foram: desnaturação inicial a 95 °C por 4 minutos, 38 ciclos de desnaturação a 94 °C por 60 segundos, anelamento a 50 °C por 45 segundos, extensão a 72 °C por 60 segundos e extensão final a 72 °C por 5 minutos. Após a amplificação, a quantificação do produto da PCR foi realizada em espectrofotometria *UV Nanodrop TM* (Thermo Scientific TM Wilmington, DE) e a verificação do produto esperado da PCR foi feito em eletroforese (90 V por 45 minutos) em gel de agarose 1%, corado com corante fluorescente de ácidos nucleicos *GelRed* (Biotium, Hayward, CA, USA) e utilizando-se um marcador de tamanho em pares de bases. O resultado foi visualizado em luz ultravioleta, por meio de um transluminador.

Os produtos amplificados pela PCR foram purificados utilizando *Shrimp Alkaline phosphatase* (SAP) e exonuclease I (*New England Biolabs, Ipswich, MA, USA*), da seguinte maneira: 0,3 µL da enzima Exo I e 0,8 µL da enzima SAP a cada 10 µL de produto de PCR. O procedimento foi realizado a 37 °C durante 20 segundos, 85 °C por 15 minutos e 12 °C ∞ (até a retirada do produto do termociclador). Os sequenciamentos foram realizados pela empresa *Advancing through Genomics* MACROGEN localizada na Coréia do Sul, sendo cada amostra, representado o fungo isolado, sequenciada em ambas as direções (senso e anti-senso).

3.3.5.2.2 Análises das sequências e a definição taxonômica molecular

A sequência consenso, gerada a partir das seqüências senso e anti-senso de cada uma das colônias sequenciadas, foram montadas usando Staden Package 2.0

(<http://staden.sourceforge.net/>). A confiabilidade das sequências foi avaliada por um exame visual completo nos cromatogramas utilizando o *software* ChromasPro (<http://www.technelysium.com.au>).

Um total de 30 sequências consenso foram geradas e alinhadas automaticamente (com correção manual menor) no ClustalW implementado no MEGA 7 (Kumar et al., 2016), com edição posterior no BioEdit 5.0.9 (Hall 1999). Após o alinhamento, cada uma das 30 sequências ITS foram utilizadas como “query” para comparação com as sequências disponíveis no GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) e Boldsystems (www.boldsystems.org) usando a ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (blast.ncbi.nlm.nih.gov). Em todos os casos, o BLAST resultou em um “matched” com sequências de ITS de fungos, em ambos os bancos, com boa cobertura de sequências ($\geq 80\%$) e identidade ($> 98\%$), sugerindo que as sequências nucleotídicas geradas a partir das nossas amostras são correspondentes a região ITS de fungos.

Através da identificação molecular das amostras inicialmente determinadas por sua morfologia foi possível verificar o número de acertos desta identificação preliminar, estimando a confiabilidade obtida na mesma.

3.3.6 Análise estatística

Foram realizadas três avaliações em relação ao desempenho da pintura das fachadas externas em relação a abundância de fungos: a primeira comparou os três tipos de tratamentos realizados nos dois prédios estudados, em ambas as fachadas e ao longo das cinco amostragens coletadas após a repintura, três no verão e duas no inverno. A segunda avaliação verificou se o crescimento dos fungos é afetado pelas estações do ano e a terceira avaliação compara se a orientação solar nas paredes pintadas interfere o aparecimento dos fungos. Os testes estatísticos (ANOVA e TUKEY) foram realizados no software SPSS versão 22.

Posteriormente, com base nas abundâncias, estimou-se os índices de diversidade de Shannon-Weaver (H'), que considera igual peso entre as espécies raras e abundantes; o índice de Simpson (S') considera a proporção do total de ocorrências de cada espécie, sendo assim, quanto menor é a diversidade, maior é o valor de índice de Dominância (D) e de Equitabilidade de Pielou (J), derivado do índice de diversidade de Shannon permite representar a uniformidade da distribuição dos

indivíduos entre as espécies existentes. Todos os índices foram estimados no software PAST 3.25.

A análise de correspondência canônica (CCA) foi realizada para avaliar a relação entre os tratamentos (ST, TA e TB) e a composição de fungo nas diferentes estações, prédios e orientação solar, realizadas usando o software PAST 3.25.

Modelos Lineares Generalizados Mistos (GLMM) foram utilizados para testar o efeito fixo do tratamento (ST, TA e TB) sobre os valores de diversidade de Simpson e Shannon-Wiener mensurados, considerando os prédios (D07 e B13), a posição solar (Sul/Norte) e a estação (Verão/Inverno) como variáveis ambientais sobre os tratamentos. A seleção do melhor modelo MLG foi pelo critério de informação (AIC) de Akaike (1974).

As análises foram realizadas no R software (R Core Team, 2018), utilizando os pacotes *nlme*, *glmmML*, *lme4*, *AICcmodavg*, *bestglm*, *mgcv*, *MuMIn*, *pscl*, *MASS*, *bbmle* e *lattice.*, e para gerar os gráficos o pacote *ggplot2*.

4 APRESENTAÇÃO, ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Este capítulo apresenta e discute os resultados obtidos através das coletas e análises realizadas durante o período desta pesquisa (248, 276 e 400 dias de pintura), também os relacionando com os resultados obtidos anteriormente (30 e 101 dias de pintura), proporcionando assim o cumprimento dos objetivos propostos inicialmente.

Para isso, seguem expostos os gêneros identificados microscopicamente e os escolhidos para a identificação molecular, além da análise estatística dos dados obtidos. Durante a etapa de identificação microbiológica das amostras não foi possível nomear todos os gêneros isolados, e como abordado posteriormente no item 4.1.3, algumas incongruências entre o reconhecimento morfológico e molecular foram detectadas e corrigidos anteriormente a estas avaliações.

4.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Nesta seção estão expostas as informações referentes aos gêneros encontrados através da identificação microbiológica realizada nas amostras coletadas.

4.1.1 Abundância e riqueza das coletas realizadas.

Na Tabela 13 observam-se as informações referentes à abundância e riqueza dos fungos presentes em cada uma das 36 amostras de cada coleta realizada.

Tabela 13 – Dados obtidos nas coletas realizadas.

Coleta	Estação	Amostras sem crescimento	Abundância de fungos	Colônias isoladas	Colônias isoladas identificadas	Riqueza de gêneros identificados
04	Verão	06	79	41	22	08
05	Verão	12	180	42	17	06
07	Inverno	10	360	65	32	07
08	Inverno	07	321	71	36	07
09	Verão	01	244	94	42	06

Coletas 04 e 05 realizadas por Labres (2019);

Coletas 07, 08 e 09 realizadas nesta pesquisa.

Fonte: Elaborado pela autora.

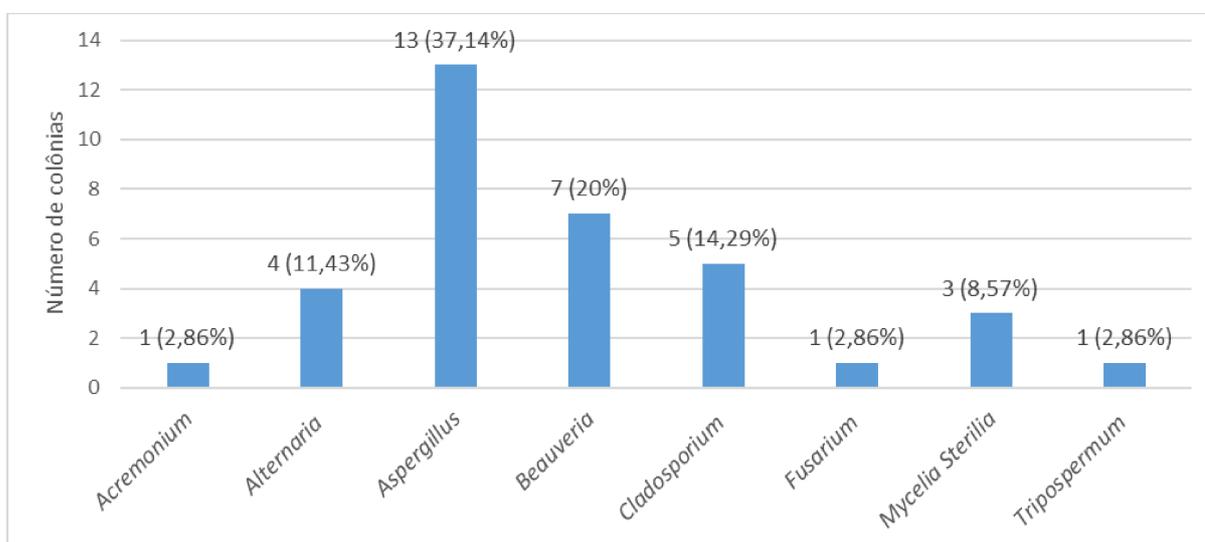
Como pode-se observar na Tabela 13, em relação ao desenvolvimento de fungos, nas primeiras coletas realizadas no verão por Labres (2019), 54 das 72 amostras coletadas apresentaram crescimento fúngico, representando 83,33% da coleta 04 e 66,67% da coleta 05. As amostras coletadas no inverno seguiram comportamento semelhante, com 55 das 72 amostras contaminadas, sendo 72,22% da coleta 07 e 80,56% da coleta 08. No entanto, na coleta 09 realizada no verão, em 97,22% das amostras foi detectada a presença destes micro-organismos. Em relação à abundância e riqueza, as coletas 04 e 05 apresentaram valores próximos de gêneros distintos, com 08 e 06, estando na coleta 04 o maior número de gêneros identificados, porém esta atingiu menos de 50% da abundância da 05. A coletas 07 e 08 obtiveram valores de abundância similares e o mesmo número de gêneros identificados, na coleta 09 registrou-se um aumento na abundância e diminuição de um gênero identificado em relação às demais coletas.

Analisando os dados apresentados, notam-se menores abundâncias nas primeiras coletas do verão, seguidas de um aumento expressivo nestes valores nas amostras coletadas no inverno, com o dobro de colônias desenvolvidas, e uma diminuição na última coleta do verão, com 76,01% de colônias em relação à anterior. Tratando-se de riqueza, percebem-se quantidades similares de gêneros encontrados em cada coleta, variando de 06 a 08 gêneros. Através disso, pressupõe-se que há um aumento das condições favoráveis ao desenvolvimento destes micro-organismos ao longo do tempo e durante o inverno, podendo indicar uma queda na eficiência dos tratamentos utilizados.

Com o intuito de pormenorizar os dados obtidos, os Gráficos 2 a 7 apresentam as informações de abundância e riqueza encontradas nas coletas 04 e 05, que foram consideradas nas discussões estatísticas mais para a frente apresentadas, e 07, 08 e 09, realizadas nesta pesquisa.

A Coleta 04, realizada por Labres (2019) às 11h do dia 10/01/2019, no verão, teve como características um dia chuvoso, com temperatura de 24°C e umidade de 90%. Como observa-se no Gráfico 2, encontrou-se 08 gêneros distintos de fungos, sendo em sua maioria colônias dos gêneros *Aspergillus* (37,14%) e *Beauveria* (20%).

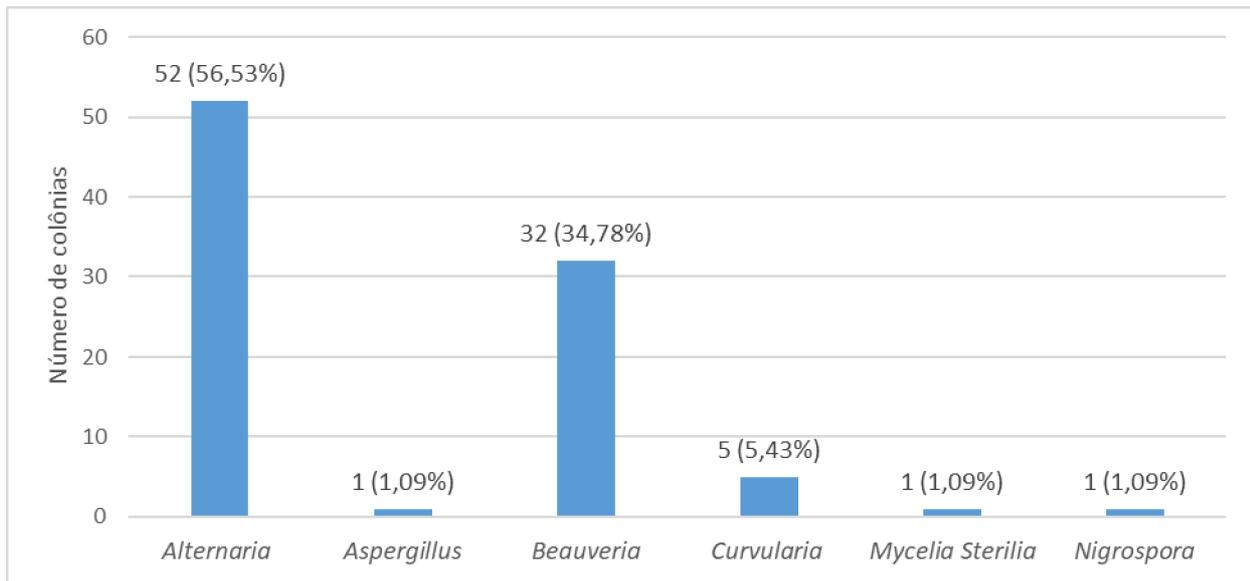
Gráfico 2 – Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 04.



Fonte: Elaborado pela autora.

A Coleta 05, também realizada por Labres (2019) no verão, foi feita às 11h do dia 22/03/2019, um dia ensolarado com temperatura de 26°C e umidade de 66%. No Gráfico 3, observa-se que o número de gêneros encontrados diminuiu para 06, sendo em sua grande maioria colônias de *Alternaria* (56,53%) e *Beauveria* (34,78%). Os gêneros *Acremonium*, *Fusarium* e *Tripospermum* não estiveram presentes nesta coleta, e os fungos *Curvularia* e *Nigrospora* não haviam sido encontrados na anterior.

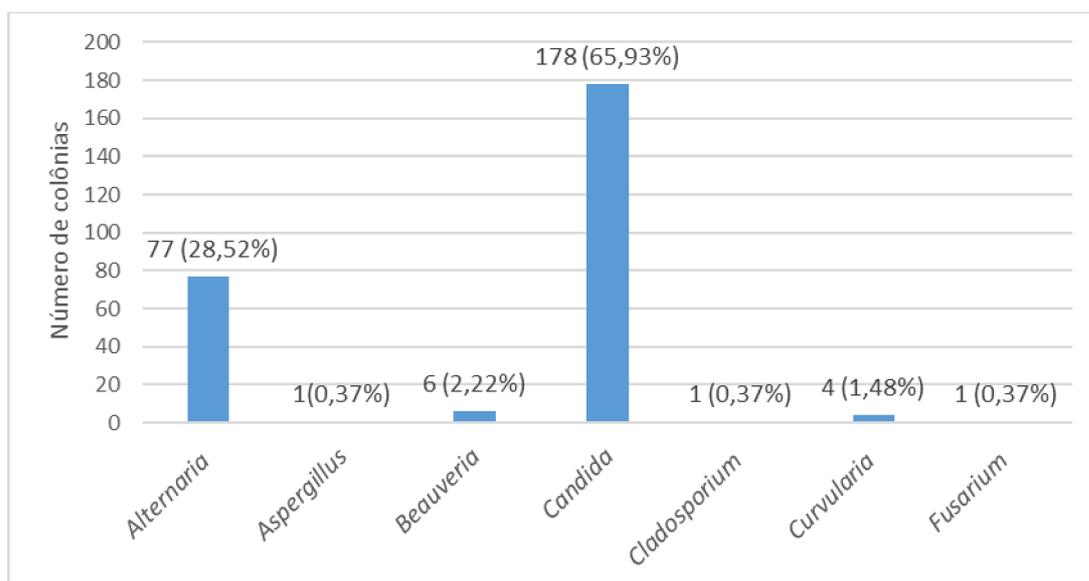
Gráfico 3 – Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 05.



Fonte: Elaborado pela autora.

A coleta 07, primeira coleta realizada nesta pesquisa, às 9:00h do dia 16/08/2019, no inverno, teve como características o dia ensolarado, temperatura de 15°C e umidade de 84%. Como é possível observar no Gráfico 4, nesta foram encontrados 07 gêneros distintos de fungos, sendo em sua grande maioria das colônias foram dos gêneros *Candida* (65,93%) e *Alternaria* (28,52%). Dentre os fungos encontrados, apenas *Candida* não havia sido coletado nas duas coletas anteriores.

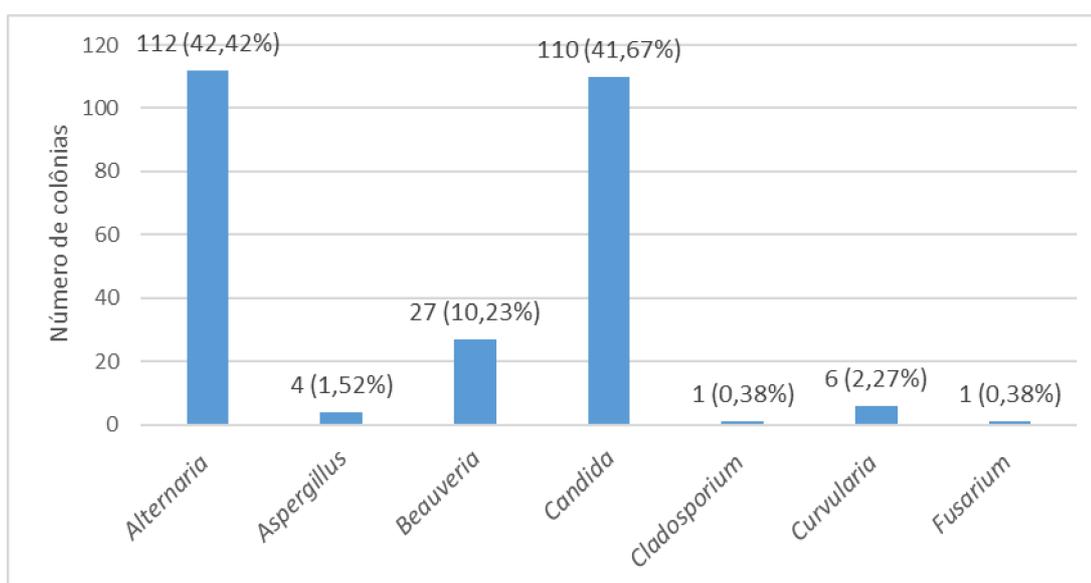
Gráfico 4 – Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 07.



Fonte: Elaborado pela autora.

A coleta 08, também realizada no inverno, às 9:00h do dia 13/09/2019 apresentou condições muito semelhantes à coleta anterior, com dia ensolarado e temperatura de 15°C, e umidade de 88%. A riqueza apresentou os mesmos 07 gêneros encontrados na coleta anterior, sendo *Alternaria* e *Candida* novamente os mais abundantes nas amostras identificadas, com 42,42% e 41,67% das colônias, respectivamente (Gráfico 5).

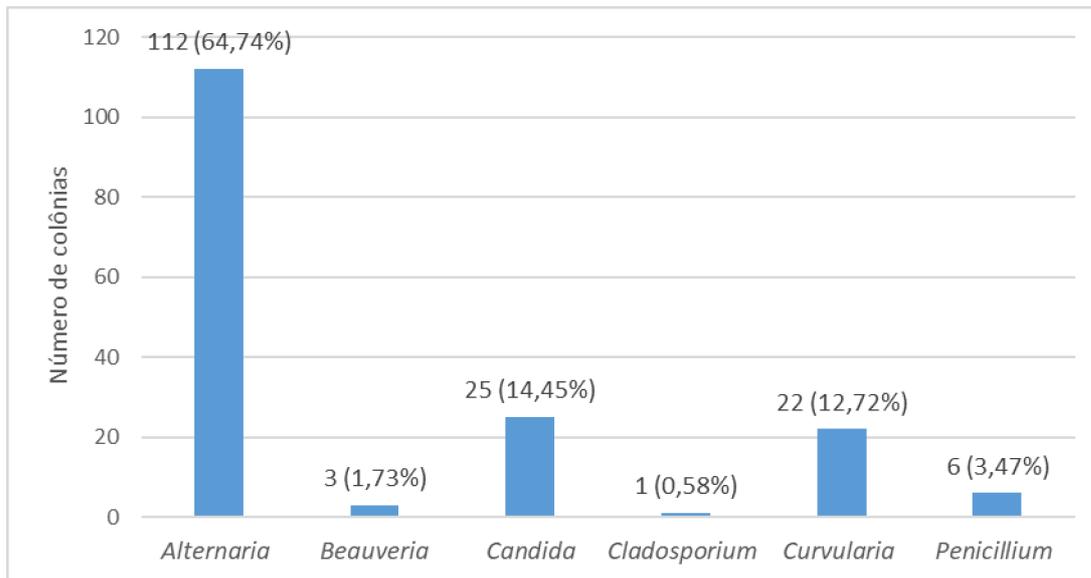
Gráfico 5 - Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 08.



Fonte: Elaborado pela autora.

A coleta 09 foi realizada às 8:30h de 15/01/2020 em condições climáticas distintas quando comparada às demais. Em um dia também ensolarado, mas de verão, com temperatura de 31°C e umidade de 51%. Nesta coleta constatou-se uma diminuição na riqueza dos fungos encontrados para 06 gêneros (Gráfico 6), não tendo sido encontrado os fungos *Aspergillus* e *Fusarium*. O gênero *Penicillium* foi identificado apenas neste período. *Alternaria* se manteve como o gênero mais frequente, representando 64,74% das colônias isoladas, e *Candida* como o segundo mais abundante (14,45%).

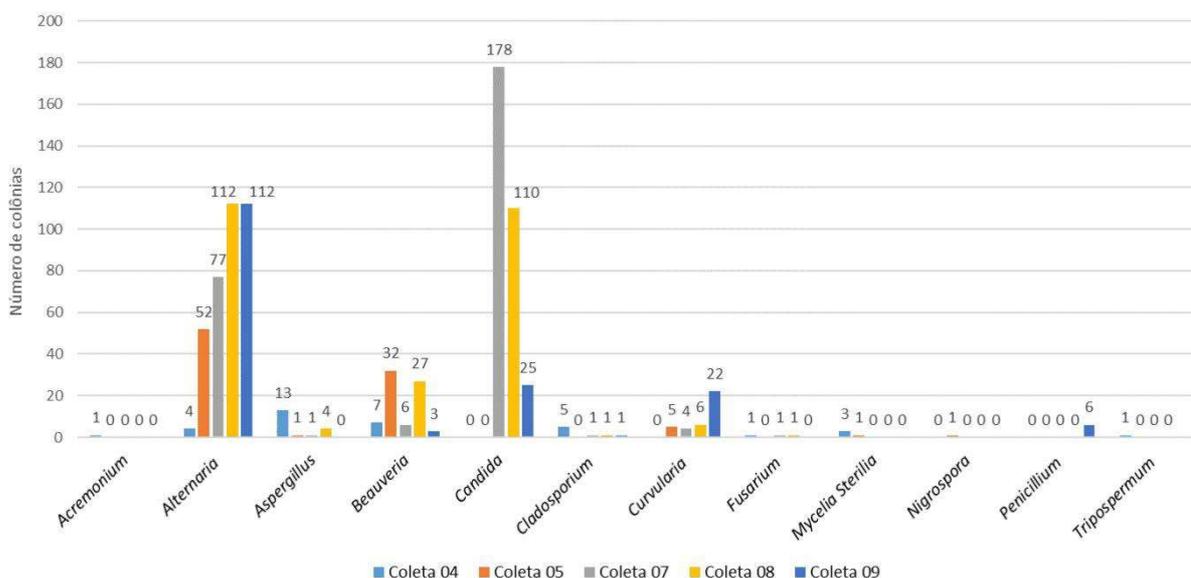
Gráfico 6 - Abundância e riqueza de gêneros encontrados na coleta 09.



Fonte: Elaborado pela autora.

Em uma análise global, os dados obtidos demonstram que, em sua maioria, os gêneros identificados nas coletas realizadas correspondem aos demais encontrados nas pesquisas e revisões de Coatings *et al.* (1999), Shirakawa *et al.* (2002), Pinheiro (2003), Silva (2009), Shirakawa *et al.* (2010), Shirakawa *et al.* (2011), Ferrari *et al.* (2015), Parjo *et al.* (2015) e Adams *et al.* (2016). Como pode-se observar no Gráfico 7, há uma predominância de dois gêneros entre as colônias isoladas e identificadas, sendo *Alternaria* registrada em 42,81% e *Candida* em 37,53%. Dois outros gêneros aparecem com frequências próximas maiores de 4%, *Beauveria* (8,99%) e *Curvularia* (4,44%).

Gráfico 7 - Abundância e riqueza de gêneros encontrados nas coletas 07, 08 e 09.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2 Gêneros identificados entre 30 e 400 dias de pintura

Através da análise das coletas realizadas durante os 400 dias de pintura é possível encontrar informações sobre o desenvolvimento dos fungos nas fachadas. Sendo assim, o Quadro 2 traz em resumo as informações dos gêneros encontrados nas situações analisadas durante o período mencionado.

Quadro 2 - Gêneros de fungos identificados nos prédios D07 e B13 durante os 400 dias de análise.

Coleta	4				5				7				8				9					
	B13		D07		B13		D07		B13		D07		B13		D07		B13		D07			
Orientação Solar	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S		
Tratamento	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB	
Gênero do Fungo																						
<i>Acremonium</i>			+																			
<i>Alternaria</i>		+		+		+	+				+	+	+	+	+		+		+	+	+	+
<i>Aspergillus</i>	+	+		+	+	+	+								+			+		+		
<i>Beauveria</i>					+						+		+	+				+	+		+	
<i>Candida</i>											+		+	+	+		+	+	+	+	+	
<i>Cladosporium</i>		+			+							+				+				+		
<i>Curvularia</i>							+		+	+			+	+			+	+	+	+	+	
<i>Fusarium</i>				+								+			+							
<i>Mycelia Sterilia</i>					+						+											
<i>Nigrospora</i>												+										
<i>Penicillium</i>																				+	+	+
<i>Tripospermum</i>				+																		

Legenda:

Presença (+) ou ausência destes micro-organismos; N: Norte; S: Sul; ST: Sem tinta TA: Tinta A; TB: Tinta B;
D07 e B13: Prédios da Unisinos. Coletas 04, 05 e 09: verão Coletas 07 e 08: inverno

Fonte: Elaborado pela autora.

No que se refere às coletas realizadas nesta pesquisa (07, 08 e 09), a identificação microscópica dos gêneros foi possível em mais da metade das colônias isoladas, sendo encontrados 08 gêneros distintos. Destes gêneros, apenas *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Curvularia* e *Fusarium*, também foram encontrados nas coletas 04 e 05.

Os fungos identificados em todas as coletas, em ordem decrescente de abundância foram: *Alternaria*, *Candida*, *Beauveria*, *Curvularia*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mycelia sterilia*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Nigrospora* e *Tripospermum*. As pesquisas e revisões de Coatings *et al.* (1999), Shirakawa *et al.* (2002), Pinheiro (2003), Silva (2009), Shirakawa *et al.* (2010), Shirakawa *et al.* (2011), Ferrari *et al.* (2015), Parjo *et al.* (2015) e Adams *et al.* (2016), apresentam, em sua maioria, os mesmos gêneros identificados durante os 400 dias de pesquisa.

Os fungos *Alternaria*, foram o principal colonizador das fachadas, mantendo o comportamento visto previamente por Labres (2019). Tendo no prédio D07 verificada a maior abundância deste gênero. Em relação aos tipos de tratamentos, constatou-se o desenvolvimento deste fungo sobre a Tinta B em apenas três situações, todas na orientação norte (coletas 05 e 08 no prédio D07 e coleta 07 no prédio B13), o que também mantém o indicativo de uma ação mais efetiva dos biocidas da composição da Tinta B na inibição do seu crescimento. Este gênero foi citado por diferentes autores como Ferrari *et al.* (2015), Parjo *et al.* (2015), Silva (2009) e Shirakawa *et al.* (2002), como encontrado em superfícies pintadas.

As leveduras, identificadas como do gênero *Candida*, citado na revisão de Ferrari *et al.* (2015) como um dos gêneros colonizadores mais frequentes em concreto e rocha, não foram isoladas nas duas primeiras coletas analisadas (04 e 05), porém foram o segundo maior colonizador encontrado em todo o período estudado.

Os fungos *Beauveria* estiveram presentes em todas as coletas na fachada norte do prédio D07, e foi encontrado no prédio B13 e fachada sul apenas na coleta 07, o que sugere a existência de alguma característica local que seja benéfica ao seu desenvolvimento.

Os fungos *Curvularia*, são citados por Shirakawa *et al.* (2011) como colonizadores comuns de filmes de tintas no Brasil, e encontrados nas pesquisas de Shirakawa *et al.* (2002) e Silva (2009). Este gênero foi isolado nos prédios D07 e B13,

em todas as orientações e tratamentos (ST, TA e TB), apenas não sendo verificado na coleta 04.

Entre os mais mencionados nas pesquisas de Adams *et al.* (2016), Parjo *et al.* (2015) e Silva (2009), os fungos *Aspergillus* foram mais frequentes na Coleta 04. As colônias isoladas nas áreas tratadas (TA e TB), demonstraram uma sensibilidade das tintas A e B quanto a sua proliferação e desenvolvimento. Nas demais coletas, reduziu sua proliferação consideravelmente, não estando mais presente na coleta 09.

O fungo *Cladosporium* teve 08 colônias identificadas em duas coletas no inverno e em duas do verão. Este gênero é citado por Shirakawa *et al.* (2002), Shirakawa *et al.* (2010) e Silva (2009) como o principal colonizador de pinturas em fachadas, tendo temperatura ideal de crescimento de 18 a 28°C. (INSPQ, 2016).

Os fungos *Fusarium*, também citados por Shirakawa *et al.* (2011) como colonizadores comuns encontrados em tintas no Brasil, foram identificados em duas coletas no prédio D07 e uma no prédio B13, todas na fachada norte e na superfície sem tratamento. Segundo informações do INSPQ (2016) é no verão que ocorre sua maior produção de esporos, em ambientes de umidades altas e deteriorados, porém, no caso desta pesquisa, sua frequência foi superior no inverno.

Os fungos *Acremonium*, *Nigrospora*, *Penicillium* e *Tripaspermum*, foram identificados em apenas uma coleta durante o período estudado, permitindo apenas afirmar que estes fazem parte da comunidade de fungos presentes nestas edificações, além de também serem citados nas pesquisas de Adams *et al.*, (2016), Ferrari *et al.* (2015) Parjo *et al.* (2015), Shirakawa *et al.* (2002), Shirakawa *et al.* (2011), Shirakawa *et al.* (2010) e Silva (2009). O gênero *Penicillium*, citado por Silva (2009) como um dos principais contaminantes de sua pesquisa, foi identificado em três amostras da última coleta, cada uma de um tipo de tratamento.

4.1.2.1 Colônias isoladas nas coletas 07, 08 e 09

A seguir são expostas as colônias dos gêneros isolados nas coletas 07, 08 e 09, identificados através de sua microscopia, bem como a descrição de algumas de suas características morfológicas baseados na bibliografia de Ellis e Kidd (1998), Lacaz *et al.* (1998), Trabulsi e Alterthum (2015), INSPQ (2016) e Tomé e Marques (2016).

4.1.2.1.1 *Alternaria*

Alternaria foi o segundo gênero mais encontrado durante este período, e apresentou uma grande variedade morfológica entre as colônias isoladas, sugerindo a existência de uma diversificação de espécies. Abaixo está exposta uma das colônias encontradas (Figura 28), em a) e b) pode-se observar que sua coloração marrom, com borda clara, e reverso de marrom a preto. Em sua microscopia, em c), são vistas hifas septadas, conidióforos septados curtos e conídios ovoides ou elipsoides septados transversal e longitudinalmente.

Figura 28 – Colônia identificada microscopicamente como *Alternaria*.



Colônia em meio SD ágar (frente)
a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)
b)



Microscopia

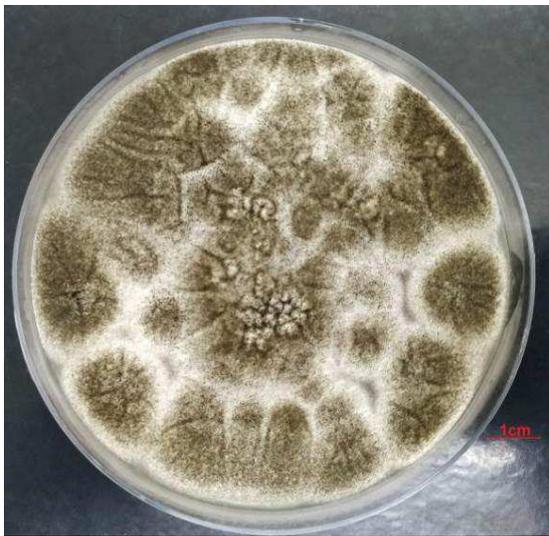
c)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2.1.2 *Aspergillus*

Este gênero foi identificado em quatro amostras coletadas, sendo possivelmente de quatro espécies diferentes. Uma das colônias (Figura 29, em a) e b)) apresentou coloração branca e densa camada de conidióforos marrons e pretos, e reverso também amarelo claro. Em sua microscopia (Figura 29, em c)) percebem-se o conidióforo longo terminando em uma vesícula globosa, com fiáldes hialinas e conídios globosos.

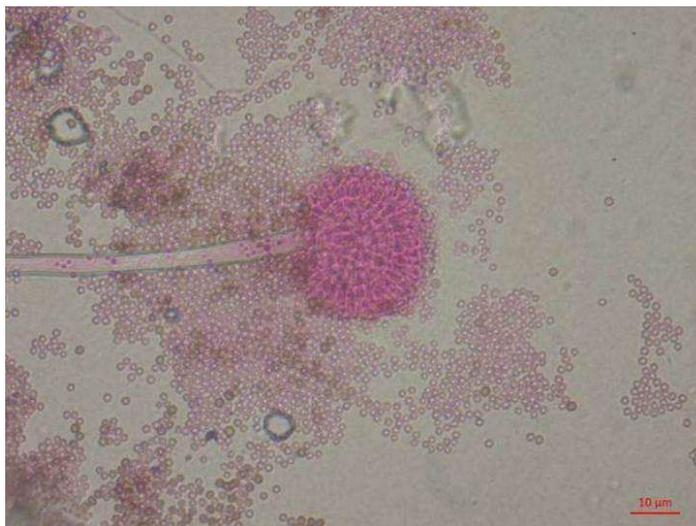
Figura 29 - Colônia identificada microscopicamente como *Aspergillus*



Colônia em meio SD ágar (frente)
a)



Colônia em meio SD ágar (reverso)
b)



Microscopia

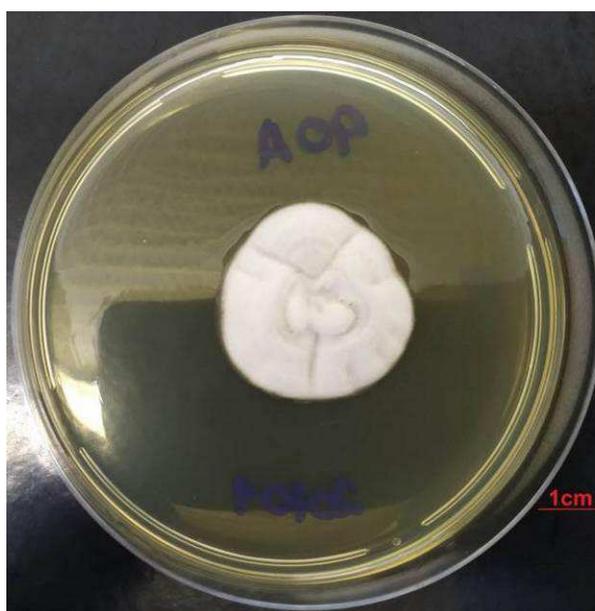
c)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2.1.3 *Beauveria*

Este gênero ocupou a terceira posição como o mais encontrado durante o período estudado. Suas colônias eram brancas com textura felpuda (Figura 30, em a) e b)) e em sua microscopia (Figura 30, em c)) observa-se conídios unicelulares hialinos e ovoides desenvolvidos em ramificações.

Figura 30 - Colônia identificada microscopicamente como *Beauveria*.



Colônia em meio SD ágar (frente)

a)



Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia

c)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2.1.4 *Candida*

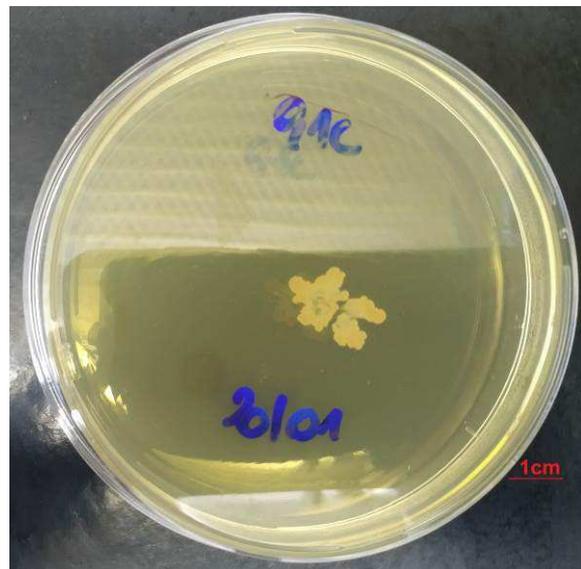
Além de serem o maior contaminante das amostras coletadas neste período, foi possível por sua morfologia identificar três diferentes espécies de leveduras deste gênero. Na Figura 31, em a) e b) observa-se a colônia de *Candida albicans*, de textura pastosa e coloração creme, em c) percebem-se em sua microscopia os blastoconídios esféricos a subsféricos.

Figura 31 - Colônia identificada microscopicamente como *Candida albicans*.



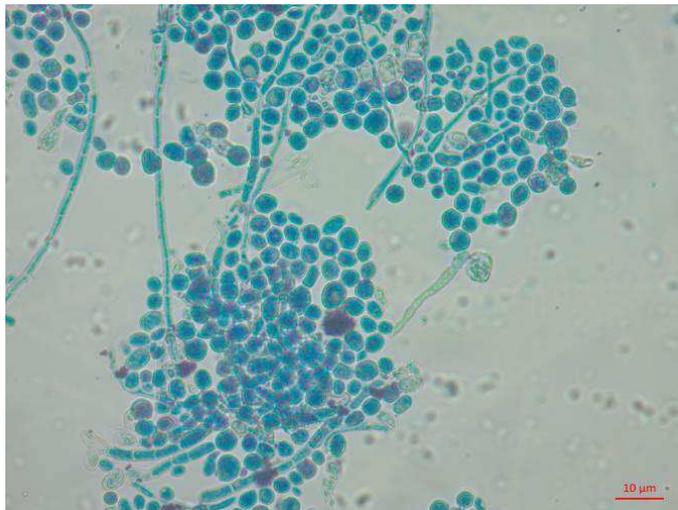
Colônia em meio SD ágar (frente)

a)



Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia (400x)

c)

Fonte: Elaborado pela autora.

Na Figura 32, em a) e b) observa-se a colônia de *Candida krusei*, também de textura pastosa e coloração creme, em c) percebem-se em sua microscopia as pseudo-hifas e blastoconídios globosos a ovais.

Figura 32 - Colônia identificada microscopicamente como *Candida krusei*.

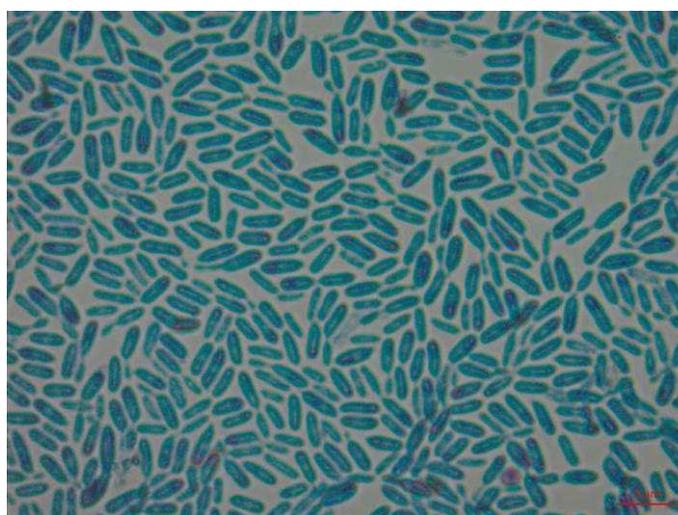


Colônia em meio SD ágar (frente)

a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia (1000x)

c)

Fonte: Elaborado pela autora.

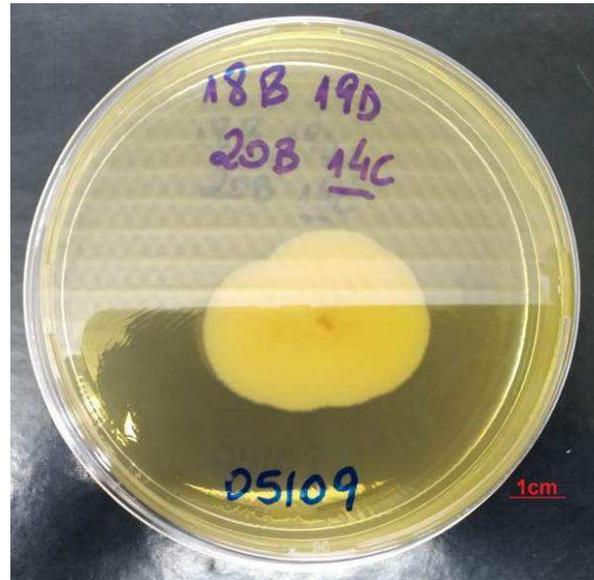
Na Figura 33, em a) e b) observa-se a colônia de *Candida tropicalis*, com textura pastosa e coloração creme, em c) percebem-se em sua microscopia os blastoconídios globosos a ovais.

Figura 33 - Colônia identificada microscopicamente como *Candida tropicalis*.



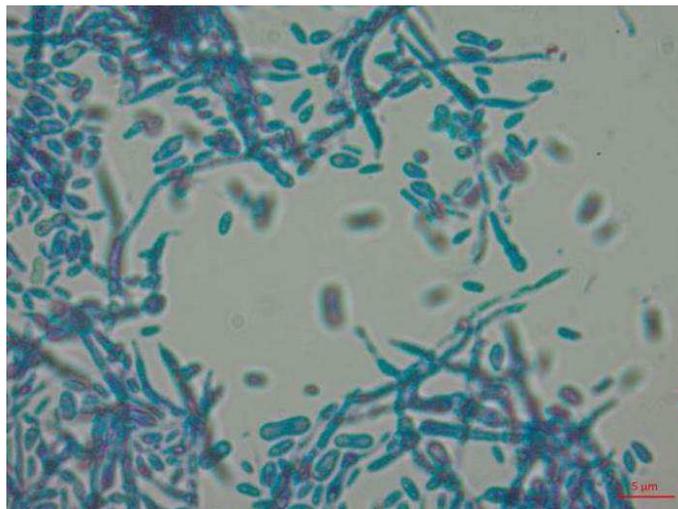
Colônia em meio SD ágar (frente)

a)



Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia (1000x)

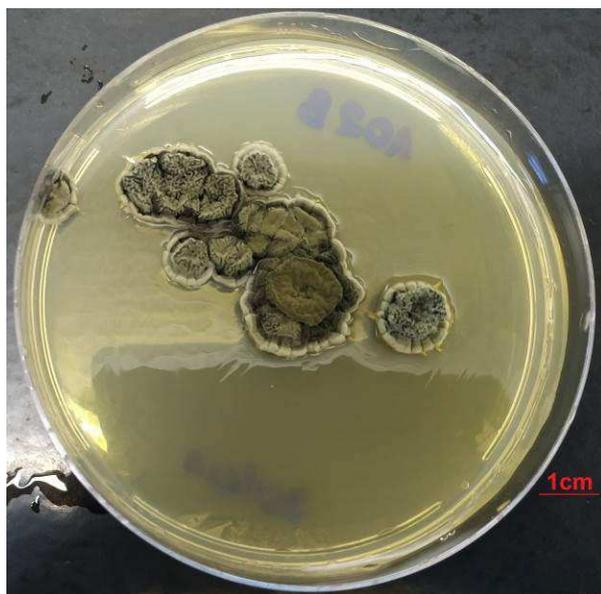
c)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2.1.5 *Cladosporium*

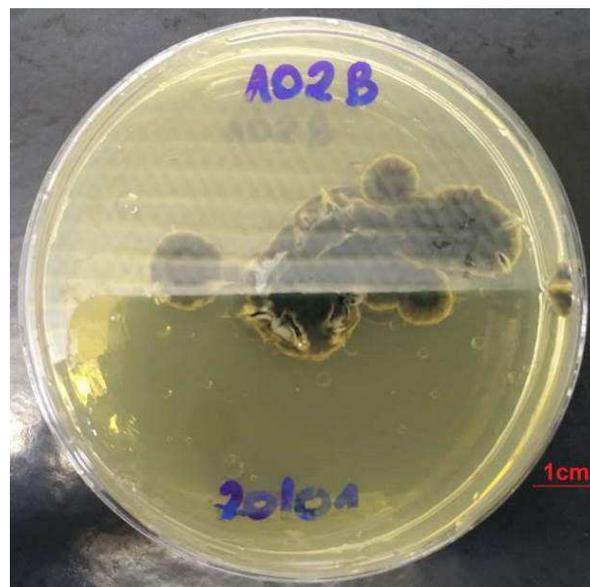
Este gênero, identificado em duas amostras (uma na coleta 07 e outra na coleta 09) apresentou colônias de coloração marrom-olivácea e textura de camurça, como observa-se na Figura 34, em a) e b). Na mesma figura, em c), é possível perceber as hifas septadas e conídios em cadeias ramificadas.

Figura 34 – Colônia identificada microscopicamente como *Cladosporium*



Colônia em meio SD ágar (frente)

a)



Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia

c)

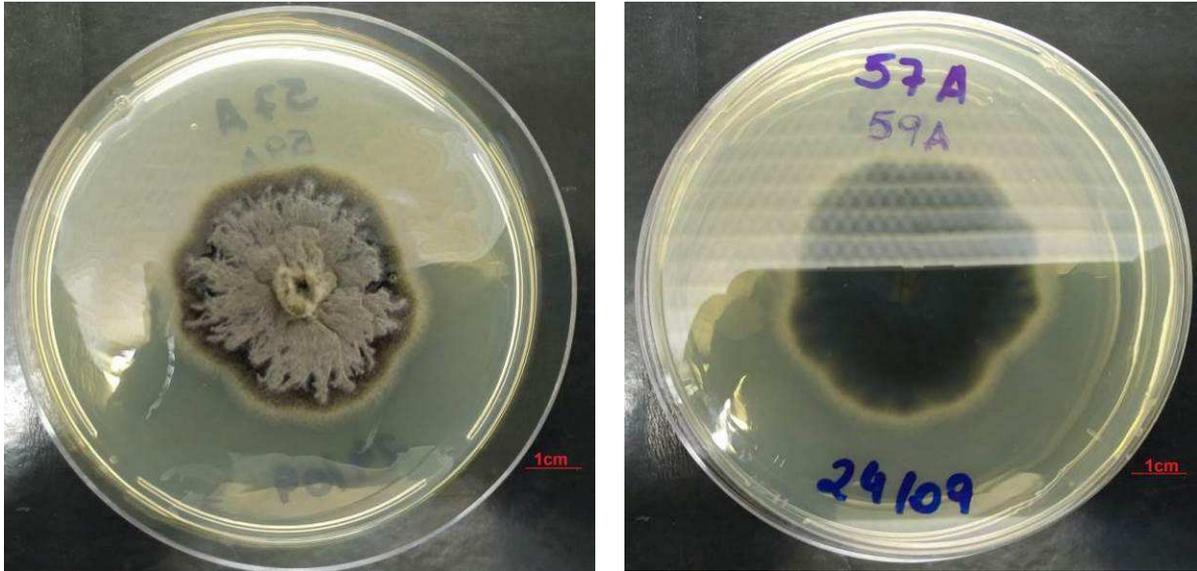
Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2.1.6 *Curvularia*

Este gênero apresentou colônias com características morfológicas distintas, indicando a possibilidade de uma diversidade de espécies nas parcelas amostradas. Na Figura 35, em a) e b) está apresentada a colônia de cor cinza escuro, e marrom escuro, com textura de camurça e reverso escuro. Na mesma figura em c), observa-

se sua microscopia característica, com hifas septadas, conídios septados elipsoidais frequentemente curvados e arredondados nas extremidades, com geralmente de 3 a 5 septos.

Figura 35 – Colônia identificada microscopicamente como *Curvularia*



Colônia em meio SD ágar (frente)

a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia

c)

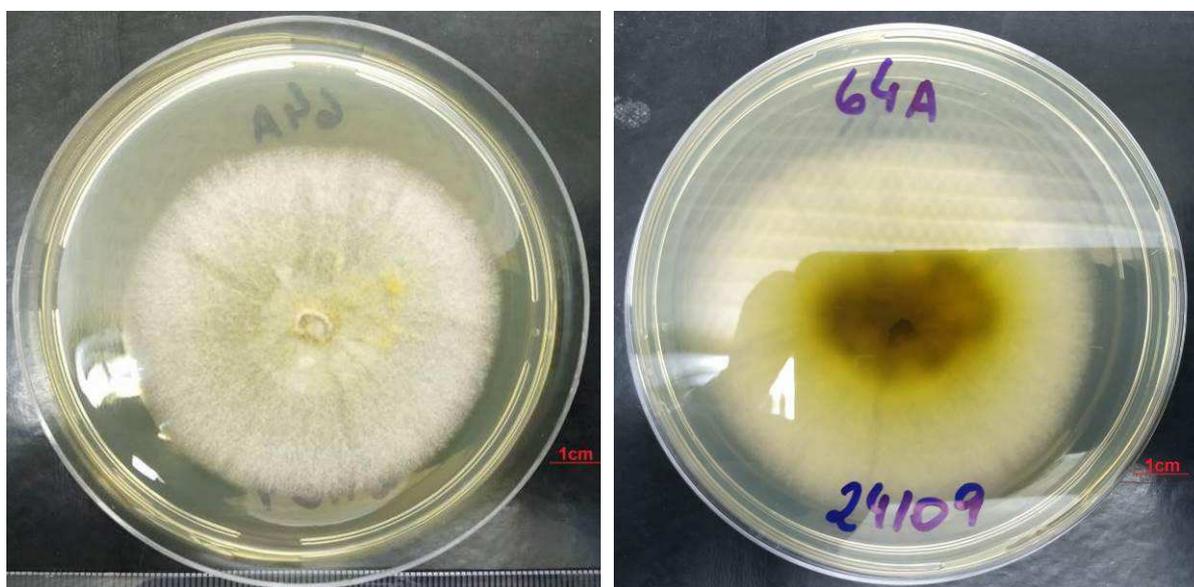
Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2.1.7 *Fusarium*

Este gênero foi encontrado em apenas duas amostras, uma em cada coleta de inverno (07 e 08). Na Figura 36, em a) e b) é possível visualizar a colônia de cor branca

a amarelada e reverso amarelo, assim como em c), vê-se a microscopia com macroconídios fusiformes.

Figura 36 – Colônia identificada microscopicamente como *Fusarium*

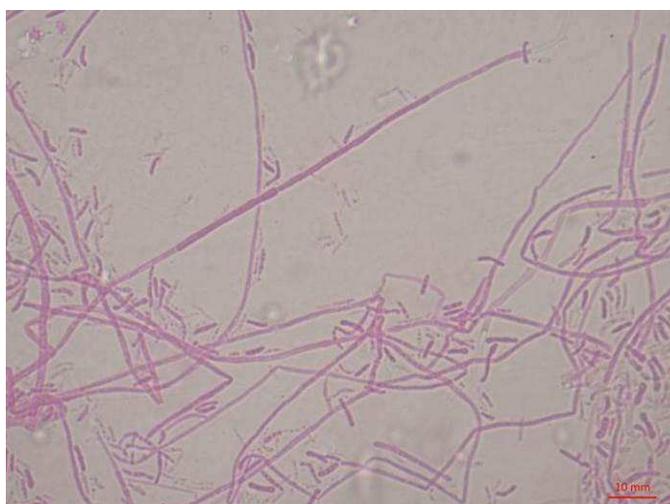


Colônia em meio SD ágar (frente)

a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia

c)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.2.1.8 *Penicillium*

Este gênero, identificado em três amostras da coleta 09, apresentou duas colônias com características morfológicas visualmente distintas, provavelmente

pertencentes a espécies diferentes. Na Figura 37, em a) e b) nota-se a colônia em tons de verde e branco, e reverso amarelado. E na sua microscopia, em c), verificam-se as hifas hialinas septadas, conidióforos ramificados e cadeias de esporos redondos a ovais.

Figura 37 - Colônia identificada microscopicamente como *Penicillium*.



Colônia em meio SD ágar (frente)

a)



Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)



Microscopia

c)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.3 Gêneros identificados molecularmente

Os procedimentos de extração foram realizados nas 35 amostras representantes de seus grupos morfogênicos e presentes nas diferentes situações analisadas, destas, 05 amostras não foram viáveis para o sequenciamento de DNA, sendo este então, realizado em 30 amostras (Tabela 14 e Quadro 3).

Tabela 14 - Identificação das amostras enviadas para o sequenciamento.

Amostras	Localização
10B	07 D07 N ST
11D	07 D07 N ST
22B	07 B13 S TA
26B	07 B13 S TB
32A	07 B13 S TA
35A	07 D07 N ST; 07 D07 N TA; 07 B13 N ST; 07 B13 N TB; 07 B13 S TA
37A	08 D07 S ST
38B	08 D07 S ST; 08 B13 N ST
58A	08 B13 S TA
90A	09 D07 N TB
94E	09 D07 N ST; 09 D07 S ST; 09 B13 S TA
99A	09 B13 S TB
102B	09 B13 N ST
103A	09 D07 N TB; 09 B13 N TA; 09 B13 N TB; 09 B13 S ST; 09 B13 S TA
06A	07 D07 S ST; 07 D07 S TA
48A	08 D07 N ST
49B	08 D07 N TA; 08 D07 N TB
57A	08 B13 S ST; 08 B13 S TA
60F	08 B13 S TA
64B	08 B13 N ST
67A	08 B13 N ST; 08 B13 N TA
68B	08 B13 N TA
74D	09 D07 S ST
75A	09 D07 S ST
77A	09 D07 S TA
87C	09 D07 N TA
89B	09 D07 N ST; 09 D07 N TB; 09 D 07 S ST; 09 B13 N ST
108A	09 B13 N TB; 09 B13 N ST
12C	07 D07 N ST
48B	08 D07 N ST; 08 D07 N TA; 08 D07 N TB; 08 D07 S ST; 08 D07 S TA; 08 B13 N ST; 08 B13 S TA

Legenda:

07, 08 e 09: Coletas; D07 e B13: Prédios da Unisinos; N: Norte; S: Sul;

ST: Sem tinta; TA: Tinta A; TB: Tinta B;

Fonte: Elaborado pela autora.

Quadro 3 – Amostras sequenciadas.

Coleta	7						8						9											
Edificação	D07			B13			D07			B13			D07			B13								
Orientação Solar	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S								
Tratamento	ST	TA	TB	ST	TA	TB	ST	TA	TB															
Gênero do Fungo																								
<i>Alternaria</i>	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
<i>Aspergillus</i>										C	C													
<i>Aureobasidium</i>																								
<i>Beauveria</i>										C	C													
<i>Candida</i>																								
<i>Chrysonilia</i>	E																							
<i>Cladophialophora</i>							E																	
<i>Cladosporium</i>																								
<i>Curvularia</i>	C																							
<i>Fusarium</i>																								
<i>Paecilomyces</i>																								
<i>Penicillium</i>																								
Não identificado																								

Legenda:

C: amostra escolhida com
identificação prévia correta;

E: amostra escolhida com identificação prévia
errada;

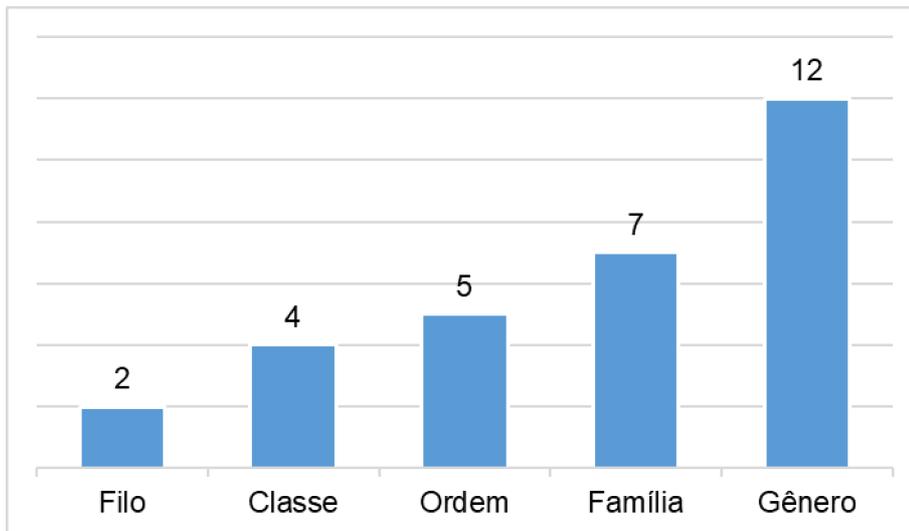
D07 e B13: Prédios da Unisinos; N: Norte; S: Sul; ST: Sem tinta; TA: Tinta A; TB: Tinta B;

Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados obtidos pelo sequenciamento foram comparados as sequências consensos de ITS geradas com as depositadas em dois bancos de dados, possibilitando a identificação molecular dos gêneros coletados. Das 29 amostras sequenciadas e anteriormente identificadas através de sua microscopia, 22 (75,86%) tiveram sua identificação confirmada. Uma amostra sequenciada não havia sido identificada microscopicamente. Trata-se do fungo *Pithomyces*, verificado na coleta 09.

Como pode-se observar no Gráfico 8, dentre as amostras sequenciadas, foram encontrados 12 gêneros de fungos, que pertencem a 07 famílias, 05 ordens, 04 classes e 02 filos distintos, demonstrando uma recuperação de riqueza em diferentes níveis taxonômicos durante o período amostrado.

Gráfico 8 – Riquezas taxonômicas das amostras sequenciadas.



Fonte: Elaborado pela autora.

De acordo com a Tabela 15, que traz as informações referentes à identificação molecular, 75,86% das amostras verificadas estão com sua identificação de acordo com o gênero já previsto através de sua microscopia e morfologia. Porém algumas apresentaram similaridades com mais uma espécie, confirmando as dificuldades da identificação específica destes micro-organismos, tanto pela similaridade de suas características, morfológicas quanto moleculares. Além do mais, em termos moleculares, a maior restrição nas identificações está associada à sub-representação taxonômica de fungos nos bancos de dados genéticos. Atualmente no BoldSystems (<http://boldsystems.org/index.php>) há disponível 30.540 espécies que apresentam barcode genético para a identificação a nível de espécie. Em uma revisão, Hawksworth e Lücking (2017), estimaram entre 2,2 a 3,8 milhões de espécies de fungos existentes e somente 120.000 (3 a 8%) são reconhecidas e aceitas taxonomicamente. Em termos genéticos, o desconhecimento ainda é maior, pois, o BoldSystems representaria somente 25,45% dessas espécies reconhecidas.

Tabela 15 - Identificação morfológica e molecular por similaridade às sequências disponíveis nos bancos de dados do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e BOLD (<http://boldsystems.org/index.php/databases>).

(continua)

Amostras	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Identificação		Similaridade	
						NCBI	BOLD	NCBI	BOLD
10B	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	<i>Trichoderma</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>	100%	99,67%
11D	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. trifolii</i>	<i>C. trifolii</i>	100%	99,64%
22B	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. trifolii</i>	<i>C. trifolii</i>	99,82%	99,45%
26B1	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Davidiellaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>C. tenuissimum</i>	<i>C. cladosporioide</i>	100%	100%
						<i>C. cladosporioide</i>	<i>C. tenuissimum</i>	100%	99,80%
32A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Neocucurbitaria</i>	<i>N. unguis-hominis</i>	<i>N. unguis-hominis</i>	99,42%	99,42%
35A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	<i>A. arborescens</i>	99,64%	99,64%
						<i>A. arborescens</i>	<i>A. alternata</i>	99,64%	99,46%
						<i>A. tenuissima</i>	<i>A. tenuissima</i>	99,54%	99,56%
37A	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. fumigatus</i>	99,82%	99,63%
38B	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Talaromyces</i>	<i>T. funiculosus</i>	<i>T. funiculosus</i>	99,62%	99,62%
						<i>T. stollii</i>	<i>T. stollii</i>	99,62%	99,62%
58A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. trifolii</i>	<i>C. trifolii</i>	100%	99,74%
90A	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Cordycipitaceae	<i>Parengyodontium</i>	<i>P. album</i>	<i>P. album</i>	100%	100%
94E	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	<i>A. arborescens</i>	100%	100%
						<i>A. tenuissima</i>	<i>A. alternata</i>	100%	99,81%
						<i>A. arborescens</i>	<i>A. tenuissima</i>	99,81%	99,81%
99A	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Penicillium</i>	<i>P. steckii</i>	<i>P. steckii</i>	99,82%	99,82%

									(continua)
102B	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Davidiellaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>C. sphaerospermum</i>	<i>C. sphaerospermum</i>	99,61%	99,6%
						<i>C. halotolerans</i>	-	99,61%	-
						<i>C. endophytica</i>	-	99,61%	-
						<i>C. parahalotolerans</i>	-	99,61%	-
						<i>C. cladosporioides</i>	<i>C. cladosporioides</i>	99,02%	99%
103A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. geniculata</i>	<i>C. geniculata</i>	100%	99,81%
06A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	<i>A. brassicae</i>	100%	99,62%
						<i>A. brassicae</i>	<i>A. alternata</i>	99,81%	99,43%
						<i>A. arborescens</i>	<i>A. arborescens</i>	99,81%	99,43%
48A	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. niger</i>	100%	99,82%
49B	Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Cordycipitaceae	<i>Parengyodontium</i>	<i>P. album</i>	<i>P. album</i>	100%	100%
57A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. geniculatus</i>	<i>C. geniculatus</i>	100%	100%
60F	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Mycosphaerellaceae	<i>Cercospora</i>	<i>C. apii</i>	<i>C. apii</i>	100%	99,37%
						<i>C. lactucae-sativae</i>	<i>C. lactucae-sativae</i>	100%	99,37%
						<i>C. beticola</i>	<i>C. beticola</i>	99,17%	99,37%
64B	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. geniculatus</i>	<i>C. geniculatus</i>	100%	100%
67A	Basidiomycota	Agaricomycetes	Polyporales	Phanerochaetaceae	<i>Phanerochaete</i>	<i>P. sordida</i>	<i>P. sordida</i>	100%	99,1%
						<i>P. magnoliae</i>	<i>P. magnoliae</i>	100%	99,1%
68B	Ascomycota	Dothideomycetes	Capnodiales	Davidiellaceae	<i>Cladosporium</i>	<i>C. cladosporioides</i>	<i>C. cladosporioides</i>	100%	100%

								(conclusão)	
						<i>C. tenuissimum</i>	<i>C. tenuissimum</i>	99,80%	99,60%
74D	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Penicillium</i>	<i>P. thomii</i>	<i>P. thomii</i>	100%	100%
						<i>P. glabrum</i>	<i>P. glabrum</i>	99,81	99,44%
75A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. geniculatus</i>	<i>C. geniculatus</i>	100%	99,63%
77A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. trifolii</i>	<i>C. trifolii</i>	100%	99,64%
87C	Ascomycota	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Penicillium</i>	<i>P. griseofulvum</i>	<i>P. citrinum</i>	99,63%	99,27%
						<i>P. citrinum</i>	<i>P. griseofulvum</i>	99,27%	99,98%
89B	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Pithomyces</i>	<i>P. maydicus</i>	<i>P. maydicus</i>	100%	100%
						<i>P. chartarum</i>	<i>P. chartarum</i>	100%	99,78
108A	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	<i>C. geniculatus</i>	<i>C. geniculatus</i>	100%	99,82%
12C	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	<i>A. alternata</i>	100%	100%
						<i>A. tenuissima</i>	<i>A. tenuissima</i>	100%	100%
48B	Ascomycota	Dothideomycetes	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	<i>A. alternata</i>	<i>A. alternata</i>	100%	100%
						<i>A. tenuissima</i>	<i>A. tenuissima</i>	100%	100%

Fonte: Elaborado pela autora.

Além da falta de informações depositadas, outra dificuldade encontrada na identificação destes micro-organismos se deve ao fato de que algumas espécies apresentam sinônimos homotípicos, que são nomes científicos atualmente aplicados a um táxon, diferentes dos antigos (não mais utilizados), fazendo com que estes possuam sinônimos dos nomes científicos atuais. Na Tabela 16, são apontados os nomes atuais dos gêneros encontrados e seus sinônimos homotípicos existentes.

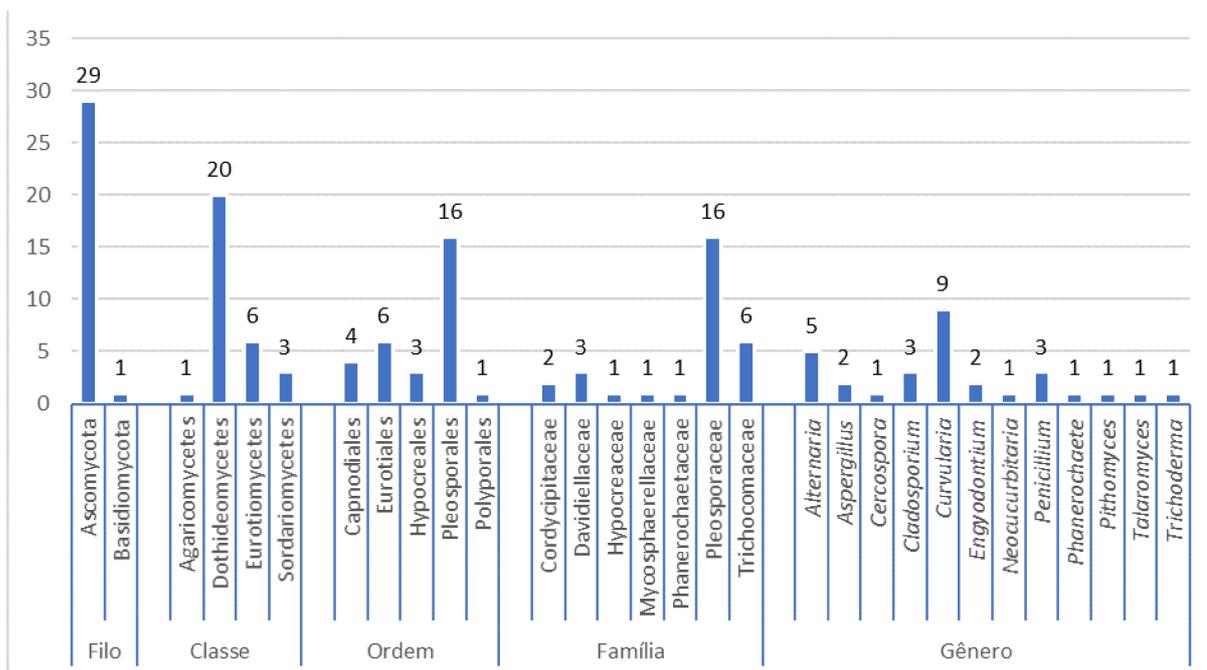
Tabela 16 - Sinônimos homotípicos das espécies encontradas.

Gênero			
Nome atual	Sinônimos homotípicos		
<i>Alternaria</i>			
<i>Aspergillus</i>			
<i>Cercospora</i>			
<i>Cladosporium</i>			
<i>Curvularia</i>	<i>Cochliobolus</i>	<i>Pseudocochliobolus</i>	
<i>Parengyodontium</i>	<i>Beauveria</i>	<i>Engyodontium</i>	<i>Tritirachium</i>
<i>Neocucurbitaria</i>	<i>Pyrenochaeta</i>		
<i>Penicillium</i>			
<i>Phanerochaete</i>			
<i>Pithomyces</i>	<i>Pseudopithomyces</i>		
<i>Talaromyces</i>			
<i>Trichoderma</i>	<i>Hypocrea</i>		

Fonte: Elaborado pela autora.

Através destes resultados de identificação, pode-se conhecer melhor a microbiota presente nas edificações e fachadas estudadas. Com o intuito de elucidar as riquezas taxonômicas encontradas, o Gráfico 9 traz um resumo dos resultados obtidos através da análise molecular.

Gráfico 9 – Resumo dos resultados obtidos através da análise molecular.



Fonte: Elaborado pela autora.

Nas figuras a seguir, estão expostas as colônias dos gêneros reconhecidos molecularmente que não foram previamente identificados corretamente (Figura 38 a Figura 42), ou que não puderam ser identificados morfolologicamente (Figura 43).

Figura 38 – *Cercospora*.

Colônia em meio SD ágar (frente)

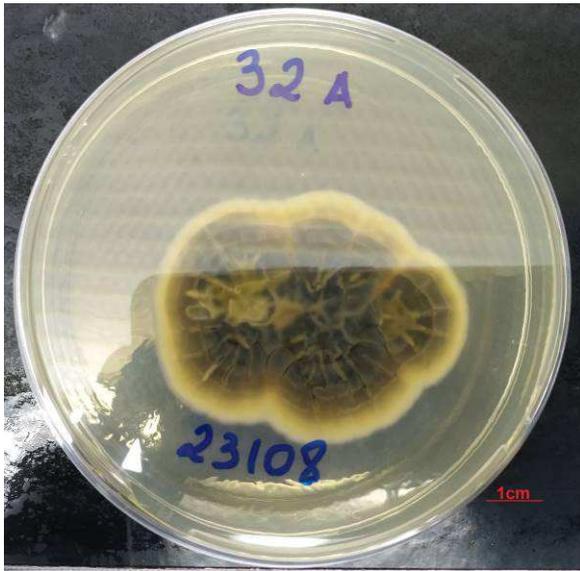
a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)

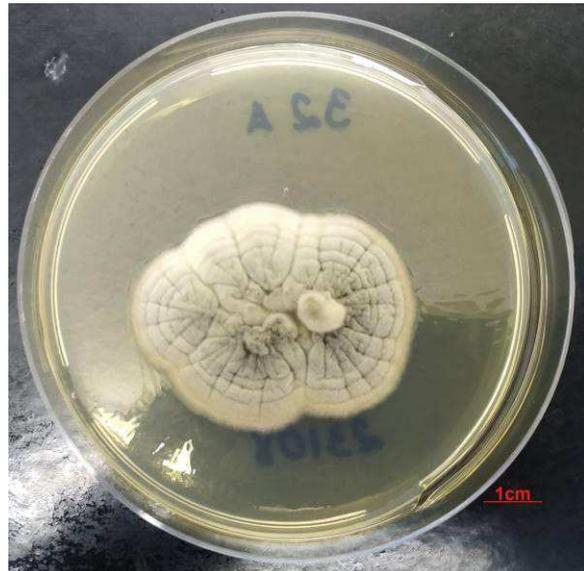
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 39 - *Neocucurbitaria*.



Colônia em meio SD ágar (frente)

a)

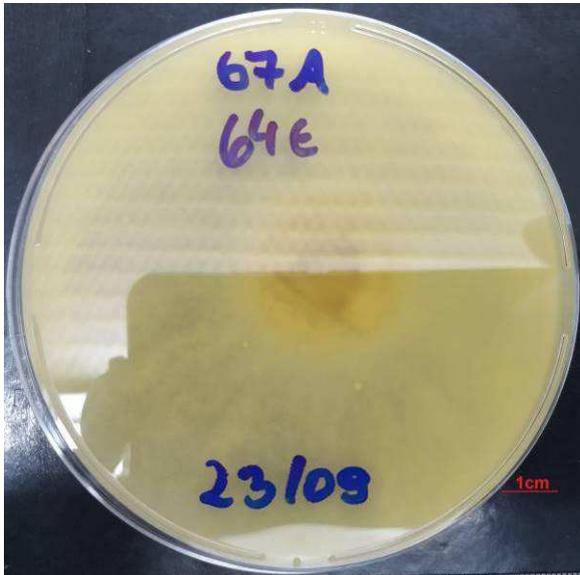


Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 40 – *Phanerochaete*.



Colônia em meio SD ágar (frente)

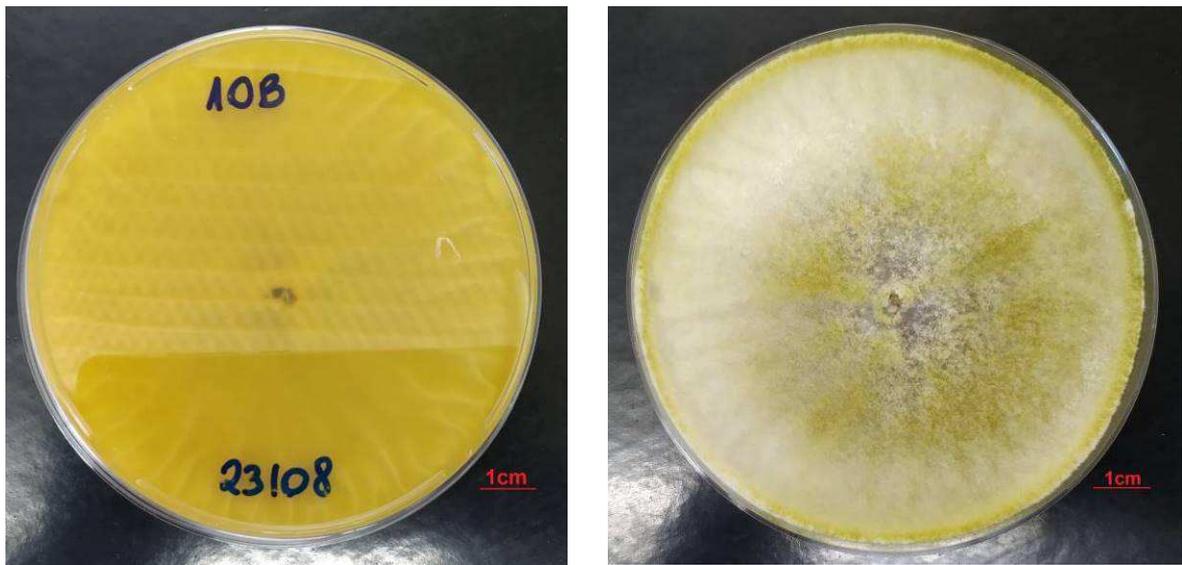
a)



Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 41 - *Trichoderma*.

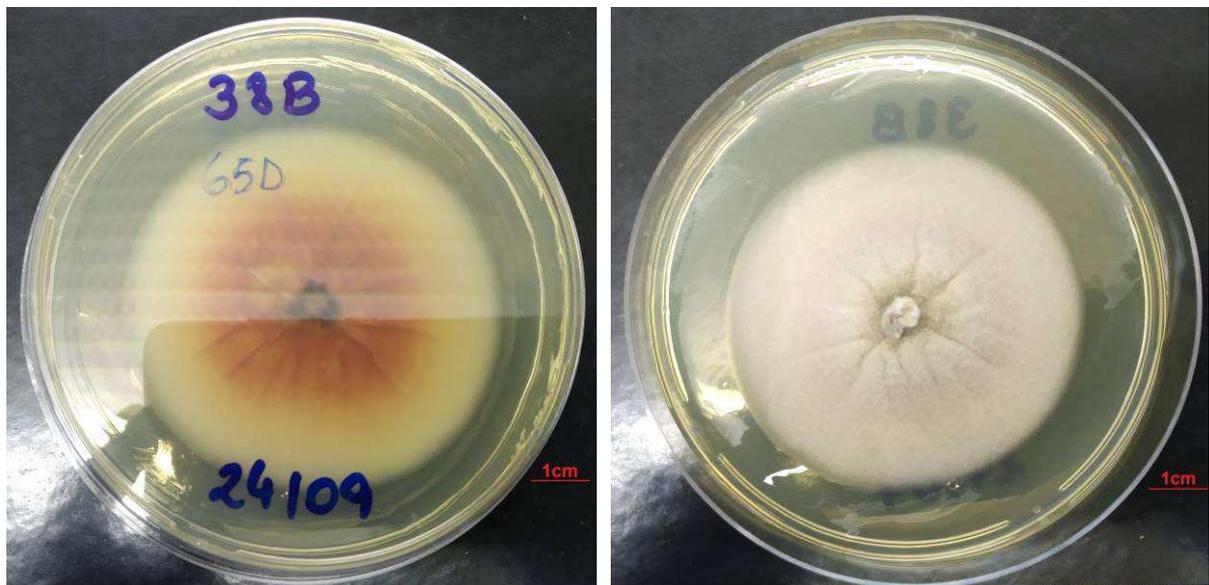
Colônia em meio SD ágar (frente)

a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 42 – *Talaromyces*.

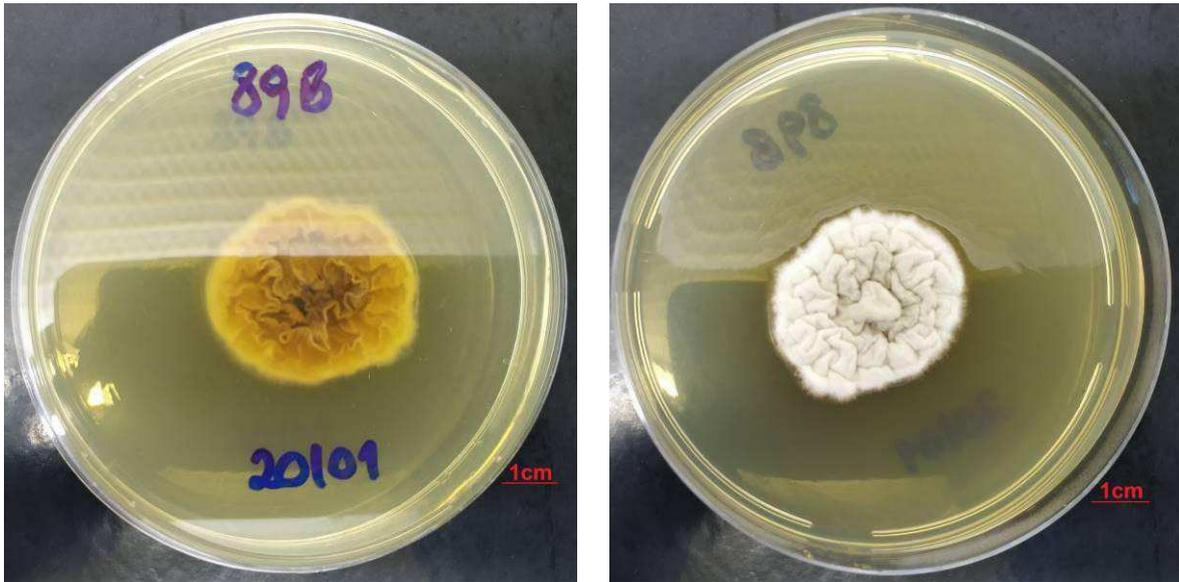
Colônia em meio SD ágar (frente)

a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 43 - *Pithomyces*.

Colônia em meio SD ágar (frente)

a)

Colônia em meio SD ágar (reverso)

b)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.1.4 Análise estatística

Foram realizadas três avaliações: a primeira comparou os três tipos de pinturas aplicadas nos dois prédios estudados, em ambas as fachadas e ao longo das cinco amostragens, três no verão e duas no inverno (Quadro 4). A segunda avaliação verificou se o crescimento dos fungos é afetado pelas estações do ano (Quadro 5) e a terceira avaliação compara se a orientação solar nas paredes pintadas interfere o aparecimento dos fungos (Quadro 6).

Quadro 4 - Teste estatístico (TUKEY) aplicado a todas as amostras, comparando os tipos de pinturas (Sem Tinta, Tinta A e Tinta B), admitindo a abundância de gêneros de fungos como variável dependente.

(I) TINTAS	(J) TINTAS	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
1	2	2,367	1,951	,447	-2,25	6,98
	3	4,683*	1,951	,046	,07	9,30
2	1	-2,367	1,951	,447	-6,98	2,25
	3	2,317	1,951	,462	-2,30	6,93
3	1	-4,683*	1,951	,046	-9,30	-,07
	2	-2,317	1,951	,462	-6,93	2,30

*. A diferença média é significativa no nível 0.05.

1 = ST
2 = TA
3 = TB

Fonte: Elaborado pela autora.

A avaliação estatística (análise de Tukey) indica que existem diferenças significativas na abundância entre as paredes Sem Tinta (ST) e as paredes com Tinta B (TB) (sig.=0,046). Na análise de Tukey realizada anteriormente por Labres (2019) em relação às coletas 04 e 05 também foram encontradas diferenças significativas na abundância entre ST e TB. Desta forma, percebe-se que a ST proporciona condições mais favoráveis ao crescimento fúngico, com maiores abundâncias, sendo relevante a eficiência da TB, com biocida, na superfície. A situação TA apresentou valores intermediários de abundância, porém entre ST e TA, sem diferenças significativas.

Quadro 5 – Teste estatístico (TUKEY) aplicado aos tipos de pinturas (Sem Tinta, Tinta A e Tinta B) para estações do ano (verão e inverno), admitindo a abundância de gêneros de fungos como variável dependente.

(I) TINTAS	(J) TINTAS	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
11	12	-7,500	2,761	,077	-15,46	,46
	21	,750	2,470	1,000	-6,37	7,87
	22	-2,708	2,761	,923	-10,67	5,25
	31	2,917	2,470	,845	-4,20	10,03
	32	-,167	2,761	1,000	-8,12	7,79
12	11	7,500	2,761	,077	-,46	15,46
	21	8,250*	2,761	,037	,29	16,21
	22	4,792	3,025	,610	-3,92	13,51
	31	10,417*	2,761	,003	2,46	18,37
	32	7,333	3,025	,154	-1,38	16,05
21	11	-,750	2,470	1,000	-7,87	6,37
	12	-8,250*	2,761	,037	-16,21	-,29
	22	-3,458	2,761	,810	-11,42	4,50
	31	2,167	2,470	,951	-4,95	9,28
	32	-,917	2,761	,999	-8,87	7,04
22	11	2,708	2,761	,923	-5,25	10,67
	12	-4,792	3,025	,610	-13,51	3,92
	21	3,458	2,761	,810	-4,50	11,42
	31	5,625	2,761	,326	-2,33	13,58
	32	2,542	3,025	,960	-6,17	11,26
31	11	-2,917	2,470	,845	-10,03	4,20
	12	-10,417*	2,761	,003	-18,37	-2,46
	21	-2,167	2,470	,951	-9,28	4,95
	22	-5,625	2,761	,326	-13,58	2,33
	32	-3,083	2,761	,874	-11,04	4,87
32	11	,167	2,761	1,000	-7,79	8,12
	12	-7,333	3,025	,154	-16,05	1,38
	21	,917	2,761	,999	-7,04	8,87
	22	-2,542	3,025	,960	-11,26	6,17
	31	3,083	2,761	,874	-4,87	11,04

*. A diferença média é significativa no nível 0.05.

11 = ST verão

21 = TA verão

31 = TB verão

12 = ST inverno

22 = TA inverno

32 = TB inverno

Fonte: Elaborado pela autora.

A avaliação estatística (análise de Tukey) indica que existem diferenças significativas na abundância entre as paredes Sem Tinta (ST) no inverno e as paredes com Tinta A (TA) no verão (sig.=0,037) e para as paredes com Tinta B (TB) também no verão (sig.=0,003). Isto demonstra uma maior eficiência dos tratamentos aplicados em temperaturas mais altas e menores umidades.

Quadro 6 – Teste estatístico (TUKEY) aplicado aos tipos de pinturas (Sem Tinta, Tinta A e Tinta B) para fachadas (norte e sul), admitindo a abundância de gêneros de fungos como variável dependente.

(I) TINTAS	(J) TINTAS	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
41	42	-3,267	2,734	,839	-11,15	4,61
	51	3,033	2,734	,877	-4,85	10,91
	52	-1,567	2,734	,993	-9,45	6,31
	61	1,067	2,734	,999	-6,81	8,95
	62	5,033	2,734	,442	-2,85	12,91
42	41	3,267	2,734	,839	-4,61	11,15
	51	6,300	2,734	,198	-1,58	14,18
	52	1,700	2,734	,989	-6,18	9,58
	61	4,333	2,734	,610	-3,55	12,21
	62	8,300*	2,734	,032	,42	16,18
51	41	-3,033	2,734	,877	-10,91	4,85
	42	-6,300	2,734	,198	-14,18	1,58
	52	-4,600	2,734	,545	-12,48	3,28
	61	-1,967	2,734	,979	-9,85	5,91
	62	2,000	2,734	,978	-5,88	9,88
52	41	1,567	2,734	,993	-6,31	9,45
	42	-1,700	2,734	,989	-9,58	6,18
	51	4,600	2,734	,545	-3,28	12,48
	61	2,633	2,734	,929	-5,25	10,51
	62	6,600	2,734	,157	-1,28	14,48
61	41	-1,067	2,734	,999	-8,95	6,81
	42	-4,333	2,734	,610	-12,21	3,55
	51	1,967	2,734	,979	-5,91	9,85
	52	-2,633	2,734	,929	-10,51	5,25
	62	3,967	2,734	,696	-3,91	11,85
62	41	-5,033	2,734	,442	-12,91	2,85
	42	-8,300*	2,734	,032	-16,18	-,42
	51	-2,000	2,734	,978	-9,88	5,88
	52	-6,600	2,734	,157	-14,48	1,28
	61	-3,967	2,734	,696	-11,85	3,91

*. A diferença média é significativa no nível 0.05.

41 = ST norte
42 = ST sul

51 = TA norte
52 = TA sul

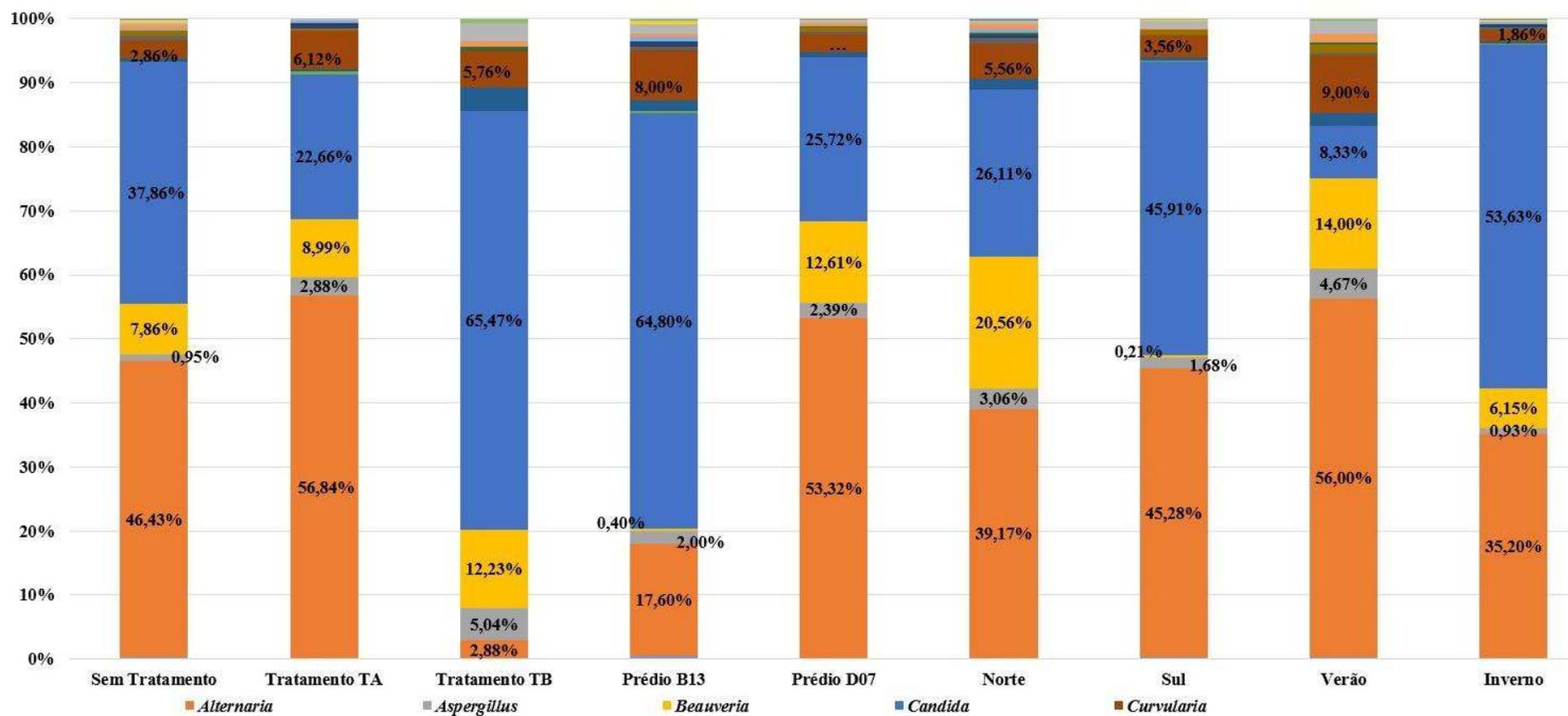
61 = TB norte
62 = TB sul

Fonte: Elaborado pela autora.

A avaliação estatística (análise de Tukey) indica que existem diferenças significativas na abundância entre as paredes Sem Tinta (ST) sul e as paredes com Tinta B (TB) sul (sig.=0,032). Novamente indicando uma maior eficiência da tinta com biocida quando se trata da orientação com menor insolação, e provavelmente mais úmida.

A Figura 44 mostra as frequências de ocorrência dos 05 gêneros de fungos comuns e abundantes aos tratamentos, prédios, estações do ano e orientação solar.

Figura 44- Abundância relativa dos 5 gêneros comuns.



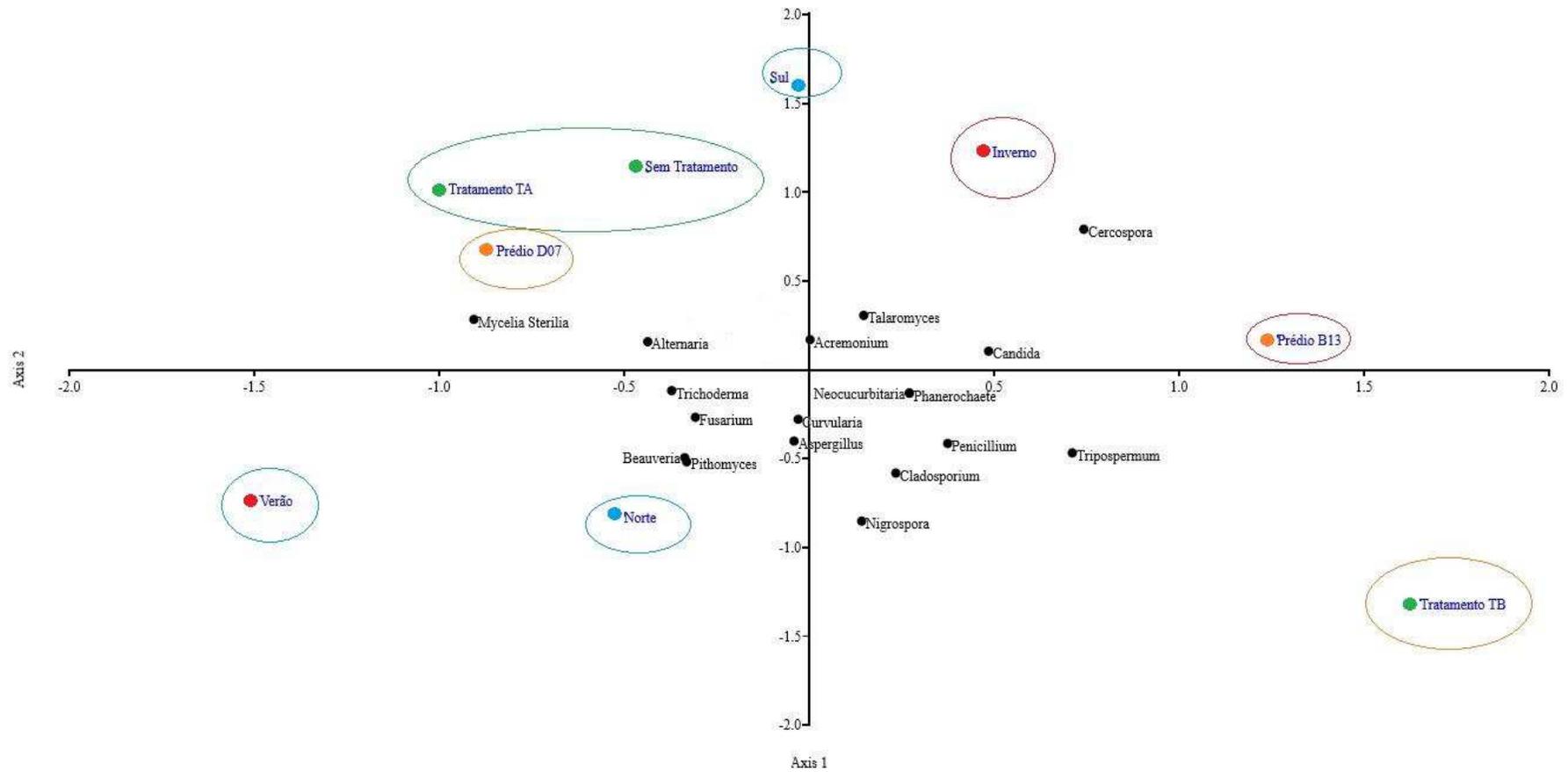
Fonte: Elaborado pela autora.

Na Figura 44, pode-se notar a similaridade entre os tratamentos ST e TA, com valores de abundância muito próximos para os mesmos gêneros, sendo *Alternaria* o que mais influenciou a diversidade pela sua abundância, com 46,43% e 56,84% das amostras. Na análise de Tukey anteriormente realizada, estes tratamentos não apresentaram diferenças significativas. No tratamento TB o gênero *Candida* foi o mais representativo, com 65,47% das amostras. Quando comparados os prédios, orientações e estações, pode-se observar diferenças em relação as suas abundâncias. Além disso, é importante destacar que *Alternaria* aparece na primeira ou segunda posição entre os maiores contaminantes encontrados em todas as situações analisadas, exceto na TB demonstrando que esta foi eficiente em não permitir o desenvolvimento deste gênero.

Além disso, percebe-se que dos fungos *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Cladosporium*, utilizados nas análises normativas ASTM D3273-16 (ASTM, 2016), NBR 15301 (ABNT, 2005), NBR 14941 (ABNT, 2011), NBR 15987 (ABNT, 2011) e NBR 15458 (ABNT, 2007) puderam ser identificados nos tratamentos ensaiados, não sendo encontrado o gênero *Aureobasidium*. Da mesma forma, percebe-se que o gênero *Candida*, também frequentemente encontrado nas situações analisadas, não é utilizado em nenhuma das normas citadas. Isto corrobora com o já indicado na pesquisa de WIRTH *et al.* (2019), de que existe a possibilidade de obter-se resultados equivocados apenas com critério de análise normativo.

Quando feita a análise de correspondência canônica (CCA, Figura 45), confirma-se a distinção da composição da comunidade de fungos para os tratamentos, estações, prédios e orientação, e apontando uma maior similaridade entre os tratamentos ST e TA.

Figura 45 - Análise de correspondência canônica (CCA).



Fonte: Elaborado pela autora.

Para um melhor entendimento desta comunidade de fungos estudada, mensurou-se sua diversidade considerando o número de espécies presentes (riqueza) e a equitabilidade.

A Tabela 17 mostra os resultados dos índices de diversidade, dominância e equitabilidade para os tratamentos ST, TA e TB em cada um dos prédios, estações e orientação solar na avaliação das 5 coletas realizadas. Cabe salientar que o índice de diversidade de Shannon-Weaver (H') considera pesos iguais entre as espécies raras e abundante, enquanto o de Simpson é influenciado pela abundância maior de um ou mais grupos taxonômicos e, conseqüentemente, a equitabilidade da comunidade de fungos. Assim sendo, em situações de prevalência de um gênero, seu índice de dominância será mais próximo de 1 e seus índices de diversidade de Simpson e equitabilidade serão mais próximos de zero.

Tabela 17 – Índices de diversidade, dominância e equitabilidade.

Tratamento	Edificação	Estação	Posição	Dominância	Simpson	Shannon	Equitabilidade
ST	D07	Verão	S	0,6450	0,3550	0,7650	0,4753
ST	D07	Verão	N	0,4753	0,5428	0,9081	0,5643
ST	D07	Inverno	S	0,9267	0,0733	0,1868	0,1701
ST	D07	Inverno	N	0,8195	0,1805	0,4646	0,2593
ST	B13	Verão	S	0,5392	0,4608	1,0060	0,5614
ST	B13	Verão	N	0,3333	0,6667	1,0990	1,0000
ST	B13	Inverno	S	0,9721	0,0279	0,0838	0,0763
ST	B13	Inverno	N	0,2500	0,7500	1,4940	0,9284
TA	D07	Verão	S	0,7685	0,2315	0,4795	0,3459
TA	D07	Verão	N	0,4870	0,5130	1,0200	0,6335
TA	D07	Inverno	S	0,5184	0,4816	0,6746	0,5993
TA	D07	Inverno	N	0,5611	0,4389	0,7119	0,6480
TA	B13	Verão	S	0,7562	0,2438	0,4851	0,4416
TA	B13	Verão	N	0,5556	0,4444	0,6365	0,9183
TA	B13	Inverno	S	0,5616	0,4384	0,8159	0,5886
TA	B13	Inverno	N	0,3750	0,6250	1,0400	0,9464
TB	D07	Verão	S	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TB	D07	Verão	N	0,1944	0,8056	1,8280	0,8789
TB	D07	Inverno	S	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TB	D07	Inverno	N	0,7949	0,2051	0,4216	0,3041
TB	B13	Verão	S	0,5000	0,5000	0,8676	0,7897
TB	B13	Verão	N	0,5918	0,4082	0,5983	0,8631
TB	B13	Inverno	S	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000
TB	B13	Inverno	N	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Observação: em negrito os maiores índices de dominância (>0,8).

Fonte: Elaborado pela autora.

Os índices de diversidade mostraram uma média de 0,3497 (DP=0,2496) para Simpson e 0,6494 (DP=0,4776) para Shannon-Wiener, sendo que as menores diversidades foram encontradas para a TB $0,2399 \pm 0,30412$ para Simpson e $0,4644 \pm 0,6441$ para Shannon-Wiener.

Em uma análise dos maiores índices de dominância (>0,8), nota-se que a menor diversidade ocorre, em sua maioria, no inverno, já que dos sete índices, seis pertencem a esta estação e dentre estes, quatro apresentam valores iguais a 1, o que provavelmente está associado às maiores abundâncias dos gêneros *Candida* e *Alternaria*. Shirakawa *et al.* (2002), em seu estudo sobre a sequência da colonização por fungos e a influência da incorporação de biocidas nas películas de tinta de dois edifícios da Universidade de São Paulo, perceberam um decréscimo no número de fungos nos meses de verão.

Além disso, se percebe que estes índices são majoritariamente encontrados na orientação sul, que também apresenta as maiores abundâncias para os gêneros *Candida* e *Alternaria*, indicando que a menor incidência de insolação pode, da mesma forma, ter influenciado na diversidade e proporcionando melhores condições de crescimento para estes micro-organismos. Anteriormente, Labres (2019) não encontrou diferenças significativas na abundância e riqueza entre as orientações, e na análise feita por Shirakawa *et al.* (2010) em blocos de concreto aerado pintados com tintas látex, a pintura voltada para o sul no clima tropical, desenvolveu um maior número de fungos viáveis.

Quanto aos tipos de tratamento, TB apresentou quatro índices de dominância igual a 1, provavelmente associado a grande abundância do gênero *Candida*. Na análise de Tukey apresentada anteriormente, e na feita por Labres (2019) em relação às coletas 04 e 05, encontraram-se diferenças significativas na abundância entre ST e TB. Shirakawa *et al.* (2002), também notaram um número menor na população de fungos em superfícies com biocidas após 13 semanas e continuando por 42 semanas após a pintura, porém sem diferenças estatísticas significativas de biodiversidade. Silva (2009), em seu estudo em campo sobre a contaminação fúngica em argamassas pintadas com tinta látex com e sem biocida, também atestou que a tinta sem biocida apresentou maior diversidade de agentes contaminantes.

E apesar da confirmação de Udawattha *et al.* (2018) de que materiais com alta rugosidade apresentam maior facilidade ao crescimento de fungos, e de Labres (2019) ter encontrado diferenças significativas na abundância e riqueza entre os prédios, as maiores dominâncias se distribuíram similarmente entre estes, não indicando que estas tenham interferido diretamente na diversidade.

Com base nos dois índices, de diversidade como variáveis respostas, e as 24 combinações entre tratamentos, prédios, estações e posição solar, como variáveis independentes (Tabela 17), testou-se Modelos Generalizados (GLM) com intuito de avaliar a possível influência destas na diversidade de fungos encontradas. A Tabela 18 mostra os GLMs que segundo o critério de Akaike foram estatisticamente significantes. Para o índice de Simpson que é influenciado pela dominância, o melhor foi o GLM2 (Tabela 18 e Figura 46), mostrando que a posição solar sul, com menor incidência solar e possivelmente mais úmida, teve o menor valor de diversidade

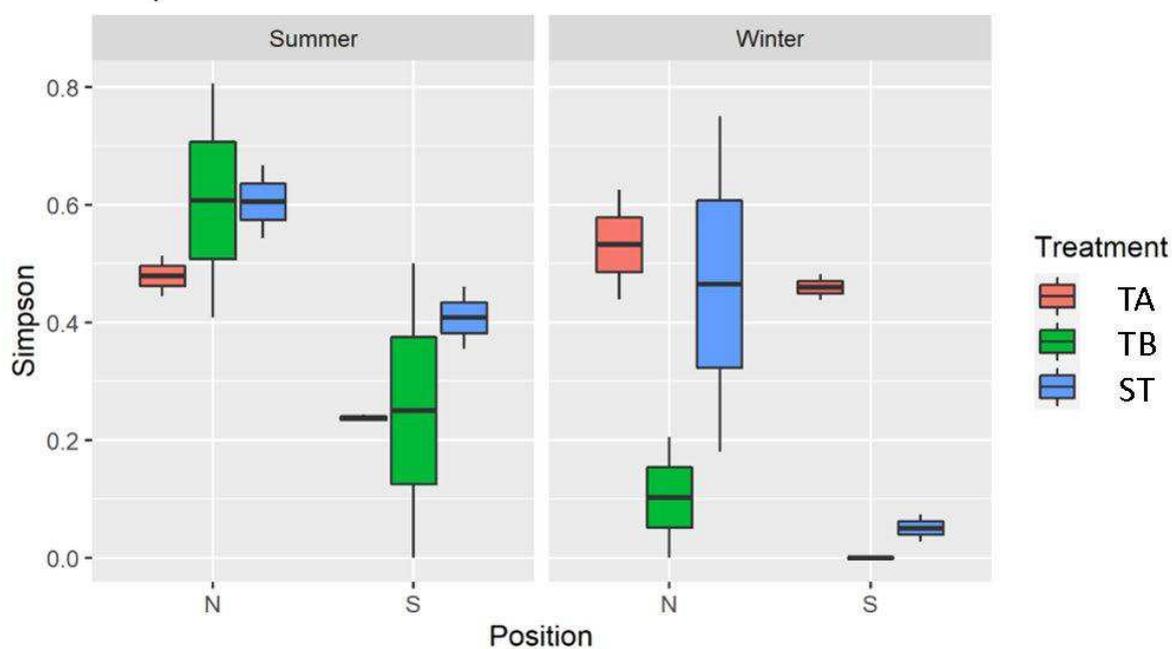
quando aplicada a TB. O mesmo padrão de resultado foi encontrado para o índice de Shannon-Wiener, tanto na Tabela 18, quanto, como pode-se observar, na Figura 47.

Tabela 18 - Valores de cada GLM.

GLM							AIC		
Index	Model	Variables	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	dAIC	df	weight
Simpson	GLM1	(Intercept)	0.49185	0.10404	4.727	0.000168			
		TreatmentB	-0.18721	0.10404	-1.799	0.088745			
		TreatmentControle	-0.04495	0.10404	-0.432	0.670856			
		BuildingD07	-0.06149	0.08495	-0.724	0.478500			
		Season/Verão	0.16259	0.08495	1.914	0.071663			
		Position/S	-0.23066	0.08495	-2.715	0.014186	1.3	7	0.28
	GLM2	(Intercept)	0.46111	0.09378	4.917	9.57e-05			
		TreatmentB	-0.18721	0.10273	-1.822	0.0842			
		TreatmentControle	-0.04495	0.10273	-0.438	0.6667			
		SeasonVerão	0.16259	0.08388	1.938	0.0676			
		PositionS	-0.23066	0.08388	-2.750	0.0127	0.0	6	0.55*
	GLM3	(Intercept)	0.54240	0.08947	6.062	6.32e-06			
		TreatmentB	-0.18721	0.10958	-1.708	0.103			
		TreatmentControle	-0.04495	0.10958	-0.410	0.686			
		PositionS	-0.23066	0.08947	-2.578	0.018	2.3	5	0.17
Shannon-Wiener	GLM1	(Intercept)	0.80477	0.21187	3.798	0.00132			
		TreatmentB	-0.26850	0.21187	-1.267	0.22120			
		TreatmentControle	0.01797	0.21187	0.085	0.93333			
		BuildingD07	-0.05551	0.17299	-0.321	0.75201			
		SeasonVerão	0.31666	0.17299	1.830	0.08379			
		PositionS	-0.40481	0.17299	-2.340	0.03100	1.9	7	0.23
	GLM2	(Intercept)	0.77701	0.18879	4.116	0.000588			
		TreatmentB	-0.26850	0.20681	-1.298	0.209721			
		TreatmentControle	0.01797	0.20681	0.087	0.931652			
		SeasonVerão	0.31666	0.16886	1.875	0.076206			
		Position S	-0.40481	0.16886	-2.397	0.026954	0.0	6	0.57*
	GLM3	(Intercept)	0.93534	0.17917	5.220	4.15e-05			
		TreatmentB	-0.26850	0.21943	-1.224	0.2353			
		TreatmentControle	0.01797	0.21943	0.082	0.9355			
		PositionS	-0.40481	0.17917	-2.259	0.0352	2.1	5	0.20

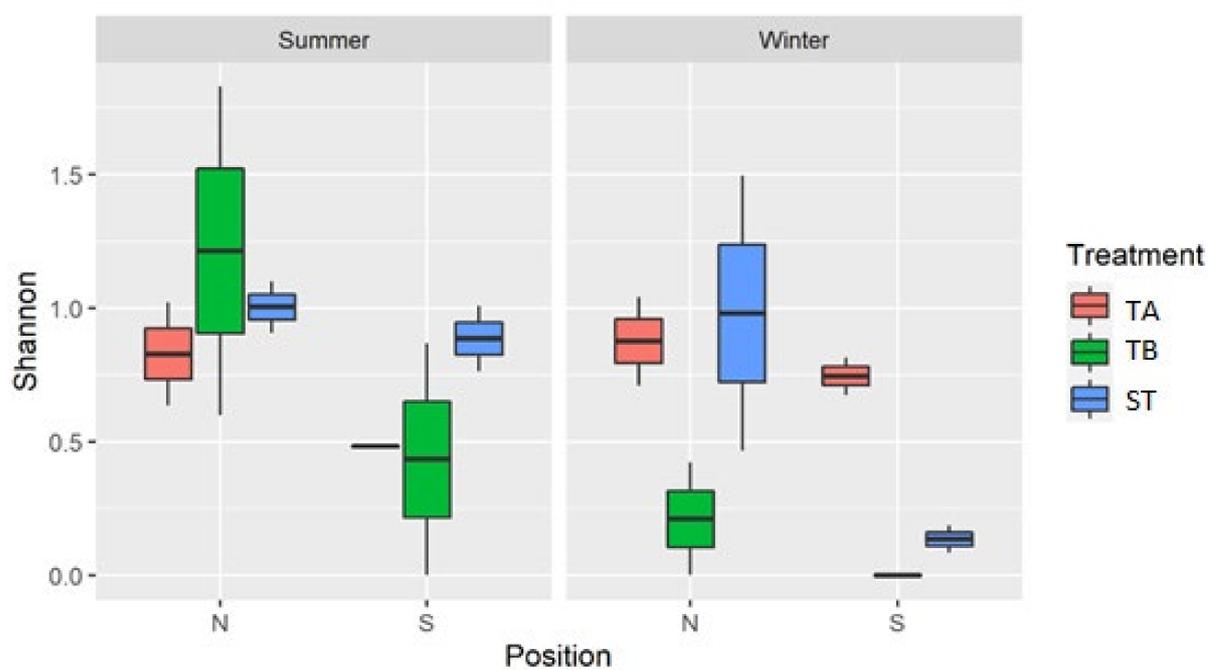
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 46 - Boxplot com as medianas do índice de Simpson representadas pelas linhas escuras.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 47 - Boxplot com as medianas do índice de Shannon representadas pelas linhas escuras.



Fonte: Elaborado pela autora.

5 CONCLUSÃO

O trabalho realizado teve como objetivo identificar os micro-organismos presentes no biofilme das superfícies analisadas, bem como avaliar o desempenho das tintas aplicadas em relação à inibição da proliferação dos fungos nas diferentes situações encontradas ao longo dos 400 dias de pintura.

Entre os 248 e 400 dias de pintura, no inverno e verão, foram encontrados 08 gêneros de fungos distintos, sendo possível a identificação microscópica de mais da metade das colônias isoladas, mesmas características obtidas nos 30 e 101 dias de pintura, no verão. Os gêneros, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Curvularia* e *Fusarium*, estiveram presentes nas coletas realizadas por Labres (2019) (30 e 101 dias) e nos 248 e 400 dias.

Em uma análise integral dos dados obtidos entre os 30 e 400 dias de pintura percebe-se a predominância do gênero *Alternaria*, encontrado em 42,81% das colônias identificadas, *Candida* esteve presente em 37,53% e *Beauveria* em 8,99%. Identificou-se microscopicamente os fungos (em ordem decrescente de abundância): *Alternaria*, *Candida*, *Beauveria*, *Curvularia*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mycelia sterilia*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Nigrospora* e *Tripospermum*.

Os valores de abundância variaram de 79 a 360 colônias, com as menores percebidas nas primeiras coletas do verão, seguidas de um aumento expressivo da contaminação das amostras coletadas no inverno, e uma diminuição na última coleta do verão. Para a riqueza foram encontradas quantidades similares de gêneros em cada coleta, variando de 06 à 08. Isto indica um aumento das condições favoráveis ao desenvolvimento destes micro-organismos ao longo do tempo e durante o inverno, podendo apontar para uma queda na eficiência dos tratamentos utilizados.

Como dito anteriormente, os fungos identificados como *Alternaria* caracterizaram-se como o principal colonizador das fachadas, sendo no prédio D07 verificada a maior abundância deste gênero. Em relação aos tipos de tratamentos, constatou-se o desenvolvimento deste fungo sobre a Tinta B em apenas três situações, todas na orientação norte, o que indica que o biocida presente na Tinta B é eficaz na inibição do seu crescimento. As leveduras, identificadas como do gênero *Candida*, apesar de não serem isoladas nas duas primeiras coletas analisadas, foram o segundo maior colonizador encontrado em todo o período estudado.

A identificação molecular foi feita em 30 amostras, sendo que apenas uma destas não havia sido previamente identificada através de sua morfologia e microscopia. Das 29 amostras previamente identificadas, 22 (75,86%) tiveram sua identificação morfológica prévia confirmada pela molecular. Dentre as amostras sequenciadas, foram encontrados 02 filos, 04 classes, 05 ordens, 07 famílias e 12 gêneros distintos, demonstrando uma rápida colonização por diferentes grupos taxonômicos.

Alguns destes micro-organismos apresentaram correspondências com mais de uma espécie, confirmando as dificuldades da identificação correta, tanto pela similaridade de suas características, quanto à falta de informações depositadas nos bancos de dados. Além disso, outra dificuldade encontrada se deve ao fato de que algumas espécies apresentam sinônimos homotípicos.

Ao final, pôde-se identificar microscopicamente e molecularmente durante os 400 dias de coletas os fungos: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Candida*, *Cercospora*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mycelia Sterilia*, *Neocucurbitaria*, *Nigrospora*, *Phanerochaete*, *Pithomyces*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* e *Tripospermum*.

Dos fungos utilizados nas análises normativas ASTM D3273-16 (ASTM, 2016), NBR 15301 (ABNT, 2005), NBR 14941 (ABNT, 2011), NBR 15987 (ABNT, 2011) e NBR 15458 (ABNT, 2007) não encontrou-se o gênero *Aureobasidium*. Da mesma forma, percebe-se que o gênero *Candida*, também frequentemente encontrado nas situações analisadas, não é utilizado em nenhuma das normas citadas, confirmando a possibilidade de obter-se resultados equivocados apenas com critério de análise normativo.

Em relação aos tipos de tratamento, as parcelas ST e TA apresentaram valores de abundância relativa muito próximos para os mesmos gêneros, sendo *Alternaria* o mais frequente com 46,43% e 56,84% das amostras, respectivamente. Para a TB o gênero *Candida* foi mais recorrente, com 65,47% das amostras.

Houve diferenças significativas na abundância entre os tratamentos ST e TB, tanto quando comparados os prédios, orientações e estações, quanto nestes tratamentos aplicados na orientação sul. Além disso, a abundância da superfície ST no inverno também difere de TA e TB no verão. Percebe-se também menores diversidades no inverno e na orientação sul, provavelmente devido às maiores abundâncias dos gêneros *Candida* e *Alternaria*. De forma semelhante, TB apresentou

menores diversidades, possivelmente associadas a grande abundância do gênero *Candida*. Isto corrobora com a indicação de que o biocida empregado possa exercer uma ação mais eficiente no gênero *Alternaria*, já que este aparece na primeira ou segunda posição entre os maiores contaminantes encontrados nas demais situações analisadas.

Apesar da semelhança entre ST e TA nas frequências de ocorrência dos 05 gêneros mais abundantes, em relação à análise dos índices de diversidade, dominância e equitabilidade, as menores diversidades ocorreram, em sua maioria, nos tratamentos ST e TB, indicando que TA apresenta diversidades maiores, o que era esperado, já que TA não possui qualquer tipo de biocida. Os melhores GLM também apresentaram menores diversidades de fungos para TB, indicando que esta possui uma melhor qualidade, ou seja, tem maior poder de eliminação dos fungos.

Em relação aos objetivos propostos, podem-se relacionar os seguintes resultados:

- a) identificar microscopicamente os fungos presentes no biofilme formado nas superfícies sem pintura e nas revestidas com diferentes tipos de tintas: identificou-se microscopicamente 12 gêneros distintos de fungos presentes no biofilme das superfícies analisadas durante os 400 dias de coletas.
- b) comparar a presença de fungos entre os períodos de 30, 101, 248, 276 e 400 dias de pintura, e identificá-los através da extração e sequenciamento de DNA: foram mensuradas maiores abundâncias no verão e riquezas similares em cada coleta realizada. Através do sequenciamento de DNA das amostras escolhidas foram identificados 12 gêneros distintos, sendo 06 diferentes aos já nomeados pela microscopia.
- c) avaliar o desempenho das tintas em relação à inibição da proliferação dos fungos ao longo das mudanças de estação e após um ano de aplicação: dentre os tratamentos analisados, TB demonstrou um melhor desempenho, apresentando menores diversidades e diferenças significativas em relação à abundância comparada a ST na orientação sul, e ao longo das cinco amostragens. Também há diferenças entre a abundância da superfície ST no inverno e TA e TB no verão. Os menores valores de abundância foram encontrados nas primeiras coletas (verão), com um aumento expressivo no inverno e diminuição na última coleta do verão, indicando um aumento das condições favoráveis ao desenvolvimento dos fungos ao longo do tempo e

durante o inverno, podendo apontar para uma queda na eficiência dos tratamentos utilizados.

Conclui-se, portanto, que os objetivos foram cumpridos, proporcionando um melhor entendimento do desempenho das tintas aplicadas e as influências exercidas pelos demais fatores analisados, assim como o reconhecimento da composição da microbiota fúngica presente nas áreas de estudo. Salia-se que, mesmo com as significativas informações obtidas nesta pesquisa, ainda há um campo aberto no tema estudado, tanto em relação à sua composição, quanto na interferência das condições ambientais locais e um maior período de ensaio. O que demonstra resultados a serem almejados com novos estudos, que possibilitem a compreensão mais aprofundada da influência destes aspectos e o papel desempenhado pelos gêneros de fungos encontrados, nas manifestações patológicas em tintas.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 14941**: Tintas para construção civil – Método para avaliação de desempenho de tintas para edificações não industriais – Determinação da resistência de tintas, vernizes e complementos ao crescimento de fungos em placas de Petri sem lixiviação. Rio de Janeiro, 2011.

_____. **NBR 15220-1**: Desempenho térmico de edificações – Parte 1: Definições, símbolos e unidades. Rio de Janeiro, 2005.

_____. **NBR 15220-3**: Desempenho térmico de edificações – Parte 3: Zoneamento bioclimático brasileiro e diretrizes construtivas para habitações unifamiliares de interesse social. Rio de Janeiro, 2005.

_____. **NBR 15301**: Tintas para construção civil — Método para avaliação de desempenho de tintas para edificações não industriais — Determinação da resistência de tintas e complementos ao crescimento de fungos em câmara tropical. Rio de Janeiro, 2005.

_____. **NBR 15458**: Tintas para construção civil — Método para avaliação de desempenho de tintas para edificações não industriais — Avaliação microbiológica de tintas, vernizes, complementos, matérias-primas e instalações. Rio de Janeiro, 2007.

_____. **NBR 15575-1**: Edificações Habitacionais – Desempenho. Parte 1: Requisitos Gerais. Rio de Janeiro, 2013.

_____. **NBR 15575-4**: Edificações Habitacionais – Desempenho. Parte 4: Requisitos para os sistemas de vedações verticais internas e externas — SVVIE. Rio de Janeiro, 2013.

_____. **NBR 5674**: Manutenção de edificações - Procedimento. Rio de Janeiro, 1999.
ADAMS, R. I. *et al.* Ten questions concerning the microbiomes of buildings. *Building and Environment*, v. 109, p. 224–234, 2016.

ADAMS, R. I. *et al.* The diversity and distribution of fungi on residential surfaces. ***PloS one***, v. 8, n. 11, p. e78866, 2013.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. ***IEEE Transactions on Automatic Control***, Boston, v. 19, n. 6, p. 716-723, Dec. 1974.

ALLSOPP D., SEAL K. J., GAYLARDE C. C. **Introduction to biodeterioration**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2004.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM D 3273-16: Standard Test Method for Resistance to Growth of Mold on the Surface of Interior Coatings in an Environmental Chamber. West Conshohocken, 2016.

ANDERSEN, Birgitte *et al.* Associations between fungal species and water-damaged building materials. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 12, p. 4180-4188, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS FABRICANTES DE TINTAS (ABRAFATI). **O setor de tintas no Brasil**. São Paulo, [2020?]. Disponível em: <<https://www.abrafati.com.br/o-setor-de-tintas-no-brasil/>>. Acesso em: 02 nov. 2020.

BACH E. E.; RANGEL Á. R. Biodeterioração de tintas à base de água por fungos. **Exacta**, núm. 3, pp. 79-84, Universidade Nove de Julho - São Paulo, Brasil, 2005.

BADALI, H. et al. Biodiversity of the genus *Cladophialophora*. **Studies in Mycology** v. 61, p. 175–191, 2008.

BAKHSI, M. Morphological and molecular characterization of *Cercospora zebrina* from black bindweed in Iran. **Plant Pathology & Quarantine**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 125–130, 2012.

BARBEROUSSE, H. Étude De La Diversité Des Algues Et Des Cyanobactéries Colonisant Les Revêtements De Façade En France Et Recherche Des Facteurs Favorisant Leur Implantation. **Ecologie**, Environnement. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, 2006.

BRAGA, C. C. **Manifestações patológicas em conjuntos habitacionais: a degradação das fachadas**. Dissertação (mestrado) – Universidade Católica de Pernambuco Pró-Reitoria de Ensino, Pesquisa e Extensão-Proespe Departamento de Engenharia Mestrado em Engenharia Civil, Recife, PE, 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Construção Sustentável**. Brasil, [2019?]. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/urbanismo-sustentavel/item/8059.html>>. Acesso em: 11 jun. 2019.

_____. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução n. 307**, de 5 de julho de 2002: Estabelece diretrizes, critérios e procedimentos para a gestão dos resíduos da construção civil. CONAMA, 2002.

_____. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução n. 348**, de 16 de agosto de 2004: Altera a Resolução CONAMA nº 307, de 5 de julho de 2002, incluindo o amianto na classe de resíduos perigosos. CONAMA, 2004.

_____. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução n. 431**, de 24 de maio de 2011: Altera o art. 3º da Resolução nº 307, de 5 de julho de 2002, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, estabelecendo nova classificação para o gesso. CONAMA, 2011.

_____. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução n. 448**, de 18 de janeiro de 2012: Altera os arts. 2º, 4º, 5º, 6º, 8º, 9º, 10 e 11 da Resolução nº 307, de 5 de julho de 2002, do Conselho Nacional do Meio Ambiente- CONAMA. CONAMA, 2012.

_____. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução n. 469**, de 29 de julho de 2015: Altera a Resolução CONAMA nº 307, de 05 de julho de 2002, que estabelece diretrizes, critérios e procedimentos para a gestão dos resíduos da construção civil. CONAMA, 2012.

BROWER, J.E.; ZAR, J.H. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018. **Field & laboratory methods for general ecology**. 2 ed. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa, 1984, 226p.

CARMONA FILHO, A. Panorama da Edificação sob a Ótica da Patologia. **AECweb**, 18 maio 2009. Disponível em: <http://www.aecweb.com.br/cont/a/panorama-da-edificacao-sob-a-otica-da-patologia_1276>. Acesso em: 11 jun. 2019.

CHACON-CORTES, D. *et al.* Comparison of genomic DNA extraction techniques from whole blood samples: A time, cost and quality evaluation study. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 5, p. 5961–5966, 2012.

CHAI J. B. *et al.* Previsão da vida útil de pinturas de paredes exteriores, **Revista de Engenharia Civil**, v. 41, n. 20, p. 51- 63, 2011.

COATINGS, J. *et al.* Mildew and mildew control for wood surfaces. **Journal of Coatings Technology**, v. 71, n. 3, p. 67–69, 1999.

DI GIUSEPPE, E. **Nearly zero energy buildings and proliferation of microorganisms**: a current issue for highly insulated and airtight building envelopes. Londres: Springer, 2013.

ELLIS, D.; KIDD, S. **Mycology Online - Department of Microbiology & Immunology and Adelaide Science Online at the University of Adelaide**. 1998. Disponível em: <<https://mycology.adelaide.edu.au/>>. Acesso em: 01 abr. 2020.

FAZENDA, J. M. R. **Tintas e vernizes**: ciência e tecnologia. 2. ed. São Paulo: ABRAFATI, 1995.

FERRARI, C. *et al.* Review on the influence of biological deterioration on the surface properties of building materials: organisms, materials, and methods. **International Journal of Design & Nature and Ecodynamics**, v. 10, n. 1, p. 21–39, 31 mar. 2015.

FERREIRA, R. M. **Avaliação dos ensaios de durabilidade do betão**. 246 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Guimarães, 2000.

FREITAS, M.M.S. **Clima do Rio Grande do Sul**. (2017). Disponível em: <<https://www.infoescola.com/geografia/clima-do-rio-grande-do-sul/>>. Acesso em: 22 jul. 2019.

GAYLARDE, C. C.; GAYLARDE, P. M. A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on exteriors of buildings in Europe and Latin America. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 55, n. 2, p. 131–139, 2005.

GHOSAL, S.; MACHER, J. M.; AHMED, K. Raman microspectroscopy-based identification of individual fungal spores as potential indicators of indoor contamination and moisture-related building damage. **Environmental science & technology**, v. 46, n. 11, p. 6088-6095, 2012.

GILBERT, J. A.; STEPHENS, B. Microbiology of the built environment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 11, p. 661–670, 2018.

GROENEWALD, M.; GROENEWALD, J. Z.; BRAUN, U.; CROUS, P. W. Host range of *Cercospora apii* and *C. beticola* and description of *C. apiicola*, a novel species from celery. **Mycologia**, [S. l.], v. 98, n. 2, p. 275–285, 2006.

GRYNNING, S. et. al. **Climate adaptation of buildings through MOM- and upgrading – State of the art and research needs**. 11th Nordic Symposium on Building Physics, NSB2017, 11-14 June 2017, Trondheim, Norway, 2017.

HALL TA. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, 41, 95-98, 1999.

Hawksworth DL, Lücking R. 2017. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiol Spectrum**, [S.l.], 5(4):FUNK-0052- 2016.

INGOLD, C.T.; DANN, V.; MCDUGALL, P. J. *Tripospermum camelopardus* sp.nov. **Transactions of the British Mycological Society** v. 51, n. 1, p. 51-IN4, 1968.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA DO QUEBEC (INSPQ). - **Centro de Especialização e Referência em Saúde Pública**. 2016. Disponível em: <<https://www.inspq.qc.ca/>>. Acesso em: 01 abr. 2020.

JOHANSSON, P.; EKSTRAND-TOBIN, A.; BOK, G. An innovative test method for evaluating the critical moisture level for mould growth on building materials. **Building and Environment**, v. 81, p. 404–409, 2014.

JOHANSSON, P.; SVENSSON, T.; EKSTRAND-TOBIN, A. Validation of critical moisture conditions for mould growth on building materials. **Building and Environment**, v. 62, p. 201–209, 2013.

KHAN, Z.; AHMAD, S.; KAPILA, K.; RAMASWAMY, N. V. ALATH, Preetha; JOSEPH, L.; CHANDY, R. *Pyrenochaeta romeroi*: A causative agent of phaeohyphomycotic cyst. **Journal of Medical Microbiology**, [S. l.], v. 60, n. 6, p. 842–846, 2011.

KHASREEN, M. M.; BANFILL, P. F. G.; MENZIES, G. F. Life-Cycle Assessment and the Environmental Impact of Buildings: A Review. **Sustainability**, [S.l.], 2009.

KUMAR S., STECHER G., TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, 33 1870-1874, 2016.

LABRES, S. H. **Análise da eficácia de tintas na inibição do desenvolvimento fúngico em sistemas de fachadas.** 2019. 213 f. Dissertação (mestrado) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, São Leopoldo, RS, 2019.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO N.T. **Guia para identificação:** fungos, actinomicetos, algas de interesse médico. São Paulo: SARVIER, 1998.

LIGOZZI, M. *et al.* A case of *Beauveria bassiana* keratitis confirmed by internal transcribed spacer and LSU rDNA D1-D2 sequencing. **New Microbes and New Infections** v. 2, n. 3, p. 1–4, 2014.

LORENZ, T. C. Polymerase chain reaction: Basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. **Journal of Visualized Experiments**, n. 63, p. 1–15, 2012.

MADHAD, V. J.; SENTHEIL, K. P. The Rapid & Non-Enzymatic isolation of DNA from the Human peripheral whole blood suitable for Genotyping. **European Journal of Biotechnology and Bioscience**, v. 1, n. 3, p. 1–16, 2014.

MATA Nativa. **Índices de diversidade de espécies no levantamento fitossociológico.** 2016. Disponível em: <<https://www.matanativa.com.br/interpretacao-dos-indices-de-diversidade-de-especies-obtidos-em-levantamento-fitossociologico/>>. Acesso em: 18 jan. 2021.

MELLO, S. C. M.; REIS, A.; SILVA, J. B. T. Manual de Curadores de Germoplasma – Micro-organismos: Fungos Filamentosos. **Documentos Embrapa**, p. 25, 2011.

MENDES, F. M. V. P. **Durabilidade das fachadas ventiladas: aplicação da norma ISO 15686-1.** 2009. 58p. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia Civil) – Departamento de Engenharia Civil, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2009.

MENSAH-ATTIPOE J. *et al.* Comparison of methods for assessing temporal variation of growth of fungi on building materials. **Microbiology**, v. 162, p. 1895–1903, 2016.

OLIVEIRA, L. A. **Metodologia para desenvolvimento de projeto de fachadas leves.** 2009. 267 f. Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia de Construção Civil, São Paulo, SP, 2009.

OLIVEIRA, M. C. D. S. *et al.* **Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de dna por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase.** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007.

PARJO U. K. *et al.* Effect of Fungal Growth on the Surface of Painted Plasterboards. **Advances in Environmental Biology**, v. 9, n. 20, p. 15-19, 2015.

PESSOA, M. L. (Org.). Clima do RS. In: PESSOA, M. L. **Atlas FEE.** Porto Alegre: FEE, 2017. Disponível em: <<http://atlas.fee.tche.br/rio-grande-do-sul/socioambiental/clima/>>. Acesso em: 23 jul. 2019.

PINHEIRO, Sayonara Maria de Moares. **Impacto da colonização do fungo *Cladosporium sphaerospermum* na argamassa do concreto**. 135 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2003.

POSSAN, E.; DEMOLINER, C. A. Desempenho, durabilidade e vida útil das edificações: Abordagem Geral. **Revista Técnico-Científica**, v. 1, n. 1, 2013.

PROGRAMA DE DESENVOLVIMENTO DAS NAÇÕES UNIDAS (PDNU). **Quais são os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável?** [2019?]. Disponível em: <<http://www.undp.org/content/undp/en/home/sustainable-development-goals.html>> Acesso em: 07 jul. 2019.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Do Planejamento, Mobilidade E Desenvolvimento Regional. **Atlas Socioeconômico do Rio Grande do Sul: Clima, temperatura e precipitação**. Rio Grande do Sul, [2020]. Disponível em <<http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/clima-temperatura-e-precipitacao>>. Acesso em: 06 de jun de 2019.

RUSS, N. M.; HAMID, M.; YE, K. M. Literature review on green cost premium elements of sustainable building construction. **International Journal of Technology**, v. 9, n. 8, p. 1715-1725, 2018.

SEDLBAUER, K. Prediction of mould fungus formation on the surface of and inside building components. **Fraunhofer Institute for Building Physics**, [S.I.], 2001.

SHAH, H.; HONEYBUL, S.; TANG, S.; ARTHUR, I.; MCLAREN, S.; BOAN, P. Mould meningitis associated with intravenous drug use. **Medical Mycology Case Reports**, [S. I.], v. 20, n. December 2017, p. 18–20, 2018.

SHIRAKAWA, M. A. *et al.* Biodeterioration of painted mortar surfaces in tropical urban and coastal situations: Comparison of four paint formulations. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 5, p. 669–674, 2011.

SHIRAKAWA, M. A. *et al.* Climate as the most important factor determining anti-fungal biocide performance in paint films. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 23, p. 5878–5886, 2010.

SHIRAKAWA, M. A. *et al.* Fungal colonization and succession on newly painted buildings and the effect of biocide. **FEMS Microbiology Ecology** v. 39, n. 2, p. 165–173, 2002.

SHIRAKAWA, M. A.; GAYLARDE, C. C.; GAMBALE, P. G. W. **Fungal Colonization In The Paint Interfaces Of A Building Façade**. [S.I.], p. 1–6, 2002.

SILVA, E. R.; SOUZA, A. S. **Introdução ao estudo da microbiologia: teoria e prática**. Brasília: Editora do IFB, 2013.

SILVA, F. H. **Biodeterioração de tintas látex com e sem biocida, expostas ao meio ambiente externo e experimento acelerado**. 166 f. Dissertação (mestrado) –

Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Santa Maria, RS, 2009.

SIMON-NOBBE, B. *et al.* The spectrum of fungal allergy. **International archives of allergy and immunology**, v. 145, n. 1, p. 58-86, 2008.

SOUZA, R. **O conceito de desempenho aplicado às edificações**. São Paulo: EPUSP, 2015.

SOUZA, U. E. L. *et al.* Diagnóstico e combate à geração de resíduos na produção de obras de construção de edifícios: uma abordagem progressiva. **Ambiente Construído**, v. 4, n. 4, p. 33-46, 2004.

STERFLINGER K., PIÑAR G. Microbial deterioration of cultural heritage and works of art- tilting at windmills? **Applied microbial biotechnology**, v. 97, n. 22, p.9637-9646, 2013.

SUSANTI, E.; SUHARJONO; ARDYATI, T.; AULANI'AM. Phylogenetic analysis of phanerochaete chrysosporium ITB isolate using internal transcribed spacer (ITS) sequence. **International Journal of ChemTech Research**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. 654–658, 2015.

TOMÉ. R.; MARQUES, G. **Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra**. 2016. Disponível em: <<https://atlasmicologia.blogspot.com>>. Acesso em: 01 abr. 2020.

TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F. (ed.). **Microbiologia**. 6 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2015.888 p.

UDAWATTHA, C. *et al.* Mold growth and moss growth on tropical walls. **Building and Environment**, v. 137, 2018.

UEMOTO, K. L. **Projeto, execução e inspeção de pinturas**. São Paulo: O Nome da Rosa, 2002.

UEMOTO, K. L.; HEHL, W. C. Avaliação do desempenho de pinturas. In: **Tecnologia de edificações**. São Paulo: Pini, 1988.

VACHER, S. *et al.* Impact of paint and wall-paper on mould growth on plasterboards and aluminum. **Building and Environment**, v. 45, n. 4, p. 916–921, 2010.

WANG, M. *et al.* Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: Ubiquitous endophytes, plant and human pathogens. **Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, [S. l.], 2017.

WHANG, S. W.; KIM, S. Balanced sustainable implementation in the construction industry: The perspective of Korean contractors. **Energy and Buildings**, v. 96, p. 76–85, 2015.

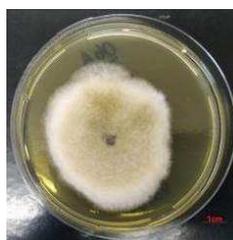
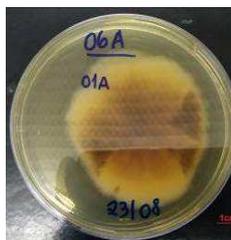
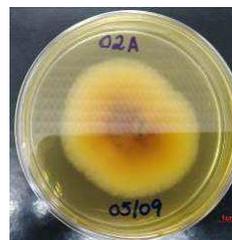
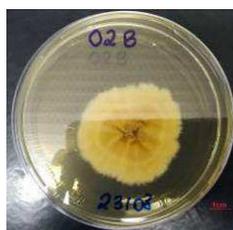
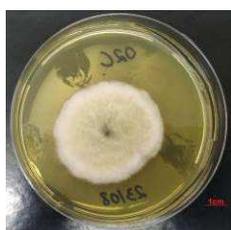
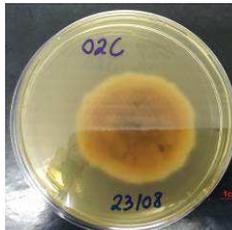
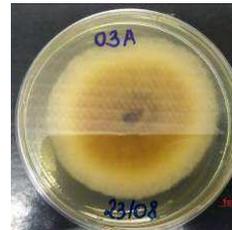
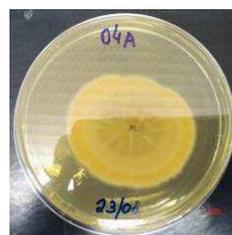
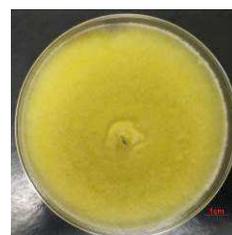
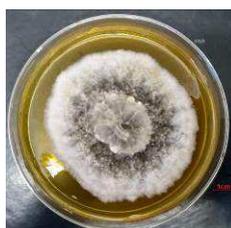
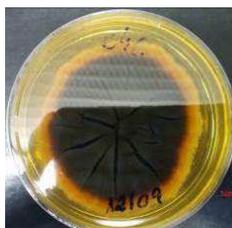
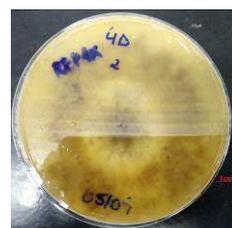
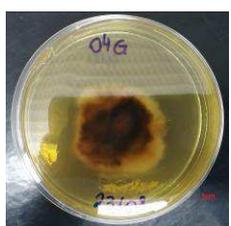
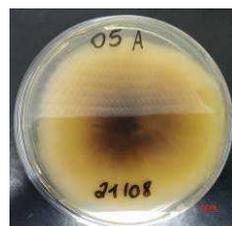
WIRTH, A. *et al.* Análisis sobre el crecimiento de hongos en diferentes revestimientos

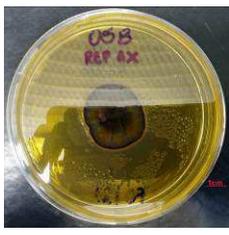
aplicados a sistemas ligeros. **Revista ingeniería de construcción**, v. 34, n. 1, p. 5–14, 2019.

WOODWARD, J. H. Bactericides, Fungicides, and Algicides. In: KOLESKE, V. J. **Paint and Coating Testing Manual**. 15 ed. Bridgeport: ASTM, 2012. cap. 30, p. 313-319.

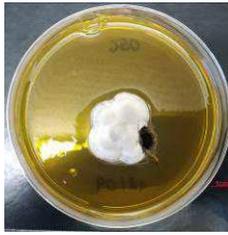
YAMANAKA, H. T. *et al.* **Guia Técnico Ambiental Tintas e Vernizes—Série P+ L**. São Paulo: FIESP, 2008.

APÊNDICE A – COLÔNIAS ISOLADAS

07D07SST01a -
Frente07D07SST01a -
Fundo07D07SST02a -
Frente07D07SST02a -
Fundo07D07SST02b -
Frente07D07SST02b -
Fundo07D07SST02c -
Frente07D07SST02c -
Fundo07D07SST03a -
Frente07D07SST03a -
Fundo07D07SST03b -
Frente07D07SST03b -
Fundo07D07STA04a -
Frente07D07STA04a -
Fundo07D07STA04b -
Frente07D07STA04b -
Fundo07D07STA04c -
Frente07D07STA04c -
Fundo07D07STA04d -
Frente07D07STA04d -
Fundo07D07STA04g -
Frente07D07STA04g -
Fundo07D07STA05a -
Frente07D07STA05a -
Fundo07D07STA05b -
Frente



07D07STA05b -
Fundo



07D07STA05c -
Frente



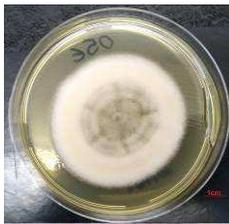
07D07STA05c -
Fundo



07D07STA05d -
Frente



07D07STA05d -
Fundo



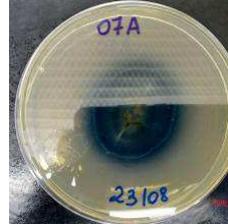
07D07STA05e -
Frente



07D07STA05e -
Fundo



07D07STB07a -
Frente



07D07STB07a -
Fundo



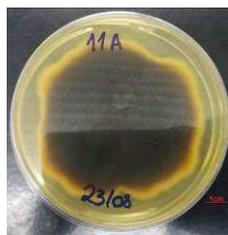
07D07NST10b -
Frente



07D07NST10b -
Fundo



07D07NST11a -
Frente



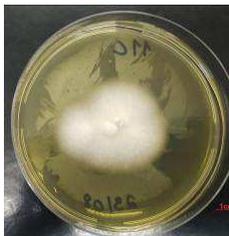
07D07NST11a -
Fundo



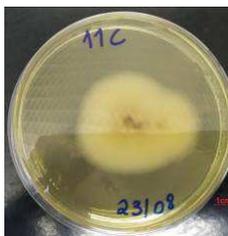
07D07NST11b -
Frente



07D07NST11b -
Fundo



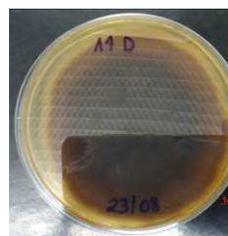
07D07NST11c -
Frente



07D07NST11c -
Fundo



07D07NST11d -
Frente



07D07NST11d -
Fundo



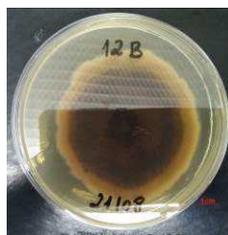
07D07NST11e -
Frente



07D07NST11e -
Fundo



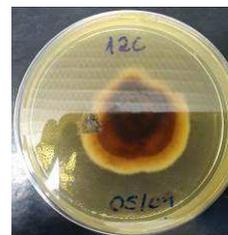
07D07NST12b -
Frente



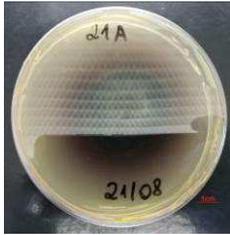
07D07NST12b -
Fundo



07D07NST12c -
Frente



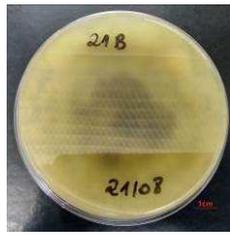
07D07NST12c -
Fundo



07B13SST21a -
Fundo



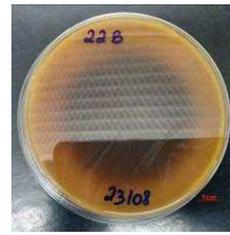
07B13SST21b -
Frente



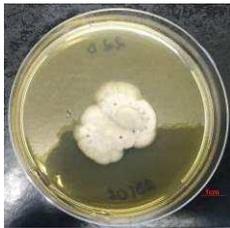
07B13SST21b -
Fundo



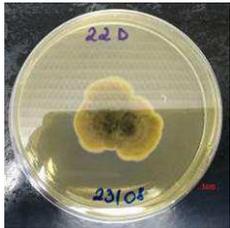
07B13STA22b -
Frente



07B13STA22b -
Fundo



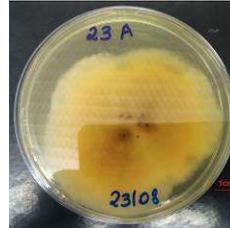
07B13STA22d -
Frente



07B13STA22d -
Fundo



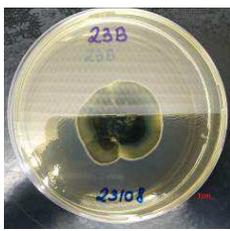
07B13STA23a -
Frente



07B13STA23a -
Fundo



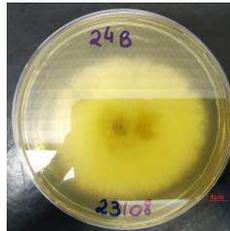
07B13STA23b -
Frente



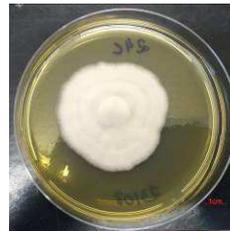
07B13STA23b -
Fundo



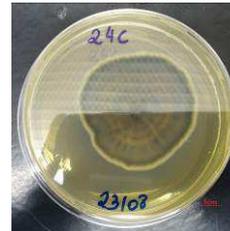
07B13STA24b -
Frente



07B13STA24b -
Fundo



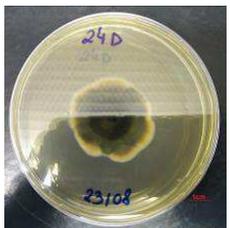
07B13STA24c -
Frente



07B13STA24c -
Fundo



07B13STA24d -
Frente



07B13STA24d -
Fundo



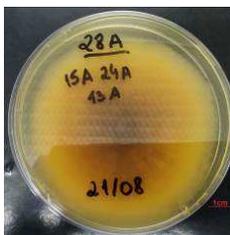
07B13STB26b -
Frente



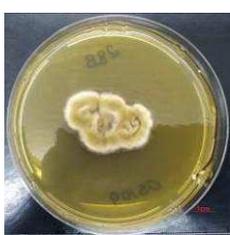
07B13STB26b -
Fundo



07B13NST28a -
Frente



07B13NST28a -
Fundo



07B13NST28b -
Frente



07B13NST28b -
Fundo



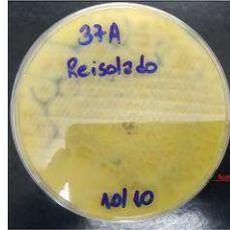
07B13NTA32a -
Frente



07B13NTA32a -
Fundo



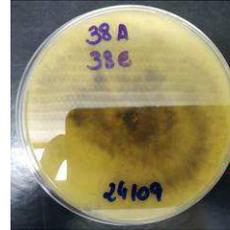
08D07SST37a -
Frente



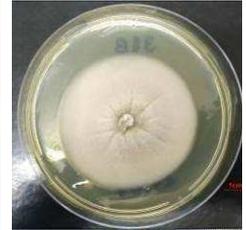
08D07SST37a -
Fundo



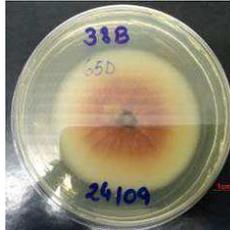
08D07SST38a -
Frente



08D07SST38a -
Fundo



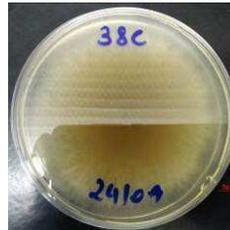
08D07SST38b -
Frente



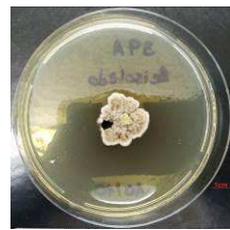
08D07SST38b -
Fundo



08D07SST38c -
Frente



08D07SST38c -
Fundo



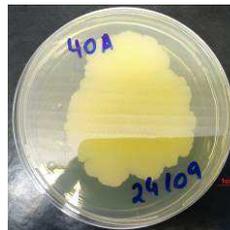
08D07SST39a -
Frente



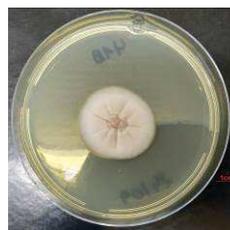
08D07SST39a -
Fundo



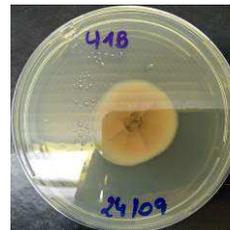
08D07STA40a -
Frente



08D07STA40a -
Fundo



08D07STA41b -
Frente



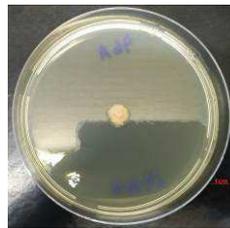
08D07STA41b -
Fundo



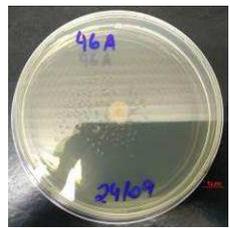
08D07STB45a -
Frente



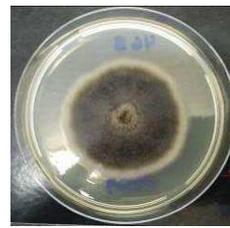
08D07STB45a -
Fundo



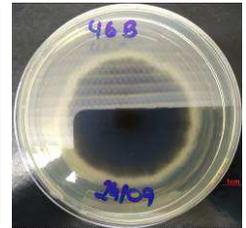
08D07NST46a -
Frente



08D07NST46a -
Fundo



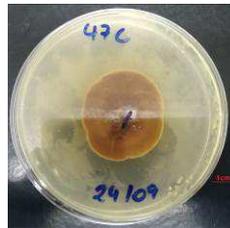
08D07NST46b -
Frente



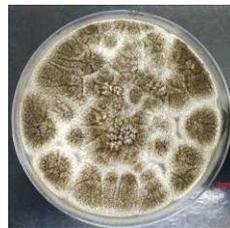
08D07NST46b -
Fundo



08D07NST47c -
Frente



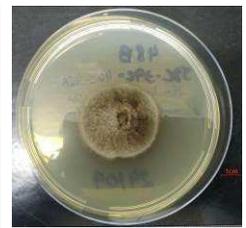
08D07NST47c -
Fundo



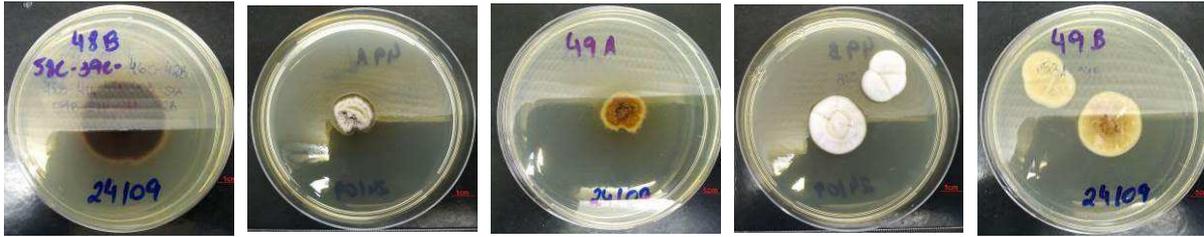
08D07NST48a -
Frente



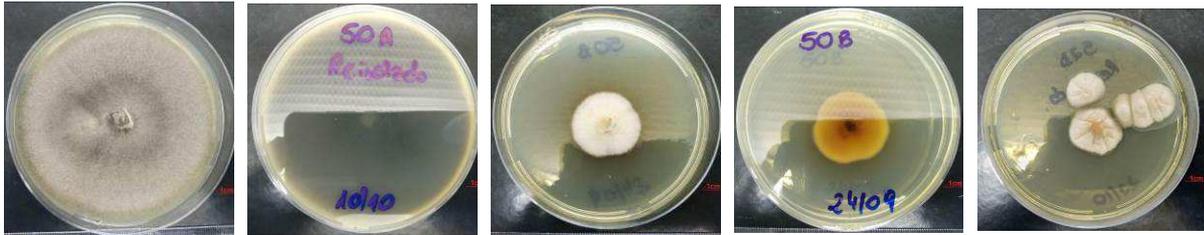
08D07NST48a -
Fundo



08D07NST48b - -
Frente



08D07NST48b - Fundo 08D07NTA49a - Frente 08D07NTA49a - Fundo 08D07NTA49b - Frente 08D07NTA49b - Fundo



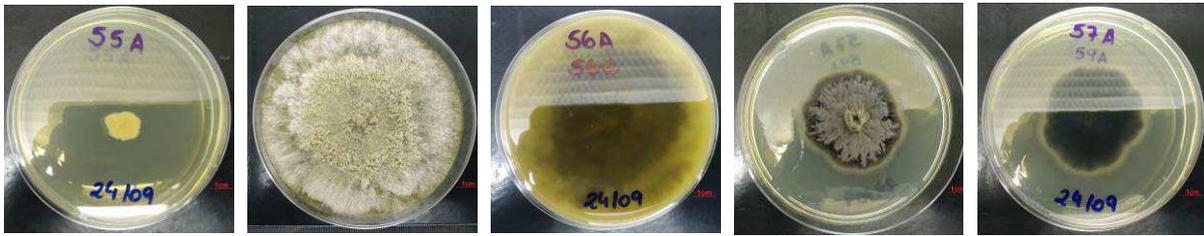
08D07NTA50a - Frente 08D07NTA50a - Fundo 08D07NTA50b - Frente 08D07NTA50b - Fundo 08D07NTB52d - Frente



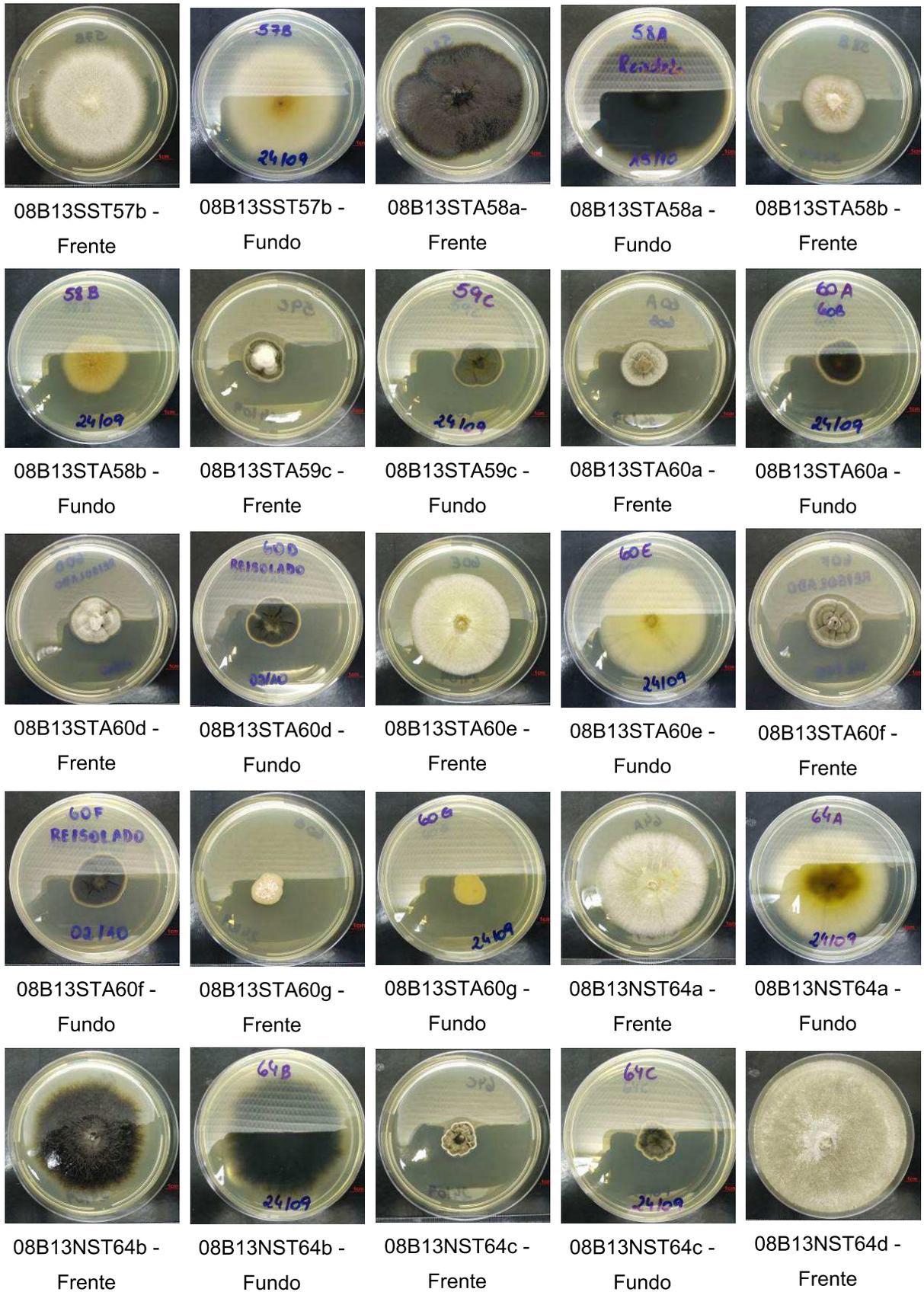
08D07NTB52d - Fundo 08D07NTB52e - Frente 08D07NTB52e - Fundo 08D07NTB53b - Frente 08D07NTB53b - Fundo

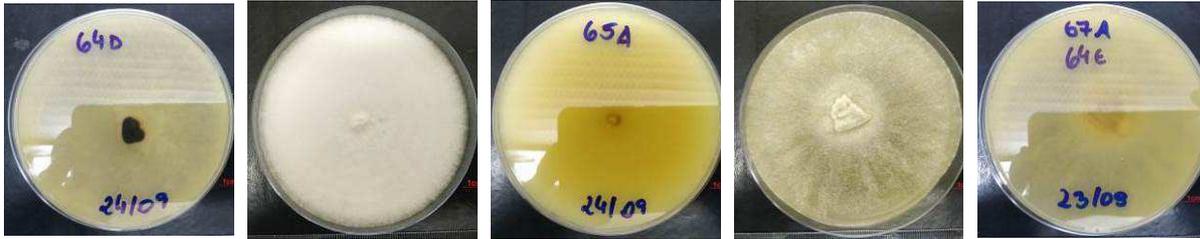


08D07NTB54a - Frente 08D07NTB54a - Fundo 08D07NTB54c - Frente 08D07NTB54c - Fundo 08B13SST55a - Frente



08B13SST55a - Fundo 08B13SST56a - Frente 08B13SST56a - Fundo 08B13SST57a - Frente 08B13SST57a - Fundo

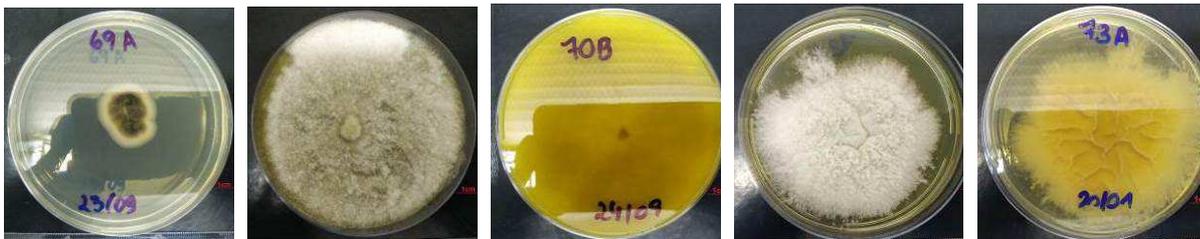




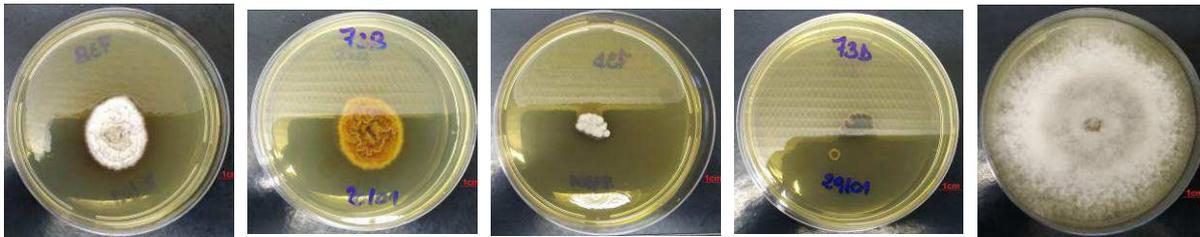
08B13NST64d - Fundo
 08B13NST65a - Frente
 08B13NST65a - Fundo
 08B13NST67a - Frente
 08B13NST67a - Fundo



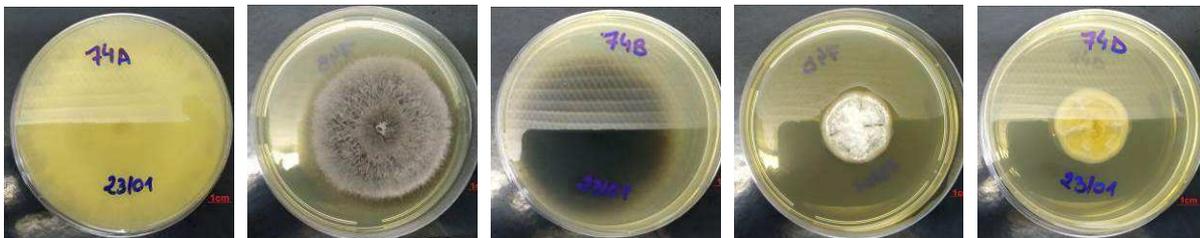
08B13NTA68a - Frente
 08B13NTA68a - Fundo
 08B13NTA68b - Frente
 08B13NTA68b - Fundo
 08B13NTA69a - Frente



08B13NTA69a - Fundo
 08B13NTB70b - Frente
 08B13NTB70b - Fundo
 09D07SST73a - Frente
 09D07SST73a - Fundo



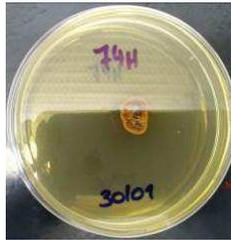
09D07SST73b - Frente
 09D07SST73b - Fundo
 09D07SST73d - Frente
 09D07SST73d - Fundo
 09D07SST74a - Frente



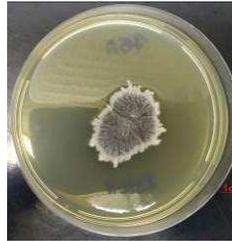
09D07SST74a - Fundo
 09D07SST74b - Frente
 09D07SST74b - Fundo
 09D07SST74d - Frente
 09D07SST74d - Fundo



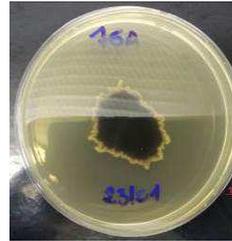
09D07SST74h -
Frente



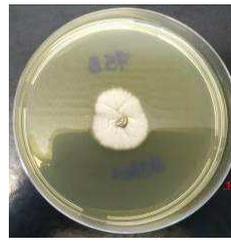
09D07SST74h -
Fundo



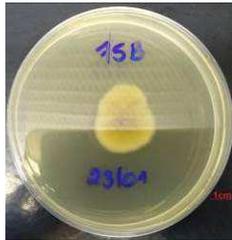
09D07SST75a -
Frente



09D07SST75a -
Fundo



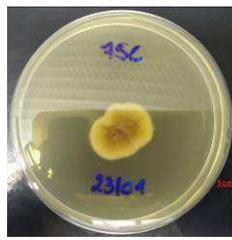
09D07SST75b -
Frente



09D07SST75b -
Fundo



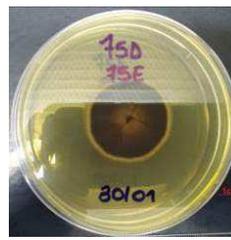
09D07SST75c -
Frente



09D07SST75c -
Fundo



09D07SST75d -
Frente



09D07SST75d -
Fundo



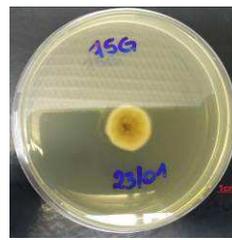
09D07SST75f -
Frente



09D07SST75f -
Fundo



09D07SST75g -
Frente



09D07SST75g -
Fundo



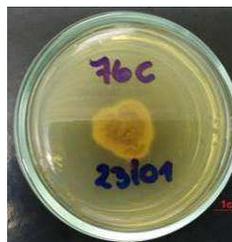
09D07STA76a -
Frente



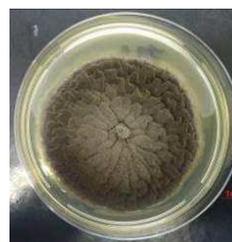
09D07STA76a -
Fundo



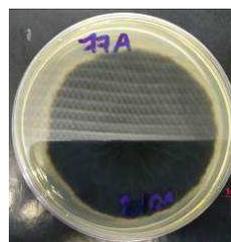
09D07STA76b -
Frente



09D07STA76b -
Fundo



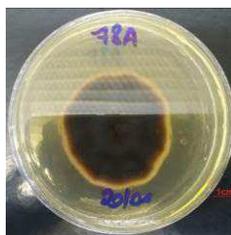
09D07STA77a -
Frente



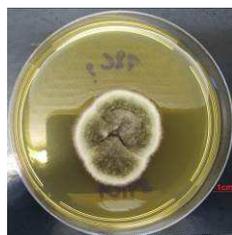
09D07STA77a -
Fundo



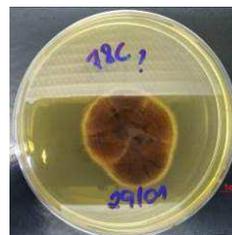
09D07STA78a -
Frente



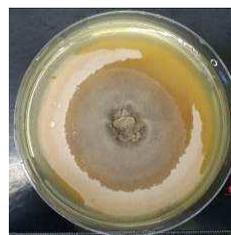
09D07STA78a -
Fundo



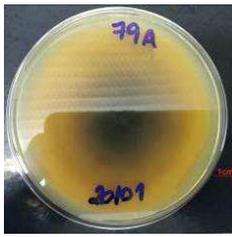
09D07STA78c -
Frente



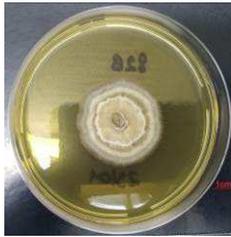
09D07STA78c -
Fundo



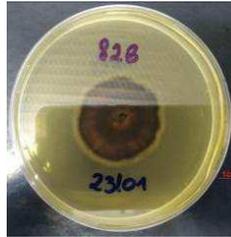
09D07STB79a -
Frente



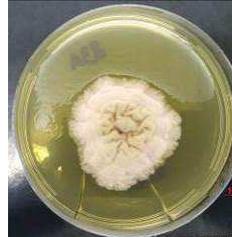
09D07STB79a -
Fundo



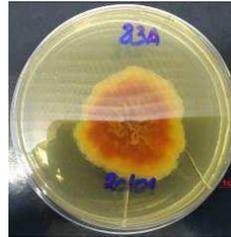
09D07NST82b -
Frente



09D07NST82b -
Fundo



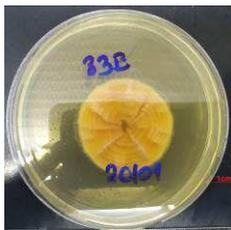
09D07NST83a -
Frente



09D07NST83a -
Fundo



09D07NST83b -
Frente



09D07NST83b -
Fundo



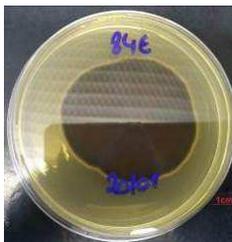
09D07NST84a -
Frente



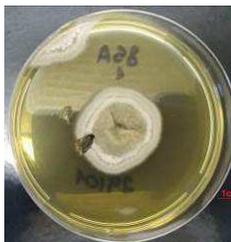
09D07NST84a -
Fundo



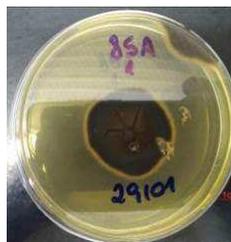
09D07NST84e -
Frente



09D07NST84e -
Fundo



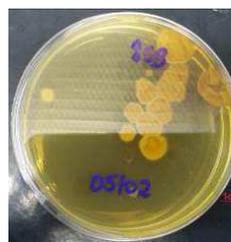
09D07NTA85a -
Frente



09D07NTA85a -
Fundo



09D07NTA85b -
Frente



09D07NTA85b -
Fundo



09D07NTA86a -
Frente



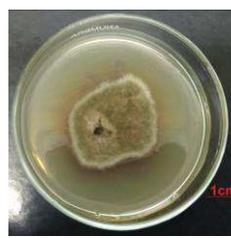
09D07NTA86a -
Fundo



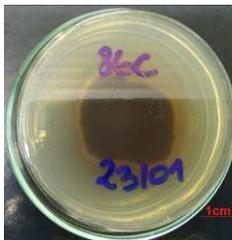
09D07NTA86b -
Frente



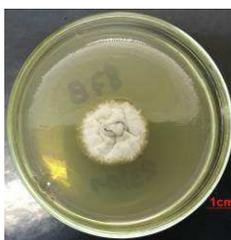
09D07NTA86b -
Fundo



09D07NTA86c -
Frente



09D07NTA86c -
Fundo



09D07NTA87b -
Frente



09D07NTA87b -
Fundo



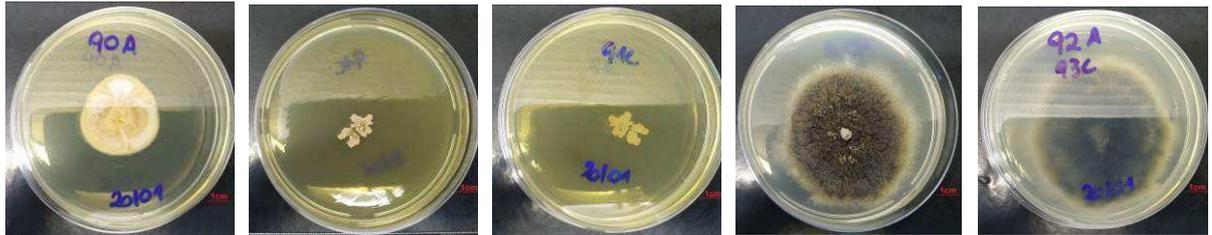
09D07NTA87c -
Frente



09D07NTA87c -
Fundo



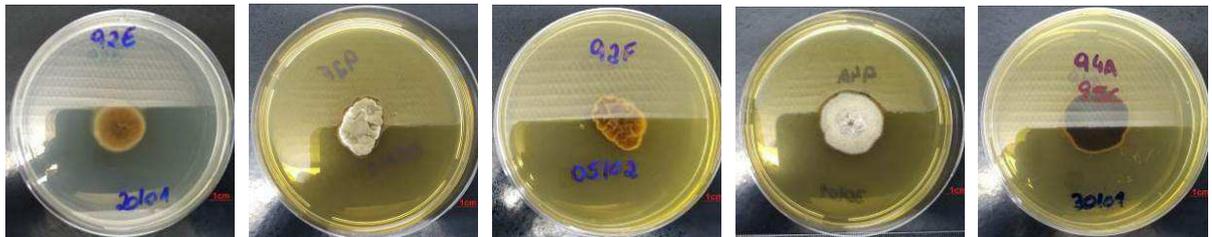
09D07NTA87d - Frente
 09D07NTA87d - Fundo
 09D07NTB88b - Frente
 09D07NTB88b - Fundo
 09D07NTB90a - Frente



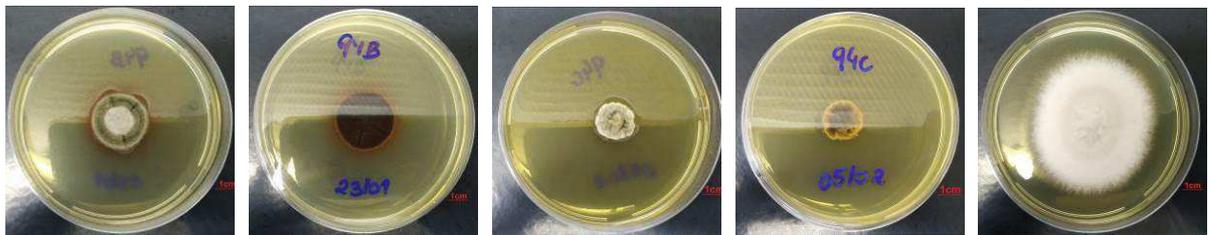
09D07NTB90a - Fundo
 09B13SST91c - Frente
 09B13SST91c - Fundo
 09B13SST92a - Frente
 09B13SST92a - Fundo



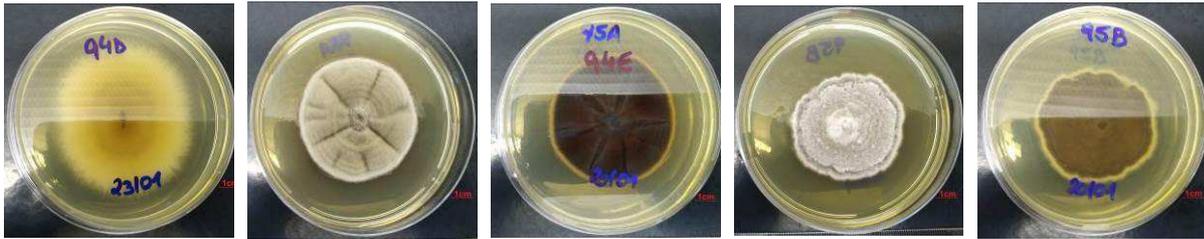
09B13SST92b - Frente
 09B13SST92b - Fundo
 09B13SST92d - Frente
 09B13SST92d - Fundo
 09B13SST92e - Frente



09B13SST92e - Fundo
 09B13SST92f - Frente
 09B13SST92f - Fundo
 09B13STA94a - Frente
 09B13STA94a - Fundo



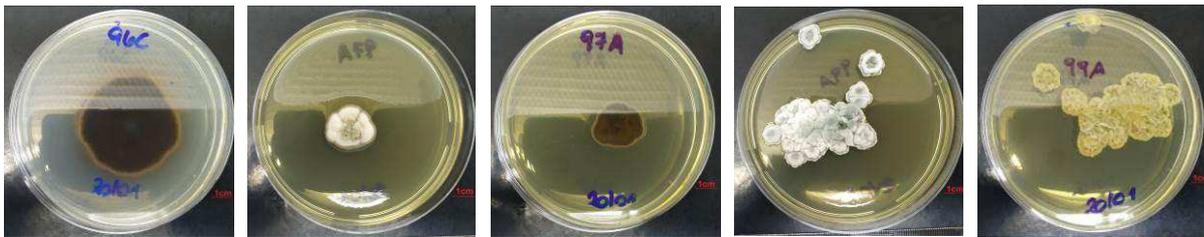
09B13STA94b - Frente
 09B13STA94b - Fundo
 09B13STA94c - Frente
 09B13STA94c - Fundo
 09B13STA94d - Frente



09B13STA94d - Fundo 09B13STA94e - Frente 09B13STA94e - Fundo 09B13STA95b - Frente 09B13STA95b - Fundo



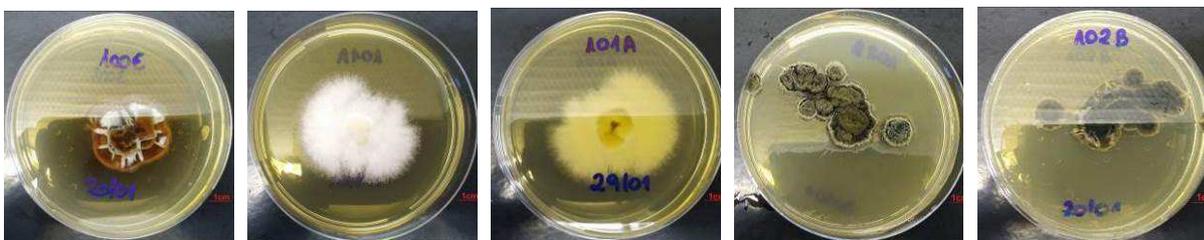
09B13STA95d - Frente 09B13STA95d - Fundo 09B13STA96a - Frente 09B13STA96a - Fundo 09B13STA96c - Frente



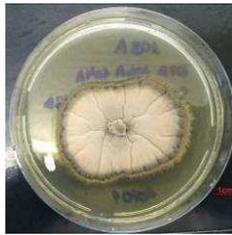
09B13STA96c - Fundo 09B13STB97a - Frente 09B13STB97a - Fundo 09B13STB99a - Frente 09B13STB99a - Fundo



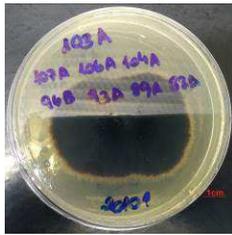
09B13STB99b - Frente 09B13STB99b - Fundo 09B13NST100a - Frente 09B13NST100a - Fundo 09B13NST100e - Frente



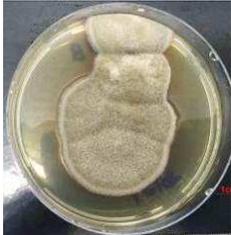
09B13NST100e - Fundo 09B13NST101a - Frente 09B13NST101a - Fundo 09B13NST102b - Frente 09B13NST102b - Fundo



09B13NTA103a -
Frente



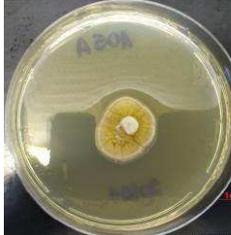
09B13NTA103a -
Fundo



09B13NTA104b -
Frente



09B13NTA104b -
Fundo



09B13NTA105a -
Frente



09B13NTA105a -
Fundo