



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

THALLINE RAFHAELLA LEITE CORDEIRO

**REVISÃO DO GÊNERO *Backusella* Hesseltine & J.J Ellis COM BASE EM
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E FILOGENÉTICAS**

Recife
2018

THALLINE RAFHAELLA LEITE CORDEIRO

**REVISÃO DO GÊNERO *Backusella* Hesseltine & J.J Ellis COM BASE EM
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E FILOGENÉTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, do Departamento de Micologia, Centro de Biociências 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 Cabral Monteiro de Azevedo Santiago (UFPE).

Recife

2018

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

Cordeiro, Thalline Rafaella Leite

Revisão de gênero *Backusella* Hesseltine & J.J Ellis com base nas características morfológicas, fisiológicas e filogenéticas /Thalline Rafaella Leite Cordeiro. - 2018

91 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Recife, 2018.
Inclui referências.

1. Fungos. 2. Biologia – Classificação. 3. Filogenia. I. Santiago, André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo (Orientador). II. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2019 - 032

THALLINE RAFHAELLA LEITE CORDEIRO

**REVISÃO DO GÊNERO *Backusella* Hesseltine & J.J Ellis COM BASE EM
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E FILOGENÉTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, do Departamento de Micologia, Centro de Biociências 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.

Aprovada em: 09/03/2018

BANCA EXAMINADORA

Dr. André Luiz C. M. de A. Santiago (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Tatiana Baptista Gibertoni (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Flávia Paiva Coutinho (Examinador Externo)
Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste

Dra. Oliane Maria Correia Magalhães (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda força, fé, amor, sabedoria, saúde e vida a mim proporcionados.

A minha mãe, Cleomar Leite, por ser minha fonte de amor, razão de viver, meu alicerce, por toda educação e força que me deste.

Aos meus irmãos, Thiago Vinicius e Thallita Rachel, por todo apoio.

Ao professor André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago por toda paciência, ensinamentos e conselhos, que me ajudaram a crescer como profissional e como pessoa.

Ao Luis Roberto por toda paciência, apoio, compreensão e companheirismo.

Aos amigos de laboratório e do departamento de micologia: Catarina Leticia, Carlos Fragoso, Diogo Xavier, Ana Lúcia, Rejane Silva, Rafael Vilela, Camila Melo, Ingrid Brandão, Walter Pinto, Juliana Maria, Mayara Correia, Pâmela Ximenes, Gabriela Silva, Tatiana Oliveira e Maria Audilene.

Aos amigos: Ana Raquel Marinho, Ana Paula Nunes, Thays Sharlye, Wesley Cordeiro, Thais Dantas, Eweline Souza, Silvia Moura, Williane Moura, Ertênia Paiva, Nabuer Francielle, Luiz Alexandre e Camila Lopes por todo carinho e apoio.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES,) pelo apoio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Pernambuco por todo suporte para realização desse trabalho.

Ao CBS-KNAW do Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, a Micoteca URM e a Coleção de Culturas do Instituto de Botânica de São Paulo pelo fornecimento dos espécimes.

A todos os que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização dessa dissertação.

RESUMO

Backusella, pertencente à ordem Mucorales, é constituído por 10 espécies cujos esporangióforos apresentam-se transitoriamente curvados (quando jovens) e eretos quando maduros, surgindo diretamente do substrato ou do micélio aéreo. A reprodução sexuada ocorre pela produção de zigósporos e a assexuada pela formação de esporangíolos uni ou multiesporados em ramos pedicelares e pela produção de esporangiosporos em esporângios. Um recente trabalho publicado sobre a filogenia (regiões ITS e LSU do rDNA) dos Mucorales, embora tenha contribuído para o melhor conhecimento da classificação dessa ordem, deixou algumas dúvidas sobre o posicionamento filogenético de algumas espécies de *Backusella*. Desta forma, este estudo teve como objetivos realizar uma revisão taxonômica de *Backusella*, através de estudos morfológicos, fisiológicos e filogenéticos, com o intuito de verificar o real posicionamento das espécies de *Backusella* entre os Mucorales e estabelecer relações filogenéticas seguras entre as espécies descritas, confirmando as características morfológicas dessas espécies, emendando suas descrições morfológicas, quando necessário, e elaborar uma chave de identificação para *Backusella*. Trinta e quatro culturas de *Backusella* foram analisadas morfológicamente e tiveram as regiões ITS e LSU do rDNA, como também o gene codificador de proteína RPB1, sequenciados para o conhecimento da classificação dos mesmos. Além das espécies já conhecidas para o gênero, duas espécies novas, *Backusella* sp. 1 nov. e *Backusella* sp. 2 nov., estão sendo descritas e ilustradas nesse trabalho. *Backusella grandis* está sendo sinonimizada com *B. variabilis*. *Backusella oblongielliptica* e *B. oblongispora* se distanciaram geneticamente e morfológicamente das demais espécies do gênero e não pertencem à Backusellaceae. Estudos posteriores com outros marcadores moleculares serão realizados para que se possa conhecer o real posicionamento filogenético dessas duas espécies.

Palavras-Chave: Filogenia. Backusellaceae. Gene RPB1. Mucoromycotina. rDNA. Taxonomia.

ABSTRACT

Backusella, belongs to the order Mucorales, is constituted by 10 species whose sporangiophores are transitorily curved (when young) and erect when mature, arising directly from the substrate or aerial mycelium. Sexual reproduction occurs by the production of zygospores and asexual by the formation of uni or multi-spored sporangiola in pedicellar branches and by the production of sporangiospores in sporangia. A recent work on Mucorales phylogeny (regions ITS and LSU of rDNA), although contributing to the better knowledge of the classification of this order, left some doubts about the phylogenetic positioning of some species of *Backusella*. Thus, this study objectifies a taxonomic review of *Backusella* through morphological, physiological and phylogenetic studies, in order to verify the real positioning of *Backusella* species among the Mucorales and to establish secure phylogenetic relationships among the described species, confirming the morphological characteristics of these species, emmended their morphological descriptions, when necessary, and to elaborate an identification key for *Backusella*. Thirty-four cultures *Backusella* were analyzed morphologically and had the ITS and LSU rDNA regions, as well as the RPB1 protein-coding gene, sequenced to the knowledge of the classification. In addition to the species already known for the genus, two new species, *Backusella* sp. 1 nov. and *Backusella* sp. 2 nov., are being described and illustrated in this paper. *Backusella grandis* is being synonymized with *B. variabilis*. *Backusella oblongielliptica* and *B. oblongispora* differ genetically and morphologically from the other species of the genus and do not belong to Backusellaceae. Further studies with other molecular markers will be carried out in order to know the actual phylogenetic positioning of these two species.

Keywords: Phylogeny. Backusellaceae. Gene RPB1. Mucoromycotina. rDNA. Taxonomy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências de LSU do rDNA. <i>Actinomucor elegans</i> , <i>Mucor indicus</i> , <i>Pilobolus umbonatus</i> e <i>Rhizopus microsporus</i> foram utilizados como grupo externo. Os valores de suporte são da inferência bayesiana e análise de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente)	30
Figura 2 -	Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências de ITS do rDNA. <i>Rhizopus microsporus</i> foi usado como grupo externo. As sequências são rotuladas com seus números de acesso ao banco de dados. Os valores de suporte são de inferência bayesiana e análise de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente)	31
Figura 3 -	Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências do gene codificador de proteína RPB1. <i>Mucor mucedo</i> e <i>Mucor hiemalis</i> foram usados como grupo externo. As sequências são rotuladas com seus números de acesso ao banco de dados. Os valores de suporte são de inferência bayesiana e análise de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente)	32
Figura 4 -	<i>Backusella circina</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 µm; b = 10 µm	36
Figura 5 -	<i>Backusella circina</i>. A – Esporangióforo jovem com esporângio; B – Esporangióolos uniesporados; C, E, F – Esporangióforo com columela; D – Zigosporângio com células suspensoras opostas; G – Esporangiosporos e esporangióolos uniesporados; H – Rizóides. Escalas: A, B, C, E, F, G, H = 25µm; D – 20 µm	37
Figura 6 -	<i>Backusella constricta</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 µm; b = 10 µm	39
Figura 7 -	<i>Backusella constricta</i>. A – Esporangióforo curvado com ramificação simples curvada; B – Esporangióforo curvado com esporângio; C, D, E, F – Esporangióforo com columela; G – Esporangióolos multiesporados ramificados; H – Esporangiosporos. Escalas: A = 50 µm; B, C, D, E, F, G, H = 25 µm	40
Figura 8 -	<i>Backusella gigacellularis</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 µm; b = 10 µm	42

Figura 9 -	<i>Backusella gigacellularis</i>. A – Esporangióforo com esporângio; B – Esporangióforo com columela; C – Ramificação do esporangióforo com columela; D – Estruturas globosas colapsadas; E – Esporangíolo multiesporado circinado; F – Célula gigante; G – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E, G = 25 µm; D, F = 100 µm	43
Figura 10 -	<i>Backusella indica</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 20 µm; b = 10 µm	45
Figura 11 -	<i>Backusella indica</i>. A, B – Esporangióforo ramificado; C, E – Esporangióforos com columelas; D – Esporangiosporos. Escalas: A, B, D = 20 µm; B, C = 25 µm	46
Figura 12 -	<i>Backusella lamprospora</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 µm; b = 10 µm	48
Figura 13 -	<i>Backusella lamprospora</i>. A, B – Esporangióforo com esporângio; C, D – Esporangióforo com columela; E – Esporangíolos multiesporados ramificados jovens; F, G – Esporangíolos multiesporados ramificados maduros; H – Esporangiosporos. Escalas = A, B, C, D, E, F, H = 25 µm; G = 50 µm	49
Figura 14 -	<i>Backusella oblongielliptica</i>. a - Esporangióforos com columelas; b - Esporangiosporos. Escalas: a = 50 µm; b = 25 µm	51
Figura 15 -	<i>Backusella oblongielliptica</i>. A – Esporangióforo ramificado; B – Esporangióforo com esporângio; C, D, F – Esporangióforo com columela; E – Células gigantes; G – Esporangiosporos. Escalas: A = 100 µm, B, C D, F = 50 µm; E = 20 µm; G = 30 µm	52
Figura 16 -	<i>Backusella oblongispora</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 50 µm; b = 10 µm	54
Figura 17 -	<i>Backusella oblongispora</i>. A – Esporangióforo com esporângio e ramificação simples curta; B, C – Esporangióforo com esporângio; D – Esporângio; E – Columela com colar; F, G – Esporangióforo com columela e colar; H – Esporangiospros. Escalas: A, B, C = 200 µm; D, E, F, G = 50 µm; H = 20 µm.....	55
Figura 18 -	<i>Backusella recurva</i>: a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a, b = 10 µm	57

Figura 19 -	<i>Backusella recurva</i>. A – Esporângio jovem recurvado; B, C, D – Esporangióforos com columelas; E – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E = 25 µm.....	58
Figura 20 -	<i>Backusella tuberculispora</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 µm; b = 10 µm	60
Figura 21 -	<i>Backusella tuberculispora</i>. A – Esporangióforo ramificado; B – Ramificação do esporangióforo com columela e esporângio jovem; C – Esporangiosporos; D, F, G – Esporangióforo simples com columela; E – Rizóides. Escalas: A = 100 µm; B, G = 50 µm; C = 20 µm; D = 30 µm; E, F = 25 µm	61
Figura 22 -	<i>Backusella variabilis</i>. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 20 µm; b = 10 µm	63
Figura 23 -	<i>Backusella variabilis</i>. A, B - Esporangióforo com esporângio; C, D, E, F, G - Esporangióforo com columela; H - Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E, F, G, H = 20 µm	64
Figura 24 -	<i>Backusella</i> sp. 1 nov. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 µm; b = 10 µm	66
Figura 25 -	<i>Backusella</i> sp. 1 nov. A – Esporangióforo jovem recurvado; B – Esporangióforo com esporângio; C – Esporangióforo com inchaço abaixo da columela; D, E, F – Esporangióforos com columelas; G – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E, F, G = 25 µm	67
Figura 26 -	<i>Backusella</i> sp. 2 nov. a – Columelas; b – Esporangiosporos; c – Esporangióforo circinado e esporangiosporos. Escalas: a = 25 µm; b = 20 µm; c = 10 µm	70
Figura 27 -	<i>Backusella</i> sp. 2 nov. A – Esporangióforo com esporângio. B – Esporangióforo com columela; C – Esporangiólo multiesporado ramificado e columela; D – Esporangióforo circinado com rizóide; E – Rizóide; F, G – Zigosporângio com zigosporo; H – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E, H = 25 µm; F, G = 20 µm	71
Figura 28 -	Rizóides. A, B – <i>Backusella circina</i> ; C – <i>B. lamprospora</i> ; D, E – <i>B. oblongispora</i> ; F – <i>B. tuberculispora</i> . Escalas: A, B = 25 µm; C = 50 µm; D, E = 200 µm; F = 25 µm	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Táxons de <i>Backusella</i> estocados em coleções de culturas utilizados para análise morfológica e filogenética	24
Tabela 2 – Espécimes de <i>Backusella</i> utilizados para produção de zigosporos	26
Tabela 3 – Cruzamentos entre espécimes de <i>Backusella</i>	74

LISTA DE ABREVIATURAS

AEM	Ágar Extrato de Malte
BDA	Batata dextrose ágar
cm	Centímetro
CBS-KNAW	CBS-KNAW do Westerdijk Fungal Biodiversity Institute
CCIBt	Coleção de Culturas do Instituto de Botânica de São Paulo
Diâm.	Diâmetro
g	Grama
°C	Grau Celsius
H	Holótipo
h	Horas
I	Isótipo
L	Litro
m	Metro
mL	Mililitro
µL	Microlitro
µm	Micrometro
sp.	Espécie

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1	FUNGOS ZIGOSPÓRICOS: DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO	16
2.2	MUCOROMYCOTA Doweld	17
2.3	MUCOROMYCOTINA Benny	18
2.4	MUCORALES Schröter	19
2.5	BACKUSELLACEAE K. Voigt & P.M. Kirk E <i>BACKUSELLA</i> Hesselt. J.J & Ellis.....	21
3	MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1	REATIVAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE <i>BACKUSELLA</i>	23
3.2	ESTUDO MORFOLÓGICO, GENÉTICO E ILUSTRAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE <i>BACKUSELLA</i>	25
3.3	PRODUÇÃO DE ZIGÓSPOROS	25
3.4	EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO	26
3.5	ANÁLISE FILOGENÉTICA	26
4	RESULTADOS	28
4.1	ANÁLISES FILOGENÉTICA E MORFOLÓGICA	28
4.2	TAXONOMIA	33
4.2.1	<i>Backusella</i> Ellis & Hesseltine emend. Cordeiro et al.....	33
4.2.2	<i>Backusella circina</i>	35
4.2.3	<i>Backusella constricta</i>	38
4.2.4	<i>Backusella gigacellularis</i>	41
4.2.5	<i>Backusella indica</i>	44
4.2.6	<i>Backusella lamprospora</i>	47
4.2.7	<i>Backusella oblongielliptica</i>	50
4.2.8	<i>Backusella oblongispora</i>	53
4.2.9	<i>Backusella recurva</i>	56
4.2.10	<i>Backusella tuberculispora</i>	59
4.2.11	<i>Backusella variabilis</i>	62
4.2.12	<i>Backusella</i> sp. 1 nov.	65

4.2.13	<i>Backusella</i> sp. 2 nov.	68
4.3	CRUZAMENTO PARA PRODUÇÃO DE ZIGÓSPOROS	73
5	DISCUSSÃO	75
5.1	ANÁLISE FILOGÉNÉTICA E TAXONOMIA	75
5.1.1	<i>Backusella circina</i>	77
5.1.2	<i>Backusella constricta</i>	77
5.1.3	<i>Backusella gigacellularis</i>	78
5.1.4	<i>Backusella indica</i>	79
5.1.5	<i>Backusella lamprospora</i>	79
5.1.6	<i>Backusella oblongielliptica</i>	80
5.1.7	<i>Backusella oblongispora</i>	81
5.1.8	<i>Backusella recurva</i>	82
5.1.9	<i>Backusella tuberculispora</i>	82
5.1.10	<i>Backusella variabilis</i>	83
5.1.11	<i>Backusella</i> sp. 1 nov.	83
5.1.12	<i>Backusella</i> sp. 2 nov.	84
5.2	CRUZAMENTO PARA PRODUÇÃO DE ZIGOSPOROS	85
6	CONCLUSÕES	86
	REFERÊNCIAS	87

1 INTRODUÇÃO

Mucoromycotina Benny, um dentre os três subfilos de Mucoromycota Doweld (SPATAFORA et al., 2016), comporta fungos filamentosos e ubíquos que podem ser encontrados nos mais diversos substratos, podendo atuar como sapróbios, micoparasitas, parasitas de animais, plantas e simbiontes (ALEXOPOULOS et al., 1996; HIBBETT et al., 2007; HOFFMANN et al., 2011). A reprodução sexuada dos espécimes desse subfilo ocorre pela produção de zigósporos, enquanto a assexuada é caracterizada pela produção de merósporos, produzidos no interior de merosporângios, e esporangiosporos, formados no interior de esporângios e esporangióolos (BENNY et al., 2016).

Mucorales Dumort. constitui a maior ordem em número de espécies dentro de Mucoromycotina e, dentre as 15 famílias abrangidas por essa ordem (BENNY et al., 2016), Backusellaceae K. Voigt & P.M. Kirk abriga espécies do gênero *Backusella* Hesselt. J.J & Ellis que se caracterizam por produzirem esporangióforos que podem surgir diretamente do substrato, recurvados, quando jovens, e eretos, quando maduros. A maioria das espécies de *Backusella* produzem, simultaneamente, esporângios e esporangióolos, sendo os primeiros encontrados no ápice de esporangióforos, enquanto os esporangióolos podem surgir da porção lateral dos esporangióforos ou diretamente do substrato. Os esporângios de *Backusella* possuem parede deliquescente, enquanto os esporangióolos uniesporados e/ou multiesporados apresentam parede persistente (BENNY & BENJAMIN, 1975).

Até 2013, *Backusella* circunscrevia três espécies: *B. circina* J.J Ellis & Hesselt., *B. lamprospora* (Lendn.) Benny & R.K. Benj. e *B. ctenidia* (Durrell & M. Fleming) Pidopl. & Milko ex Benny & R.K. Benj. Entretanto, Walther et al. (2013), ao realizarem um estudo filogenético dos Mucorales utilizando sequências das regiões ITS e LSU do rDNA, correlacionaram geneticamente sete espécies de *Mucor* Fresen. com *Backusella*. Além da proximidade genética, os autores verificaram que as espécies de *Mucor* geneticamente agrupadas com as de *Backusella* também apresentavam esporangióforos recurvados, quando jovens, que se tornam eretos na maturidade. Dessa forma, os autores transferiram espécies de *Mucor* para *Backusella*. Atualmente, 11 espécies de *Backusella* são aceitas: *Backusella circina*, *B. gigacellularis* J. I. de Souza, Pires-Zottarelli & Harakava, *B. grandis* (Schipper & Samson) Walther & de Hoog ($\equiv$ *M. grandis*), *B. indica* (Baijal & BS Mehrotra) Walther & de Hoog ($\equiv$ *M. recurvus* var. *indicus*), *B. lamprospora*, *B. oblongielliptica* (H. Nagan, Hirahara & Seshita ex Pidopl & Milko.) Walther & de Hoog. ($\equiv$ *M. oblongiellipticus*), *B. oblongispora*

(Naumov) Walther & de Hoog ($\equiv$ *M. oblongisporus*), *B. recurva* (EE Butler) Walther & de Hoog ($\equiv$ *M. recurvus* var. *recurvus*), *B. tuberculispora* (Schipper) G. Walther & de Hoog ($\equiv$ *M. tuberculisporus*), *B. variabilis* (AK Sarbhoy) Walther & de Hoog ($\equiv$ *M. variabilis*) e *B. constricta* D.X. Lima, C.A.F. de Souza & A.L. Santiago. *Backusella ctenidia* (Durrell & M. Fleming) Pidopl. & Milko ex Benny & R.K. Benj., anteriormente *Thamnidium ctenidium* Durrell & M. Fleming, foi transferida para *Mucor* e denominada *M. ctenidius* (Durrell e M. Fleming) Walther & de Hoog (WALTHER et al., 2013; DE SOUZA et al., 2014; LIMA et al., 2016).

Embora o trabalho de Walther et al. (2013) tenha sido fundamental para o entendimento da filogenia e sistemática de *Backusella*, algumas lacunas foram criadas: 1 – duas variedades de *Mucor recurvus* foram alocadas em clados diferentes na árvore elaborada com sequências ITS do rDNA, sugerindo que são espécies distintas, sendo uma delas (CBS 538.80) possivelmente nova; 2 – *Backusella oblongielliptica* e *B. oblongispora* são tão geneticamente distantes das outras espécies do gênero que não foram possíveis de terem as sequências ITS do rDNA alinhadas com as outras espécies de *Backusella*. Portanto, é possível que não pertençam ao último gênero. Além disso, Walther et al. (2013) apenas consideraram as sequências ITS e LSU do rDNA no estudo, o que pode o tornar frágil do ponto de vista filogenético.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão taxonômica de *Backusella*, através de estudos morfológicos, fisiológicos e filogenéticos, com o intuito de verificar o real posicionamento das espécies de *Backusella* entre os Mucorales e estabelecer relações filogenéticas seguras entre as espécies descritas, confirmando as características morfológicas dessas espécies, com emendas em suas descrições e elaborar uma chave de identificação para *Backusella*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FUNGOS ZIGOSPÓRICOS: DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

Os fungos zigospóricos são organismos cosmopolitas que podem ser encontrados em diversos substratos, principalmente no solo e em excrementos de animais. A parede celular desses micro-organismos é constituída por quitina e quitosana, sendo esses ótimos degradadores de carboidratos simples, como glicose, frutose e sacarose. Esses fungos recebem a denominação de zigospóricos devido ao fato da maioria das espécies produzirem um esporo sexuado, denominado zigosporo, produzido no interior de um zigosporângio, estrutura de resistência com parede escura e espessa, lisa ou ornamentada (TRUFEM, 1981; CARDOSO et al., 1992; ALEXOPOULOS et al., 1996; PARTIDA-MARTINEZ & HERTWECK, 2005).

Tradicionalmente, espécies de fungos zigospóricos eram agrupados no filo Zygomycota Moreau, representado pelas classes Zygomycetes G. Winter e Trichomycetes Alexop. A primeira classe abrangia espécies sapróbias (maioria), parasitas e simbioses, enquanto Trichomycetes abrigava espécies endocomensais de artrópodes (ALEXOPOULOS, 1962; ALEXOPOULOS et al., 1996).

A primeira grande mudança da classificação dos fungos zigospóricos foi iniciada por Schüßler et al. (2001), que elevaram a ordem Glomales à categoria de filo, Glomeromycota C. Walker & A. Schüßler, englobando espécies micorrízicas que se relacionavam com plantas através de simbiose. No entanto, a mais expressiva alteração na classificação do grupo iniciou-se com o trabalho de James et al. (2006), que sugeriu que Zygomycota fosse polifilético. Em seguida, Hibbett et al. (2007) propuseram uma nova classificação que alocou os fungos zigospóricos entre quatro subfilos com posição incerta ("*incertae sedis*"), não relacionados a nenhum filo: Mucoromycotina Benny, Entomophthoromycotina Humber, Kickxellomycotina Benny e Zoopagomycotina Benny. Quatro anos depois, Hoffmann et al. (2011) propuseram o subfilo Mortierellomycotina e, em seguida, Humber (2012) elevou o subfilo Entomophthoromycotina para o filo Entomophthoromycota Humber, sugerindo que as espécies desse filo representavam uma linhagem monofilética, filogeneticamente distinta de todos os outros fungos zigospóricos.

A contribuição mais recente foi fornecida por Spatafora et al. (2016) que, após a realização de um extenso estudo filogenético envolvendo o genoma de 46 táxons de fungos, classificaram todos fungos zigospóricos em dois filios: Mucoromycota Doweld e Zoopagomycota Gryganskyi, M.E. Smith, Stajich & Spatafora. O primeiro abrange Mucoromycotina, Mortierellomycotina Kerst. Hoffm., K. Voigt & P.M. Kirk e

Glomeromycotina Spatafora & Stajich, caracterizados por modos nutricionais associados às plantas e decompositores de detritos vegetais, enquanto o segundo abriga Entomophthoromycotina Humber, Kickxellomycotina Benny e Zoopagomycotina Benny, caracterizados por se associarem com animais ou fungos (micoparasitas) (SPATAFORA et al., 2016).

2.2 MUCOROMYCOTA Doweld

Espécies de Mucoromycota são ubíquos e encontrados nos mais diversos substratos, como solo, plantas, grãos estocados e excrementos de animais, podendo ser sapróbios, simbioses (micorrizas) ou parasitas de plantas, fungos e animais, incluindo humanos (TRUFEM, 1981; ALEXOPOULOS et al., 1996; WHITE et al., 2006; HOFFMANN, 2013).

A produção do zigósporo foi observada em grande parte das espécies de Mucoromycota e, em geral, esses esporos apresentam parede espessa, lisa ou ornamentada, com coloração variando entre castanha, marrom escura ou negra, podendo permanecer latente em condições adversas por longos períodos de tempo (BENNY et al., 2016). A reprodução assexuada nas espécies desse filo ocorre através da produção de esporangiosporos, esporângios, merosporos e glomerosporos, ou ainda pela produção de artrósporos, clamidósporos e células brotantes (ALEXOPOULOS et al., 1996; BENNY et al., 2001; HIBBETT et al., 2007; SPATAFORA et al., 2016).

Dentre os Mucoromycota, o subfilo Glomeromycotina é caracterizado por englobar as espécies que formam micorrizas arbusculares. A reprodução sexuada para esse grupo ainda é desconhecida e, assexuadamente, espécimes desse subfilo produzem esporos semelhantes a clamidósporos, sendo produzidos lateralmente, intercalados ou na porção terminal das hifas cenocíticas dos Glomeromycotina (SCHÜBLER et al., 2001). Esses esporos geralmente podem ser produzidos associados às plantas, presentes em raízes e no solo. As espécies de micorrizas arbusculares, como o próprio nome explica, formam arbúsculos que proporcionam uma melhor absorção de nutrientes e água para as plantas envolvidas nessa relação de simbiose (SCHÜBLER et al., 2001; SPATAFORA et al., 2016).

Mortierellomycotina é um subfilo formado por espécies que produzem um esporângio sem columelas ou com columelas inconspícuas. A reprodução assexuada ocorre através da produção de esporangiosporos em esporângios, esporângios ou, menos comumente, por estilosporos (HOFFMAN et al., 2011). Através da reprodução sexuada, espécies desse subfilo produzem zigospóros que apresentam células suspensoras paralelas e apostas. As hifas de Mortierellomycotina inicialmente são cenocíticas, mas podem se tornar irregularmente

septadas na maturidade, sendo capazes de se diferenciar em estruturas de fixação ou de resistência, como rizóides e clamidósporos. As colônias formadas por espécies presentes nesse gênero são aromáticas, com odor característico de alho (BENNY et al., 2016; SPATAFORA et al., 2016).

Muitas espécies de Mucoromycota apresentam papel importante na biotecnologia, sendo capazes de produzir ácidos orgânicos e enzimas (CORDEIRO-NETO et al., 1997; SANTIAGO & SOUZA-MOTTA, 2006). Táxons deste filo estão envolvidos na síntese de produtos industriais, como amilase, lipase, inulinase, pectinase, renina, protease e outros metabólitos (ALVES et al., 2005; SANTIAGO & SOUZA-MOTTA, 2006). Além disso, os Mucoromycota são utilizados na produção de ácidos cítrico, linolênico, aracdônico, oxálico e láctico (KAVADIA et al., 2001; MAGNUSON & LASURE, 2004). Na indústria alimentícia, espécies da ordem Mucorales são utilizados na fermentação de alimentos (NOUT & KIERS, 2005; ALVAREZ, 2013).

2.3 MUCOROMYCOTINA Benny

O subfilo Mucoromycotina, um dentre os quatro subfilos propostos por Hibbett et al. (2007) para abrigar os espécimes de fungos zigospóricos, é constituído por três ordens: Mucorales Dumort., Endogonales Jacz. & P.A. Jacz. e Umbelopsidales Spatafora, Stajich & Bonito (SPATAFORA et al., 2016). Espécimes desse subfilo são cosmopolitas, em maioria sapróbios, sendo importantes para o ciclo do carbono (ALVAREZ, 2013). embora alguns representantes possam atuar como patógenos facultativos de plantas, animais e até mesmo de outros fungos, ou ainda, estabelecerem simbiose com de raízes de plantas (ALEXOPOULOS et al., 1996; WHITE et al., 2006, HIBBETT et al., 2007; HOFFMANN et al., 2011).

A parede celular dos Mucoromycotina é constituída por quitina e quitosana (CARDOSO et al., 1992; ALEXOPOULOS et al., 1996; PARTIDA-MARTINEZ & HERTWECK, 2005) e muitos espécimes deste subfilo apresentam crescimento rápido, com colônias exibindo um emaranhado de hifas de aparência cotonosa, com coloração variando entre branca, cinza, amarela, laranja, marrom e preta, de acordo com a espécie e idade da colônia (TRUFEM, 1981; ALEXOPOULOS et al., 1996; TRUFEM et al., 2006).

Grande parte das espécies desse subfilo realiza reprodução assexuada pela produção de merosporos, esporangiosporos e/ou esporângios formados no ápice ou em ramos laterais de esporangióforos/esporóforos, e a reprodução sexuada, quando ocorre, se dá pela formação de zigósporos produzidos no interior de zigosporângios (BENNY et al., 2016).

Representantes da ordem Endogonales são sapróbios ou simbiontes ectomicorrízicos,

caracterizados pela formação de esporocarpos contendo zigospórangios e zigosporos (BIDARTONDO et al. 2011, TEDERSOO; SMITH, 2013; DICKIE et al., 2015), enquanto Umbelopsidales abriga espécimes caracterizados pela formação de pigmento avermelhado nos esporângios, além da formação de columelas inconspícuas. São frequentemente isolados de solos rizosféricos, com fortes evidências de que ocorram como endófitos radiculares (HOFF et al., 2004; TERHONEN et al., 2014; SPATAFORA et al., 2016).

Algumas espécies de Mucoromycotina (ordem Mucorales) apresentam um maquinário enzimático que as permite degradar açúcares de estrutura molecular simples, como a glicose e a sacarose (TRUFEM, 1981). Podem atuar como biocatalizadores na produção de ácidos orgânicos, como por exemplo, os ácidos cítrico e glucônico (ALVAREZ, 2013). No controle biológico, algumas espécies são predadoras naturais de insetos que causam danos econômicos às lavouras. Outros podem causar infecções sistêmicas em humanos, geralmente em pacientes imunocomprometidos (JEFFRIES, 1985; RINALDI, 1989; DE HOOG et al., 2000; RIBES et al., 2000). Esses micro-organismos apresentam um enorme potencial econômico-industrial, pois são capazes de sintetizar enzimas e outros metabólitos (KIM, 1994; CORDEIRO-NETO et al., 1997).

2.4 MUCORALES Schröter

Mucorales é caracterizada como a principal ordem, em relação ao número de espécies de Mucoromycotina. Espécies dessa ordem exibem micélio cenocítico, de crescimento rápido e que pode apresentar septos para delimitar estruturas de reprodução ou septos irregularmente espaçados com o envelhecimento da cultura (BENNY et al., 2016). Geralmente, táxons de Mucorales se reproduzem assexuadamente por esporangiosporos, merosporos ou esporangiólos (HOFFMANN et al., 2013).

Os esporângios apresentam variações morfológicas sendo, na maioria das vezes, globosos e/ou subglobosos, podendo ser denominados esporangiólos e merosporângios. Os esporangiólos são esporângios pequenos que apresentam um número menor de esporangiosporos/esporos, quando comparado aos esporângios, enquanto os merosporângios são esporângios cilíndricos ou claviformes, com merosporos (ou merosporangiosporos) uniseriados em cadeia produzidos na superfície de uma vesícula (KIRK et al., 2008; BENNY, 2014). A parede do esporângio pode ser deliquescente, persistente ou evanescente e pode se apresentar lisa ou ornamentada. Outra característica marcante deste grupo de fungos é a presença de rizóides, que podem se mostrar ramificados ou não, e estolões, importantes para a disseminação de algumas espécies do grupo. Clamidósporos, artrósporos e células

leveduriformes (raramente) podem ser produzidos (HELSSELTINE & ELLIS, 1964; HOFFMANN et al., 2013).

Os esporangióforos/esporóforos dos Mucorales podem surgir diretamente do substrato ou do micélio aéreo, sustentando, na maioria das vezes, esporângios terminais, embora esporângios laterais também possam ser visualizados em alguns espécimes. Algumas espécies dessa ordem podem apresentar dimorfismo, que consiste na mudança do estado filamentoso multicelular para um estado unicelular, semelhante às leveduras. A forma de levedura pode ocorrer sobre determinadas temperaturas e variações dos níveis de glicose no substrato e de oxigênio disponível (BARTNICKI-GARCIA & NICKERSON, 1962; HOFFMANN et al., 2013).

Os Mucorales podem ser encontrados nos mais diversos substratos: solo, frutos, vegetais, grãos estocados, animais invertebrados e vertebrados e em excrementos de herbívoros. O solo, por sua vez, é um dos substratos mais colonizados por fungos dessa ordem, onde eles têm papel primordial na decomposição da matéria orgânica, participando ativamente dos ciclos do carbono e nitrogênio (RICHARDSON, 2008). Os principais gêneros encontrados no solo são *Absidia* Tiegh., *Cunninghamella* Matr., *Circinella* Tiegh. & G. Le Monn., *Gongronella* Ribaldi, *Lichtheimia* Vuill., *Mucor* Fresen., *Rhizopus* Ehrenb. e *Syncephalastrum* J. Schröt. (HIBBETT et al., 2007; BENNY, 2008).

Algumas espécies de Mucorales são capazes de sintetizar produtos industriais como amilase, inulinase, lipase, pectinase, proteases e renina (SANTIAGO & SOUZA-MOTTA, 2006). Possuem grande importância econômica, sendo responsáveis por causarem apodrecimento em várias frutas, além de várias doenças em cultivares (PARTIDA-MARTINEZ & HERTWECK, 2005). Em humanos, já foram relatadas infecções sistêmicas causadas por espécimes de Mucorales, geralmente em pacientes com algum tipo de deficiência imunológica, com o acometimento do cérebro, pulmão ou do trato gastrointestinal (KAMEI, 2000).

Mucorales abrange 57 gêneros distribuídos em 15 famílias: Backusellaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Choanephoraceae J. Schröt., Cunninghamellaceae R.K. Benj. emend. Benny, R.K. Benj. & P.M. Kirk, Lentamycetaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Lichtheimiaceae Kerst. Hoffm., G. Walther & K. Voigt, Mucoraceae Dumort., Mycocladiaceae Kerst. Hoffmann, Disher & K. Voigt, Mycotyphaceae Benny & R.K. Benj., Phycomycetaceae Arx, Pilobolaceae Corda, Radiomycetaceae Hesselt. & J.J. Ellis, Rhizopodaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Saksenaeaceae Hesselt. & J.J. Ellis, Syncephalastraceae Naumov ex R.K. Benj. e Umbelopsidaceae W Gams & W. Meyer (BENNY et al., 2016).

2.5 BACKUSELLACEAE K. Voigt & P.M. Kirk E *BACKUSELLA* Hesselt. J.J & Ellis

Backusellaceae K. Voigt & P.M. Kirk, monogenérica, foi proposta em 2012 para abrigar as espécies pertencentes à *Backusella*. Esse grupo de fungos é constituído por espécimes cujos esporangióforos são recurvados quando jovens e, ao envelhecerem, tornam-se eretos, lisos ou com parede incrustada, podendo surgir diretamente do substrato ou do micélio aéreo, sendo ramificados ou não. Geralmente, os esporangióforos originam um esporângio terminal, embora esporângios sustentados por pedicelos laterais possam ser encontrados. Algumas espécies de *Backusella* se destacam por apresentar esporangióolos multiesporados e/ou uniesporados com parede persistente, lisa ou ornamentada, enquanto os esporângios geralmente apresentam parede deliquescente, lisa ou revestida com pequenos espinhos, com coloração variando de castanha clara à preta (VOIGT, 2012; de SOUZA et al., 2014). Os zigosporos surgem de células suspensoras opostas e geralmente apresentam parede escura, opaca ou translúcida, além de exibirem projeções arredondadas ou ornamentadas. Não são observadas apófises nos representantes de Backusellaceae e as columelas podem variar em forma, algumas podendo apresentar uma leve constrição central (BENNY & BENJAMIN, 1975).

O gênero foi primeiramente descrito por Hesseltine & Ellis (1969), tendo sido monografado em 1975 por G. L. Benny e R. K. Benjamin. Inicialmente, *Backusella* abrigava três espécies [*B. circina* J.J. Ellis & Hesselt., *B. ctenidia* (Durrell & M. Fleming) Pidopl. & Milko ex Benny & R.K. Benj. e *B. lamprospora* (Lendn.) Benny & R.K. Benj.]. Ellis & Hesseltine (1969), ao descreverem *Backusella*, perceberam que a espécie tipo do gênero, *B. circina*, produzia esporângios com parede deliquescente, semelhantes aos de *Mucor*. Em seguida, Von Arx (1970) classificou as espécies de *Backusella* em Choanephoraceae J. Schröt. e em Thamnidiaceae Fitzp. Posteriormente, Pidoplichko & Milko (1971) transferiram *Thamnidium ctenidium* Durrell & M. Fleming, para *Backusella* e colocaram todas as espécies até então descritas como *Backusella* em Thamnidiaceae, pela produção de esporangióolos uniesporados ou multiesporados. Benny & Benjamin (1975) preferiram agrupar todos as espécies com produção simultânea de esporângios e esporangióolos uniesporados ou multiesporados, isolados ou aglomerados, no eixo do esporângio, em *Backusella* (BENNY & BENJAMIN, 1975).

Walther et al. (2013), em um estudo envolvendo as regiões ITS e LSU do rDNA, perceberam que *Backusella* apresentava características de um grupo polifilético. Até então, a principal característica determinante para a inclusão de espécimes em *Backusella* era a produção de esporangióolos juntamente com esporângios, sendo essa uma característica

pleisiomórfica. No entanto, os autores perceberam que todas as espécies de *Backusella* apresentam esporangióforos recurvados, quando jovens, e eretos na maturidade. Assim todos os espécimes de *Mucor* com essa característica foram transferidos para *Backusella*, tendo *M. grandis* Schipper & Samson, *M. recurvus* var. *indicus* Baijal & BS Mehrotra, *M. oblongiellipticus* H. Nagan, Hirahara & Seshita ex Pidopl & Milko., *M. oblongisporus* Naumov, *M. recurvus* var. *recurvus* EE Butler, *M. tuberculisporus* Schipper e *M. variabilis* AK Sarbhoy sido denominadas: *B. grandis* (Schipper & Samson) Walther & de Hoog, *B. indica* (Baijal & BS Mehrotra) Walther & de Hoog, *B. oblongielliptica* (H. Nagan, Hirahara & Seshita ex Pidopl & Milko.) Walther & de Hoog, *B. oblongispora* (Naumov) Walther & de Hoog, *B. recurva* (EE Butler) Walther & de Hoog, *B. tuberculispora* (Schipper) G. Walther & de Hoog e *B. variabilis* (AK Sarbhoy) Walther & de Hoog, respectivamente. *Backusella ctenidia* (Durrel & M. Fleming) Pidopl. & Milko ex Benny & R. K. Benj., anteriormente *Thamnidium ctenidium*, foi transferida para *Mucor* e denominada *M. ctenidius* (Durrell & M. Fleming) Walther & de Hoog (WALTER et al., 2013).

De Souza et al. (2014) isolaram um espécime de solo do Cerrado brasileiro que se diferenciou dos demais, tendo sido denominado de *B. gigacellularis* J.I. Souza, Pires-Zottar. & Harakava. Dois anos mais tarde, uma nova espécie foi isolada da Mata Atlântica brasileira por Lima et al. (2016), que a descreveram como *B. constricta* D.X. Lima, C.A.F. de Souza & A.L. Santiago, pela presença de columelas cilíndricas, muitas apresentando uma destacada constrição central.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REATIVAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE *BACKUSELLA*

Os táxons reativados foram provenientes da CBS-KNAW no Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, da Coleção de Culturas Micoteca URM e da Coleção de Culturas do Instituto de Botânica de São Paulo (CCIBt) (Tabela 1). A reativação das culturas foi realizada segundo Lacaz (2002), em que fragmentos dos micélios estocados em glicerol foram transferidos para tubos de ensaio contendo caldo glicosado e, após o crescimento e confirmação da pureza, transferidos para o meio Ágar Extrato de Malte (AEM) (MORAES et al., 2009).

Tabela 1: Culturas de *Backusella* estocadas em coleções de culturas utilizadas para análise morfológica e filogenética.

Espécies	CBS-KNAW	Micoteca URM	CCIBt
<i>Backusella circina</i> J.J. Ellis & Hesselt.	CBS 128.70 ^I , CBS 129.70, CBS 322.69, CBS 323.69, CBS 382.95, CBS 907.73		
<i>B. constricta</i> D. X. Lima, de Souza & A. L. Santiago		URM 2500, URM 7323 ^I	
<i>B. indica</i> (Baijal & B.S. Mehrotra) Walther & de Hoog	CBS 786.70 ^I		
<i>B. grandis</i> (Schipper & Samson) Walther & de Hoog	CBS 186.87 ^I .		
<i>B. gigacellularis</i> J. I. de Souza, Pires-Zottarelli & Harakava			CCIBt 3866 ^I
<i>B. lamprospora</i> (Lendn.) Benny & R.K. Benj.	CBS 107.09, CBS 118.08 ^I , CBS 195.28, CBS 196.28, CBS 244.67, CBS 316.93, CBS 411.67, CBS 850.71.		
<i>B. oblongielliptica</i> (H. Nagan., Hirahara & Seshita ex Pidopl. & Milko) Walther & de Hoog	CBS 568.70 ^I		
<i>B. oblongispora</i> (Naumov) Walther & de Hoog	CBS 569.70 ^I		
<i>B. recurva</i> (E.E. Butler) Walther & de Hoog	CBS 318.52 ^I , CBS 317.52, CBS 196.71, CBS 992.70, CBS 673.75, CBS 538.80.		
<i>Backusella</i> sp. 1 nov. T.R.L. Cordeiro & A.L. Santiago		URM 7644 ^H	
<i>Backusella</i> sp. 2 nov. T.R.L. Cordeiro, de Souza & A.L. Santiago		URM 7646 ^H , URM 7647, URM 7648, URM 7649.	
<i>B. tuberculispora</i> (Schipper) Walther & de Hoog	CBS 562.66 ^I , CBS 570.70.		
<i>B. variabilis</i> (A.K. Sarbhoy) Walther & de Hoog	CBS 564.66 ^I .		

Legenda: CBS-KNAW = Coleção de Culturas do Westerdijk Fungal Biodiversity Institute; Micoteca URM = Coleção de Culturas Micoteca URM; CCIBt = Coleção de Culturas do Instituto de Botânica de São Paulo; ^I = Isótipo; ^H = Holótipo.

3.2 ESTUDO MORFOLÓGICO, GENÉTICO E ILUSTRAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE *BACKUSELLA*

A identidade dos táxons de *Backusella* provenientes do CBS-KNAW, Micoteca URM e da CCIBt foi verificada com base nas características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas), de acordo com as descrições de Benny & Benjamin (1975), Schipper (1978, 1984, 1990), Walther et al. (2013), de Souza et al. (2014) e Lima et al. (2016). Todas as espécies foram descritas e ilustradas utilizando os meios de cultura Ágar Extrato de Malte (AEM) e Batata Dextrose Ágar (BDA) em placas de Petri incubadas a 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C, no escuro, por 10 dias.

O crescimento das colônias foi avaliado a cada 24 horas, determinando-se quantos centímetros as colônias cresceram a cada dia e se houve diferença de coloração entre o dia do inóculo e o dia em que a colônia tomou toda a placa de Petri. A coloração das colônias foi determinada de acordo com o dicionário de cores Maerz e Paul (1950).

Todas as características microscópicas foram obtidas através da análise em microscópio de luz Leica DM500. As microestruturas foram medidas a partir de culturas em lâmina. Para tal, foram preparadas culturas em lâmina em que, fragmentos das colônias foram transferidos para três pontos aleatórios em uma placa de Petri contendo os meios de cultura supracitados e cobertas com lamínulas. Após 48 h, os fragmentos das colônias crescidos sob as lamínulas foram corados com azul de Aman ou adicionadas de água destilada esterilizada para observação ao microscópio de luz.

3.3 PRODUÇÃO DE ZIGÓSPOROS

Para obtenção de esporos de origem sexuada (Tabela 2), cruzamentos intraespecíficos de espécimes de *B. circina*, *B. constricta*, *B. lamprospora*, *B. recurva* e *Backusella* sp. 2 nov. foram realizados. Os espécimes foram colocados em pontos equidistantes nos meios AEM e BDA contidos em placas de Petri, em triplicata, sempre em duplas pré-determinadas, de acordo com a quantidade de amostras de cada espécie. As placas foram incubadas em BOD a 25° C por um período de 10 a 45 dias, seguindo o protocolo de Benny & Benjamin (1975). Os cruzamentos foram realizados apenas com espécies representados por mais de um espécime.

Tabela 2: Espécimes de *Backusella* utilizados para produção de zigosporos.

Espécies	Amostras
<i>B. circina</i> J.J. Ellis & Hesselt.	CBS 128.70 ^I , CBS 129.70, CBS 322.69, CBS 323.69, CBS 382.95, CBS 907.73
<i>B. constricta</i> D. X. Lima, de Souza & A. L. Santiago	URM 2500, URM 7323 ^I
<i>B. lamprospora</i> (Lendn.) Benny & R.K. Benj.	CBS 107.09, CBS 118.08 ^I , CBS 195.28, CBS 196.28, CBS 244.67, CBS 316.93, CBS 411.67, CBS 850.71
<i>B. recurva</i> (E.E. Butler) Walther & de Hoog	CBS 318.52 ^I , CBS 317.52, CBS 196.71, CBS 992.70, CBS 673.75, CBS 538.80
<i>Backusella</i> sp. 2 nov. Cordeiro, de Souza & A.L. Santiago	URM 7646 ^H , URM 7647, URM 7648, URM 7649
<i>B. tuberculispora</i> (Schipper) Walther & de Hoog	CBS 562.66 ^I , CBS 570.70

Legenda: ^I = Isótipo; ^H = Holótipo.

3.4 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO

Para extração do DNA, a biomassa obtida de culturas puras foi transferida para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de 0,5g de contas de vidro “glass beads” para a trituração do material por agitação em alta velocidade em um FastPrep. Em seguida, foi realizada a extração do DNA genômico conforme Griffiths et al. (2000) modificado, que inclui uma lavagem com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 µL de água ultrapura.

As regiões ITS e LSU do rDNA foram amplificadas utilizando-se os primers ITS1 e ITS4 (WHITE et al., 1990), F1843 e R3096 (SCHMITT et al., 2009), respectivamente, além do gene codificador de proteína RPB1 (primers RPB1-F1843 e RPB1-R3096). Controles negativos contendo todos os componentes, exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações. Os produtos amplificados foram purificados com PureLink – PCR Purification Kit – Invitrogen e sequenciados na Plataforma Tecnológica de Genômica e Expressão Gênica do Centro de Biociências – Universidade Federal de Pernambuco.

3.5 ANÁLISE FILOGENÉTICA

As sequências obtidas foram alinhadas com outras recuperadas do GenBank com o auxílio do programa Clustal X (LARKIN et al., 2007) e editadas usando o programa BioEdit (Hall, 1999). Antes da análise filogenética, o modelo de substituição de nucleotídeos foi estimado utilizando Topali 2.5 (MILNE et al., 2004). A caracterização molecular final foi realizada com a avaliação filogenética, com a construção de árvores Bayesianas em MrBayes

3.1.2 (RONQUIST & HUELSENBECK, 2003) e de máxima verossimilhança (GUINDON & GASCUEL, 2003), executadas com o auxílio do programa Topali 2.5. As sequências dos espécimes provenientes da CBS-KNAW, da Micoteca URM e da CCIBt foram comparadas às estocadas no “GenBank” (www.ncbi.nlm.nih.gov) para verificação genética dos táxons.

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISES FILOGENÉTICA E MORFOLÓGICA

As análises morfológicas e genéticas para confirmação dos táxons foram realizadas em 34 espécimes de *Backusella*, sendo 27 provenientes da CBS-KNAW, seis da Micoteca URM e um da CCIBt. Todos os espécimes tiveram o DNA extraído, amplificado, purificado e sequenciado. Para análise filogenética dos táxons, árvores foram geradas a partir de sequências das regiões ITS e LSU do rDNA e do gene codificador de proteína RPB1.

A região LSU do rDNA de todos os espécimes de *Backusella* utilizados nesse estudo foi sequenciada. Em relação à região ITS do rDNA, apenas *Backusella* sp. 2 nov. não teve essa região sequenciada. O gene codificador de proteínas RPB1 de *Backusella* sp. 1 nov., *B. gigacellularis*, *B. recurva* e *B. tuberculispora* não foi amplificado. No entanto, as sequências não amplificadas não interferiram no resultado final do presente estudo, já que a análise filogenética foi realizada com outras regiões.

A cultura CBS 538.80, identificada na CBS como *Mucor recurvus* var. *recurvus*, apresentou diferenças morfológicas consideráveis em relação à descrição original da espécie. Esse espécime foi agrupado em um clado separado dos demais nas árvores construídas com sequências das regiões LSU e ITS do DNA (Figuras 1 e 2) e se trata de uma nova espécie (*Backusella* sp. 1 nov. [URM 7644]). Utilizando a ferramenta BLASTn, verificou-se que a região LSU de *Backusella* sp. 1 nov. e *B. indica* (JN206526) foram similares em 98%, enquanto as sequências da região ITS dessa nova espécie e de *B. lamprospora* foram similares em 85%.

Os espécimes estocados como URM 7646, URM 7647, URM 7648, URM 7649 mostraram-se morfológicamente diferentes dos demais pertencentes à *Backusella*. Esses também foram agrupados em um clado separado dos demais nas árvores construídas com sequências da região LSU do rDNA e do gene RPB1, representando uma nova espécie (*Backusella* sp. 2 nov.) (Figuras 1 e 3). A análise BLASTn das sequências LSU mostrou *B. lamprospora* (JN206530) como sendo a espécie mais próxima à *Backusella* sp. 2 nov., com 96% de similaridade.

Após detalhado estudo morfológico, foi verificado que os espécimes de *Backusella* sp. 2 nov. apresentaram rizóides, estruturas também visualizadas em outras espécies de *Backusella* e nunca descritas para esse gênero. Dessa forma, esse trabalho sugere uma emenda na descrição, não apenas para as espécies que apresentam tal característica, como também para a família Backusellaceae.

Backusella oblogielliptica e *B. oblongispora* se distanciaram filogeneticamente das demais espécies do gênero em todas as árvores filogenéticas construídas nesse estudo e não pertencem ao gênero *Backusella*. Novas regiões genéticas devem ser analisadas (MCM7 e TSR1) para determinar a real posição filogenética de ambas as espécies.

Backusella grandis apresentou elevada similaridade com *B. variabilis* (JN206528) (99%) em relação às sequências LSU do rDNA. Em todas as árvores construídas, essas duas espécies foram agrupadas no mesmo clado, sugerindo tratarem-se da mesma espécie. Desta forma, *B. grandis* será sinonimizada com *B. variabilis* (A.K. Sarbhoy) Walther & de Hoog.

Todas as demais espécies do gênero formaram clados bem agrupados, como o reportado por Walther et al. (2013), de Souza et al., (2014) e Lima et al. (2016), para as regiões ITS e LSU do rDNA. O gene RPB1 está sendo utilizado pela primeira vez para inferências filogenéticas de *Backusella*.

Figura 1: Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências de LSU do rDNA. *Actinomucor elegans*, *Mucor indicus*, *Pilobolus umbonatus* e *Rhizopus microsporus* foram utilizados como grupo externo. Os valores de suporte são da inferência bayesiana e análise de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente).

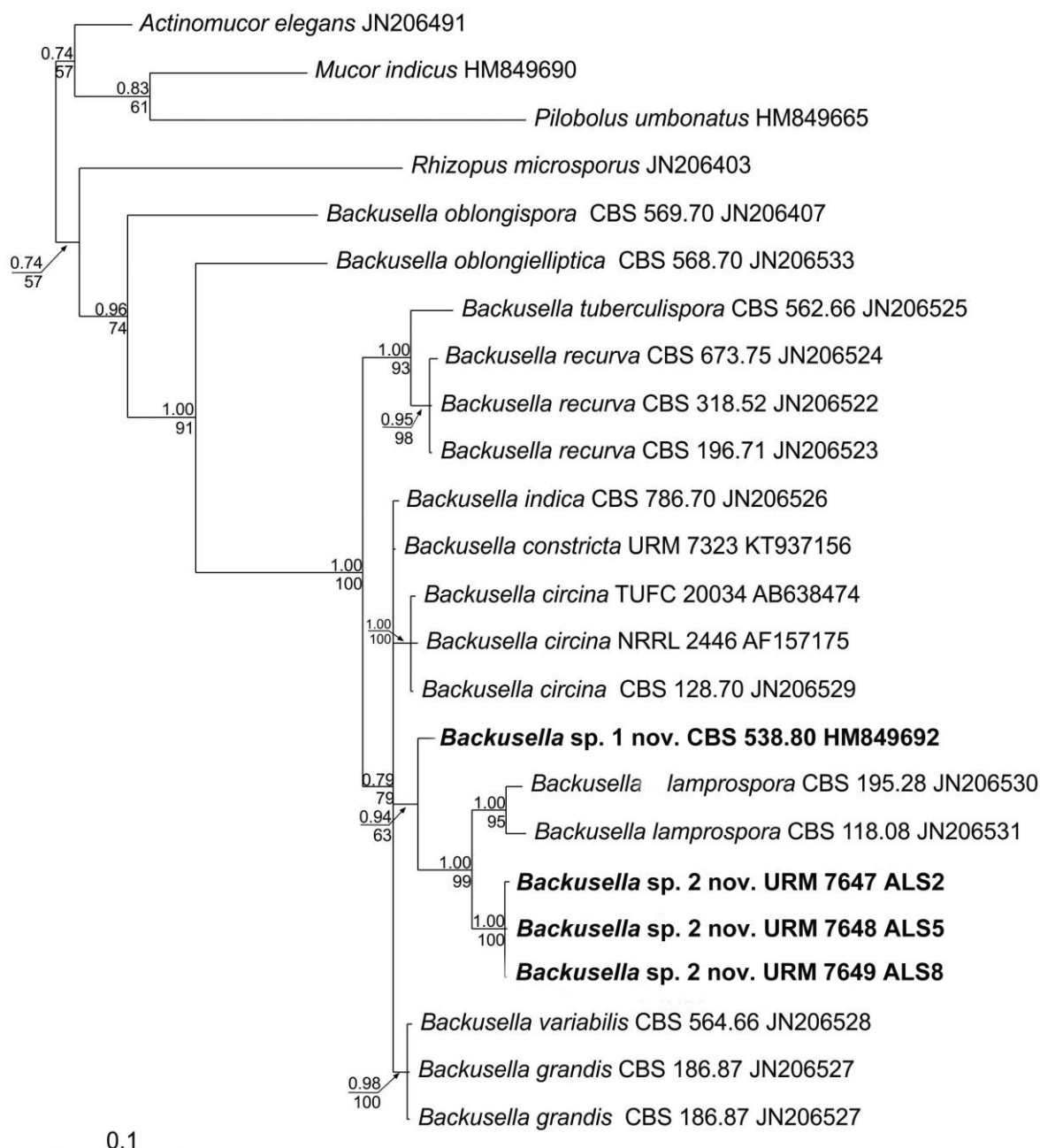


Figura 2: Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências ITS do rDNA. *Rhizopus microsporus* foi usado como grupo externo. As sequências são rotuladas com seus números de acesso ao banco de dados. Os valores de suporte são de inferência bayesiana e análise de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente).

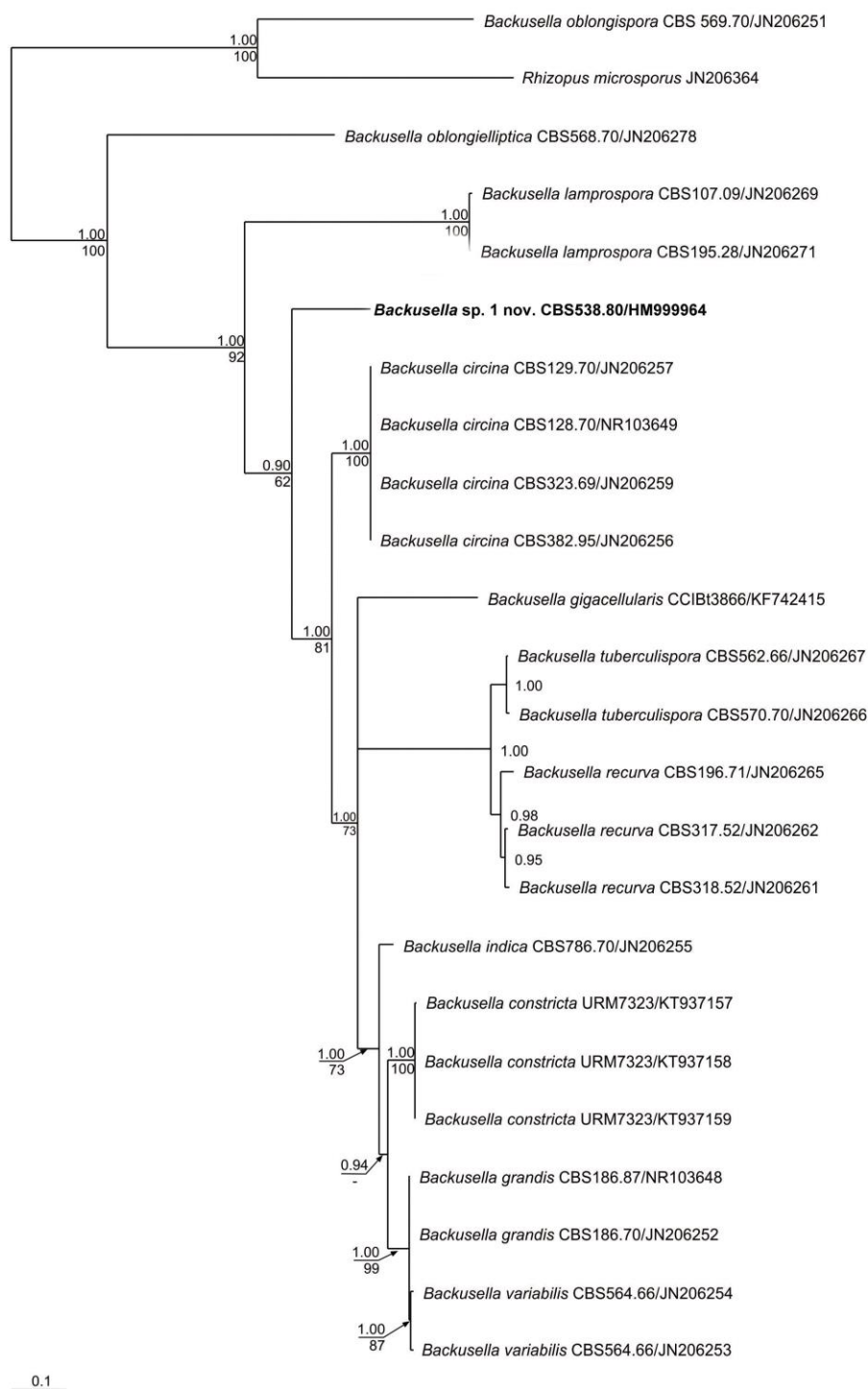
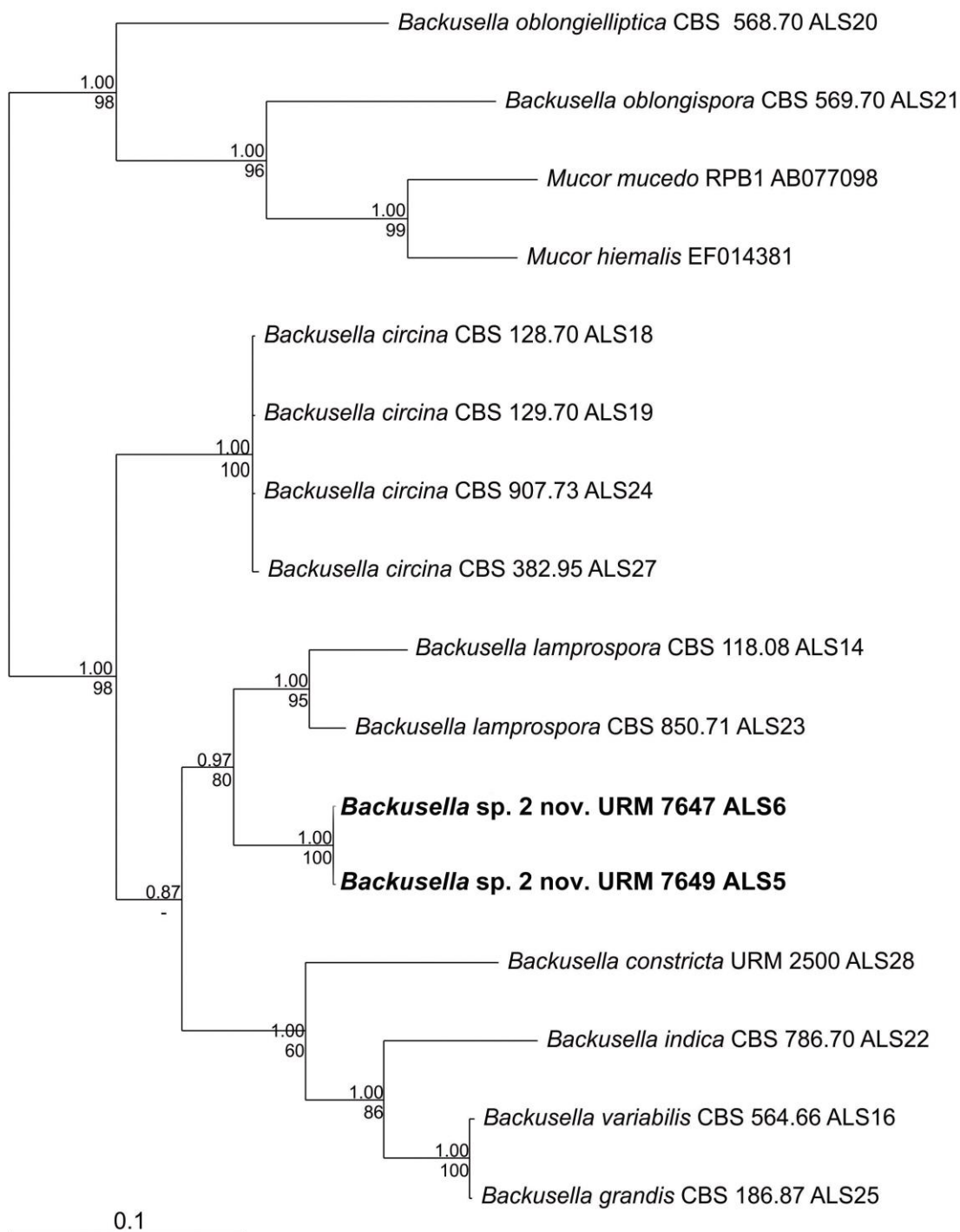


Figura 3: Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências do gene codificador de proteína RPB1. *Mucor mucedo* e *Mucor hiemalis* foram usados como grupo externo. As sequências são rotuladas com seus números de acesso ao banco de dados. Os valores de suporte são de inferência bayesiana e análise de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente).



4.2 TAXONOMIA

4.2.1 *Backusella* Ellis & Hesseltn emend. Cordeiro et al.

Espécie tipo: *Backusella circina* J.J. Ellis & Hesseltn.

Esporangióforos geralmente surgindo do substrato, raramente originando-se de hifas aéreas, simples, monopodialmente ou simpodialmente ramificados, com parede comumente incrustada; recurvados quando jovens, tornando-se eretos na maturidade. Esporângios globosos ou subglobosos, com coloração variando entre castanho, marrom e amarelo dourado; parede deliquescente com presença de espinhos. Columelas geralmente hialinas, com parede incrustada, podendo apresentar conteúdo amarelo em algumas espécies; globosas, subglobosas, cônicas, cônicas para aplanadas, cilíndricas, cilíndricas com leve constrição central, elipsoides ou piriformes; apófise ausente, colar presente, alguns contendo espinhos em forma de agulha. Esporangióolos multiesporados e/ou uniesporados presentes, globosos ou subglobosos, marrons acinzentados, com parede equinulada persistente. Columelas dos esporangióolos cônicas para aplanadas ou subglobosas. Esporangiosporos lisos, hialinos, globosos, subglobosos, elipsoides, irregulares e/ou irregulares poliédricos com protusões. Esporangiosporos dos esporângios e dos esporangióolos geralmente iguais em formato e tamanho. Zigosporos globosos para subglobosos, parede dos zigospórangios marrom, com projeções cônicas; células suspensoras opostas, iguais ou não, hialinas com parede incrustada. Rizóides presentes, bem ramificados, longos ou curtos que podem formar enovelados que envolvem ou não os esporângios e esporangióforos. Rizoídes bem ramificados ou não, podendo formar estruturas enoveladas.

Notas: A emenda do gênero inclui a presença de rizóides bem ramificados, os quais não haviam sido relatados na descrição de *Backusella*, podendo formar enovelados que envolvem ou não esporângios e esporangióforos.

Chave de Identificação para espécies de *Backusella*

1. Esporangíolos uniesporados ou multiesporados presentes..... 2
1. Esporangíolos uniesporados ou multiesporados ausentes..... 9
2. Esporangíolos multiesporados raros e uniesporados abundantes *Backusella circina*
2. Esporangíolos multiesporados abundantes e uniesporados raros..... 3
3. Esporangiosporos irregulares poliédricos com protusões..... *B. tuberculispora*
3. Esporangiosporos elipsoides, globosos e subglobosos.....4
4. Esporangiosporos elipsoides.....5
4. Esporangiosporos globosos e subglobosos.....6
5. Esporangiosporos elipsoides, (9–) 16–33 (–45) × (7–) 9–17 (–20) µm; células gigantes presentes; estruturas globosas visíveis a olho nu facilmente observadas *B. gigacellularis*
5. Esporangiosporos elipsoides, (12–) 15–20 (–22) × (9–) 12–15 (–18) µm e células gigantes ausentes, ausência de estruturas globosas visíveis a olho nu *B. indica*
6. Columelas cilíndricas, constrictas centralmente e cônicas (17–) 21–45 (–50) × (14–) 17–30 (–38) µm..... *B. constricta*
6. Columelas hemisféricas, hemisféricas para cônicas e/ou subglobosas para cônicas.....7
7. Presença de um inchaço irregular com até 40 µm em diâm. abaixo da columela; esporangiosporos globosos para subglobosos, com conteúdo amarelo-oliva, (12–) 14–22 (–30) µm em diâm..... *Backusella* sp. 1 nov.
7. Ausência de um inchaço irregular abaixo da columela; esporangiosporos globosos para subglobosos, hialinos, (7–) 10–17 (–22) µm em diâm.....8
8. Columela hemisférica ou subglobosa para cônica, células gigantes ausentes e rizóides simples..... *B. lamprospora*
8. Columela hemisférica, presença de células gigantes e rizóides formando enovelados..... *Backusella* sp. 2 nov.
9. Esporângio geralmente menor até 200 µm em diâm.....10
9. Esporângio geralmente maior que 200 µm em diâm..... 11
10. Esporangióforos até 50 µm em diâm., esporangiosporos elipsoides, (6–) 8–19 (–22) × (5–) 9–12 (–15) µm..... *B. variabilis*
10. Esporangióforos até 18 µm em diâm., esporangiosporos elipsoides e irregulares, (9,5–) 14,5–23 (–28) × (7–) 9,5–12 (–15) µm..... *B. recurva*
11. Columelas apresentando conteúdo marrom amarelado, cilíndricas, cônicas alongadas, cônicas para aplanadas e subglobosas; esporângio até 300 µm diâm., esporangiosporos elipsoides, (14–) 20–35 (–42) × (10–) 14–21 (–24) µm; células gigantes presentes..... *B. oblongielliptica*
11. Columelas elipsoidais para cilíndricas ou elipsoides para piriformes; esporângios até 270 µm diâm., esporangiosporos elipsoides, (10–) 15–17 (–20) × (7–) 10–12 (–17) µm; células gigantes ausentes..... *B. oblongispora*

4.2.2 *Backusella circina*

Backusella circina J.J Ellis & Hesselt., *Mycologia* 61: 865 (1969) (Figuras 4 e 5)

COLÔNIA de aspecto cottonoso, verso cinza (MP A1 47), reverso amarelo escuro (MP G5 49). Crescimento rápido (9 cm diâm. e 1,5 cm de altura), tomando toda a placa de Petri em até 4 dias, a 25 °C, em AEM. RIZÓIDES bem ramificados, alguns formando emaranhados que podem envolver os esporângios, esporangióforos e esporangiólos. ESPORANGIÓFOROS hialinos, simples ou simpodialmente ramificados, de parede lisa à levemente incrustada, surgindo diretamente do substrato, suportando esporângios terminais, e de hifas aéreas, formando esporangiólos ligados ao esporangióforo por pedicelos; recurvados quando jovens e se tornando eretos com o envelhecimento da cultura, até 16 µm em diâm. Um septo pode ser visualizado nos esporangióforos, próximo ao ponto de ramificação. ESPORÂNGIOS globosos para subglobosos, marrons-acinzentados, com parede equinulada e deliquescente, até 110 µm em diâm. COLUMELAS hialinas, com parede levemente incrustada, globosas e subglobosas, algumas dorsoventralmente achatadas e cônicas para aplanadas, (15–) 20–35 (–45) × (11–) 23–30 (35) µm; colar evidente. PEDICELOS de até 50 µm em comprimento e 10 µm em diâm. ESPORANGÍOLOS multiesporados, raros, globosos para subglobosos de até 50 µm diâm., e uniesporados abundantes, globosos para subglobosos (9–) 12–20 (–35) µm diâm., ambos equinulados, hialinos, com parede persistente. COLUMELAS DOS ESPORANGÍOLOS subglobosas e algumas cônicas para aplanadas 7–12 × 5–17 µm. ESPORANGIOSPOROS lisos e hialinos, globosos ou subglobosos, poucos irregulares, (4,5–) 7–10 (–13) µm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGOSPOROS globosos para subglobosos, 25–50 µm em diâm. Zigosporângios de até 70 µm em diâm., marrons, parede rugosa e revestida com projeções cônicas. Células suspensoras opostas, hialinas, lisas ou com parede levemente incrustada, 12–48 × 15–35 µm. Heterotático.

Material examinado: CBS. 323.69, CBS. 382.95, CBS 907.73, CBS 322.69, CBS 128.70 (isótipo), CBS 129.70.

Habitat: Solo.

Distribuição: China, Estados Unidos e Japão (WALTHER et al., 2013).

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 144 h); 20 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 25 °C – melhores crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 30 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 35 °C – ausência de crescimento e esporulação.

Notas: *Backusella circina* diferencia-se das outras espécies do gênero, principalmente, por produzir esporangióforos simples ou simpodialmente ramificados, esporângios uniesporados em grande quantidade, columelas subglobosas/globosas e cônicas para aplanadas, além de esporangiosporos globosos e subglobosos.

Figura 4: *Backusella circina*. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 μ m; b = 10 μ m.

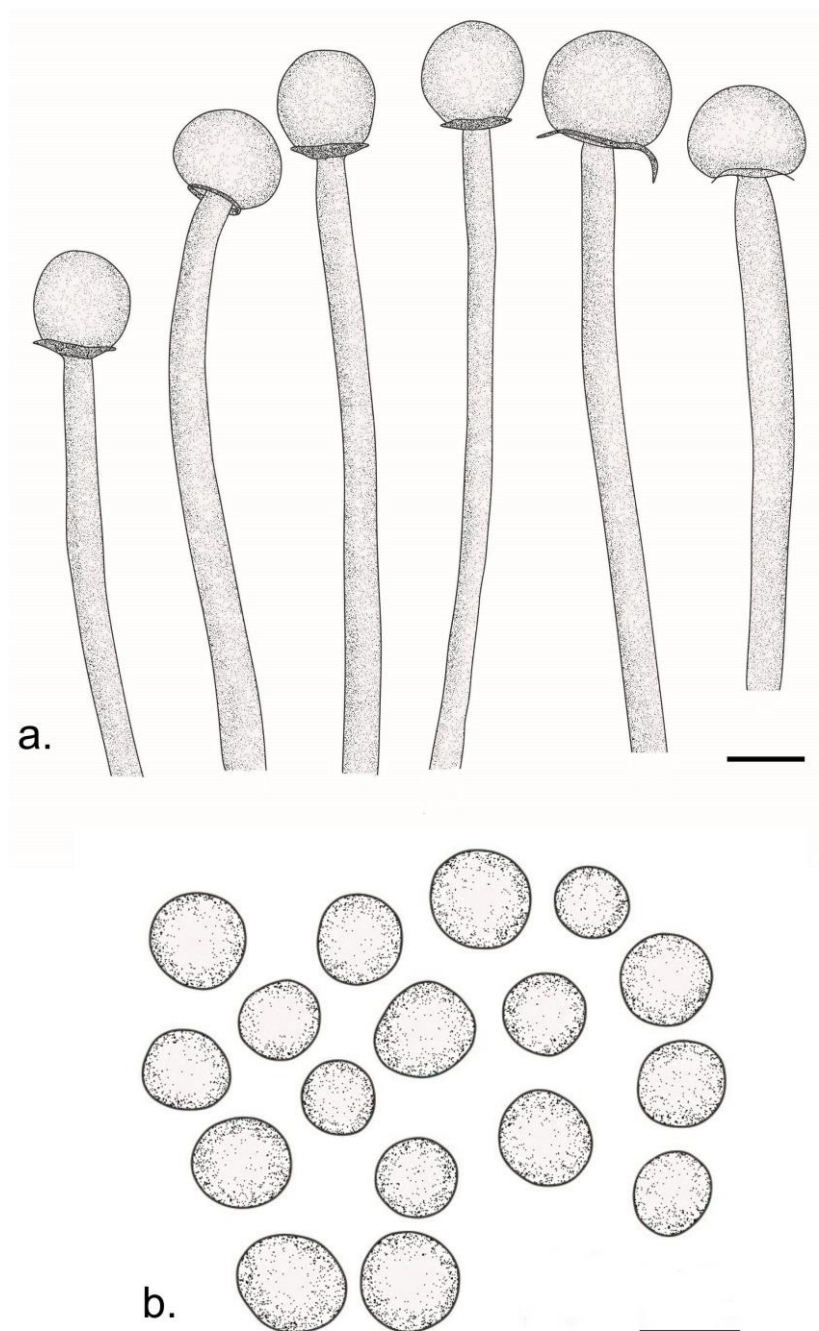
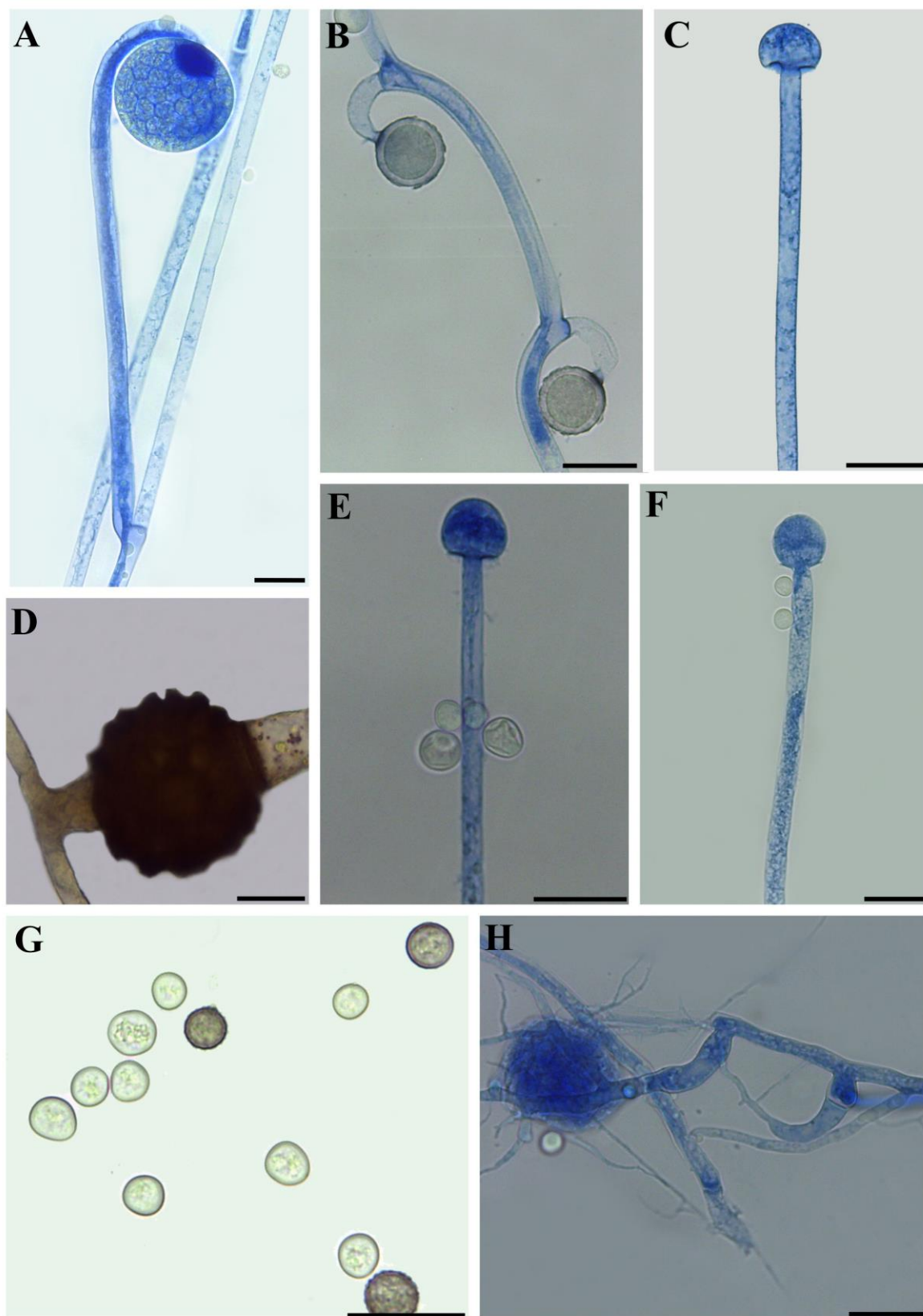


Figura 5: *Backusella circina*. **A** – Esporangióforo jovem com esporângio; **B** – Esporangióolos uniesporados; **C**, **E**, **F** – Esporangióforo com columela; **D** – Zigosporângio com células suspensoras opostas; **G** – Esporangiosporos e esporangióolos uniesporados; **H** – Rizóides. Escalas: A, B, C, E, F, G, H = 25µm; D – 20 µm.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.3 *Backusella constricta*

Backusella constricta D.X Lima, C.A de Souza, C.M Souza-Motta & A.L Santiago, *Phytotaxa* 289(1): 61 (2016) (Figuras 6 e 7)

COLÔNIA cotonosa, inicialmente branca, tornando-se amarela pálida (MP 11 B1), reverso amarelado (MP 10 L2), atingindo toda a placa de Petri (9 cm diâm. e 1,5 cm de altura) em 4 dias, a 25 °C, em AEM. RIZÓIDES bem ramificados. ESPORÂNGIÓFOROS hialinos com parede levemente incrustada, podendo apresentar conteúdo amarelado, até 16 µm em diâm.; simpodialmente ramificados, recurvados quando jovens e eretos na maturidade, apresentando uma leve contração abaixo da columela. ESPORÂNGIOS globosos, castanhos, de parede deliquescente e equinulada, até 50–70 (–100) µm em diâm. COLUMELAS hialinas com parede levemente incrustada, podendo apresentar conteúdo amarelo, cônicas, cilíndricas e algumas fortemente constritas na porção central (17–) 21–45 (–50) × (14–) 17–30 (–38) µm; Colar evidente. ESPORANGÍOLOS multiesporados frequentes, globosos para subglobosos, hialinos, com parede persistente e equinulada, surgindo de esporangióforos pedicelados, geralmente simpodialmente ramificados, (17–) 20–35 (–40) µm em diâm. Esporangíolos uniesporados, globosos para subglobosos, hialinos, com parede persistente e equinulada até 20 µm em diâm. COLUMELAS DOS ESPORANGÍOLOS subglobosas e cônicas, algumas dorsoventralmente achatadas, parede levemente incrustada, hialinas, medindo até 16 µm diâm. PEDICELOS que sustentam os esporangíolos podem chegar a 145 µm de diâm. ESPORANGIOSPOROS lisos, hialinos, globosos para subglobosos, alguns irregulares para elipsóides, (7–) 9,5–12 (–15) × (5,5–) 7,2–10 (–12) µm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: URM 2500, URM 7323 (isótipo).

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 192 h); 20 °C – crescimento moderado e boa esporulação (9 cm em 120 h); 25 °C – melhor crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 30 °C – crescimento lento (melhor do que a 15 °C) (9 cm em 144 h) e boa esporulação; 35 °C – ausência de crescimento.

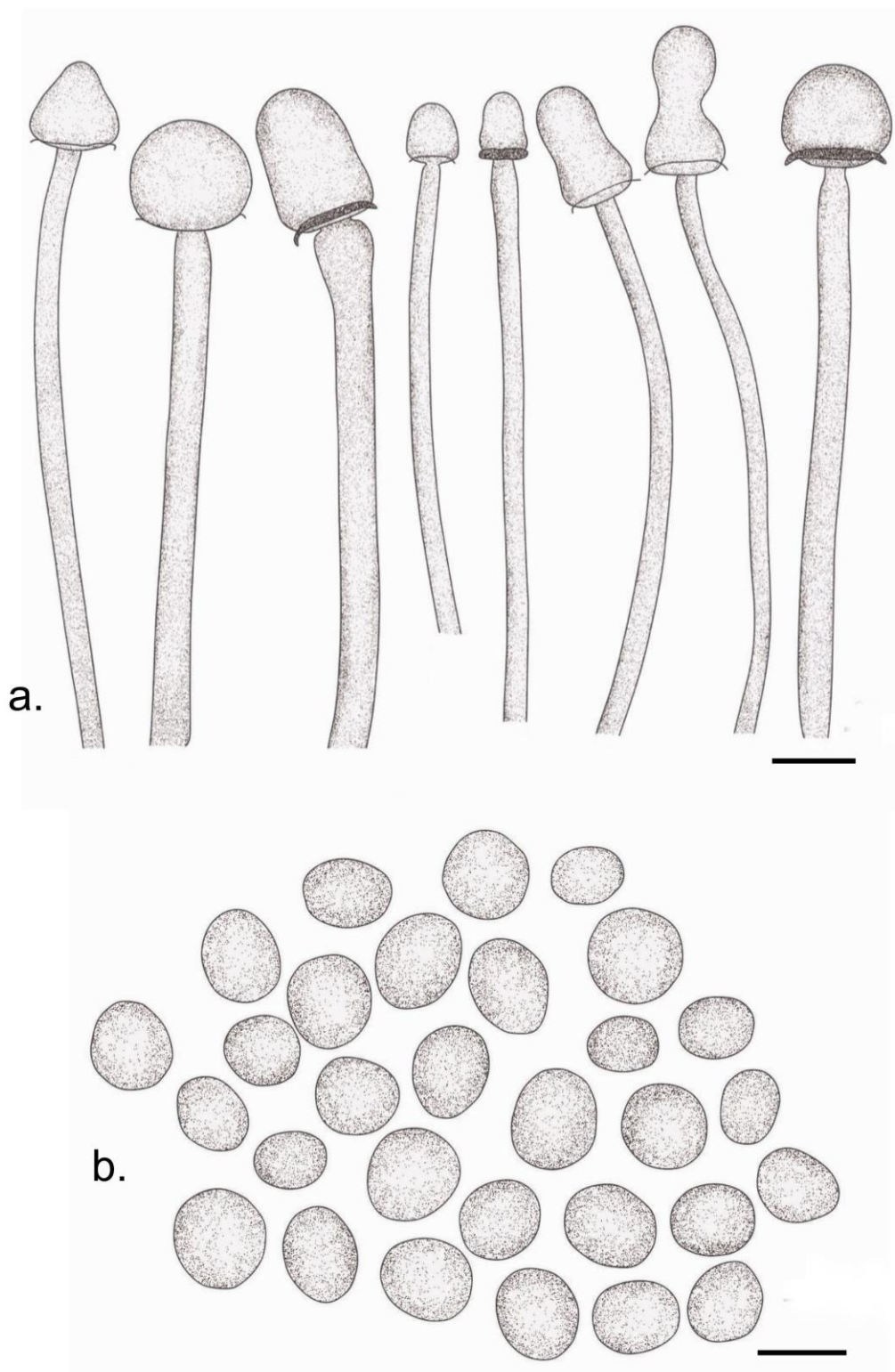
Habitat: Solo.

Distribuição: Pernambuco, Brasil (LIMA et al., 2016).

Notas: *Backusella constricta* diferencia-se das outras espécies do gênero pela produção concomitante de esporangióforos simpodialmente ramificados, columelas cilíndricas com leve

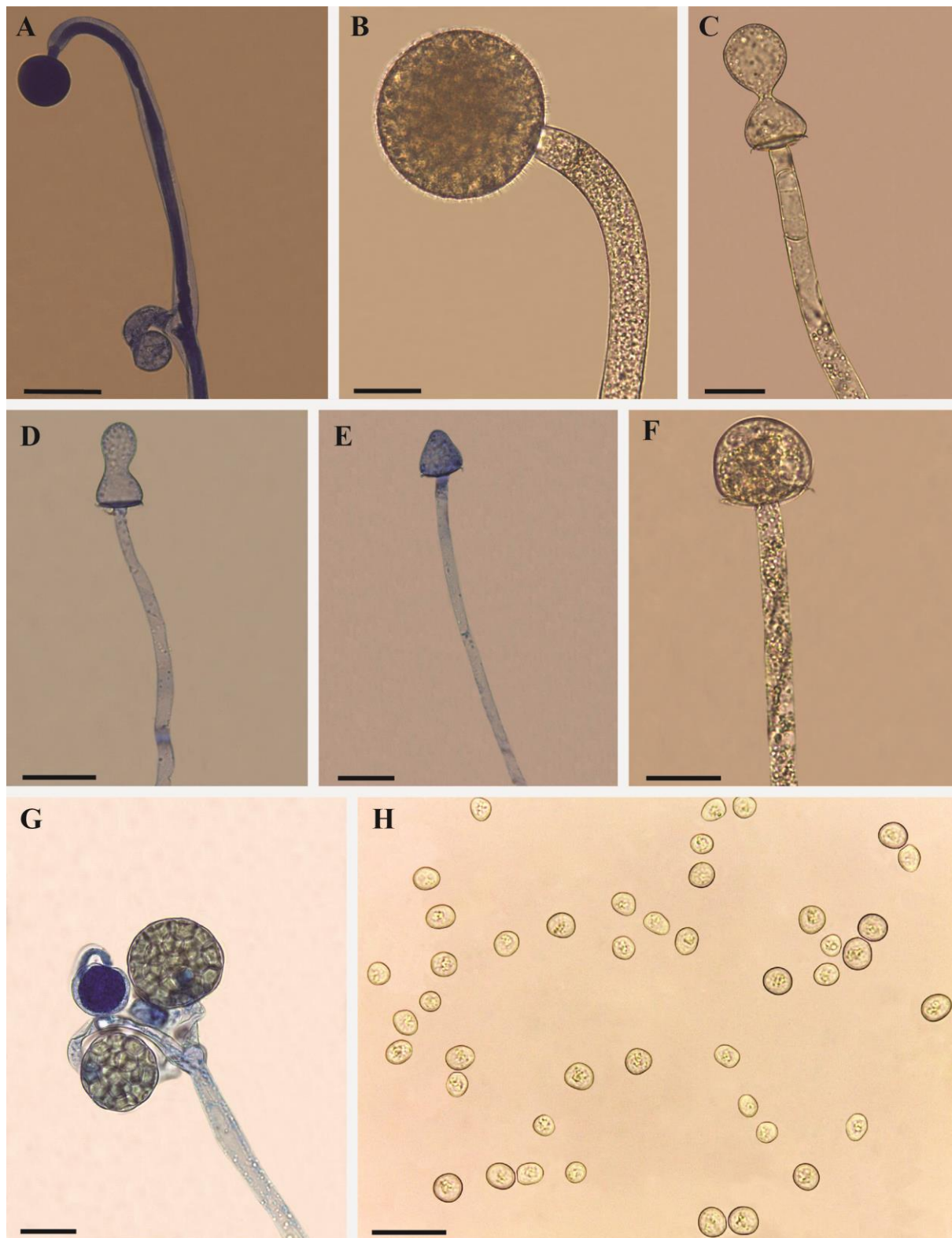
ou forte contração central, esporangiosporos globosos e subglobosos, além de esporangióolos multiesporados (maioria) e uniesporados.

Figura 6: *Backusella constricta*. a – Esporangióforos com columelas; b – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 μm ; b = 10 μm .



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

Figura 7: *Backusella constricta*. **A** – Esporangióforo curvado com ramificação simples curvada; **B** – Esporangióforo curvado com esporângio; **C, D, E, F** – Esporangióforo com columela; **G** – Esporangíolos multiesporados ramificados; **H** – Esporangiosporos. Escalas: A = 50 μ m; B, C, D, E, F, G, H = 25 μ m.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.4 *Backusella gigacellularis*

Backusella gigacellularis J.I. de Souza, Pires-Zottarelli & Harakava, *Mycol. Progr.* 13: 976 (2015) (Figuras 8 e 9)

COLÔNIA cotonosa, verso branco amarelado (MP A1 41), reverso amarelo (MP 10 L4), atingindo toda a placa de Petri (9 cm diâm. e 1,5 cm de altura) em 5 dias, a 25 °C, em AEM. RIZÓIDES pouco ramificados. ESPORANGIÓFOROS hialinos, podendo apresentar conteúdo castanho esverdeado, surgindo do substrato, recurvados quando jovens e tornando-se eretos quando maduros, até 16 µm em diâm.; monopodialmente ramificados, com muitas ramificações curtas e parede levemente incrustada. ESPORÂNGIOS globosos, castanhos, com parede lisa e deliquescente, até 130 µm de diâm. COLUMELAS globosas para subglobosas, algumas dorsoventralmente achatadas, cônicas e cilíndricas, 20–30 (–50) × 20–40 µm, hialinas e com parede levemente incrustada, podendo apresentar conteúdo castanho; colar com espinhos em forma de agulha. Algumas columelas cilíndricas podem apresentar um leve achatamento central. ESPORANGÍOLOS MULTIESPORADOS surgindo de pedicelos, hialinos, parede equinulada, globosos para subglobosos 20–35 µm em diâm. ESPORANGÍOLOS UNIESPORADOS ausentes. COLUMELAS DOS ESPORANGÍOLOS cônicas para aplanadas, hialinas com parede levemente incrustada, 12–20 × 15–28 µm. ESPORANGIOSPOROS hialinos, lisos, elipsóides, irregulares, poucos subglobosos (9–) 16–33 (–45) × (7–) 9–17 (–20) µm, com conteúdo granular presente. CÉLULAS GIGANTES presentes, globosas; Presença de estruturas globosas, visíveis a olho nu, de parede lisa, hialinas, glóbulos internos presentes, com coloração marrom, algumas hifas finas são visualizadas surgindo destas células, até 420 µm em diâm. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CCIBt 3866 (isótipo).

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 168 h); 20 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 25 °C – ótimos crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 30 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 35 °C – ausência de crescimento.

Habitat: Folhedo.

Distribuição: São Paulo, Brasil (DE SOUZA et al., 2014).

Notas: *Backusella gigacellularis* caracteriza-se morfológicamente principalmente por produzir esporangióforos monopodialmente ramificados, com muitas ramificações curtas, células gigantes bem ramificadas, além da formação de estruturas globosas visíveis a olho nu.

Figura 8: *Backusella gigacellularis*. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 μm ; b = 10 μm .

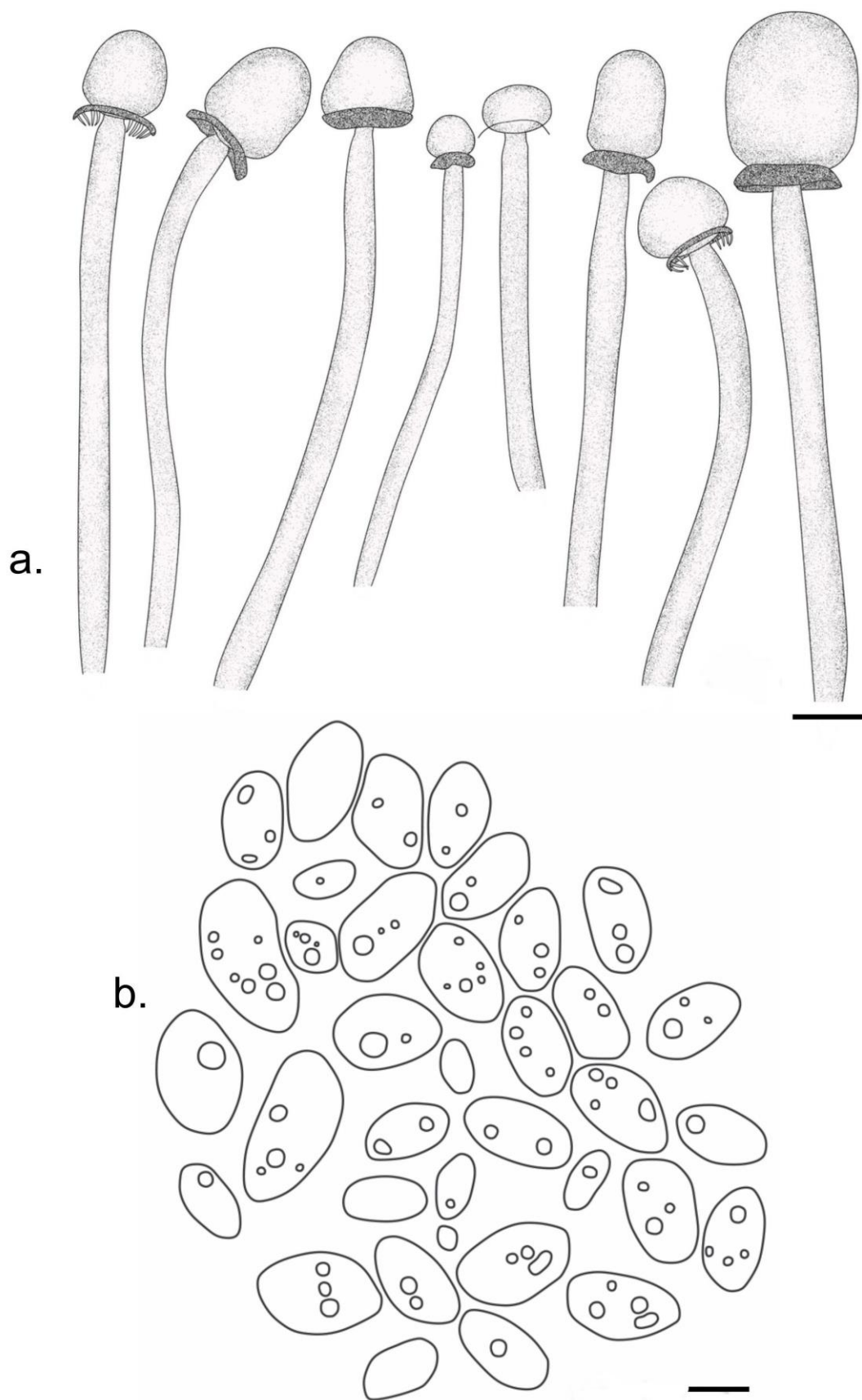
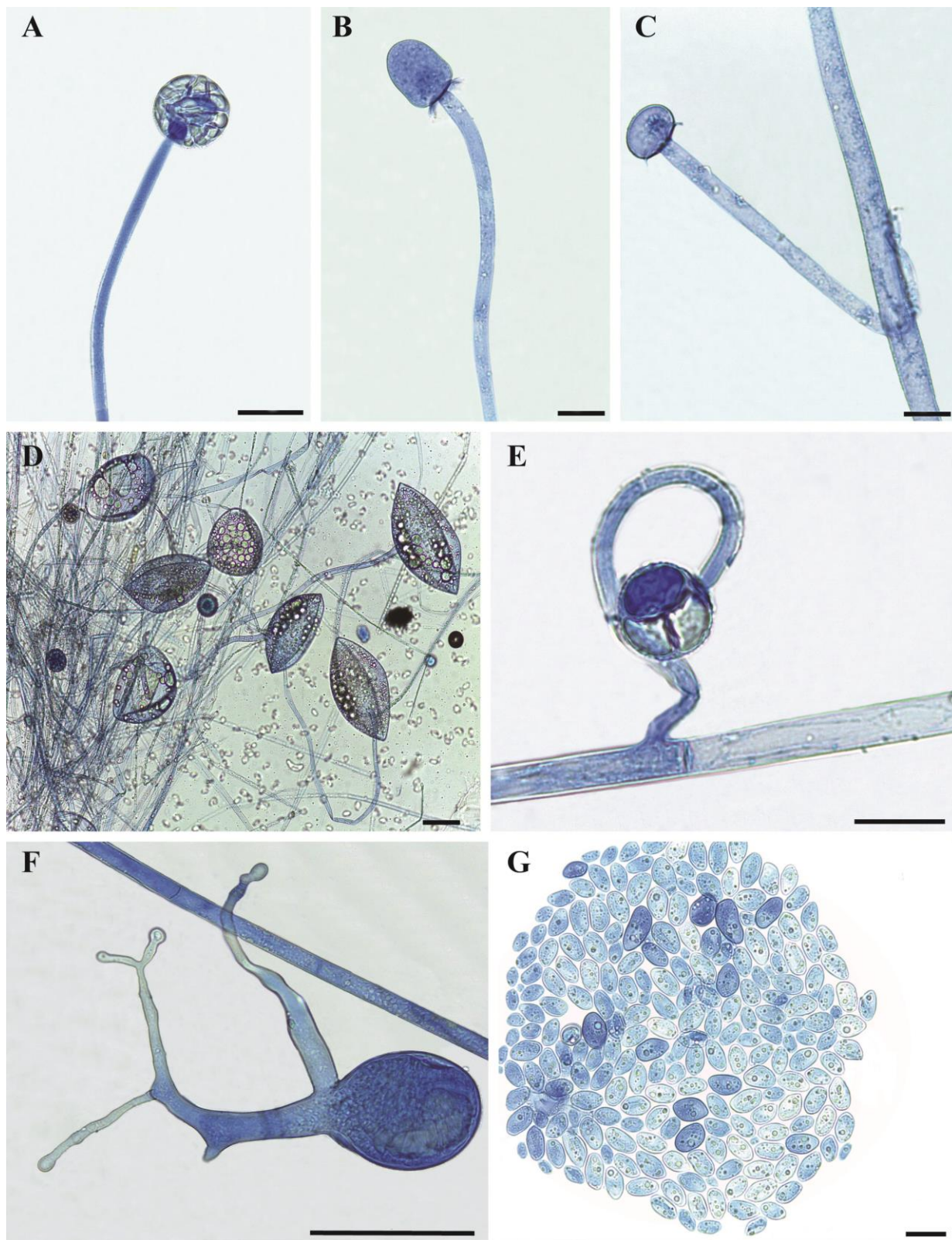


Figura 9: *Backusella gigacellularis*. A – Esporangióforo com esporângio; B – Esporangióforo com columela; C – Ramificação do esporangióforo com columela; D – Estruturas globosas colapsadas; E – Esporangíolo multiesporado circinado; F – Célula gigante; G – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, E, G = 25 µm; D, F = 100 µm.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.5 *Backusella indica*

Backusella indica (Baijal & B.S. Mehrotra) Walther & de Hoog, *Persoonia* 30: 41 (2013) (Figuras 10 e 11)

≡ *Mucor recurvus* var. *indicus* Baijal & B.S. Mehrotra, *Sydowia* 19(1–6): 207 (1966)

COLÔNIA de aspecto frouxo para floco, inicialmente branca, tornando-se acinzentada (MP A1 47), reverso amarelo escuro (MP H7 47), atingindo 1,5 cm de altura e 9 cm de diâm. em 4 dias, a 25 °C, em AEM. RIZÓIDES bem ramificados. Hifas largas, ramificadas, semelhantes à rizóides e com conteúdo amarelado podem ser visualizadas, bem como elevada quantidade de micélio estéril. ESPORANGIÓFOROS recurvados quando jovens, tornando-se eretos quando maduros, hialinos, com parede levemente incrustada, até 17 µm de diâm., surgindo diretamente do substrato, com ramificações simples, raramente simpodiais; quando simpodiais, podendo ramificar-se sucessivamente até 7 vezes. Alguns esporangióforos podem apresentar uma leve constrição e/ou inchaço abaixo da columela. ESPORÂNGIOS globosos para subglobosos, levemente equinulados, com coloração amarela, parede deliquescente, até 120 µm em diâm. COLUMELAS hialinas, algumas com conteúdo acastanhado, cônicas, cilíndricas achatadas, globosas para subglobosas e subglobosas dorsoventralmente achatadas 40–60 × 35–50 µm; parede lisa à levemente incrustada e colar com espinhos em forma de agulha de até 7 µm em comprimento. ESPORÂNGÍOLOS MULTIESPORADOS, hialinos, equinulados, de parede persistente, globosos para subglobosos, (15–) 20–40 (–50) µm. Esporangíolos uniesporados ausentes. COLUMELAS DOS ESPORÂNGÍOLOS lisas à levemente incrustadas, hialinas, cônicas para aplanadas ou globosas para subglobosas, 10–20 µm em diâm. ESPORANGIOSPOROS de parede lisa, com conteúdo amarelo, elipsóides, alguns subglobosos, raros irregulares, (10–) 15–20 (–22) × (9–) 12–15 (–18) µm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CBS 786.70 (isótipo).

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 288 h); 20 °C – crescimento moderado e boa esporulação (9 cm em 120 h); 25 °C – ótimos crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 30 °C – ótimos crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 35 °C – crescimento moderado e boa esporulação (9 cm em 120 h); 40 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 360 h); 45 °C – ausência de crescimento.

Habitat: Não informado.

Distribuição: Índia (WALTHER et al., 2013).

Notas: *Backusella indica* se diferencia das outras espécies do gênero por apresentar, concomitantemente, elevada quantidade de micélio estéril, esporangióforos com ramificações simples, raramente simpodiais, esporangiosporos elipsóides, esporângios multiesporados, além de columelas cilíndricas, cônicas, globosas ou subglobosas.

Figura 10: *Backusella indica*. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 20 μ m; b = 10 μ m.

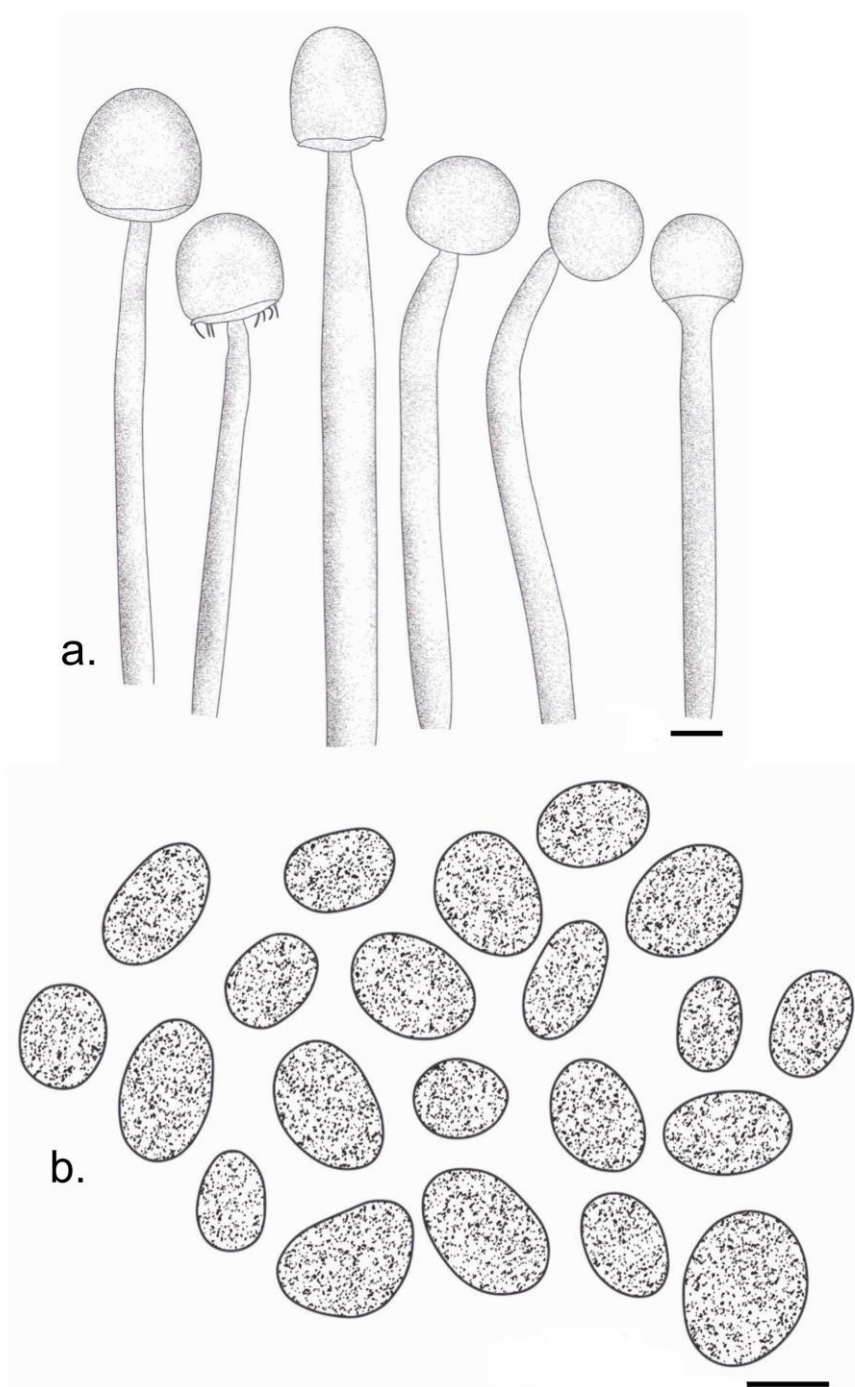
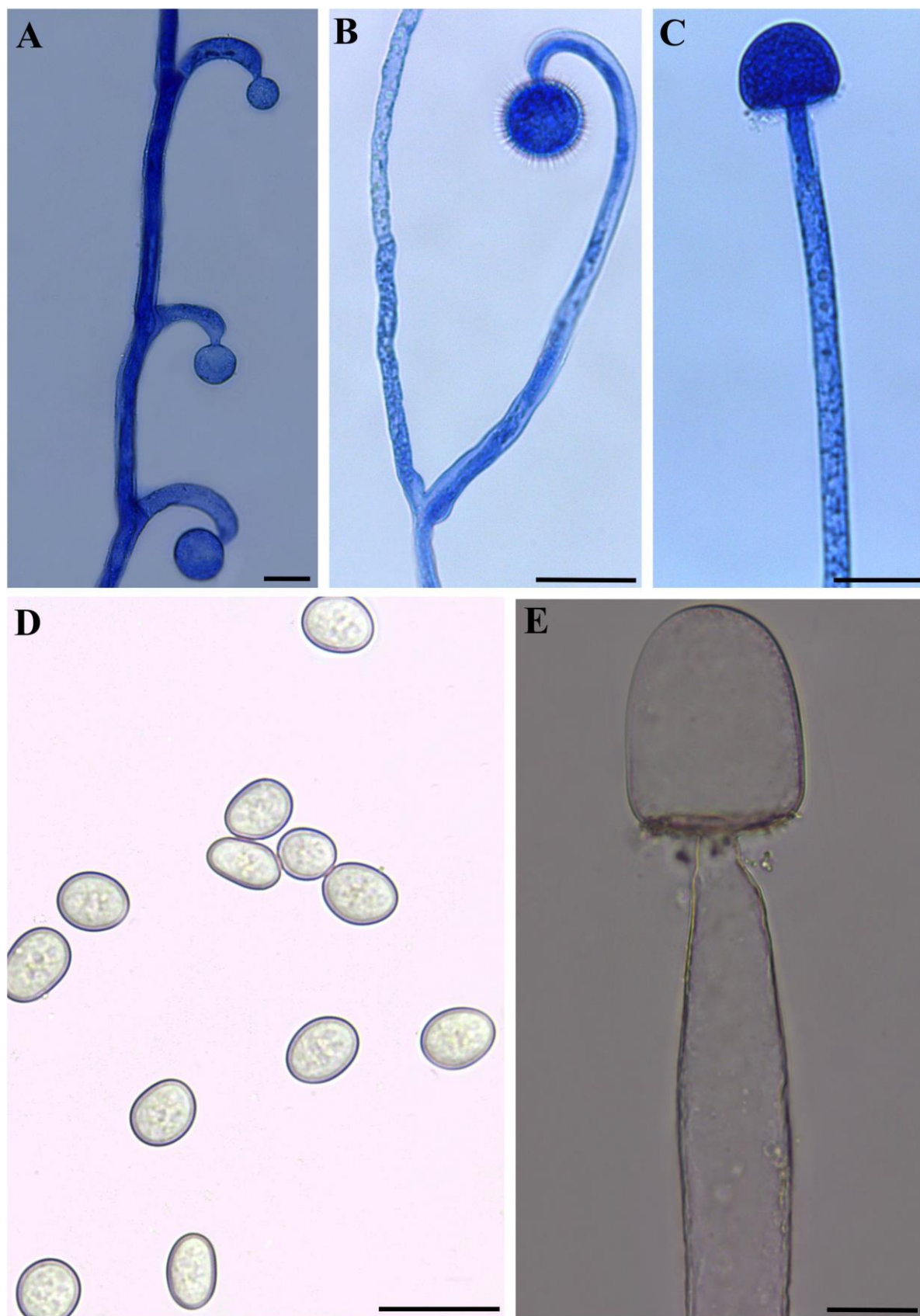


Figura 11: *Backusella indica*. A, B – Esporangióforo ramificado; C, E – Esporangióforos com columelas; D – Esporangiosporos. Escalas: A, B, D = 20 μ m; B, C = 25 μ m.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.6 *Backusella lamprospora*

Backusella lamprospora (Lendn.) Benny & R.K. Benj., *Aliso* 8(3): 320 (1975) (Figuras 12 e 13)

≡ *Mucor lamprosporus* Lendn., *Bull. Herb. Boissier*, 2 sér. 8: 78 (1907) [1908]

COLÔNIA cotonosa, verso inicialmente branco, tornando-se cinza claro (MP A7 31), reverso amarelado (MP F7 47) ocupando toda a extremidade da placa de Petri (9 cm diâm. e 1,5 cm de altura) em 5 dias, a 25 °C, em AEM. RIZÓIDES bem ramificados. ESPORANGIÓFOROS recurvados quando jovens, tornando-se eretos na maturidade, surgindo do substrato, hialinos, com parede levemente incrustada, simpodialmente ramificados, apresentando uma leve constrição abaixo do esporângio, com até 1,5 mm de comprimento e 16 µm diâm. ESPORÂNGIOS castanhos, parede deliquescente e levemente equinulada, globosos para subglobosos, até 60 (–90) µm em diâm. COLUMELAS hialinas com parede levemente incrustada, subglobosas para cônicas, hemisféricas, podendo apresentar um achatamento dorsoventral, (12–) 15–35 (–50) × (15–) 20–33 (–40) µm; colar evidente. PEDICELOS sustentando os esporângios, geralmente curtos e recurvados, lisos ou levemente incrustados. ESPORÂNGIOLOS multiesporados frequentes (15–) 20–40 (–45) µm e uniesporados raros, até 20 µm em diâm., ambos com parede persistente, equinulados, globosos para subglobosos e castanhos. COLUMELAS DOS ESPORÂNGIOLOS hialinas com parede levemente incrustada, cônicas para aplanadas (5–) 8–18 (–25) µm. ESPORANGIOSPOROS globosos para subglobosos, hialinos, com parede lisa, (7–) 10–17 (–22) µm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CBS 118.08 (isótipo), CBS 107.09, CBS 195.28, CBS 196.28, CBS 244.67, CBS 316.93, CBS 411.67 e CBS 850.71.

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 192 h); 20 °C – crescimento moderado e boa esporulação (9 cm em 120 h); 25 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 30 °C – melhores crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 35 °C – crescimento moderado e boa esporulação (9 cm em 120 h); 40 °C – ausência de crescimento.

Habitat: Folheto, solo e parede úmida.

Distribuição: Brasil, Estados Unidos, França, Noruega, Suíça (WALTHER et al., 2013; SANTIAGO, 2017).

Notas: *Backusella lamprospora* caracteriza-se pela produção concomitante de esporangióforos simpodialmente ramificados, esporangiosporos globosos, subglobosos e esporangiólos multiesporados e uniesporados, sendo os primeiros mais abundantes, além de columelas subglobosas para cônicas ou hemisféricas.

Figura 12: *Backusella lamprospora*. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 μ m; b = 10 μ m.

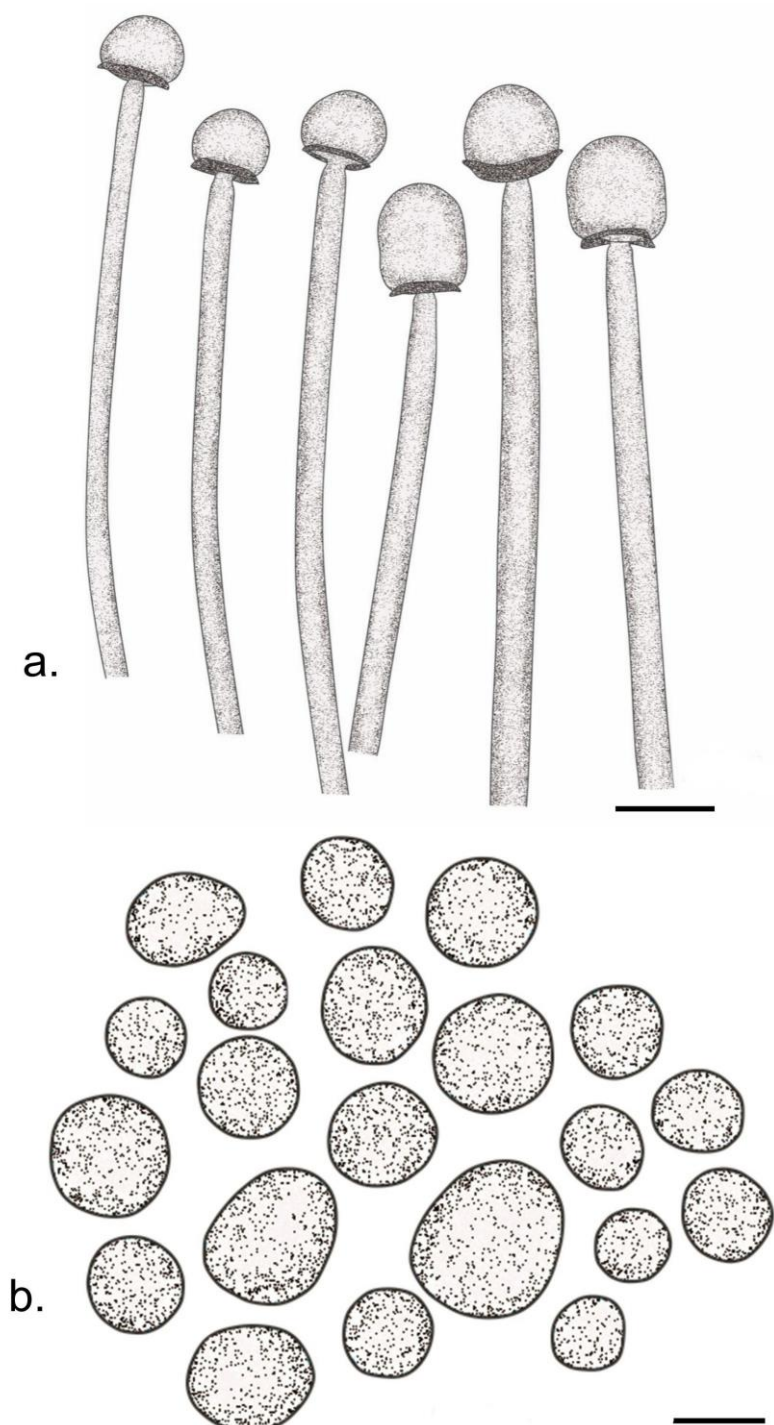
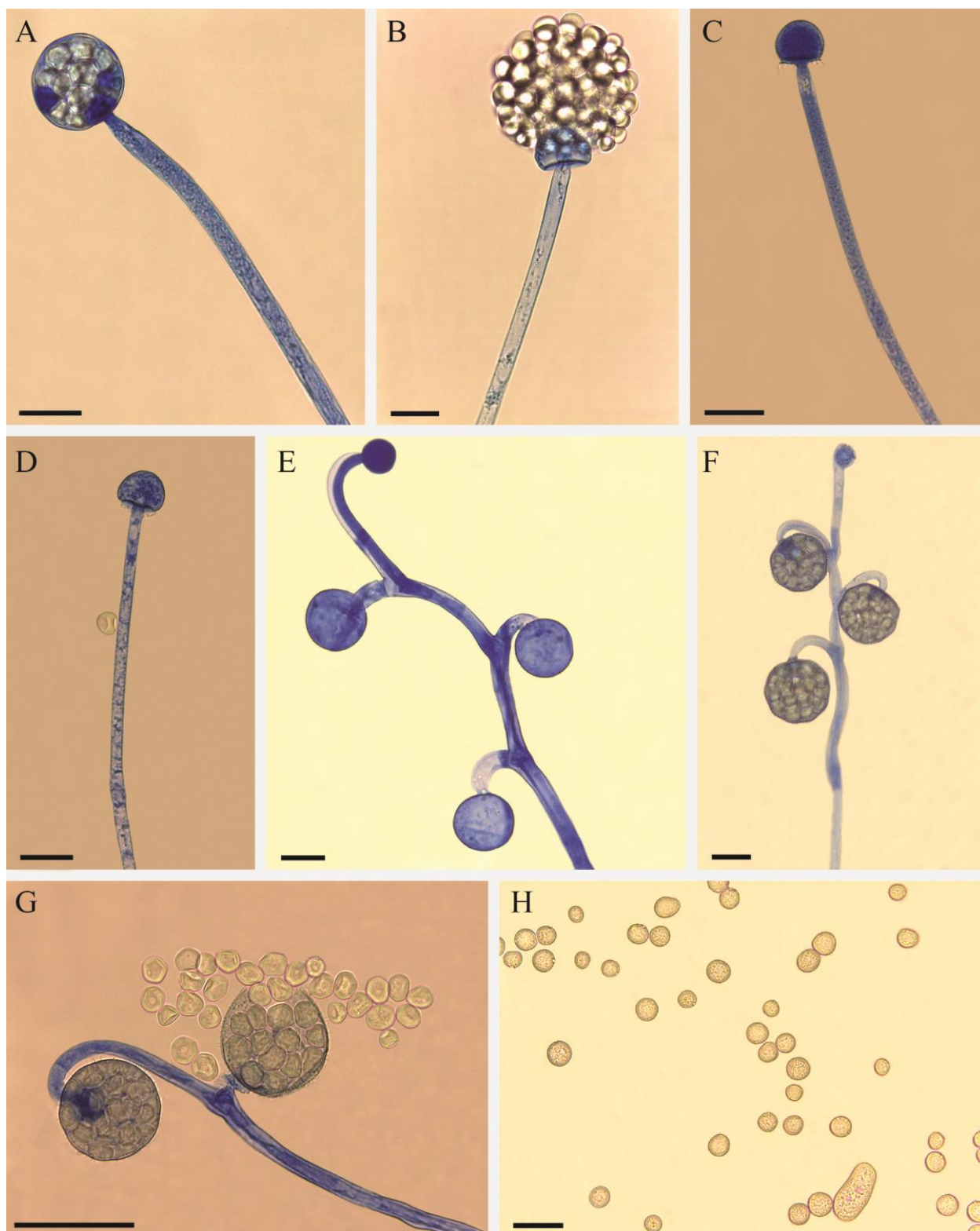


Figura 13: *Backusella lamprospora*. A, B – Esporangióforo com esporângio; C, D – Esporangióforo com columela; E – Esporangíolos multiesporados ramificados jovens; F, G – Esporangíolos multiesporados ramificados maduros; H – Esporangiosporos. Escalas = A, B, C, D, E, F, H = 25 µm; G = 50 µm.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.7 *Backusella oblongielliptica*

Backusella oblongielliptica (H. Nagan., Hirahara & Seshita ex Pidopl. & Milko) Walther & de Hoog, *Persoonia* 30: 41 (2013) (Figuras 14 e 15)

≡ *Mucor oblongiellipticus* H. Nagan., Hirahara & Seshita ex Pidopl. & Milko, *Atlas Mukor. Grib.* (Kiev): 81 (1971)

COLÔNIA de aspecto frouxo, verso branco pálido (MP A1 47), reverso amarelo escuro (MP H7 47), atingindo 1,5 cm de altura e 9 cm de diâm. em 5 dias, a 25 °C, em AEM. ESPORANGÍOFOROS surgindo diretamente do substrato, recurvados quando jovens, eretos quando maduros, monopodialmente ramificados, raramente simpodialmente ramificados com ramificações curtas, apresentando conteúdo marrom amarelado e parede levemente incrustada, até 35 µm em diâm. ESPÔRANGIOS globosos com parede levemente equinulada, de coloração acastanhada, até 250 (300) µm em diâm. COLUMELAS hialinas com parede incrustada apresentando conteúdo marrom amarelado, cilíndricas, cônicas alongadas, cônicas para aplanadas e subglobosas (60–) 100–140 (–150) × 80–120 µm com cristais em forma de agulha. ESPORANGIOSPOROS elipsóides, parede lisa e com conteúdo amarelo-oliva, (14–) 20–35 (–42) × (10–) 14–21 (–24) µm. ESPORANGÍOLOS ausentes. CÉLULAS GIGANTES presentes, apresentando até 150 µm em diâm., com conteúdo castanho. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CBS 568.70 (isótipo).

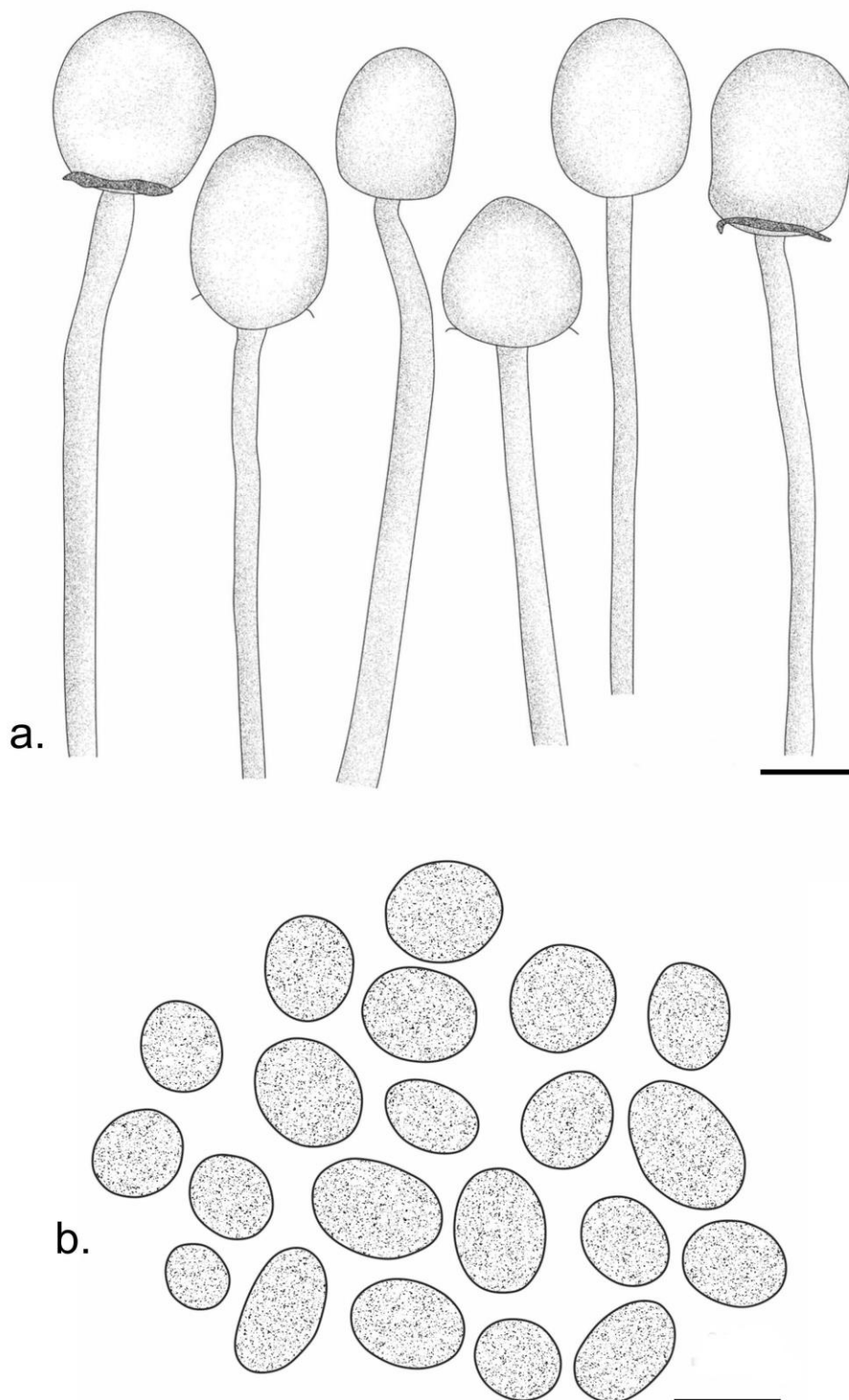
Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e boa esporulação (9 cm em 144 h); 20 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 25 °C – ótimos crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 30° C – crescimento moderado e boa esporulação (9 cm em 96 h); 35° C – ausência de crescimento.

Habitat: Agárico (fungo).

Distribuição: Japão (WALTHER et al., 2013).

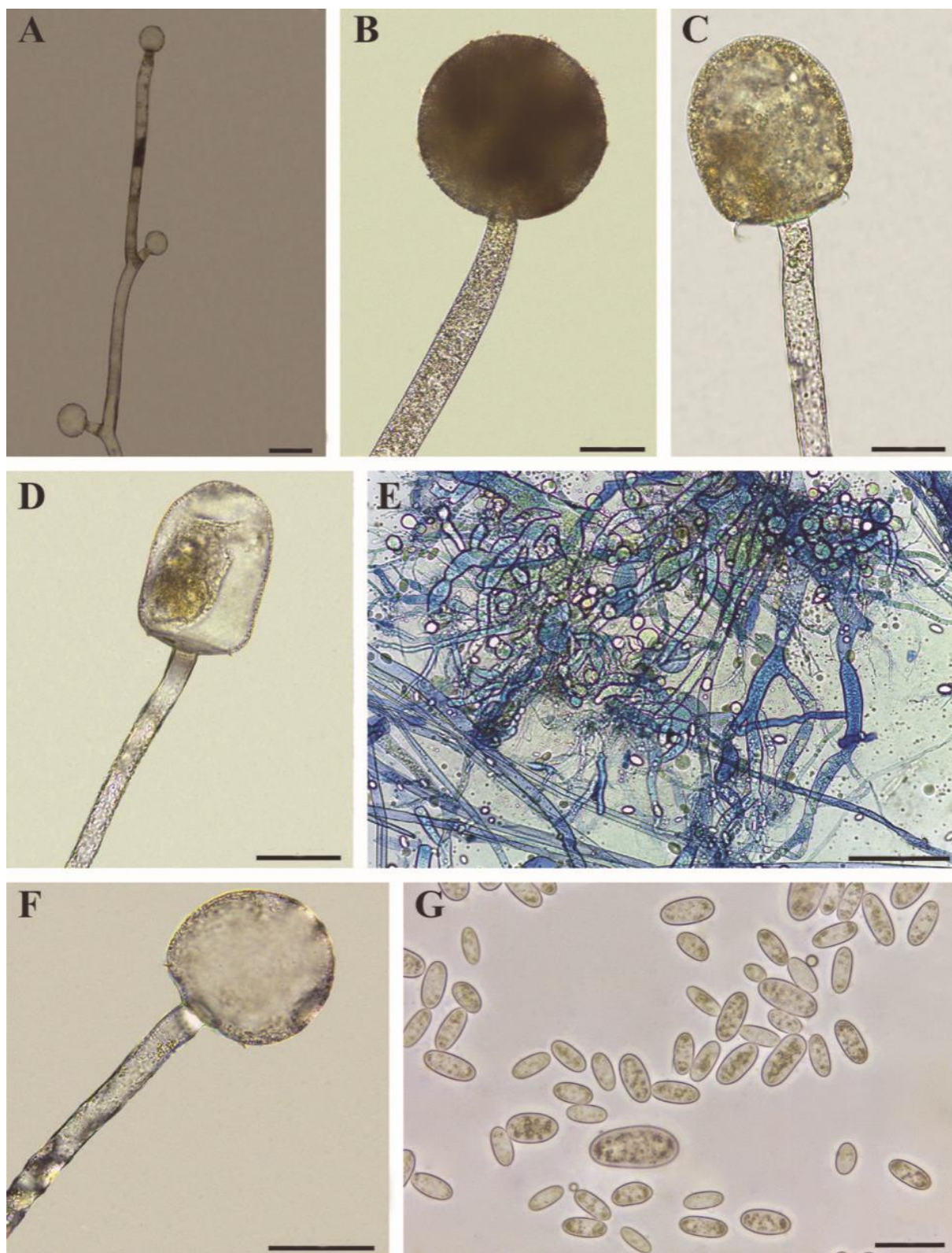
Notas: *Backusella oblongielliptica* diferencia-se das outras espécies do gênero por produzir colônias de micélio espaçado, esporangiosporos elipsóides em esporângios que podem chegar a 300 µm em diâm., além de produzirem células gigantes, e pela ausência da produção de esporangiólos.

Figura 14: *Backusella oblongielliptica*. **a** - Esporangióforos com columelas; **b** - Esporangiosporos. Escalas: a = 50 μ m; b = 25 μ m.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

Figura 15: *Backusella oblongielliptica*. **A** – Esporangióforo ramificado; **B** – Esporangióforo com esporângio; **C, D, F** – Esporangióforo com columela; **E** – Células gigantes; **G** – Esporangiosporos. Escalas: A = 100 µm, B, C D, F = 50 µm; E = 20 µm; G = 30 µm.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.8 *Backusella oblongispora*

Backusella oblongispora (Naumov) Walther & de Hoog, *Persoonia* 30: 41 (2013) (Figuras 16 e 17)

≡ *Mucor oblongisporus* Naumov, *Mater. Mikol. Fitopat. Ross.* 1: 28 (1915)

COLÔNIA branca (MP A1 45) com micélio levemente espaçado e reverso amarelo escuro (MP H7 47), atingindo 6,5 cm de altura e 9 cm de diâm. em 5 dias, a 25 °C, em AEM. RIZÓIDES longos e bem ramificados, frequentemente acima de 1 mm em comprimento. ESPORANGIÓFOROS hialinos, alguns com conteúdo castanho, lisos, até 5,5 mm de comprimento e 50 µm em diâm., surgindo diretamente do substrato, recurvados quando jovens e eretos quando maduros, apresentando uma leve constrição próxima à columela, com ramificações simples. ESPORÂNGIOS marrons claros, globosos ou subglobosos, equinulados, com parede deliquescente e parcialmente transparente, até 270 µm diâm. COLUMELAS elipsóides para cilíndricas ou elipsóides para piriformes, (40–) 55–120 (–160) × 35–80 (–130) µm, acastanhadas e apresentando longos cristais em forma de agulha em sua base. ESPORANGÍOLOS ausentes. ESPORANGIOSPOROS hialinos, com parede espessa, lisa, elipsóides, alguns irregulares, (10–) 15–17 (–20) × (7–) 10–12 (–17) µm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CBS 569.70 (isótipo).

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15° C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 168 h); 20 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 25 e 30 °C – melhores crescimento e esporulação (9 cm em 48 h); 35° C – ausência de crescimento.

Habitat: Solo.

Distribuição: Japão (WALTHER et al., 2013).

Notas: *Backusella oblongispora* caracteriza-se, principalmente, por produzir colônias com o micélio espaçado, não produzir esporangíolos e pela produção de esporangióforos com ramificações simples. Columelas elipsóides para cilíndricas ou elipsoides para piriformes, com a presença de cristais em forma de agulhas bem destacados também são característicos dessa espécie. Esporangiosporos elipsoides produzidos no interior de esporângios grandes em tamanho (até 270 µm diâm), também são característicos dessa espécie.

Figura 16: *Backusella oblongispora*. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 50 μm ; b = 10 μm .

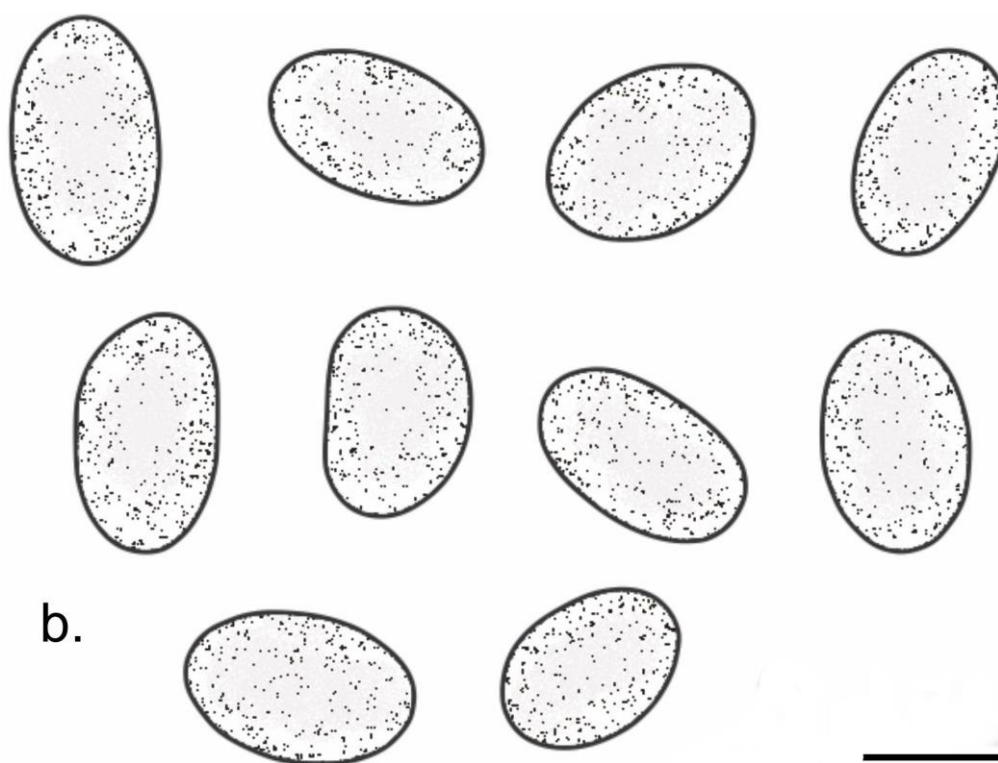
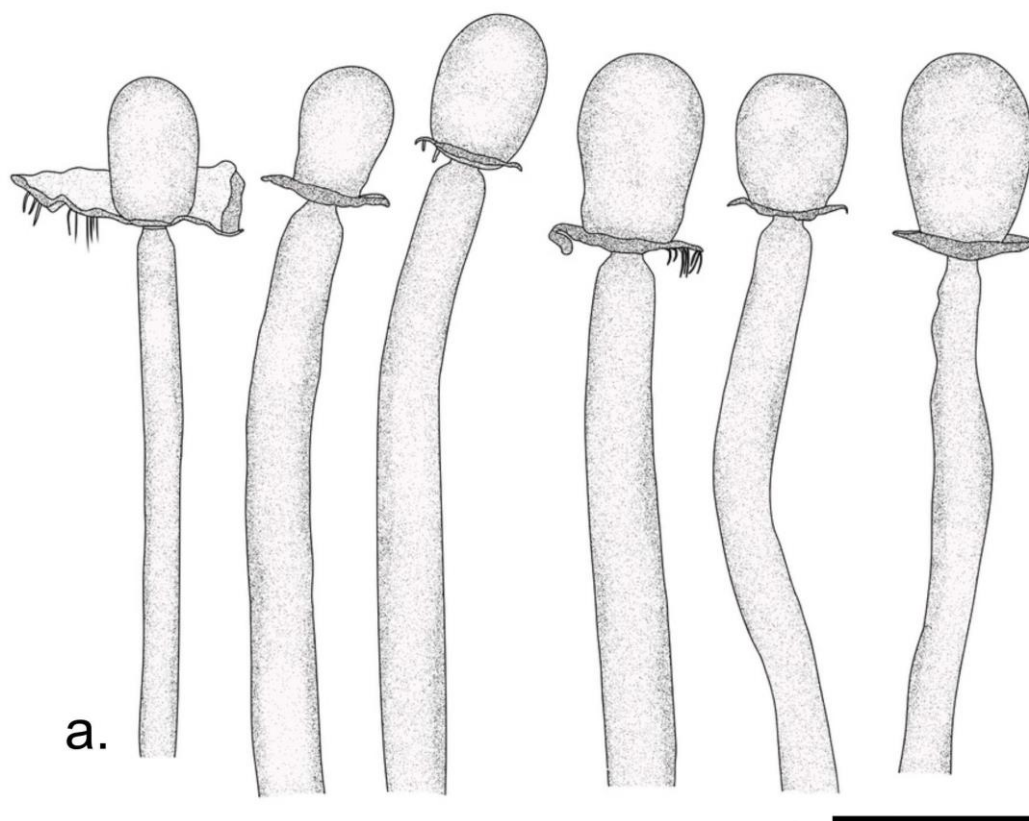
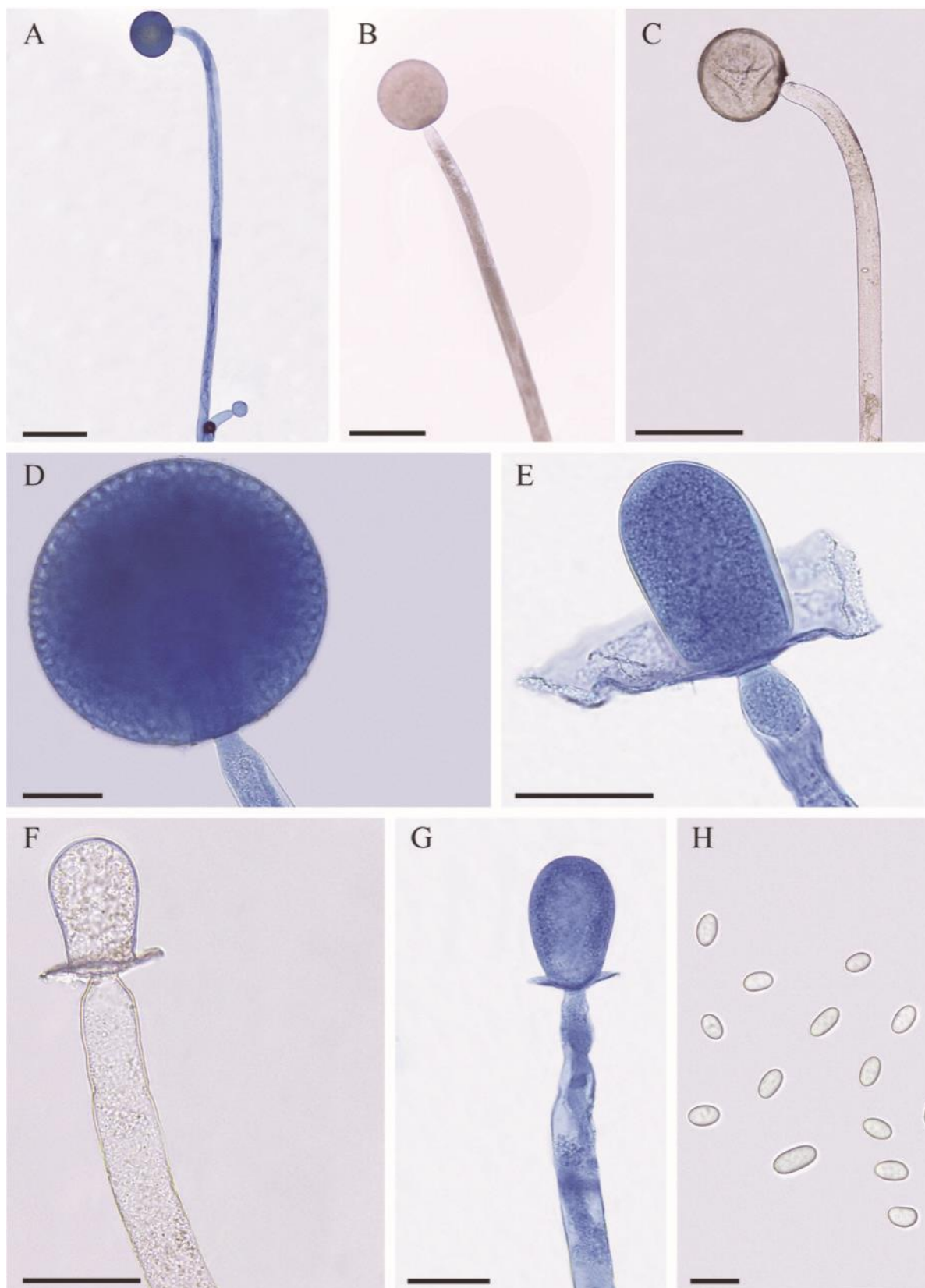


Figura 17: *Backusella oblongispora*. **A** – Esporangióforo com esporângio e ramificação simples curta; **B, C** – Esporangióforo com esporângio; **D** – Esporângio; **E** – Columela com colar; **F, G** – Esporangióforo com columela e colar; **H** – Esporangiospros. Escalas: A, B, C = 200 µm; D, E, F, G = 50 µm; H = 20 µm.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.9 *Backusella recurva*

Backusella recurva (EE Butler) Walther & de Hoog, *Persoonia* 30: 41 (2013) (Figuras 18 e 19)

≡ *Mucor recurvus* E. E. Butler, *Mycologia* 44(4): 561 (1952)

COLÔNIA cotonosa, branca para amarelada (MP A1 41) e reverso amarelo escuro (MP G6 49), atingindo toda a da placa de Petri em 7 dias (9 cm de diâm. e 1,5 cm de altura), em AEM, a 25 °C. Elevada quantidade de micélio estéril com conteúdo amarronzado presente. ESPORANGIÓFOROS recurvados quando jovens e eretos na maturidade, surgindo diretamente do substrato, simples ou raramente simpodialmente ramificados, até 18 µm em diâm., com leve constrição abaixo da columela; parede lisa, podendo apresentar conteúdo amarelado. ESPORÂNGIOS globosos, com parede deliquescente e equinulada, amarelos, até 125 µm em diâm. COLUMELAS hialinas, podendo apresentar conteúdo amarelo, cilíndricas, elipsóides com a base truncada, algumas cônicas ou cônicas para aplanadas, parede levemente incrustada, (14–) 20–65 × (–17) 24,5–60 µm, apresentando colar pequeno com cristais em forma de agulha. ESPORANGÍOLOS ausentes. ESPORANGIOSPOROS com conteúdo granular amarelo, lisos, elipsóides e irregulares (9,5–) 14,5–23 (–28) × (7–) 9,5–12 (–15) µm, raramente apresentando gotículas de óleo amareladas. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGÓSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CBS 196.71, CBS 317.52, CBS 318.52 (isótipo), CBS 673.75 e CBS 992.70.

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 216 h); 20 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 120 h); 25 °C – ótimos crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 30° C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 35 °C – crescimento moderado e esporulação pobre (9 cm em 120 h); 40° C – ausência de crescimento.

Habitat: Fungos lignolíticos, raiz doente de morangueiros, solo.

Distribuição: Austrália, Estados Unidos e Macedônia (WALTHER et al., 2013).

Notas: *Backusella recurva* diferencia-se das outras espécies pela produção concomitante de elevada quantidade de micélio estéril com conteúdo amarronzado, esporangióforos não ramificados (raramente simpodialmente ramificados), columelas geralmente cilíndricas ou elipsóides com a base truncada, esporangiosporos elipsóides, além de não produzir esporangiólos.

Figura 18: *Backusella recurva*: **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 20 μ m; b = 10 μ m.

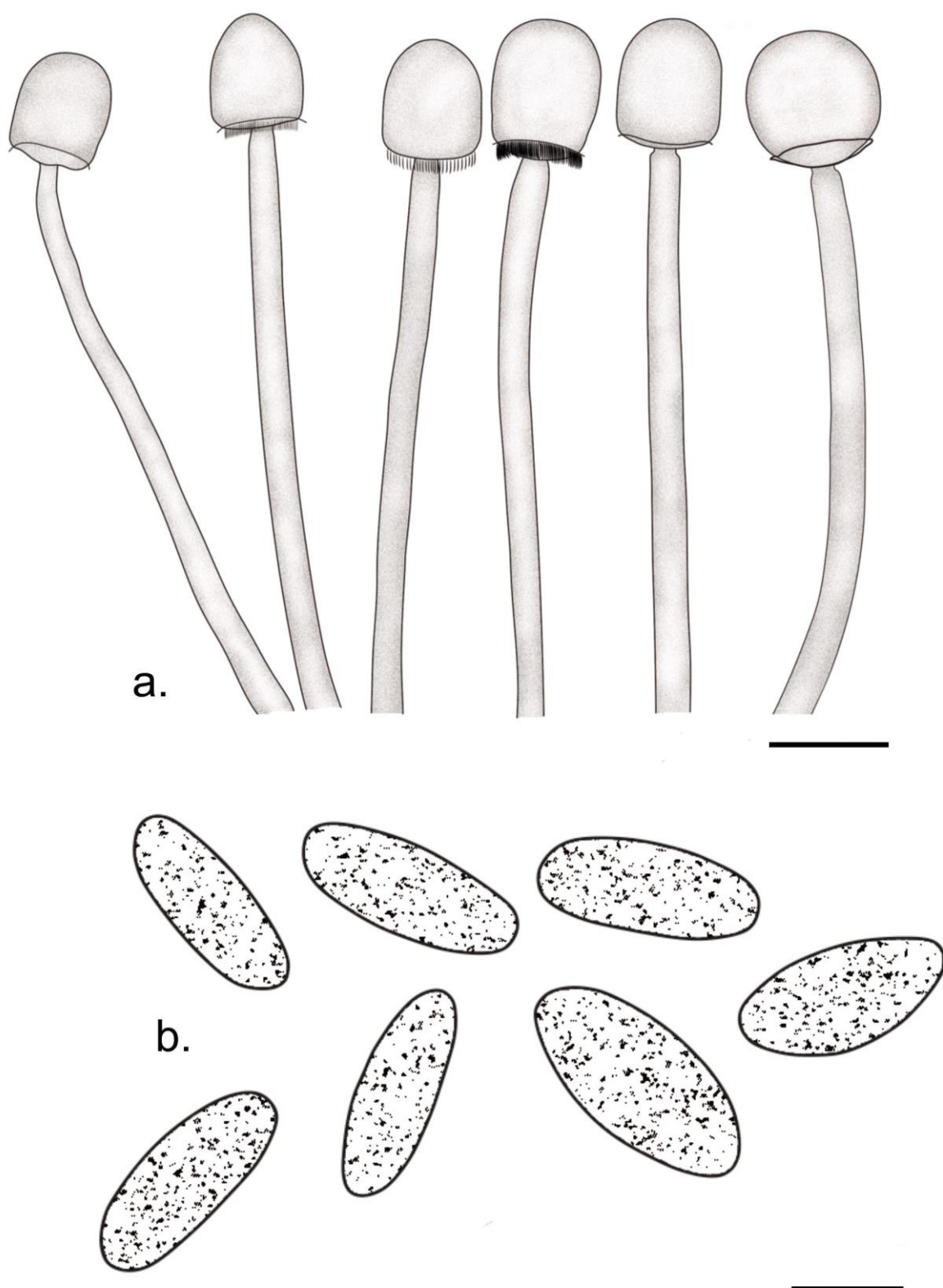
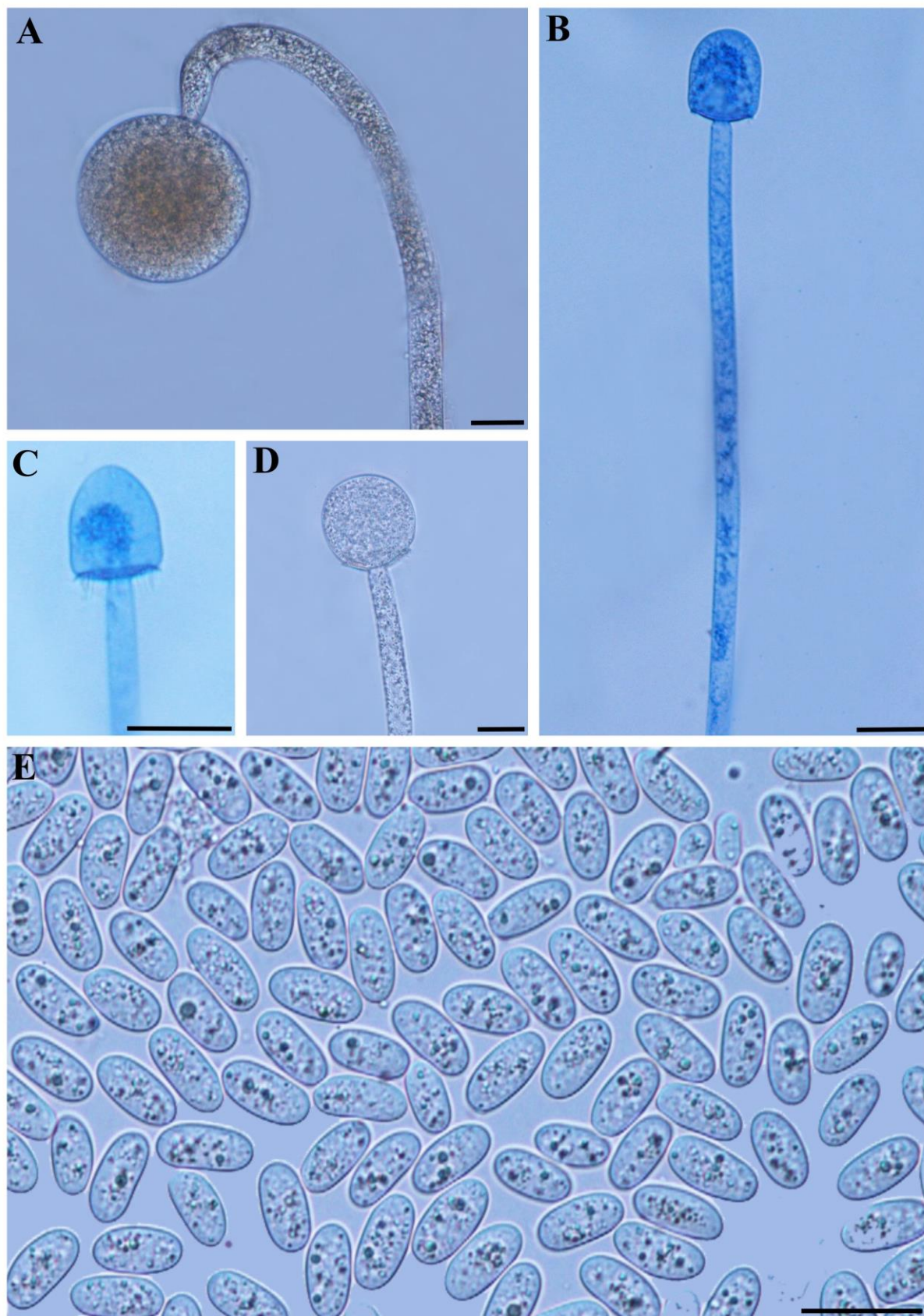


Figura 19: *Backusella recurva*. **A** – Esporângio jovem recurvado; **B, C, D** – Esporangióforos com columelas; **E** – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E = 25 µm.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.10 *Backusella tuberculispora*

Backusella tuberculispora (Schipper) Walther & de Hoog, *Persoonia* 30: 41 (2013) (Figuras 20 e 21)

≡ *Mucor tuberculisporus* Schipper, *Stud. Mycol.* 17: 23 (1978)

COLÔNIA cotonosa, cinza esverdeada, verso (MP A1 49), reverso amarelo escuro (MP G7 49), atingindo toda da placa de Petri (9 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) em até 4 dias, em AEM, a 25 °C. RIZÓIDES pouco ramificados. ESPORANGIÓFOROS hialinos, com parede levemente incrustada, até 17 µm em diâm., recurvados quando jovens e eretos na maturidade, surgindo do substrato ou do micélio aéreo, simples ou monopodialmente ramificados, raramente simpodialmente ramificados, apresentando uma leve constrição abaixo da columela. Ramificações estéreis infreqüentemente visualizadas. Ramificações simpodiais encontradas principalmente nos esporangióforos pedicelados que sustentam esporângios. ESPORÂNGIOS marrons escuros, globosos, equinulados, com parede deliquescente, até 125 µm diâm. COLUMELAS pálidas para cinzas amarronzadas com parede levemente incrustada, cônicas para aplanadas ou raramente cilíndricas e oblongas 20–60 (–85) × 30–50 (–65) µm. Colar contendo espinhos curtos. ESPORÂNGÍOLOS globosos para subglobosos, hialinos, equinulados, frequentes a partir do quinto dia da inoculação, multiesporados abundantes (uniesporados menos comuns), (16–) 25–45 µm em diâm. COLUMELAS DOS ESPORÂNGÍOLOS, hialinas com parede levemente incrustada, hemisféricas achatadas, 12–25 × 20–30 µm. ESPORANGIOSPOROS hialinos, com forma poliédrica irregular, com protruções, (7–) 9–17 (–20) × (9–) 11–14 (–17) µm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CBS 562.66 (isótipo) e CBS 570.70.

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e boa esporulação (9 cm em 168 h); 20 °C – crescimento moderado e boa esporulação (9 cm em 120 h); 25 °C – Bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 30 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 120 h); 35 °C – ausência de crescimento.

Habitat: Solo.

Distribuição: Índia e Japão (WALTHER et al., 2013).

Notas: *Backusella tuberculispora* é a única espécie do gênero que produz esporangiosporos irregulares poliédricos.

Figura 20: *Backusella tuberculispora*. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 μ m; b = 10 μ m.

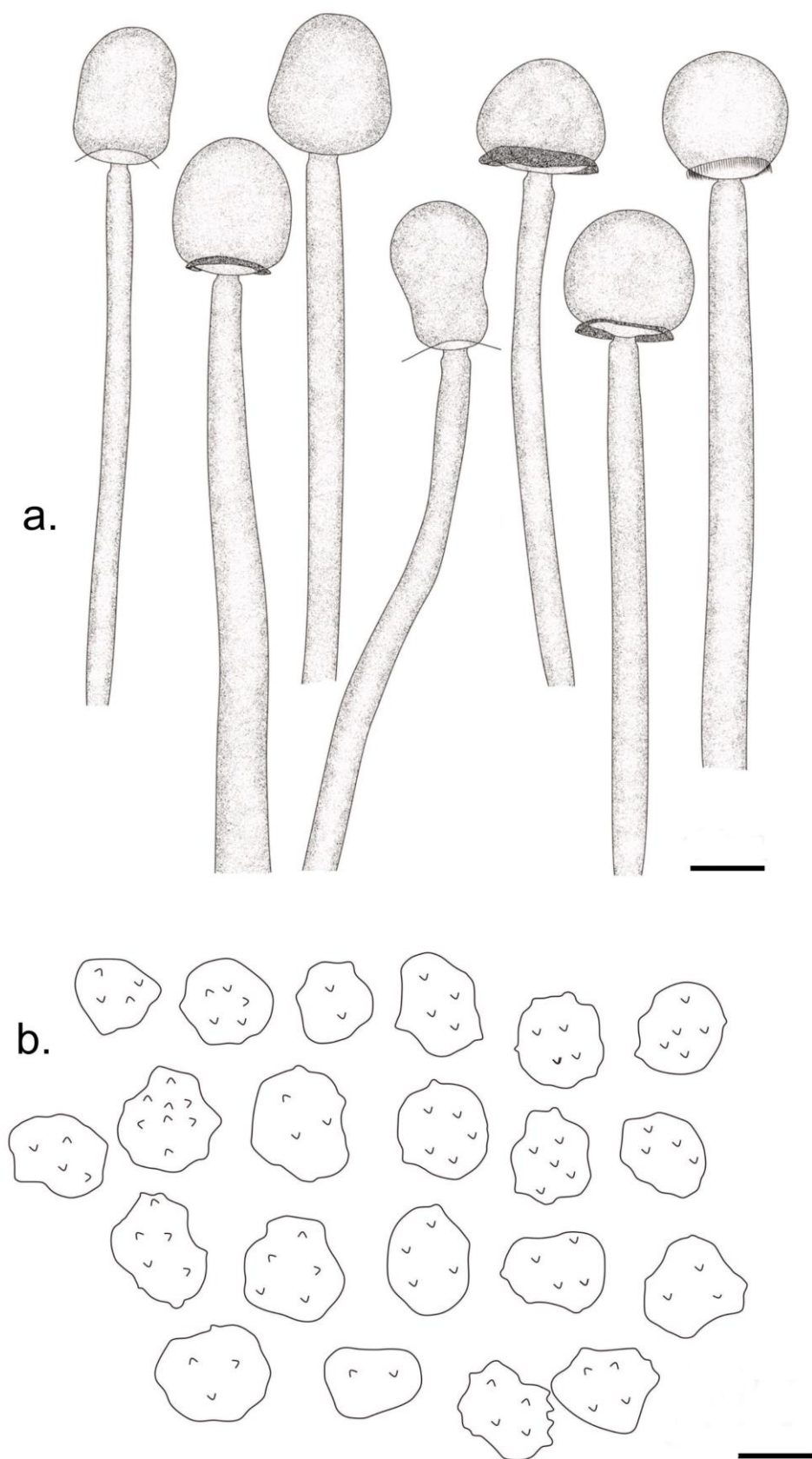
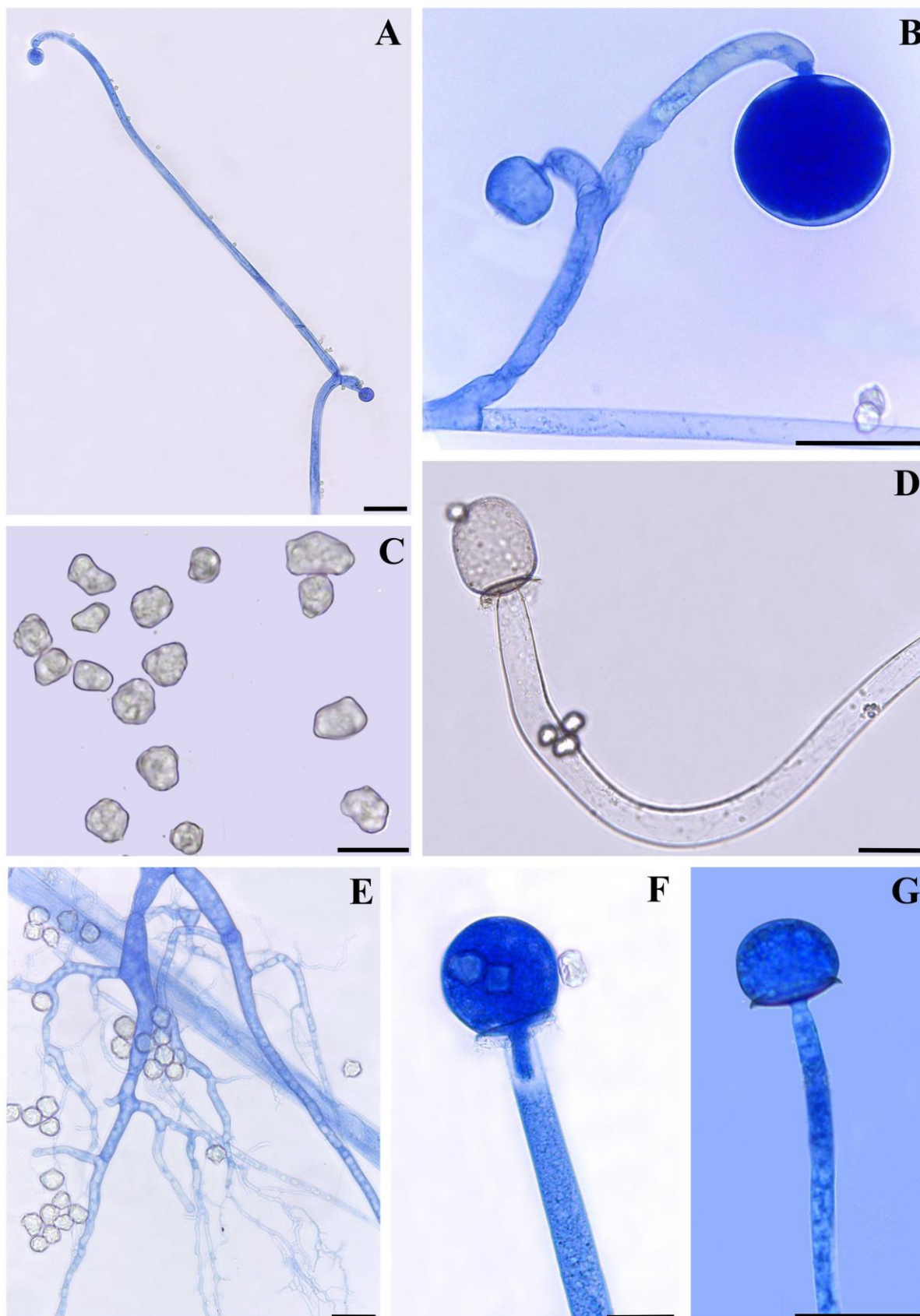


Figura 21: *Backusella tuberculispora*. **A** – Esporangióforo ramificado; **B** – Ramificação do esporangióforo com columela e esporângio jovem; **C** – Esporangiosporos; **D, F, G** – Esporangióforo simples com columela; **E** – Rizóides. Escalas: A = 100 μ m; B, G = 50 μ m; C = 20 μ m; D = 30 μ m; E, F = 25 μ m.



4.2.11 *Backusella variabilis*

Backusella variabilis (A.K. Sarbhoy) Walther & de Hoog, *Persoonia* 30: 41 (2013) (Figuras 22 e 23)

≡ *Mucor variabilis* A.K. Sarbhoy, *Trans. Br. Mycol. Soc.* 48(4): 559 (1965)

= *Backusella grandis* (Schipper & Samson) Walther & de Hoog, *Persoonia* 30: 41 (2013)

= *Mucor grandis* Schipper & Samson, *Mycotaxon* 50: 479 (1994)

COLÔNIA branca amarelada, de aspecto frouxo, verso (MP A1 47), reverso amarelo (MP G7 49), atingindo toda a placa de Petri (9 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) em até 7 dias em MEA a 25°C. RIZÓIDES ausentes. ESPORANGIÓFOROS hialinos, com parede levemente incrustada, com ou sem conteúdo marrom, até 50 µm em diâm., surgindo diretamente do substrato, recurvados quando jovens e eretos na maturidade, com ramificações simples ou raramente simpodialmente ramificados. ESPORÂNGIOS globosos com parede equinulada e deliquescente, até 200 (–250) µm em diâm. COLUMELAS com conteúdo amarronzado, parede lisa, cilíndricas, piriformes, algumas elipsóides, (50–) 70–120 (–160) × (40–) 60–100 (–130) µm. Colar presente. ESPORAGIOSPOROS hialinos com parede lisa, elipsóides, raros subglobosos, (6–) 8–19 (–22) × (5–) 9–12 (–15) µm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGÓSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: CBS 564.66 (isótipo).

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 e 20 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 240 h); 25 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 192 h); 30 °C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 horas); 35 °C – ótimos crescimento e esporulação (9 cm em 48 h); 40 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 216 h); 45° C – ausência de crescimento.

Habitat: Excremento de humanos.

Distribuição: Índia (WALTHER et al., 2013).

Notas: *Backusella variabilis* produz esporangióforos com ramificações simples ou raramente simpodialmente ramificados, esporangiosporos elipsóides e columelas cilíndricas, elipsóides ou piriformes.

Figura 22: *Backusella variabilis*. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 20 μm ; b = 10 μm .

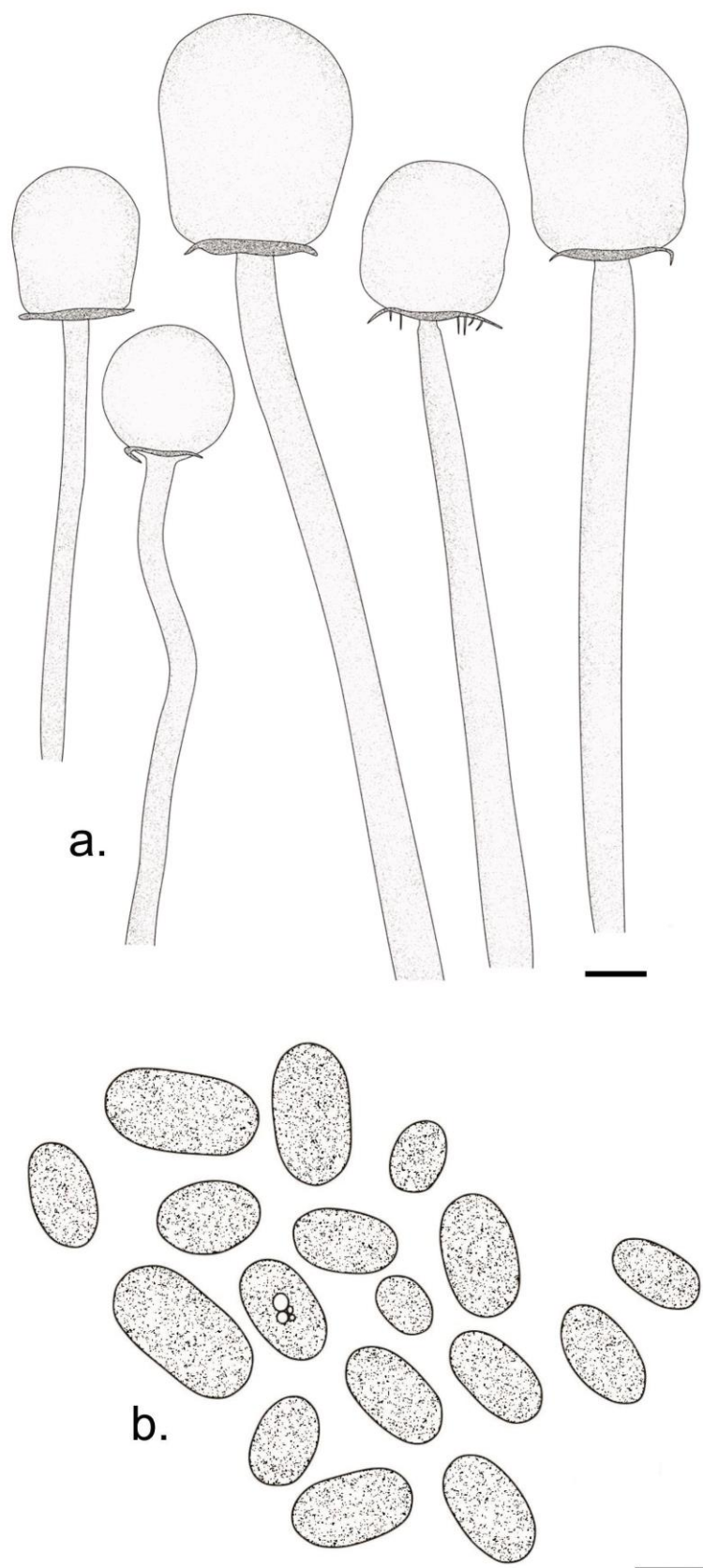
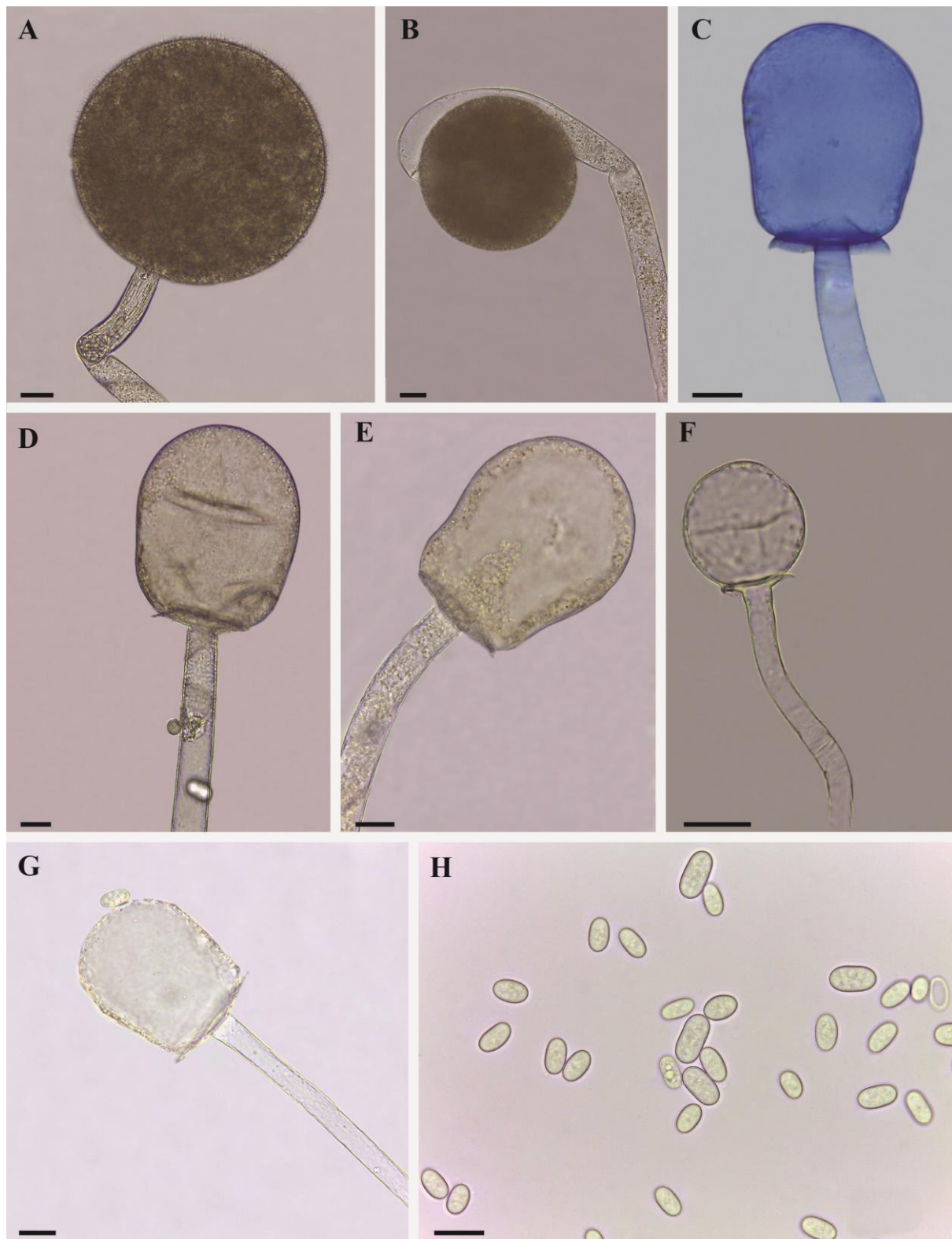


Figura 23: *Backusella variabilis*. A, B - Esporangióforo com esporângio; C, D, E, F, G - Esporangióforo com columela; H - Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E, F, G, H = 20 µm.



Fonte: CORDEIRO, T.R.L (2018)

4.2.12 *Backusella* sp. 1 nov.

Backusella sp. 1 nov. T.R.L. Cordeiro & A.L Santiago sp. nov. (Figuras 24 e 25)

COLÔNIA com aspecto cottonoso, verso branco, levemente acinzentada (MP A1 29), reverso amarelado (MP B7 27), atingindo toda a placa de Petri (9 cm diâm. e 1,5 cm de altura) em 3 dias, a 25 °C, em MEA. RIZÓIDES bem ramificados. Grande quantidade de micélio estéril presente em colônias jovens, com inchaços semelhantes a rizóides. ESPORANGIÓFOROS hialinos, de parede lisa à levemente incrustada, até 17 µm em diâm., surgindo diretamente do substrato, recurvados quando jovens e eretos na maturidade, com leve constrição abaixo da columela, simpodialmente ramificados com ramificações em maioria circinadas e curtas. Septo comumente formado próximo ao ponto de ramificação. Inchaços irregulares com até 40 µm em diâm. podem ser observados em até 20 µm abaixo da columela. ESPORÂNGIOS globosos, amarronzados, com parede levemente equinulada e deliquescente, até 75 µm em diâm. COLUMELAS hemisféricas para cônicas, levemente irregulares com a base dilatada, algumas subglobosas, (15–) 20–30 (–40) × 20–35 (–45) µm. Colar presente, podendo apresentar espinhos em forma de agulha. ESPORANGÍOLOS hialinos, globosos para subglobosos, de parede persistente e equinulada, surgindo do substrato ou do micélio aéreo. Esporangíolos multiesporados abundantes e uniesporados raros, (10–) 15–45 (–50) µm em diâm. COLUMELAS DOS ESPORANGIOLOS cônicas para aplanadas (7–) 10–20 × 9–25 µm. ESPORANGIOSPOROS lisos e hialinos, globosos para subglobosos, alguns irregulares e elipsóides para subglobosos, com conteúdo amarelo-oliva, (12–) 14–22 (–30) µm em diâm. CÉLULAS GIGANTES ausentes. ZIGOSPOROS não visualizados. Provavelmente heterotático.

Material examinado: URM 7644 (holótipo), CBS 538.80 (isótipo).

Influência da temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 216 h); 20° C – bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 25° C – ótimos crescimento e esporulação (9 cm em 72 h); 30° C – crescimento moderado e esporulação pobre (9 cm em 120 h); 35° C – crescimento lento e esporulação pobre (4 cm em 120 horas); 40° C – ausência de crescimento.

Habitat: Alfafa (*Medicago sativa* L.).

Distribuição: Egito (WALTHER et al., 2013).

Notas: *Backusella* sp.1 nov. se diferencia das outras espécies do gênero por exibir além esporangiosporos grandes, até 30 µm em diâm., além de um inchaço bem destacado em alguns esporangióforos, abaixo da base das columelas.

Figura 24: *Backusella* sp. 1 nov. **a** – Esporangióforos com columelas; **b** – Esporangiosporos. Escalas: a = 25 μ m; b = 10 μ m.

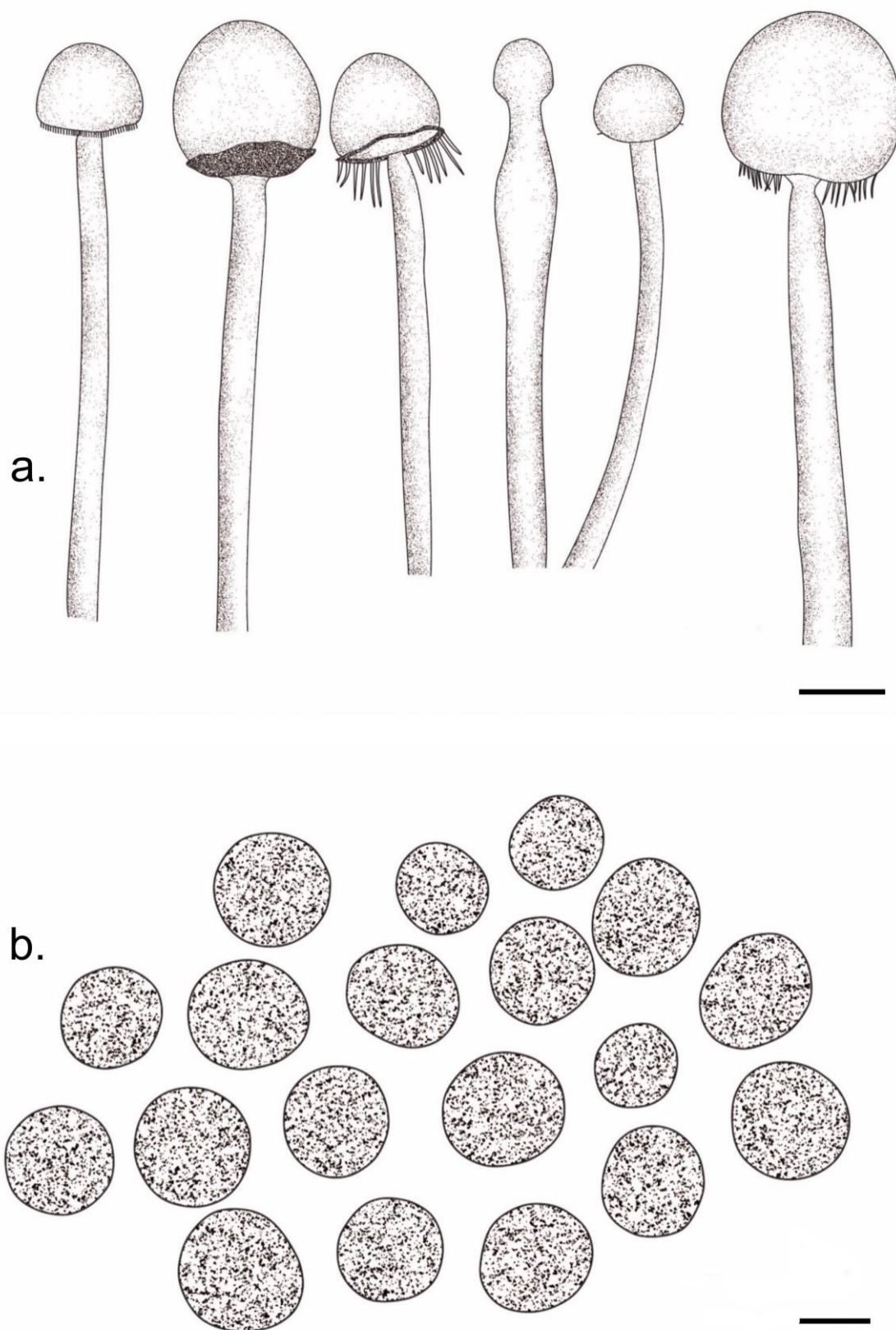
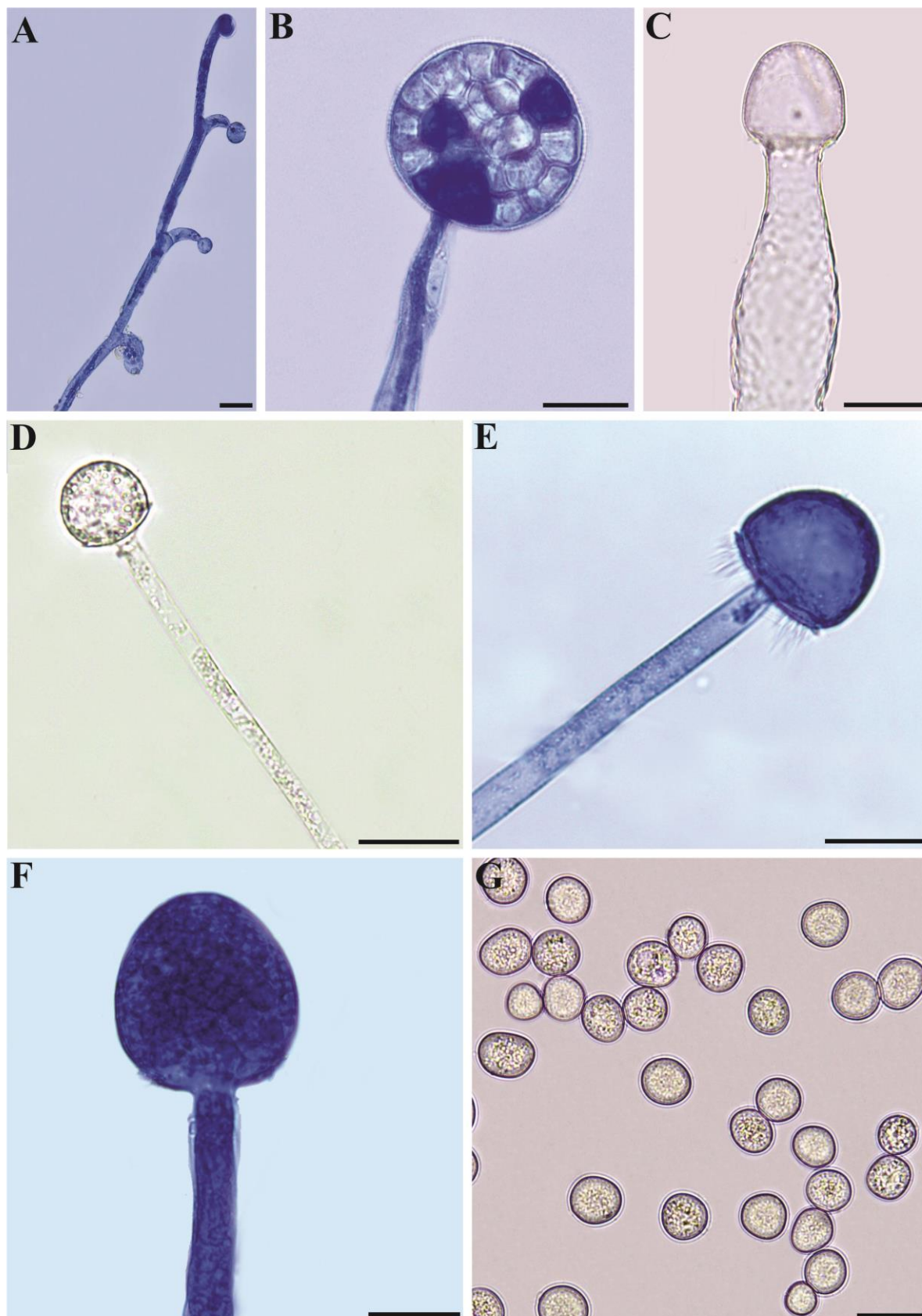


Figura 25: *Backusella* sp. 1 nov. **A** – Esporangióforo jovem recurvado; **B** – Esporangióforo com esporângio; **C** – Esporangióforos com inchaço abaixo da columela; **D, E, F** – Esporangióforo columela; **G** – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E, F, G = 25 μ m.



4.2.13 *Backusella* sp. 2 nov.

Backusella sp. 2 nov. T.R.L. Cordeiro, C.A de Souza & A. L Santiago sp. nov. (Figuras 26 e 27)

COLÔNIA cotonosa, branca pálida (MP A1 29), reverso amarelado (MP B7 27), tomando a placa de Petri (9 cm diâm. e 1,5 cm de altura) em 7 dias a 25° C em AEM. RIZÓIDES bem ramificados surgindo do micélio aéreo, podendo envolver os esporângios, esporangióolos ou parte do esporangióforo, formando um emaranhado. ESPORANGIÓFOROS hialinos, de parede lisa à levemente incrustada, surgindo diretamente do substrato, recurvados quando jovens, eretos na maturidade ou ramente circinados. Esporangióforo principal com até 2,5 mm de comprimento e 12 µm de largura, com leve constrição abaixo da columela; ramificações simples ou monopodiais, raramente simpodialmente ramificados. Ramificações simpodiais, quando presentes, podem formar até 8 ramificações sucessivas. Septo pode ser observado próximo ao ponto de ramificação dos esporangióolos ou ainda próximo as ramificações estéreis. ESPORÂNGIOS castanhos, globosos, levemente equinulados, alguns depressos, até 90 µm em diâm. com parede deliquescente. COLUMELAS hialinas de parede lisa, hemisféricas, algumas dorsoventralmente achatadas, (10–) 15–20 × (13–) 17–22 (–30) µm. Colar presente, comumente pouco desenvolvido. ESPORANGÍOLOS multiesporados frequentes, hialinos, com conteúdo amarelo-oliva, globosos ou subglobosos, equinulados, com parede persistente, (15) 22–40 × 25–40 (–45), simples ou simpodialmente ramificados. Esporangióolos uniesporados pouco frequentes, equinulados, hialinos, globosos (10–) 17–30 (–50) µm em diâm. Esporangióolos multiesporados e uniesporados raramente podem surgir de um mesmo PEDICELO recurvado (20–) 40–90 (–130) µm em comprimento. Ramificações estéreis de até 50 µm em comprimento e 10 µm diâm., podem ser encontradas em ambos esporangióolos. COLUMELAS dos esporangióolos cônicas para subglobosas, algumas globosas para subglobosas, poucas achatadas 5–12 × 10–18. ESPORANGIOSPOROS lisos, hialinos, globosos ou subglobosos, alguns irregulares (7–) 10–17 (–22) µm em diâm. CÉLULAS GIGANTES presentes, globosas, bem ramificadas, hialinas; mais comuns em colônias velhas. ZIGOSPORO globoso para subgloboso até 30 µm em diâm., zigospórângios até 45 µm em diâm., marrons, com parede rugosa e projeções cônicas. Células suspensoras opostas, hialinas, lisas, 12–48 µm em altura e 12–22 µm de largura. Heterotático.

Material examinado: URM 7646 (holótipo), URM 7647, URM 7648, URM 7649.

Influência de temperatura: 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 288 h); 20°C –crescimento e esporulação melhores do que a 15°

C (9 cm em 168 h); 25, 30 °C – Bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 35 °C – ausência de crescimento.

Habitat: Solo.

Distribuição: Brasil.

Notas: *Backusella* sp. 2 nov. diferencia-se das outras espécies de *Backusella* por produzir rizóides bem ramificados, algumas vezes enovelados, esporangiosporos globosos e subglobosos e células gigantes.

Figura 26: *Backusella* sp. 2 nov. a – Columelas; b – Esporangiosporos; c – Esporangióforo circinado e esporangiosporos. Escalas: A = 25 μ m; B = 10 μ m; C = 20 μ m.

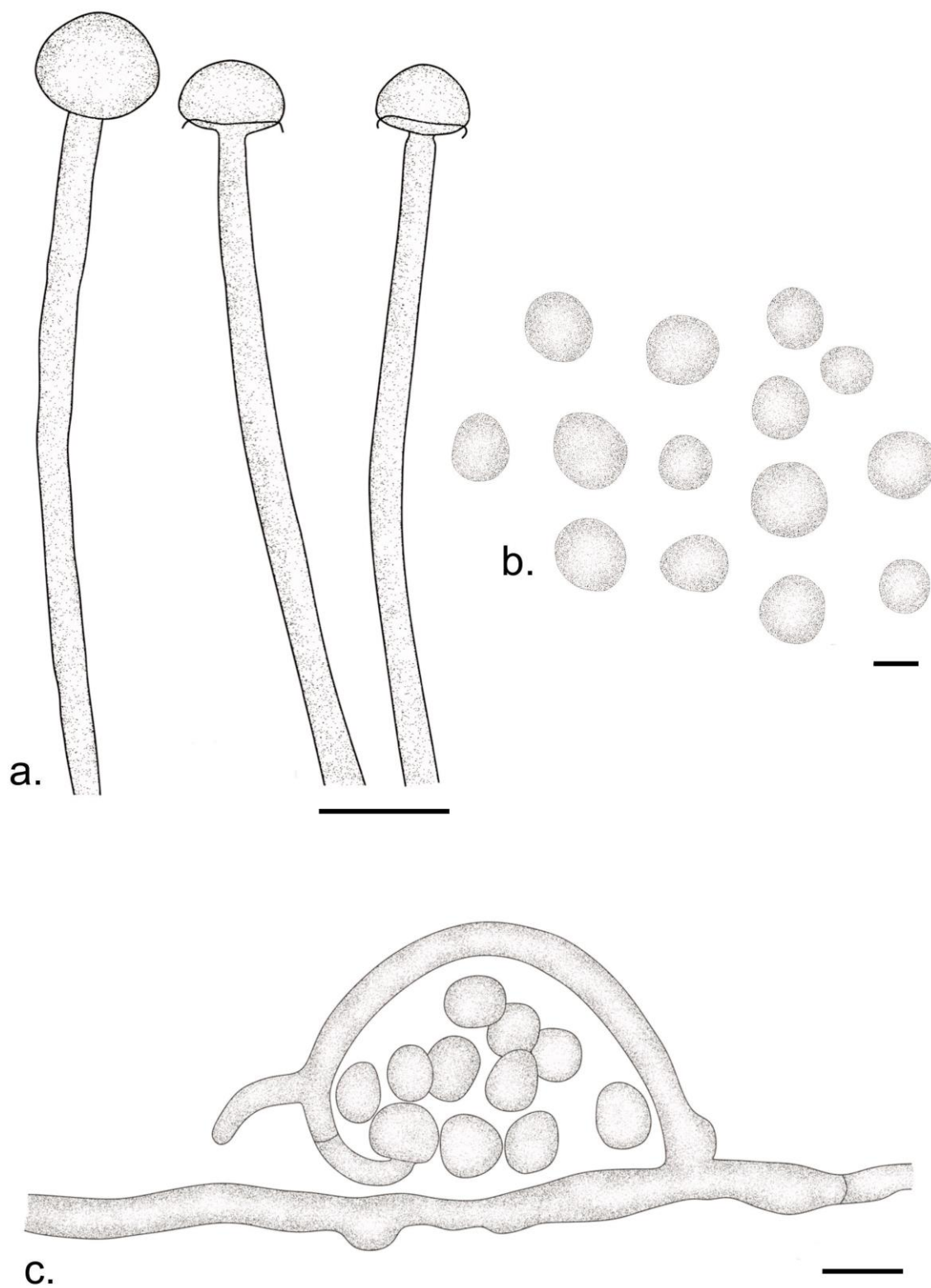


Figura 27: *Backusella* sp. 2 nov. **A** – Esporangióforo com esporângio. **B** – Esporangióforo com columela; **C** – Esporangíolo multiesporado ramificado e columela; **D** – Esporangióforo circinado com rizóide; **E** – Rizóide; **F**, **G** – Zigosporângio com zigosporo; **H** – Esporangiosporos. Escalas: A, B, C, D, E, H = 25 μ m; F, G = 20 μ m.

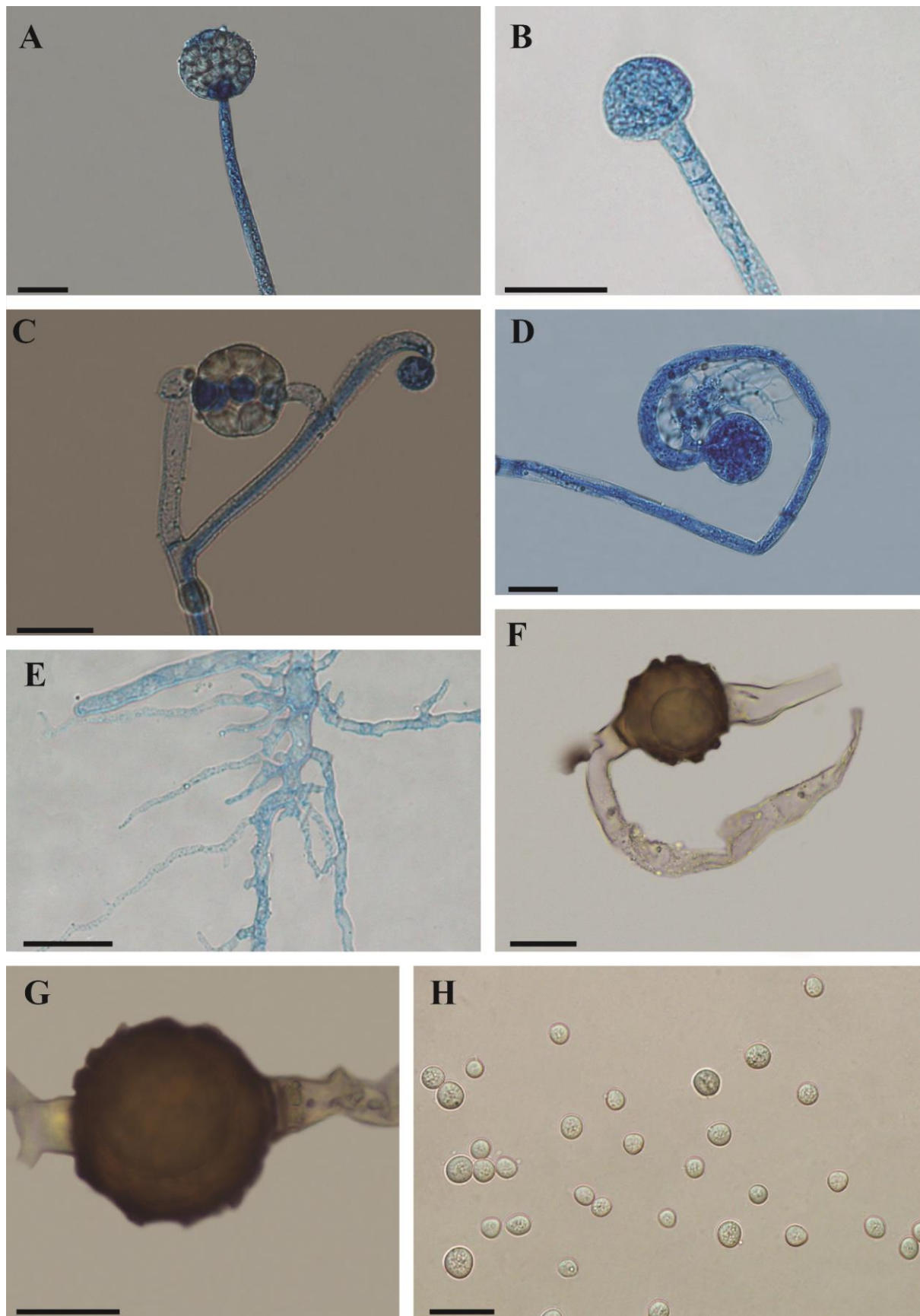
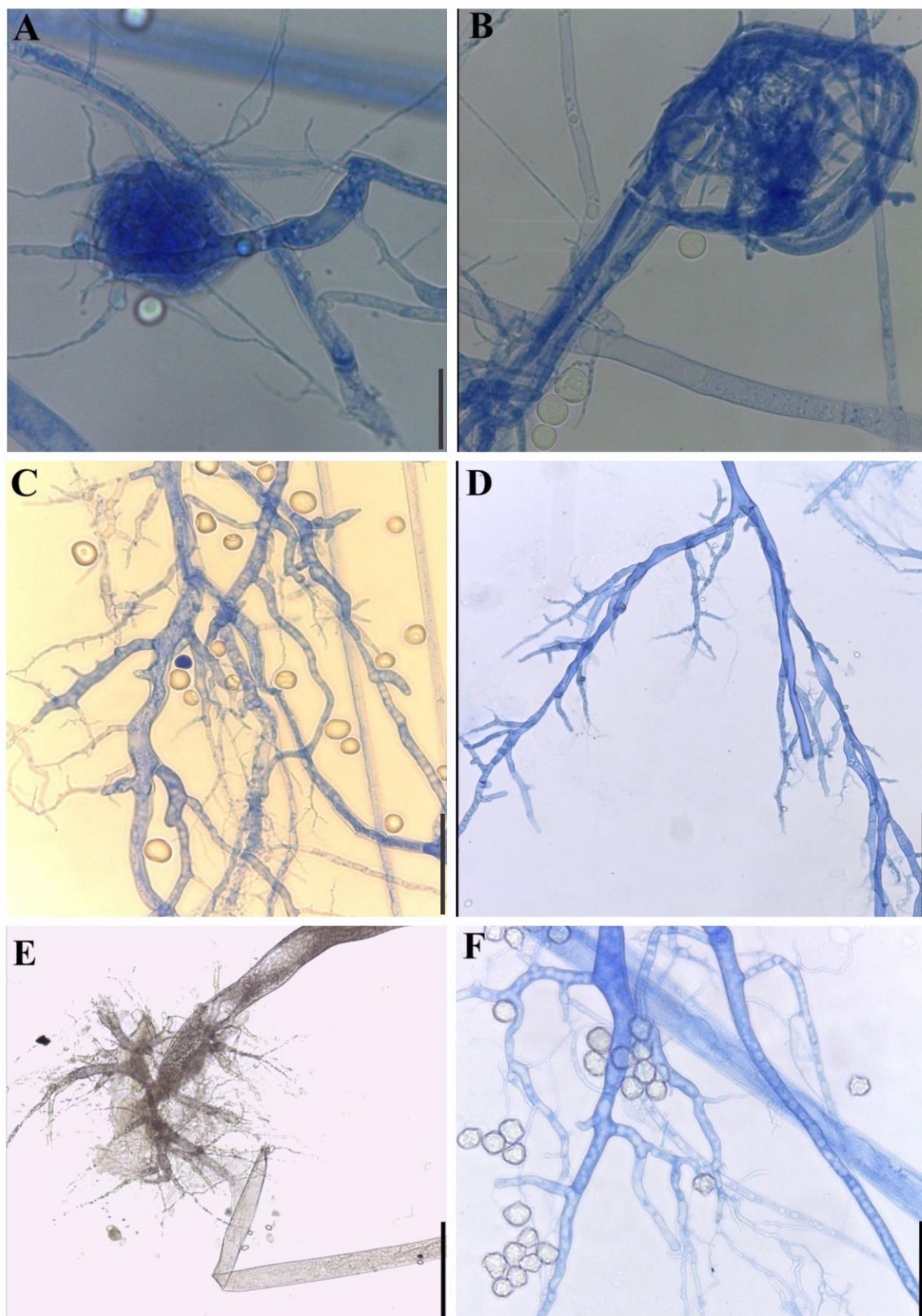


Figura 28: Rizóides. A, B – *Backusella circina*; C – *B. lamprospora*; D, E – *B. oblongispora*; F – *B. tuberculispora*. Escalas: A, B = 25 μ m; C = 50 μ m; D, E = 200 μ m; F = 25 μ m.



4.3 CRUZAMENTO PARA PRODUÇÃO DE ZIGÓSPOROS

Os cruzamentos foram realizados apenas com espécies representadas por mais de um espécime (Tabela 3).

Os cruzamentos intraespecíficos para espécimes de *B. indica*, *B. gigacellularis*, *B. oblongielliptica*, *B. oblongispora* e *B. variabilis* não puderam ser realizados, tendo em vista que apenas um espécime de cada uma dessas espécies estava disponível nas coleções de culturas para fornecimento.

Apenas duas espécies foram capazes de produzir zigospórângios e zigósporos. *Backusella circina* produziu estruturas em três cruzamentos: (CBS 129.70 + CBS 907.73), (CBS 128.70 + CBS 382.95) e (CBS 382.95 + CBS 907.73), enquanto *Backusella* sp. 2 nov. produziu zigospórângios e zigósporos nos seguintes cruzamentos: (URM 7648 + URM 7649), (URM 7647 + URM 7649) e (URM 7646 + URM 7649). Os cruzamentos das demais espécies: *B. lamprospora*, *B. recurva* e *B. tuberculispora* não produziram estruturas sexuadas.

Tabela 3. Cruzamentos entre espécimes de *Backusella*

Espécies	Amostras	<i>B. circina</i>						<i>B. constricta</i>		<i>B. lamprospora</i>								<i>B. recurva</i>					<i>Backusella</i> sp. 2 nov.				<i>B. tuberculispora</i>	
		CBS 322.69	CBS 323.69	CBS 128.70	CBS 128.70	CBS 907.73	CBS 382.95	URM 2500	URM7323	CBS 118.08	CBS 107.09	CBS 195.28	CBS 196.28	CBS 244.67	CBS 411.67	CBS 850.71	CBS 316.93	CBS 317.52	CBS 318.52	CBS 992.70	CBS 196.71	CBS 673.75	URM 7646	URM 7647	URM 7648	URM7649	CBS 562.66	CBS 570.70
<i>B. circina</i>	CBS 322.69	x	-	-	-	-	-																					
	CBS 323.69	-	x	-	-	-	-																					
	CBS 128.70	-	-	x	-	-	+																					
	CBS 129.70	-	-	-	x	+	-																					
	CBS 907.73	-	-	-	+	x	+																					
	CBS 382.95	-	-	+	-	+	x																					
<i>B. constricta</i>	URM2500							x	-																			
	URM7323							-	x																			
<i>B. lamprospora</i>	CBS 118.08									x	-	-	-	-	-	-	-											
	CBS 107.09									-	x	-	-	-	-	-	-											
	CBS 195.28									-	-	x	-	-	-	-	-											
	CBS 196.28									-	-	-	x	-	-	-	-											
	CBS 244.67									-	-	-	-	x	-	-	-											
	CBS 411.67									-	-	-	-	-	x	-	-											
	CBS 850.71									-	-	-	-	-	-	x	-											
	CBS 316.93									-	-	-	-	-	-	-	x											
<i>B. recurva</i>	CBS 317.52																	x	-	-	-	-						
	CBS 318.52																	-	x	-	-	-						
	CBS 992.70																	-	-	x	-	-						
	CBS 196.71																	-	-	-	x	-						
	CBS 673.75																	-	-	-	-	x						
<i>Backusella</i> sp. 2 nov.	URM7646																						x	-	-	+		
	URM7647																						-	x	-	+		
	URM7648																						-	-	x	+		
	URM7649																						+	+	+	x		
<i>B. tuberculispora</i>	CBS 562.66																										x	-
	CBS 570.70																									-	x	

Legenda: (+) Cruzamentos com formação de estruturas sexuadas; (-) Cruzamentos sem formação de estruturas sexuadas; (x) mesma amostra.

5 DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE FILOGÊNÉTICA E TAXONOMIA

As reconstruções filogenéticas obtidas por análises independentes das sequências ITS LSU e RPB1 (Figuras 1, 2 e 3) mostraram clados bem suportados para o gênero *Backusella*, confirmando a monofilia do gênero. Apenas *B. oblongielliptica* e *B. oblongispora* não apresentaram proximidade genética com as outras espécies do gênero, tendo ambas sido colocadas em clados separados das outras espécies. Nas árvores de ITS e RPB1, *B. oblongispora* foi agrupada proximamente à *Rhizopus microsporus* Tiegh. e *Mucor mucedo* Fresen, respectivamente. Fica claro que essas espécies não pertencem à *Backusella*. No entanto, as mesmas apresentam esporangióforos curvados, quando jovens, e eretos na maturidade, surgindo diretamente do substrato, com parede levemente incrustada, como também, esporângios globosos com parede deliquescente e equinulada, características morfológicas inerentes à *Backusella*. Portanto, novos estudos envolvendo outros marcadores genéticos serão realizados para definir a real posição filogenética dessas espécies.

Todas as árvores construídas mostraram que *B. grandis* e *B. variabilis* agruparam-se no mesmo clado com alto valor de suporte. Análises morfológicas revelaram similaridade morfológica entre essas espécies. Provavelmente, variações na morfologia podem ter ocorrido em ambos os espécimes para que fossem considerados distintos em suas descrições originais. Variações morfológicas intraespecíficas são comuns em Mucorales, e podem ser decorrentes pela mudança de temperatura ou até mesmo pelo meio de cultura utilizado para a descrição dos táxons, como citado por Dolatabadi et al. (2014) para espécies do gênero *Rhizopus* e por Schipper (1975) para *B. tuberculispora*. Diante disso, *B. grandis* (CBS 186.87) está sendo aqui tratada como sinônimo de *B. variabilis* (A.K. Sarbhoy) Walther & de Hoog, obedecendo a ordem cronológica das descrições de *Mucor variabilis* e *M. grandis*.

Backusella sp. 1 nov. e *Backusella* sp. 2 nov. foram agrupadas separadamente das outras espécies de *Backusella* (LSU rDNA) e estão sendo propostas como novas. A segunda foi isolada de um brejo de altitude brasileiro, sendo caracterizada pela formação de rizóides bem desenvolvidos e ramificados, tipicamente enovelados, bem como células gigantes. *Backusella* sp. 1 nov., isolada de alfafa (*Medicago sativa*) no Egito, caracteriza-se pela produção de esporangiosporos globosos e subglobosos até 30 µm em diâm. e por formar um inchaço bem destacado no esporangióforo, abaixo das columelas. Filogeneticamente, *Backusella* sp. 1 nov. e *Backusella* sp. 2 nov., foram agrupadas em clados separados das

outras espécies do gênero, com características morfológicas que as diferem de outras espécies de *Backusella* descritas.

Morfologicamente, espécies de *Backusella* e *Mucor* são similares, já que ambas produzem esporangióforos simples ou ramificados e esporângios não apofisados. Segundo Walther et al. (2013), as únicas diferenças entre esses gêneros são: 1- a maioria das espécies de *Backusella* produzem esporangióolos uni ou multiesporados, além dos esporangiosporos em esporângios, enquanto táxons de *Mucor* apenas produzem esporangiosporos em esporângios; 2 - apenas em *Backusella* os esporangióforos são recurvados, quando jovens, tornando-se eretos ou não na maturidade, enquanto nas espécies de *Mucor* esses podem ser eretos quando jovens, mantendo-se eretos na maturidade ou podem ser recurvados e se mantendo recurvados na maturidade (VOIGT, 2012; WALTHER et al., 2013; DE SOUZA et al., 2014).

A produção simultânea de esporângios e esporangióolos é também observada em gêneros como *Blakeslea* Thaxter, *Choanephora* Currey, *Dicranophora* Schröter, *Isomucor* J.I. De Souza, Pires-Zottarelli & Harakava, *Radiomyces* Embree, *Thamnidium* e *Thamnostylum* Arx & Upadhyay (BENNY, 2005). No entanto, todos estes gêneros citados só apresentam esporangióolos multiesporados, diferindo de *Backusella* que abrange algumas espécies que podem também produzir esporangióolos uniesporados (BENNY & BENJAMIN, 1975).

Destaca-se que a capacidade de produção de esporangióolos multiesporados deve ser levada em consideração apenas para fins de identificação preliminar de gêneros de fungos zigospóricos (de Souza et al., 2014), tendo em vista que a produção de esporangióolos é uma característica pleisiomórfica de Mucoraceae Dumort. (WALTHER et al., 2013). No entanto, a produção dessa estrutura pode ajudar na separação de espécies de *Backusella*, já que esporangióolos não são produzidos por *B. recurva* e *B. variabilis* (SCHIPPER, 1990; BENNY, 2012, 2013).

As análises morfológicas realizados no presente estudo mostraram que as espécies de *Backusella* podem ser divididas em três categorias, de acordo com formato dos esporangiosporos produzidos: I - esporangiosporos globosos, subglobosos e poucos irregulares (*B. circina*, *B. lamprospora*, *B. constricta*, *Backusella* sp. 1 nov. e *Backusella* sp. 2 nov.); II - esporangiosporos em maioria elipsóides: *B. gigacellularis*, *B. variabilis*, *B. indica*, *B. oblongielliptica*, *B. oblongispora* e *B. recurva*; III - esporangiosporos irregulares poliédricos (*B. tuberculispora*).

5.1.1 *Backusella circina*

Backusella circina apresenta produção abundante de esporângios uniesporados, o que diferencia essa espécie das demais do gênero, já que em todas as outras que produzem essas estruturas observam-se esporângios multiesporados com maior frequência (BENNY & BENJAMIN, 1975). Além disso, *B. circina* produz rizóides que formam emaranhados, como um novelo, podendo envolver os esporângios, esporangióforos e esporângios. Apenas *Backusella* sp. 2 nov. também produz rizóides enovelados. Salienta-se que essa última estrutura não foi citada por Ellis & Hesseltine (1969) na descrição de *B. circina*. No entanto, rizóides foram visualizados em todos os espécimes analisados (CBS. 323.69, CBS. 382.95, CBS 907.73, CBS 322.69, CBS 128.70, CBS 129.70) nesse trabalho. Espécimes de *B. circina* produzem esporangiosporos globosos e subglobosos, semelhantes em forma aos produzidos por *B. lamprospora* e *B. constricta* (BENNY & BENJAMIN, 1975). No entanto, a primeira espécie pode ser facilmente diferenciada das últimas pelos abundantes esporângios uniesporados produzidos. Além disso, *B. lamprospora* comumente produz esporângios sustentados em pedicelos que surgem em esporangióforos curtos, que podem (maioria) ou não se prolongarem e originarem um esporângio terminal, enquanto *B. circina* forma os pedicelos no decorrer de esporangióforos longos que sempre formam um esporângio terminal (BENNY & BENJAMIN, 1975). Os zigospórangios de *B. circina* apresentam projeções cônicas, bem semelhantes a verrugas, o que também foi observado em cruzamentos realizados por Stalpers & Schipper (1980). As células suspensoras que servem de apoio para esses zigospórangios permanecem, na maioria das vezes, fixas à parede dos mesmos, até mesmo em colônias mais velhas, como também foi relatado pelos últimos autores supracitados.

Filogeneticamente, considerando sequências das regiões LSU e ITS rDNA e do gene RPB1, todos os espécimes de *B. circina* agruparam-se em um clado bem suportado, sendo os clados mais próximos filogeneticamente os que abrangem *Backusella* sp. 1 nov. e *B. lamprospora*. Morfologicamente, todas essas espécies são caracterizadas pela presença de esporangios uniesporados e multiesporados, e pela produção de esporangiosporos globosos e subglobosos (BENNY & BENJAMIN, 1975). Contudo, esporângios uniesporados abundantes só estão frequentes em espécies de *B. circina*. Adicionalmente, nenhuma das demais espécies citadas formam rizóides enovelados.

5.1.2 *Backusella constricta*

Backusella constricta caracteriza-se pela produção de esporangióforos simpodialmente ramificados com columelas cilíndricas, algumas podendo apresentar uma constrição central

bem destacada, diferenciando-se das demais espécies do gênero que jamais apresentam uma forte constrição central (LIMA et al., 2016). Além disso, *B. constricta* é uma entre as espécies que produzem rizóides, sendo esses bem ramificados, característica não relatada na descrição morfológica de Lima et al. (2016). Columelas cilíndricas também podem ser visualizadas em espécimes de *B. indica*, *B. oblongielliptica*, *B. recurva*, *B. tuberculispora* e *B. variabilis*, mas nunca com uma constrição central (SCHIPPER, 1978). Como observado para *B. constricta*, espécimes de *B. lamprospora* e *B. circina* também produzem esporangiosporos globosos e subglobosos (BENNY & BENJAMIN, 1975).

Nas árvores filogenéticas de LSU e RPB1 do presente estudo, *B. constricta* encontra-se mais próxima do clado de *B. indica*, corroborando os resultados de Lima et al. (2016). No entanto, *B. constricta* e *B. indica* diferem totalmente na morfologia dos esporangiosporos, já que *B. constricta* produz esporangiosporos globosos e subglobosos, enquanto *B. indica* produz esporangiosporos elipsóides. Adicionalmente, as columelas de *B. indica* não exibem uma constrição central (SCHIPPER, 1978; LIMA et al., 2016).

5.1.3 *Backusella gigacellaris*

Backusella gigacellaris caracteriza-se, principalmente, pela produção de células gigantes e de esporangiosporos elipsóides. Culturas de *B. gigacellaris* também formam estruturas globulares que podem ser visualizadas a olho nu. Tais estruturas podem alcançar 420 µm em diâmetro e foram tratadas por de Souza et al. (2014) como células gigantes. Entretanto, no presente trabalho, as mesmas estão sendo reportadas apenas como estruturas globosas até então desconhecidas, já que não se parecem morfológicamente com as células gigantes típicas dos Mucoromycota. Novos estudos deverão ser realizados para o conhecimento dessas formações celulares. Espécimes de *B. indica*, *B. oblongispora*, *B. recurva* e *B. variabilis* também produzem esporangiosporos elipsoides, mas não células gigantes. Nesse gênero, apenas *B. oblongielliptica* e *Backusella* sp. 2 nov. produzem células gigantes (SCHIPPER, 1978), mas essas espécies se diferenciam de *B. gigacellaris* principalmente por produzir columelas cônicas ou subglobosas, enquanto as columelas da última espécie são em maioria elipsóides e cilíndricas. Quando relacionada à *B. oblongielliptica*, e quando comparada à *Backusella* sp. 2 nov., a produção de esporangiosporos é totalmente diferente, já que *Backusella* sp. 2 nov. produz esporangiosporos subglobosos e globosos, enquanto *B. gigacellaris* produz esporangiosporos elipsóides, como dito anteriormente (DE SOUZA et al., 2014).

Adicionalmente, os esporângios de *B. oblongielliptica* podem alcançar 300 µm em diâm., maiores do que os 131 µm em diâm. reportados em *B. gigacellularis*.

Análises filogenéticas da região ITS mostram que *B. gigacellularis* forma um clado próximo de *B. tuberculispora*. Morfologicamente, ambas as espécies se distanciam principalmente pela forma dos esporangiosporos, elipsóides em *B. gigacellularis* e irregulares poliédricos com protusões em *B. tuberculispora*, além da ausência de células gigantes em *B. tuberculispora*. Os dados aqui obtidos não corroboram os apresentados por de Souza et al. (2014) que mostraram afinidade filogenética entre *B. gigacellularis* e *B. variabilis*.

5.1.4 *Backusella indica*

Backusella indica, inicialmente descrita como *Mucor recurvus* var. *indicus* Baijal & B.S. Mehrotra (BAIJAL & MEHROTRA, 1966), caracteriza-se pela produção de esporangióforos com ramificações simples, raramente simpodiais, esporangiosporos elipsóides e pela presença de esporângios multiesporados (SCHIPPER, 1978). *Mucor recurvus* var. *indicus* foi transferida para *Backusella* por Walther et al. (2013) pela proximidade genética com as demais espécies desse último gênero e, por apresentar esporangióforos recurvados quando jovens, eretos na maturidade. Morfologicamente semelhantes, *B. recurva* e *B. indica* foram consideradas por Schipper (1978) como uma mesma espécie de *Mucor recurvus*, mas como variedades diferentes (*M. recurvus* var. *recurvus* e *M. recurvus* var. *indicus*, respectivamente), ambas produzindo esporangiosporos elipsóides e columelas cilíndricas em grande quantidade, diferenciando-se principalmente pela presença de esporângios multiesporados em *B. indica*, estruturas ausentes em *B. recurva*.

Nas árvores do gene RPB1 e LSU rDNA, *B. indica* ficou próxima de *B. constricta*, tendo essa proximidade também sido relatada por Lima et al. (2016). Morfologicamente, ambas as espécies são diferentes, já que *B. constricta* produz esporangiosporos subglobosos e columelas cilíndricas com contração central, diferentes dos esporangiosporos que são elipsóides e das columelas cônicas, cilíndricas achatadas e subglobosas características de *B. indica* (SCHIPPER, 1978; LIMA et al., 2016).

5.1.5 *Backusella lamprospora*

Backusella lamprospora, inicialmente descrita como *Mucor lamprosporus* (Lendn.), caracteriza-se por apresentar esporangiosporos globosos e subglobosos, além de esporângios uniesporados e multiesporados, sendo os últimos encontrados em abundância,

enquanto os primeiros são raros (BENNY & BENJAMIN, 1975). *Backusella lamprospora* pode ser confundida com *Backusella* sp. 2 nov., pois ambas apresentam esporangiosporos globosos e subglobosos, colônias cotonosas inicialmente brancas e columelas subglobosas que podem apresentar achatamento dorsoventral. No entanto, a principal diferença morfológica entre essas espécies reside na formação de células gigantes por *Backusella* sp. 2 nov., estruturas não visualizadas em nenhum dos espécimes de *B. lamprospora* estudados neste trabalho. Além disso, *Backusella* sp. 2 nov. pode apresentar rizóides de forma enovelada, enquanto os rizóides de *B. lamprospora*, mesmo sendo bem ramificados, não se entrelaçam e, portanto, nunca formam novelos. Cabe salientar que rizóides não estão presentes na descrição de *B. lamprospora* fornecida por Benny & Benjamin (1975), mas essa estrutura foi observada em todos os espécimes examinados nesse estudo [CBS 118.08 (isótipo), CBS 107.09, CBS 195.28, CBS 196.28, CBS 244.67, CBS 316.93, CBS 411.67 e CBS 850.71)].

As análises filogenéticas (LSU rDNA e RPB1) exibiram proximidade entre os clados de *B. lamprospora* e *Backusella* sp. 2 nov. As diferenças morfológicas entre essas duas espécies foram destacadas no parágrafo anterior.

5.1.6 *Backusella oblongielliptica*

Backusella oblongielliptica, inicialmente descrita como *Mucor oblongiellipticus* (H. Nagan., Hirahara & Seshita ex Pidopl. & Milko), caracteriza-se por produzir esporângios iguais ou superiores a 300 µm, além de produzir células gigantes (SCHIPPER, 1978). Walther et al. (2013), com base em estudos genéticos (LSU do rDNA), transferiu *M. oblongiellipticus* para *Backusella*, mesmo não produzindo esporângios uniesporados ou multiesporados. Dessa forma, essas espécies, junto com *B. oblongispora*, *B. recurva* e *B. variabilis* são as únicas do gênero que não produzem esporângios. *Backusella oblongielliptica* assemelha-se à *B. oblongispora* e *B. variabilis*, já que suas colônias apresentam um aspecto “frouxo”, sendo possível visualizar a olho nu esporangióforos que saem diretamente do substrato (SCHIPPER, 1978). Entretanto, as principais características que diferenciam as três espécies são: 1 – Os esporângios de *B. oblongielliptica* podem alcançar 300 µm em diâm., superiores aos das demais espécies, que possuem esporângios até 250 µm em diâm. 2 - A presença de columelas subglobosas em *B. oblongielliptica*, ausentes em *B. oblongispora* e *B. grandis*. 3 – Produção de células gigantes por *B. oblongielliptica*, característica ausente nas outras duas espécies.

Espécimes de *B. gigacellularis* e *Backusella* sp. 2 nov. são os únicos em *Backusella* capazes de formar células gigantes, porém diferem de *B. oblongielliptica*, principalmente em

relação ao tamanho dos esporângios, que não são superiores à 150 µm em diâm. Além disso, *Backusella* sp. 2 nov. difere em relação à forma dos esporangiosporos, globosos e subglobosos, em relação à *B. oblongielliptica*, que produz esporangiosporos elipsóides (SCHIPPER, 1978; DE SOUZA et al., 2014).

Backusella oblongielliptica filogeneticamente se distancia das demais espécies de *Backusella* e, juntamente com *B. oblongispora*, está agrupada fora do clado de *Backusella* na árvore LSU exibida nesse trabalho (Figura 1). O mesmo foi verificado para as árvores obtidas da região ITS rDNA e para o gene RPB1. Os dados obtidos pela região ITS rDNA mostraram que *B. oblongielliptica* formou um clado mais próximo do clado formado por um espécime de *Rhizopus microsporus*. Walther et al. (2013) e Lima et al. (2016), relataram que as sequências dessas duas espécies são tão diferentes das outras de *Backusella* que não foi possível as inserir na árvore com sequências de ITS do rDNA nos trabalhos citados, já que as mesmas não puderam ser alinhadas com as outras sequências desse gênero. Em todas as árvores construídas nesse trabalho, fica claro que *B. oblongielliptica* não pertence à *Backusella*. Contudo, outros marcadores genéticos serão utilizados para avaliar a real posição dessa espécie. Por enquanto, nós preferimos não transferir essa espécie para outro gênero, até que os novos estudos sejam realizados. Morfologicamente, *B. oblongielliptica* também se diferencia das outras espécies de *Backusella*, já que faz parte das poucas espécies do gênero que não produzem esporângios uniesporados e/ou multiesporados. Além disso, *B. oblongielliptica* produz esporângios e columelas de tamanho superior ao das mesmas estruturas observadas nas demais espécies de *Backusella*. Aparentemente, a única característica morfológica que parece ligar *B. oblongielliptica* às demais espécies desse grupo é a formação de esporangióforos recurvados quando jovens, se tornando eretos na maturidade e esporângios com parede deliquescente.

5.1.7 *Backusella oblongispora*

Backusella oblongispora, descrita inicialmente como *Mucor oblongisporus* (Naumov), assemelha-se à *B. oblongielliptica* e *B. variabilis*, tanto pela presença de esporangiosporos elipsóides e colônias com micélio espaçado, como também por serem as espécies, dentre as demais do gênero, que produzem os maiores esporângios, até 250 µm em diâmetro. *Backusella oblongispora* produz rizóides longos e ramificados, diferente de *B. oblongielliptica* e *B. variabilis* que não produzem rizóides (SCHIPPER, 1978). Salienta-se que essa estrutura não foi citada na descrição original de *B. oblongispora*. Essa última espécie,

assim como *B. variabilis*, não formam células gigantes, estruturas comuns em *B. oblongielliptica*.

As árvores das regiões ITS, LSU rDNA e do gene RPB1 mostram que *B. oblongispora* também não pertence à *Backusella*, estando filogeneticamente mais perto das espécies de *Mucor*, com base na árvore obtida com sequências do gene RPB1 e, assim como comentado para *B. oblongielliptica*, deverão ser realizados estudos genéticos com base em outros marcadores moleculares para elucidar a real posição filogenéticas de *B. oblongispora*.

5.1.8 *Backusella recurva*

Backusella recurva foi descrita inicialmente como *M. recurvus* var. *recurvus* (E.E. Butler). Como a maioria das espécies de *Mucor* que foram transferidas para *Backusella*, *B. recurva* caracteriza-se por não produzir esporângios uniesporados ou multiesporados, pelo padrão de ramificação raramente simpodialmente ramificado dos esporângióforos e pelos esporangiosporos elipsóides (SCHIPPER, 1978). Espécimes de *B. oblongielliptica*, *B. oblongispora* também não produzem esporângios, mas diferem de *B. recurva* por produzirem micélio espaçado, enquanto *B. recurva* forma colônias mais densas e cotonosas (BENNY & BENJAMIN, 1975), além da produção de conteúdo amarelado em seus esporangiosporos e esporângióforos, ausentes nas espécies *B. oblongielliptica* e *B. oblongispora*. *Backusella oblongielliptica* produz células gigantes que nunca são formadas em colônias de *B. recurva*.

As árvores de ITS e LSU do rDNA do presente trabalho mostram que *B. recurva* forma um clado bem suportado em *Backusella*, sendo *B. tuberculispora* a espécie filogeneticamente mais próxima. Esse resultado é corroborado pelo reportado por Walther et al. (2013), de Souza et al. (2014) e Lima et al. (2016). Morfologicamente, essas espécies são diferentes, principalmente em relação ao formato dos esporangiosporos, que são poliédricos irregulares em *B. tuberculispora*. Além disso, esporângios multiesporados, presentes nos espécimes de *B. tuberculispora* não são observados em *B. recurva*.

5.1.9 *Backusella tuberculispora*

Espécies de *Backusella* geralmente possuem esporangiosporos globosos e subglobosos ou elipsóides (BENNY & BENJAMIN 1975, Schipper, 1978). Inicialmente descrita como *Mucor tuberculisporus* (SCHIPPER, 1978), *B. tuberculispora* é a única espécie desse gênero que produz esporangiosporos irregulares poliédricos com protusões. Schipper (1978) relatou que os esporangiosporos dessa espécie tornaram-se mais subglobosos em meio de cultura à

base de cerveja e sacarose. No entanto, esporangiosporos subglobosos não foram visualizados no presente estudo, em nenhum dos meios de cultura testados (AEM e BDA), nas diferentes temperaturas de incubação. As colônias cotonosas, como o descrito pela autora supracitada, apresentam coloração cinza esverdeada e geralmente observam-se rizóides pouco ramificados, estrutura não descrita por Schipper (1978) para essa espécie.

As árvores construídas com sequências das regiões ITS e LSU do rDNA nesse trabalho mostram que a espécie filogeneticamente mais próxima à *B. tuberculispora* é *B. recurva*, como também observado por Walther et al. (2013), de Souza et al. (2014) e Lima et al. (2016). Ambas as espécies foram inicialmente descritas como *Mucor* por Schipper (1978) e posteriormente transferidas para *Backusella* por Walther et al. (2013). Diferenciam-se principalmente pela forma de produção de esporangiosporos, poliédricos irregulares em *B. tuberculispora* e elipsóides em *B. recurva*.

5.1.10 *Backusella variabilis*

Backusella variabilis produz esporangióforos com ramificações simples ou raramente simpodialmente ramificadas, esporangiosporos elipsóides e columelas geralmente cilíndricas e piriformes, raramente elipsóides. Essas características também podem ser encontradas em espécimes de *B. oblongielliptica* e *B. oblongispora*. No entanto, *B. variabilis* não produz células gigantes, estruturas comuns em *B. oblongielliptica*, nem rizóides, como observado em *B. oblongispora*. Schipper (1978), ao descrever *B. variabilis*, não mencionou a presença de columelas piriformes, que foram visualizadas no isótipo (CBS 564.66) estudado.

Inicialmente, *Backusella variabilis* foi descrita como *M. variabilis* A.K. Sarbhoy, sendo posteriormente transferida para *Backusella* por Walther et al. (2013). Morfologicamente, *B. variabilis* é semelhante a *B. grandis* (CBS 186.87) e as árvores filogenéticas construídas nesse trabalho (gene RPB1 e LSU do rDNA) agruparam as culturas das duas espécies no mesmo clado, com elevado valor de suporte. As árvores filogenéticas (ITS e LSU rDNA) fornecidas por Walther et al. (2013) e Lima et al. (2016) também apontaram a proximidade filogenética dessas espécies. Dessa forma, considerando-se as características morfológicas e inferências filogenéticas, *B. grandis* está sendo tratada como sinônimo de *B. variabilis* no presente estudo.

5.1.11 *Backusella* sp. 1 nov.

Backusella sp. 1 nov. estava estocada na coleção de culturas do CBS como *Mucor recurvus* var. *recurvus* (CBS 538.80), embora seja uma espécie nova. A mesma caracteriza-se

morfologicamente pela produção de esporangiosporos globosos e subglobosos maiores que os das outras espécies de *Backusella* que produzem esporangiosporos do mesmo formato, bem como a presença de um inchaço bem destacado no esporangióforo, abaixo das columelas, e por produzir esporangióolos uniesporados e multiesporados, sendo os últimos mais abundantes. No entanto, nenhuma dessas características pode ser observada nos espécimes de *B. recurva* (*Mucor recurvus* var. *recurvus*) descritos por Schipper (1978). Walther et al. (2013) apontaram que, filogeneticamente, esse espécime não correspondia a essa espécie. Esporangiosporos globosos e subglobosos, bem como esporangióolos uniesporados e multiesporados são também produzidos por *B. lamprospora* e *Backusella* sp. 2 nov. Contudo, os esporangiosporos de *Backusella* sp. 1 nov. são maiores do que os das duas últimas.

A formação de inchaços nos esporangióforos pode ser visualizada apenas em *Backusella* sp. 1 nov. e em espécimes de *B. indica*. Entretanto, essa protuberância não se apresenta tão destacada e nem com a mesma frequência observada nos espécimes de *Backusella* sp. 1 nov. Além disso, os esporangiosporos de *B. indica* são elipsóides (SCHIPPER, 1978), diferentes dos globosos e subglobosos produzidos por *Backusella* sp. 1 nov.

Geneticamente, a espécie que mais se aproxima de *Backusella* sp. 1 nov. é *B. lamprospora* (ITS e LSU rDNA), corroborando o trabalho de Walther et al. (2013). As características morfológicas semelhantes às duas espécies são a produção de esporangiosporos e formação de esporangióolos uniesporados e multiesporados. No entanto, os esporangiosporos de *B. lamprospora* são de tamanho inferior, e inchaços nos esporangioforos só são observados em *Backusella* sp. 1 nov.

5.1.12 *Backusella* sp. 2 nov.

Backusella sp. 2 nov. é caracterizada pela concomitante produção de rizóides bem ramificados que podem se entrelaçar e formar enovelados, células gigantes e esporangióolos uniesporados ou multiesporados, sendo os últimos abundantes. As columelas dessa espécie são geralmente subglobosas, algumas dorsoventralmente achatadas. *Backusella* sp. 2 nov., assim como *B. lamprospora*, produz esporangiosporos globosos e subglobosos, além de esporangióolos multiesporados abundantes (BENNY & BENJAMIN, 1975). *Backusella* sp. 2 nov. é uma das três espécies capazes de produzir células gigantes, estruturas também visualizadas em *B. gigacellularis* e *B. oblongielliptica* (SCHIPPER, 1978; DE SOUZA et al., 2014). No entanto, *B. gigacellularis* e *B. oblongielliptica* diferenciam-se de *Backusella* sp. 2 nov. pela produção de esporangiosporos elipsóides, estruturas ausentes na espécie aqui

destacada. Espécimes de *Backusella* sp. 2 nov. foram isolados do solo do brejo de altitude de Taquaritinga do Norte, localizado em Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Filogeneticamente, *Backusella* sp. 2 nov. é mais próxima de *B. lamprospora*, com base nas árvores obtidas por sequências das regiões LSU do rDNA e do gene RPB1. Morfologicamente, ambas as espécies são caracterizadas pela presença de esporangíolos uniesporados e multiesporados, sendo este último mais frequente e pela produção de esporangiosporos globosos e subglobosos. No entanto, diferenciam-se os rizóides enovelados e células gigantes, ausentes em *B. lamprospora* (BENNY & BENJAMIN, 1975).

5.2 CRUZAMENTO PARA PRODUÇÃO DE ZIGOSPOROS

Nesse trabalho, a produção de estruturas sexuadas foi induzida em *B. circina* e *Backusella* sp. 2 nov., e a não formação do zigósporo nas demais espécies pode ter relação com os “*matting types*” disponíveis, que podem ser todos (+) ou (-). Como essas espécies não são homotáticas, a relação sexuada não ocorreu. Além disso, algumas espécies estavam representadas nas coleções de cultura com apenas um espécime, o que impossibilitou a realização dos cruzamentos. Para Mucorales, em geral, o heterotalismo é mais comum do que o homotalismo e a formação de esporos sexuais depende da presença de dois espécimes geneticamente compatíveis (O'DONNELL et al., 2001).

Em geral, a reprodução sexuada em Mucorales, ordem que abriga *Backusella* ocorre através da fusão de talos heterotáticos (+) e (-) resultando na produção de zigosporângios que comportam zigósporos. Essa formação, segundo Stalpers & Schipper (1980), ocorre pela produção de feromônios, hormônios sexuais que são convertidos em ácido trispórico, iniciando a formação dos progametângios (BENJAMIN, 1959; ALEXOPOULOS et al., 1996; BENNY et al., 2001). A obtenção de esporos de origem sexuada nem sempre pode ser visualizada individualmente nas espécies e, até mesmo o cruzamento entre espécimes da mesma espécie, não assegura que haverá a fusão de hifas para que progametângios sejam originados.

Para *Backusella*, a produção de estruturas sexuadas foi apenas reportada em *B. circina*, *B. lamprospora* (BENNY & BENJAMIN, 1975) e *B. recurva* (SCHIPPER, 1978).

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, dentro das condições experimentais estabelecidas, conclui-se que, com a inclusão das novas espécies:

- *Backusella* é composto por 10 espécies (*B. circina*, *B. constricta*, *B. gigacellularis*, *B. indica*, *B. lamprospora*, *B. recurva*, *B. tuberculispora*, *B. variabilis*, *Backusella* sp. 1 nov. e *Backusella* sp. 2 nov.).
- *Backusella oblongielliptica* e *B. oblongispora* não pertencem ao gênero *Backusella* e apresentam posicionamento filogenético *incerte sedis*, embora, nesse estudo, esses dois táxons tenham sido provisoriamente descritos dentro desse gênero;
- *Backusella grandis* e *B. variabilis* são sinônimos;
- Espécimes de *Backusella* podem apresentar rizóides, sendo esses enovelados em *B. circina* e *Backusella* sp. 2 nov.;
- As regiões ITS e LSU do rDNA, bem como o gene RPB1, são confiáveis para diferenciar espécies de *Backusella* e estabelecer as relações filogenéticas desse gênero.

REFERÊNCIAS

- AINSWORTH, G. C.; SPARROW, F. K.; SUSSMAN, A. **The Fungi**. An advanced treatise. New York: Academic Press, 1973.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4 ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 1996.
- ALMEIDA, M. E.; SERAFIM, R. C.; EÇA, L. P. M. Apresentação de algumas técnicas utilizadas na biologia molecular. In: Eça, L.P. (eds.). *Biologia Molecular: guia prático e didático*. Rio de Janeiro: **Revinter**, v. 11, p. 145-176, 2004.
- ALVAREZ, E. D. El Subphylum Mucoromycotina: generalidades y aspectos taxonómicos recientes (Mucoromycotina Subphylum: overview and recent taxonomic aspects). **Boletín micológico**, v. 28, n. 1, p. 16–25, 2013.
- BARTNICKI-GARCIA, S. Symposium on biochemical bases of morphogenesis in fungi. mold-yeast dimorphism of *Mucor*. **Bacteriological Review**, v. 27, p. 293–304, 1963.
- BENJAMIN, R. K. The merosporangiferous Mucorales. **Aliso**, v. 4, n. 2, p. 321–433, 1959.
- BENNY, G.L., BENJAMIN, R.K. Observations on Thamnidaceae (Mucorales). New taxa, new combinations, and notes on selected species. **Aliso**, v. 8, n. 3, p. 301–351, 1975.
- BENNY, G. L.; HUMBER, R. A.; MORTON, J. B. Zygomycota: Trichomycetes. In: McLaughlin, D.J., McLaughlin, E.G., Lemke, P.A. (eds.). **The Mycota. Systematics and Evolution**. Berlin: Springer-Verlag, p. 184–195, 2001.
- BENNY, G. L. The methods used by Dr. R.K. Benjamin, and other Mycologists to isolate Zygomycetes. **Aliso**, v. 26, p. 37–61, 2008.
- BENNY, G. L. et al. Challenges and Future Perspectives in the Systematics of Kickxellomycotina, Mortierellomycotina, Mucoromycotina, and Zoopagomycotina. In: Li, D.W. (ed.) **Biology of Microfungi, Fungal Biology**. Switzerland: Springer International Publishing, p. 65–126, 2016.
- BIDARTONDO, M.I. et al. The dawn of symbiosis between plants and fungi. **Biology Letters**, v. 7, p. 574–577, 2011.
- CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.
- CHRISTENBERRY, G. A. A study of the Mucorales in the Southeastern United States. **Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society**, v. 56, p. 333–336, 1938.
- CORDEIRO-NETO, F. et al. Fungos produtores de inulinases isolados da rizosfera de Asteraceae herbácea do cerrado (Moji-Guaçu, SP, Brasil). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, p. 1491–53, 1997.

DE HOOG, G. S. et al. **Atlas of clinical fungi**. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures. Espanha: Universitat Rovira Virgili, Reus, 2000.

DE SOUZA, J. I. et al. A new species of *Backusella* (Mucorales) from a Cerrado reserve in Southeast Brazil. **Mycological Progress**, v. 13, n. 4, p. 975–980, 2014.

DICKIE, I. A. et al. Evolving insights to understanding mycorrhizas. **New Phytologist**, v. 205, p. 1369–1374, 2015.

DOLATABADI, S. et al. Diversity and delimitation of *Rhizopus microsporus*. **Fungal Diversity**, v. 64, p. 145–163, 2014.

ELLIS, J. J.; HESSELTINE, L. W. A new member of the Mucorales. **Mycologia**, v. 61, p. 863–872, 1969.

GRIFFITHS, R. I. et al. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA and RNA-based microbial community composition. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, p. 5488–5491, 2000.

GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology**, v. 52, p. 696–704, 2003.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium**, v. 41, p. 95–98, 1999.

HESSELTINE, C. W.; ELLIS, J. J. The genus *Absidia*: *Gongronella* and cylindrical-spored species of *Absidia*. **Mycologia**, v. 6, p. 568–601, 1964.

HIBBETT, D. S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, p. 509–547, 2007.

HOFF, J. A. et al. Fungal endophytes in woody roots of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and ponderosa pine (*Pinus ponderosa*). **For Pathology**, v. 34, p. 255–271, 2004.

HOFFMANN, K.; VOIGT, K.; KIRK, P. M. Mortierellomycotina subphyl. nov., based on multigene genealogies. **Mycotaxon**, v. 115, p. 353–363, 2011.

HOFFMANN, K. et al. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. **Persoonia**, v. 30, p. 57–76, 2013.

HUMBER, R. A. Entomophthoromycota: a new phylum and reclassification for entomophthoroid fungi. **Mycotaxon**, v. 120, p. 477–492, 2012.

JAMES, T. Y. et al. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. **Nature**, v. 443, p. 818–822, 2006.

JEFRIES, P. Mycoparasitism within the Zygomycetes. Malden: **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 91, p. 135–150, 1985.

- KAMEI, K. Animal models of Zygomycosis – *Absidia*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, and *Cunninghamella*. **Mycopathologia**, v. 152, p. 5–13, 2000.
- KAVADIA, A. et al. Lipid and linolenic acid accumulation in strains of Zygomycetes growing on glucose. **Journal of American Oil Chemists Society**, v. 78, p. 341–346, 2001.
- KEARSEY, S. E.; LABIB, K. MCM proteins: evolution, properties, and role in DNA replication. **Biochimica. Biophysica. Acta**, v. 1398, n. 2, p. 113–136, 1998.
- KENDRICK, B. **The Fifth Kingdom**. Waterloo, Ontario, Canada, Mycologue Publications, 1992.
- KIRK, P. M. et al. **Dictionary of the Fungi**, 10^a ed. Wallingford, UK: CABI, 2008.
- LACAZ, C. S. et al. **Tratado Micologia Médica**. Lacaz. São Paulo, Sarvier, 2002.
- LARKIN, M. A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, p. 2947–2948, 2007.
- LIMA, D. X. et al. Description of *Backusella constricta* sp. nov. (Mucorales, ex Zygomycota) from the Brazilian Atlantic Rainforest, including a key to species of *Backusella*. **Phytotaxa**, v. 289, p. 59–68, 2016.
- MAGNUSON, J. K.; LASURE, L. L. Organic Acid Production by Filamentous Fungi. In: Tkacz, J.S., Lange, L. (eds.), **Advances in fungal biotechnology for industry, agriculture, and medicine**, p. 307–340, 2004.
- MICKLOS, D. A.; FREYER, G. A.; CROTTY, D. A. **A ciência do DNA**. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- MILNE, I. et al. TOPALi: Software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple alignments. **Bioinformatics**, v. 20, p. 1806–1807, 2004.
- MORAES, A. M. L.; PAES, R. A.; HOLANDA, V. L. Micologia. 2009. In: Molinaro, E.M., Caputo, L.F.G., Amendoeira, M.R.R. (eds.). Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde. Rio de Janeiro: **EPSJV, IOC**, 4: 399–496. Disponível em: <www.fiocruz.br/ioc/media/ConceitosMetodos_volume4.pdf>. Acesso em: 8 fev. 2018.
- NOUT, M. J. R.; KIERS, J. L. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 789–805, 2005.
- O'DONNELL, K. L. et al. Evolutionary relationships among mucoralean fungi (Zygomycota): Evidence for family polyphyly on a large scale. **Mycologia**, v. 93, p. 286–296, 2001.
- PARTIDA-MARTINEZ, L. P.; HERTWECK, C. Pathogenic fungus harbors endosymbiotic bacteria for toxin production. **Nature**, v. 437, p. 884–888, 2005.
- PIDOPLICHKO, R. M.; MILKO, A. A. **Atlas of the Mucorales Fungi**. Kiev: Naukova Dumka, 1971.

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

RICHARDSON, M. J. Records of Coprophilous Fungi from the Lesser Antilles and Puerto Rico. **Caribbean Journal of Science**, v. 44, n. 2, p. 206–214, 2008.

RICHARDSON, M. J. The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, p. 2–9, 2009.

RINALDI, M.G. Zygomycosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 3, n. 1, p. 19–41, 1989.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, p. 1572–1574, 2003.

SANTIAGO, A. L. C. M. A.; SOUZA-MOTTA, C. M. Mucorales isolados do solo de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 641–647, 2006.

SANTIAGO, A. L. C. M. A.; SANTOS, P. J. P.; MAIA, L. C. Mucorales from the semiarid of Pernambuco. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 299–305, 2013.

SANTIAGO, A. L. C. M. A. Mucorales. **Flora do Brasil**. 2017. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB120363>>. Acesso em: 13 Nov. 2017.

SCHMITT, I. et al. New primers for promising single-copy genes in fungal phylogenetics and systematics. **Persoonia**, v. 23, p. 35–40, 2009.

SCHIPPER, M. A. A. On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. **Studies in Mycology**, v. 17, p. 1–69, 1978.

SCHIPPER, M. A. A. A revision of the genus *Rhizopus* I. The *Rhizopus stolonifer* group and *Rhizopus oryzae*. **Studies in Mycology**, v. 25, p. 1–34, 1984.

SCHIPPER, M. A. A. On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. **Studies in Mycology**, v. 25, p. 1–53, 1990.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. et al. Microscopic fungi in the atlantic rainforest in cubatão, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 267–275, 2006.

SCHOR, N.; BOIM, M. A.; SANTOS, O. F. P. **Medicina celular e molecular: bases moleculares da biologia, da genética e da farmacologia**. 1ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, v. 105, p. 1413–1421, 2001.

SMITH, M.E. et al. Phylogenetic analysis of the genus *Modicella* reveals an independent evolutionary origin of sporocarp-forming fungi in the Mortierellales. **Fungal Genetics and Biology**, v. 61, p. 61–68, 2013.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de Genética**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SPATAFORA, J. W. et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. **Mycologia**, v. 108, n. 5, p. 1028–1046, 2016.

STALPERS, J. A.; SCHIPPER, M. A. A. Comparison of zygosporangium ornamentation in intra- and interspecific matings in some related species of *Mucor* and *Backusella*. **Persoonia**, v. 11, p. 39–53, 1980.

TEDERSOO, L.; SMITH, M. E. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. **Fungal Biology Reviews**, v. 27, p. 83–99, 2013.

TERHONEN, E. et al. Endophytic fungi of Norway spruce roots in boreal pristine mire, drained peatland and mineral soil and their inhibitory effect on *Heterobasidion parviporum* in vitro. **Fungal Ecology**, v. 9, p. 17–26, 2014.

TRETTNER, E. D. et al. Examining new phylogenetic markers to uncover the evolutionary history of early-diverging fungi: comparing MCM7, TSR1 and rRNA genes for single- and multi-gene analyses of the Kickxellomycotina. **Persoonia**, v. 30, p. 106–125, 2013.

TRUFEM, S. F. B. Mucorales do Estado de São Paulo 1: gênero *Mucor* Micheli. **Rickia**, v. 9, p. 81–91, 1981a.

TRUFEM, S. F. B. Mucorales do Estado de São Paulo 3. Gêneros *Circinella* van Tieghem & Le Monnier e *Cunninghamella* Matruchot. **Rickia**, v. 9, p. 113–120, 1981b.

TRUFEM, S. F. B. et al. Filo Zygomycota. In: Giulietti, A.M. (ed.). **Diversidade e caracterização dos fungos do semiárido brasileiro**. Recife, Instituto do Milênio do Semiárido, p. 97–107, 2006.

VOIGT, K. Zygomycota Moreau. In: Frey, W. (ed.), **Syllabus of plant families. A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien, Blue-green algae, Myxomycetes and Myxomycete-like organisms, Phytoparasitic protists, heterotrophic Heterokontobionts and Fungi**. 13ª ed., Berlin: Borntraeger Science Publishers, p. 130–162, 2012.

WALTHER, G. et al. DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity. **Persoonia**, v. 30, p. 11–47, 2013.

WHITE, T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., et al. (eds.). **PCR protocols: A guide to methods and applications**. San Diego: Academic Press, p. 315–322, 1990.

WHITE, M. M. et al. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. **Mycologia**, v. 98, n. 6, p. 872–884, 2006.