



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

**QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DA BIOMASSA DE MUCORALES
COPRÓFILOS DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO**

CARLOS ALBERTO FRAGOSO DE SOUZA

Recife
2015

CARLOS ALBERTO FRAGOSO DE SOUZA

**QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DA BIOMASSA DE MUCORALES
COPRÓFILOS DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, do Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Taxonomia e Ecologia de Fungos.

Orientador: Dr. ANDRÉ LUIZ C. M. DE A. SANTIAGO (UFPE)

Co-orientador: Dra. NORMA BUARQUE DE GUSMÃO (UFPE)

Recife

2015

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Souza, Carlos Alberto Fragoso de

Quantificação de ácidos graxos da biomassa de Mucorales Cropófilos do semiárido de Pernambuco / Carlos Alberto Fragoso de Souza. – Recife: O Autor, 2014.

83 f.: il.

Orientadores: André Luiz C. M. de A. Santiago, Norma Buarque de Gusmão

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, 2014.

Inclui referências

1. Fungos 2. Caatinga 3. Ácidos graxos I. Santiago, André Luiz C. M. de A. (orient.) II. Gusmão, Norma Buarque de (coorient.) III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017-165

**QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DA BIOMASSA DE MUCORALES
COPRÓFILOS DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO**

CARLOS ALBERTO FRAGOSO DE SOUZA

APROVADO em 25/02/2015

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, do Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

COMISSÃO EXAMINADORA:

MEMBROS TITULARES

Dr. André Luiz C. M de A. Santiago (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco – CB/UFPE

Dra. Cristina Maria de Souza Motta
Universidade Federal de Pernambuco – CB/UFPE

Dr. José Ivanildo de Souza
Instituto de Botânica - SP

Dedico

*A minha mãe, Olinalda Fragoso Alves, pela confiança,
apoio constante, força, carinho e amor incondicional.*

*A minha amiga, Mônica Madureira e aos seus pais,
Lourdinha Madureira e Zé de Mariano (In memoriam).*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. André Luiz C. M de A. Santiago, pela amizade, dedicação, conselhos e pelo grande incentivo.

À Prof. Dra. Norma Buarque de Gusmão, pela co-orientação, dedicação e empenho.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro o qual possibilitou a realização deste trabalho.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) pelo apoio durante as coletas.

À Dra. Luciana Gurgel pelo suporte e apoio durante toda a pesquisa.

À coordenação e aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos pelo apoio e ensinamentos.

A Deus, pela oportunidade de concluir mais uma etapa da minha vida, por sempre ter me guiado e me iluminado nessa jornada.

À minha mãe, Olinalda Fragoso Alves, por ser minha amiga, conselheira, e um farol a me guiar; pelo amor, educação e carinho. Não há palavras que possam expressar meu sentimento de agradecimento a essa “guerreira”.

Aos meus irmãos, José Luis Guilherme Fragoso Cavalcante e Jéssica Maria Fragoso Cavalcante, pelo amor, carinho e pelos momentos de felicidade compartilhados. Motivos da minha luta diária.

Aos meus avós, Olivaldo Miranda Alves e Ivonete Fragoso Pereira, por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida, pela educação e carinho ofertados.

A todos os meus familiares pela força e incentivo.

A minha namorada Cássia Príncipe pelo apoio, companheirismo e, especialmente, pela amizade que levarei por toda minha vida.

A família Príncipe, que me acolheu, incentivou e apoiou.

A todos os meus amigos e, em especial, a André Bitú, Jessica Lira, Kércia Jamilly e Vanessa Vasconcelos, pelo incentivo e orações que, mesmo à distância, foram essenciais na minha caminhada.

Aos meus amigos irmãos, Cláudio César, Danilo Siqueira, Jeverson Madureira, José Javas e Iranildo Walter, pela presença em todos os momentos da minha vida, entre sorrisos e lágrimas, por compartilharem muita felicidade.

Aos amigos Ana Paula, Bianca Diniz, Ederson Danilo, Mayara Melo e Rodrigo Soares, pelo incentivo e pelos momentos de descontração e alegria ao longo desses anos de convívio em Serra Talhada. Amizade que virou família.

Ao amigo Rafael Vilela, pela amizade, conselhos e ajuda nas análises moleculares espécimes.

Ao amigo Diogo Xavier, por toda a ajuda na identificação dos táxons, pelo apoio durante toda a pesquisa e, em especial pela amizade.

Aos amigos Cícero Pinheiro e Amanda, pela convivência diária e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao amigo Valdemar (Dema), pela convivência em todas as viagens de coleta, conselhos, compreensão e apoio.

Ao amigo Roger Melo, pela edição das fotografias e ajuda nas análises estatísticas.

Ao amigo Rodrigo Silva, pela ajuda nas análises estatísticas.

A amiga Emanuella, pelo apoio no processo de extração e identificação dos ácidos graxos.

Aos amigos de laboratório Mayra, Rejane, Mayelli, Pamella, Flávia, Têca e, em especial à Thaís, pelo apoio e pelos momentos de descontração do dia a dia.

Aos amigos e colegas de turma do mestrado.

Aos companheiros e amigos de departamento.

Ao Prof. Dr. Gladstone Silva, pelas análises moleculares dos espécimes, pela amizade e momentos de descontração e aconselhamento.

RESUMO

Mucorales são fungos morfológicamente simples pertencentes ao subfilo Mucoromycotina, caracterizados pela produção de esporos de origem sexuada, denominados zigósporos. Em maioria, esses microrganismos são sapróbios e comumente isolados de solo, excrementos, grãos estocados, plantas, de outros fungos, de vertebrados e invertebrados. Embora os Mucorales tenham sido estudados em alguns países, como Brasil, Estados Unidos, China, Índia e Inglaterra, poucos são os relatos sobre a comunidade desses fungos em regiões semiáridas. Espécies dessa ordem têm sido amplamente estudadas, não apenas pelas relações ecológicas que estabelecem com outros seres nos ecossistemas, mas pelo elevado potencial biotecnológico que apresentam, tendo algumas sido citadas como promissoras para a produção de biosséis. Desta forma, essa dissertação teve como objetivos inventariar e comparar as comunidades de Mucorales em excrementos de diferentes espécies e raças de animais herbívoros do semiárido de Pernambuco, pela frequência de ocorrência e riqueza de espécies, bem como conhecer e quantificar os ácidos graxos da biomassa dos táxons. Foram realizadas oito coletas de excrementos de bovinos (*Bos taurus* L.), caprinos (*Capra hircus* L.) e ovinos (*Ovis aries* L.) nas estações do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), localizadas nas cidades de Arcoverde, Serra Talhada e Sertânia. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos limpos, transportadas ao laboratório e incubadas em câmaras úmidas, em triplicata, por 10 dias. Para a extração de ácidos graxos, inóculos utilizados para o crescimento em meio líquido foram obtidos a partir de culturas crescidas em placas de Petri contendo BDA durante cinco dias a 28°C. Após este período, blocos de gelose foram transferidos para os Erlenmeyers contendo 100 mL de MEA e incubados a 28°C por 7 dias, sob rotação. Após o crescimento, 10 mg da biomassa de cada espécie foram pesadas para a extração e metilação dos ácidos graxos e, em seguida, analisadas por cromatografia gasosa. Foram isolados 24 táxons de Mucorales distribuídos entre *Absidia*, *Circinella*, *Cunninghamella*, *Lichthemia*, *Mucor*, *Pilobolus*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum*. Os excrementos de ovinos apresentam maior riqueza de espécies de Mucorales, seguidos pelos de bovinos, sendo *M. circinelloides* f. *griseocyanus* o mais frequente, seguido por *M. ramosissimus*. A composição das espécies de Mucorales foi mais similar entre as raças Guzerá e Sindi (bovinos), seguidas por Girolando (bovino) e Morada Nova (ovino). Treze ácidos graxos diferentes foram encontrados na biomassa dos Mucorales, estando os ácidos palmítico e o oléico presentes em todas as espécies analisadas. Maiores concentrações de ácidos graxos foram verificadas para o ácido oléico em *M. circinelloides* f. *griseocyanus* e em *C. echinulata* var. *echinulata*, tendo *Lichthemia brasiliensis* apresentado a mais variada composição desses ácidos.

Palavras-chave: Caatinga. Excremento. Herbívoros. Lipídeos. Mucoromycotina.

ABSTRACT

Mucorales are morphologically simple Mucoromycotina characterized by the production of zygospores. These microorganisms are commonly isolated as saprobes from soil, dung, stored grain, plants, other fungi, vertebrates and invertebrates. Although these fungi have been studied in several countries, such as Brazil, USA, China, India and England, there are relatively few reports of these fungi in semiarid areas. Mucorales have been widely studied for the ecological relationships they establish with other beings in ecosystems. Some of these microorganisms have been cited as promising for industrial scale biodiesel production. Therefore, the aim of the present study was to assess and compare the Mucorales communities in the dung of different species and breeds of herbivores in the semiarid region of Pernambuco, based on the frequency of occurrence and species richness, as well as to quantify fatty acids from the biomass of the taxa. Eight samplings of cattle (*Bos taurus* L.), goat (*Capra hircus* L.) and sheep (*Ovis aries* L.) dung were performed at IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco) stations in the cities of Arcoverde, Serra Talhada and Sertânia. The samples in triplicate were placed in clean plastic bags for transportation to the laboratory and then incubated in moist chambers for 10 days. For the extraction of fatty acids the inoculum used for the growth in liquid medium was obtained from cultures grown in Petri dishes containing PDA at 28°C for five days. After this time blocks of agar were transferred to Erlenmeyer flasks containing 100 mL of MEA and incubated at 28 °C for 7 days under rotation. After cultivation, 10 mg of biomass was weighed for the extraction and methylation of fatty acids, before being analyzed using gas chromatography. Altogether, 24 taxa of Mucorales distributed among *Absidia*, *Circinella*, *Cunninghamella*, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Pilobolus*, *Rhizopus* and *Syncephalastrum* were identified. The highest species richness was found in sheep excrement. *Mucor circinelloides* f. *griseocyanus* was the most common taxon, followed by *M. ramosissimus*. The similarity of the composition of Mucorales species was greatest between the Guzerá and Sindi breeds (cattle), followed by Girolando (cattle) and Morada Nova (sheep). Thirteen different fatty acids were found in the biomass of the Mucorales, with palmitic and oleic acid found in all species. The greatest fatty acid concentrations were found for oleic acid in *M. circinelloides* f. *griseocyanus* and *C. echinulata* var. *echinulata*. *Lichtheimia brasiliensis* exhibited the most varied composition of these acids.

Keywords: Caatinga. Dung. Herbivore. Lipids. Mucoromycotina

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1: Pluviosidade média mensal (mm) nos Municípios de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE durante o período de coleta dos excrementos dos animais herbívoros.....	35
Figura 2: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. <i>Circinella muscae</i> : A – Esporangióforos circinados com esporângios; B – Esporangióforos circinados com espinho estéril. <i>Cunninghamella echinulata</i> : C – Esporóforos com esporangiólos aderidos à columela; D – Esporóforos com vesícula e esporangiólos liberados (seta).....	43
Figura 3: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. <i>Rhizopus stolonifer</i> : A – Esporangióforo com o esporângio; B – Esporangióforo com a columela evidente; C – Rizóides; D – Esporangiósporos.....	44
Figura 4: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. <i>Lichtheimia brasiliensis</i> : A – Esporangióforo com o esporângio; B – Esporangióforo com columela e colar evidente (seta); C – Esporangióforo e rizóide (seta); D – Esporangiósporos.....	45
Figura 5: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. <i>Mucor indicus</i> : A – Esporangióforo com o esporângio; B – Esporangióforo com esporângio rompido; C – Columela evidente; D – Esporangiósporos; E – Clamidósporos.....	46
Figura 6: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. <i>Mucor irregularis</i> : A – Esporangióforo com o esporângio; B – Columela; C – Clamidósporos; D – Esporangiósporos; E – Rizóides.....	47
Figura 7: Porcentagem de ocorrência dos gêneros de Mucorales nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	49
Figura 8: Dendograma de Similaridade de Bray-Curtis da composição de espécies de Mucorales entre os excrementos das oito raças de herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	54

Figura 9: Árvore filogenética de *Mucor* gerada a partir de sequências da região LSU2 do rDNA. *Mortierella parvispora* foi utilizada como grupo externo. Os valores de suporte são de análise Bayesiana (números próximos aos ramos). As sequências são seguidas pelos respectivos números de acesso no GenBank..... 55

Figura 10: Dendograma de Concordância - Kappa e Análise de Agrupamento da composição dos ácidos graxos, segundo o Coeficiente de Correlação Phi, Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis e a Técnica de Ward dos Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada..... 57

Figura 11: Dendograma de Concordância – Kappa e a Análise de Agrupamento da composição do ácido oléico, segundo o Coeficiente de Correlação Phi, Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis e a Técnica de Ward dos Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada..... 58

Figura 12: Dendograma de Concordância – Kappa e a Análise de Agrupamento da composição do ácido palmítico, segundo o Coeficiente de Correlação Phi, Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis e a Técnica de Ward dos Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada..... 59

LISTA DE TABELAS

Pág.

Tabela 1: Alimentação fornecida aos animais herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	35
Tabela 2: Riqueza de espécies de Mucorales nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	43
Tabela 3: Frequência de ocorrência de Mucorales nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	45
Tabela 4: Frequência de ocorrência de Mucorales nos excrementos das diferentes raças de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	46
Tabela 5: Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE entre setembro/2013 e abril/2014.....	47
Tabela 6: Análise de similaridade de Bray Curtis da composição de espécies de Mucorales entre os excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	48
Tabela 7: Análise de similaridade de Bray Curtis da composição de espécies de Mucorales entre os excrementos das oito raças de herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	48
Tabela 8: Perfil de ácidos graxos (%) da biomassa de Mucorales coprófilos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.....	50

SUMÁRIO

	Pág
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1. MUCOROMYCOTINA Benny.....	15
2.2. MUCORALES Schröter.....	16
2.2.1 <i>Absidia</i> Tiegh. e <i>Lichtheimia</i> Vuill.....	18
2.2.2 <i>Circinella</i> Tiegh. & G. Le Monn.....	19
2.2.3 <i>Cunninghamella</i> Matr.....	20
2.2.4 <i>Mucor</i> Fresen.....	21
2.2.5 <i>Pilobolus</i> Tode.....	22
2.2.6 <i>Rhizopus</i> Ehrenb.....	23
2.2.7 <i>Syncephalastrum</i> J. Schröt.....	24
2.3 MUCORALES DE SOLO E OUTROS SUBSTRATOS DO BRASIL.....	24
2.3.1 Mucorales coprófilos do Brasil	26
2.4 O SEMIÁRIDO BRASILEIRO.....	28
2.4.1 Mucorales do semiárido brasileiro	29
2.4.1.1 Mucorales coprófilos do semiárido brasileiro.....	30
2.5 ÁCIDOS GRAXOS.....	31
2.5.1 Ácidos graxos microbianos na produção de biodiesel	31
2.6 PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POR MUCORALES.....	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1. ÁREA DE COLETA.....	33
3.2. COLETA DAS AMOSTRAS DE EXCREMENTOS.....	34
3.3. ISOLAMENTO DOS MUCOROMYCOTINA.....	34
3.4. FREQUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DOS MUCORALES.....	34
3.5. ALIMENTAÇÃO DOS HERBÍVOROS E DADOS PLUVIOMÉTRICOS.....	35
3.6. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DA BIOMASSA DOS MUCORALES.....	36
3.6.1. Condições de cultivo e de crescimento	36
3.6.2. Extração e quantificação dos ácidos graxos	36
3.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	37
3.8. EXTRAÇÃO DO DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO.....	39

4. RESULTADOS.....	40
5. DISCUSSÃO.....	63
6. CONCLUSÕES.....	70
REFERÊNCIAS.....	72

1. INTRODUÇÃO

O subfilo Mucoromycotina Benny, um dentre os quatro subfilos propostos para abrigar algumas espécies do tradicional Zygomycota C. Moreau (filo não aceito na nova classificação por ser polifilético) (Hibbett *et al.*, 2007; Hoffmann *et al.*, 2011; Humber, 2012), abrange fungos em maioria sapróbios, caracterizados pela produção de esporos de origem sexuada, com parede espessa, denominados zigósporos. Esses fungos são comumente isolados de solo, de grãos estocados, de plantas, de vertebrados, invertebrados e de excrementos de animais, principalmente de herbívoros e roedores (Alexopoulos *et al.*, 1996). A ordem Mucorales Fr., a maior em número de espécies dentro de Mucoromycotina, comporta fungos formados por hifas cenocíticas, contendo septos apenas na base das estruturas de reprodução ou apresentando septos espaçados de forma irregular em colônias mais antigas, e que produzem estruturas assexuadas, como esporângios, esporangiósporos, esporangiólos, merosporângios e merósporos (Santiago *et al.*, 2013a).

Embora a mega-diversidade de fungos tropicais seja reconhecida, existe a necessidade de se ampliar o conhecimento sobre as espécies e as relações destas com os substratos e organismos sobre os quais vivem e se alimentam (Hawksworth, 1991). Em relação aos Mucoromycotina, no Brasil, 74 táxons pertencentes a 20 gêneros foram reportados em Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco e São Paulo (Santiago, 2014). Desses, 42 táxons foram isolados de excrementos de herbívoros, sendo esse um substrato altamente favorável para o isolamento desses fungos. Em se tratando do semiárido nordestino, os relatos da ocorrência desses microrganismos são extremamente escassos, tendo sido reportados apenas 18 táxons de solo (Santiago, 2014) e onze espécies de excrementos de herbívoros (Lima, 2014), o que obviamente não retrata a real riqueza dos Mucorales no domínio Caatinga. Portanto, é necessária a realização de estudos taxonômicos e ecológicos em regiões semiáridas, pois inventários em áreas e substratos ainda não avaliados proporcionam o registro de táxons não relatados anteriormente. Avaliações quantitativas e qualitativas das comunidades dos Mucoromycotina, a partir dos dados populacionais, são importantes para o conhecimento do comportamento das comunidades dos fungos coprófilos, fornecendo importantes informações ecológicas.

O interesse de muitos pesquisadores sobre os Mucorales têm aumentado nos últimos anos, não apenas pelas relações ecológicas que esses fungos estabelecem com outros seres nos ecossistemas, mas também pela importância econômica que apresentam. Algumas espécies são parasitas e patógenas de plantas, fungos e animais (Partida-Martinez & Hertweck, 2005). Em contraste, alguns táxons de *Mucor* Fresen., *Cunninghamella* Matr. e *Rhizopus* Ehrenb. são capazes de sintetizar produtos industriais, como amilase, lipase, inulinase, pectinase, renina, protease e

outros metabólitos (Alves *et al.*, 2005; Santiago & Souza-Motta, 2006). Outras são empregadas na produção dos ácidos cítrico, linolênico, aracdônico, oxálico e láctico (Kavadia *et al.*, 2001; Magnuson & Lasure, 2004). Na indústria de alimentos, espécies de *Rhizopus* são consideradas importantes fermentadoras utilizadas na produção de alimentos asiáticos, como o tofu e o sofú, e alguns táxons de *Thermomucor* foram citados como promissores para a produção de proteases coagulantes do leite (Nout & Kiers, 2005; Merheb-Dini *et al.*, 2010; Xuefeng *et al.*, 2011).

A elevação da poluição ambiental em todo o planeta, decorrente da queima de combustíveis fósseis, a redução projetada no abastecimento do petróleo e o consequente aumento dos preços desses combustíveis têm estimulado pesquisas relacionadas à descoberta de fontes alternativas e renováveis de combustível. Diante disso, o biocombustível tem se destacado como uma fonte de energia renovável, produzida a partir de biomassa vegetal ou animal por transesterificação e esterificação de triglicerídeos, em que ésteres de ácidos graxos são produzidos (Meng *et al.*, 2009). A composição dos ácidos graxos da membrana plasmática dos microrganismos é semelhante à dos óleos vegetais de palma, de colza e da soja transgênica, usados para produzir biodiesel na China, Estados Unidos, Europa e no sudeste asiático (Antolin *et al.*, 2002; Ravikumar *et al.*, 2012). Nesse contexto, fungos filamentosos oleaginosos têm sido sugeridos como matéria prima favorável para a produção de combustíveis sustentáveis. *Mucor circinelloides* Tiegh., foi citada como promissora para a produção de biodiesel em escala industrial (Vicente *et al.*, 2009), tendo o mesmo sido verificado para *Umbelopsis isabellina* (Oudem.) W. Gams (citada como *Mortierella isabellina* Oudem.) e *U. vinacea* (Dixon-Stew.) Arx (citada como *M. vinacea* Dixon-Stew.) (Meng *et al.*, 2009). Esse processo da produção envolve reações de transesterificação e esterificação de ácidos graxos extraídos da biomassa oleaginosa desses fungos na presença de um catalizador ácido (Ratledge, 2002). O elevado nível desses lipídeos no micélio, a excelente produção de biomassa durante cultivo submerso em biorreatores usando diferentes fontes de carbono (McIntyre *et al.*, 2002) e a capacidade comprovada em crescer em tanques fermentadores industriais favorecem a utilização desses fungos para a produção de biodiesel (Ratledge, 2004). Dessa forma, é possível que outros táxons de Mucoromycotina ainda não estudados para a produção de biocombustíveis também sejam boas alternativas para a produção do biodiesel, o qual apresenta vantagens em relação ao diesel atualmente comercializado, como menor emissão de poluentes, baixa toxicidade e melhor biodegradação. Considerando a importância biotecnológica e ecológica dos Mucorales e, tendo em vista o conhecimento limitado desse grupo de fungos em regiões semiáridas, esse trabalho objetivou inventariar e comparar as comunidades de Mucorales em excrementos de diferentes espécies e raças de animais herbívoros do semiárido de Pernambuco, pela frequência de ocorrência e riqueza de espécies, bem como conhecer e quantificar os ácidos graxos da biomassa dos táxons isolados.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 MUCOROMYCOTINA Benny

O subfilo Mucoromycotina é um dentre os quatro subfilos propostos por Hibbett *et al.* (2007) para abrigar as espécies das ordens Mucorales e Endogonales Moreau ex R. K. Benjamin, desde que James *et al.* (2006) sugeriram a polifilia do grupo. Inicialmente o subfilo foi proposto abrigando, além das duas ordens supracitadas, Mortierellales Caval.-Sm (Hibbett *et al.*, 2007), até que Hoffman *et al.* (2011) propuseram, com base em análises filogenéticas multigênicas e morfológicas, a elevação dessa ordem à categoria taxonômica do subfilo Mortierellomycotina Kerst. Hoffm., Kerst. Voigt & P. M. Kirk.

Os membros de Mucoromycotina são caracterizados morfológicamente por produzirem esporos sexuais denominado de zigósporos, desenvolvidos dentro do zigosporângio e resultantes da fusão de dois gametângios (Kendrick, 2000). Os zigósporos apresentam parede espessa, lisa ou ornamentada, de coloração geralmente marrom escura ou negra, podendo permanecer em latência em condições adversas durante longos períodos (Benny *et al.*, 2001). A reprodução assexuada ocorre através da produção de esporos contidos no interior de esporângios, esporangiólos ou merosporângios, localizados no ápice de hifas férteis (Benjamin, 1979). Em algumas espécies pode ocorrer a formação assexuada de clamidósporos ou artrósporos, enquanto a gemação ocorre nos indivíduos dimórficos como, por exemplo, *M. indicus* Lendn. (Alexopoulos *et al.*, 1996). Caracteristicamente os Mucoromycotina são formados por hifas cenocíticas ou esparsamente septadas, com os septos apenas delimitando estruturas reprodutivas ou abundantes em colônias velhas, apresentando um micélio bem desenvolvido com aspecto cotonoso. Cores variadas podem ser observadas nas colônias dos representantes do grupo, desde tons em branco, creme, cinza, marrom, amarelo e laranja, que podem variar de acordo com a temperatura de incubação, com a presença ou ausência da luz e com a composição do meio de cultura (Trufem *et al.*, 2006; Benny, 2010).

Este subfilo compreende microrganismos em maioria saprofíticos, embora algumas espécies do grupo possam ser parasitas de plantas, de outros fungos, de invertebrados e vertebrados, incluindo seres humanos. É um grupo de fungos heterogêneo e ubíquo que vive nos mais variados substratos (Alexopoulos *et al.*, 1996). A capacidade de adaptação dos Mucoromycotina às condições ambientais adversas, resultado de seu mecanismo fisiológico, bioquímico e genético, reflete-se em estratégias específicas de desenvolvimento, maturação, diferenciação e sobrevivência, permitindo a colonização pioneira dos substratos, degradando açúcares menos complexos (Trufem, 1981; Carlile & Watkinson, 2001; James & O'Donnell, 2004).

2.2 MUCORALES Schröter

Dentre os Mucoromycotina, a ordem Mucorales apresenta o maior número de táxons, com mais de 300 espécies descritas (Hawksworth *et al.*, 1995). Inicialmente, a ordem abrigava quatro famílias (van Tieghem, 1878), tendo outras sido posteriormente incluídas. Hesseltine (1955) propôs as famílias Choanephoraceae J. Schröt., Cunninghamellaceae Naumov ex R.K. Benj., Endogonaceae Paol., Kickxellaceae Linder, Mortierellaceae A. Fisch., Mucoraceae Dumort., Pilobolaceae Corda e Thamniaceae Fitzp. Benjamin (1959), Boedijn (1959) e Ellis & Hesseltine (1974) adicionaram Syncephalastraceae Naumov ex R.K. Benj., Piptocephalidaceae J. Schröt., Dimargaritaceae R.K. Benj., Helicocephalidaceae Boedijn, Radiomycetaceae Hesselt. & J.J. Ellis e Saksenaaceae Hesselt. & J.J. Ellis. Algumas dessas famílias, entretanto, tornaram-se ordens, como Dimartariales R. K. Benjamin, Endogonales, Kickxellales Kreisel ex R. K. Benjamin e Zoopagales Bessey ex R. K. Benjamin, enquanto outras foram reposicionadas dentro dessas ordens por Benjamin (1979). Benny (2009) considerou apenas as famílias Mucoraceae Dumortier e Umbelopsidaceae W. Gams & W. Meyer, propondo a sinonimização de todas as outras com Mucoraceae. No entanto, Voigt & Olsson (2008) e Voigt *et al.* (2009), baseados em resultados de análises filogenéticas, sugeriram a separação de muitas famílias de Mucoraceae, dentro da ordem Mucorales. Atualmente são reconhecidos 55 gêneros pertencentes a essa ordem distribuídos entre 14 famílias: Backusellaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Choanephoraceae J. Schröt., Cunninghamellaceae, Lentamycetaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Lichtheimiaceae Kerst. Hoffm., G. Walther & K. Voigt, Mucoraceae, Mycotyphaceae Benny & R.K. Benj., Phycomycetaceae Arx, Pilobolaceae, Radiomycetaceae, Rhizopodaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Saksenaaceae, Syncephalastraceae e Umbelopsidaceae W. Gams & W. Mey. (Benny *et al.*, 2009; Hoffmann *et al.*, 2013).

A maioria dos Mucorales exibe um rápido crescimento, mesmo em meios de cultura pobres em nutrientes, sendo esses os primeiros fungos a colonizarem a maioria dos substratos, degradando açúcares simples, complexos, como hemicelulose, lipídios e proteínas (Domsch *et al.*, 1993; Dix & Webster, 1995). Em geral, os Mucorales apresentam micélio cenocítico de aspecto cottonoso, embora septos possam ser observados na base de estruturas reprodutivas ou quando o micélio envelhece (Alexopoulos *et al.*, 1996). Diferenciações do micélio, como rizóides e estolões são comumente visualizadas, bem como a formação de clamidósporos nas hifas vegetativas ou em estruturas de reprodução assexuada, sendo essas algumas das estruturas que podem auxiliar os taxonomistas na distinção de algumas espécies dentro do grupo (Kirk *et al.*, 2008).

A reprodução assexuada ocorre pela formação de aplanósporos produzidos no interior de esporângios (uni ou multiesporados), dispostos no ápice de esporangióforos que podem estar isolados ou agregados, eretos ou circinados e com variações em padrões de ramificação, desde simples ou monopodial, até ramificações cimosas, racemosas e simpodiais (Viriato, 2013). Em algumas espécies dessa ordem, variações morfológicas dos esporângios são visualizadas, como esporangióolos, esporângios unisporados ou com poucos esporangiósporos, ou ainda como merosporângios, esporângios cilíndricos ou claviformes que portam merosporangiósporos (ou merósporos) dispostos em cadeia (Alexopoulos *et al.*, 1996; Alvarez, 2013). Nos Mucorales a reprodução sexuada ocorre através da formação de zigósporos produzidos em zigosporângios, decorrentes da fusão de gametângios geneticamente compatíveis. O homotalismo e a reprodução sexuada são menos comuns nesses microrganismos e, em várias espécies, a presença do zigósporo ainda não foi documentada (O'Donnell *et al.*, 2001).

De distribuição cosmopolita, os Mucorales ocorrem como oligotróficos ou mesotróficos (Richardson, 2009). Esse grupo de fungos é representado, em maioria, por espécies saprofíticas, comumente isoladas do solo, de frutos, excrementos de herbívoros e de grãos estocados (Santiago, 2008). Desempenham um papel ecológico importante nos processos de biodegradação, degradando matéria orgânica vegetal ou animal, sendo precursores no processo de sucessão ecológica e se apresentando como excelentes competidores, decorrente de capacidade de produção enzimática que os permite colonizar uma grande variedade de substratos (Dix & Webster, 1995; Bills *et al.*, 2004; Richardson, 2009; Santiago & Cavalcanti, 2011). Mucorales podem ser parasitas de outros fungos, como espécies de *Parasitella* Bainier, que estabelecem uma interação micoparasitária com outros Mucorales (Partida-Martinez & Hertweck, 2005; Benny, 2009); patógenos de plantas, infectando órgãos e frutos, como *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Ravenel) Thaxt., *R. arrhizus* var. *arrhizus* A. Fisch. e *R. stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. (Dennis, 1983; Howell, 2002); ou podem causar infecções sistêmicas em seres humanos (Ex: *M. irregularis* Stchigel, Cano, Guarro & E. Álvarez), especialmente nos indivíduos imunocomprometidos (Ribes *et al.*, 2000; Roden *et al.*, 2005; Skiada *et al.*, 2011; Hoffman *et al.*, 2013). Outras espécies dessa ordem são conhecidas por causarem apodrecimento de frutos e sementes estocadas, acarretando prejuízos econômicos em várias partes do mundo (James & O'Donnell, 2004; Trufem *et al.*, 2006). Em contraste, aplicações benéficas desses fungos podem ser observadas. Vários Mucorales são capazes de produzir enzimas de interesse biotecnológico, como amilases, inulinases, celulases e tanases, sendo importantes para as indústrias farmacêutica, têxtil e de alimentos (Cordeiro Neto *et al.*, 1997; Alves *et al.*, 2005; Santiago & Souza-Motta, 2006). Espécies de *Rhizopus* e *Mucor* são utilizadas na conversão de esteróis e na produção de bebidas alcoólicas a partir do amido, além de serem empregadas na produção de fermentados à base de soja, produzidos na Ásia, conhecidos como Tempeh (Trufem,

1981; Hesseltine, 1986; Nout & Kiers, 2005; Alvarez, 2013). Outras espécies são utilizadas na síntese de licopenos (Wu *et al.*, 1999; Hoffman *et al.*, 2013), na produção de ácidos orgânicos (Kavadia *et al.*, 2001; Magnuson & Lasure, 2004) e em processos de biorremediação de metais pesados (Yan & Viraraghavan, 2003; Zafar *et al.*, 2007).

2.2.1 *Absidia* Tiegh. e *Lichtheimia* Vuill.

O gênero *Absidia* abrange espécies em maioria sapróbias, comumente isoladas de solo, de excrementos de animais e de outros substratos em decomposição, embora algumas espécies sejam agentes causais de mucoromicoses em animais e em seres humanos (Benny, 2010). Caracteristicamente esses microrganismos produzem esporangióforos a partir de estolões, nunca apostos aos rizóides, e esporângios apofisados e piriformes com parede deliquescente (Hesseltine & Ellis, 1964). Em geral, os esporangióforos são eretos, simples ou levemente ramificados, frequentemente dispostos em fascículos ou em verticilos em uma base comum. Os esporangiósporos apresentam-se hialinos e sem estriações, sendo produzidos em esporângios multiesporados. As columelas podem variar em forma, sendo comumente cônicas ou hemisféricas, podendo portar, ou não, projeções apicais. A reprodução sexuada ocorre pela produção de zigósporos a partir da conjugação de gametângios geneticamente compatíveis (Hoffmann *et al.*, 2007).

Hesseltine & Ellis (1964) e Ellis & Hesseltine (1965, 1966), agruparam as espécies de *Absidia* distinguindo-as de acordo com a morfologia dos esporangiósporos, em cilíndricos, globosos e ovóides. Ainda na série de estudos sobre o gênero, os autores propuseram a inclusão do subgênero *Mycocladius* dentro de *Absidia*, com base na capacidade de algumas espécies crescerem em temperaturas elevadas e de produzirem zigósporos desprovidos de apêndices e esporangióforos dispostos de forma randômica no estolão, sem a presença clara de verticilos (Hesseltine & Ellis, 1964). Hoffmann *et al.* (2007), revisaram o gênero com base em estudos filogenéticos, morfológicos e fisiológicos, reclassificando as espécies em três grupos: micoparasitas, espécies que crescem em até 20°C, sendo potencialmente patogênicas às outras espécies de Mucorales; mesofílicas - apresentam crescimento vegetativo em temperaturas entre 20 e 34°C; termotolerantes - espécies com crescimento ótimo em temperaturas elevadas (35 e 47°C). Os autores reportaram a produção de zigósporos sem apêndices nas espécies termotolerantes, sugerindo que *A. blakesleeana* Lendn., *A. corymbifera* (Cohn) Sacc. & Trotter., *A. hyalospora* (Saito) Lendn e *A. ramosa* (Zopf) Lendn. fossem transferidas para *Mycocladius* (Hoffmann *et al.*, 2007).

Após uma revisão minuciosa da descrição original de *M. verticillata*, Hoffmann *et al.* (2009) verificaram que essa espécie não é termotolerante, já que não cresce acima de 40°C, tendo o seu crescimento ótimo a 30°C. Além disso, as células suspensoras dos zigosporângios de *M. verticillata*

apresentam apêndices e a parede zigosporangial é ornamentada com escalas (ou tubérculos), características sexuais correspondentes à *Lentamyces parricida*. Hoffmann & Voigt (2009) propuseram o gênero *Lentamyces* Kerst. Hoffm. & K. Voigt, abrigando as espécies micoparasitas do grupo. Hoffmann *et al.* (2009), considerando a elevada probabilidade da cultura de *M. verticillata* observada por Beauvérie ser uma co-cultura de *Absidia* sp. mesofílica com *Lentamyces* sp., transferiram as espécies termotolerantes para o gênero *Lichtheimia* Vuill. (Vuillemin 1903), cuja espécie tipo é *L. corymbifera* (Cohn) Vuill. Assim, foram validadas *L. blakesleeana* (Lendn.) Kerst. Hoffm., Walther & K. Voigt, *L. corymbifera*, *L. hyalospora* (Saito) Kerst. Hoffm., Walther & K. Voigt e *L. ramosa* (Zopf) Vuill.; e a família Lichteimiaceae K. Hoffm., G. Walther & K. Voigt foi criada. Em seguida, Alastruey-Izquierdo *et al.* (2010) transferiram *A. ornata* A.K. Sarbhoy para *Lichtheimia* [*L. ornata* (A.K. Sarbhoy) A. Alastruey-Izquierdo & G. Walther, comb. nov.], descreveram *Lichtheimia sphaerocystis* A. Alastruey-Izquierdo & G. Walther e colocaram *L. blakesleeana* em sinonímia com *L. hyalospora*. Santiago *et al.* (2014) descreveram *L. brasiliensis* A.L. Santiago, Lima & Oliveira de solo. De acordo com o Species Fungorum (2014), 24 espécies de *Absidia* são atualmente aceitas.

Lichtheimia apresenta indivíduos em maioria sapróbios, habitando o solo ou material vegetal em decomposição (Alastruey-Izquierdo *et al.*, 2010). No entanto, estima-se que aproximadamente 5% de casos de mucoromicoses em todo o mundo sejam causados por espécies desse gênero (Schwartz *et al.*, 2014), número esse que, segundo Alastruey-Izquierdo *et al.* (2010), pode estar subestimado. Segundo Alastruey-Izquierdo *et al.* (2010) e Schwartz *et al.* (2012), o potencial de virulência de espécies de *Lichtheimia* pode estar ligado à tolerância dessas às temperaturas elevadas. Dentre as espécies do gênero, apenas *L. corymbifera* e *L. ramosa* têm sido reportadas como patógenas.

O gênero *Lichtheimia* é constituído por representantes predominantemente termotolerantes, não fototrópicos. Esporangióforos eretos ou levemente curvados, raramente com septos subesporangiais, são visualizados, bem como esporângios multiesporados, esféricos ou subpiriformes, apofisados. As columelas podem esféricas, hemisféricas, espatuladas e ocasionalmente cônicas, com ou sem uma ou mais projeções. Os esporangiósporos são comumente subglobosos ou elipisóides (Hoffmann *et al.*, 2009).

2.2.2 *Circinella* Tiegh. & G. Le Monn.

Circinella (1873) inclui espécies intimamente relacionadas com *Mucor*, sendo o primeiro gênero diferenciado do segundo pela produção de esporangiofóros com ramificações circinadas na porção terminal (Arambarri & Cabello, 1996). Espécies desse gênero são sapróbias do solo e de excrementos de herbívoros (González *et al.*, 2010; Santiago *et al.*, 2011). Os esporângios de

Circinella são multiesporados, mais ou menos globosos, com parede esporangial persistente. Uma apófise inconspícua pode ser observada em algumas espécies. A reprodução sexuada é conhecida em três espécies, *C. angarensis* (Schostak.) Zycha, *C. muscae* (Sorokin) Berl. & De Toni e *C. umbellata* Tiegh. & G. Le Monn (Benny, 2014). Hesseltine & Fennel (1955) revisaram o gênero e descreveram: *C. umbellata* Tiegh. & Le Monn., *C. minor* Lendn., *C. angarensis*, *C. mucoroides* Saito, *C. muscae*, *C. simplex* Tiegh., *C. rigida* G. Sm. (= *M. durus* Walther & de Hoog) e *C. linderi* Hesselt. & Fennell Sm. [= *Fennellomyces linderi* (Hesselt. & Fennell) Benny & R.K. Benj.]. Os autores propuseram a retirada de *C. tenella* (= *M. circinelloides*). Baseados em análises filogenéticas da região LSU (rDNA), Walther *et al.* (2013) reportaram o gênero como sendo polifilético, estando a maioria das espécies alocadas na família Lichtheimiaceae. De acordo com o Species Fungorum, atualmente, oito espécies são aceitas: *C. angarensis*, *C. chinensis* H. Nagan. & Kojiro, *C. lacrymispora* Aramb. & Cabello, *C. minor*, *C. muscae*, *C. mucoroides* Saito, *C. simplex* e *C. umbellata*.

2.2.3 *Cunninghamella* Matr.

O gênero *Cunninghamella* é caracterizado por apresentar esporóforos eretos com ramificações em vários padrões: verticiladas, pseudoverticiladas ou de tamanhos diferentes em um mesmo esporóforo, algumas vezes ramificando de modo sucessivo. Esporangíolos uni-esporados são produzidos (Zheng *et al.*, 2001). Esse gênero abriga espécies frequentemente encontradas em solos, grãos estocados e outros substratos orgânicos (Baijal & Mehrotra, 1980). Algumas espécies são patógenas de seres humanos, principalmente os imunocomprometidos (Hsieh *et al.*, 2013).

As espécies de *Cunninghamella* têm sido tradicionalmente diferenciadas com base em características morfológicas, como a cor e textura das colônias, o padrão de ramificação dos esporóforos, a forma e dimensão das vesículas e a forma, dimensão e cor dos esporangíolos, bem como a presença ou ausência e o comprimento das projeções desses esporangíolos (Zheng & Chen, 2001). Estudos moleculares demonstraram que *Cunninghamella* é monofilético, sendo *Absidia*, *Halteromyces* Shipton & Schipper e *Chlamydoabsidia* Hesselt. & JJ Ellis, os Mucorales filogeneticamente mais próximos (Hoffmann *et al.* 2013; Walther *et al.* 2013).

Liu *et al.* (2001) e Zheng & Chen (2001), monografaram o gênero com base em critérios morfológicos, temperaturas de crescimento, compatibilidade sexual, formação dos zigósporos e dados moleculares, resultando na classificação de 12 espécies e quatro variedades. Atualmente são aceitas: *C. elegans* Lendn., *C. binariae* R.Y. Zheng, *C. blakesleeana* Lendn., *C. clavata* R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *C. echinulata* (Thaxt.) Thaxt. ex Blakeslee., *C. homothallica*, *C. intermedia* K.B. Deshp. & Mantri, *C. multiverticillata* R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *C. phaeospora* Boedijn, *C. septata* R.Y. Zheng e *C. vesiculosa* (Species Fungorum, 2014).

2.2.4 *Mucor* Fresen.

Espécies de *Mucor* produzem esporangióforos simples ou ramificados, surgindo diretamente do substrato, e que portam esporângios não apofisados, globosos e/ou subglobosos. Poucas espécies apresentam rizóides (ex: *M. luteus* Linnem. ex Wrzosek) e estolões não são produzidos (Benny, 2014). Esse gênero apresenta distribuição cosmopolita, sendo a maioria das espécies descritas sapróbias, podendo ser isoladas de uma grande variedade de substratos, como solo, grãos, flores, frutos, material vegetal em decomposição, agáricos carnosos e excrementos de herbívoros (Helsseltine & Ellis, 1973; Trufem, 1981a; Alexopoulos *et al.*, 1996, Viriato, 1996). Alguns táxons do gênero têm sido descritos como agentes causais de micoses cutâneas em seres humanos (Alvarez *et al.*, 2011).

Segundo Domsch *et al.* (1993), dentre os Mucorales, *Mucor* apresenta o maior número de espécies descritas. Em uma série de estudos, Shipper (1973, 1975, 1976, 1978), monografou o gênero e descreveu 39 espécies, quatro variedades e 11 formas. Posteriormente, 17 espécies foram propostas (Mehrotra & Mehrotra, 1978; Mirza *et al.*, 1979; Subrahmanyam, 1983; Chen & Zheng, 1986; Schipper, 1989; Schipper & Samson, 1994; Watanabe, 1994; Zalar *et al.*, 1997; Pei, 2000; Alves *et al.*, 2002; Jacobs & Botha 2008; Álvarez *et al.*, 2011; Hermet *et al.* 2012; Madden *et al.*, 2012). No entanto, o número exato de táxons válidos é desconhecido. De acordo com Gherbawy *et al.* (2010), é possível que o número de espécies válidas possa variar entre 50 a 75. Nos últimos seis anos quatro novos táxons foram reportados para o gênero: *M. lanceolatus* Hermet, *M. ellipsoideus* Ed. Álvarez, Cano, Stchigel, Deanna A. Sutton & Guarro, *M. renisporus* K. Jacobs & Botha e *M. nidicola* A.A. Madden, Stchigel, Guarro, Deanna A. Sutton & Starks.

Várias espécies de *Mucor* apresentam importância biotecnológica, sendo utilizadas em processos industriais e na elaboração de diferentes tipos de alimentos asiáticos (Abe *et al.* 2004; Millati *et al.*, 2005). Em contraste, membros do gênero, depois de *Rhizopus*, são considerados os agentes de maior relevância clínica dentre os Mucorales, tendo *M. circinelloides*, *M. indicus* Lendn., *M. irregularis* Stchigel, Cano, Guarro & Ed. Álvarez, *M. racemosus* Bull. e *M. ramosissimus* Samouts. sido reportadas como causadoras de infecções em humanos (Hoog *et al.*, 2000; Ribes *et al.*, 2000; Álvarez *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2013).

Estudos moleculares têm demonstrado que o gênero é polifilético (O'Donnell *et al.*, 2001 Kwasna *et al.*, 2006; Jacobs & Botha, 2008; Budziszewska & Piatkowska, 2010; Álvarez *et al.*, 2011). De acordo com Walther *et al.* (2013), embora a polifilia de *Mucor* seja indiscutível, apenas algumas linhagens dentro do gênero são claramente reconhecidas. Os autores reportaram que algumas destas linhagens apresentam uma combinação de características comuns, como o tamanho

do esporângio e o padrão de ramificação do esporangióforo. Desta maneira, os autores dividiram o gênero em 6 grupos: *M. mucedo* L., *M. flavus* Bainier., *M. hiemalis* Wehmer, *M. racemosus*, *M. amphibiorum* Schipper, *M. recurvus* E.E. Butler, com base em relações filogenéticas inferidas a partir de dados da região LSU (rDNA).

2.2.5 *Pilobolus* Tode

Pilobolus é constituído por espécies coprófilas obrigatórias de distribuição cosmopolita (Hu *et al.*, 1989; Krug *et al.*, 2004). As espécies desse gênero se caracterizam pela produção de um trofocisto, separado da hifa por um septo. Essa estrutura se encontra inserida no substrato, embora em algumas espécies a mesma pode ser visualizada na porção externa do excremento, sendo geralmente cilíndricas ou ovóides, por vezes longas, dando origem ao esporangióforo. Os esporangióforos são fototrópicos, eretos ou levemente curvados, podendo ser observados a olho nú ou com o auxílio de uma lupa. Nesses esporangióforos são observadas vesículas sub-esporangiais, geralmente amarelo-alaranjadas, bem como esporângios negros, hemisféricos e cutinizados que são forçosamente ejetados na maturidade. Os esporangiósporos são elipsóides, subglobosos para globosos, subhialinos e amarelados (Hu *et al.*, 1989).

As espécies de *Pilobolus* apresentam um método incomum de dispersão de esporos. A elevada concentração de substâncias dissolvidas, principalmente íons fosfato e oxalato, aumenta a pressão no interior das vesículas subesporangiais até o ponto em que elas explodem, de modo que os esporângios são forçosamente ejetados e impelidos a distâncias superiores a 3 metros (Foos & Royer, 1989).

Grove (1934) realizou um estudo taxonômico do gênero e delimitou nove espécies, porém sete delas tendo sido consideradas duvidosas. Contribuições importantes à taxonomia de *Pilobolus* foram fornecidas por Naumov (1939), McVickar (1942), Boedijn (1958), Nand & Mehrotra (1968, 1977), Tandon (1968), Zycha *et al.* (1969), Zheng & Hu (1979), Foos & Rakestraw (1985), Foos (1989) e Foos & Royer (1989). Hu *et al.* (1989) estudaram o gênero e reclassificaram os táxons descritos em cinco espécies e sete variedades: *P. crystallinus* var. *crystallinus* (F.H. Wigg.) Tode, *P. crystallinus* var. *hyalosporus* (Boedijn) F.M. Hu & R.Y. Zheng, *P. crystallinus* var. *kleinii* (Tiegh.) R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *P. lentiger* var. *lentiger* Corda, *P. lentiger* var. *minutus* (Speg.) R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *P. longipes* Tiegh., *P. oedipus* Monti., *P. roridus* var. *roridus* (Bolton) Pers. e *P. roridus* var. *umbonatus* (Buller) F.M. Hu & R.Y. Zheng.

Segundo Foos & Scheehan (2011), muitas das características morfológicas utilizadas para identificar e classificar espécies de *Pilobolus* são problemáticas, visto que algumas descrições de espécies são imprecisas e sobrepostas. Algumas características, como os tamanhos dos esporóforos

e esporangiósporos variam em resposta às alterações das condições ambientais, tornando-se inconsistentes para uma correta identificação (Hu *et al.*, 1989; Foos *et al.*, 2011).

Atualmente, 12 espécies do gênero são aceitas: *P. oedipus*, *P. lentiger*, *P. kleinii* Tiegh., *P. crystallinus* (F.H. Wigg.) Tode, *P. roridus* (Bolton) Pers., *P. minutus* Speg., *P. nanus* Tiegh., *P. umbonatus*, *P. pestis-bovinae* Hallier, *P. pirottianus* Morini, *P. proliferens* McVickar e *P. pullus* Masee (Species Fungorum, 2014).

2.2.6 *Rhizopus* Ehrenb.

Espécies de *Rhizopus* são caracterizadas por produzirem esporangióforos que portam esporângios multiesporados, apofisados, com parede evanescente, e que surgem diretamente do micélio aéreo ou de estolões, com ou sem rizóides opostos. Os zigosporângios apresentam as paredes ornamentadas e as células suspensoras carecem de apêndices (Benny, 2005; Zheng *et al.*, 2007). *Rhizopus* foi monografado por Schipper (1984) e por Schipper & Stalpers (1984), que dividiram o gênero em *R. oryzae* e em dois grupos de espécies: o grupo *R. stolonifer* (com duas espécies e duas variedades) e o grupo *microsporus* (com duas espécies e quatro variedades). Zheng *et al.* (2007) revisaram o gênero e descreveram 10 espécies e nove variedades: *R. americanus* Hesselt. & J.J. Ellis) R.Y. Zheng, G.Q. Chen & X.Y. Liu, *R. arrhizus* var. *arrhizus*, *R. arrhizus* var. *delemar* (Boidin ex Wehmer & Hanzawa) J.J. Ellis, *R. arrhizus* var. *tonkinensis* (Vuill.) R.Y. Zheng & X.Y. Liu, *R. caespitosus* Schipper & Samson, *R. homothallicus* Hesselt. & J.J. Ellis, *R. microsporus* var. *microsporus* Tiegh., *R. microsporus* var. *azygosporus* (G.F. Yuan & S.C. Jong) Schwertz, Villaume, Decaris, Percebois & Mejean, *R. microsporus* var. *chinensis* (Saito) Schipper & Stalpers, *R. microsporus* var. *oligosporus* (Saito) Schipper & Stalpers, *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* (Cohn) Schipper & Stalpers, *R. microsporus* var. *tuberosus* R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *R. niveus* M. Yamaz., *R. reflexus* Bainier, *R. Schipperae* Weitzman, McGough, Rinaldi & Della, *R. sexualis* (G. Sm). Callen e *R. stolonifer*. Recentemente, Dolatabadi *et al.* (2013), após um estudo morfológico, fisiológico, molecular e de espectrometria de massa (MALDI-ToF) de *R. microsporus* concluíram que todas as variedades descritas são sinônimos e devem ser tratadas por *R. microsporus* Tiegh.

Representantes deste gênero são citados em diversas áreas do conhecimento, sendo intimamente relacionados com a vida diária do ser humano. Na indústria de alimentos, espécies de *Rhizopus* são consideradas agentes de fermentação importantes (Xuefeng *et al.*, 2011). Na agricultura foram reportadas como agentes causais de deterioração de legumes e frutas no campo, em trânsito ou armazenadas (Akinmusire, 2011). Na medicina espécies são utilizadas para a produção de medicamentos (Nout & Kiers, 2005; Zheng *et al.*, 2007).

2.2.7 *Syncephalastrum* J. Schröt.

Espécies de *Syncephalastrum* produzem merosporângios multiesporados produzidos no ápice do esporangióforo sobre a superfície de uma vesícula fértil. Os esporangióforos podem ser simples ou simpodialmente ramificados (Misra, 1975). Os zigosporângios dos representantes desse gênero são semelhantes aos de *Mucor*, em formação e aparência, com células suspensoras mais ou menos iguais (Benjamin 1959).

Benjamin (1959) concluiu que há variações no diâmetro da vesícula, a presença ou ausência de estolões, a cor da colônia, a dimensão de merosporângios e a quantidade dos merósporos em cada merosporângio, bem como a forma e o tamanho dos últimos não têm valor taxonômico para a diferenciação de espécies. Desta maneira, o autor sinonimizou todas as espécies descritas até então com *S. racemosum* Cohn ex J. Schröt. Posteriormente, *S. monosporum* R.Y. Zheng, G.Q. Chen & F.M. Hu, que apresenta merosporângio uniesporado, foi descrita (Zheng *et al.*, 1988). Espécies de *Syncephalastrum* são comumente isoladas de solo (Santiago & Souza-Motta 2006; Santiago *et al.*, 2013).

2.3 MUCORALES DE SOLO E OUTROS SUBSTRATOS DO BRASIL

No Brasil, até o presente, 20 gêneros de Mucorales foram descritos: *Absidia*, *Apophysomyces* P.C. Misra, *Backusella* Hesselt. & J.J. Ellis., *Circinella* Tiegh. & G. Le Monn., *Cunninghamella*, *Gilbertella* Hesselt., *Gongronella* Ribaldi, *Isomucor* J.I. Souza, Pires-Zott. & Harakava, *Lichtheimia* Vuill., *Mucor*, *Mycotypha* Fenner, *Parasitella*, *Phycomyces* Kunze, *Pilaira* Tiegh., *Pilobolus* Tode, *Poitrasia* P.M. Kirk, *Rhizopus*, *Syncephalastrum* J. Schröt., *Thamnostylum* Arx & H.P. Upadhyay, *Zygorhynchus* Vuill. (= *Mucor*), distribuídos em 74 espécies (Santiago, 2014).

Embora os Mucorales apresentem estratégias de colonização e sobrevivência nos mais variados substratos, como folheto, frutos, grãos estocados ou não e farinha de milho (Santiago & Souza Motta, 2006), a ocorrência desse grupo no país tem sido comumente reportada para o solo e para excrementos de herbívoros e de roedores (Trufem *et al.*, 2006; Santiago & Souza-Motta, 2008; Costa *et al.*, 2009; Santiago, 2014).

Os estudos sobre a ocorrência dos Mucorales no Brasil são bastante fragmentados, estando concentrados nas regiões nordeste, em Pernambuco (com raros relatos para Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba e Maranhão), e no sudeste, especificamente em São Paulo (com raros relatos em Minas Gerais), tendo sido reportados para os domínios fitogeográficos Caatinga, Cerrado e Mata

Atlântica (Upadhyay, 1969; Lira, 1971; de Souza *et al.*, 2006; de Souza *et al.*, 2008; de Souza *et al.*, 2011; Santiago *et al.*, 2013; Santiago, 2014).

Com o objetivo de conhecer os Mucorales do solo de vários municípios do estado de São Paulo, Trufem (1981a,b,c) isolou e identificou 24 táxons de Mucorales: *A. cylindrospora* Hagem, *A. pseudocylindrospora* Hesselt. & J.J. Ellis, *A. repens* Tiegh., *A. spinosa* var. *biappendiculata* Rall & Solheim, *Gongronella butleri* (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco, *R. stolonifer* (como *R. nigricans*), *R. arrhizus* var. *arrhizus* (como *R. oryzae*), *C. angarensis* (Schostak.) Zycha, *C. muscae* (Sorokín) Berl. & De Toni, *C. rigida* G. Sm., *C. simplex* Tiegh., *C. bainieri* Naumov, *C. echinulata* (Thaxt.) Thaxt., *C. elegans* Lendn., *M. corticola* Hagem, *M. fuscus* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni, *M. fragilis* Bainier, *M. genevensis* Lendn., *M. heterosporus* A. Fisch., *M. hiemalis* Wehmer, *M. mousanensis* Baijal & B.S. Mehrotra, *M. piriformis* A. Fisch., *M. rufescens* A. Fisch. e *M. suhagiensis* M.D. Mehrotra.

Schoenlein-Crusius & Milanez (1997), em estudo na Reserva Ecológica Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, São Paulo, obtiveram 13 táxons de folhedo, solo e água. Espécies de *Mucor* foram as mais frequentes, seguidas por táxons de *Rhizopus* e de *Zygorrhynchus* [atualmente tratadas como espécies de *Mucor* (Walther *et al.*, 2013)]. Foram especificamente isoladas *Mucor silvaticus* Hagem [como *M. hiemalis* f. *silvaticus* (Hagem) Schipper], *R. arrhizus*, *R. microsporus* (como *R. oligosporus* Saito), *M. japonicus* (Komin.) Walther & de Hoog (como *Z. japonicus* Komin) e *M. megalocarpus* Walther & de Hoog (como *Z. macrocarpus* Y. Ling), foram citadas como primeiras ocorrências para a Mata Atlântica do Brasil.

Schoenlein-Crusius *et al.* (2006), em durante um estudo sobre a diversidade de fungos microscópicos em áreas de Mata Atlântica do município de Cubatão, São Paulo, reportaram a 40 táxons de Mucorales em solo e em folhedo. Dentre os isolados, *M. amphibiorum* Schipper, *M. prayagensis* Mehrotra & Nand ex Schipper, *Parasitella parasitica* (Bain.) Syd e *Rhopalomyces* sp. foram citadas como primeira ocorrência para o Brasil.

Objetivando conhecer a diversidade de Mucorales em solos contaminados por metais pesados na região do polo cerâmico de Santa Gertrudes, em São Paulo, de Souza *et al.* (2008) isolaram *A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *C. phaeospora* Boedijn, *M. bainieri* B. S. Mehrotra & Baijal, *M. circinelloides* f. *circinelloides* Tiegh., *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. hiemalis* f. *hiemalis*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus* (Bruderlein) Schipper, *M. luteus* Linnem. Ex Wrzosek [como *M. hiemalis* f. *luteus* (Linnem.) Schipper], *M. racemosus* f. *racemosus* Fresen., *R. arrhizus* var. *arrhizus* (como *R. oryzae*) e *M. moelleri* (como *Z. Moelleri*).

Em um levantamento sobre os aspectos ecológicos da comunidade fúngica realizado em uma plantação de *Hovenia dulcis* Tumb (uva-do-Japão) e em solos de sistemas agroflorestais de citrus, na região de Roca Sales, Rio Grande do Sul, Brasil, foram isoladas *A. spinosa*, *R. stolonifer*,

L. ramosa (como *A. ramosa*) e *M. moelleri* (Vuill.) Lendn. [como *Z. Moelleri* Vuill. (Prade *et al.* 2006; 2007)].

De Souza *et al.* (2011) em estudo sobre a diversidade desse fungos na Reserva Biológica de Mogi Guaçu, São Paulo, isolaram e descreveram quatro táxons de Mucorales: *A. spinosa* var. *spinosa* Lendn., *B. lamprospora* (Lendn.) Benny & R. K. Benjamin, *C. simplex* e *R. stolonifer*.

Em um trabalho sobre a micobiota de bagaço de cevada destinada à alimentação do rebanho bovino leiteiro do estado da Bahia, Santos (2004) observou que 32,5% dos isolados eram espécies de *Mucor* e *Rhizopus*.

Bezerra *et al.* (2013), objetivando de identificar fungos e estimar a frequência de espécies endófitas em um cacto (*C. Jamacaru*) da Fazenda Tamanduá, Paraíba, em ambientes de Caatinga, isolaram dois táxons de Mucorales: *C. echinulata* e *S. racemosum*.

2.3.1 Mucorales coprófilos do Brasil

Os fungos coprófilos são aqueles que habitam ou estão associados a materiais fecais, incluindo solos contaminados com fezes. São componentes importantes para a manutenção dos ecossistemas, estando diretamente relacionados à decomposição de dejetos fecais, participando dos ciclos do carbono, nitrogênio e de energia (Richardson, 2008), além de participarem ativamente da nutrição de outros organismos, como artópodes coprófagos e micófagos (Halffter & Matthew, 1971).

Os excrementos de animais herbívoros apresentam-se como um substrato nutricionalmente rico em carbono, vitaminas, sais minerais e nitrogênio, além de apresentarem uma elevada capacidade de retenção de água, oferecendo ótimas condições para o crescimento desses fungos. Os fungos coprófilos podem ser encontrados em excrementos de herbívoros, mamíferos domésticos, selvagens e de aves (Dix & Webster, 1995; Krug *et al.*, 2004).

De acordo com Dix & Webster (1995), as espécies coprófilas podem ocorrer nesse substrato como obrigatórias e facultativas. Os indivíduos coprófilos obrigatórios são aqueles cujos esporos necessitam da ação de enzimas gástricas, produzidas pelo trato digestivo dos animais, para que ocorra a quebra de sua dormência. Enquanto os coprófilos secundários ou facultativos são aqueles cujos esporos não necessitam passar pelo trato digestivo dos animais para que haja a germinação (Viriato, 2003). Dentre os Mucorales, apenas as espécies de *Pilobolus* são consideradas coprófilas obrigatórias, embora táxons de outros gêneros sejam comuns em excrementos (Krug *et al.*, 2004).

Vários estudos sobre a diversidade desse grupo de fungos foram realizados em muitos países (Bell, 1975; Wicklow *et al.*, 1980; Wicklow, 1981; Piontelli *et al.*, 1981; Ebersohn & Eicker, 1997; Caretta *et al.*, 1998; Richardson, 2001a; Richardson, 2001b; Nyberg & Persson, 2002; Masunga *et al.*, 2006). No entanto, poucos foram realizados exclusivamente com os Mucorales (Trufem, 1984;

1985; Foos, 1985; 1989; Hu *et al.*, 1989; Alves *et al.*, 2002; Santiago *et al.*, 2011). Alguns desses se referem apenas ao gênero *Pilobolus*.

No Brasil, os primeiros registros de Mucorales coprófilos foram fornecidos por Batista (1948), Batista & Pontual (1948) e Batista *et al.* (1961a,b,c). Atualmente, 54 espécies dessa ordem foram citadas para o país e, destas, 40 foram registradas em amostras de excrementos de herbívoros no Estado de Pernambuco (Calaça *et al.* 2014).

Batista (1948) e Batista & Pontual (1948) descreveram cinco espécies de *Pilobolus* encontradas em excrementos de bovinos, suínos e equinos de Recife, Pernambuco: *P. kleinii* Tiegh., *P. nanus* Tiegh, *P. longipes* Tiegh, *P. crystallinus* Cohn e *P. oedipus* Mont. (como *P. argentinus* Speg.).

Em um estudo sobre fungos leveduriformes e filamentosos de fezes de bovinos no Recife, Batista *et al.* (1961a) isolaram *A. repens*, *M. racemosus* e *R. nigricans* (como *R. stolonifer*), dentre os vinte táxons reportados. *Absidia repens* e *M. racemosus* também foram registradas em excrementos de galináceos, suínos, caprinos, equinos e asininos em Recife (Batista *et al.*, 1961b).

A ocorrência de Mucorales coprófilos em São Paulo foi reportada por Trufem (1984) e Trufem & Viriato (1985), a partir de estudos sobre a diversidade de zygomycetes em excrementos de herbívoros mantidos em cativeiro na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Excrementos de cabra-de-malta, camelo, carneiro-da-montanha, égua, girafa, guanaco, gnu, orix-cimitarra, orix-gazela, veado-catingueiro e zebra foram amostrados, sendo relatada a ocorrência de *L. ramosa* (como *A. ramosa*) (fezes de orix-cimitarra e orix-gazela), *C. minor* (orixcimitarra, veado-catingueiro e zebra), *C. muscae* (girafa, guanaco, orix-cimitarra e zebra), *C. umbellata* (cabra-de-malta, carneiro-da-montanha, guanaco, orix-cimitarra, orix-gazela e veado-catingueiro), *M. circinelloides* (girafa), *M. fuscus* (gnu, orixcimitarra e zebra), *M. hiemalis* (cabra-de-malta, carneiro-da-montanha, égua, guanaco, gnu, orix-cimitarra, orix-gazela, veado-catingueiro e zebra), *M. mousanensis* Baijal & BS Mehrotra (girafa), *M. mucedo* L. (cabra-de-malta, girafa, gnu, guanaco, orix-cimitarra, veado-catingueiro e zebra), *M. piriformis* (camelo, girafa, orix-cimitarra e zebra), *S. racemosum* (como *S. verruculosum*) (égua), *P. crystallinus*, *P. kleinii*, *P. sphaerosporus*, *P. pullus* Masee, *P. kleinii* (como *P. heterosporus*), *P. lentiger* (como *P. borzianus* Morini), *P. minutus* Speg. (como *P. morinii* Sacc), *P. longipes* e *P. oedipus*. Dentre as amostras analisadas, os excrementos de órix foram os que apresentaram maior riqueza de espécies, com 10 registros, seguidos pelas fezes de cabra de malta, camelo, carneiro-da-montanha (5 espécies), girafa (4), veado-catingueiro (3), zebra (2) e cavalo (1).

Espécies de *Pilobolus* foram citadas por Trufem & Viriato (1985a) em amostras de excrementos de onze mamíferos herbívoros (cabra-de-malta, camelo, carneiro-da-montanha, égua, girafa, guanaco, gnu, orix-cimitarra, orix-gazela, veado-catingueiro e zebra) da Fundação Parque

Zoológico do Estado de São Paulo, sendo descritas *P. crystallinus*, *P. kleinii*, *P. lentiger* (como *P. sphaerosporus* e *P. borzianus*), *P. pullus*, *P. kleinii* (como *P. heterosporus*), *P. minutus* (como *P. morinii*), *P. longipes* e *P. oedipus*.

Richardson (2001b), em estudos da diversidade e ocorrência de fungos coprófilos realizados em Bonito e Corumbá, Brasil, observaram 32 espécies de fungos. Dentre os Mucorales citam-se *P. crystallinus* (fezes de cervo e carneiro) e *P. lentiger* (como *P. sphaerosporus*) (carneiro, capivara e cavalo).

Alves *et al.* (2002) reportaram a ocorrência de táxons *Mucor* coprófilos de em amostras de excrementos de bisão, boi, búfalo, cabra, coelho, cutia, eland, cavalo, ovelha e veado-caatingueiro coletados no Parque Dois Irmãos e no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Foram isoladas *M. circinelloides* f. *circinelloides* (fezes de bisão, boi, cabra, carneiro, coelho, eland e veado catingueiro), *M. hiemalis* (como *M. hiemalis* f. *hiemalis*) bisão, cabra, cavalo, coelho e cutia), *M. luteus* (como *M. hiemalis* f. *luteus*) (cabra, cavalo, carneiro, coelho e cutia), *M. genevensis* (carneiro e cutia), *M. piriformis* f. *piriformis* (cavalo), *M. piriformis* f. *nanus* (bisão), *M. racemosus* f. *racemosus* Fresen. (bisão, cabra, coelho e cutia), *M. subtilissimus* Oudem (cavalo) e *M. variosporus* Schipper (veado-caatingueiro).

Santiago *et al.* (2011) relataram 33 táxons de Mucorales em excrementos de anta, antílope, jumento, camelo, cavalo, cervo, cotia e lhama, presentes na Reserva Ecológica Dois Irmãos, Recife, Pernambuco. Foram identificadas *B. lamprospora*, *C. muscae*, *C. rigida*, *C. umbellata*, *C. blakesleeana*, *C. echinulata*, *C. phaeospora*, *Gilbertella persicaria* (E.D. Eddy) Hessel.t, *L. hyalospora*, *M. circinelloides*, *M. guilliermondii* Nadson & Philippow, *M. hiemalis*, *M. mousanensis*, *R. stolonifer* (como *M. mucedo*), *M. racemosus* f. *racemosus*, *M. ramosissimus* Samouts, *M. subtilissimus*, *M. fuscus*, *Pilaira anomala*, *P. crystallinus* (como *P. crystallinus* var. *hyalosporus*), *P. Kleinii*, *P. lentiger*, *P. minutus*, *P. longipes*, *P. roridus*, *P. umbonatus* Buller, *R. arrhizus*, *S. racemosum* e *Thamnostylum piriforme*.

2.4 O SEMIÁRIDO BRASILEIRO

As regiões semiáridas são caracterizadas por apresentarem condições climáticas extremas, como elevadas temperaturas e baixos níveis de precipitação, entre 250 e 1000 mm/ano, com as chuvas irregularmente distribuídas ao longo do ano, com períodos secos entre 7 e 10 meses por ano (Prado, 2003; Silva *et al.*, 2003). O semiárido brasileiro ocupa uma área de aproximadamente 969.589,4 km², compreendendo oito Estados do nordeste do país: Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe e parte do estado de Minas Gerais (Drumond *et al.*, 2002). Regiões semiáridas são formadas, em maioria, por vegetação típica de Caatinga, domínio exclusivamente brasileiro e constituído por sistemas fitofisionômicos heterogêneos, com florestas

caracteristicamente xerofíticas, com a vegetação variando desde arbórea à arbustiva (Andrade-Lima, 1981; Gusmão *et al.*, 2006).

Em virtude das condições climáticas adversas, a vegetação, predominantemente ramificada, apresenta características peculiares, como a presença de folhas pequenas ou modificadas em espinhos (de modo a evitar a evapotranspiração) que caem na época seca. As espécies vegetais comumente encontradas na Caatinga são: *Amburana cearensis* (Fr.All.) A.C. Smith, (“imburana de cheiro”, Fabaceae – Papilionoideae), *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altschul (“angico”, Fabaceae – Mimosoideae), *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (“pau-pereiro”, Apocynaceae), *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (“catingueira”, Fabaceae - Caesalpinioideae), *Cnidoscolus phyllacanthus* (Müll. Arg.) Pax & Hoffm. (“faveleira”, Euphorbiaceae), *Commiphora leptophloeos* (Mart.) Gillet (“imburana”, Burseraceae, também conhecida como *Bursera leptophloeos* Mart.), várias espécies de *Croton* (“marmeleiros” e “velames”, Euphorbiaceae) e de *Mimosa* (“calumbies” e “juremas”, Fabaceae-Mimosoideae), *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., (“aroeira”, Anacardiaceae), *Schinopsis brasiliensis* Engler (“baraúna”, Anacardiaceae) e *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex A. DC.) Standley (“pau d’arco roxo”, Bignoniaceae) (Souto, 2006; Silva *et al.*, 2003).

2.4.1 Mucorales do semiárido brasileiro

A diversidade de fungos em ecossistemas semiáridos é reconhecidamente mais elevada do que se imaginava (Gusmão *et al.*, 2006; Santiago, 2014). Entretanto, estima-se que 41,1% das áreas de Caatinga ainda não tenham sido inventariadas (Gusmão *et al.*, 2006). Consequentemente, dados sobre a comunidade fúngica e das relações ecológicas desses microrganismos com os substratos e com outros organismos com os quais os fungos estão associados ainda são escassos nesses ecossistemas.

Calvacanti *et al.* (2006) isolaram sete táxons de Mucorales em solos da região do Xingó, Brasil: *A. cylindrospora*, *C. elegans*, *G. butleri*, *L. corymbifera* (como *A. corymbifera*), *L. ramosa* (como *A. ramosa*), *R. arrhizus* (como *R. oryzae*) e *R. microsporus*.

Santiago & Souza-Motta (2006), visando comparar e estimar a riqueza de espécies de Mucorales em áreas impactadas pela mineração de cobre no município de Jaguari, Bahia, identificaram 46 espécimes distribuídos em seis espécies: *L. hyalospora* (como *A. hyalospora* e *A. blakesleeana* Lendn.), *A. cylindrospora*, *C. elegans*, *R. microsporus*, *R. arrhizus* (como *R. oryzae*) e *S. racemosum*.

Oliveira *et al.* (2013), em estudo sobre a diversidade de fungos filamentos nos solos da Chapada de São José, Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, isolaram oito espécies de

Mucorales: *A. cylindrospora*, *C. blakesleeana*, *C. vesiculosa* P.C. Misra, *G. butleri*, *M. fuscus*, *R. microsporus*, *R. arrhizus* (como *R. oryzae*) e *S. racemosum*.

Em solos dos municípios de Belém de São Francisco e de Triunfo (semiárido de Pernambuco), Santiago & Maia (2010) reportaram, como primeira ocorrência, para o Brasil, *Apophysomyces elegans* P.C. Misra, K.J. Srivast. & Lata e *Mycotypha microspora* Fenner. Ainda em solos de Caatinga, Santiago *et al.* (2013a) identificaram 19 táxons de Mucorales, pertencentes aos gêneros *Absidia*, *Apophysomyces* Misra, *Cunninghamella*, *Fennellomyces* Benny & R.K. Benjamin, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Mycotypha*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum*.

De Souza *et al.* (2013) reportou cinco táxons de Mucorales: *A. cylindrospora*, *C. blakesleeana*, *C. echinulata*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* e *R. arrhizus* var. *delemar* de solo do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE.

Santiago *et al.* (2014) descreveram uma nova espécie, *Lichtheimia brasiliensis* A.L. Santiago, Lima & Oliveira, isolada de solo no município de Araripina, Pernambuco, Brasil, ampliando o conhecimento sobre a diversidade desse grupo de fungos em regiões semiáridas.

2.4.1.1 Mucorales coprófilos do semiárido brasileiro

Os Mucoráceos desempenham um papel essencial nos processos iniciais de reciclagem, colonizando primariamente os substratos, degradando açúcares simples (Alves, 2002). Em excrementos de herbívoros, a sucessão fúngica foi documentada por vários autores (Trufem, 1978; Trufem & Viriato, 1985; Foos *et al.*, 2001; Richardson, 2001). Os Mucorales muitas vezes são o primeiro grupo a surgir, seguido por Ascomycetes e Basidiomycetes (Dix & Webster, 1995). Embora autores tenham documentado a ocorrência de Mucorales coprófilos no Brasil (Batista, 1948; Batista & Pontual, 1948; Batista *et al.*, 1955; Batista *et al.*, 1961a,b,c; Trufem, 1984; Trufem & Viriato, 1985; Viriato & Trufem, 1985; Richardson, 2001b; Alves *et al.*, 2002; Santiago *et al.*, 2008; Melo *et al.*, 2011; Santiago *et al.*, 2011), relatos sobre a diversidade e das interações ecológicas desses fungos no domínio semiárido são escassos. Atualmente, o único registro desses fungos para o semiárido brasileiro se limita aos dados de Lima (2014), que reportou 11 táxons de Mucorales em fezes de bovinos, caprinos e ovinos do Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil: *A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *C. muscae*, *L. ramosa*, *M. hiemalis*, *P. crystallinus*, *P. kleinii*, *P. lentiger*, *P. longipes*, *R. arrhizus* var. *arrhizus*, *R. microsporus* e *S. racemosum*.

2.5 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos compõem uma classe de moléculas que apresentam uma cadeia carbônica apolar e um grupo carboxila polar (RCOOH). Podem ser constituídos de 4 a 36 átomos de carbono,

sem ramificação, embora comumente apresentem entre de 16 e 18 átomos de carbono. Na natureza são encontrados na forma saturada, compostos de ligações simples e de cadeias planas, e na forma insaturada, organizados por uma ou mais duplas ligações, podendo apresentar, em alguns casos, uma curva em sua cadeia carbônica (Nelson & Cox, 2011).

A presença dos ácidos graxos saturados e insaturados configura um papel essencial na membrana citoplasmática dos organismos, estando esses ácidos associados à determinação da fluidez dos compostos presentes na porção externa à membrana. São atribuídas aos ácidos graxos as funções energética e de reserva metabólica, além estarem associados à formação de hormônios e de sais biliares (Valenzuela & Nieto, 2003). Os ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos cujas moléculas possuem duas ou mais duplas ligações, atuam na regulação da arquitetura, dinâmica e fase de transmissão da membrana celular, modulando o comportamento de proteínas constituintes das membranas, incluindo receptores, ATPases, proteínas transportadoras e canais de íons (Sorger, 2003; Ratledge, 2004).

Os ácidos graxos essenciais, como o linoléico (LA, 18:2 ω -6) e o γ -linolênico (ALA, ω -3), são sintetizados principalmente pelos vegetais, sendo, portanto, incorporados à dieta humana, suprimindo sua demanda nutricional. O ácido γ -linolênico é encontrado nos óleos de sementes de plantas das famílias Oenotheraceae ou Boraginaceae. Entretanto, algumas espécies de fungos podem produzir ácidos graxos, destacando-se os insaturados, como γ -linolênico e araquidônico (AA). O primeiro é de interesse farmacológico, pois é precursor das prostaglandinas e o segundo precursor de eicosanóides que são compostos envolvidos em processos inflamatórios (Somashekara *et al.*, 2002; Pompéia, 2002; Vaz *et al.*, 2006).

2.5.1 Ácidos graxos microbianos na produção de biodiesel

Microrganismos que acumulam entre 20-25% de lipídeos em sua biomassa são geralmente referidos como espécies oleaginosas (Ratledge, 2002). Na maioria dos casos, os óleos provenientes de microrganismos apresentam-se na forma de triglicérides, que são também um dos principais componentes dos óleos vegetais e de gorduras animais, tradicionalmente utilizados na produção de biodiesel. Desta maneira, o conteúdo lipídico microbiano pode ser potencialmente utilizado como matéria prima para a produção de biodiesel (Vicente *et al.*, 2009).

Muitas espécies de microalgas, fungos filamentosos e de leveduras oleaginosas têm sido reportadas pelo fato de acumularem quantidades significativas de lipídeos similares aos observados nos óleos vegetais (Aggelis & Sourdis, 1997; Alvez & Steinbuchel, 2002). Particularmente, as microalgas foram citadas pela capacidade de captura e conversão do dióxido de carbono em lipídeos, utilizando luz solar, atraindo atenção e investimentos recentes para a produção de biocombustíveis, devido à maior produtividade de óleo e ao crescimento mais rápido em

comparação com as culturas energéticas convencionais (Chisti, 2007; Li *et al.*, 2008). Entretanto, estes microrganismos fotossintéticos apresentam problemas associados ao crescimento em sistemas de biorreatores, devido à necessidade de fornecimento de luz e de grandes áreas cultivadas. Além disso, segundo Chisti (2007), a economia da produção de biodiesel a partir de microalgas precisa melhorar para se tornar competitiva em relação ao diesel. Em contraste, os níveis elevados de acumulação de lipídeos por fungos e leveduras, a excelente produção de biomassa durante cultivo submerso em biorreatores usando diferentes fontes de carbono (McIntyre *et al.*, 2002) e um maior rendimento na produção de biomassa, reduzindo o custo de produção, favorecem a utilização desses microrganismos para a produção de biodiesel (Ratledge, 2004; Li *et al.*, 2008).

Muitas espécies de fungos e leveduras são consideradas oleaginosas desde 1980 (Abraham & Srinivasan, 1984). Algumas leveduras, como *Rhodospiridium* I. Banno, *Rhodotorula* F.C. Harrison e *Lipomyces* Lodder & Kreger-van Rij, são capazes de acumular até 70% de lipídeos intracelulares da própria biomassa seca. *Cryptococcus curvatus* (Diddens & Lodder) Golubev foi reportada como uma das mais eficientes para a produção de óleos microbianos, acumulando mais de 60% de lipídicos em seu micélio. Estes lipídeos são geralmente constituídos de 90% de triacilglicerol, com uma porcentagem de ácidos graxos saturados entorno de 44%, percentuais similares aos observados em sementes de muitas plantas. Esse microrganismos acumulam triacilglicerol ricos em ácidos graxos insaturados, como oléico (18:1) e linoléico (18:2) (Meng *et al.*, 2009).

2.6 PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS POR MUCORALES

A utilização dos fungos filamentosos em processos fermentativos tem sido bastante reconhecida, tendo esses microrganismos sido utilizados para a produção dos ácidos cítrico, linolênico, oxálico e láctico, na produção de antibióticos e de componentes alimentares e enzimas (Gibbs *et al.*, 2000; Ratledge, 2004; Li *et al.*, 2008). Dentre esses fungos, as espécies pertencentes à ordem Mucorales tem atraído considerável atenção em processos biotecnológicos. Esses microrganismos são capazes de crescer em diferentes temperaturas, taxas de oxigenação, e concentrações hidrogeniônicas. Dadas as suas propriedades estruturais, fisiológicas, bioquímicas e genéticas, os Mucorales apresentam-se como promissores para a produção de uma grande variedade de metabólitos, incluído ácidos orgânicos e enzimas, além de acumularem ácidos graxos na membrana plasmática que são utilizados na produção dos biocombustíveis, como o bioetanol e biodiesel (Ferreira *et al.*, 2013).

Durante as últimas décadas, as refinarias de petróleo têm prevalecido, quando comparadas às rotas microbinas na produção da química fina. A instabilidade do preço do petróleo bruto, a projetada redução no abastecimento e o maior reconhecimento das consequências ambientais da

utilização dos combustíveis fósseis têm mudado o quadro atual, atraindo o interesse de pesquisadores na busca de novas fontes de energia que possibilitem a substituição de refinarias de petróleo por biorrefinarias, com base em matérias primas renováveis (Meng *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2013).

Nesse contexto, a produção de ácidos graxos polinsaturados por Mucorales tem sido reportada, destacando espécies de *Cunninghamella* (Gema *et al.*, 2002; Fakas *et al.*, 2006), *Mortierella* (Xian *et al.*, 2003; Zhu *et al.*, 2006) e *Mucor* (Ahmed *et al.*, 2006; Jeennor *et al.*, 2006). Liu *et al.* (2007) descreveram a metanólise a partir de *Umbelopsis isabelina*, destacando as perspectivas de utilização dessa espécie para a produção de biodiesel.

Weete *et al.* (1998) observaram uma variação na composição de 34,8 a 61,9% do total de ácidos graxos em *C. simplex* (42,0%), *M. indicus* (34,8%), *Syzygites megalocarpus* Ehrenb. (61,9%) e *M. moelleri* Lendn. (como *Z. moelleri*) (42,0%).

Conti *et al.* (2001) estudaram a produção de ácido γ -linolênico (ALA, ω -3) por linhagens de Mucorales utilizando como substratos cevada, milho, trigo e arroz. Os autores avaliaram os efeitos da temperatura, umidade, composição do substrato em estudos preliminares em escala piloto. Observaram que a melhor produção de AGL ocorreu com a utilização semente de malte, cevada e óleo de amendoim (5:15:0,5), utilizando *C. elegans* a 21° C e umidade do meio de 66,7%, por 168 horas. Nestas condições, foram obtidos 15,9% de óleo no substrato cultivado e 13,4 mg.g⁻¹ de AGL no substrato seco, o que corresponde a 13,8%.

Gema *et al.* (2002) utilizaram casca de laranja cultivada com *C. echinulata* para a produção de AGL. No experimento, ocorreu o incremento de 0,5 g.Kg⁻¹ de (NH₄)₂SO₄ adicionadas de 10 g.Kg⁻¹ de glicose, a 28° C. Foi verificada a produção de 12,6 mg.10g⁻¹ de AGL do substrato seco, correspondendo a 5,6% do AGL no óleo total que correspondeu a 22,3 mg.g⁻¹ do peso seco do substrato.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ÁREA DE COLETA

As amostras de excrementos de herbívoros foram coletadas no Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) de Sertânia-PE [(8°03'38" S; 37°13'32" O), sendo os excrementos procedentes de caprinos (*Capra hircus* L.), raças Anglo Nubiana e Moxotó, e ovinos (*Ovis Arires* L.), raça Santa Inês e Morada Nova]. Em Arcoverde-PE [(8°25'00" S; 37°04'00" O) os excrementos foram procedentes de bovinos (*Bos taurus* L.), raças: Holandesa, Girolando e Sindi]. As amostras de excrementos de Guzerá Leiteiro (*Bos taurus* L.) foram coletados na fazenda do IPA no município de Serra Talhada-PE (7°95'67" S; 38°29'71 O).

3.2. COLETA DAS AMOSTRAS DE EXCREMENTOS

Os excrementos de cada animal foram coletados com o auxílio de espátula e/ou pinça, previamente esterilizadas e acondicionadas em sacos de papel celofane autoclavados e, em seguida, levados ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, para manipulação. Imediatamente após cada coleta, as amostras frescas de excrementos foram transferidas para recipientes térmicos com gelo por, no máximo, 24 horas até a incubação. Uma coleta mensal dos excrementos de cada animal foi realizada durante oito meses consecutivos entre setembro de 2013 e abril de 2014. As coletas foram realizadas no período da manhã, geralmente após a primeira alimentação dos animais.

3.3. ISOLAMENTO DOS MUCORALES

Para o isolamento dos Mucorales as amostras de excrementos de cada animal foram distribuídas em cinco pontos equidistantes, em placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada esterilizada (câmara úmida). O crescimento das colônias foi acompanhado por 15 dias, a temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), em períodos alternados de luminosidade e obscuridade (Santiago *et al.*, 2011). Fragmentos das colônias crescidas foram transferidos para placas com meio ágar extrato de malte (MEA) (O' Donnell, 1979) adicionado de cloranfenicol (100 mg/L^{-1}) e, após crescimento, transferidos para tubos de ensaio contendo o mesmo meio de cultura sem o antibiótico.

Os espécimes foram identificados pela observação das características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas), de acordo com as descrições de Nand & Mehrotra (1977), Benny (1982), Schipper (1978, 1984, 1990), Hu *et al.* (1989), Domsch *et al.* (1993), Hesseltine & Fennel (1995), Zheng & Chen (2001), Hoffmann *et al.* (2007), Zheng *et al.* (2007) e Santiago *et al.* (2008).

3.4. FREQUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DOS MUCORALES

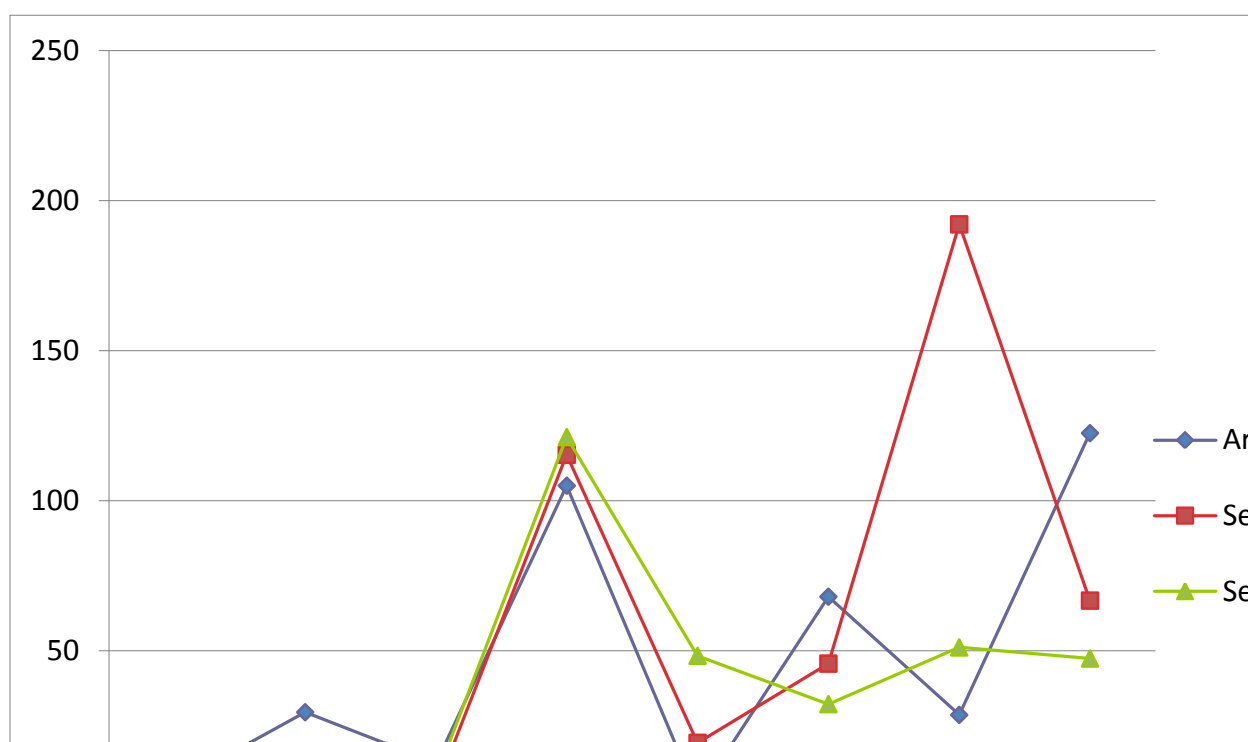
A frequência de ocorrência (FO) das espécies foi estimada segundo a equação: $FO = J_i/k$, em que FO = frequência de ocorrência da espécie i, J_i = número de amostras nas quais a espécie i ocorreu. K = número total de amostras de excremento.

3.5. ALIMENTAÇÃO DOS HERBÍVOROS E DADOS PLUVIOMÉTRICOS

Os dados pluviométricos dos meses de coleta e a composição alimentícia dos animais foram fornecidos pela administração do IPA (Figura 1, Tabela 1) (http://www.ipa.br/indice_pluv.php).

Tabela 1: Alimentação fornecida aos animais herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

Herbívoros (Raças)	Alimentação			
	Siagem de cana	Silagem de milho	Sal mineral	Pasto
Anglo Nubiano	-	+	-	-
Moxotó	-	+	-	-
Santa Inês	-	+	-	-
Morada Nova	-	+	-	-
Holandês	+	-	+	-
Sindi	+	-	+	+
Girolando	+	-	+	-
Guzerá	-	-	-	+

Figura 1 – Pluviosidade média mensal (mm) nos Municípios de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE durante o período de coleta dos excrementos dos animais herbívoros.

Fonte: Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA)

3.6. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DA BIOMASSA DOS MUCORALES

3.6.1. Condições de cultivo e de crescimento

Os inóculos utilizados para o crescimento em meio líquido foram obtidos a partir de culturas crescidas em placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA) (Lacaz, 2002), durante cinco dias a 28°C. Após este período cinco blocos de gelose foram transferidos para frascos de Erlenmeyer (capacidade de 250 mL) contendo 100 mL de meio extrato de malte líquido e incubados a 28°C por 7 dias, sob rotação (240 g). Ao final do cultivo a biomassa foi obtida por filtração, lavada para remoção do meio e do resíduo, congelada e liofilizada para a extração de ácidos graxos.

Por serem coprófilas obrigatórias e de difícil cultivo em meios de cultura, as espécies de *Pilobolus* foram desconsideradas quanto à produção de ácidos graxos no presente estudo.

3.6.2. Extração e quantificação dos ácidos graxos

Os ácidos graxos foram convertidos em metil ésteres de acordo com Durhamand Kloos (1978). Da biomassa liofilizada, 10 mg foram transferidos para tubos de ensaio com tampa e suspensos em 3 mL de uma solução de trifluoreto de boro em metanol a 14%. Em seguida, foram suspensos em 3 mL de hexano e incubados a 60°C por 12 horas. Após a incubação, 3 mL de água destilada foram adicionados, agitados no vórtex por 5 minutos e o extrato obtido correspondeu aos ácidos graxos. A mistura foi centrifugada a 1.700 g por 10 minutos a 4°C. Os metil ésteres de ácidos graxos em n-hexano foram filtrados em filtros de 0.45 µm e analisados em cromatógrafo gasoso (CG). Foi utilizado um cromatógrafo modelo Agilent Technologies-7890A com injetor automático e equipado com detector de ionização de chama, coluna capilar de sílica fundida HP-5 (5% de difenil e 95% de dimetilpolisiloxano), 30 m x 0,25 mm disponibilizado pelo Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE. A temperatura do forno da coluna seguiu a seguinte rampa de aquecimento: temperatura inicial de 150°C por 4 min aumentando numa razão de 4°C min⁻¹ até chegar a 250°C, assim permanecendo por 20 min. As temperaturas do detector e do injetor foram de 280°C, tendo hélio (1cm³ min⁻¹) como gás de arraste. Os ésteres metílicos foram identificados pela comparação com tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma Aldrich) e a quantidade relativa de cada ácido graxo foi determinada pela comparação da área do pico com áreas de picos de amostra do padrão de ácidos graxos. A quantificação foi realizada partindo do princípio de que o pico de total domínio representa 100% dos ácidos graxos, excluindo o solvente.

3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Diferenças nas associações de espécies dos Mucoromycotina entre os excrementos dos animais foram avaliadas pela Análise de Similaridade (ANOSIM Primer 5.2.4), de acordo com Clarke & Warwick (1994). Diferença significativa entre a quantidade de espécies de Mucorales encontradas em excrementos das diferentes raças de animais na área de trabalho e a riqueza específica dos Mucorales coprófilos foram avaliadas segundo o teste de χ^2 de adequação de ajuste com proporções esperadas iguais, segundo a seguinte formula: $\chi^2 = \sum [(o - e)^2 / e]$, em que: o = frequência observada para cada classe; e = frequência esperada para aquela classe. Para as análises o nível de significância foi de 0,05.

Para o conhecimento da intensidade da concordância entre os ácidos graxos foi utilizada a medida Kappa (R Verson 3.1.2) (Cohen 1960), que se baseia no número de respostas concordantes, ou seja, no número de casos cujo resultado é o mesmo entre os juízes. O Kappa é uma medida que mede o grau de concordância além do que seria esperado tão somente pelo acaso. Esta medida de concordância tem como valor máximo o 1, que representa total concordância, enquanto os valores próximos e até abaixo de 0 indicam nenhuma concordância, ou que a concordância foi exatamente a esperada pelo acaso. O valor da estatística de Kappa é definido como:

$$\kappa = \frac{P_r(a) - P_r(e)}{1 - P_r(e)}$$

em que $P_r(a)$ = concordância observada relativa entre os avaliadores, e $P_r(e)$ = probabilidade hipotética da concordância ocorrer por acaso.

Para a análise de agrupamento da composição dos ácidos graxos foram utilizadas técnicas de análises multivariadas que têm como primeiro objetivo reunir objetos baseando-se em suas características. Nessa classificação, o grupo formado deve ter um alto grau de homogeneidade interna e elevada heterogeneidade externa, chamadas de “within-cluster” e “between-cluster”, respectivamente. Essa formação de grupos é feita utilizando-se as medidas de similaridade e as medidas de distância (dissimilaridades) (Anderson, 1984).

Para a testar a similaridade e dissimilaridade (R Verson 3.1.2), quanto à composição de ácidos graxos das espécies, foi utilizado o Estimador do Coeficiente de Correlação Phi (Yule, 1912), a partir do estimador do Coeficiente Linear de Pearson (Pearson, 1892, 1895), empregado no caso em que ambas as variáveis são dicotômicas. Sejam X e Y duas variáveis binárias, pode-se associar essas duas variáveis pela seguinte tabela de contingência:

	$Y = 0$	$Y = 1$	Total
$X = 0$	n_{00}	n_{01}	n_{0*}
$X = 1$	n_{10}	n_{11}	n_{1*}
Total	n_{*0}	n_{*1}	n

$$\phi = \frac{n_{11}n_{00} - n_{10}n_{01}}{\sqrt{n_{1*}n_{0*}n_{*0}n_{*1}}}$$

Desta forma, o valor da correlação é definido por ϕ , em que n_{11}, n_{00}, n_{10} e n_{01} são contagens não negativas de número de observações que resumem n , o número total de observações.

Esta é uma medida de similaridade própria para casos em que as variáveis sob estudo são binárias. Tem-se que, quanto maior for a correlação, maior será a similaridade entre os objetos.

Para testar a similaridade entre as diferentes espécies, não apenas quanto a presença ou ausência de determinados ácidos graxos, mas em relação às abundâncias de cada tipo de ácido em cada espécie, utilizou-se o Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis (1957) (R Verson 3.1.2), em que 0 e 1 correspondem ao máximo e mínimo de similaridade entre as espécies, respectivamente. Esse cálculo é baseado nas diferenças absolutas e nas somas das abundâncias de cada ácido graxo entre duas espécies diferentes, segundo a seguinte fórmula:

$$D_{A-B} = \frac{\sum |x_{Ai} - x_{Bi}|}{\sum (x_{Ai} + x_{Bi})}$$

Os espécimes foram agrupados de acordo com a composição dos ácidos graxos pelo método da Mínima Variância de Ward (Ward, 1963), que consiste em minimizar a perda de informação na hierarquização de grupos e que é representada pelo aumento da soma dos erros ao quadrado - ESS (“Error Sum of Squares”). Logo, cada grupo terá um ESS_k , que representa a soma dos desvios de cada elemento do grupo. Assim ESS seria a soma dos desvios de todos os grupos, desta forma, tem-se:

$$ESS = ESS_1 + ESS_2 + \dots + ESS_k$$

$$ESS = \sum_{j=1}^n [(X_j - \bar{X})' (X_j - \bar{X})]$$

O Teste Lambda de Wilks (R Verson 3.1.2) foi utilizado para confirmar o agrupamento, de acordo com a composição dos ácidos graxos de cada espécie. A estatística Λ de Wilks (WILKS,

1938) é uma medida inversa ao grau de diferenciação entre os grupos, ou seja, quanto menor o seu valor, maior o grau de diferenciação. Esta estatística é dada por:

$$\Lambda = \frac{|W|}{|T|}$$

Em que $|W|$ é a medida de variabilidade dentro dos grupos e $|T|$ a medida de variabilidade total.

Quanto maior a semelhança entre os dois determinantes, menores serão as diferenças entre os grupos e o valor de Λ de Wilks se aproximará de 1.

3.8. EXTRAÇÃO DO DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO

Foi realizado sequenciamento da região LSU do rDNA para confirmação molecular dos espécimes que apresentaram identificação morfológica inconclusiva. A biomassa dos espécimes foi obtida de culturas puras crescidas em placas de Petri com MEA, de onde o micélio foi transferido para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de 0,5 g de pérolas de vidro para a trituração do material por agitação em alta velocidade em um FastPrep®-24 (MP Biomedicals). Após a trituração do material foi realizada a extração do DNA genômico conforme Góes-Neto *et al.* (2005). Para a amplificação da região LSU do rDNA, foram utilizados os primers LR1/LSU2 (van Tuinen *et al.* 1998; Santiago *et al.*, 2013). As reacções de PCR foram realizadas em um volume de 50 µL contendo 75 mM de Tris-HCl, pH 8,8, 200 mM de (NH₄)₂SO₄, 0,01% de Tween 20, 2 mM de MgCl₂, 200 µM de cada dNTP, 1 µM de cada iniciador e 2 unidades de TaqTM DNA polimerase (Fermentas, Maryland, EUA). Os parâmetros dos ciclos foram: 5 min a 95 °C (1 ciclo), 45 s a 94 °C, 1 min a 60 °C, 1 min a 72 °C (39 ciclos), e um alongamento final de 7 minutos a 72 °C (Santiago *et al.*, 2014). Os produtos amplificados foram purificados com “PureLink – PCR Purification Kit – Invitrogen”. As sequências foram enviadas à Plataforma de Sequenciamento do centro de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, tendo os resultados sido comparados com a biblioteca de genes (GenBank) utilizando o Blastn. As sequências gênicas foram alinhadas utilizando-se o CLUSTALX (Larkin *et al.* 2007) e editadas pelo BioEdit (Hall 1999), tendo a Análise Bayesiana sido realizada pelo MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003).

4. RESULTADOS

Vinte e quatro táxons de Mucorales, pertencentes a oito gêneros, foram identificados nos excrementos de ovinos, caprinos e bovinos: *Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*, *Circinella muscae*, *Cunninghamella echinulata* var. *echinulata*, *Lichtheimia brasiliensis*, *L. ramosa*, *Mucor circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. hiemalis*, *M. indicus*, *M. irregularis*, *M. luteus*, *M. racemosus* f. *racemosus*, *M. ramosissimus*, *M. variosporus*, *Pilobolus crystallinus*, *P. kleinii*, *P. longipes*, *P. minutus*, *P. oedipus*, *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus*, *R. stolonifer* e *Syncephalastrum racemosum* (Figuras 2, 3, 4, 5 e 6). Dentre as amostras de excrementos analisadas, o maior número de táxons foi observado nas fezes de ovinos da raça Morada Nova (14 táxons), seguido por outro ovino da raça Santa Inês (12), e os bovinos das raças Holandês (10) e Girolando (8). Menor riqueza de espécies foi observada nas amostras de excrementos do bovino Guzerá (3) (Tabela 2). Dos oito gêneros identificados, *Mucor* apresentou o maior número de espécies (8 espécies = 31,8%), seguido por *Pilobolus* (5 espécies = 22,7%) (Figura 7). Uma chave de identificação para espécies de Mucorales coprófilos de uma região semiárida do Brasil está sendo fornecida.

Mucor circinelloides f. *griseocyanus* ocorreu nos excrementos dos caprinos, bovinos e ovinos analisadas, apresentando a maior frequência de ocorrência (F.O. = 59,35%), seguida por *M. ramosissimus* (F.O. = 32,8%) e por *M. circinelloides* f. *circinelloides* (F.O. = 31,25%). *C. echinulata* var. *echinulata*, *M. irregularis*, *P. minutus* e *R. arrhizus* var. *arrhizus* foram menos frequentes (F.O. = 1,56%; Tabela 3). Considerando-se os excrementos inventariados de cada raça de herbívoro, a raça Morada Nova (ovino) apresentou a maior frequência de ocorrência Mucorales (F.O. = 78,08%), seguida pela raça Holandês (bovino) (F.O. = 39,03%). *Mucor circinelloides* f. *griseocyanus* foi mais frequente em Morada Nova (F.O. = 23,43%), seguida de *M. ramosissimus* (F.O. = 18,75%). Os excrementos da raça Guzerá (bovino) apresentaram a menor frequência de ocorrência de espécies de Mucorales (F.O. = 12,49%; Tabela 3).

De acordo com o teste de χ^2 de adequação de ajuste com proporções esperadas iguais, não houve diferença significativa na riqueza de espécies ($p = 0.0926$) de Mucorales isolados dos excrementos das diferentes raças de animais. No entanto, diferenças significativas no número de espécies isoladas dos excrementos entre os meses de amostragem foram observadas ($p = 0,0458$).

A maioria dos Mucorales indentificados ocorreu nas fezes caprinos, bovinos e ovinos, excetuando-se *C. echinulata* var. *echinulata*, *M. irregularis* e *P. minutus*, que foram encontradas apenas em excrementos de bovinos. *Lichtheimia ramosa* ocorreu apenas em fezes de caprinos da raça Moxotó. *Lichtheimia brasiliensis*, *M. indicus*, *M. variosporus*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* e *R.*

stolonifer foram observadas colonizando apenas fezes de ovinos. Maior número de táxons ocorreu em outubro de 2013 (12 táxons), dezembro de 2013 (10) e setembro de 2013 (8), Tabela 5.

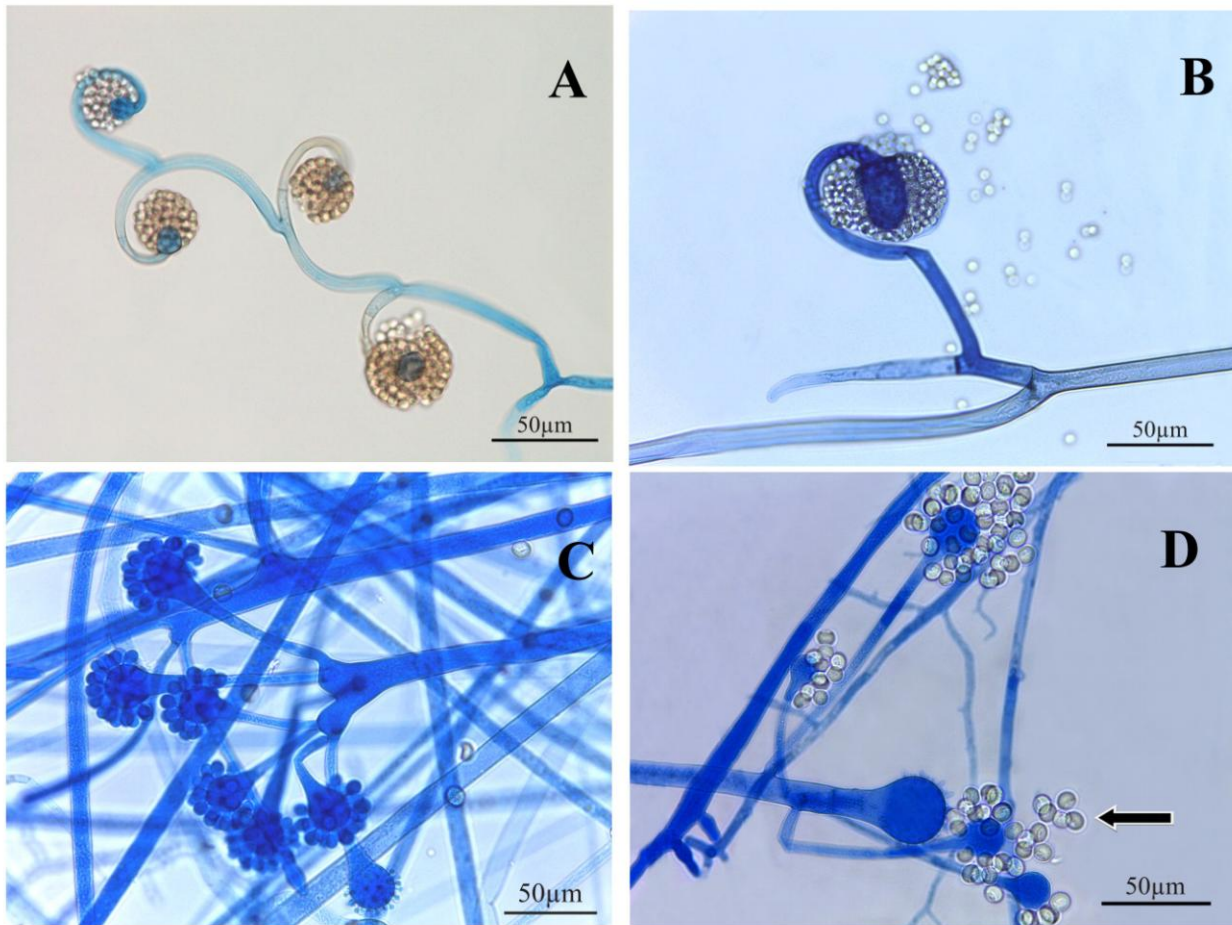
Análise de similaridade de Bray Curtis evidenciou maior similaridade entre os excrementos de bovinos e caprinos e entre os de bovinos e ovinos (66,66%). Menor similaridade foi verificada entre os excrementos de caprinos e ovinos (60%) (Tabela 6). Quanto à similaridade entre as raças, a composição das espécies foi mais similar entre os bovinos Guzerá e Sindi (75%), seguidos por bovinos Girolando e ovinos Morada Nova (63,63%) e ovinos Morada Nova e caprinos Anglo-Nubiana (60%) (Tabela 7, Figura 8). De acordo com a árvore filogenética, construída com base nas sequências da região LSU2 rDNA dos isolados sequenciados e com as sequências de *Mucor* obtidas no GenBank, as espécies de *Mucor* foram agrupadas em dois grandes clados fortemente suportados: A (Bootstrap = 1,00) e B (Bootstrap = 0,97). O clado B contém dois subclados (B1 e B2) também fortemente suportados (Bootstrap = 1,00). Os isolados LCM10, 14, 15 e 16 foram aninhados basalmente dentro do clado A e correspondem à *M. circinelloides*. O isolado LCM13 foi aninhado no subclado B1, e corresponde ao *M. indicus*, enquanto o isolado LCM5 foi agrupado no subclado B2, tendo sido identificado como *M. irregulares* (Figura 9). Esses dois táxons estão sendo citados pela primeira vez para os neotrópicos.

Os ácidos graxos obtidos após a análise cromatográfica, bem como as concentrações relativas dos mesmos, estão discriminados na Tabela 8. Os ácidos palmítico e oléico foram observados em todas as espécies analisadas. Com exceção de *S. racemosum* todas as espécies identificadas apresentaram ácido linolênico em sua biomassa. O ácido oléico mostrou maiores concentrações em *M. circinelloides* f. *griseocyanus* (53,41%) e em *C. echinulata* var. *echinulata* (40,73%). Dentre as espécies inventariadas *C. muscae* apresentou a maior concentração do ácido palmítico (28,86%), seguida por *M. racemosus* f. *racemosus* (23,86%). O ácido miristoléico foi o menos concentrado (0,35%), seguido do ácido cetoléico (0,37%) na biomassa de *L. brasiliensis*. No entanto, *L. brasiliensis* foi o táxon que apresentou a composição de ácidos graxos mais variada dentre as espécies avaliadas, sendo identificados 11 tipos distintos com perfis de ácidos saturados, insaturados e poliinsaturados. A composição de ácidos graxos menos variada foi verificada para *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii* e *S. racemosum*, todas com quatro tipos distintos de ácidos graxos nas suas biomassas. De acordo com a análise de concordância – Kappa e a Análise de Agrupamento da composição dos ácidos graxos, segundo o Coeficiente de Correlação Phi, Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis e a Técnica de Ward, *L. brasiliensis* apresentou uma alta dissimilaridade na composição dos ácidos, formando um “cluster” separado com elevado grau de homogeneidade interna e elevada heterogeneidade externa (Figura 10).

Os maiores índices de similaridade foram observados entre *M. racemosus* f. *racemosus* e *M. ramosissimus* (k=1; p=0), seguidos de *C. echinulata* e *M. circinelloides* f. *lusitanicus* (k=0,85; p=0)

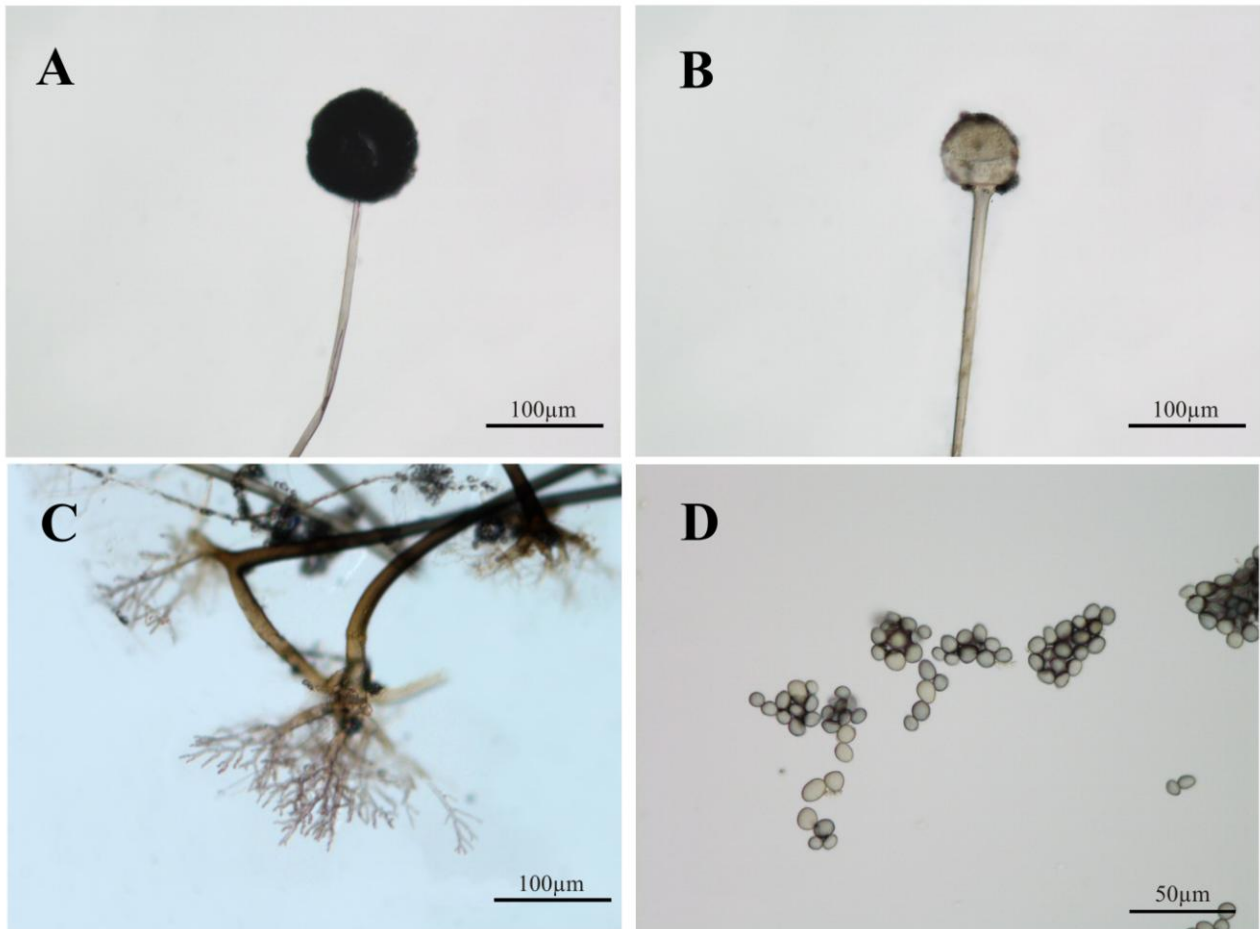
(Figura 10). Quanto às diferenças na concentração de ácido oléico dos diferentes táxons isolados, *M. circinelloides* f. *griseocyanus* e *L. brasiliensis* foram os que apresentaram maior dissimilaridade ($\Delta = 0,027$) (Figura 11). Os mais elevados índices de dissimilaridade, quanto à concentração de ácido palmítico, foram observados em *C. muscae* e *L. brasiliensis* ($\Delta = 0,048$) (Figura 12). A concentração dos ácidos graxos de *M. indicus* e *M. irregularis* não foi fornecida pelo CETENE devido a problemas técnicos com equipamentos.

Figura 2: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. *Circinella muscae*: A – Esporangióforos circinados com esporângios; B – Esporangióforo circinado com espinho estéril. *Cunninghamella echinulata*: C – Esporóforos com esporangiólos uniesporados aderidos à columela; D – Esporóforos com vesícula exposta e esporangiólos liberados (seta).



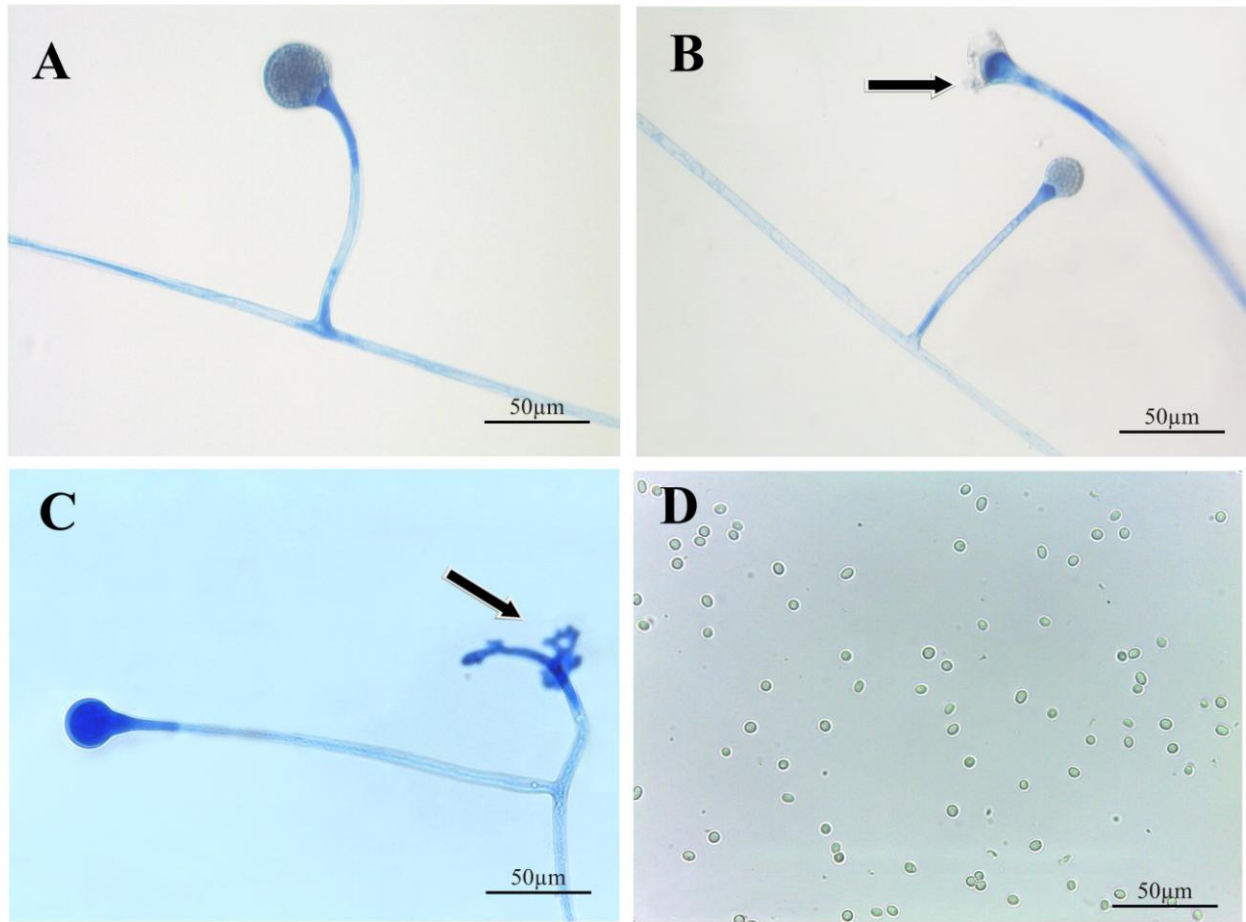
Fonte: de Souza, 2015.

Figura 3: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. *Rhizopus stolonifer*: A – Esporangióforo com o esporângio; B – Esporangióforo com a columela evidente; C – Rizóides; D – Esporangiósporos.



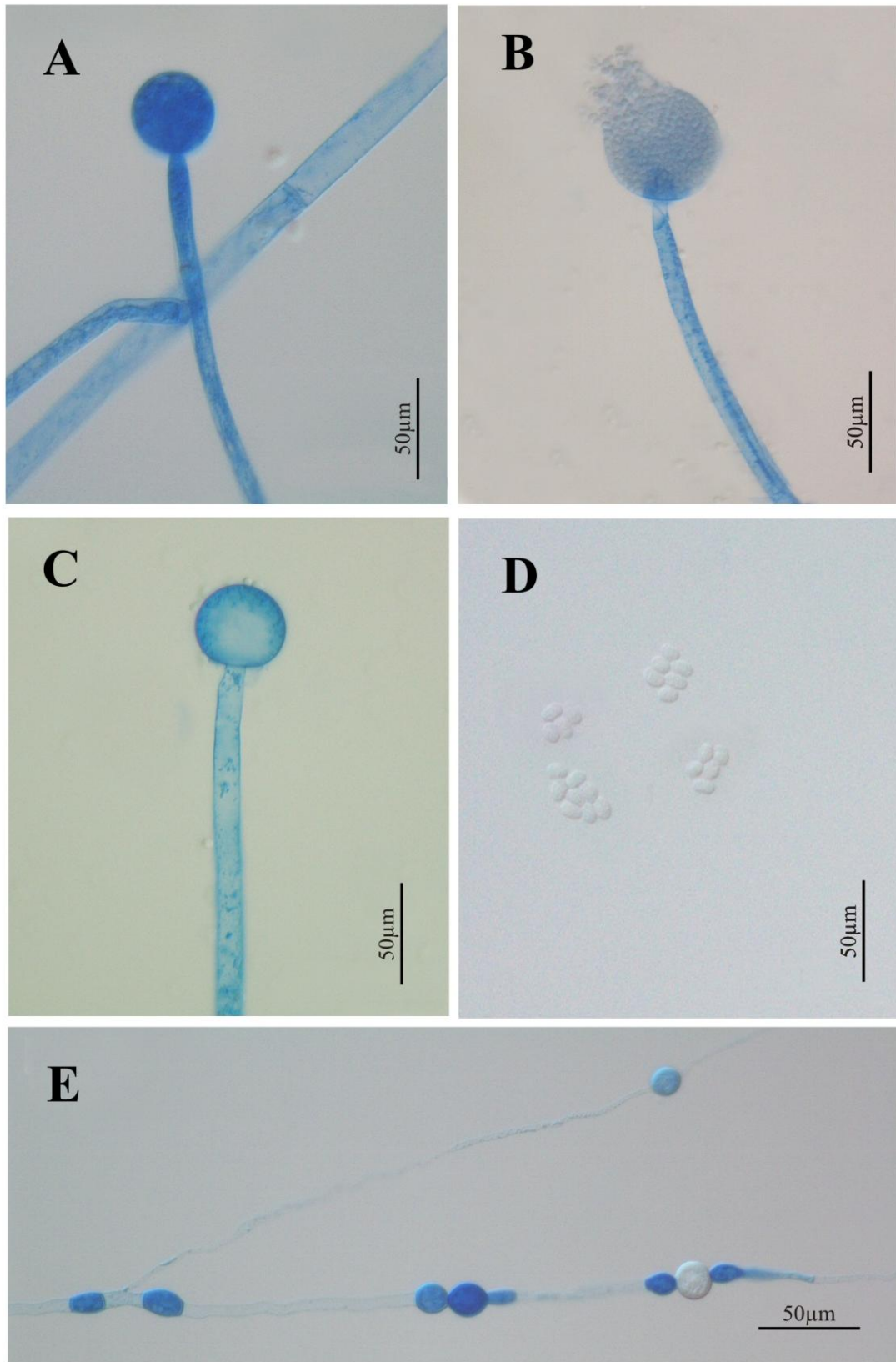
Fonte: de Souza, 2015.

Figura 4: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. *Lichtheimia brasiliensis*: A - Esporangióforo com o esporângio; B – Esporangióforo com columela e colar evidente (seta); C – Esporangióforo e rizóide (seta); D – Esporangiósporos.



Fonte: de Souza, 2015.

Figura 5: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. *Mucor indicus*: A - Esporangióforo com esporângio imaturo; B - Esporangióforo com esporângio rompido; C - Esporangióforo com columela evidente; D - Esporangiósporos; E - Clamidósporos.



Fonte: de Souza, 2015.

Figura 6: Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. *Mucor irregularis*: A - Esporangióforo com esporângio; B - Columela; C - Clamidósporos; D - Esporangiósporos; E - Rizóides.

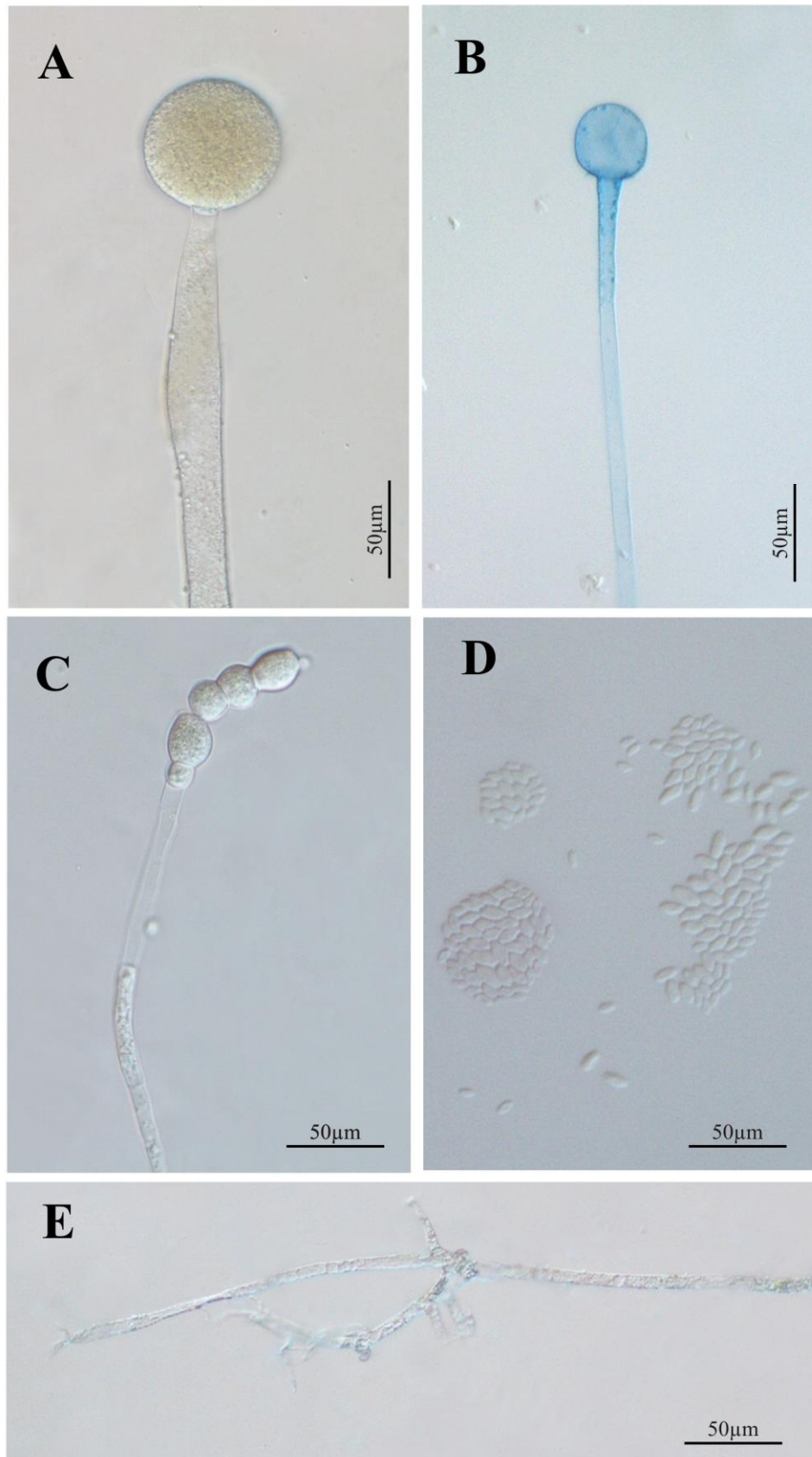
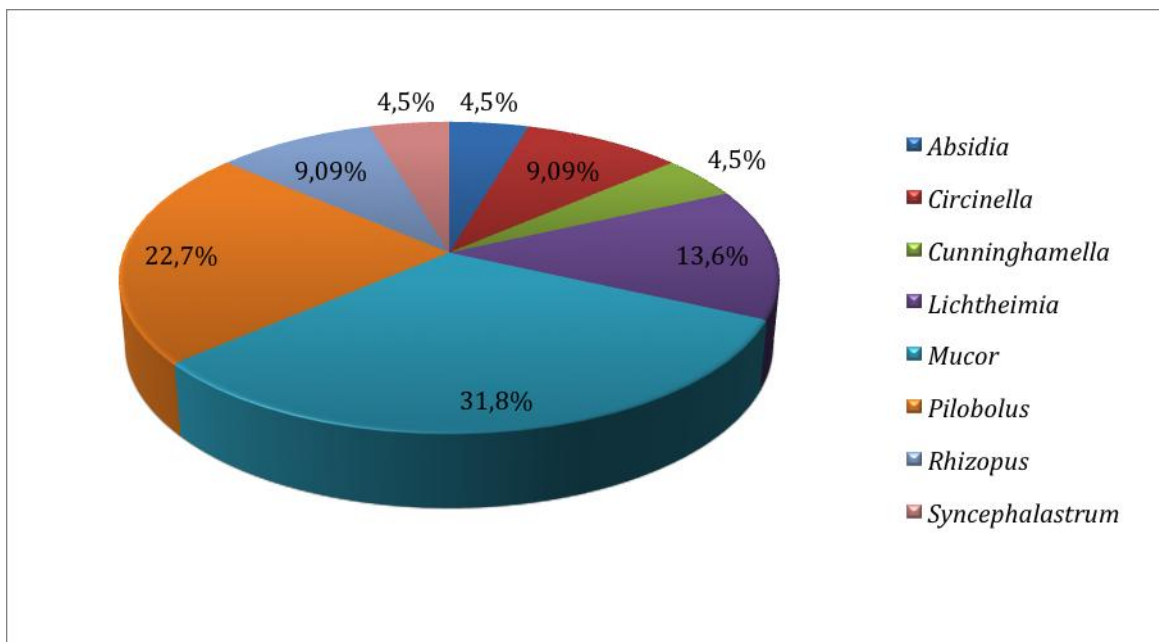


Tabela 2: Riqueza de espécies de Mucorales nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

Mucorales	Excrementos							
	Bovino				Caprino		Ovino	
	Girolando	Guzerá	Holandês	Sindi	Anglo-nubiana	Moxotó	Morada Nova	Santa Inês
<i>Absidia cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i> Hagem	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Circinella muscae</i> (Sorokin) Berl. & De Toni	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Cunninghamella echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt. ex Blakeslee	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Lichtheimia brasiliensis</i> A.L. Santiago, Lima & Oliveira	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>L. ramosa</i> (Zopf) Vuill.	-	-	-	-	-	+	-	+
<i>Mucor circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i> Tiegh.	-	-	+	-	+	-	+	+
<i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i> (Hagem) Schipper	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i> (Lendn) Schipper	+	-	-	-	-	+	+	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i> Bruderl Schipper	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>M. hiemalis</i> Wehmer	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>M. indicus</i> Lendn.	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>M. irregularis</i> Stchigel, Cano, Guarro & Ed. Álvarez	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>M. luteus</i> Linnem	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>M. racemosus</i> f. <i>racemosus</i> Fresen.	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>M. ramosissimus</i> Samouts.	+	-	+	-	-	+	+	-
<i>M. variosporus</i> Schipper	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Pilobolus crystallinus</i> Tode	+	+	-	+	-	-	+	+
<i>P. kleinii</i> Tiegh.	-	+	-	+	-	+	-	+
<i>P. longipes</i> Tiegh.	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>P. minutus</i> R.Y. Zheng & G.Q. Chen	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. oedipus</i> Mont.	+	+	-	+	+	-	+	+
<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i> A. Fisch	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>R. stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn ex J. Schröt	-	-	+	-	+	-	+	+
Riqueza de espécies	8	3	10	5	6	7	14	12

+ Ocorrência - Ausência

Figura 7: Porcentagem de ocorrência dos gêneros de Mucorales nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.



Fonte: de Souza, 2015.

Tabela 3: Frequência de ocorrência de Mucorales nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

Mucorales	Bovino	Caprino	Ovino	F.O.
<i>Absidia cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i>	+	-	+	6,25 %
<i>Circinella muscae</i>	+	-	+	18,74%
<i>Cunninghamella echinulata</i>	-	+	-	1,56%
<i>Lichtheimia brasiliensis</i>	-	-	+	3,12%
<i>L. ramosa</i>	-	+	+	4,68%
<i>Mucor circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i>	+	+	+	31,25%
<i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i>	+	+	+	59,35%
<i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i>	+	-	+	6,24%
<i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i>	+	-	+	4,68%
<i>M. hiemalis</i>	-	-	+	3,12%
<i>M. indicus</i>	-	+	+	3,12%
<i>M. irregularis</i>	+	-	-	1,56%
<i>M. luteus</i>	+	+	+	4,68%
<i>M. racemosus</i> f. <i>racemosus</i>	+	-	-	3,12%
<i>M. ramosissimus</i>	+	+	+	32,8%
<i>M. variosporus</i>	-	-	+	4,68%
<i>Pilobolus crystallinus</i>	+	-	+	20,31%
<i>P. kleinii</i>	+	+	+	7,81%
<i>P. longipes</i>	+	+	+	9,37%
<i>P. minutus</i>	+	-	-	1,56%
<i>P. oedipus</i>	+	+	+	14,06%
<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i>	-	-	+	1,56%
<i>R. stolonifer</i>	-	-	+	7,81%
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	+	+	+	12,50%
Total de espécies	16	11	20	

Tabela 4: Frequência de ocorrência (F.O.) de Mucorales nos excrementos das diferentes raças de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

Mucorales	Anglo Nubiana	Moxotó	Santa Inês	Morada Nova	Holandês	Sindi	Girolando	Guzerá
<i>Absidia cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i>	-	-	-	-	6,25%	-	-	-
<i>Circinella muscae</i>	1,56%	4,68%	3,126%	1,56%	4,68%	-	1,56%	-
<i>Cunninghamella echinulata</i>	-	-	-	-	1,56%	-	-	-
<i>Lichtheimia brasiliensis</i>	-	-	3,12%	-	-	-	-	-
<i>L. ramosa</i>	-	3,12%	-	-	-	-	-	-
<i>Mucor circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i>	1,56%	-	1,56%	15,62%	3,12%	-	9,37%	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i>	-	9,37%	4,68%	23,43%	12,5%	-	9,37%	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i>	-	1,56%	-	3,12%	-	-	1,56%	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i>	-	-	-	3,12%	-	-	1,56%	-
<i>M. hiemalis</i>	-	-	1,56%	1,56%	-	-	-	-
<i>M. indicus</i>	-	1,56%	-	1,56%	-	-	-	-
<i>M. irregularis</i>	-	-	-	-	1,56%	-	-	-
<i>M. luteus</i>	1,56%	-	1,56%	-	1,56%	-	-	-
<i>M. racemosus</i> f. <i>racemosus</i>	-	-	-	-	3,12%	-	-	-
<i>M. ramosissimus</i>	-	6,25%	-	18,75%	3,12%	-	4,68%	-
<i>M. variosporus</i>	-	-	-	4,68%	-	-	-	-
<i>Pilobolus crystallinus</i>	-	-	1,56%	1,56%	-	3,12%	4,68%	9,37%
<i>P. kleinii</i>	-	1,56%	1,56%	-	-	3,12%	-	1,56%
<i>P. longipes</i>	4,68%	-	-	1,56%	-	3,12%	-	-
<i>P. minutus</i>	-	-	-	-	-	-	1,56%	-
<i>P. oedipus</i>	4,68%	-	1,56%	1,56%	-	3,12%	1,56%	1,56%
<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i>	-	-	1,56%	-	-	-	-	-
<i>R. stolonifer</i>	-	-	7,81%	-	-	-	-	-
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	3,12%	-	4,68%	-	1,56%	-	-	-
Total de F.O.	17,16%	28,10%	35,89%	78,08%	39,03%	14,04%	35,9%	12,49%

Tabela 5: Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE entre setembro/2013 e abril/2014.

	Período de coleta							
	Set/13	Out/13	Nov/13	Dez/13	Jan/14	Fev/14	Mar/14	Abr/14
<i>Absidia cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Circinella muscae</i>	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>Cunninghamella echinulata</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Lichtheimia brasiliensis</i>	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>L. ramosa</i>	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Mucor circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i>	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i>	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i>	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i>	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>M. hiemalis</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>M. indicus</i>	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>M. irregularis</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>M. luteus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. racemosus</i> f. <i>racemosus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>M. ramosissimus</i>	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>M. variosporus</i>	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Pilobolus crystallinus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>P. kleinii</i>	-	-	-	+	+	-	-	+
<i>P. longipes</i>	+	-	-	+	-	-	+	-
<i>P. minutus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>P. oedipus</i>	+	-	-	+	-	-	+	-
<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i>	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>R. stolonifer</i>	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	-	+	+	-	-	-	-	+
Número de táxons	8	12	6	10	6	2	3	3

Tabela 6: Análise de similaridade de Bray Curtis da composição de espécies de Mucorales entre os excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

Herbívoros	Bovino	Caprino	Ovino
Bovino	-	-	-
Caprino	66,66%	-	-
Ovino	66,66%	60%	-

Tabela 7: Análise de similaridade de Bray Curtis da composição de espécies de Mucorales entre os excrementos das oito raças de herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

Herbívoros	Anglo Nubiana	Moxotó	Santa Inês	Morada Nova	Holandês	Sindi	Girolando	Guzerá
Anglo Nubiano (caprino)	-	-	-	-	-	-	-	-
Moxotó (caprino)	16,66 %	-	-	-	-	-	-	-
Santa Inês (ovino)	44,44 %	33,33%	-	-	-	-	-	-
Morada Nova (ovino)	60 %	40 %	53,84 %	-	-	-	-	-
Holandês (bovino)	50%	37,5%	36,36%	50%	-	-	-	-
Sindi (bovino)	36,36%	18,18%	35,29%	31,57%	13,33%	-	-	-
Girolando (bovino)	28,57%	57,14%	40%	63,63%	33,33%	30,76%	-	-
Guzerá (bovino)	22,22%	22,22%	40%	23,52%	0%	75%	36,36%	-

Figura 8: Dendograma de Similaridade de Bray-Curtis da composição de espécies de Mucorales entre os excrementos das oito raças de herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

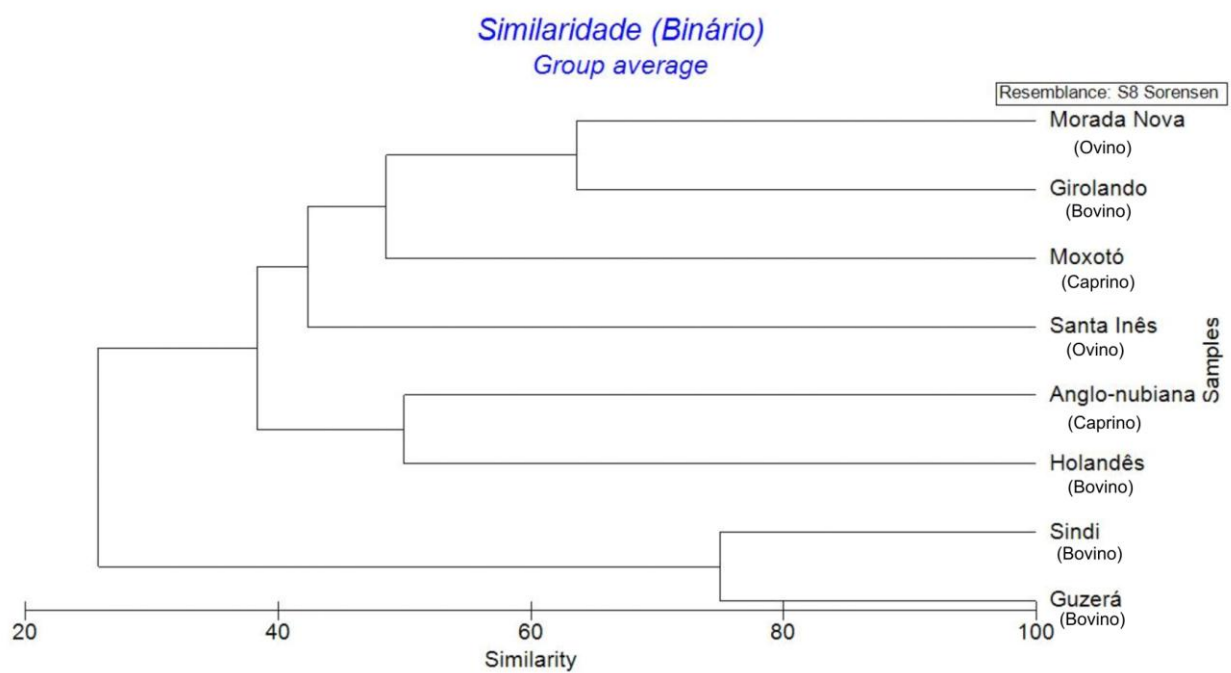


Figura 9: Árvore filogenética de *Mucor* gerada a partir de sequências da região LSU2 do rDNA. *Mortierella parvispora* foi utilizada como grupo externo. Os valores de suporte são de análise Bayesiana (números próximos aos ramos). As sequências são seguidas pelos respectivos números de acesso no GenBank

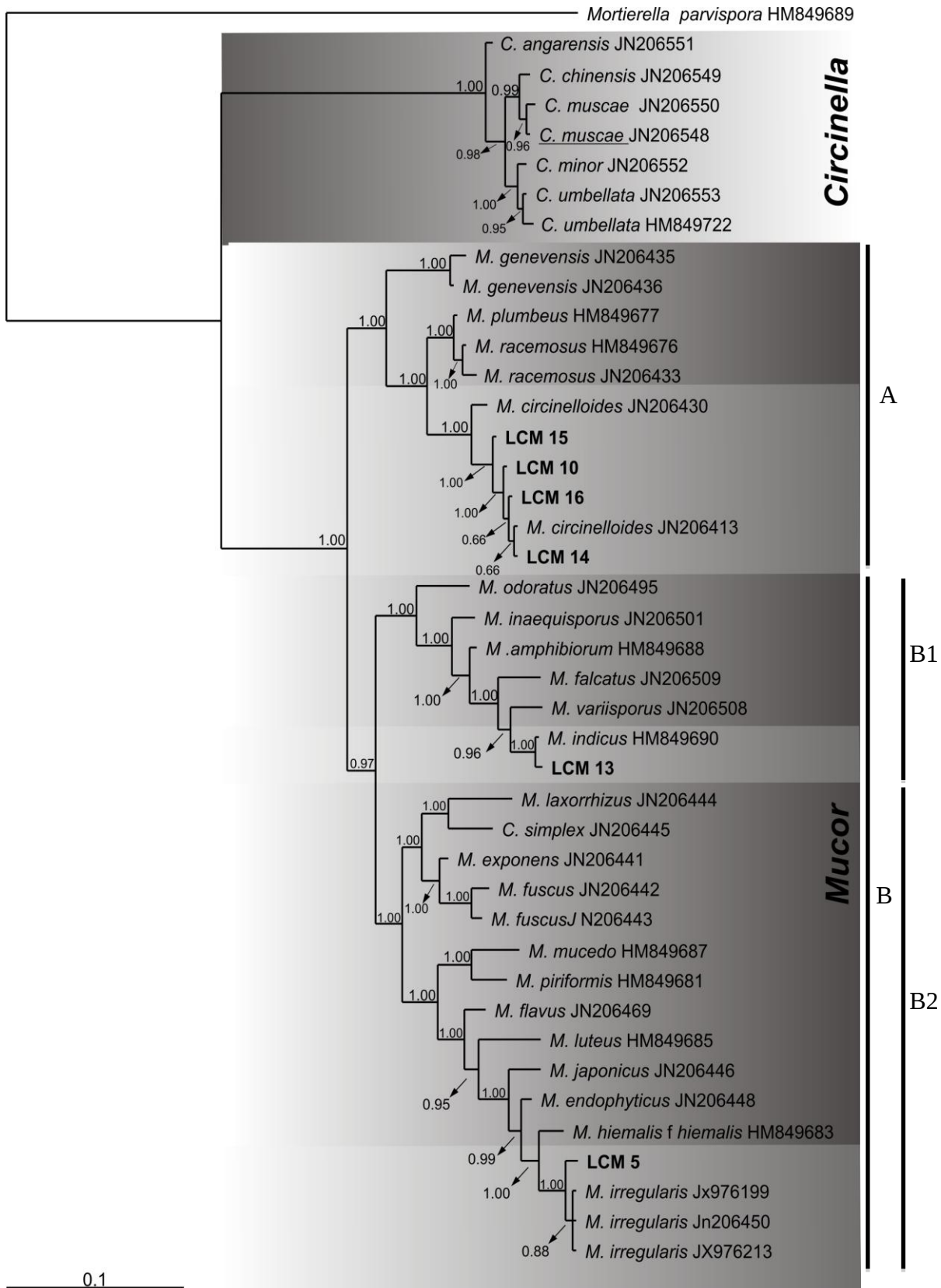


Tabela 8: Percentual de ácidos graxos da biomassa de Mucorales coprófilos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

Mucorales	C14:1	C14	C16:0	C17	C18	C18:1	C18:2	C18:3 γ	C18:3 α	C20	C20:1	C22:0	C22:1
<i>Absidia cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i>	-	-	25,42	-	8,31	38,20	8,10	5,87	2,17	-	-	3,68	-
<i>Circinella muscae</i>	-	-	28,86	-	-	35,46	9,29	10,24	-	-	-	16,13	-
<i>Cunninghamella echinulata</i>	-	-	16,82	-	12,72	40,73	8,77	6,07	3,83	-	-	11,02	-
<i>Lichtheimia brasiliensis</i>	0,35	-	4,15	0,38	2,56	5,19	2,53	1,37	1,21	0,42	1,32	-	0,37
<i>L. ramosa</i>	-	-	21,41	5,77	5,45	32,16	10,93	5,38	6,03	-	-	12,85	-
<i>Mucor circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i>	2,46	1,87	12,61	-	4,04	22,15	6,61	2,31	6,27	-	-	-	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i>	-	-	21,21	-	-	53,41	12,55	12,82	-	-	-	-	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i>	-	-	16,02	-	3,05	19,88	9,36	12,33	-	-	-	-	-
<i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i>	-	-	20,81	-	9,91	39,64	8,48	11,06	-	-	-	10,07	-
<i>M. hiemalis</i>	-	-	18,03	-	5,24	38,48	13,37	7,53	3,75	-	-	8,68	-
<i>M. luteus</i>	3,84	-	18,89	-	5,76	32,80	7,11	5,18	2,90	-	-	3,44	-
<i>M. racemosus</i> f. <i>racemosus</i>	-	-	23,86	-	11,85	28,02	5,55	4,15	5,31	-	-	6,55	-
<i>M. ramosissimus</i>	-	-	19,32	-	11,99	24,29	5,23	7,45	6,58	-	-	6,94	-
<i>M. variosporus</i>	-	-	19,82	3,31	11,23	30,50	6,92	9,77	4,95	-	-	9,72	3,74
<i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i>	-	-	23,29	-	14,75	37,35	9,87	-	-	-	-	14,72	-
<i>R. stolonifer</i>	-	-	18,78	3,92	8,63	32,81	8,48	13,25	2,52	-	-	7,67	-
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	-	-	23,64	-	12,20	28,90	-	-	-	-	-	16,34	-

Ácidos Graxos: C14:1 - Miristoléico, C14 - Mirístico, C16 - Palmítico, C17 - Margárico, C18 - Estearico, C18:1 - Oléico, C18:2 - Linolêico, C18:3 γ - γ -Linolênico, C18:3 α - α -Linolênico, C20 - Araquídico, C20:1 - Gadolêico, C22:0 - Beénico, C22:1 - Cetolêico.

Figura 10: Dendograma de Concordância - Kappa e Análise de Agrupamento da composição dos ácidos graxos, segundo o Coeficiente de Correlação Phi, Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis e a Técnica de Ward dos Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada.

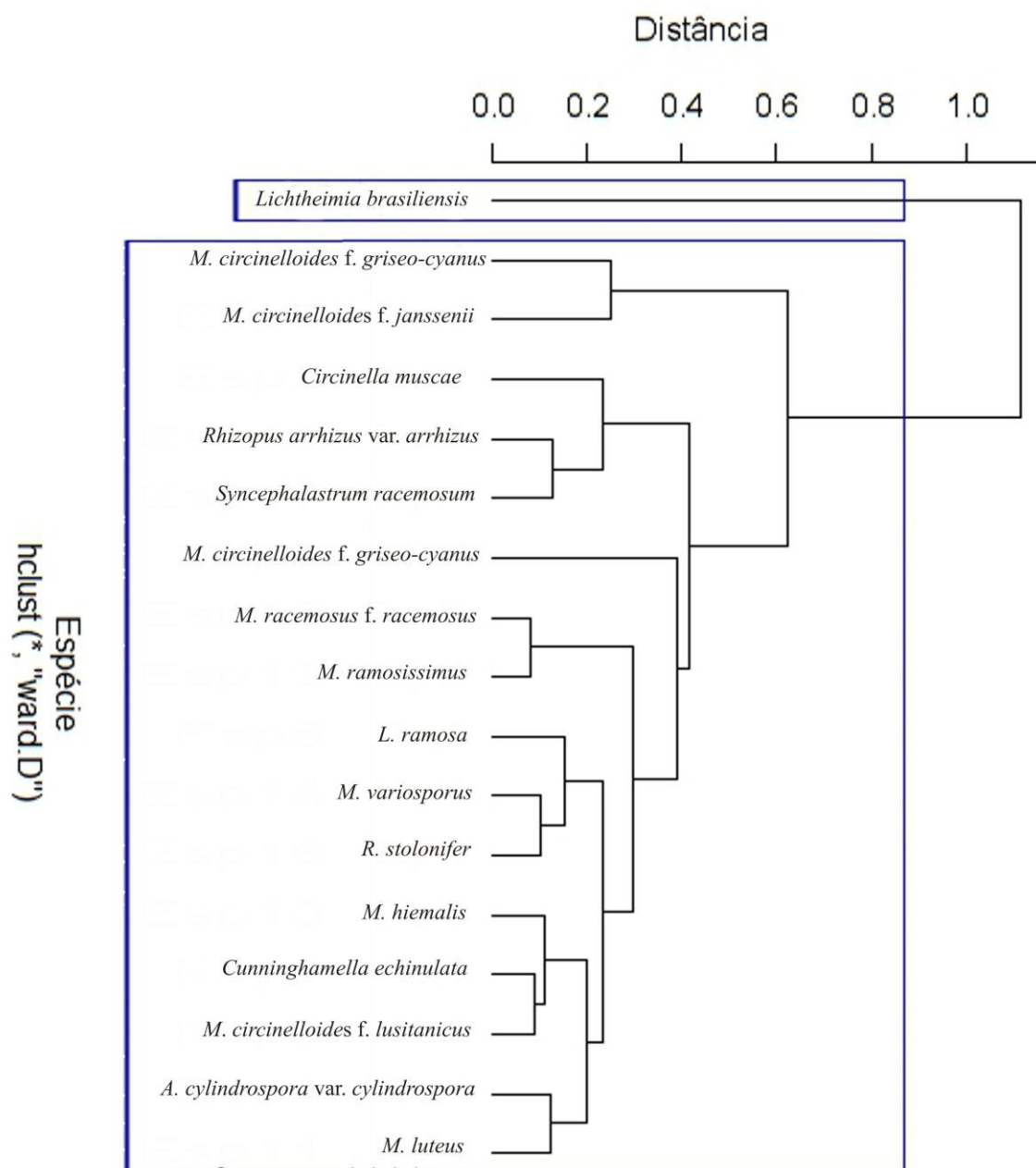


Figura 11: Dendograma de Concordância – Kappa e a Análise de Agrupamento da composição do ácido oléico, segundo o Coeficiente de Correlação Phi, Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis e a Técnica de Ward dos Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada.

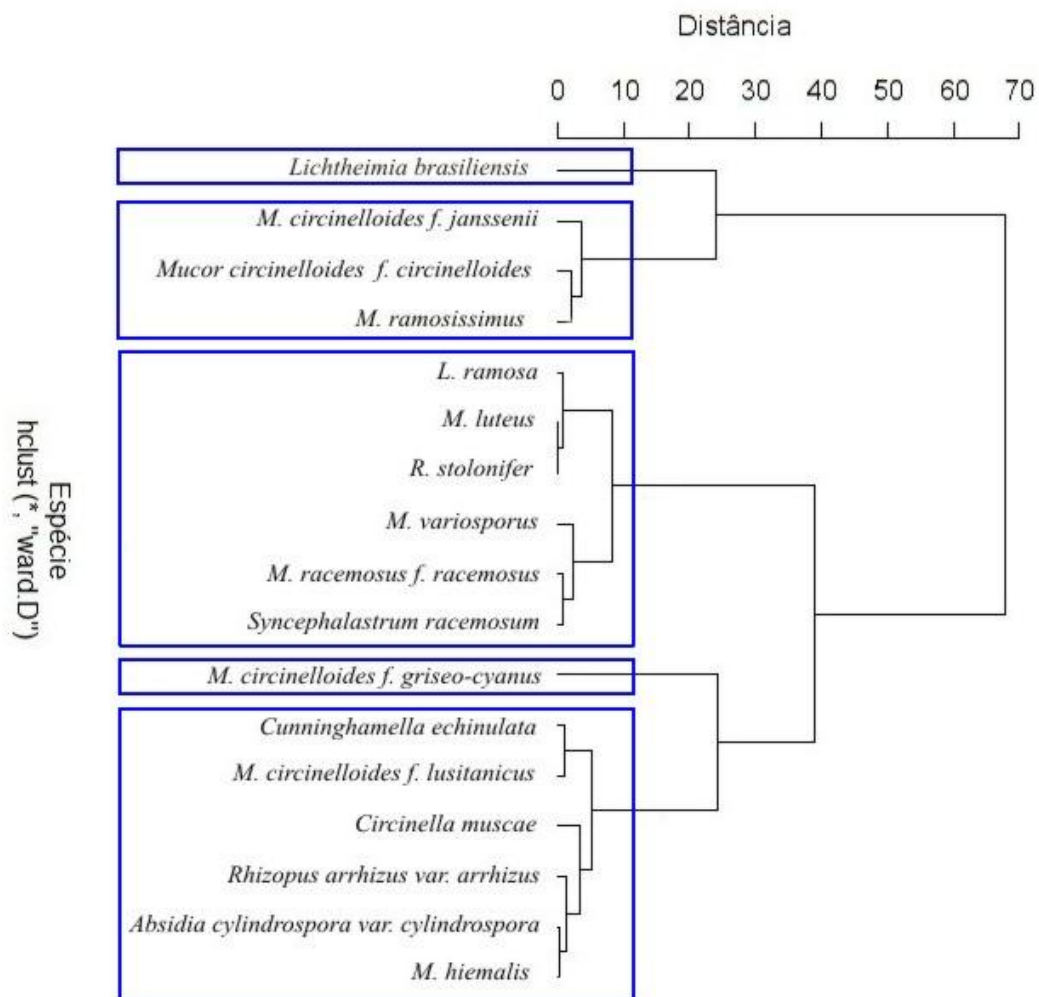
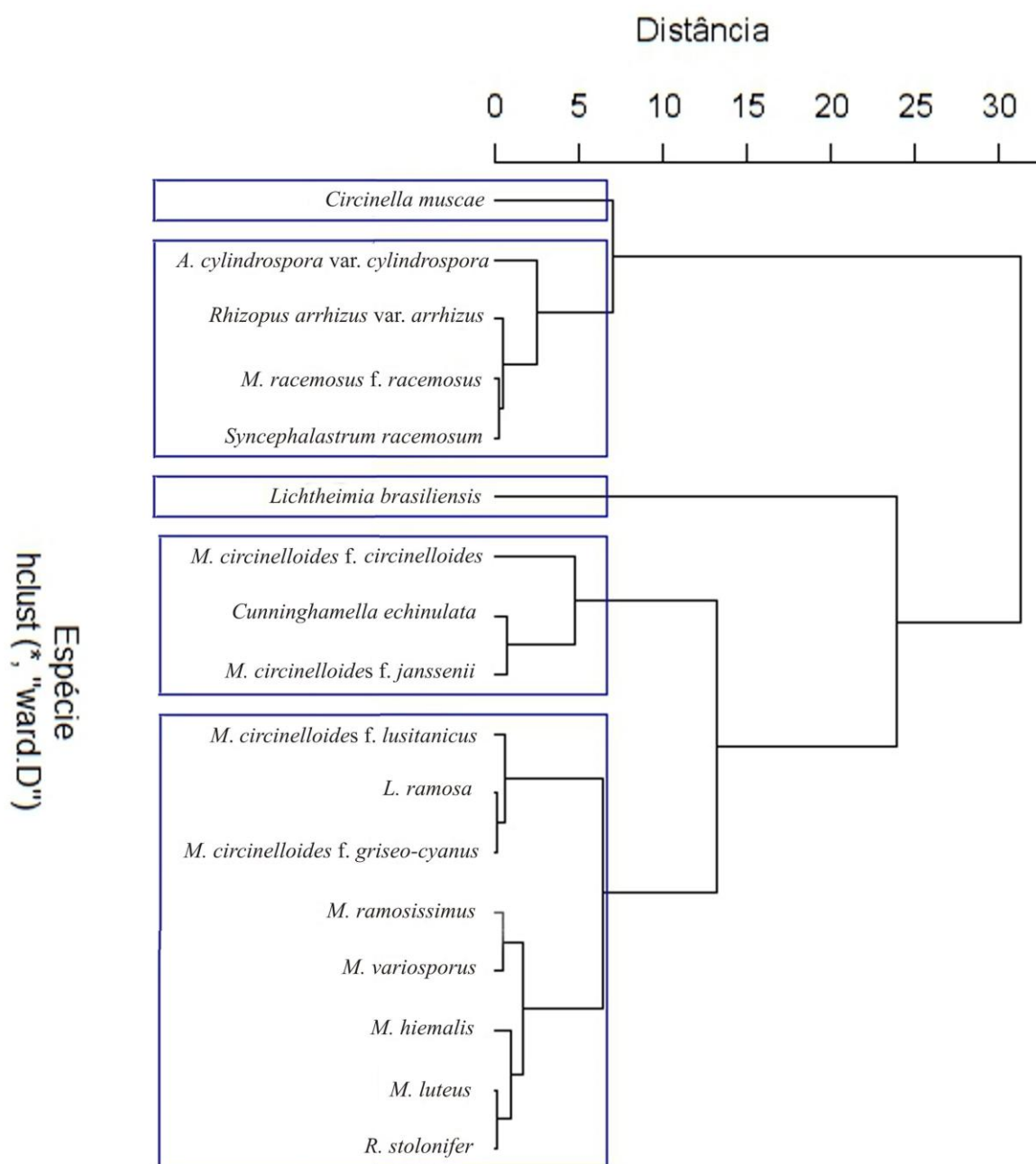


Figura 12: Dendograma de Concordância – Kappa e a Análise de Agrupamento da composição do ácido palmítico, segundo o Coeficiente de Correlação Phi, Índice de Dissimilaridade de Bray-Curtis e a Técnica de Ward dos Mucorales presentes nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada.



Chave de identificação dos Mucorales de Mucorales coprófilos de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE.

1. Espécies coprófilas obrigatórias com esporóforos portando vesícula subesporangial e trofocisto.....2
1. Espécies coprófilas facultativas portando esporangióforos sem vesícula subesporangial e trofocisto.....6
2. Esporangiósporos globosos, subglobosos ou ovóides.....3
2. Esporangiósporos elipsóides.....5
3. Vesícula subesporangial ovóide; esporangiósporos globosos ou subglobosos com parede delgada.....4
3. Vesícula subesporangial obovóide; esporangiósporos com parede espessa.....*Pilobolus oedipus*
4. Trofocistos $180\text{--}610 \times 125\text{--}270$; columela cilíndrica; esporangiósporos globosos, $7\text{--}11\text{ }\mu\text{m}$ em diâmetro.....*P. minutus*
4. Trofocistos longos, $410\text{--}1800 \times 240\text{--}420\text{ }\mu\text{m}$; columela cônica; esporangiósporos subglobosos, $10\text{--}18,5\text{ }\mu\text{m}$ em diâmetro.....*P. longipes*
5. Columela mamiforme; esporangiósporos elipsóides, amarelos claros ou hialinos $7,5\text{--}12 \times 4,5\text{--}6,5\text{ }\mu\text{m}$*P. crystallinus*
5. Columela cônico-cilíndrica; esporangiósporos elipsóides, intensamente amarelos $10,5\text{--}17,5 \times 5,5\text{--}8\text{ }\mu\text{m}$*P. kleinii*
6. Esporangióforos portando esporângios.....8
6. Esporangióforos portando merosporângios ou esporangiólos.....7
7. Merósporos produzidos em merosporângios.....*Syncephalastrum. racemosum*
7. Esporangiólos uniesporados pedicelados produzidos sobre uma vesícula fértil.....*Cunninghamella echinulata*
8. Esporangióforos simples ou com ramificações eretas e/ou curvadas; esporângios sem espinho estéril.....9
8. Esporangióforos com ramificações circinadas; acompanhadas de um espinho estéril.....*Circinella muscae*
9. Esporangióforos portando esporângios apofisados, células gigantes presentes ou ausentes.....20
9. Esporangióforos portando esporângios não apofisados, células gigantes ausentes.....10
10. Esporangiósporos regulares quanto à forma e tamanho.....11

10. Esporangiósporos de tamanho e formas variadas, globosos, ovóides, cilíndricos ou fusiformes.....*Mucor variosporus*
11. Esporangióforos não ramificados ou pouco ramificados.....12
11. Esporangióforos repetidamente ramificados.....13
12. Columelas obovóides; esporangiósporos elipsoidais, plano-convexos 2,5–10 x 2–7,5 μm*M. hiemalis*
12. Columelas globosas; esporangiósporos longo-elípticos e fusiformes 2,5–8,1 (–12,5) x 1–5 μm*M. luteus*
13. Espécies mesofílicas, não crescem a 40° C.....14
13. Termotolerante, cresce a 40° C.....*M. indicus*
14. Columelas de várias formas; esporangiósporos subesféricos para elipsóides.....*Mucor* sp.
14. Columelas regulares em forma; esporangiósporos globosos, subglobosos ou elipsóides.....15
15. Esporangióforos com inchaços; esporângios com ramificações laterais curtas; columelas aplanadas, globosas ou obovóides; clamidósporos presentes ou não, quando presentes nunca abundantes e nunca formados nas estruturas de reprodução.....16
15. Esporangióforos sem inchaços, com ramificações laterais longas; columelas subglobosas, ovóides ou elipsóides; clamidósporos abundantes, inclusive nos esporangióforos e nas columelas.....*M. racemosus* f. *racemosus*
16. Colônias altas (até 10 mm); esporangióforos recurvados ou não; inchaços abaixo dos esporângios ausentes; columelas obovóides, globosas ou subglobosas.....17
16. Colônias baixas (até 2 mm); esporangióforos recurvados ou não; inchaço abaixo dos esporângios frequentemente visualizados; columelas aplanadas.....*M. ramosissimus*
17. Colônias brancas inicialmente, tornando-se acinzentadas quando o micélio envelhece; esporangióforos até 7 (–10) μm em diâmetro; esporângios negros18
17. Colônias amarelas inicialmente, tornando-se acastanhadas quando o micélio envelhece; esporangióforos até 14 (–17) μm em diâmetro; esporângios cinza-amarronzados.....19
18. Esporangióforos simpodialmente ramificados; esporângios escuros, globosos (15–) 20–72,5 (–75) μm ; esporangiósporos elipsóides; *M. circinelloides* f. *griseocyanus*
18. Esporangióforos simpodialmente ramificados ou monopodialmente ramificados (raramente); esporângios marrons escuros, globosos a levemente subglobosos, 20–90 μm ; esporangiósporos globosos a levemente subglobosos..... *M. circinelloides* f. *janssenii*
19. Esporângios castanhos escuros e globosos, (32,5–) 37,5–85 (–87,5) μm ; columelas obovóides; esporangiósporos elipsóides.....*M. circinelloides* f. *circinelloides*

19. Esporângios castanhos e globosos, 21,5–92,5 µm; columelas globosas; esporangiósporos elipsóides e algumas vezes com formatos irregulares.....*M. circinelloides* f. *lusitanicus*
20. Esporangióforos surgindo de estolões, nunca opostos aos rizóides, esporângios esféricos, piriformes ou subpiriformes apofisados; células gigantes presentes.....21
20. Esporangióforos surgindo do micélio aéreo e/ou de estolões, opostos aos rizóides, esporângios apofisados globosos e subglobosos; células gigantes ausentes.....23
21. Espécies termofílicas, crescem a 40° C; septo subesporangial ausente ou raro; esporangiósporos globosos, subglobosos ou elipsóides; células gigantes presentes.....22
21. Espécies mesofílicas, não crescem a 40° C; septo subesporangial presente; esporangiósporos cilíndricos; células gigantes ausentes.....*Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*
22. Columelas globosas, subglobosas e/ou espatuladas, frequentemente apresentando projeções; células gigantes presentes.....*Lichtheimia ramosa*
22. Columelas subglobosas e hemisféricas curtas, sem projeções; células gigantes ausentes.....*L. brasiliensis*
23. Rizóides presentes, bem desenvolvidos, abundantes e rizopodiformes; esporangióforos atingindo 3 mm em comprimento; columelas ovóides.....*Rhizopus stolonifer*
23. Rizóides, pouco desenvolvidos, simples ou raramente ramificados quando presentes; esporangióforos atingindo 1,7 mm em comprimento; columelas subglobosas, hemiglobosas, raramente oblongo-ovóides.....*R. arrhizus* var. *arrhizus*

5. DISCUSSÃO

Os resultados desse trabalho elevam o conhecimento da diversidade dos Mucorales coprófilos no semiárido do Brasil. Embora alguns estudos tenham reportado a ocorrência de fungos coprófilos no país (Batista, 1948; Batista & Pontual, 1948; Batista *et al.*, 1955; Batista *et al.*, 1961a,b,c; Trufem, 1984; Trufem & Viriato, 1985; Viriato & Trufem, 1985; Richardson, 2001b; Wartchow *et al.*, 2007), poucos são referidos exclusivamente aos Mucorales (Alves *et al.*, 2002; Santiago *et al.*, 2008; Melo *et al.*, 2011; Santiago *et al.*, 2011). Em se tratando da região semiárida brasileira, o conhecimento da diversidade e composição das comunidades desses fungos em excrementos é restrito a apenas um estudo realizado no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco, a partir excrementos de bovinos, caprinos e ovinos (Lima, 2014).

Dentre os vinte e quatro táxons de Mucorales identificados nos excrementos de herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, PE. *Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*, *C. muscae*, *L. ramosa*, *M. hiemalis*, *P. crystallinus*, *P. kleinii*, *P. longipes*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* e *S. racemosum* também foram reportados por Lima (2014), apoiando os resultados aqui expostos. No entanto, *C. echinulata*, *L. brasiliensis*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. racemosus* f. *racemosus*, *M. ramosissimus*, *M. variosporus*, *P. minutus*, *P. oedipus* e *R. stolonifer* estão sendo citadas pela primeira vez em excrementos de herbívoros em áreas de Caatinga.

Salienta-se que a maioria das espécies identificadas nesse trabalho foram reportadas por outros autores nesse substrato e em outros domínios no Brasil, indicando não serem endêmicas da Caatinga. *Circinella muscae*, *M. hiemalis*, *P. crystallinus*, *P. kleinii*, *P. longipes*, *R. arrhizus* e *S. racemosum* foram citadas por Santiago *et al.* (2011) em fezes de herbívoros da Mata Atlântica no Recife, enquanto, *L. ramosa* (como *A. ramosa*), *C. muscae*, *M. hiemalis*, *P. crystallinus*, *P. Kleinii* e *P. longipes* foram descritas por Trufem (1984) e por Trufem & Viriato (1985), em estudos sobre a comunidade coprófila da Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Com exceção de *M. indicus* e *M. irregulares*, que estão sendo reportados pela primeira vez para os Neotrópicos, todos os táxons desse gênero isolados nesse trabalho foram relatados por Alves (2002) em excrementos de herbívoros da Mata Atlântica do Recife, PE. Dentre as espécies reportadas pelos autores supracitados, 15 foram verificadas nos excrementos inventariados nessa dissertação, embora fezes de diferentes herbívoros tenham sido analisadas por ambos os autores, indicando que a colonização de várias espécies de Mucorales independe da especificidade dos táxons por fezes de um determinado animal, fato também observado por McCarthy (2000), Richardson (2001a), Alves *et al.*

(2002), Nyberg & Persson (2002), Delgado-Ávila *et al.* (2005), Santiago *et al.* (2008, 2011) e Lima (2014).

Algumas espécies de Mucorales isoladas no presente trabalho também foram reportadas em excrementos de animais em outros países. Masunga *et al.* (2006) isolaram *C. elegans* e *P. crystallinus* de excrementos de elefantes na África, enquanto Abdullah (1982) reportou *P. kleinii* em excrementos de jumento, carneiro e camelo coletados no Iraque. Estudos têm mostrado que esse grupo de fungos apresenta uma ampla distribuição fitogeográfica e capacidade de adaptação às condições ambientais distintas (Ebersohn & Eicker, 1997; Caretta *et al.*, 1998; McCarthy, 2000; Richardson, 2001a; Nyberg & Persson, 2002; Delgado-Ávila *et al.*, 2005).

Dentre os gêneros isolados, *Mucor* foi o mais representativo em número de táxons, com oito espécies e quatro formas, seguido por *Pilobolus*, com cinco espécies. De acordo com Krug *et al.* (2004), *Mucor* é representado por espécies coprófilas facultativas, enquanto *Pilobolus* é coprófilo obrigatório. Como as espécies do primeiro gênero são muito comuns em amostras de solo (Santiago & Souza-Mota, 2008; de Souza *et al.*, 2008), é possível que a presença desses táxons nos excrementos inventariados sejam provenientes da ação transitória de propágulos entre o solo, substrato perene, e os excrementos, visto que a maior ou menor disponibilidade de excrementos depende da densidade dos animais (herbívoros, carnívoros e onívoros) no ambiente. Dos 11 táxons de *Mucor* reportados por Alves *et al.* (2002) em excrementos de 10 herbívoros mantidos em cativeiro na Reserva Ecológica de Dois Irmãos e no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil, seis estão registrados neste trabalho: *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. hiemalis* (como *M. hiemalis* f. *hiemalis*), *M. luteus* (como *M. hiemalis* f. *luteus*), *M. racemosus* f. *racemosus* e *M. variosporus*. Com exceção de *M. hiemalis*, todas as outras espécies desse gênero estão sendo citadas pela primeira vez como coprófilas para o semiárido e, como o supracitado, *P. minutus* e *P. oedipus* estão sendo citadas pela primeira vez para excrementos em regiões de Caatinga. No Brasil, a ocorrência de espécies desse último gênero foi reportada por vários autores, sendo os trabalhos Batista (1948) e Batista & Pontual (1948) pioneiros, documentando a presença de *P. crystallinus*, *P. kleinii* e *P. longipes* em excrementos de bovinos. Posteriores considerações foram fornecidas por Trufem (1984), Trufem & Viriato (1985), Richardson (2001a), Alves *et al.* (2002), Viriato (2003) e Santiago *et al.* (2008, 2011). A maior representatividade em relação ao número de táxons de *Mucor* e *Pilobolus* nos excrementos analisados também foi verificada por Santiago (2008). Deve-se considerar que o autor utilizou como substrato fezes de excrementos de animais herbívoros distintos dos amostrados no presente trabalho.

Os resultados aqui decritos mostraram que os excrementos de Morada Nova (ovinos) foram mais ricos em número de espécies, seguidos pelas fezes de Santa Inês (ovinos) e de Holandês (bovinos). No entanto, de acordo com o teste de X^2 de adequação de ajuste com proporções esperadas iguais, não houve diferença significativa ($p = 0.0926$) na riqueza de espécies de Mucorales nos excrementos dos diferentes animais herbívoros analisados. Segundo Ebersohn & Eicker (1997) e Santiago *et al.* (2011), diferenças na composição de uma comunidade podem estar correlacionadas com fatores abióticos e bióticos que influenciam diretamente a micobiota do substrato. O fato de as amostras de excrementos terem sido mantidas dentro de condições experimentais semelhantes (temperatura, incidência de luz, umidade) e isentas de insetos micófitos pode explicar a semelhança na riqueza das espécies de Mucorales nos excrementos evidenciada pelo teste de X^2 . O mesmo foi verificado por Lima (2014) em excrementos de ovinos, caprinos e bovinos do Parque Nacional do Catimbau. No entanto, a análise estatística revelou diferenças significativas no número de táxons isolados dos excrementos entre os meses de amostragem ($p = 0,0458$), indicando que a sazonalidade influenciou no número de espécies, mas não na composição dos Mucorales. Resultado oposto foi observado por Santiago *et al.* (2011), que reportaram que a composição de espécies de Mucorales foi afetada pelas mudanças de estação, ocorrendo o oposto para o número de táxons. Bell (1975), em um estudo de três anos sobre a micota em excrementos de gambá (*Trichosurus vulpecula* Kerr), na Nova Zelândia, atribuiu maior ocorrência de algumas espécies de fungos às chuvas de inverno. Contudo, segundo Richardson (2001a) diferentes fatores abióticos podem influenciar a comunidade fúngica. Mudanças de temperatura, por exemplo, nas diferentes estações do ano podem ter contribuído para os resultados da autora, visto que algumas das espécies reportadas por ela eram psicrófilas.

Menores índices pluviométricos foram registrados para o mês de dezembro de 2013, para três cidades amostradas, tendo elevada pluviosidade também sido observada para Serra Talhada em março de 2014 (Figura 1). Um maior número de táxons (12) foi observado no período que antecederam as chuvas, sendo o maior registro para o mês de outubro (Tabela 5). De acordo com Santiago (2008), os fungos coprófilos frequentemente crescem e esporulam em condições específicas. Portanto, diferentes micobiotas podem ocorrer em condições de umidade e temperatura variadas. Deste modo, é possível que as espécies Mucorales indetificadas no presente estudo estejam adaptadas às condições climáticas adversas, características do domínio Caatinga.

Em relação à frequência de ocorrência, dentre os isolados, *M. circinelloides* f. *griseocyanus* foi o mais frequente (F.O = 59,35%), enquanto *C. echinulata*, *M. irregularis* e *R. arrhizus* var. *arrhizus* foram os táxons menos frequentes (F.O = 1,56%). *Mucor* e *Rhizopus* apresentam muitas espécies coprófilas ou não (Krug *et al.*, 2004). Entretanto, espécies de *Cunninghamella* são primariamente colonizadoras de outros substratos (Domsch *et al.*, 2007). A maioria das espécies

identificadas nesse estudo apresentaram frequências de ocorrência baixa, não superiores a 32,8%. Comportamento semelhante foi verificado por Richardson (2001a), Nyberg & Persson (2002) e por Santiago *et al.* (2011), em estudos sobre a comunidade fúngica coprófila de animais herbívoros. Lima (2014) reportou frequência de ocorrência igual ou inferior a 16,66%, sendo *S. racemosum* o táxon mais frequente.

Pilobolus kleinii é comumente reportada com elevada frequência em excrementos de animais herbívoros (Richardson, 2001a; Nyberg & Persson, 2002) em outros domínios. Entretanto, essa espécie foi pouco frequente nas amostras analisadas neste estudo (7,81%). Resultado semelhante foi verificado por Lima (2014), em excrementos herbívoros do semiárido, corroborando com os resultados obtidos deste estudo. É possível que esse táxon seja mais sensível ao estresse hídrico e de temperatura, característico do semiárido.

A similaridade da composição dos Mucorales foi mais elevada entre os excrementos de bovinos e caprinos, bem como entre bovinos e ovinos (66,66%). A menor taxa foi observada entre caprinos e ovinos, embora o índice de 60% possa ser considerado elevado (Christensen, 1989). De acordo com Dix & Webster (1995), o processo digestivo dos animais é um fator seletivo importante para a composição de espécies nos excrementos. Os índices de similaridades da composição de Mucorales nos excrementos, considerados altos, podem estar relacionados à condição de ruminantes de todos animais estudados, os quais apresentam o mesmo número de câmaras gástricas. Além disso o regime nutricional dos animais foi semelhante, tendo os herbívoros sido alimentados com ração e com silagem de milho.

Considerando-se as diferentes raças, a composição das espécies foi mais similar entre as raças bovinas Guzerá e Sindi (75%) que, embora não compartilhassem o mesmo ambiente, foram expostas a condições nutricionais semelhantes, tendo sido os únicos animais mantidos no pasto. Segundo Santiago *et al.* (2011) variações nutricionais dos animais podem influenciar na micota dos excrementos. O fato desses animais terem passado a maior parte do tempo no pasto, onde se alimentavam, pode ter contribuído para a elevada similaridade encontrada. Elevada similaridade também foi observada entre as raças Morada Nova (caprino) e Anglo-Nubiana (ovino). Além de ambas terem sido mantidas na fazenda do IPA, do município de Sertânia, foram alimentadas com silagem de milho, o que também pode explicar a elevada similaridade. Interessante notar que as raças Girolando (bovinos) e Morada Nova (ovinos) apresentaram a segunda maior similaridade, mesmo tendo sido criados em cidades diferentes (embora no mesmo domínio) e tendo dietas diferentes. Estudos mostram que, embora alimentação dos animais seja um fator limitante para o aparecimento de alguns táxons, outros fatores, como localização geográfica, teor de umidade e temperaturas elevadas podem influenciar na composição das comunidades de fungos nos excrementos dos animais (Caretta & Piontelli, 1996; Ebersohn & Eicker, 1997; Richardson, 2001a;

Santiago *et al.*, 2011). De acordo com a árvore filogenética construída com base nas sequências da região LSU2 rDNA dos isolados sequenciados e com as sequências de *Mucor* obtidas no GenBank, os isolados LCM13 e LCM15 correspondem a *M. indicus* e *M. irregulares*, respectivamente. As características morfológicas desses dois espécimes apresentaram boa correspondência com as descrições de Zheng & Liu (2009) e Zheng & Chen (1991), para esses dois táxons, respectivamente. A árvore filogenética, construída com base nas sequências da região LSU2 rDNA, está de acordo com Álvarez *et al.*, (2011) e Walther *et al.* (2013).

Algumas linhagens de *M. indicus* apresentam semelhanças morfológicas às de *M. circinelloides* (Schipper, 1978). No entanto, as ramificações curtas e abundantes observadas em *M. circinelloides* não são presentes em *M. indicus*, bem como as columelas, predominantemente globosas na última espécie são distintas das obovoides verificadas em *M. circinelloides*. Além disso, a termotolerância, inerente ao *M. indicus*, não é verificada em *M. circinelloides* (Schipper, 1978; de Souza 2006).

As características morfológicas de *Mucor irregularis* isolada no presente trabalho apresentaram boa correspondência às descritas por Zheng & Chen (1991). No entanto, a produção de columelas com formas bizarras não foi observada nesse trabalho. O espécime identificado apresentou columelas esféricas, globosas e subglobosas, características também reportadas por Lu *et al.* (2009, 2013). Os esporangiosporos apresentaram-se em maioria elipsóides, com alguns cilíndricos e globosos, como descrito por Lu *et al.*, (2009, 2013) e Schell *et al.*, (2011).

A utilização de microrganismos oleaginosos tem sido documentada nos últimos anos, principalmente, devido à capacidade dos mesmos de acumular altas quantidades de lipídios intracelulares, ao crescimento rápido em várias fontes de carbono e à semelhança de frações de triclicerídeos com os encontrados em plantas (Tauk-Tornisielo *et al.*, 2009; Xia *et al.*, 2011; Wei *et al.*, 2013). Entretanto, quando se trata da produção de biodiesel, apenas aqueles com um elevado teor de ácido esteárico (C18:0) e/ou ácido oléico (C18:1) são potenciais alvos de interesse, devido à estabilidade oxidativa e à adaptabilidade para produções em escala industrial que esses ácidos apresentam (Meng *et al.*, 2009). Em relação aos ácidos graxos extraídos da biomassa dos táxons isolados, os ácidos palmítico (C16:0) e oléico (C18:1) estiveram presentes em todas as espécies analisadas. A maior concentração de ácidos graxos foi verificada para o ácido oléico (C18:1) em *Mucor circinelloides* f. *griseocyanus* (53,41%), seguida por *Cunninghamella echinulata* (40,73%). Considerando-se o perfil de ácidos graxos dos táxons amostrados, o ácido esteárico (C18:0) foi observado em 14 espécies: *A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *C. echinulata*, *L. brasiliensis*, *L. ramosa*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. hiemalis*, *M. luteus*, *M. racemosus* f. *racemosus*, *M. ramosissimus*, *M. variosporus*, *R. arrhizus* var. *arrhizus*, *R.*

stolonifer e *S. racemosum*. Deste modo, os táxons reportados no presente estudo apresentam características interessantes para a produção de combustíveis de fontes renováveis.

A presença dos ácidos mirístico (C14), palmítico (C16), esteárico (C18), linolêico (C18:2) e γ -linolênico (C18:3 γ) foi verificada na biomassa de *A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *C. echinulata*, *L. brasiliensis*, *L. ramosa* e *M. circinelloides* f. *griseocyanus*. Esses ácidos foram anteriormente reportados por Li *et al.*, (2007) e Liu & Zhao (2007) em *Cryptococcus albidus* (Saito) C.E. Skinner, *Lipomyces starkeyi* Lodder & Kreger-van Rij, *Rhodospiridium toruloides* I. Banno, *Rhodotorula glutinis* (Fresen.) F.C. Harrison, *Trichosporon pullulan* (Lindner) Diddens & Lodder e *Yarrowia lipolytica* (Wick., Kurtzman & Herman) Van der Walt & Arx. De acordo com Qiang *et al.* (2008), tais ácidos podem ser utilizados como matéria prima para a produção de biodiesel por reação de transesterificação na presença de um álcool monohidroxilado de cadeia curta, como o etanol ou metanol e preferencialmente de um catalisador ácido ou básico, em condições experimentais adequadas. Wei *et al.* (2013) reportaram a ocorrência do ácido mirístico (C14) em *M. circinelloides* utilizando o substrato Avicel pré-sacarificado. A ocorrência desse ácido graxo também foi verificada em amostras de *M. circinelloides* f. *circinelloides* neste estudo, corroborando os resultados obtidos. Segundo os autores supracitados, esse ácido apresenta uma implicação prática interessante, sendo preferivelmente utilizado para a produção de combustíveis utilizados em aeronaves, por serem constituídos por cadeias curtas de ácidos graxos. Deste modo, quanto maior a cadeia hidrocarbônica, maior o número de cetano, que é a escala que define a qualidade do combustível em relação ao poder de autoinflamação, a lubricidade, assim como os pontos de névoa e de entupimento dos componentes do motor (Knothe, 2008).

De acordo com Ratledge & Wynn (2002), espécies de Mucorales são consideradas potencias produtoras de células oleaginosas simples contendo ácido γ -linolênico (C18:3 γ). Com exceção de *R. arrhizus* var. *arrhizus* e de *S. racemosum* todas as espécies indentificadas apresentaram ácido γ -linolênico (C18:3 γ) nas suas biomassas. Esse ácido graxo também foi verificado por Chatzifragkou *et al.* (2012) em *C. echinulata* e em *Umbelopsis isabellina* (como *M. isabellina*), corroborando os resultados deste estudo. Segundo os autores, a produção de células oleaginosas simples, contendo ácido γ -linolênico (C18:3 γ), é considerada uma característica promissora, visto que esse ácido pode ser posteriormente convertido em biodiesel.

Segundo Knothe (2008), em relação à insaturação dos ácidos graxos, quanto menor o número de duplas ligações, maior a cetanagem do combustível, o que consequentemente induz um melhor desempenho pela qualidade de combustão. Em linhas gerais, um biodiesel com predominância de ácidos graxos combinados mono-insaturados (oléico) são os que apresentam os melhores resultados nas propriedades pertinentes. Os resultados obtidos neste estudo mostram-se

promissores quanto à produção de ácido oléico, visto que os percentuais mais elevados de ácidos graxos nos Mucorales isolados referem-se a esse ácido.

Quando comparados aos ácidos oléicos de peixe, de sementes de babaçu, de soja e de microalgas, tradicionalmente utilizados como matéria-prima para a produção de biodiesel, as quantidades desse ácido observadas em algumas das espécies de Mucorales analisadas nesse trabalho foram extremamente satisfatórias. Ferrari *et al.* (2005) verificaram uma concentração de 22,45% de ácido oléico em soja, enquanto Lima *et al.* (2007) reportaram 14,0% para o óleo de babaçu. Gomes (2009) observou 12,58% de ácido oléico em óleos de peixe e Schroeder (2013) registrou 22,46% desse ácido em microalgas. Assim, *A. cylindrospora* var. *cylindrospora* (38,20% de ácido oléico), *C. muscae* (35,46%), *C. echinulata* (40,73%), *L. ramosa* (32,16%), *M. circinelloides* f. *circinelloides* (22,15%), *M. circinelloides* f. *griseocyanus* (53,41%), *M. circinelloides* f. *janssenii* (19,88%), *M. circinelloides* f. *lusitanicus* (39,64%), *M. hiemalis* (38,48%), *M. luteus* (32,80%), *M. racemosus* f. *racemosus* (28,02%), *M. ramosissimus* (24,29%), *M. varioporus* (30,50%), *R. arrhizus* var. *arrhizus* (37,35%), *R. stolonifer* (32,81%) e *S. racemosum* (28,90%), podem ser consideradas como promissoras para a produção de biodiesel.

Esse estudo reporta 24 táxons de Mucorales em excrementos de herbívoros do semiárido do Brasil, sendo um dos estudos pioneiros desses fungos coprófilos no domínio Caatinga e o primeiro nas cidades de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada. Considerando as condições adversas de temperatura e umidade, típicas de regiões semiáridas, e comparando os resultados aqui descritos com os de outros autores, pode dizer que a riqueza desses fungos nas áreas inventariadas é elevada. Lima (2014) reportou apenas onze espécies de Mucorales em excrementos de bovinos, caprinos e ovinos do Parque Nacional do Catimbau, sertão pernambucano, enquanto Abdullah (1982) e Masunga *et al.* (2006) relataram 3 e 6 espécies, respectivamente, ainda em regiões semiáridas. Em comparação com a diversidade do grupo em áreas de Mata Atlântica, embora Santiago *et al.* (2011) tenham reportado 39 táxons em Pernambuco, Trufem & Viriato (1985) e Viriato & Trufem (1985) obtiveram apenas 23 táxons, ou seja, a riqueza dos dois últimos trabalhos foi inferior à observada nesse estudo. Dessa forma, é importante destacar a importância de estudos de levantamento da diversidade de fungos em áreas de Caatinga, para que seja desmistificada a ideia de que a riqueza de microrganismos nesse domínio é baixa, bem como encorajar pesquisas futuras com o objetivo de potencializar o uso biotecnológico de táxons de espécies de Mucoromycotina, visto que as mesmas exibem características peculiares como a produção de ácidos graxos poliinsaturados. Alguns dos ácidos graxos citados nesse trabalho são excelentes alternativas para a suplementação alimentar de animais e humanos, além de apresentarem elevado potencial para produção de biocombustíveis, por terem alta viscosidade e por serem resistentes à oxidação, características importantes para a produção de um biodiesel de qualidade.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho e, considerando-se as condições experimentais estabelecidas, conclui-se que:

- Excrementos de caprinos (*Capra hircus* L.) das raças Anglo Nubiana e Moxotó e de ovinos (*Ovis aries* L.) das raças Santa Inês e Morada Nova são favoráveis para o crescimento de Mucorales;
- Excrementos de bovinos (*Bos taurus* L.) das raças Holandesa, Girolando, Sindi e Guzerá Leiteiro são adequados para o desenvolvimento de Mucorales;
- Pelo menos vinte e quatro táxons de Mucorales ocorrem em excrementos de herbívoros de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, Pernambuco, Brasil;
- *Circinella muscae*, *L. ramosa*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. luteus*, *M. ramosissimus*, *P. kleinii*, *P. longipes*, *P. oedipus* e *Syncephalastrum racemosum* fazem parte da micobiota coprófila de caprinos em Sertânia, Pernambuco, Brasil;
- A comunidade de espécies de Mucorales em ovinos de Sertânia, Pernambuco, Brasil, é composta por *C. muscae*, *Lichtheimia* sp., *L. brasiliensis*, *Mucor* sp., *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. luteus*, *M. hiemalis*, *M. ramosissimus*, *M. variosporus*, *P. crystallinus*, *P. kleinii*, *P. longipes*, *P. oedipus*, *R. arrhizus* var. *arrhizus*, *R. stolonifer* e *Syncephalastrum racemosum*;
- *Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*, *Circinella* sp., *C. muscae*, *C. echinulata*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. luteus*, *M. racemosus* f. *racemosus*, *M. ramosissimus*, *P. crystallinus*, *P. kleinii*, *P. longipes*, *P. Minutus*, *P. oedipus* e *S. racemosum* fazem parte da comunidade coprófila de bovinos de Arcoverde e Serra Talhada, Pernambuco, Brasil;
- *Mucor circinelloides* f. *griseocyanus* é o táxon de Mucorales mais frequente nos excrementos de bovinos, caprinos e ovinos nas áreas estudadas;
- *Cunninghamella echinulata*, *M. irregularis* e *R. arrhizus* var. *arrhizus* são os táxons menos frequentes nos excrementos dos herbívoros;
- A composição das espécies é mais similar entre os excrementos dos bovinos Guzerá e Sindi;

- *M. indicus* e *M. irregularis* estão sendo citados pela primeira vez nos neotrópicos;
- Excrementos dos diferentes herbívoros das cidades de Arcoverde, Sertânia e Serra Talhada, Pernambuco, Brasil, apresentam a mesma riqueza de espécies de Mucorales, embora o número de espécies nos excrementos de cada animal varie ao longo dos meses do ano;
- Dentre os gêneros observados nos excrementos dos herbívoros, *Mucor* comporta o maior número de espécies, seguido por *Pilobolus*, *Lichtheimia* e por *Rhizopus*;
- *Cunninghamella echinulata*, *M. irregularis* e *P. minutus* ocorrem apenas em excrementos de bovinos, enquanto *L. ramosa* ocorre apenas em fezes de caprinos da raça Moxotó;
- *Lichtheimia brasiliensis*, *M. variosporus*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* e *R. stolonifer* estão presentes em fezes de ovinos;
- Treze diferentes ácidos graxos compõe a biomassa de Mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco, incluindo os ácidos linolêico, γ -linolênico, esteárico e/ou oléico;
- Todos os táxons de Mucorales identificados apresentam os ácidos palmítico e oléico em suas biomassas;
- Com exceção de *S. racemosum*, todas as espécies analisadas apresentam ácido linolênico em suas biomassas;
- O ácido oléico ocorre com maior concentração em *M. circinelloides* f. *griseocyanus* e em *C. echinulata*, ocorrendo o oposto para o ácido miristoléico na biomassa de *L. brasiliensis*;
- *Lichtheimia brasiliensis* apresenta a composição de ácidos graxos mais variada dentre os isolados.

REFERÊNCIAS

- Abdullah, S.K. 1982. Coprophilous mycoflora on different dung types in southern desert of Iraq. *Sydowia* 35: 1–5.
- Abe, A. Sujaya, I.N., Sone, T., Asano, K., Oda, Y. 2004. Microflora ora and selected metabolites of potato pulp fermented with an Indonesian starter *Ragi Tapé*. *Food Technology Biotechnology* 42: 169–173.
- Abraham, M.J., Srinivasan, R.A. 1984. Lipid and fatty acid composition of selected fungi grown on whey medium. *Journal of Food Science* 49: 950–961.
- Ainsworth, G.G. 1971. *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi*. 6. ed. The Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, 630.
- Akinmusire, O.O. 2011. Fungal Species Associated with the Spoilage of Some Edible Fruits in Maiduguri Northern Eastern Nigeria. *Advances in Environmental Biology* 5 (1): 157–161.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to soil microbiology*. New York, John Wiley.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C. W., Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*. 4. ed. New York, John Wiley & Sons, pp. 870.
- Alvarez, E.D. 2013. El Subphylum Mucoromycotina: generalidades y aspectos taxonómicos recientes (Mucoromycotina Subphylum: overview and recent taxonomic aspects). *Boletín micológico* 28 (1): 16–25.
- Alastruey-Izquierdo, A., Hoffmann, K., Hoog, G. S., Rodriguez-Tudela, J. L., Voigt, K., Bibashi, E., Walther, G. 2010. Species Recognition and Clinical Relevance of the Zygomycetous Genus *Lichtheimia* (syn. *Absidia Pro Parte*, *Mycocladius*). *Journal of Clinical Microbiology* 48: 2154–2170.
- Alvarez, H.M., Steinbuchel, A. 2002. Triacylglycerols in prokaryotic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 60: 367–76.
- Alvarez, E., Sutton, D.A., Cano, J., Fothergill, A.W., Stchigel, A., Rinaldi, M.G., Guarro, J. 2009. Spectrum of Zygomycete species identification in clinically significant specimen in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 47:1650–1656.
- Álvarez, E., Cano, J., Stchigel, A.M., Sutton, D.A., Fothergill, A.W., Salas, V., Rinaldi, M.G., Guarro, J. 2011. Two new species of *Mucor* from clinical samples. *Medical Mycology* 49: 62–72.
- Alves M.H., Trufem, S.F.B., Milanez, A.I. 2002. Táxons de *Mucor* Fresen. (Zygomycota) em fezes de herbívoros, Recife, PE, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 25 (2): 147–160.
- Alves, M.A., Campos-Takaki, G.M., Okada, K., Pessoa, I.H.F., Milanez, A.I. 2005. Detection of extracellular protease in *Mucor* species. *Revista Iberoamericana de Micologia* 22: 114–117.
- Alves, J.J.A. 2009. Degradação da Caatinga: uma investigação ecogeográfica. *Revista Caatinga* 22, (3): 126–135.
- Aggelis, G., Sourdis, J. 1997. Prediction of lipid accumulation degradation in oleaginous microorganisms growing on vegetable oils. *Antonie van Leeuwenhoek*. 72:159–65.
- Ahmed, S.U., Singh, S.K., Pandey, A., Kanjilal, S., Prasad, R.B.N. 2006. Effects of various process parameters on the production of γ -linolenic acid in submerged fermentation. *Food Technology Biotechnology*, Zagreb, 44 (2): 283–287.
- Anderson, T. W. 1984. *An introduction to multivariate statistical analysis*. New York, John Wiley & Sons.
- Andrade-Lima, D. 1981. The caatingas dominium. *Revista Brasileira de Botânica* 4(2): 149–153.
- Antolin, G., Tinaut, F.V., Briceno, Y., Castano, V., Perez, C., Ramiez, A.I. 2002. Optimisation of biodiesel production by sunflower oil transesterification. *Bioresource Technology* 83: 111–4.
- Aki, T., Nagahata, Y., Ishihara, K., Tanaka, Y., Morinaga, T., Higashiyama, K., Akimoto, K., Fujikawa, S., Kawamoto, S., Shigeta, S., Ono, K.; Suzuki, O. 2001. Production of arachidonic acid by filamentous fungus, *Mortierella alliacea* strain YN-15. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 78(6): 599–604.

- Akinmusire, O.O. 2011. Fungal Species Associated with the Spoilage of Some Edible Fruits in Maiduguri Northern Eastern Nigeria. *Advances in Environmental Biology* 5(1): 157-161.
- Arambarri, A.M., Cabello, M.N. 1996. *Circinella lacrymispora* sp. nov., a new mucoral isolated from Argentine soils. *Mycotaxon* 57: 145-149.
- Baijal, U., Mehrotra, B.S. 1980. The genus *Cunninghamella* — reassessment. *Sydowia* 33:1-13.
- Bartnicki-Garcia, S. 1963. Symposium on biochemical bases of morphogenesis in fungi mold-yeast dimorphism of mucor. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 293-304.
- Batista, A.C. 1948. *Pilobolus crystallinus* (Wiggs) Tode. *Boletim da Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio* 15: 1-6.
- Batista, A.C., Pontual, D. 1948. Alguns fungos coprófilos de Pernambuco. *Boletim da Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio* 15: 27-44.
- Batista, A.C., Vital, A.F., Silva-Maia, H. 1955. Alguns Discomicetos recolhidos em Pernambuco. *Anais Sociedade de Biologia de Pernambuco. Instituto de Micologia* n. 28.
- Batista, A.C., Fishman, O., Vasconcelos, C.T., Rocha, I.G. 1961ba. Leveduras e outros fungos das fezes de ovinos, caprinos, suínos, galináceos e animais cativos, no Recife. *Boletim do Instituto de Micologia da Universidade do Recife* 327: 1-27.
- Batista, A.C., Vasconcelos, C.T., Fischman, O., Silva, J.O. 1961b. Flora micótica intestinal de eqüinos e asininos, no Recife. *Boletim do Instituto de Micologia da Universidade do Recife* 326: 116.
- Bell, A. 1975. Fungal succession on dung of the brush-tailed opossum in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* 13: 437-462.
- Benjamin, R.K. 1959. The merosporangiferous Mucorales. *Aliso* 4 (2): 321-433.
- Benjamin, R.K., Mehrotra, B. S. 1963. Obligate azygospore formation in two species of *Mucor* (Mucorales). *Aliso* 5:235-245.
- Benjamin, R.K., Mehrotra, B.S. 1969. Obligate azygospore formation in two species of *Mucor* (Mucorales). *Aliso* 2: 235-245.
- Benjamin, R.K. 1979. Zygomycetes and their spores. in Kendrick B (ed.), *The Whole Fungus*. Ottawa, Nat. National Museum of Natural Science 2: 573-622.
- Benny, G.L. 1982. Zygomycetes. in Benny GL (ed.). *Synopsis and Classification of Living Organisms*. McGraw - Hill Book Co. Inc., New York. pp. 184-195.
- Benny, G.L., Humber, R.A., Morton, J.B. 2001. The Zygomycota: Zygomycetes. in McLaughlin DJ, McLaughlin EG, Lemke PA (eds.), *The Mycota. Systematics and Evolution*. Berlin, Springer-Verlag. pp. 184-195.
- Benny, G.L. 2008. The methods used by Dr. R.K. Benjamin, and other Mycologists to isolate Zygomycetes. *Aliso* 26: 37-61.
- Benny, G.L. 2006. Zygomycetes. Disponível em: <<http://www.zygomycetes.org>>. Acesso em: 21 maio 2014.
- Benny, G.L. 2009. Zygomycetes. Disponível em: <<http://www.zygomycetes.org>>. Acesso em: 21 maio 2014.
- Benny, G.L. 2010. Zygomycetes. Disponível em: <<http://www.zygomycetes.org>> Disponível em: <<http://www.zygomycetes.org>>. Acesso em: 21 maio 2014.
- Benny, G.L. 2014. Zygomycetes. Disponível em: <<http://www.zygomycetes.org>>. Acesso em: 21 maio 2014.
- Benny, G.L. 2012. Current systematics of the zygomycotan fungi with a brief discussion of their biology. In: Misra JK, Tewari JP, Deshmukh SK (eds), *Systematics and evolution of fungi*. Progress in mycological research. Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA. pp. 55–105.
- Bezerra, J.D.P., Santos, M.G.S., Barbosa, R.N., Svedese, V.M., Lima, D.M.M., Fernandes, M.J.S., Gomes, B.S., Paiva, L.M., Almeida-Cortez, J.S., Souza-Motta, C.M. 2013. Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study. *Symbiosis* 60: 53-63.
- Bills, G.F., Christensen, M., Powell, M., Thorn, G. 2004. Saprobiic soil fungi. In: Mueller, G.M., Bills, G.F., Foster, M. S. Inventory and monitoring methods. *Biodiversity Fungi*. pp. 271-302.

- Blackwell, M. 2011. The Fungi: 1,2,3...5.1 million species?. *American Journal of Botany* 98(3): 426-438.
- Boedijn, K.B. 1959. Notes on the Mucorales of Indonesia. *Sydowia* 12: 321-362.
- Bray, J. R.; Curtis, J. T. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, v. 27, n. 4, p. 325, 1957. Disponível em: <<http://www.esajournals.org/doi/abs/10.2307/1942268>>. Acesso em: 12/1/2015.
- Budziszewska, J., Piatkowska, J., 2010. Taxonomic position of *Mucor hiemalis* f. *luteus*. *Mycotaxon* 111: 75-85.
- Calaça, F.J.S., Da Silva, N.C., Xavier-Santos, S. 2014. A Checklist of coprophilous fungi and other fungi recorded on dung from Brazil. *Mycotaxon* 128: 205-211pagina
- Caretta, G., Piontelli, E. 1996. Coprophilous fungi from confined deers in Pavia (Lombardia, Italy). *Boletín Micológico* 11: 41-50.
- Caretta, G., Piontelli, E., Savino, E., Bulgheroni, A. 1998. Some coprophilous fungi from Kenya. *Mycopathologia* 142: 125-134.
- Carlile, M.I., Watkinson, S.C., Gooday, G.W. 2001. The Fungi. 2. ed. San Diego, *Academic Press* p. 565.
- Cavalcanti, M.A.Q., de Oliveira, L.G., Fernandes, M.J., Lima, D.M. 2006. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios da região Xingó, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*. 20: 831-837.
- Chatzifragkou, A., Fakas, S., Galiotou-Panayotou, M., Komaitis, M., Aggelis, G., Papanikolaou, Seraphim. 2010. Commercial sugars as substrates for lipid accumulation in *Cunninghamella echinulata* and *Mortierella isabellina* fungi. *European Journal of Lipid Science and Technology* 112: 1048-1057.
- Chen, G.-q., Zheng, R.-y. 1986. A new species of *Mucor* with giant spores. *Acta Mycol. Sinica, Supplement I*, 1: 56-60.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25: 294-306.
- Christensen, M. 1989. A view of fungal ecology. *Mycologia*, New York, v.81, pp.1-19.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N. 2006. Primer v.6 User Manual\Tutorial. Primer-E Ltd, Plymouth.
- Cohen, J. 1960. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement*, v. 20, n. 1, p. 37-46.
- Conti, E., Stredansky, M., Stredanska, S., Zanetti, F. 2001. γ -linolenic acid production by solid-state fermentation of mucorales strains on cereals. *Bioresource Technology Essex* 76: 283-286.
- Cordeiro Neto, F., Perssoni, R.A.B., Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. 1997. Fungos produtores de inulinas isolados da rizosfera de Asteraceae herbácea do cerrado (Moji- Guaçu, SP, Brasil). *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 21: 149-153.
- de Souza, J. I., Schoenlein-Crusius, I. H., Oliveira, I. H. S. 2008. Selected species of Mucorales from soil contaminated with toxic metals in São Paulo state, Brazil. *Mycotaxon* 106: 273-288.
- de Souza, J. I. et al. 2011. Zygomycetes from “Reserva Biológica de Mogi Guaçu”, São Paulo State, Brazil. *Mycotaxon* 116: 303-312.
- de Souza, C.A.F., Costa, C.M.C., Maia, L.C., Santiago, A.L.C.M.A. 2013. Mucorales (Mucoromycotina). In: Santos, E.M., Júnior, M.M., Silva-Cavalcanti, J.S.S., Almeida, G.V.L. (eds.) *Parque Estadual Mata da Pimenteira: Riqueza Natural e Conservação da Caatinga*. pp 51-63.
- Dennis, C. 1983. Soft fruits. In: Dennis, C. (ed), *Post-harvest pathology of fruits and vegetables*. pp 23-42.
- Delgado-Ávila A.E., Urdaneta-García, L.M., Piñeiro-Chávez, A.J. 2005. Coprophilous fungi of Zulia state, Venezuela. Divisions: Myxomycota, Zygomycota and Basidiomycota. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad del Zulia* 15(1): 57-63.
- Dix, N.J., Webster, J. 1995. *Fungal ecology*. Chapman & Hall, London.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H. 1993. *Compendium of soil fungi*. 1. Academic Press, San Francisco.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H., 2007. *Compendium of Soil Fungi*. IHW-Verlag, San Francisco.

- Dolatabadi, S., Walther, G., Gerrits, A. H. G., Ende, van den., de Hoog, G. S. 2013. Diversity and delimitation of *Rhizopus microsporus*. *Fungal Diversity*. DOI 10.1007/s13225-013-0229-6. pagina
- Drumond, M.A., Kiill, L.H.P., Nascimento, C.E.S. 2002. Inventário e sociabilidade de espécies arbóreas e arbustivas da Caatinga na Região de Petrolina, PE. *Brasil Florestal* 74: 37-43.
- Ebersohn, C., Eicker, A. 1997. Determination of the coprophilous fungal fruit body successional phases and the delimitation of species association classes on dung substrates of African game animals. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 38: 183- 190.
- Ellis, J.J., Hesseltine, C.W. 1965. The genus *Absidia*: globose-spored species. *Mycologia* 57: 222-235.
- Ellis, J.J., Hesseltine, C.W. 1966. Species of *Absidia* with ovoid sporangiospores. II. *Sabouraudia* 5: 59-77.
- Ellis, J.J., Hesseltine, C.W. 1974. Two New Families of Mucorales. *Mycologia* 66 (1): 87-95.
- Fakas, S., Galiotou-Panayotou, M., Papanikolaou, S., Komaitis, M., Aggelis, G. 2007. Compositional shifts in lipids fractions during lipid turnover in *Cunninghamella echinulata*, *Enzyme and Microbial Technology*, New York, 40: 1321-1327.
- Ferrari, R.A., Oliveira, V.S., Scabio, A. 2005. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físicoquímica e consumo em gerador de energia. *Química Nova* v. 28. 1: 19-23.
- Foos, M.K., Rakestraw, J.B. 1985. A survey of *Pilobolus* from Lake County, Ohio. *Ohio Journal of Science* 85 (3): 137-138.
- Foos, M.K., Royer, J.A. 1989. A survey of *Pilobolus* from Yellowstone National Park. *Mycotaxon* 34 (2): 395-397.
- Foos, M.k., May, N.L., Beach, D.L., Pomper, M., Sheehan, K.B., Ruch, D.G. 2011. Phylogeny of Pilobolaceae. *Mycologia* 103 (1): 36-44.
- Foos, M.K., Sheehan, K.B. 2011. Molecular identification of *Pilobolus* species from Yellowstone National Park. *Mycologia* 103 (6): 1208-1215.
- Gams, W. 2007. Biodiversity of soil- inhabiting fungi. *Biodiversity and Coservation* 16: 69-72.
- Gibbs, P.A., Seviour, R.J., Schmid, F., 2000. Growth of filamentous fungi in submerged culture: problems and possible solutions. *Critical Reviews In Biotechnology* 20: 17–48.
- Ginman, A.T., Young, T.W.K. 1989. Azygospore morphology in *Mucor azygospora* and *M. bainieri*. *Mycological Research* 93: 314-320.
- Gema, H., Kavadia, A., Dimou, D., Tsagou, V., Komaitis, M., Aggelis, G. Production of γ -linolenic acid by *Cunninghamella echinulata* cultivated on glucose and orange peel. *Applied Microbiology Biotechnology*, New York, 58: 303-307.
- Gherbawy, Y., Kesselboth, C., Elhariry, H., Hoffmann, K. 2010. Molecular barcoding of microscopic fungi with emphasis on the mucoralean genera *Mucor* and *Rhizopus*. In: Gherbawy Y. and Voigt K. (eds.) Molecular identification of fungi. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. p. 213–250.
- Góes-Neto, A., Loguercio-Leite, C., Guerrero, R.T., 2005. DNA extraction from frozen field collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB- base methods. *Biotemas* 18: 19-32.
- Gomes, M.M.R. 2009. Produção de biodiesel a partir da esterificação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleos de peixe. 2009. P. 1-93. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Gonzáles, M.C., Murueta-Figueroa, N., Medina-Ortiz, C., T. Hanlin, . 2010 New record of *Circinella muscae* from a hydrocarbon polluted sand beach of Tabasco, Mexico. *Mycotaxon* 113: 111–117.
- Grove, W.B. 1934. A systematic account and arrangement of the Pilobolidae. in Buller AHR (ed.), *Researches on Fung*. Vol 6. London, Longmans Green and Co. pp 191-224.

- Gusmão, L.F.P., Barbosa, F.R., Barbosa, F.F. 2006. Fungos Conídias. In: Gusmão LFP; Maia LC. (Org.). *Diversidade e caracterização dos fungos no semi-árido*. Vol 1. Ed. Recife: Associação Plantas do Nordeste, pp: 27-47.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp* 41:95–98.
- Halffter, G., Matthews, E.G. 1971. The Natural History of Dung Beetles. A Supplement on associated biota. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 13: 147-164.
- Hawksworth, D. L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, Surrey, Inglaterra, n. 95, p. 641-655.
- Harley, R.M. 1995. Introduction In: Stannard, B.L (ed) Flora of Pico da Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. Royal Botanic Gardens. Kew, 336-363.
- Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C., Pegler, D.N. 1995. *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi*. 8. ed. UK, Wallingford, CAB international.
- Hermet, A., Méheust, D., Monunier, J., Barbier, G., Jany, J.L.; 2012. Molecular systematics in the genus *Mucor* with special regards to species encountered in cheese. *Fungal Biology* 116: 692-705.
- Hesseltine, C.W. 1954. The section *Genevensis* of the genus *Mucor*. *Mycologia* 46:358-366.
- Hesseltine, C.W. 1955. Genera of Mucorales with notes on their synonymy. *Mycologia* 47: 344-363.
- Hesseltine, C.W., Fennell, D. I. 1955. The genus *Circinella*. *Mycologia* 47:193-212.
- Hesseltine, C.W., and J. J. Ellis. 1964. The genus *Absidia*: *Gongronella* and cylindrical-spored species of *Absidia*. *Mycologia* 56: 568-601.
- Hesseltine, C.W., Ellis, J.J. 1973. Mucorales. In: Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K. eds. *The Fungi: An Advanced Treatise*, vol 5B. A Taxonomic Review with Keys: Basidiomycetes and Lower Fungi. New York, Academic Press. 187–217.
- Hesseltine, C.W. 1986. Zygomycetes in food fermentation. *Mycologist* 5: 162-169.
- Hesseltine, C.W., Fennel, D.I. 1995. The genus *Circinella*. *Mycologia* 7: 193-211.
- Howell, C.P. 2002. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control by *Trichoderma* spp.. *Phytopathology* 92:177–180.
- Hsieh, T.T., Tseng, H.K., Sun, P.L., Wu, Y.H., Chen, G.S. 2013. Disseminated zygomycosis caused by *Cunninghamella bertholletiae* in patient with hematological malignancy and review of published case reports. *Mycopathologia* 175: 99–106.
- Hibbett, D.S et al 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 3: 509-547.
- Hoffmann, K., Discher, S., Voigt, K., 2007. Revision of the genus *Absidia* (Mucorales, Zygomycetes) based on physiological, phylogenetic, and morphological characters; thermotolerant *Absidia* spp. form a coherent group, Mycocladiaceae fam. nov. *Mycological Research* 111: 1169-1183.
- Hoffmann, K., Voigt, K. 2009. *Absidia parricida* plays a dominant role in biotrophic fusion parasitism among mucoralean fungi (Zygomycetes): *Lentamyces*, a new genus for *A. parricida* and *A. zychae*. *Journal of Plant Biology* 11:537–554.
- Hoffmann, K., Voigt, K., Kirk, P.M. 2011. Mortierellomycotina subphyl. nov., based on multi-gene genealogies. *Mycotaxon* 115(1): 353–363.
- Hoffmann, K., Pawłowska, J., Walther, G., Wrzosek, M., Hoog, G.S., Benny, G.L., Kirk, P.M., Voigt, K. 2013. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. *Persoonia* 30: 57–76.
- Hoog, G.S de., Guarro, J., Gen, J., Figueras, M.J. 2000. *Atlas of Clinical Fungi*. 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, University Rovirai Virgili, Reus, Spain.
- Hu, F.M., Zheng, R.Y., Chen, G.Q. 1989. A redelimitation of the species of *Pilobolus*. *Mycosystema* 2: 111-133.

- Humber, R.A. Entomophthoromycota: a new phylum and reclassification for entomophthoroid fungi. *Mycotaxon* 120:477–492.
- Jacobs, K., Botha, A. 2008. *Mucor renisporus* sp. nov., a new coprophilous species from Southern Africa. *Fungal Diversity* 29: 27–35.
- James, T.Y., O'Donnell, K. 2004. Zygomycota. Microscopic 'Pin' or 'Sugar' Molds. Disponível em: <http://tolweb.org/Zygomycota/20518/2004.12.21> no projeto "The Tree of Life" em <http://tolweb.org>. Acesso em 03 de Mar. 2014.
- James, T.Y et al. 2006. Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. *Nature* 443: 818–822.
- Jennessen J, Nielsen, K.F., Houbraken, J., Lyhne, E.K., Schnurer, J., Frisvad, J.C., Samson, R.A. 2005. Secondary metabolite and mycotoxin production by the *Rhizopus microsporus* group. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1833–1840.
- Jeennor, S., Laoteng, K., Tanticharoen, M., Cheevadhanarak, S. 2006. Comparative fatty acid profiling of *Mucor rouxii* under different stress conditions. *FEMS Microbiology. Letters*, Amsterdam, 259:60–66.
- Kavadia, A., Komaitis, M., Chevalot, I., Blanchard F, Marc I, Aggelis G. 2001. Lipid and linolenic acid accumulation in strains of Zygomycetes growing on glucose. *Journal of American Oil Chemists` Society* 78: 341–346.
- Kendrick, B. 2000. *The Fifth Kingdom*. 3 ed. Mycologue publications.
- Knothe, G. 2005. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology*, v. 86, p. 1059–1070.
- Knothe, G. 2009. Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition. *Energy Environ Sci*, v. 2, p. 759–766.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C., Stalpers, J. 2001. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 9th ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A. 2008. *Dictionary of the Fungi*, 10th ed. CABI, Wallingford, UK.
- Krings, M., Taylor, T.N., Dotzler, N. 2013. Fossil evidence of the zygomycetous fungi. *Persoonia*. 30: 1–10.
- Krug, J.C., Benny, G.L. e Keller, H.W. 2004. Coprophilous fungi. In: Biodiversity of Fungi (eds. G.M. Mueller, G.F. Bills e M.S. Foster). *Elsevier* 468–499.
- Kwasna, H., Ward, E., Bateman, G.L. 2006. Phylogenetic relationships among Zygomycetes from soil based on ITS1/2 rDNA sequences. *Mycological Research* 110: 501–510.
- Lacaz C.S., Porto E., Martins, J.E.C.M., Heis-Vaccari, E.M., Melo, N.T. 2002. Tratado de micologia médica. Lacaz. 9º ed, Sarvier, São Paulo.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J., Higgins, D.G. 2007. Clustal Wand Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23:2947–2948.
- Li, W., Du, W. Li, Y.H., Liu, D.H., Zhao, Z.B. 2007. Enzymatic transesterification of yeast oil for biodiesel fuel production. *Chinese Journal of Process Engineering* 7(1):137–140.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q., Dubois-Calero, N. 2008. Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress* 24: 815–820.
- Lima, J.R. de O., Silva, R.B., Silva, C.C.M., Santos, L.S.S., Santos Jr., J.R., Moura, E.M., Moura, C.V.R. 2007. Biodiesel de babaçu (*Orbignya* sp.) obtido por via etanólica. *Química Nova* v.30 3: 600–603.
- Lima, D.X. 2014. Diversidade de Mucorales do solo e de excrementos de herbívoros do Parque Nacional do Catimbau-PE, Brasil. 2014. P.1–59. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco.
- Liu, X.Y., Huang, H., Zheng, R.Y. 2001. Relationships within *Cunninghamella* based on sequence analysis of ITS r DNA. *Mycotaxon*. 80: 77–95.
- Liu, B., Zhao, Z.K., Chem, J. 2007. Biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 82:775–780.

- Lira, N.P. 1971. Espécies de *Absidia* do solo do Maranhão. *Bol Inst Micol Univ Rec.* 657:1-6.
- Lu, X., Liu, Z., Shen, Y., She, X., Lu, G., Zhan, P., Fu, M., Zhang, X., Ge, Y., Liu, W. 2009. Primary Cutaneous Zygomycosis Caused by *Rhizomucor variabilis*: A New Endemic Zygomycosis? A Case Report and Review of 6 Cases Reported from China. *Clinical Infectious Diseases* 49: 39-43.
- Lunn, J.A., Shipton, W.A. 1983. Re-evaluation of taxonomic criteria in *Cunninghamella*. *Transactions of the British Mycological Society* 81: 303-312.
- Madden, A.A., Stchigel, A.M., Guarro, J., Sutton, D., Starks, P.T. 2011. *Mucor nidicola* sp. nov., a novel fungal species isolated from 1 an invasive paper wasp nest. *IJSEM Papers in Press*.
- Magnuson, J.K., Lasure, L.L. 2004. Organic Acid Production by Filamentous Fungi. in Tkacz JS, Lange L (eds.), *Advances in fungal biotechnology for industry, agriculture, and medicine*. 307- 340.
- Masunga, G.S., Andresen, Ø., Taylor, J.E., Dhillon, S.S. 2006. Elephant dung decomposition and coprophilous fungi in two habitats of semi-arid Botswana. *Mycological Research* 110: 1214-1226.
- McCarthy, S.P. 2000. A coprophilous fruiting sequence on equine dung from Armidale, New South Wales. *Australasian Mycologist* 19 (1): 10-13.
- McIntyre, M., Breum, J., Arnau, J., Nielsen, J. 2002. Growth physiology and dimorphism of *Mucor circinelloides* (syn. *racemosus*) during submerged batch cultivation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58: 495–502.
- Melo, R.F.R., Santiago, A.L.C.M.A., Cavalcanti, M.A.Q. 2011. *Syncephalis clavata* (Zoopagales, Zygomycetes), a first Record from the neotropics. *Mycotaxon* 116: 133-136.
- Meng, X., Yang, J., Xu X., Zhang, L., Nie Q., Xian M. 2009. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renewable Energy* 34: 1–5.
- Mehrotra, B.S., Mehrotra, B.M. 1978 [1979]. Another azygosporic species of *Mucor* from India. *Sydowia* 31:94-96.
- Misra, P.C. 1975. Uma nova espécie de *Syncephalastrum*. *Mycotaxon* 3: 51-54.
- Misra, P.C., K.J. Srivastava, and K. Lata. 1979. *Apophysomyces*, a new genus of the Mucorales. *Mycotaxon* 8:377-382.
- Millati, R., Edebo, L., Taherzadeh, M.J. 2005. Performance of *R hizopus* , *Rhizomucor* , and *Mucor* in ethanol production from glucose, xylose, and woodhydrolyzates. *Enzyme and Microbial Technology* 36: 294 – 300.
- Mirza, J.H., Khan, S.M., Begum, S., Shagufta, S. 1979. Mucorales of Pakistan. University of Agriculture, *Faisalabad, Pakistan*. 183 p.
- Mouchacca, J. 2005. Mycobiota of the arid Middle East: check-list of novel fungal taxa introduced from 1940 to 2000 and major recent biodiversity titles. *Journal of Arid Environments* 60: 359–387.
- Nagy, L.A., Harrower, K.M. 1979. Analysis of two southern hemisphere coprophilous fungus successions. *Transactions of the British Mycological Society* 67 (2): 69-74.
- Nand, K., Mehrotra, B.S. 1968. Species of *Pilobolus* and *Pilaira* from India. *Sydowia* 22: 299-306.
- Nand, K., Mehrotra, B.S. 1977. Species of *Pilobolus* and *Pilaira* from India. *Sydowia* 30: 283-289.
- Nelson, D.L., Cox, M.M. 2011. Principios de bioquímica de Lehninger. São Paulo, *Sarvier*, 5ª. Ed.
- Nyberg, Å., Persson, I.L. 2002. Habitat differences of coprophilous fungi on moose dung. *Mycological Research* 106 (11): 1360-1366.
- Nout, M.J.R., Kiers, J.L. 2005. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. *Journal of Applied Microbiology* 98: 789–805.
- O'Donnell, K.L., Ellis, J.J., Hesseltine, C.W., Hooper, G.R. 1977. *Azygosporogensis* in *Mucor azygosporus*. *Canadian Journal of Botany* 55:2712-2720.
- O'Donnell, K.L. 1979. *Zygomycetes in culture*. University of Georgia, Georgia.
- O'Donnell, K., Lutzoni, F.M., Ward, T.J., Benny, G.L. 2001. Evolutionary relationships among mucoralean fungi (Zygomycota): evidence for family polyphyly on a large scale. *Mycologia* 93: 286–297.

- Oliveira, L.G., Cavalcanti, M.A.Q., Fernandes, M.J.S., Lima, D.M.M. 2013. Diversity of filamentous fungi isolated from the soil in the semiarid area, Pernambuco, Brazil. *Journal of Arid Environments* 95: 49-54.
- Orlói, L. 1978. *Multivariate Analysis in Vegetation Research*. 2nd ed. New York: Springer.
- Partida-Martinez, L.P., Hertweck, C. 2005. Pathogenic fungus harbors endosymbiotic bacteria for toxin production. *Nature* 437: 884–888.
- Pearson, K. 1892. *The grammar of science*. London: J. M. Dent and Company.
- Pearson, K. 1895. Notes on regression and inheritance in the case of two parents. *Proceedings of the Royal Society of London* 58: 240–242.
- Pompéia, C. 2002. *Essencialidade dos ácidos graxos*. In: Curi, R; Pompéia, C; Miyasaka, C.K; Procópio, J. editores. *Entendendo a gordura: os ácidos graxos*. São Paulo: Manole. 1.
- Pontes, A.S.G.C. 2010. Influência das propriedades fluidodinâmicas na matriz do biodiesel metílico e suas misturas diesel/biodiesel de óleo de peixe. 2010. P. 1-96. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.
- Piontelli, E., Santa-Maria, A.T., Garetta, G. 1981. Coprophilous fungi of the horse. *Mycopathologia* 74: 89-115.
- Prado, D.E. 2003. As Caatingas da America do Sul. In : Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. (orgs). *Ecologia e Conservação da Caatinga* pp 3-74.
- Prade, C. A. et al. 2006. Diversidade de fungos filamentosos e microscópicos do solo em uma plantação de *Hovenia dulcis* Thumb. *Biociências* 14(2):101-106.
- Prade, C. A. 2007. Diversidade de fungos do solo em sistemas agroflorestais de citrus com diferentes tipos de manejo no município de Roca Sales, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biociências* 15 (1): 73-81.
- Pereira, F. O. et al. 2010. Microbiota fúngica do solo e ar atmosférico na região da Borborema, Estado da Paraíba, Brasil. *RBAC* 42(2): 123-126.
- Qiang, L., Wei, D., Dehua, L. 2008. Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80:749–756.
- Ratledge, C. 1991. Microorganisms for lipids, *Acta Biotechnol.* 11: 429–438.
- Ratledge, C., Wynn, J. P. 2002. The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms. *Advances in Applied Microbiology* 51:1–51.
- Ratledge, C. 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production. *Biochimie* 86: 807–15.
- Ravikumar, K., Dakshayini, J., Girisha, S.T. 2012. Biodiesel production from oleaginous fungi. *International Journal of life sciences* 6 (1): 43-49.
- Ribes, J.A., Vanover-Sams, C.L., Baker, D.J. 2000. Zygomycetes in human disease. *Clinical Microbiology Reviews* 13: 236-301.
- Richardson, M.J. 2001a. Diversity and occurrence of coprophilous fungi. *Mycological Research* 105 (4): 387-402.
- Richardson, M.J. 2001b. Coprophilous fungi from Brazil. *Brazilian archives of biology and technology* 44 (3): 283-289.
- Richardson, M.J. 2008. Records of Coprophilous Fungi from the Lesser Antilles and Puerto Rico. Caribb. *Journal of Science* 44(2): 206-214.
- Richardson, M.J. 2009. The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure. *Clinical Microbiology and Infection* 15: 2-9.
- Roden, M.M., Zautis, T.E., Buchanan, W.L., Knudsen, T.A., Sarkisova, T.A., et al. 2005. Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clinical Infectious Diseases* 41: 634–653.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574.
- Santiago, A.L.C.M.A., Souza-Motta, C.M. 2006. Mucorales isolados do solo de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. *Acta Botanica Brasilica* 20: 641-647.

- Santiago, A.L.C.M.A. Estudo taxonômico e molecular de Zygomycetes em excrementos de herbívoros no Recife, Pernambuco, Brasil. 2008. p. 112. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2008.
- Santiago, A.L.C.M.A., Souza-Motta, C.M. 2008. Isolation of Mucorales from processed maize (*Zea mays* L.) and screening for protease activity. *Brazilian Journal of Microbiology* 39(4): 698-700.
- Santiago, A.L.C.M.A., Cavalcanti, M.A.Q., Trufem, S.F.B. 2008. *Pilobolus* (Mucoraceae) from herbivore dung in Recife, Pernambuco, Brazil. *Mycotaxon* 104: 111-122.
- Santiago, A.L.C.M.A.; Maia, L.C. 2010. Two new records of Mucorales from the Brazilian semi-arid region. *Mycotaxon* v. 114 p.171-177.
- Santiago, A.L.C.M.A., Trufem, S.F.B., Malosso, E., Santos, P.J.F., Cavalcanti, M.A.Q. 2011. Zygomycetes from herbivore dung in the ecological reserve of Dois Irmãos, Northeast Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 42 (1).
- Santiago, A.L.C.M.A., Santos, P.J.P., Maia, L.C. 2013a. Mucorales from the semiarid of Pernambuco, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 1678-4405.
- Santiago, A.L.C.M.A., Hoffmann, K., Lima, D.X., de Oliveira, R. J. V., Vieira, H.E. E., Malosso, E., Maia, L.C., da Silva, G. A. 2014. A new species of *Lichtheimia* (Mucoromycotina, Mucorales) isolated from Brazilian soil. *Mycological Progress*.
- Santiago, A.L.C.M.A., de Souza, J.I. 2014. Mucorales in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB120276>). Acesso em 09 de Jan. 2014.
- Sarbhoy, A.K. 1968. Revision of the *Sphaerosporus* group of *Mucor*. *Transactions of the British Mycological Society* 51:25-32.
- Schell, W. A., O'Donnell, K., Alspaugh, J. A. 2011. Heterothallic mating in *Mucor irregularis* and first isolate of the species outside of Asia. *Medical Mycology* 1-9.
- Silva, R.A., Santos, A.M.M., Tabarelli, M. 2003. Riqueza e diversidade de plantas lenhosas em cinco unidades de paisagem da Caatinga. In: *Ecologia e conservação da caatinga*. p 356.
- Silva, M.H., Filho, L.O.C., Oliveira, A.F.M., Almeida-Cortez, J.S. 2011. Ocorrência de galhas em espécies de *Croton* do Parque Nacional Vale do Camitibau (PE). *Revista Brasileira de Geografia Física* 3: 510-519.
- Schipper, M.A.A. 1973. A study on variability in *Mucor hiemalis* and related species. *Studies in Mycology* (Baarn) 4:1-40.
- Schipper, M.A.A. 1975. *Mucor mucedo*, *Mucor flavus* and related species. *Studies in Mycology* (Baarn) 10:1-33.
- Schipper, M.A.A., Samson, R.A., Stalpers, J.A. 1975. Zygosporic ornamentation in the genera *Mucor* and *Zygorhynchus*. *Persoonia* 8:321-328.
- Schipper, M.A.A. 1976. On *Mucor circinelloides*, *Mucor racemosus* and related species. *Studies Mycol. (Baarn)* 12:1-40.
- Schipper, M.A.A. 1978. On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. *Studies in Mycology* 17:1-69.
- Schipper, M.A.A. 1984. A revision of the genus *Rhizopus* I. The *Rhizopus stolonifer* group and *Rhizopus oryzae*. *Studies in Mycology* 25: 1-34.
- Schipper, M.A.A., Stalpers, J.A. 1984. A revision of the genus *Rhizopus*. II. The *Rhizopus microsporus*-group. *Studies in Mycology* (Baarn) 25:20-34.
- Schipper, M.A.A. 1990. On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. *Studies in Mycology* 25: 1-53.
- Schipper, M.A.A., Samson, R.A. 1994. Miscellaneous notes on Mucoraceae, *Mycotaxon* 50:475-491.
- Schoenlein-Crusius, I.H., Milanez, A.I. 1997. Mucorales (Zygomycotina) da Mata Atlântica da reserva biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP. *Acta Botanica Brasilica* 11(I).
- Schoenlein-Crusius, I.H., Milanez, A.I., Trufem, S.F.B., Pires-Zottarelli, C.L.A., Grandi, R.A.P., Santos, M.L., Giustra, K.C. 2006. Microscopic fungi in the Atlantic rainforest in Cubatão, São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 267-275.

- Schroeder, L. 2013. Obtenção de ácidos graxos de biomassa úmida de microalgas através de saponificação. 2013. P. 1-90. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Paraná.
- Schwarz, P., Bretagne, S., Gantier, Jean-Charles., Garcia-Hermoso, D., Lortholary, O., Dromer, F., Dannaoui, E. 2006. Molecular identification of zygomycetes from culture and experimentally infected tissues. *Journal of Clinical Microbiology* 44: 340–9.
- Schwartz, V. U., Hoffmann, K., Nyilasi, I., Papp, T., Vágvolgyi, C., de Hoog, S., Voigt, K., Jacobsen, I.D. 2012. *Lichtheimia* Species Exhibit Differences in Virulence Potential. *PLoS ONE*. 7: 1-11.
- Schwartz, V.U.; Santiago, A.L.C.M. A.; Jacobsen, I.D.; Voigt, K. 2014. The pathogenic potential of the *Lichtheimia* genus revisited: *Lichtheimia brasiliensis* is a novel, non-pathogenic species. *Mycoses* 57: 1-4.
- Skiada, A., Pagano, L., Groll, A., Zimmerli, S., Dupont, B., et al. 2011. Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology ECMM Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clinical Microbiology and Infection* 17: 1859–1867.
- Souto, P.C. Acumulação e decomposição da serapilheira e distribuição de organismos edáficos em área de caatinga na Paraíba, Brasil. 2006.150f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2006.
- Somashekara, D., Venkateshwaran, G., Sambaiah, K., Lokesh, B.R. 2002. Effect of culture conditions on lipid and gamma-linolenic acid production by mucoraceous fungi. *Process Biochemistry* 38: 1719-1724.
- Subrahmanyam, A. 1983. Studies on themomycology. *Mucor thermo-hyalospora* sp. nov. *Bibliotheca mycologica* 91:421-423.
- Tabarelli, M., Silva, J.M.C., Vicente, A. Santos, A.M. 2000. Análise de representatividade das unidades de conservação de uso direto e indireto na Caatinga: análise preliminar. pp. 13 in: SILVA, J.M.C., TABARELLI, M. (coords.) Workshop Avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade bioma Caatinga. Petrolina, Pernambuco, Brasil. www.biodiversitas.org.br/caatinga.
- Tauk-Tornisielo, S.M., Arasato, L.S., de Almeida, A.F., Govone, J.S., Malagutti, E.N. 2009. Lipid formation and γ -linolenic acid production by *mucor circinelloides* and *rhizopus* sp., grown on vegetable oil. *Brazilian Journal of Microbiology* 40:342-345.
- Trufem, S.F.B. 1981a. Mucorales do Estado de São Paulo 1: gênero *Mucor* Micheli. *Rickia* 9: 81-91,
- Trufem, S.F.B. 1981b. Mucorales do Estado de São Paulo 2: gêneros *Absidia* Tiegh., *Gongronella* Ribaldi e *Rhizopus* Ehrenberg. *Rickia* 9: 99-106.
- Trufem, S.F.B. 1981c. Mucorales do Estado de São Paulo 3. Gêneros *Circinella* Tiegh. & Le Monnier e *Cunninghamella* Matruchot. *Rickia* 9: 113-120.
- Trufem, S.F.B. 1984. Mucorales do Estado de São Paulo. 4. Espécies coprófilas. *Rickia* 11: 65-75.
- Trufem SFB, Viritato A. 1985. Mucorales do Estado de São Paulo. 6. Mucoraceae coprófilas. *Rikia* 12: 113-123.
- Trufem, S.F.B. et al. 2006. Filo Zygomycota. In: Giulietti, A. M. et al. (Org.). Diversidade e caracterização dos fungos do semi-árido brasileiro. Recife: Instituto do Milênio do Semi-Árido 2: 97-107.
- Upadhyay, H.P. 1969. Soil fungi from North-East and North Brazil. VII. *Nova Hedw* 17: 65-73.
- Tiegh., P. 1878. Troisième mémoire sur les Mucorinées. *Annales des Sciences Naturelles-Botanique et Biologie Vegetale* 4(4): 312-399.
- Vánová M., Kubátová A. 2004. Dung microcosms as another source of fungal biodiversity on areas with industrial deposits., in Kovár P. (ed.), Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems). Prague, Academia. pp 121-131.

- Valenzuela, A.B., Neto, S.K. 2003. Ácidos grasos Omega-6 y Omega-3 em La nutrición perinatal: su importância em el desarrollo del sistema nervioso y visual. *Revista chilena de pediatría* 74: 149-157.
- Vaz, J.S., Deboni, F., Azevedo, M.J., Gross, J.L., Zelmanovitz, T. 2006. Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. *Brazilian Journal of Nutrition*. 19 (4): 498-500.
- Vicente, G., Fernando, B.L., Rodriguez, R., Javier, G., Sádaba, I., Rui-Vázquez, R.M., Torre-Martinez, S., Garre, V. 2009. Biodiesel production from biomass of an oleaginous fungi. *Biochemical Engineering Journal* 48:22–27.
- Viriato, A., Trufem, S.F.B. 1985. Mucorales de São Paulo.7. Espécies Merosporangiadas. *Rickia* 12: 147–154.
- Viriato, A. 1996. Diversidade e aspectos ecológicos de Mucorales (Zygomycetes) de solo e de fezes de herbívoros, no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP, Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade de Guarulhos, Guarulhos.
- Viriato, A. 2003. Mucorales (Zygomycota) coprófilos e de solo: diversidade e aspectos ecológicos. Dissertação de Mestrado, São Paulo. pp 162.
- Voigt, K., Olsson, I. 2008. Molecular phylogenetic and scanning electron microscopical analysis places the Choanephoraceae and the Gilbertellaceae in a monophyletic group within the Mucorales (Zygomycetes, Fungi). *Acta Biologica Hungarica* 59: 365-383.
- Voigt, K., Hoffmann, E., Einax, M., Eckart, T., Papp, C., Vágvölgyi and L. Olsson. 2009. Revision of the family structure of the Mucorales (Mucoromycotina, Zygomycetes) based on multigene-genealogies: Phylogenetic analyses suggest a bigeneric Phycomycetaceae with Spinellus as sister group to Phycomyces, In: Y. Gherbawy, R.L. Mach and M.K. Rai. [eds.]. *Current Advances in Molecular Mycology*. Nova Science Publishers, Hauppauge, New York. U.S.A. pp. 313-332.
- Walther, G., Pawłowska, j., Alastruey-Izquierdo, A., Wrzosek, M., Rodriguez-Tudela, J.L., Dolatabadi, S., Chakrabarti, A., de Hoog, G.S. 2013. DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity. *Persoonia* 30: 11–47.
- Ward, J. H. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of American Statistical Association* 58(301): 236-244.
- Wartchow, F., Carvalho, A.S., Souza, M.C.A., Cortez, V.G. 2007. Some coprophilous Psilocybe (Strophariaceae) from Pernambuco state, Northeast, Brazil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 7(2): 150-153.
- Watanabe, T. 1994. Two new species of homothallic Mucor in Japan. *Mycologia* 86:691-695.
- Webster J. 1980. *Introduction to fungi*. Cambridge : Cambridge University Press.
- Weete, J. D., Shewmaker, F., Gandhi, S. R. 1998. γ -linolenic acid in zygomycetous fungi : *Syzygites megalocarpus*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1367-1372.
- Wei, H., Wang, W., Yarbrough, J.M., Baker, J.O., Laurens, L., Wychen, S.V., Chen, X., Taylor, I.I., L.E., Xu, Q., Himmel, M.E., Zhang, M. 2013. Genomic, Proteomic, and biochemical analyses of oleaginous *Mucor circinelloides*: Evaluating its capability in utilizing cellulolytic substrates for lipid production. *PLoS ONE* 8: 1-12.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J.(eds.) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. New York, Academic Press, pp. 315-322.
- White, M.M., James, T.Y., O'Donnell, K.O., Cafaro, M.J., Tanabe, Y., Sugiyama, J. 2006. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. *Mycologia* 98(6): 872–884.
- Wicklow, D.T.; Angel, K.; Lussenhop, J. 1980. Fungal community expression in lagomorph versus ruminant feces. *Mycologia* 72: 1015-1021.
- Wicklow, D.T. 1981 The coprophilous fungal community: a mycological system for examining ecological ideas. in Wicklow DT, Carroll GC (eds), *The Fungal Community: its organization and role in the ecosystem*. New York, Marcel Dekker. pp 47-76.
- Wilks, S. S. 1938. Weighting

- systems for linear functions of correlated variables when there is no dependent variable. *Psychometrika* 3: 23-40.
- Wu, T., Zivanovic, S., Draughon, F.A., Conway, W.S., Sams, C.A. 2005. Physicochemical Properties and Bioactivity of Fungal Chitin and Chitosan. *Journal. Agricultural. Food Chemistry* 53: 3888-3894.
- Xia, C., Zhang, J., Zhang, W., Hu, B. 2011. A new cultivation method for microbial oil production: cell pelletization and lipid accumulation by *Mucor circinelloides*. *Biotechnology for biofuels* 4:15 2-10.
- Xian, M., Nie, J., Men, Q., Liu, J., Zhou, C., Kang, Y., Zhen, K. 2003. Production of γ -linolenic acid by disrupted mycelia of *Mortierella isabelina*. *Letters Applied Microbiology* 36:182-185.
- Xuefeng, W.U., Shaotong, J., Mo, L., Lijun, P., Zhi, Z., Shuizhong, L. 2011. Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* using semicontinuous fermentation in bioreactor. *Biotechnology Journal of Industrial Microbiology* 38: 565-571.
- Yan, G., Viraraghavan, T. 2003. Heavy metals removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. *Water Research* 37 (18): 4486-4496.
- Yu, j., Walther, G., Diepeningen, A.D.V., Ende, A.H.G., Li, R.Y., Moussa, T.A.A., Almaghrabi, O.A., Hoog, G.S. 2014. DNA barcoding of clinically relevant *Cunninghamella* species. *Medical Mycology* 00: 1-8.
- Yule, G. U. 1912. On the Methods of Measuring Association Between Two Attributes. *Journal of Royal Statistical Society* 75: 579–652.
- Zafar, S., Aqil, F., Ahmad, I. 2007. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. *Bioresource Technology*. 98(13): 2557-2561.
- Zalar, P., Hennebert, G.L., Gunde-Cimerman, N., Cimerman, A. 1997. *Mucor troglophilus*, a new species from cave crickets. *Mycotaxon* 65:507-516.
- Zheng, R., Chen, G.Q., Hu, F.-M. 1988. *Monosporus variedades de Syncephalastrum*. *Mycosystema* 1: 35-52.
- Zheng, Ru-yong., Chen, Gui-qing. 2001. A Monograph of *Cunninghamella*. *Mycotaxon* 80: 1-75.
- Zheng, R., Chen, G., Huang, H., Liu, X. 2007. A Monograph a *Rhizopus*. *Sydowia* 59 (2): 273-372.
- Zhu, M., Yu, L.J., Li, W., Zhou, P.P., Li, C.Y. 2006. Optimization of arachidonic acid production by fed-batch culture of *Mortierella alpina* based on dynamic analysis. *Enzyme Microbiology Technology* 38: 735-74.

