

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

# ANA LÚCIA SABINO DE MELO ALVES

# DIVERSIDADE DE MUCORALES EM SOLOS DE BREJO DE ALTITUDE DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO

# ANA LÚCIA SABINO DE MELO ALVES

# DIVERSIDADE DE MUCORALES EM SOLOS DE BREJO DE ALTITUDE DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO

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

**Área de Concentração:** Taxonomia e Ecologia de Fungos

**Orientador:** Prof. Dr. André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Cristina Maria de Souza-Motta

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

Alves, Ana Lúcia Sabino de Melo

Diversidade de mucorales em solos de brejo de altitude do semiárido de Pernambuco / Ana Lúcia Sabino de Melo Alves. – Recife, 2016.

77 f.: il.

Orientadores: André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago, Cristina Maria de Souza-Mota

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, 2016.

Inclui referências e anexos

 Fungos 2. Biologia – Classificação 3. Ecologia I. Santiago, André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo (orient.) II. Souza-Mota, Cristina Maria de III. Título.

579.5 CDD (22.ed.) UFPE/CB-2017-499

### ANA LÚCIA SABINO DE MELO ALVES

# DIVERSIDADE DE MUCORALES EM SOLOS DE BREJO DE ALTITUDE DO SEMIÁRIDO DE PERNAMBUCO

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

Aprovada em: 29/02/2016

## **COMISSÃO EXAMINADORA**

Dr. André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago – (Orientador)/UFPE

Dr. Roger Fagner Ribeiro Melo – Examinador Interno - Titular/UFPE

Dra. Flavia Paiva Coutinho – Examinador Externo – Titular/CETENE

Dra. Luciana de Oliveira Franco – Examinador Externo – Suplente/UFRPE

Dra. Tatiana Baptista Gibertoni – Examinador Interno – Suplente/UFPE

# Dedicatória

À minha família, em especial ao meu esposo Joseilton Farias Alves.

### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco.

À Pós-graduação em Biologia de Fungos.

Ao Prof. Dr. André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago, pela dedicação, orientação e incentivo.

À Deus, por sempre estar ao meu lado me conduzindo em cada decisão da minha vida, por sempre revigorar minhas forças no decorrer de cada etapa deste processo.

À Virgem Maria, pela constante intercessão, pelo colo de mãe, lugar aonde posso descansar.

Aos meus pais, Antônio Pereira de Melo e Maria Lúcia Sabino da Silva Melo, por serem sempre uma rocha firme, e estarem sempre dispostos a me incentivar, sagrada família de Nazaré.

A minha irmãs, Maria Alexandra Sabino de Melo Gomes e Adriana Sabino da Silva Melo, pela amizade sincera e pelos constantes apoio e cumplicidade.

Ao meu esposo, Joseilton Farias Alves, meu amor, amigo, companheiro de estudos e decisões, o primeiro incentivador de tudo na minha vida.

A minha sogra Iolanda Maria Farias, por todo cuidado, incentivo e orações.

Ao meu cunhado, Diogo Nascimento Gomes, pela presença forte de irmão na minha vida, por todo carinho.

Ao meu amigo e irmão Carlos Alberto Fragoso de Souza, pela amizade, carinho, dedicação, e pelos conselhos nas decisões importantes desse processo.

A minha amiga e companheira Stela Caroline, pelo apoio, ajuda e carinho.

À amiga Rejane Maria Alves, por estar presente no dia a dia, tornando-os melhores, e pelos momentos de descontração e partilha de vida.

Ao doutorando Diogo Xavier Lima, pela ajuda e orientação.

Ao doutorando Rafael Vilela, pela amizade e ajuda com as análises genéticas.

Ao Prof. Dr. Gladstone Silva, pela amizade e alegria, pelos aconselhamentos e conversas.

Aos meus amigos, irmãos de fé, Denilson Meirelles, Flávio Ramalho, Hans Miller Vital, Indyanno Francis, Amanda Priscila, Ângelo Guttembreg, Gilvan Júnior, pela eterna amizade e orações.

Ao Prof. Dr. Paulo Santos, pela grande ajuda nas análises estatísticas.

Ao amigo Diogo Lopes Galiza, por toda ajuda e força as coletas.

Aos amigos João e Loro, por terem me conduzido e guiado nos locais de coleta, sendo anjos que Deus colocou para me guiar dentro de ambientes desconhecidos por mim.

"Lembre-se:

Você é mais forte tendo fé Felizes aqueles que acreditam de verdade, eles nunca estarão sozinhos".

Guilherme de Sá

### **RESUMO**

Mucorales, a maior ordem do subfilo Mucoromycotina, abrange mais de 200 espécies, em maioria sapróbias, frequentemente isoladas de solo, excrementos de herbívoros e de alimentos estocados. Trabalhos realizados na região semiárida do Brasil reportaram apenas 20 espécies de Mucorales para o semiárido, tendo apenas oito sido isoladas de brejos de altitude, o que não reflete a real riqueza desses fungos nesse ecossistema. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivos conhecer a diversidade, riqueza, frequência de ocorrência e abundância relativa de espécies de Mucorales em solos de brejos de altitude no semiárido de Pernambuco; verificar se ocorrem variações na composição dos Mucorales entre os meses de coleta; descrever e ilustrar novas espécies para a ciência e uma primeira ocorrência para o Brasil; elaborar uma chave de identificação para os Mucorales de solos de brejos de altitude do semiárido de Pernambuco. Foram realizadas seis coletas nos brejos de altitude das Serra dos Cavalos, Serra Negra e Serra do Jenipapo, localizados nas cidades de Caruaru, Bezerros e Sanharó, respectivamente. Duas miligramas de cada amostra foram inoculadas no meio de cultura ágar gérmen de trigo adicionado de cloranfenicol, previamente contido em placas de Petri, em triplicata. Quatro dos isolados que provavelmente correspondem a novas espécies e um táxon citado pela primeira vez para o ocidente tiveram a região LSU do rDNA sequenciada para confirmação genética. Das amostras de solo coletadas no Brejo da Serra dos Cavalos foram isolados 15 táxons de Absidia, Cunninghamella, Gongronella, Mucor e Rhizopus, enquanto do solo Brejo de Jenipapo foram identificados 21 táxons desses gêneros. Do solo do Brejo de Serra Negra, 16 táxons de Absidia, Cunninghamella, Gongronella, Lichthemia e Rhizopus foram obtidos. Considerando os três brejos de altitude, Absidia foi mais representativa em relação ao número de espécies, seguida por Cunninghamella e *Mucor*. Dentre os isolados, *Cunninghamella* sp.1 foi o táxon mais frequente, seguida por G. butleri e por C. elegans. Cunninghamella sp.1 também apresentou maior número de UFC/g de solo, seguida por *C. elegans* e *G. Butleri*, e essas três espécies foram as mais abundantes dentre as isoladas. O Brejo de Jenipapo apresentou maior diversidade de Mucorales, seguido pelos Brejos da Serra negra e dos Cavalos. Absidia fusca, A. pseudocylindrospora, A. repens, C. elegans, C. bertholletiae, C. blakesleeana, G. butleri, M. circinelloides, M. hiemalis, R. arrhizus var. arrhizus e R. stolonifer estão sendo citadas pela primeira vez em solos de brejos de altitude. Absidia sp.1, Absidia sp.2, Absidia sp.3, e Absidia sp.4, são espécies novas para a ciência, enquanto Cunninghamella sp.1, Cunninghamella sp. 2 e Mucor sp. são prováveis espécies novas. *Cunninghamella clavata* está sendo citada pela primeira vez para o ocidente.

Palavras-chave: Ecologia. Mucoromycota. Solo. Taxonomia. Fungos zigospóricos

### **ABSTRACT**

Mucorales, the largest order within Mucoromycotina, includes over 200 species, most saprobes, often isolated from soil, herbivore dung and stored food. Studies conducted in the brazilian semiarid reported only 20 Mucorales species, being eight of them reported in Upland Forests areas, underestimating the real species richness of these fungi in this ecosystem. Therefore, the aims of the present study were to access the diversity, frequency of occurrence, relative abundance and the species richness of Mucorales in upland forests soils from semi-arid regions of Pernambuco; to verify the possible variations in their composition between sampling months and to elaborate an identification key for Mucorales in soil of upland forests in semi-arid regions of Pernambuco. Six samplings were performed, including Serra dos Cavalos, Serra Negra and Serra do Jenipapo areas, in Caruaru, Bezerros and Sanharó, respectively. Subsequently, 2 mg of each sample were inoculated on plates with Wheat Germ Agar plus chloramphenicol, in triplicate. Four isolates, probably corresponding to new species, and one taxon cited for the first time to the Occident had their LSU region from rDNA sequenced for genetic confirmation. From the samples collected at Brejo da Serra dos Cavalos, 15 taxa of Absidia, Cunninghamella, Gongronella, Mucor and *Rhizopus* were observed, while from Jenipapo, 21 taxa of these genera were isolated. Sixteen taxa of Absidia, Cunninghamella, Gongronella, Lichthemia and Rhizopus were isolated from soil of Serra Negra. Considering the three upland forests, Absidia was the most representative genus considering species number, followed by Cunninghamella and Mucor. Among the isolates, Cunninghamella sp.1 was the most frequent taxon, followed by G. butleri and C. elegans. Cunninghamella sp.1 also presented the higher number of CFU/g of soil, followed by C. elegans and G. butleri and these three species were the most abundant taxa among the isolates. The upland forest of Jenipapo presented the higher diversity of Mucorales, followed by Serra Negra and Serra dos Cavalos. Absidia fusca, A. pseudocylindrospora, A. repens, C. elegans, C. bertholletiae, C. blakesleeana, G. butleri, M. circinelloides, M. hiemalis, R. arrhizus var. arrhizus and R. stolonifer are reported for the first time in upland forest soils. Absidia sp.1, Absidia sp.2, and Absidia sp.3, and Absidia sp.4, are new species, whereas Cunninghamella sp.1, Cunninghamella sp. 2 and Mucor sp. are probable new species.

**Keywords**: Ecology. Mucoromycota. Soil. Filamentous fungi. Taxonomy. Zygosporic Fungi.

# LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ASPECTO DO BREJO DE SERRA NEGRA, BEZERROS- PE36
FIGURA 2 - ASPECTO DO BREJO DOS CAVALOS, CARUARU- PE37
FIGURA 3 – ASPECTO DO BREJO DE JENIPAPO, SANHARÓ- PE38
FIGURA 4 – PLUVIOSIDADE MÉDIA MENSAL (MM) NOS MUNICÍPIOS DE
BEZERROS, CARUARU E SANHARÓ - PE DURANTE O PERÍODO DE COLETA
DAS AMOSTRAS DE SOLO39
FIGURA 5 - PORCENTAGEM DOS GÊNEROS, EM RELAÇÃO AO NÚMERO DE
ESPÉCIES, DE MUCORALES PRESENTES NOS SOLOS DOS BREJOS DOS
CAVALOS, SERRA NEGRA E SERRA DO JENIPAPO -PE45
FIGURA 6 - ABUNDÂNCIA RELATIVA DOS MUCORALES EM SOLOS DOS
BREJOS CAVALOS, SERRA NEGRA E JENIPAPO -PE UTILIZANDO VALORES
DE MÉDIA E DESVIO PADRÃO48
FIGURA 7 - DIVERSIDADE (SHANNON-WIENER) DOS MUCORALES NOS
SOLOS DOS BREJOS DAS SERRAS DOS CAVALOS, SERRA NEGRA E
JENIPAPO-PE49
FIGURA 8 - ESTIMADORES DE RIQUEZA CHAO 1 E JACKNIFFE 1 DO BREJO
DOS CAVALOS-PE49
FIGURA 9 - ESTIMADORES DE RIQUEZA CHAO 1 E JACKNIFFE 1 DO BREJO
DE JENIPAPO-PE49
FIGURA 10 - ESTIMADORES DE RIQUEZA CHAO 1 E JACKNIFE 1 DO BREJO
DA SERRA NEGRA-PE50
FIGURA 11 - ABSIDIA SP.1. A– ESPORANGIÓFOROS EM VERTICILO; B –
ESPORANGIÓFORO RAMIFICADO; C – RIZÓIDE; D –
ESPORANGIÓSPOROS54
FIGURA 12 - ABSIDIA SP.2. A – ESPORANGIÓFOROS EM VERTICILO; B –
ESPORANGIÓFORO E COLUMELA COM DUAS PROJEÇÕES (SETA); C –
RIZÓIDE; D – ESPORANGIOSPOROS55
FIGURA 13 - ABSIDIA SP.3. A – ESPORANGIÓFOROS EM VERTICILO; B –
ESPORANGIÓFORO COM RAMIFICAÇÃO SIMPLES; C - RIZÓIDE; D -
ESDOD A NCIOSDODOS 54

FIGURA 14 - AB	SSIDIA SP.4.	A – ESPORANGIÓF	OROS EM VERT	'ICILO;	В –
ESPORANGIÓFO	OROS COM C	OLUMELA E PROJE	EÇÃO APICAL BU	LBOSA;	<b>C</b> –
RIZÓIDE; D – ES	SPORANGIO	SPOROS	•••••	•••••	57
FIGURA 15 - CUN	NNINGHAME.	LLA CLAVATA SP.4. A	A – ESPORANGIÓ	FOROC	OM
RAMIFICAÇÕES	SUCESSIVA	S; B – ESPORANGIÓ	FOROSIMPLES I	PORTAN	DO
ESPORANGÍOLO	OS; C, D -	- ESPORANGIÓFO	ROS RAMIFICA	DOS C	OM
VESÍCULAS CLA	AVIFORMES	ANGULARES; E -ES	SPORANGIÓFOR	O SIMPI	LES
COM VESÍ	CULA	CLAVIFORME	ANGULAR;	$\mathbf{F}$	_
ESPORANGÍOLO	OS	•••••	•••••	•••••	58
FIGURA 16 - ÁR	VORE FILO	GENÉTICA DE <i>ABSI</i>	DIA GERADA A	PARTIR	DE
SEQUÊNCIAS DA	A REGIÃO L	SU DO RDNA. MOR	TIERELLA PARVI	ISPORA I	FOI
UTILIZADA CO	MO GRUPO	EXTERNO. OS VAL	ORES DE SUPOR	TE SÃO	DE
ANÁLISE BAYE	SIANA (NÚM	IEROS ACIMA DOS	RAMOS). AS SE	EQUÊNC	IAS
SÃO SEGUIDA	S PELOS	RESPECTIVOS NÚ	MERO DE AC	CESSO	NO
GENBANK		•••••	•••••	•••••	.59

# LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- NÚMERO	DE UNIDA	DES F	ORMADO	RAS DE	E COLÔN	IA POR
GRAMA DE	SOLO DOS M	UCORALE	S ISOL	ADOS DE	SOLOS	DOS BREJ	OS DOS
CAVALOS,	SERRA	NEGRA	E	SERRA	DO	JENIPA	PO-PE.
•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	45
TABELA 2-	FREQUÊNCIA	DE OCOR	RÊNCI	(A (FO) E A	ABUNDÂ	NCIA REI	LATIVA
(AR) DOS	MUCORALES	ISOLADOS	s dos	<b>BREJOS</b>	DOS C	AVALOS,	SERRA
NEGRA		${f E}$		SER	RA		DO
JENIPAPO.	•••••	••••••	•••••	•••••	•••••	•••••	46
TABELA 3	- ANÁLISE DI	E SIMILARI	DADE	DE SORE	ENSEN D	OA COMPO	OSIÇÃO
DE MUCOI	RALES ENTRI	e os solo	S DOS	S BREJOS	DOS C	AVALOS,	SERRA
NEGRA	E	SER	RRA	Ι	00	JEN	IPAPO-
PE	•••••	•••••	•••••	•••••		•••••	47

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	.12
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 MUCOROMYCOTINA BENNY	15
2.2 MUCORALES SCHRÖTER	16
2.2.1 Absidia Tiegh. e Lichtheimia Vuill	18
2.2.2 Cunninghamella Matr	19
2.2.3 Gongronella Ribaldi	21
2.2.4 Mucor Fresen.	22
2.2.5 Rhizopus Ehr	23
2.3 O SEMIÁRIDO	.25
2.4 MUCORALES ISOLADOS DE SOLOS DO SEMIÁRIDO	27
2.5 MATA ATLÂNTICA	.29
2.6 MUCORALES ISOLADOS DE SOLOS EM ÁREAS DE MA	TA
ATLÂNTICA	.31
2.7 BREJOS DE ALTITUDE	.33
3 MATERIAIS E MÉTODOS	.35
3.1 ÁREAS DE ESTUDO	.35
3.2 COLETA DAS AMOSTRAS DE DE SOLO	.39
3.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MUCORALES	40
3.4 ANÁLISE DE DADOS	.40
3.5 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA	.41
3.6 ANÁLISE FILOGENÉTICA	.42
3.7 CONFECÇÃO DE MATERIAL GRÁFICO	
4 RESULTADOS	.43
4.1 MUCORALES DE SOLO DOS BREJOS DE ALTITUDE	DE
PERNAMBUCO	.43
4.2 FREQUÊNCIA DE OCORRÊNCIA, DIVERSIDADE, ABUNDÂNCIA RELATIV	VΑ,
ESTIMADORES DE RIQUEZA E ÍNDICES DE SIMILARIDADE DOS MUCORAL	LES
EM SOLO DOS BREJOS DE ALTITUDE	DE
PERNAMBLICO	44

OCORRÊNCIA	DE	MUCORALES	PARA	0
OCIDENTE				51
5 DISCUSSÃO	•••••	•••••	•••••	60
6 CONCLUSÕES	•••••	•••••	•••••	64
		•••••		

## 1 INTRODUÇÃO

O subfilo Mucoromycotina Benny, proposto para abrigar algumas espécies do antigo filo Zygomycota (nomeatualmente desconsiderado por ser polifilético) (HIBBETT et al., 2007; HOFFMANN et al., 2011), abrange fungos caracterizados pela produção do zigosporângio, estrutura de resistência de origem sexuada, formada pela fusão de dois gametângios, iguais ou não, que comportam o zigósporo. Dentro desse subfilo, destaca-se a ordem Mucorales, que abrange espécies com características morfológicas variadas, como hifas cenocíticas, contendo septos espaçados de forma irregular ou delimitando estruturas de reprodução, como esporangióforos esporângios, esporangiósporos, esporangíolos, merosporângios e merósporos.

Os Mucorales podem ser isolados de diversos substratos, tais como: solo, excrementos de herbívoros e de alimentos, incluindo grãos estocados (ALEXOPOULOS et al., 1996). A maioria dos espécimes dessa ordem apresenta rápido crescimento, mesmo em meios de cultura simples, sendo os primeiros a colonizar vários substratos, degradando preferencialmente açúcares menos complexos (RICHARDSON, 2009), sendo amplamente distribuídos no planeta. Dentre os substratos de onde podem ser isolados, é no solo onde são mais abundantes (BILLS et al., 2004), desempenhando um papel importante na decomposição de matéria orgânica, realizando a ciclagem de nutrientes, disponibilizando-os para outros organismos e para as plantas (HILL et al., 2000). Os representantes deste grupo também são utilizados em escala industrial, como Mucor Fresen., Cunninghamella Matr. e Rhizopus Ehrenb., que são capazes de sintetizar produtos industriais, como amilase, lipase, inulinase, pectinase, renina e protease (ALVES et al., 2005; SANTIAGO; SOUZA-MOTTA, 2006). Outros táxons do grupo são empregados na produção dos ácidos cítrico, linolênico, aracdônico, oxálico e láctico (KAVADIA et al., 2001; MAGNUSON; LASURE, 2004). Na indústria de alimentos, espécies de Rhizopus são consideradas importantes fermentadoras utilizadas na produção de alimentos asiáticos, como o tofu, e alguns táxons de *Thermonucor* Subrahm., B.S Mehtra & Thirum. foram citados como promissores para a produção de proteases coagulantes do leite (NOUT; KIERS, 2005). Além disso, os Mucorales também se destacam por apresentarem importância médica, como espécies de Rhizopus, Mucor, Rhizomucor Lucet & Costantin e Lichtheimia Vuill., que podem causar graves infecções oportunistas conhecidas como mucormicoses, comuns em pacientes imunocomprometidos (MARQUES et al., 2010). Fungos filamentosos oleaginosos, como Mucor circinelloides Tiegh. e *Umbelopsis isabelina* (Oudem.) W. Gams, são citados como potenciais produtores de biodiesel em escala industrial (VICENTE et al., 2009). Táxons de Mucorales que apresentam elevado potencial biotecnológico, tendo sido isolados de solos e outros substratos de diferentes domínios do Brasil, incluindo a Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica.

A Caatinga é um domínio exclusivamente brasileiro que comporta várias espécies endêmicas, possuindo elevada biodiversidade e exibindo fitofisionomias heterogêneas ao longo de seu território, que inclui os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, a maior parte da Paraíba e Pernambuco, sudeste do Piauí, oeste de Alagoas e Sergipe, região Norte e Central da Bahia e uma faixa que inclui Minas Gerais, seguindo o Rio São Francisco (PRADO, 2003). Esse domínio apresenta vegetação xerófila com diversas composições florísticas, formando variadas fisionomias (ANDRADE-LIMA, 1981), além de temperaturas médias anuais elevadas e baixas precipitações e umidades relativas. O solo desse domínio é predominantemente argiloso, formado em um microambiente ácido, pela influência climática e por processos de lixiviação, sendo denominado de vertissolo (PRADO, 2003).

Os brejos de altitude são frações de Mata Atlântica que se comportam como ilhas úmidas e isoladas dentro do semiárido. A existência dessas ilhas de florestas está associada à ocorrência de planaltos e chapadas entre 500–1.100 m de altitude, onde as chuvas orográficas garantem níveis de precipitação superiores a 1.200 mm/ano (ANDRADE-LIMA, 1961). Quando comparados às regiões de Caatinga, os brejos possuem condições privilegiadas quanto à umidade do solo e do ar, temperatura e cobertura vegetal. Desta forma, ANDRADE-LIMA (1982) considera os brejos como "refúgios atuais" para espécies de Mata Atlântica nordestina dentro dos domínios da caatinga. Segundo VASCONCELOS SOBRINHO (1971), em Pernambuco, existem 23 brejos de altitude com área florestal de 4.850,00 Km², estando 12 desses situados na mesorregião agreste nos municípios de Agrestina, Belo Jardim, Bezerros, Brejo da Madre de Deus, Buíque, Camocim de São Félix, Caruaru, Gravatá, Pesqueira e Taquaritinga do Norte (RODRIGUES et al., 2008).

Trabalhos sobre a diversidade de Mucorales em regiões do semiárido nordestino reportaram apenas 20 espécies, das quais apenas oito foram associadas a uma região de brejo de altitude em Triunfo-PE (SANTIAGO et al., 2013), o que não reflete a real riqueza desses fungos nesse ecossistema. Torna-se, portanto, necessária a ampliação do conhecimento da ocorrência desses fungos em áreas de brejo de altitude no Brasil, os quais devem ser preservados em coleções de culturas para posteriores estudos biotecnológicos e filogenéticos. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivos conhecer a diversidade de Mucorales em solos de três áreas de brejo de altitude do semiárido de Pernambuco; conhecer a riqueza, a frequência de ocorrência e a abundância relativa de espécies de Mucorales em

MELO-ALVES, A.L.S.- Diversidade de Mucorales em solos de Brejo de Altitude

solos de áreas de brejo de altitude do semiárido de Pernambuco; verificar se ocorre variação na composição dessas comunidades entre os meses de coleta; descrever e ilustrar novas espécies de Mucorales para a ciência e uma primeira ocorrência para o Brasil; elaborar uma chave de identificação para os Mucorales isolados de solos de brejos de altitude do semiárido de Pernambuco.

# 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 MUCOROMYCOTINA BENNY

O subfilo Mucoromycotina Benny, um dentre os quatro subfilos propostos por HIBBETT et al. (2007), foi criado para abrigar as espécies do antigo filo Zygomycota C. Moreau, desde que JAMES (2006) sugeriu o polifiletismo do grupo. Inicialmente, esse subfilo foi proposto abrigando as ordens Mucorales Fr., Endogonales Moreau ex R. K. Benjamin e Mortierellales Caval. Sm (HIBBETT et al., 2007), até que HOFFMANN et al. (2011) propuseram, com base em análises filogenéticas multigênicas e morfológicas, a elevação da ordem Mortierellales à categoria taxonômica de subfilo (Mortierellomycotina Kerst. Hoffm., Kerst. Voigt & P. M. Kirk). Contudo, com base na capacidade de todos os cinco subfilos de produzirem zigósporos durante a conjugação, os representantes desses subfilos têm sido referidos, conjuntamente, como fungos zigospóricos (VOIGT et al., 2009).

Os Mucoromycotina são caracterizados morfologicamente por produzirem esporos sexuais denominados zigósporos, desenvolvidos dentro do zigosporângio e resultantes da fusão de dois gametângios (KENDRICK, 2000). Os zigosporângios apresentam parede espessa, lisa ou ornamentada, de coloração geralmente marrom escura ou negra, podendo permanecer em latência em condições adversas durante longos períodos (BENNY et al., 2001). A reprodução assexuada ocorre pela formação de esporos por clivagem citoplasmática no interior de esporângios, esporangíolos ou merosporângios, localizados no ápice de hifas férteis (BENJAMIN, 1979). Em algumas espécies pode ocorrer a formação assexuada de clamidósporos ou artrósporos, enquanto a gemação ocorre nos indivíduos dimórficos, que são aqueles que apresentam formas fiamentosas ou levedurifirmes (ALEXOPOULOS et al., 1996). Caracteristicamente, representantes de Mucoromycotina têm hifas cenocíticas ou irregularmente septadas, com os septos apenas delimitando estruturas reprodutivas, lesionadas ou partes velhas do micélio, apresentando um micélio bem desenvolvido com aspecto cotonoso. Cores variadas podem ser observadas nas colônias dos representantes do grupo, desde tons em branco, creme, cinza, marrom, amarelo à laranja, que podem variar de acordo com a temperatura de incubação, com a presença ou ausência de luz e com a composição do meio de cultura (TRUFEM et al., 2006; BENNY, 2012).

Mucoromycotina compreende micro-organismos em maioria sapróbios, embora algumas espécies do grupo possam ser parasitas de plantas, de outros fungos, de invertebrados e de vertebrados, incluindo seres humanos. É um grupo de fungos heterogêneo, encontrado nos mais variados substratos (ALEXOPOULOS et al.,1996). A

capacidade de adaptação de seus representantes às condições ambientais adversas, resultado de seu mecanismo fisiológico, bioquímico e genético, reflete em estratégias específicas de desenvolvimento, maturação, diferenciação e sobrevivência, permitindo a colonização pioneira dos substratos, degradando açucares menos complexos (TRUFEM, 1981).

### 2.2 MUCORALES SCHRÖTER

Mucorales, segundo KIRK et al. (2008), é a maior ordem de Mucoromycotina, englobando mais de 200 espécies descritas. Inicialmente, essa ordem possuía quatro famílias (VAN TIEGHEM, 1878), tendo outras sido adicionadas, posteriormente, por outros autores. Algumas das famílias acrescentadas se tornaram ordens, como Dimargaritales R. K. Benjamin, Endogonales Jacz. & P.A. Jacz, Kickxellales Kreisel ex R. K. Benjamin e Zoopagales Bessey ex R. K. Benjaminnjm, enquanto outras famílias foram realocadas dentro dessas ordens por BENJAMIN (1979). BENNY (2009) sinonimizou todas as famílias até então aceitas com Mucoraceae. No entanto, VOIGT et al. (2009), após analisarem filogeneticamente este grupo, sugeriram que muitas das famílias deveriam ser segregadas de Mucoracae. Atualmente, Mucoraceae possui 55 gêneros distribuídos em 14 famílias: Umbelopsidaceae W. Gams & W. Mey, Lentamycetaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Syncephalastraceae Naumov ex R.K. Benj., Lichtheimiaceae Kerst. Hoffm., G. Walther & K. Voigt, Phycomycetaceae Arx, Saksenaeaceae Hesselt. & J.J. Ellis, Radiomycetaceae Hesselt. & J.J. Ellis, Cunninghamellaceae Naumov ex R.K. Benj, Backusellaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Pilobolaceae Corda, Rhizopodaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Choanephoraceae J. Schröt., Mycotyphaceae Benny & R.K. Benj. e Mucoraceae.

Os fungos da ordem Mucorales apresentaram características marcantes, como o rápido crescimento micelial aéreo, produzindo estruturas assexuais em abundância O micélio tem aspecto cotonoso, sendo formado por hifas irregularmente septadas, que podem se diferenciar em rizoides, que atuam na fixação e absorção de nutrientes, e em estolões, que dispersam suas estruturas reprodutivas, sendo estruturas taxonomicamente importantes (KIRK et al., 2008). Os esporóforos são formados no micélio podendo estar isolados ou agregados, ser eretos ou circinados, e possuir ramificações cimosas, racemosas, simpodiais ou monopodiais (VIRIATO, 2003). Os esporangiósporos são produzidos em esporângios multi-esporados ou em suas variações morfológicas, como esporangíolos, que são esporângios pequenos com poucos esporos ou uniesporados, ou em merosporângios, que são esporângios cilíndricos ou claviformes que portam merosporangiósporos (ou merósporos) dispostos em cadeia (ALVAREZ, 2013). A columela, estrutura presente no interior do

esporângio, ou a vesícula, localizada na porção terminal dos esporangióforos, são estruturas presentes nos representantes dessa ordem (HOFFMANN et al., 2013), podendo apresentar formas variadas, como clavadas, cônicas, esféricas, espatuladas, hemisféricas, obovóides, ovóides ou piriformes; podem ser lisas ou incrustadas, com ou sem projeções apicais (BENNY et al., 2001). Em Mucorales, a reprodução sexuada é observada com menor frequência em meios de cultivo do que a assexuada e, em várias espécies, a presença do zigósporo ainda não foi reportada (O'DONNELL et al., 2001). Vários autores apontam a importância do zigosporângio na taxonomia, sendo a presença ou ausência dessa estrutura, bem como o tipo de ornamentação e a presença de apêndices na mesma, que surgem a partir das células suspensoras, importantes fatores a serem considerados para ajudar na identificação de alguns gêneros, como *Absidia* van Tiegheme *Lichtheimia* Vuill. (HOFFMANN et al., 2007).

Conhecidos por apresentar distribuição cosmopolita, Mucorales abirga espécies oligotróficas ou mesotróficas (RICHARDSON, 2009). A ordem é representada, em maioria, por espécies sapróbias, comumente identificadas em amostras de solo, frutos, excrementos de herbívoros e de grãos estocados (SANTIAGO et al., 2008). Desempenham um papel ecológico importante nos processos de biodegradação, degradando matéria orgânica vegetal ou animal, sendo a maioria dos espécimes precursores do processo de sucessão ecológica pela capacidade de produção enzimática que os permite colonizar uma grande variedade de substratos (DIX; WEBSTER, 1995; RICHARDSON, 2009). Os Mucorales podem ser parasitas de outros fungos, como espécies de Parasitella Bainier, que estabelecem uma interação micoparasitária com outros Mucorales (BENNY, 2009); patógenos de plantas, infectando órgãos e frutos, como *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Ravenel) Thaxt., R. arrhizus var. arrhizus A. Fisch. E R. stolonifer (Ehrenb.) Vuill. (DENNIS, 1983) ou podem causar infecções sistêmicas em seres humanos, especialmente nos indivíduos imunocomprometidos (RIBES et al., 2000; RODEN et al., 2005; SKIADA et al., 2011; HOFFMANN et al., 2013). Outras espécies dessa ordem são conhecidas por causarem apodrecimento de frutos e sementes estocadas, acarretando prejuízos econômicos em várias partes do mundo (TRUFEM et al.,2006).

Em contraste, aplicações benéficas desses fungos podem ser observadas. Vários membros de Mucorales são capazes de produzir enzimas de interesse biotecnológico, como amilases, inulinases, celulases e tanases, sendo importantes para a as indústrias farmacêutica, têxtil e de alimentos (CORDEIRO NETO et al., 1997; ALVES et al., 2005; SANTIAGO; SOUZA-MOTTA, 2006). Espécies de *Rhizopus* e *Mucor* são utilizadas na conversão de

esteróis e na produção de bebidas alcoólicas a partir do amido, além de serem empregadas na produção de fermentados à base de soja, produzidos na Ásia, conhecidos como Tempeh (TRUFEM, 1981; HESSELTINE, 1986; NOUT; KIERS, 2005; ALVAREZ, 2013). Outras espécies são utilizadas na síntese de licopenos (WU et al., 2005; HOFFMAN et al., 2013), na produção de ácidos orgânicos (KAVADIA et al., 2001; MAGNUSON; LASURE, 2004) e em processos de biorremediação de metais pesados (YAN; VIRARAGHAVAN, 2003; ZAFAR et al., 2007).

### 2.2.1 Absidia Tiegh. e Lichtheimia Vuill.

Durante o Século XX, a delimitação de espécies de *Absidia* foi sujeita a constantes alterações. HESSELTINE & ELLIS (1964, 1965, 1966) utilizavam principalmente a forma dos esporangiósporos (cilíndrica, globosa e ovóide) para distinguir entre os grupos dentro desse gênero. Anteriormente, VAN TIEGHEM (1876) propusera seis gêneros diferentes para espécies anteriormente inseridas em *Absidia*. BERLESE & DE TONI (1888) propuseram *Tieghemella* Berl. & De Toni e transferiram *A. repens* Tiegh. para esse gênero. Posteriormente, VUILLEMIN (1903 a, b) propôs *Proabsidia* Vuill. e *Lichtheimia*Vuill., transferindo algumas espécies de *Absidia* para os dois últimos gêneros. No mesmo ano, BAINIER (1903) propôs *Pseudoabsidia* Bainier para abrigar espécies comestolões e rizóides mas que apresentamos suspensores dos zigosporângios desprovidos de apêndices. KIRK et al. (2001) trataram *Tieghemella*, *Mycocladus* Beauverie, *Proabsidia*, *Pseudoabsidia*, *Lichtheimia* e *Protoabsidia* Naumov. como sinônimos de *Absidia*, gênero atualmente inserido na família Cunninghamellaceae Naumov ex R.K. Benj.

Até 2007, a delimitação das espécies de *Absidia* era baseada principalmente em critérios morfofisiológicos. No entanto, HOFFMANN et al. (2007), num estudo que combinou técnicas moleculares (com uma abordagem filogenética) com dados de fisiologia e micromorfologia, mostrou que as espécies conhecidas apresentaram crescimento diferenciado em diferentes temperaturas, tendo as espécies desse gênero sido divididas em três grupos: 1. termotolerantes - com crescimento ótimo em temperaturas superiores a 37 °C (entre 37 e 53 °C); mesofílicos - temperaturas de crescimento ótimas entre 25 e 34 °C; micoparasitas - espécies potencialmente micoparasíticas com temperaturas óptimas de crescimento até 20 °C.

Em seguida, HOFFMANN et al. (2009), transferiram as espécies termotolerantes para o gênero *Lichtheimia* Vuill., que atualmente abrange *L. blakesleeana* (Lendn.) Kerst. Hoffm., Walther & K. Voigt, *L. corymbifera*, *L. hyalospora* (Saito) Kerst. Hoffm., Walther

& K. Voigt e *L. ramosa* (Zopf) Vuill., incluídas na família Lichteimiaceae K. Hoffm., G. Walther & K. Voigt. Em seguida, *A. ornata* A.K. Sarbhoyfoi transferida para *Lichthemia* tornando-se *L. ornata* (A.K. Sarbhoy) ALASTRUEY-IZQUIERDO et al. (2010). Alastruey-Izquierdo & G. Walther, comb. nov., descreveram *Lichtheimia sphaerocystis* A. Alastruey-Izquierdo & G. Walther e colocaram *L. blakesleeana* em sinonímia com *L. hyalospora*. Após quatro anos, SANTIAGO et al. (2014) descreveram *L. brasiliensis* A.L. Santiago, Lima & Oliveira e, recentemente, uma nova espécie, *A. caatinguensis* D.X. Lima & A.L. Santiago, foi descrita (Ariwasanka et al. 2015). De acordo co o Species Fungorum (www.speciesfungorum.org), 24 espécies de *Absidia* são atualmente aceitas.

Morfologicamente, as principais características de *Absidia* são: 1. Esporangióforos eretos, simples ou ligeiramente ramificados, tipicamente surgindo ao longo de estolões, podendo conter um septo abaixo do esporângio, e que portam esporângios apofisados e piriformes com parede deliquescente; 2. As columelas geralmente apresentam-se variadas em forma, podendo exibir uma projeção apical que pode apresentar ou não uma extremidade bulbosa; 3. Zigósporos são formados a partir de suspensores opostos mais ou menos iguais e adornados com vários apêndices (BENNY et al., 2012).

Os táxons de *Lichtheimia* são caracterizados por apresentarem colônias com rápido crescimento em meios de cultura, entre 37 °C e 42 °C, com espécies comumente crescendo entre 20 e 53 °C. Os esporangióforos podem ser eretos ou bentos, simples ou ramificados, nunca produzidos opostos aos rizóides. Além disso, são produzidos esporângios apofisados com parede deliquescente. Rizóides e estolões são comumente encontrados. Os zigosporângios são multiesporados, esféricos ou subpiriformes, apofisados.

Segundo HOFFMANN et al. (2007) as principais diferenças entre *Absidia* e *Lichtheimia* são: o último é constituído por representantes predominantemente termotolerantes, enquanto o primeiro abrange espécies mesofílicas; *Absidia* possui esporangióforos eretos, simples ou levemente ramificados, frequentemente dispostos em fascículos ou em verticilos em uma base comum, enquanto em *Lichtheimia* os esporangióforos são ramificados com esporângio nas extremidades das hifas aéreas; *Absidia* sempre apresenta septos subesporangiais, enquanto *Lichtheimia* raramente apresenta septos subesporangiais; as células suspensoras dos zigosporângios de *Absidia* apresentam apêndices que não são observados nas células suspensoras dos zigosporângios de espécies de *Lichtheimia*.

### 2.2.2 Cunninghamella Matr.

Espécies de *Cunninghamella* são caracterizadas por produzirem esporóforos eretos com ramificações em vários padrões: verticiladas, pseudoverticiladas ou de tamanhos diferentes em um mesmo esporóforo, algumas vezes ramificando de modo sucessivo, e que produzem esporangíolos uni-esporados (ZHENG et al., 2001). Táxons de *Cunninghamella* têm sido frequentemente registrados em solo e grãos estocados, podendo algumas espécies atuarem como parasitas facultativas de seres humanos, principalmente imunocomprometidos (BAIJAL; MEHROTRA, 1980; HSIEH et al., 2013).

Desde a descrição inicial de THAXTER (1903), algumas espécies foram adicionadas ao gênero Cunninghamella Matr. ZYCHA (1935) apresentou uma chave reconhecendo seis espécies: C. albina (Saccardo) Matruchot, C. microspora (Riv.) Matruchot. C. elegans Lendner, C. ramosa Pispek, C. blakesleeana Lendner e C. echinulata (Thaxter) Thaxter. Em seguida, ALCORN & YEAGER (1938) descreveram oito espécies: C. africana Matruchot, C. albina, C. elegans, C. verticilata Paine, C. microspora, C. bertholletiae Stadel, C. blakesleeana e C. echinulata. NAUMOV (1939) reconheceu 12 espécies de Cunninghamella, embora CUTTER (1946) tenha mantido em sua monografia apenas C. echinulata, C bainieri Naumov, C. blakesleeana, C. bertholletiae e C. elegans. Alguns anos depois, MILKO & BELJAKOVA (1967) mantiveram apenas quatro espécies no gênero: C. echinulata, C. homothallica Komin. & Tubaki, C. elegans e C. blakesleeana. Dois anos depois, SAMSOM (1969) reconheceu sete espécies dentro deste gênero: C. echinulata, C. blakesleeana, C. vesiculosa Misra, C. homothallica, C. phaeospora Boedijn e C. apolymorpha Pispek e C. elegans. No entanto, a mais completa revisão do gênero, que envolveu estudos morfofisiológicos e genéticos foi fornecida por ZHENG & CHEN (2001), que reconheceram alguns dos táxons supracitados e descreveram algumas espécies novas. Atualmente, são aceitas: C. binariae R.Y. Zheng, C. bertholletiae, C. blakesleeana, C. clavata R.Y. Zheng & G.Q. Chen, C. echinulata (Thaxt) Thaxt. ex Blakeslee., C. echinulata var. nodosa, C. echinulata var. antarctica Caretta & Piont., C. echinulata var. echinulata Thaxt. ex Blakeslee., C. echinulata var. verticillata Zheng & Chen., C. elegans Lendn., C. homothallica Komin. & Tubaki., C. intermedia K.B. Deshp. & Mantri, C. multiverticillata R.Y. Zheng & G.Q. Chen, C. phaeospora, C. septata R.Y. Zheng e C. vesiculosa Misra (ZHENG; CHEN, 2001).

É notável que, desde os primeiros estudos na classificação de *Cunninghamella*, a maioria dos autores tenham adotado critérios semelhantes para a classificação das espécies desse gênero, incluindo coloração e textura das colônias, o padrão de ramificação dos esporóforos, a forma e dimensão das vesículas e a forma, dimensão e cor dos esporangíolos,

bem como a presença ou ausência e o comprimento das projeções desses esporangíolos (BAIJAL; MEHROTRA, 1980).

Com a finalidade de estabelecer critérios mais aceitáveis na separação das espécies de *Cunninghamella*, LUNN & SHIPTON (1983), ao estudarem as características esporangiais de 35 isolados, concluíram que alguns critérios anteriormente mencionados não poderiam ser usados para a separação satisfatória das espécies desse gênero, e que os critérios utilizados na chave para separação dentro de *Cunninghamella* desde então deveriam ser: homotalismo e heterotalismo, forma das vesículas e características dos espinhos nos esporangíolos. No entanto, na última revisão morfológica e genética do gênero, ZHENG et al. (2001) consideraram muitas características morfológicas até então descartadas por LUNN & SHIPTON (1983), importantes para a diferenciação das diferentes espécies dentro do gênero, como a cor das colônias, o padrão de ramificação dos esporóforos a forma e dimensão das vesículas e dos esporangíolos, além do homo ou heterotalismo.

### 2.2.3 *Gongronella* Ribaldi

Gongronella foi sugerido pela primeira vez por RIBALDI (1952), que considerou a presença de uma apófise globosa ou subglobosa no esporângio e a redução do tamanho da columela na proposição do gênero, acomodando unicamente *G. urceolifera* Ribaldi como representante do grupo. Após três anos, PEYRONEL & DAL VESCO (1955) transferiram *Absidia butleri* Lender para *Gongronella*, tendo como base a presença de uma apófise bem marcada, concluindo que *G. urceolifera* e *G.butleri* (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco são sinônimos. HESSELTINE & ELLIS (1964) adicionaram mais uma espécie, *G. lacrispora* Hesseltine & Ellis a este gênero.

Espécies de *Gongronella* têm como características morfológicas micélio hialino, com estolões e rizóides pouco desenvolvidos, esporangióforos eretos ou circinados, ramificados e septados. O esporângio exibe uma apófise globosa ou subglobosa, mas nunca se tornando piriforme. As células suspensoras dos zigosporângios são desprovidas de apêndices e se postam, ou não, paralelas umas às outras (UPADHYAY, 1966).

Apenas duas espécies são aceitas para esse gênero: *G. butlerii*e e *G. lacrispora*. A primeira apresenta esporangióforos eretos e não circinados. Os esporangióforos são septados e os esporangiósporos ovais para reniformes. *Gongronella lacrispora* é caracterizada por possuir esporângios circinados em esporangióforos frágeis. Os esporangióforos são geralmente septados perto da apófise e os esporangiósporos têm a forma de uma lágrima. Estolões e rizóides não são bem desenvolvidos (UPADHYAY, 1966).

### 2.2.4 Mucor Fresen.

Espécies de *Mucor* produzem esporangióforos simples ou ramificados, surgindo diretamente do substrato, e que portam esporângios não apofisados, globosos e/ou subglobosos. Poucas espécies apresentam rizóides (ex: *M. luteus* Linnem. ex Wrzosek) e estolões não são produzidos (BENNY, 2014). Esse gênero apresenta distribuição cosmopolita, sendo a maioria das espécies descritas como sapróbias, comumente isoladas de solo, grãos, flores, vegetais em decomposição, agáricos carnosos e excrementos de herbívoros (HELSSELTINE; ELLIS, 1973; TRUFEM, 1981a; ALEXOPOULOS et al., 1996; VIRIATO, 1996). Alguns táxons do gênero têm sido descritos como agentes causais de micoses cutâneas em seres humanos (ALVAREZ et al., 2011).

Até o fim da década de 70, 39 espécies, quatro variedades e 11 formas *Mucor* eram aceitas (SCHIPPER, 1973, 1975, 1976, 1978). Desde então, 14 espécies foram descritas (MEHROTRA; MEHROTRA, 1978; MIRZA et al., 1979; SUBRAHMANYAM, 1983; CHEN; ZHENG, 1986; SCHIPPER; SAMSON, 1994; WATANABE, 1994;. ZALAR et al., 1997) mas, atualmente, não se sabe ao certo quantos táxons são válidos para esse gênero. A taxonomia morfológica de *Mucor* resultou no reconhecimento de vários subgêneros (como grupos ou secções). HESSELTINE (1954) apresentou uma chave para as nove seções que ele reconhecia: flavus, fragilis, genevensis, hiemalis, macromucor, mucedo, racemosus, ramannianus e sphaerosporus, tendo descrito e monografado a seção genevensis para espécies homotálicas. GAUGER (1966, 1975) estudou a sexualidade decepas azigospóricas de M. hiemalis Wehner e várias linhagens de Mucor que produzem azigosporos tornaram-se conhecidas (BENJAMIN; MEHROTRA, 1963; MEHROTRA; MEHROTRA, 1978). A ontogenia da formação de azigosporos foi também observada em *Mucor azygospora* R.K. Benj.e Mucor bainierii B.S. Mehrotra & Baijal (O'DONNELL et al., 1977; GINMAN; YOUNG, 1989). Pelo menos uma espécie de *Mucor* geralmente pode ser encontrada em quase todos os substratos que contém alguns nutrientes solúveis.

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

MELO-ALVES , A.L.S.- Diversidade de Mucorales em solos de Brejo de Altitude em humanos (DE HOOG et al., 2000; RIBES et al., 2000; ÀLVAREZ et al., 2009; LU et al.,

em numanos (DE HOOG et al., 2000; RIBES et al., 2000; ALVAREZ et al., 2009; LU et al., 2013).

Estudos moleculares têm demonstrado que o *Mucor* é polifilético (O'DONNELL et al., 2001; KWASNA et al., 2006; JACOBS; BOTHA, 2008; BUDZISZEWSKA; PIATKOWSKA, 2010; ÁLVAREZ et al., 2011). De acordo com WALTHER et al. (2013), embora a polifilia de *Mucor* seja indiscutível, apenas algumas linhagens dentro do gênero são claramente reconhecidas. Os autores reportaram que algumas destas linhagens apresentam uma combinação de características comuns, como o tamanho do esporângio e o padrão de ramificação do esporangióforo. Desta maneira, os autores dividiram o gênero em seis grupos: *M. mucedo* L., *M. flavus* Bainier., *M. hiemalis*, *M. racemosus*, *M. amphibiorum* Schipper e *M. recurvus* E.E. Butler, com base em relações filogenéticas inferidas a partir de dados da região LSU (rDNA).

### 2.2.5 Rhizopus Ehr.

Rhizopus (SCHIPPER; STALPERS, 1984) é caracterizado pela formação de esporângios apofisados com uma parede evanescente que revela uma massa seca de esporos. Em montagem, a columela, relativamente grande, colapsa sobre o ápice do esporangióforo. Estolões e rizóides são produzidos e os esporangióforos podem surgir diretamente de hifas ou de estolões com ou sem rizóides opostos.

SCHIPPER & STALPERS (1984) aceitaram cinco espécies e oito variedades de *Rhizopus*, sendo a temperatura de crescimento, o comprimento dos esporangióforos e o tamanho dos esporângios, caraterísticas morfológicas primordiais a serem consideradas para a identificação dos espécimes. *Rhizopus arrhizus* A. Fish. tem mais de 30 sinônimos, descritos em maioria a partir de alimentos ou bebidas alcoólicas produzidas na China, Indonésia e Japão (HESSELTINE, 1965). ZHENG et al. (2007) realizaram uma revisão morfológica e molecular de *Rhizopus* e ilustraram e descreveram 17 táxons: *R. americanus* (Hesselt. & J.J. Ellis) R.Y. Zheng, G. Q. Chen & X.Y. Liu, *R. arrhizus* var. *arrhizus*, *R. arrhizus* var. *delemar* (Boidin ex Wehmer & Hanzawa) J.J. Ellis, *R. arrhizus* var. *tonkinensis* (Vill.) R.Y. Zheng & X.Y. Liu, *R. caespitosus* Schipper & Samson, *R. homothalicus* Hesselt. & J.J. Ellis, *R. microsporus* Tiegh., *R. niveus* M.Yamaz, *R. reflexus* Bainier, *R. schipperae* Weitzman, McGough, Rinaldi & Della-Latta, *R. sexualis* (G. Sm.) Callen e *R. stolonifer* (Ehrenb.) Vuill.

Representantes deste gênero são citados em diversas áreas do conhecimento, tornando-se intimamente relacionados com a vida diária do ser humano. Na indústria de

MELO-ALVES, A.L.S.- Diversidade de Mucorales em solos de Brejo de Altitude

alimentos, espécies de *Rhizopus* são consideradas agentes importantes na fermentação de alimentos asiáticos (XUEFENG et al., 2011). Na agricultura, táxons desse gênero foram reportadas como agentes causais de deterioração de legumes e frutas no campo, em trânsito ou armazenadas (AKINMUSIRE, 2011), euquanto, na medicina, espécies são utilizadas para a produção de medicamentos (NOUT; KIERS, 2005; ZHENG et al., 2007).

### 2.3 O SEMIÁRIDO

O Nordeste do Brasil possui uma área de aproximadamente 1.561.177,8 km², dos quais 969.589,4 km² são cobertos pelo semiárido. A região semiárida do Brasil apresenta como fator de destaque o clima, responsável pela variação dos outros elementos que compõem as paisagens. A esse fator estão adaptados a vegetação e os processos de formação do relevo. Os solos são, em geral, pouco desenvolvidos, em função das condições de escassez das chuvas (ARAÚJO, 2011). O clima do semiárido brasileiro apresenta temperaturas médias elevadas, comumente superiores aos 24°C, ultrapassando 26°C na depressão sanfranciscana e no vale do rio Piranhas. As precipitações são escassas, entre 280 a 800 mm/ano, embora nos brejos e serras úmidas possam exceder esse total. As chuvas, concentram-se em três ou quatro meses do ano, variando de acordo com as condições da dinâmica atmosférica. O déficit hídrico é causado porque o potencial de evapotranspiração é maior do que as precipitações. Devido a isso, muitos organismos adaptaram-se ao longo de milhares de anos a essas condições adversas, como as plantas, que permanecem vivas, porém latentes, esperando para florir e se mostrarem frondosas na época das chuvas (ARAÚJO, 2011).

Dentro do semiárido, o domínio Caatinga é predominante, cuja flora é composta por árvores e arbustos caracterizados pela rusticidade, tolerância e adaptação às condições climáticas da região. Em tempos de maior aridez as folhas caem e apenas os troncos brancos e brilhosos das árvores e arbustos permanecem na paisagem seca (ALBUQUERQUE; BANDEIRA, 1995). Fazendo com que sua composição florística não permaneça uniforme variando de acordo com o volume das precipitações pluviométricas, da qualidade dos solos, da rede hidrográfica e da ação antrópica. Até 2006, foram registradas 1.511 espécies, das quais, aproximadamente, 380 são endêmicas desse tipo de vegetação, e a família Leguminosae se destaca com o maior número de endemismo, cerca de 90 gêneros (GIULIETTI et al., 2002, 2006). Por causa das condições ambientais do semiárido, grande parte das plantas desenvolveram mecanismos de defesa que as possibilitam passar por essa escassez como: espinhos, microfilia, cutículas impermeáveis, sistemas de armazenamento de água em raízes e caules modificados e mecanismos fisiológicos adaptados, a exemplo do fechamento dos estômatos nas horas mais quentes do dia, que permitem classificá-las como plantas xerófilas (GIULIETTI et al., 2006). A peculiar diversificação em fisionomia e composição vegetacional desse domínio é representada por aproximadamente 5.344 espécies de fanerógamas (GIULIETTI et al., 2004) e, dessas, 318 são endêmicas (PRADO, 2003; MELO-ALVES , A.L.S.- Diversidade de Mucorales em solos de Brejo de Altitude

GIULIETTI et al., 2004). Cactaceae, segundo TAYLOR & ZAPPI (2002), é uma das famílias com grande número de espécies endêmicas, representada por 41 táxons.

### 2.4 MUCORALES ISOLADOS DE SOLOS DO SEMIÁRIDO

O solo abrange micro-organismos com densidade e diversidade heterogêneas, incluindo algas, bactérias, fungos, protozoários e vírus, que utilizam energia química ou compostos orgânicos e elétrons (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Dentre os o micro-organismos habitantes do solo, os fungos são os mais abundantes, tendo como principal função a decomposição de resíduos orgânicos, podendo ser patógenos importantes de plantas e animais (BILLS et al., 2004). Esse substrato, por sua vez, é o principal habitat dos representantes de Mucorales e tem sido foco de vários trabalhos de isolamento e identificação de representantes desse grupo.

Objetivando estimar a riqueza de fungos em solos da região do Xingó, CALVACANTI et al. (2006) identificaram sete táxons de Mucorales: *A. cylindrospora* Hagem., *C. elegans* Lendn, *G. butleri* Lendn., *L. corymbifera* (Cohn) Vuill. (como *A. corymbifera*), *L. ramosa* (Zopf) Vuill. (como *A. ramosa*), *R. arrhizus* var. *arrhizus* (como *R. oryzae*) e *R. microsporus* Tiegh.

Trabalhando em áreas impactadas pela mineração de cobre no município de Jaguari, Bahia, Brasil, e com a finalidade de descrever e comparar espécies de Mucorales presentes no solo, SANTIAGO & SOUZA-MOTTA (2006) obtiveram seis espécies: *L. hyalospora* (Saito) (como *A. hyalospora* e *A. blakesleeana* Lendn.), *A. cylindrospora*, *C. elegans*, *R. microsporus*, *R. arrhizus* (como *R. oryzae*) e *S. racemosum*. Os autores observaram que *R. arrhizus* esteve presente em todas as áreas, sugerindo que a espécie seja tolerante a ambientes impactados.

Rhizopus microsporus foi reportada por SIMÕES & TAUK-TORNISIELO (2005) em um trabalho sobre o conhecimento e crescimento de fungos filamentosos isolados de solo na Caatinga (Floresta Nacional Contentas do Sincorá), município de Ituaçú, Bahia, Brasil; COUTINHO et al. (2009) verificaram a presença de R. microsporus em solos cultivados com melão em área semiárida, na região do Vale do São Francisco, Petrolina, Brasil, enquanto PEREIRA et al. (2010) isolaram espécies de Mucor P. Micheli, Rhizopus Ehrenbe e Syncephalastrum J. Schröt, visando conhecer a microbiota fúngica do solo na região da Borborema, Paraíba, Brasil.

OLIVEIRA et al. (2013), em trabalho realizado na Chapada de São José, no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil, relataram oito espécies de Mucorales: *A. cylindrospora, C. blakesleeana, C. vesiculosa* P.C. Misra, *G. butleri, M. fuscus, R. microsporus, R. arrhizus* (como *R. oryzae*) e *S. racemosum*.

SANTIAGO et al. (2013) identificaram 19 táxons de Mucorales, distribuídos entre Absidia, Apophysomyces Misra, Cunninghamella, Fennellomyces Benny & R. K. Benjamin, Lichtheimia, Mucor, Mycotypha Fenner, Rhizopus e Syncephalastrum, em estudos sobre a diversidade de solo em áreas de Caatinga, nos municípios de Belém de São Francisco, Cabrobó e Triunfo, semiárido pernambucano. Apophysomyces elegans P. C. Misra, K. J. Srivast. & Lata e M. microspora Fenner foram reportadas pela primeira vez para o Brasil. Em outro trabalho, SANTIAGO et al. (2014) descreveram uma nova espécie, L. brasiliensis A. L. Santiago, Lima & Oliveira, isolada de solo no município de Araripina, Pernambuco, Brasil.

LIMA et al. (2015) identificaram 13 táxons de Mucorales isolados do solo de áreas naturais e degradadas no semiárido, distribuídos entre *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum*, sendo *R. microsporus* a espécie mais comum.

Durante um estudo sobre os Mucorales nas regiões semiáridas do Brasil, LIMA & SANTIAGO (2015) descreveram uma nova espécie, *Absidia caatinguensis* Lima & Santiago, de solo proveniente do semiárido.

# 2.5 MATA ATLÂNTICA

A Mata Atlântica é um domínio caracterizado pela elevada diversidade de espécies com alto grau de endemismo. Foi apontada como um dos "hotspots" de diversidade biológica mundiais, ou seja, uma das prioridades para a conservação de biodiversidade em todo o mundo (MYERS et al., 2000; MITTERMEIER et al., 2004). Distribuída ao longo de mais de 27 graus de latitude no Brasil, incluindo partes da Argentina e do Paraguai, a Mata Atlântica apresenta grandes variações no relevo, nos regimes pluviométricos e nos mosaicos de unidades fitogeográficas, os quais contribuem para a grande biodiversidade encontrada nesse "hotspot" (OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000).

A Mata Atlântica brasileira, hoje reduzida a menos de 8% de sua extensão original, perfazia cerca de 1.350.000 km² do território nacional, estendendo-se desde o Ceará até o Rio Grande do Sul (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA 1998). A devastação de áreas desse domínio é reflexo da ocupação territorial e da exploração desordenada dos recursos naturais. Os sucessivos impactos resultantes de diferentes ciclos de exploração, da concentração da população e dos maiores núcleos urbanos e industriais levaram a uma drástica redução na cobertura vegetal natural desse domínio (FONSECA, 1985; DEAN, 1996; CÂMARA, 2003; HIROTA, 2003; MITTERMEIER et al., 2004).

Na Mata Atlântica, ao norte do rio São Francisco, a maioria dos remanescentes florestais possui menos de 50 hectares e apresenta fortes alterações na composição florística e estrutura, devido aos efeitos de borda e à perda de espécies dispersoras de sementes (SILVA; TABARELLI, 2000). Essa região ilustra de forma emblemática a situação crítica de fragmentação do bioma, com a perda de cerca de 95 % da cobertura florestal. A floresta está reduzida a arquipélagos de pequenos fragmentos florestais em uma matriz marcada pela predominância da cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 2004; TABARELLI; SIQUEIRA FILHO, 2004).

MELO-ALVES, A.L.S.- Diversidade de Mucorales em solos de Brejo de Altitude



Fonte: <a href="http://educacaoeculturahpp.blogspot.com.br/2011\_01\_01\_archive.html">http://educacaoeculturahpp.blogspot.com.br/2011\_01\_01\_archive.html</a>

As implicações da fragmentação florestal sobre a biodiversidade da Mata Atlântica ainda necessitam de melhor entendimento. Estudos sobre a fauna, por exemplo, concentramse em grupos, como pequenas aves e mamíferos (RAMBALDI; OLIVEIRA, 2003; MALDONADO-COELHO; PARDINI, 2004), enquanto vários estudos sobre os efeitos da fragmentação sobre a composição taxonômica e ecológica e sobre persistência de plantas vasculares têm sido avaliados em diferentes partes da Mata Atlântica (TABANEZ; VIANA, 2000; METZGER, 2000; OLIVEIRA et al., 2004; CASTELLA; BRITEZ, 2004; PACIÊNCIA; PRADO, 2004; SANTOS; TABARELLI, 2005). No entanto, há poucos estudos taxonômicos (e raros ecológicos) dos Mucorales nesse domínio no Brasil, estando os mais significativos concentrados nos estados de Pernambuco e São Paulo (TRUFEM, 1981; LIMA et al., 2015).

# 2.6 MUCORALES ISOLADOS DE SOLOS EM ÁREAS DE MATA ATLÂNTICA

Em trabalhos realizados no estado de São Paulo, TRUFEM (1981) isolou e descreveu várias espécies de Absidia, Circinella van Tieghem & Le Monn., Cunninghamella Matruchot, Gongronella Ribaldi, Rhizopus e Mucor. Dentre as espécies descritas nesse trabalho estão: A. cylindrospora, A. pseudocylindrospora Hesselt.; J.J. Ellis, A. repens Tiegh., A. spinosa var. biappendiculata Rall; Solhem, Circinella angarensis (Schostak.) Zycha, C. muscae (Sorokin) Berl.; De Toni, C. rigida G. Sm., C. simplex Tiegh., C. bainieri Naumov, C. echinulata (Thaxt.) Thaxt, C. elegans Lendn., G. butleri (Lendn.) Peyronel; Dal Vesco, R. arrhizus A. Fish (como R. oryzae), R. stolonifer (Ehrenb.) Vuill. (como R. nigricans), M. corticolus Hagem, M. fuscus Bainier, M. fragilis Bainier, M. genevensis Lendn., M. heterosporus A. Fisch., M. hiemalis, M. mousanensis Baijal & B.S. Mehrotra, M. piriformes A. Fisch, M. rufescens A. Fisch. E M. suhagiensis M.D Mehrotra.

SCHOENLEIN-CRUSIUS & MILLANEZ (1997) observaram 13 táxons de Mucorales isolados de folhedo, solo e água, em estudo na reserva ecológica Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, São Paulo. O gênero *Mucor* foi o mais frequente, sendo representado por quatro espécies e duas variedades, seguido por *Rhizopus. Mucor hiemalis* e *M. circinelloides* foram consideradas frequentes nos solos de Mata Atlântica. Os autores reportaram pela primeira vez *M. silvaticus* Hagem [como *M. hiemalis* f. *silvaticus* (Hagem) Schipper], *R. arrhizus*, *R. oligosporus* Saito, *Z. japonicus* Komin e *Z. macrocarpus* Y. Ling para Mata Atlântica, sendo o solo o substrato que obteve um maior número de táxons.

SANTOS et al. (1998) estudaram a diversidade de fungos do solo em três áreas, sendo uma delas remanescente da Mata Atlântica, na Ilha dos Eucaliptos, na represa de Guarapiranga em São Paulo. O estudo foi realizado nos períodos seco e chuvoso. A variação sazonal não influenciou a ocorrência das espécies. Foram reportados nove táxons de Mucorales, sendo *C. phaeospora* Boedijn o mais frequente.

SCHOENLEIN-CRUSIUS et al. (2006) registraram elevada diversidade de Mucorales de solo e de folhedo de Mata Atlântica, em Cubatão, São Paulo, reportando 40 táxons entre 1993 e 1995, distribuídos em nove gêneros: *Absidia, Backusella, Circinella, Cunninghamella, Mucor, Parasitela, Rhizomucor, Rhizopus* e *Zygorhynchus. Mucor amphibiorum* Schipper, *M. prayagensis* Mehrotra & Nand ex Schipper e *Parasitella parasitica* (Bain.) Syd. foram relatadas como primeiras ocorrências para o Brasil.

DE SOUZA et al. (2008) isolaram e descreveram 13 espécies de Mucorales isolados de solos contaminados por metais tóxicos em Santa Gertrudes, São Paulo: *A. cylindrospora* 

var. cylindrospora, C. phaeospora, M. bainieri B.S. Mehrotra & Baiajal, M. circinelloides f. circinelloides, M. circinelloides f. janssenii, M. hiemalis (como M. hiemalis f. hiemalis), M. lusitanicus Bruderl. [como M. circinelloides f. lusitanicus (Bruderlein) Schipper], M. luteus (como M. hiemalis f. luteus) e Z. moelleri. Foi reportada a primeira ocorrência de M. bainieri para o Brasil.

Há poucos estudos taxonômicos (e raros ecológicos) dos Mucorales nesse domínio e, no Brasil, além do estado de São Paulo os mais significativos estão concentrados na região Nordeste, mais especificamente no estado de Pernambuco.

SANTIAGO & SOUZA-MOTTA (2008) isolaram, de áreas impactadas pela mineração de cobre no município de Jaguari, Bahia, Brasil *L. hyalospora*, *A. cylindrospora*, *C. elegans*, *R. microsporus*, *R. arrhizus* e *S. racemosum*.

DE SIQUEIRA (2011) obteve, de amostras de solo de Serra Talhada, Caruaru e Goiana, C. echinulata var. antarctica, C. echinulata var. echinulata, C. echinulata var. verticillata, C. elegans, M. hiemalis, M. luteus, M. subtilissimus, R. arrhizus var. arrhizus, R. arrhizus var. tonkinensis, R. microspores var. Microsporus e Syncephalastrum racemosum.

SILVA (2014), em um estudo dos Mucorales em solos do Parque Nacional do Catimbau, em Buíque, reportou *A. pseudocylindrospora*, *C. elegans*, *M. silvaticus*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* var. *arrhizus* var. *tonkinensis*, *R. microsporus*, *R. stolonifer* e *S. racemosum* em quatro áreas dentro do Parque. Ainda de solos do mesmo Parque, LIMA et al. (2015) identificaram 13 táxons de Mucorales distribuídos entre *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum*, sendo *R. microsporus* a espécie mais comum.

SANTIAGO et al. (2013) identificaram 19 táxons de Mucorales, distribuídos entre *Absidia, Apophysomyces* Misra, *Cunninghamella, Fennellomyces* Benny & R. K. Benjamin, *Lichtheimia, Mucor, Mycotypha* Fenner, *Rhizopus* e *Syncephalastrum*, em estudos sobre a diversidade de solo em áreas de Caatinga, nos municípios de Belém de São Francisco, Cabrobó e Triunfo, semiárido pernambucano. *Apophysomyces elegans* P. C. Misra, K. J. Srivast. & Lata e *M. microspora* Fenner foram reportadas pela primeira vez para o Brasil.

## 2.7 BREJOS DE ALTITUDE

Os brejos de altitude são enclaves da Mata Atlântica cercadas por vegetação de caatinga, formando ilhas de floresta úmida em plena região semiárida e que apresentam condição climática bastante diferente em relação à umidade, temperatura e vegetação em comparação com às áreas de caatinga. VASCONCELOS-SOBRINHO (1971) considerava os brejos como unidades superiores de recursos naturais renováveis, podendo ser chamados de megassistemas, sendo aceitos como complexos harmônicos resultantes de unidades menores que mutuamente se condicionam, como solo, clima, água do solo, vegetação e fauna. Para LINS (1989) os brejos são definidos "áreas de exceção" dentro do domínio do nordeste semiárido. A existência dessas ilhas de floresta em uma região onde a precipitação média anual varia entre 240–900 mm e está associada à ocorrência de planaltos e chapadas entre 500–1.100 m altitude (ex: Borborema, Chapada do Araripe, Chapada de Ibiapaba), onde as chuvas orográficas garantem níveis de precipitação superiores a 1.200 mm/ano (IBGE, 2005).

Com base na distribuição dos tipos de vegetação, estima-se que a Floresta Atlântica nordestina cobria uma área contínua de floresta com 76.938 km², ou 6,4% da extensão da floresta Atlântica brasileira, distribuídas em cinco tipos vegetacionais: 1. Áreas de Tensão Ecológica (43,8%); 2. Floresta Estacional Semidecidual (22,9%); 3. Floresta Ombrófila Aberta (20,5%); 4. Floresta Ombrófila Densa 7,9%; e 5. Formações Pioneiras (6,1%). Nessa tipologia existem ainda as Florestas de Terras Baixas (<100 m de altitude), Submontanas (100-600 m) e Montanas (>600 m) (IBGE, 2005).

Os brejos de altitude constituem zonas fisiográficas de maior importância para o suporte econômico das áreas semiáridas do Nordeste. A predominância do extrativismo de madeira nessas áreas como principal fonte de energia, tanto para as indústrias de gesso como para a população, coloca em risco esse domínio ainda tão pouco conhecido. Por outro lado, este domínio é rico em conhecimento popular tradicional, tanto sobre plantas medicinais fitoterápicas como sobre a cultura alimentar, e pode apontar alternativas para a conservação e o uso sustentável de sua biodiversidade (VASCONCELOS-SOBRINHO, 1970).

De acordo com VASCONCELOS-SOBRINHO (1971), existem 43 brejos na Floresta Atlântica nordestina, distribuídos nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, cobrindo uma área de, pelo menos, 18.589 km². Somente Pernambuco e Paraíba possuem 31 brejos, distribuídos em 28 municípios do agreste e sertão. Assim, pelo menos 1/4 da área de distribuição original da Floresta Atlântica nordestina é representada

pelos brejos de altitude. Os brejos de altitude de Pernambuco localizam-se nos município de Agrestina, Águas Belas, Arcoverde, Bezerros, Belo Jardim, Buíque, Camocim de São Felix, Caruaru, Exu, Floresta, Gravatá, Moxotó, Pesqueira, Poção, São José, Sanharó, Tacaratu, Triunfo.

Os estudos direcionados ao conhecimento da diversidade dos Mucorales nos brejos de altitude de Pernambuco ainda encontram-se em fase inicial e, até o presente, apenas o trabalho de SANTIAGO et al. (2013) faz referência a coletas em solo de brejo de altitude na cidade de Triunfo-PE, de onde foram isoladas *Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*, *Cunninghamella echinulata* var. *echinulata*, *C. echinulata* var. *verticillata*, *C. phaeospora*, *L. hyalospora*, *M. luteus*, *Mucor prayagensis* e *M. subtilissimus*.

# 3 MATERIAIS E MÉTODOS

## 3.1 ÁREAS DE ESTUDO

Coletas de solo foram realizadas em três áreas: nos brejos de altitude da Serra Negra, Serra dos Cavalos e da Serra de Jenipapo, Pernambuco, Brasil. O brejo da Serra Negra (8°13′S, 35°46′W), localizado no município de Bezerros, ocupa uma área aproximada de 20 a 85 km² e encontra-se a 99,3 km da capital Recife. O clima é do tipo tropical chuvoso, com verão seco. A estação chuvosa se inicia em janeiro/fevereiro com término em setembro, podendo se estender até outubro. A precipitação média desse brejo é de 566,19 mm/ano e a altitude que varia entre 600 a 700 m. Apresenta escassos remanescentes de matas serranas, sendo considerada como área de preservação de alta prioridade (BRAGA et al., 2002).

O brejo da Serra dos Cavalos (8°16′S, 35°58′W) está localizado no município de Caruaru, à 130 km da capital do estado de Pernambuco. Apresenta clima semiárido, com regime de chuvas de outono-inverno. A temperatura média anual é de 22,1 °C, possuindo verões quentes e secos e invernos amenos e chuvosos. A estação chuvosa se inicia em janeiro/fevereiro com término em setembro. A pluviosidade média é de 1.396,9 mm/ano. É considerada área de prioridade elevada. As mais numerosas coleções de briófitas do Estado provêm desta área que constitui um dos mais significativos remanescentes de Mata Atlântica do estado, onde se localiza o Parque Ecológico João de Vasconcelos Sobrinho. Com 359 ha, o parque abriga uma floresta exuberante e de significativa diversidade (BRAGA et al., 2002), além de conservar, em seu interior, mananciais hídricos para abastecimento público (CPRH, 1994).

O brejo da Serra de Jenipapo (8°21′S,36°32′W) está localizado no município de Sanharó, à 198,2 km de Recife. O clima é do tipo Tropical Chuvoso, com verão seco. A estação chuvosa se inicia em janeiro/fevereiro com término em setembro, podendo se estender até outubro. Temperatura média anual de 31°C e pluviosidade de 496,23 mm de precipitação anual (BELTRÃO et al., 2005).

A cobertura vegetal encontrada em Bezerros, Caruaru e Sanharó é própria dos brejos do agreste de Pernambuco, apresentando bastante similaridade e sendo do tipo subcaducifólia e caducifólia. Entre as árvores endêmicas estão: *Minilkara dardanoi* Ducke, *Cauepia impressa* Prance, *C. pernambucencencis* Prance (PRANCE, 1982; PENNINGTON, 1990) e *Chryptanthus zonatus* Beer (SIQUEIRA-FILHO & MACHADO, 2001), ocorrendo formações de transição entre floresta caducifólia e caatinga hipoxerófila. Nas superfícies do solo ocorrem os planossolos, medianamente profundos, fortemente drenados, podendo ser

de ácidos a moderadamente ácidos, com fertilidade natural média, e ainda os podzólicos, que são profundos, apresentam textura argilosa e fertilidade natural de média a alta. Nas elevações ocorrem os solos litólicos, que são rasos, de textura argilosa e fertilidade natural média e alta com presença de afloramentos rochosos. Nos vales dos rios e riachos ocorrem os planossolos, medianamente profundos, imperfeitamente drenados, de extura média argilosa e moderadamente ácidos (VASCONCELOS-SOBRINHO, 1970).

Figura 1 - Aspecto do Brejo de Serra Negra, Bezerros, PE.



Figura 2 – Aspecto do Brejo da Serra dos Cavalos, Caruaru, PE.



Figura 3 – Aspecto do Brejo do Jenipapo, Sanharó, PE.

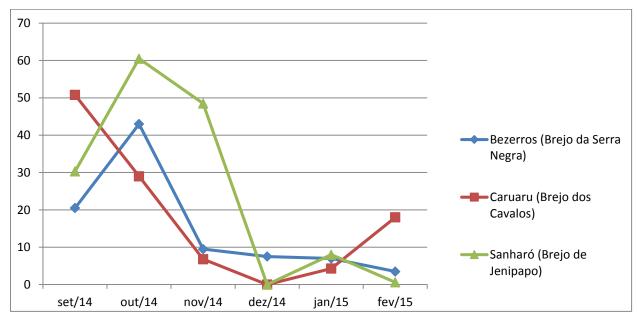


## 3.2 COLETA DAS AMOSTRAS DE SOLO

Entre setembro/2014 e fevereiro/2015, foram realizadas seis coletas de solo, nos brejos de altitude da Serra Negra, dos Cavalos e de Jenipapo em Pernambuco. Em cada área, foram marcados dois quadrantes de 500 m² e, em cada quadrante, foram coletadas dez subamostras de solo a uma profundidade de 5 cm, respeitando uma distância mínima de 10 m entre cada ponto de coleta, totalizando 20 subamostras para cada área e 60, considerando-se as três áreas, por coleta. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e conservadas em caixa de isopor com gelo durante o transporte. No laboratório, foram homogeneizados volumes iguais das dez subamostras de cada quadrante de coleta, originando duas amostras compostas por retângulo e quatro amostras compostas por área de coleta. No total, foram analisadas 12 amostras compostas por coleta. Considerando que foram realizadas seis coletas, 72 amostras compostas de solo foram estudadas.

Os dados pluviométricos dos meses de coleta foram fornecidos pela administração do IPA (Figura 4).

Figura 4 - Pluviosidade média mensal (mm) nos Municípios de Bezerros, Caruaru e Sanharó - PE durante o período de coleta das amostras de solo.



Fonte: IPA, 2015.

## 3.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MUCORALES

Para o isolamento, duas miligramas de cada amostra de solo foram plaqueadas, em triplicata, em placas de Petri contendo meio de cultura de ágar gérmen de trigo (BENNY, 2008) + cloranfenicol (80mg.L<sup>-1</sup>) O crescimento das colônias foi acompanhado por 72 horas em temperatura ambiente (28 ± 2 °C). Para a purificação dos Mucorales, fragmentos das colônias foram transferidos separadamente para o meio àgar malte (O'DONNELL, 1979) + cloranfenicol (80mg.L<sup>-1</sup>) contido em placas de Petri e, após confirmada a pureza, as colônias foram transferidas para tubos de ensaio contendo batata dextrose ágar – BDA (LACAZ et al., 2002).

Os espécimes foram identificados pela observação das características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas), de acordo com as descrições de HESSELTINE & ELLIS (1964), UPADHAYAY (1966), SCHIPPER (1978, 1984, 1990), ZHENG & CHEN (2001), ZHENG et al. (2007) e HOFFMANN et al. (2007).

## 3.4. ANÁLISE DOS DADOS

A frequência de ocorrência (FO) das espécies foi estimada segundo a equação:

FO = Ji/k

Em que: FO = frequência de ocorrência da espécie i

Ji = número de amostras nas quais a espécie i ocorreu.

K = número total de amostras de solo.

De acordo com esta fórmula, cada espécie foi classificada como: muito frequente (> 10%), frequente (5-10%), pouco frequente, (1-5%), rara (< 1%) (HYDE; SARMA, 2001).

A abundância relativa (AR) de cada espécie foi calculada aplicando-se a fórmula:

 $AR = (Ni/N) \times 100$ 

Em que: AR = abundância relativa da espécie i.

Ni = número de UFC da espécie i.

N = número total de UFC.

O índice de similaridade de Sorensen relaciona o duplo número de espécies comuns com a soma do número de espécies da amostra. Quando o valor deste índice é superior a 0,5 ou 50% pode-se se inferir que existe elevada similaridade entre as comunidades (FELFILI e VENTUROLI, 2000). Esse índice pode ser obtido pela equação:  $S = (2c/a + b) \times 100$ , em

que: c = número de espécies comuns às duas áreas, a = número de espécies na área 1, b = número de espécies na área 2 (SORENSEN, 1978).

A diversidade de Shannon Wiener foi estimada utilizando-se o programa Primer (CLARKE; GORLEY, 2006).

A comparação das comunidades das três regiões foi realizada através da Analise de Similaridade (ANOSIM), em que a matriz de dissimilaridade Bray-Curtis foi representada graficamente através de ordenação não métrica por escalonamento multidimensional (MDS) utilizando as análises de variância permutacionais uni e multivariadas (PERMANOVA) (BALTANÁS, 1992). Curvas de acumulação de espécies também foram plotadas para cada área, o que permitiu estimar a riqueza total de cada área através dos estimadores Chao & Jacknife. Para essas análises multivariadas foi utilizado o programa *Primer* (CLARKE; GORLEY, 2006), enquanto as análises de variância (ANOVA) e comparação de médias, pelo teste de Tukey (p= 0,05), foram realizadas utilizando-se o programa *Statistica* (STATSOFT, 1997).

# 3.5 EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA

A região LSU do rDNA de isolados que possivelmente correspondem a novos táxons foram sequenciadas utilizando os primers LR1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGA-3') e LSU2 (5'- GGTCCGTGTTTCAAGACGGGTCG- 3') (VAN TUINEN et al. 1998; SANTIAGO et al., 2013). A biomassa dos fungos foi obtida a partir de culturas desenvolvidas em àgarmalte, mantidos a 28 °C por até seis dias. Todo micélio foi retirado do tubo de ensaio com o auxílio de uma alça de platina, sendo o material transferido para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de 0,5 g de contas de vidro (glass beads) com dois diâmetros diferentes na proporção de 1:1 (acid-washed, 150-212 μm and 425-600 μm; Sigma, U.S. sieve). O material foi triturado por agitação em alta velocidade em um FastPrep.

A extração do DNA genômico foi realizada, com o material previamente triturado, conforme GÓES-NETO et al. (2005), que inclui homogeneização do material em tampão CTAB 2% e 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.

Para amplificação da região LSU do rDNA foram utilizados os primers LR1/LSU2 (VAN TUINEN et al., 1998; SANTIAGO et al., 2014). Os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes (dNTPs, cloreto de magnésio, Taq DNA polimerase e tampão de reação) foram os mesmos descritos por OLIVEIRA et al. (2014). Controles negativos,

contendo todos os componentes exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações.

Os produtos das extrações de DNA e das reações de PCR (5 µL) foram visualizados sob luz UV, a partir de gel de agarose 1%, corado com GelRed. Os produtos de amplificação foram purificados com o "*PureLink PCR Purification Kit*" (Invitrogen), seguindo as instruções do fabricante, e encaminhados para a plataforma de sequenciamento no Laboratório de biologia molecular e biologia evolutiva da UFPE.

# 3.6 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 e construção de árvores Bayesianas em MrBayes 3.1.2 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003), executadas com o auxílio do programa Topali 2,5.

# 3.7 CONFECÇÃO DE MATERIAL GRÁFICO

Micrografias digitais foram obtidas utilizando microscópio *Nikon Eclipse Ni* equipado com câmera fotográfica *Nikon Digital Sight DSFi2*, utilizando contraste de interferência diferencial (DIC), microscopia de contraste de fase e microscopia óptica. As imagens foram capturas utilizando *software NIS-elements* (Nikon) e convertidas em formato *Tagged Image File Format* (.tiff) para manter a elevada definição de gráficos para imagens rasterizadas em cores. As imagens foram editadascom *Adobe Illustrator* e utilizadas para confecção de pranchas, convertidas em formato compactado *Joint Photographic Experts Group* (.jpeg).

## 4 RESULTADOS

## 4.1 MUCORALES DE SOLO DOS BREJOS DE ALTITUDE DE PERNAMBUCO

Das amostras de solos inventariadas, foram isolados 25 táxons de Mucorales (1,63 x 10³ UFC g<sup>-1</sup> de solo). No brejo da Serra dos Cavalos foram isolados 13 táxons de Mucorales distribuídos entre *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Mucor* e *Rhizopus*, enquanto nobrejo da Serra de Jenipapo foram obtidos 21 táxons de Mucorales, distribuídos entre *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Mucor* e *Rhizopus*. No brejo de Serra Negra, 16 táxons de Mucorales foram identificados, distribuídos entre *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichthemia* e *Rhizopus* (Tabela 1). Maior número de UFC de Mucorales por grama de solo foi verificado no brejo de Jenipapo (5,53 x 10⁴ UFC.g<sup>-1</sup> de solo), seguido pelos brejos de Serra Negra (7,5x 10³ UFC.g<sup>-1</sup> de solo) e Serra dos Cavalos (3,35 x 10³ UFC.g<sup>-1</sup> de solo).

No presente trabalho, foram isolados espécimes de *Absidia* (sp.1, sp.2, sp.3, sp.4 e sp.5), *Cunninghamella* (sp.1 e sp.2) e *Mucor* sp. que apresentam diferenças morfofisiológicas que os diferenciam dos outros táxons descritos dentro de cada um desses gêneros, sendo prováveis táxons novos para a ciência. No entanto, o sequenciamento da região LSU do rDNA só foi realizado para *Absidia* sp.1, sp.2, sp.3, sp.4 e para *C. clavata*, essa última citada pela primeira vez para o ocidente (Figura 16). Portanto, apenas as espécies de *Absidia* sequenciadas foram geneticamente comprovadas como novas. As análises genéticas dos outros táxons estão em andamento.

*Cunninghamella* sp.1 apresentou maior número de UFC.g<sup>-1</sup> de solo, seguida por *G. butleri*, por *C. elegans* e *R. stolonifer* (Tabela 1).

No brejo dos Cavalos, o gênero mais representativo foi *Cunninghamella* sp.1, enquanto, no de Serra Negra, *C. elegans* foi o mais representativo e, na Serra do Jenipapo, *G. butleri* apresentou maior número de espécies (Figura 5).

Considerando-se os três brejos de altitude, observou-se que *Absidia* foi o gênero mais representativo em relação ao número de espécies (40,8%), seguido por *Cunninghamella* (25,9%) e *Mucor* (14,8%) (Figura 5).

4.2 FREQUÊNCIA DE OCORRÊNCIA, DIVERSIDADE, ABUNDÂNCIA RELATIVA, ESTIMADORES DE RIQUEZA E ÍNDICES DE SIMILARIDADE DOS MUCORALES EM SOLO DOS BREJOS DE ALTITUDE DE PERNAMBUCO

Dentre os isolados, nos três locais de coleta, *Cunninghamella* sp.1 apresentou a maior frequência de ocorrência (FO = 63,88%), sendo considerada muito frequente, seguida por *G. butleri* (FO =56,94%) e *C. elegans* (FO = 44,44%). *Cunninghamella* sp.1, *G. butleri* e *C. elegans* apresentam abundâncias relativas maiores que 0,5% (Tabela 2), enquanto os outros táxons foram menos abundantes nos solos estudados. A diversidade de Mucorales foi maior nos solos da Serra do Jenipapo (H'= 3,71), seguida pelos solos de Serra Negra (H'= 3,49) e Serra dos Cavalos (H'=3,19), de acordo com o índice de Shannon-Wiener (Figura 7).

De acordo com o índice de similaridade de Sorensen, em relação à composição dos Mucorales, os solos dos Brejos de Serra Negra e dos Cavalos apresentaram-se mais similares (83,87 %), seguidos pelos solos dos brejos da Serra do Jenipapo e Serra Negra (78,05 %) e das Serras dos Cavalos e Jenipapo (68,42 %) (Tabela 3).

Os dados da análise de similaridade de Bray Curtis mostraram que houve diferença quanto à composição de Mucorales entre os meses de coleta para o Brejo da Serra Negra (BC = 39,782; p = 0,013) e de Jenipapo (BC = 33,956; p = 0,049). Entretanto, para o Brejo dos Cavalos (BC= 32,847; p = 0,063), não houve diferença significativa na composição das espécies entre os meses de coleta. Em relação à abundância relativa dos Mucorales isolados dos brejos de altitude, os valores de média e desvio padrão mostraram ser significativos às diferenças encontradas (Figura 6).

O conjunto de dados do presente trabalho foi comparado utilizando os estimadores de riqueza Chao 1, Jackniffe 1 e bootstrap. No Brejo dos Cavalos os valores foram: Sobs (espécies observadas) = 15, Chao 1 = 15, Jacknife 1 = 21,70, Bootstrap= 17,86. No Brejo de Serra Negra os valores foram: Sobs= 14, Chao 1= 14, Jackniffe 1 = 17,83 e Bootstrap = 15,87. No Brejo de Jenipapo esses valores foram: Sobs = 22, Chao1 = 22, Jackniffe 1= 28,70 e Bootstrap = 25,2 (Figuras 6,7 e 8). O indicador Chao 1 indicou que a riqueza esperada foi atingida em todas as áreas, ocorrendo o contrário para Jackniffe 1, que mostrou que a riqueza observada foi menor do que a esperada (Figuras 8, 9 e 10).

Figura 5 - Porcentagem dos gêneros, em relação ao número de espécies, de Mucorales presentes nos solos dos Brejos da Serra dos Cavalos, Serra Negra e Serra do Jenipapo, PE

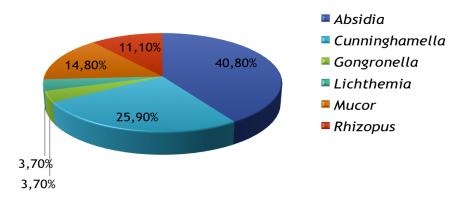


Tabela 1 - Número de unidades formadoras de colônias por grama de solo dos Mucorales isolados de solos dos Brejos da Serra dos Cavalos, Serra Negra e Serra do Jenipapo – PE.

Mucorales	Brejo dos Cavalos	Brejo de Serra Negra	Brejo de Jenipapo	Total
Absidia sp. 1	1,5 × 10 <sup>3</sup>	$7 \times 10^3$	$3,5 \times 10^{3}$	$1,2\times10^4$
Absidiasp.2	$1 \times 10^3$	$5 \times 10^2$	$7 \times 10^3$	$8,5\times10^3$
Absidia sp.3	0	$2 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$4 \times 10^3$
Absidia sp.4	$5 \times 10^2$	0	0	$5 \times 10^2$
Absidia sp. 5	0	0	$5 \times 10^2$	$5 \times 10^{2}$
A. cylindrospora Hagem	0	$3.5\times10^3$	$1,5\times10^3$	$5 \times 10^3$
A. fusca Linnem.	0	0	$5 \times 10^2$	5 x 10 <sup>2</sup>
A. pseudocylindrospora Hesselt. & J.J. Ellis	$1,5\times10^2$	$4,5\times10^3$	$1,5\times10^2$	$7,5\times10^3$
A. repens Tiegh.	0	0	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$
Cunninghamella clavataR.Y Zheng & G.Q. Chen	$2 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$1,5\times10^3$	$5,5\times10^3$
Cunninghamella sp.1	$1,05\times10^4$	$7,5\times10^3$	$3 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$
Cunninghamella sp.2	0	$5 \times 10^2$	0	$5 \times 10^2$
C. elegansLendn.	$3 \times 10^3$	$9 \times 10^3$	$4 \times 10^3$	$1,6\times10^4$
C. bertholletiae Stadel	$1,5\times10^3$	$1 \times 10^3$	$5 \times 10^2$	$3 \times 10^3$
C. echinulata (Thaxt.) Thaxt.	$5 \times 10^2$	$5 \times 10^2$	$2 \times 10^3$	$3 \times 10^3$
C. blakesleeana Lendn.	$2 \times 10^3$	$5 \times 10^2$	$1.5\times10^3$	$4 \times 10^3$

Gongronella butleri (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco	$2,5 \times 10^3$	$3,5\times10^3$	1,3 × 10 <sup>4</sup>	$7,3\times10^3$
Lichthemia hyalospora (Saito) Kerst. Hoffm., Walther & K. Voigt	0	$5 \times 10^2$	0	$5 \times 10^2$
Mucor sp.	$5 \times 10^2$	0	0	$5 \times 10^2$
M. circinelloides var. circinelloides Tiegh.	0	0	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$
M. hiemalis Wehmer	0	0	$5 \times 10^2$	$5 \times 10^2$
M. subtilissimus Berk.	0	0	$2 \times 10^3$	$2 \times 10^3$
Rhizopus arrhizus var.arrhizus A. Fisch.	0	$5 \times 10^2$	$1 \times 10^3$	$1,5\times10^3$
R. microsporus Tiegh.	0	0	$5 \times 10^2$	$5 \times 10^2$
R. stolonifer (Ehrenb.) Vuill.	$2,5\times10^3$	$5 \times 10^3$	$8,5 \times 10^3$	$1,6\times10^3$
Total	$3,35 \times 10^{3}$	7,5 ×10 <sup>3</sup>	$5,53 \times 10^{2}$	$1,63 \times 10^{5}$
Riqueza de espécies	13	16	21	50

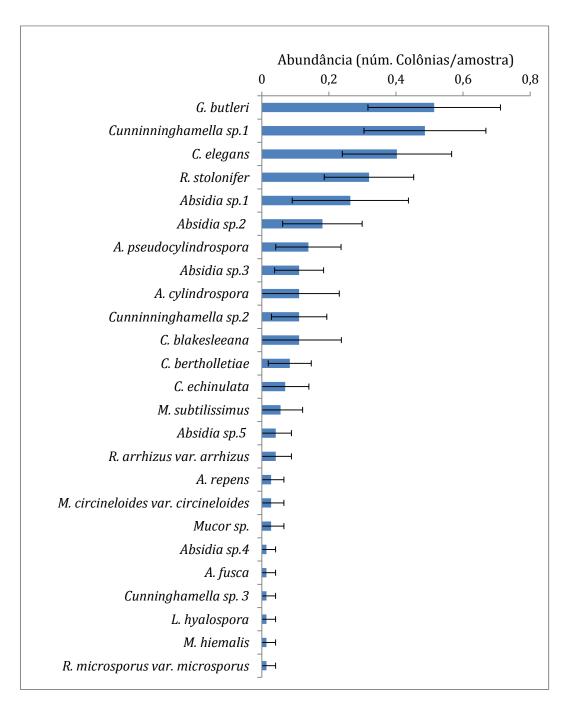
Tabela 2 - Frequência de ocorrência (FO) e abundância relativa (AA) dos Mucorales isolados dos solos dos Brejos da Serra dos Cavalos, Serra Negra e Serra do Jenipapo – PE.

Mucorales	FO (%)	AR (%)
Absidia sp.1	34,72	0,08
Absidia sp.2	19,44	0,05
Absidia sp.3	11,11	0,02
Absidia sp.4	1,38	0,003
Absidia sp.5	4,16	0,010
A. cylindrospora	13,88	0,03
A. fusca	1,38	0,003
A. pseudocylindrospora	17,15	0,033
A. repens	2,77	0,006
Cunninghamella clavata	15,27	0,03
Cunninghamella sp.1	63,88	0,14
Cunninghamella sp.2	1,38	0,003
C. elegans	44,44	0,10
C. bertholletiae	8,33	0,020
C. echinulate	8,33	0,020
C. blakesleeana	12,5	0,026
Gongronella butleri	56,94	0,13
Lichthemia hyalospora	1,38	0,003
Mucor sp.	1,38	0,003
M.circinelloides var.circinelloides	2,77	0,006
M. hiemalis	1,38	0,003
M. subtilissimus	6,94	0,013
Rhizopus arrhizus var.arrhizus	4,16	0,010
R. microsporus	1,38	0,003
R. stolonifer	43,05	0,10

Tabela 3 - Análise de similaridade de Sorensen da composição de Mucorales entre os solos dos Brejos da Serra dos Cavalos, Serra Negra e Serra do Jenipapo, PE

Brejos	Jenipapo	Cavalos	Serra Negra
Cavalos	68,42%	-	-
Serra Negra	-	83,87%	-
Jenipapo	-	-	78,05%

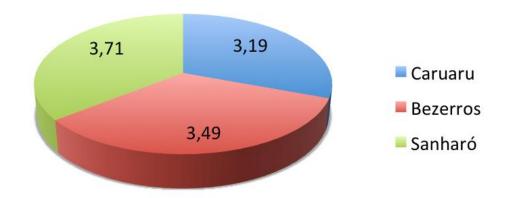
Figura 6 - Abundância relativa de Mucorales em solos dos Brejos dos Cavalos, Serra Negra e Jenipapo – PE utilizando valores de média e desvio padrão.



Fonte: SANTOS, 2015.

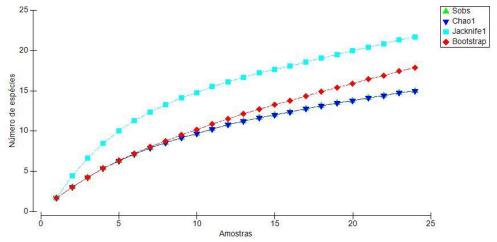
MELO-ALVES, A.L.S.- Diversidade de Mucorales em solos de Brejo de Altitude

Figura 7 - Diversidade (Shannon-Wiener) de Mucorales nos solos dos Brejos das Serras dos Cavalos, Serra Negra e Jenipapo- PE.



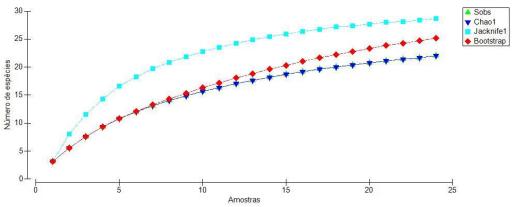
Fonte: MELO-ALVES, 2015.

Figura 8 – Estimadores de riqueza Chao 1 e Jacknife 1 do Brejo dos Cavalos, PE.



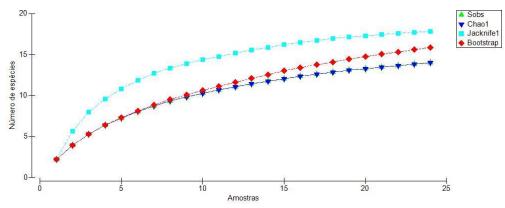
Fonte: LIMA, 2015.

Figura 9 – Estimadores de riqueza Chao 1 e Jacknife 1 do Brejo de Jenipapo, PE.



Fonte: LIMA, 2015.

Figura 10 - Estimadores de riqueza Chao 1 e Jacknife 1 do Brejo de Serra Negra, PE.



Fonte: LIMA, 2015.

# 4.3 DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DAS ESPÉCIES NOVAS E DE UMA PRIMEIRA OCORRÊNCIA DE MUCORALES PARA O OCIDENTE

Absidia sp. 1 (Figura 11)

Colônias em MEA, com verso inicialmente branco, tornando-se cinza, com diâmetro superior a 9 cm e altura superior a 1 cm em cinco dias de crescimento, tocando a tampa da placa de Petria após cinco dias, a 25°; reverso caramelo, mais escuro em culturas mais antigas; rizóides simples, hialinos. Esporangióforos eretos, 95–170 µm em diâm., podendo apresentar uma dilatação, crescendo ao longo dos estolões e na porção terminal desses, simples, ramificando-se em verticilos de 5(–6) ou repetidamente ramificados; septo abaixo do esporângio comum; esporângios apofisados, subglobosos, 20–30(–40) µm de diâm., multiesporados e de parede lisa. Columelas globosas 20–25 µm de diâm., com colarinho usualmente presente, apresentando frequentemente uma projeção apical de até 4,8 µm de comprimento, algumas com a extremidade bulbosa de até 4,8 µm de largura. Esporangiósporos hialinos, cilíndricos, com parede lisa, ocasionalmente com constrição na porção central, outros assimétricos, poucos com formato irregular, motrando uma extremidade mais dilatada que a outra, 4,8 × 2,4 µm. Clamidósporos não observados. Zigosporângios não observados.

Absidia sp. 2 (Figura 12)

Colônias em MEA, com verso inicialmente branco, tornando-se cinza claro, com diâmetro superior a 9 cm e altura superior a 1 cm em quatro dias de crescimento, tocando a tampa da placa de Petri após cinco dias a 25°; reverso marrom amarelado. Estolões e rizóides presentes e pouco ramificados. Esporangióforos hialinos, simples, com ramificação verticilada (em cachos de até 7), ou fracamente ramificados, com ramificações longas e curtas, 37,5–92,5 (–130) μm. Alguns esporóforos podem apresentar um inchaço abaixo do esporângio. Esporângios hialinos, apofisados, subglobosos, multiesporados e com parede lisa, (14,5)17–24 μm em diâm., alguns apresentando uma apófise longa, (7,0–)9,5–19 μm de diâm. Columela hialina, subglobosa, 16–24 μm de diâm., a maioria com colarinho e podendo apresentar projeções não ramificadas, duplas, irregulares ou com ramificações na parte apicalde até 9,6 μm de comprimento e 4,8 μm de largura, podendo ser eretas ou curvadas. Esporangiósporos hialinos, cilíndricos, de parece lisa e regulares em tamanho, 4,8 × 2,4μm. Clamidósporos não observados. Zigosporângios não observados.

Absidia sp. 3 (Figura 13)

Colônias em MEA com verso inicialmente branco, tornando-se cinza claro, com diâmetro superior a 9 cm e altura superior a 1 cm em quatro dias de crescimento, tocando a tampa da placa de Petri a 25°; reverso marrom claro. Rizóides hialinos e pouco ramificados. Estolões presentes. Esporangióforos hialinos, simples, raramente ramificados, 110–190(–230) µm de comprimento. Esporângios globosos, apofisados, hialinos, 17–26,5 (30) µm de diâm., multiesporados, de parede lisa. Columelas globosas, hialinas, com colarinho presente 14-24 µm de diâm., a maioria apresentando uma projeção apical simples com extremidade bulbosa de até 7,2 µm de comprimento e 4,8 µm de largura. Esporangiósporos cilíndricos, hialinos, de parede lisa, 4,8 × 2,4µm. Clamidósporos não observados. Zigosporângios não observados.

Absidia sp. 4 (Figura 14)

Colônias em MEA, com verso inicialmente branco, tornando-se cinza grafite, com diâmetro superior a 9 cm e altura superior a 1 cm, em quatro dias de crescimento, tocando a tampa da placa de Petri a 25°; reverso branco. Grande quantidade de micélio estéril e esporulação pobre. Rizóides hialinos bastante ramificados e longos, com até 240 μm de comprimento. Esporangióforos curtos 75–50 μm e longos 95–240 μm, simples ou ramificados em verticilos com até 6 espororóforos. Septo abaixo do esporângio presente. Esporângio hialino, parede lisa, globoso a subgloboso, 12–35 μm. Columela hialina globosa, 17-24 μm com colarinho presente. Projeção com 2,4 μm de largura e 7,2 μm de comprimento. Esporangiósporos hialinos, cilíndricos 4,8 × 2,4μm. Clamidósporos não observados. Zigosporângios não observados.

## Cuninghamella clavata R.Y. Zheng & G.Q. Chen (Figura 15)

Colônias em MEA com verso inicialmente branco pálido, tornando-se cinza claro, com diâmetro superior a 9 cm e altura superior a 1 cm em quatro dias de crescimento a 25°; reverso com coloração creme. Rizóides abundantes, longos e curtos, simples ou fracamente ramificados. Estolões usualmente presentes e irregularmente septados, contendo comumente septos próximos ao ponto de surgimentos dos esporóforos. Esporóforos curtos e longos, eretos ou curvos, surgindo de estolões ou diretamente de hifas aéreas, hialinos, com parede lisa, podendo conter um ou mais septos abaixo do esporângio ou próximos à base. Esporóforo principal simples ou comumente ramificado, podendo alargar-se em direção apical e, na maioria das vezes, terminando em uma vesícula (3,5–)5–10(–14) µm de diâm; um inchaço abaixo da vesícula pode ser observado; ramificações primárias simples, em

pares, pseudo-verticiladas ou verticiladas (até 4), podendo ramificarem-se sucessivamente; ramificações de tamanhos diferentes no mesmo esporóforo são comuns, algumas surgindo próximas à vesícula e crescendo paralelamente ao esporóforo principal, (17,5-) 32,5–175 µm em comprimento e (3-)5-75 µm em diâm., eretas ou levemente recurvadas terminando em uma vesícula. Algumas ramificações podem ter a vesícula tão próxima do esporóforo que parecem sésseis. Vesículas principais cinzas, em maioria clavadas, comumente irregulares, evidentemente angulares ou achatadas no ápice, raramente globosas ou subglobosas  $17-47,5 \times 20-37,5$  µm. Vesículas laterais da mesma forma e cor das principais  $(2,5-)7,5-35 \times (2,5-)5,5-20(-25)$  µm. Esporangíolos globosos, amarelos claro com conteúdo amarelo esverdeado e fortemente e quinulados (6,5-)10-20(-23) µm em diâm. Esporangiosporos hialinos, equinulados, usualmente contidos dentro dos esporangíolos. Clamidósporos não observados. Zigosporângios não observados.

Figura 11 - Absidia sp.1. A – Esporangióforos em verticilo; B – Esporangióforo ramificado; C – Rizóide; D – Esporangiósporos.

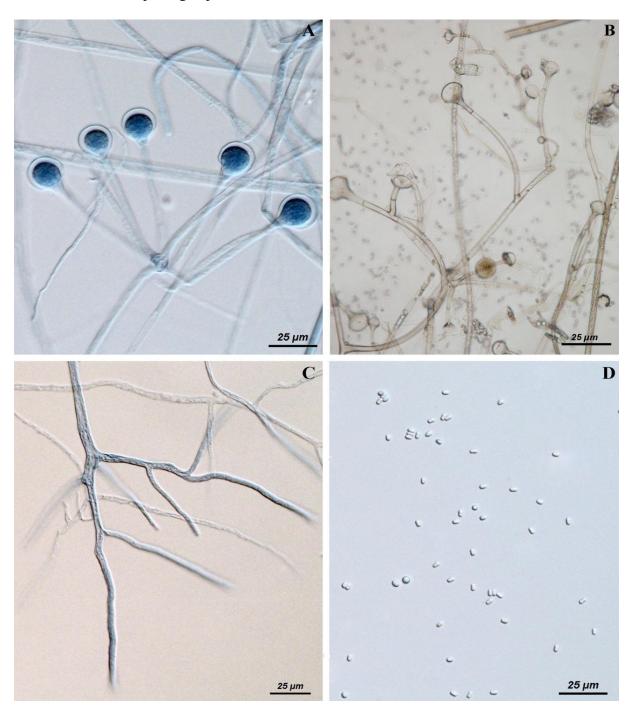


Figura 12 - *Absidia* sp.2. A – Esporangióforos em verticilo; B – Esporangióforo e columela com duas projeções (seta); C – Rizóide; D – Esporangiosporos.

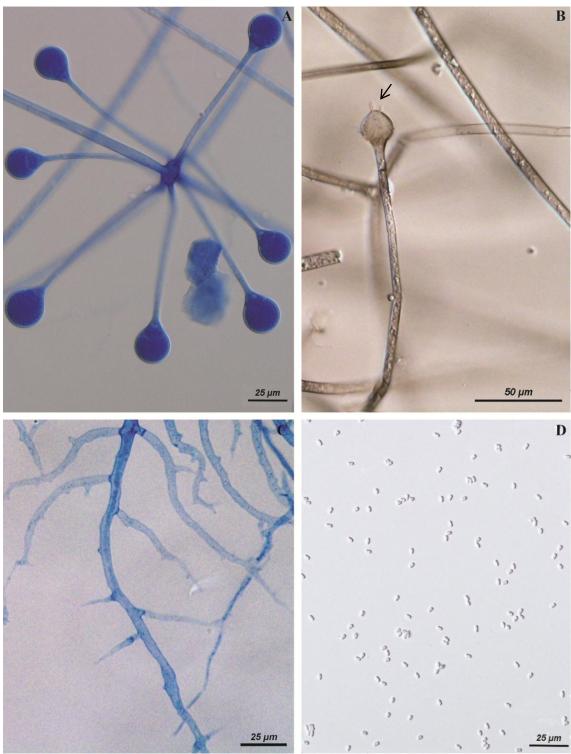


Figura 13 - Absidia sp.3. A – Esporangióforos em verticilo; B – Esporangióforo com ramificação simples; C – Rizóide; D – Esporangiosporos.

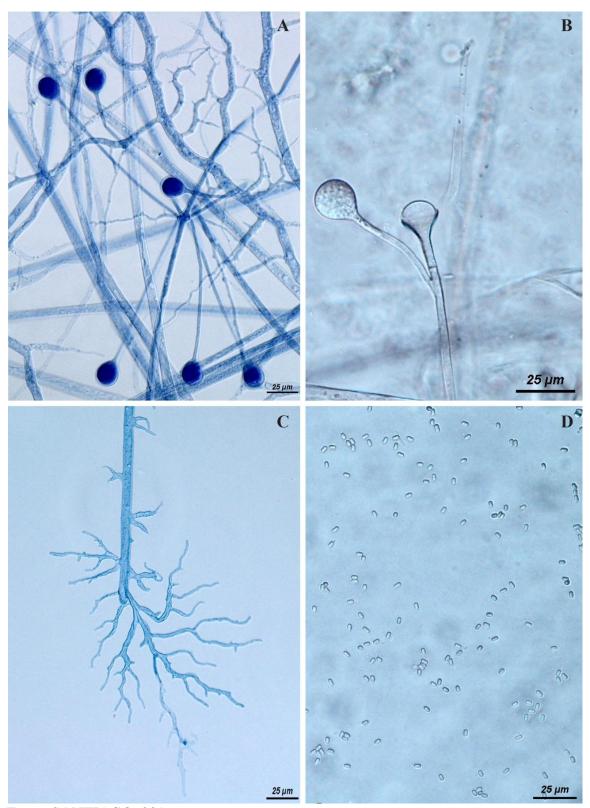


Figura 14 - *Absidia* sp.4. A – Esporangióforos em verticilo; B – Esporangióforos com columela e projeção apical bulbosa; C – Rizóide; D – Esporangiosporos.

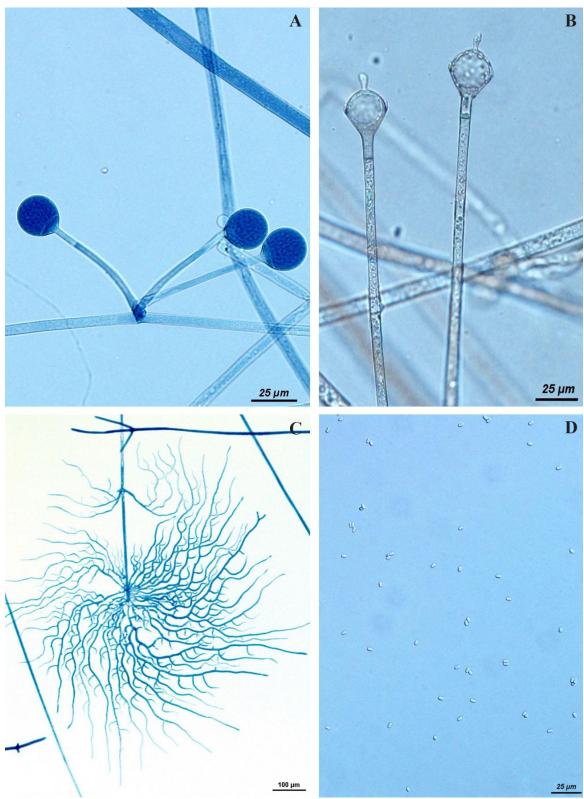


Figura 15 - *Cunninghamella clavata*. A – Esporangióforocom ramificações sucessivas; B – Esporangióforosimples portando esporangiólos; C, D – Esporangióforos ramificados com vesículas claviformes angulares; E – Esporangióforo simples com vesícula claviforme angular; F – Esporangiólos.

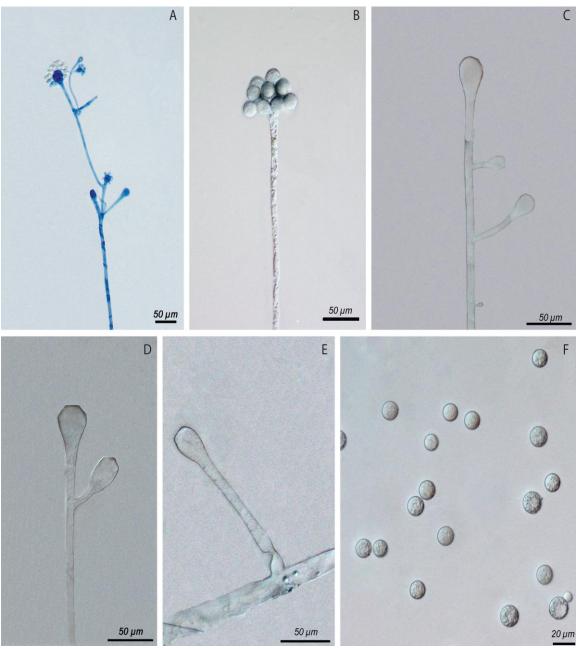
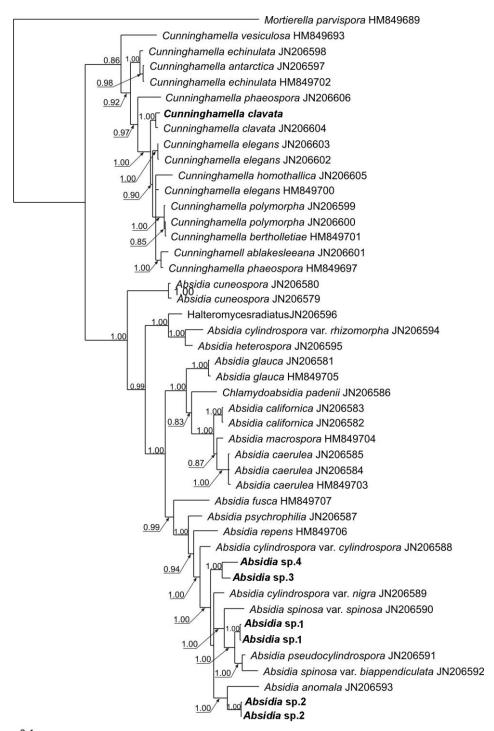


Figura 16 - Reconstrução filogenética de *Absidia* gerada a partir de sequências da região LSU do rDNA. *Mortierella parvispora* foi utilizada como grupo externo. Os valores de suporte são de análise Bayesiana (números acima dos ramos). As sequências são seguidas pelos respectivos número de acesso no *GenBank*.



Fonte: OLIVEIRA, 2016.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados encontrados nesse trabalho contribuem para o conhecimento da diversidade de Mucorales isolados no semiárido e, mais especificamente, é um estudo pioneiro para os Mucorales isolados dos solos dos Brejos de altitude das Serras dos Cavalos, Jenipapo e Serra Negra. Até o presente, em relação aos brejos de altitude do Brasil, a comunidade dos Mucorales foi apenas estudada no Brejo de Triunfo – PE (SANTIAGO et al., 2013).

Vinte e cinco táxons foram identificados nos solos inventariados, pertencentes a Absidia, Cunninghamella, Lichtheimia, Mucor e Rhizopus. No entanto, boa parte das espécies citadas de Absidia, Cunninghamella, Gongronella, Lichtheimia, Mucor e Rhizopus obtidas nesse trabalho são comuns em solos de vários domínios do Brasil. Absidia cylindrospora foi isolada em solos de diferentes domínios em São Paulo, Bahia e Maranhão (SCHOENLEI-CRUSIUS; MILANEZ, 1998; DE SOUZA et al., 2008). Absidia cylindrospora, A. pseudocylindrospora, A. repens, C. echinulata, C.elegans, R. stolonifer, M. hiemalis, M. circinelloides, M. subtilissimus e R. microsporus foram obtidas de Mata Atlântica (TRUFEM 1981; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 2006; SIMÕES; TAUK-TORNISIELO 2006; DE SOUZA et al., 2008). No entanto, algumas das espécies identificadas nesse trabalho já foram previamente reportadas para o semiárido. Absidia cylindrospora, C. elegans, G. butleri e C. blakesleeana foram isoladas de solos da região do Xingó por CAVALCANTI et al. (2006) e OLIVEIRA et al. (2013) de solo do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco. SANTIAGO & SOUZA-MOTTA (2006) isolaram A. cylindrospora, C. elegans, L. hyalospora (como A. blakesleeana), R. arrhizus var. arrhizus (como R. oryzae) e S. racemosum do solo de uma mineradora localizada em Jaguariri-Bahia. Em 2013, foram isolados, do solo do semiárido de Pernambuco, A. cylindrospora, C. echinulata, C. elegans, L. hyalospora, M. subtilisimus e R. stolonifer (SANTIAGO et al., 2013), enquanto LIMA et al. (2014) reportaram A. cylindrospora, C. echinulata, C. elegans, G. butleri, L. hyalospora, M. hiemalis, R. arrhizus var. Arrhizus e R. Microsporus em solos naturais e degradados do semiárido de Pernambuco. No entanto, A. fusca, A. repens e C. bertholletiae, isoladas nos Brejos de Jenipapo, Serra Negra e Cavalos estão sendo citadas pela primeira vez em solos da Caatinga.

Rhizopus microsporus é aqui reportada a primeira vez em solo de brejos de altitude, tendo sido anteriormente isolada no semiárido por SANTIAGO et al. (2013), em Belém de São Francisco e Cabrobó, em Serra Talhada, e em solo da região do Xingó por

CAVALCANTI et al. (2006). *Cunninghamella bertholletiae*, *C. elegans*, *C. blakesleeana*, *G. butleri*, *M. circinelloides*, *M. hiemalis*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* e *R. stolonifer* já haviam sido citadas em solo da Mata Atlântica (TRUFEM 1981; DE SOUZA et al., 2008) e também de solo do semiárido por LIMA et al. (2015), mas nunca em solo de brejos de altitude.

Algumas espécies de Mucorales isoladas no presente trabalho também foram reportadas em solos de outros países. *Cunninghamella echinulata*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* foram reportados em solo da Arábia Saudita (ABDEL-HAFEZ, 1982), enquanto *A. cylindrospora*, *C. elegans*, *G. butleri*, *M. hiemalis*, e *R. stolonifer*, correram no Chile (MARTINEZ; VALENZUELA, 2003). *Absidia cylindrospora*, *C. elegans*, *C. echinulata*, *G. butleri*, *L. hyalospora* (como *Mycocladus blakesleeanus*) e *M. hiemalis* foram isoladas por GRISHKAN et al. (2006) em amostras de solo de Israel.

Quanto à frequência de ocorrência, *Cunninghamella* sp.1 foi a presentou a mais elevada frequência de ocorrência, sendo considerada muito frequente, seguida por *G. butleri* e por *C. elegans* (HYDE; SARMA, 2001). Esses resultados diferem dos encontrados para solos de Triunfo - PE (área de brejo de altitude) por SANTIAGO et al. (2013), que isolaram *C. echinulata* com maior frequência, seguida por *A. cylindrospora* e *L. hyalospora*. Como tratam-se de brejos de altitude distintos, com localizações geográficas distintas, essa diferença era esperada. Da mesma forma, LIMA et al. (2015) reportaram *R. microsporus* como mais frequente em solos do Parque nacional do Catimbau, localizado em Buíque-PE (região semiárida), seguida por *A. cylindrospora* var. *cylindrospora* e *S.racemosum*.

Quanto à abundância relativa dos Mucorales nos solos dos brejos em questão, as espécies mais frequentes também foram as que apresentaram mais elevadas abundâncias relativas, enquanto os outros táxons isolados foram menos abundantes. Abundâncias relativas acima de 0,5% foram observadas por SANTIAGO et al. (2013) para *C. echinulata*, *C. phaeospora* e *A. cylindrospora*em solos do Brejo de Triunfo –PE, enquanto DE SIQUEIRA (2011) isolou de solos de Caruaru, Goiania e Serra Talhada, como espécies mais abundantes, *C. echinulata* var. *antarctica* e *R. arrhizus* var. *arrhizus*. Adicionalmente, LIMA et al. (2015) reportaram *R. microsporus*, *A. cylindrospora* e *S. racemosum* como mais abundantes de solos do Parque nacional do Catimbau.

A composição de espécies dos solos dos Brejos de Serra Negra e dos Cavalos é mais similar. A elevada similaridade encontrada para os solos de todos os brejos, em relação à composição dos Mucorales, pode provavelmente ser justificada pelo fato que de todos os brejos em questão localizam-se dentro do agreste pernambucano, apresentando características bióticas e abióticas similares e comuns aos brejos de altitude, como tipos

vegetacionais semelhantes ao observado em áreas de Mata Atlântica, elevadas altitudes, umidade e temperaturas mais amenas em relação à Caatinga. Os brejos de Serra Negra e dos Cavalos estão mais próximos geograficamente, enquanto os de Jenipapo e Serra Negra encontram-se mais distantes um do outro, sendo o brejo de Jenipapo o mais próximo do sertão do Estado. Talvez a distância geográfica, o que torna essas áreas distintas e sujeitas à diferentes pressões ambientais, possa explicar as diferenças de composição (mesmo que pequenas) observadas entre os solos dos diferentes brejos estudados.

Os dados encontrados na análise de dissimilaridade de Bray Curtis mostraram que houve diferença significativa quanto à composição de Mucorales entre os meses de coleta para os Brejos de Serra Negra e de Jenipapo, não tendo sido evidenciadas diferenças significativas quanto à composição das espécies entre os meses de coleta para o Brejo dos Cavalos. A diferença observada para os dois primeiros brejos deve-se, provavelmente, à variação pluviométrica, visto que a quantidade de chuvas nos Brejos de Serra Negra e de Jenipapo também variou entre os meses de coleta, sendo superiores no mês de outubro. Intensa variação pluviométrica também foi observada para o Brejo dos cavalos, ao longo dos meses de coleta, embora a composição de espécies não tenha variado ao longo dos meses. É provável que o número de coletas de solo no brejo dos Cavalos tenha sido insuficiente para detectar a influência das chuvas na composição dos Mucorales nos solos desse brejo. Esses resultados corroboram os de LIMA (2013), o qual observou que a variação pluviométrica pode ter sido um fator determinante para o baixo número de isolados obtido em épocas de baixa pluviosidade, já que a umidade do solo regula as variações das comunidades fúngicas e limitam o seu desenvolvimento (SOUTO et al., 2008).

Houve diferença na diversidade de Mucorales entre os solos dos brejos de altitude, sendo essa mais elevada nos solos do Brejo do Jenipapo, seguida pelos solos dos Brejos de Serra Negra e dos Cavalos. De fato, os trabalhos revisados corroboram o fato de que os brejos são semelhantes entre si no que se refere às condições particulares encontradas nessas faixas de Mata Atlântica inseridas no semiárido e que os destacam das condições encontradas ao seu entorno. LIMA et al. (2015) verificaram diferenças mais expressivas na diversidade de Mucorales em diferentes tipos de solo dentro do Parque Nacional do Catimbau, área de caatinga.

Segundo a composição das espécies nos brejos de altitude, o estimador Chao 1 apontou que a riqueza esperada foi atingida para todas as áreas de coleta, ocorrendo o oposto para o estimador Jackniffe 1. Essa discrepância provavelmente ocorreu porque Chao 1 estima a riqueza com base na presença e ausência da cada espécie, enquanto o outro é um

estimador de riqueza que se baseia na abundância relativa dos táxons, considerando as espécies raras. Como foram encontradas muitas espécies raras nos solos dos três brejos de altitude (Ar<0,5) o estimador Jackniffe 1 não registrou a riqueza esperada.

O atual estudo reporta 25 táxons de Mucorales em solos de três brejos de altitude do nordeste do Brasil, sendo um estudo pioneiro desses fungos nesse ecossistema e o primeiro nas cidades de Bezerros, Caruaru e Sanharó. Comparando os resultados descritos nesse trabalho com os de outros autores, é notável a riqueza dos Mucorales nos solos onde ocorreram as coletas. SANTIAGO et al. (2013) reportaram apenas oito espécies de Mucorales em solo do Brejo de Trinunfo-PE, enquanto LIMA et al. (2015) relataram treze espécies em solo de áreas degradadas e naturais no semiárido e OLIVEIRA et al. (2013) isolaram oito espécies de Mucorales na chapada São José, também no Parque Nacional do Catimbau. Quando comparados à riqueza dos Mucorales em solos de Mata Atlântica, nossos resultados também são expressivos. TRUFEM et al. (1981) reportaram 21 espécies em trabalhos realizados na cidade de São Paulo e DE SOUZA et al. (2008) reportaram treze espécies de Mucorales em solos contaminados por metais tóxicos em Santa Gertrudes em São Paulo, ou seja, a riqueza desses trabalhos foi inferior à observada nesse estudo. Dessa forma, é importante salientar a importância de estudos de levantamento da diversidade de fungos em áreas semiáridas para abolir a ideia de que a riqueza desses micro-organismos nesse domínio é baixa, bem como motivar pesquisas futuras nesses ecossistemas, além de chamar a atenção para a conscientização de preservação nesses brejos e de todo o semiárido.

## 6 CONCLUSÕES

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

- Nos Brejos dos Cavalos, Serra Negra e Jenipapo a comunidade de Mucorales é representada por 25 espécies;
- Absidia sp.1, Absidia sp.2, Absidia sp.3, A. cylindrospora, A. pseudocylindrospora, C. clavata, Cunninghamella sp.1, Cunninghamella sp.2, C. elegans, C. bertholletiae, C. echinulata, C. blakesleeana, G. butleri, L. hyalospora, R. arrhizus var. arrhizus e R. stolonifer fazem parte da comunidade de Mucorales do Brejo de Serra Negra;
- Absidia sp. 1, Absidia sp. 2, A. pseudocylindrospora, Cunninghamella sp.1, C. clavata, C. elegans, C. bertholletiae, C. echinulata, C. blakesleeana, G. butleri, Mucor sp. e R. stolonifer fazem parte da comunidade de Mucorales do Brejo dos Cavalos;
- Absidia sp.1, Absidia sp.2, Absidia sp.3, Absidia sp.4, Absidia sp.5, A. cylindrospora, A. fusca, A. pseudocylinddrospora, A. repens, C. clavata, Cunninghamella sp.1, C. elegans, C. bertholletiae, C. echinulata, C. blakesleeana, G. butleri, M. circinelloides var. circinelloides, M. hiemalis, M. subtilissimus, R. arrhizus var. arrhizus, R. microsporus e R. stolonifer fazem parte da comunidade de Mucorales do Brejo de Jenipapo.
- Existem diferenças significativas entre o número de UFC de Mucorales por grama de solo entre as áreas de brejo de altitude dos Cavalos, Serra Negra e Jenipapo;
- Cunninghamella sp.1 é o taxon mais frequente, seguido por Gongronella butleri e Cunninghamella elegans nos solos dos brejos de altitude inventariados;
- Em relação à composição de Mucorales, os solos dos brejos de altitude dos Cavalos, Serra Negra e Jenipapo são similares entre si;
- *Cunninghamella* sp.1, *G. butleri* e *C. elegans* são as espécies mais abundantes nos solos dos Brejos dos Cavalos, Serra Negra e Jenipapo;
- Absidia repens, A. fusca, C. bertholletie ocorrem no semiárido do nordeste do Brasil;
- Rhizopus microsporus ocorre em solos de Brejo de altitude do nordeste do Brasil;
- Cunninghamella clavata ocorre no ocidente;
- Absidia sp.1, Absidia sp.2, Absidia sp.3 e Absidia sp.4 são espécies novas;
- Cunninghamella sp.1, Cunninghamella sp.2 e Mucor sp. são prováveis espécies novas;
- A sazonalidade influencia a composição dos Mucorales nos Brejos de Jenipapo e da Serra Negra, não correndo o mesmo para o Brejo dos Cavalos;

- A diversidade de Mucorales varia entre os solos dos brejos de altitude, sendo essa mais elevada nos solos do Brejo de Jenipapo, seguida pelos solos dos Brejos de Serra Negra e dos Cavalos;
- Não se pode concluir com exatidão se a riqueza de espécies esperada nos solos dos diferentes brejos de altitude foi atingida.

# REFERÊNCIAS

ABE, A; SUJAYA, I.N; SONE, T; ASANO, K; ODA, Y. Microflora and selected metabolites of potato pulp fermented with an Indonesian starter Ragi Tapé. **Food Technology Biotechnology**, v. 42, n. 1, p. 169–173, 2004.

ABDEL-HAFEZ, S.I. Survey of the mycoflora of desert soils of Saudi Arabia. **Mycopathologia**, v.80, p. 3-8, 1982.

ALEXOPOULOS, C.J; MIMS, C. W; BLACKWELL, M. 1996. **Introductory Mycology**. 4. Ed. New York: John Wiley & Sons, 1996.

ÁLVAREZ, E; SUTTON, D.A; CANO, J; FOTHERGILL, A.W; STCHIGEL, A; RINALDI, M.G; GUARRO, J. Spectrum of Zygomycete species identification in clinically significant specimen in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v.47, n. 1, p. 1650-1656, 2009.

ÁLVAREZ, E; CANO, J; STCHIGEL, A.M; SUTTON, D.A; FOTHERGILL, A.W; SALAS, V; RINALDI, M.G; GUARRO, J. Two new species of Mucor from clinical samples. **Medical Mycology**, v. 49, n. 1, p. 62-72, 2011.

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.

ALVES, M.A; CAMPOS-TAKAKI, G.M; OKADA, K; PESSOA, I.H.F; MILANEZ, A.I. Detection of extracellular protease in Mucor species. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 22, n. 1, p. 114-117, 2005.

ANDRADE-LIMA, D. Tipos de floresta de Pernambuco. **Anais da Associação dos Geógrafos Brasileiros**, v. 2, n. 1, p. 69-85, 1961.

ANDRADE-LIMA, D. The caatingas dominium. **Revista Brasileira de Botânica,** v. 4, n. 2, p. 123-150, 1981.

ANDRADE-LIMA, D. 1982. Present day forest refuges in Northeastern Brazil p. 245-254, 1982. In.: Prance, G.T. (ed.).Biological Diversification in the Tropics. New York: **Columbia University Press**. 1982.

MELO-ALVES, A.L.S.- Diversidade de Mucorales em solos de Brejo de Altitude

AKINMUSIRE, O.O. Fungal Species Associated with the Spoilage of Some Edible Fruits in Maiduguri Northern Eastern Nigeria. **Advances in Environmental Biology**, v. 5, n. 1, p. 157-161, 2011.

ALASTRUEY-IZQUIERDO et al. Species Recognition and Clinical Relevance of the Zygomycetous Genus Lichtheimia (syn. Absidia Pro Parte, Mycocladus). **Journal of Clinical Microbiology,** v.48, p. 2154-2170, 2010.

ARAÚJO, S.M.S. A região do semiárido do nordeste do Brasil: Questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. **Revista científica da FASETE**, v. 5, p. 87-98, 2011.

ARIWASANKA et al.Fungal diversity notes 111–252—taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. **Fungal Diversity**, v. 75, p. 275-277, 2015.

BAIJAL, U; MEHROTRA, B.S.The genus Cunninghamella — reassessment. **Sydowia**, v. 33, n. 1, p. 1-13, 1980.

BAINIER, G. Sur quelques espe`ces de Mucorine´es nouvellesou peu connues. **Bulletin de la Socie´te´ Mycologique de France**, v. 19, n. 1, p.153–172, 1903.

BALTANÁS, A.On the use of some methods for the estimation of species richness.Oikos, **Copenhagen**, v. 65, n. 1,p.484-492, 1992.

BELTRÃO et al. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrâ nea estado de pernambuco diagnóstico do município de Sanharó. p. 1-21, 2005. **Ministério de Minas e energia**. Secretaria de Geologia, mineração e transformação mineral. 2005.

BENJAMIN, R.K.; MEHROTRA, B. S. Obligate azygospore formation in two species of Mucor (Mucorales). **Aliso**, v.5, n. 1, p. 235-245, 1963.

BENJAMIN, R.K. 1979. Zygomycetes and their spores p.574-622, 1979. In.: Kendrick B (ed.), The Whole Fungus. Ottawa, **Nat. National Museum of Natural Science**.1979.

BENNY, G.L. 1982. Zygomycetes. In.: Benny GL (ed.). Synopsis and Classification of Living Organisms. New York: **McGraw - Hill Book** Co. pp 184-195.

BENNY, G.L; HUMBER, R.A; MORTON, J.B.The Zygomycota: Zygomycetes p. 184-195, 2001. In.: McLaughlin DJ, McLaughlin EG, Lemke PA (eds.), **The Mycota. Systematics and Evolution.Berlin, Springer-Verlag**. 2001.

BENNY, G.L. **Zygomycetes** - Disponível em:<a href="http://www.zygomycetes.org">http://www.zygomycetes.org</a>. Acessado em: 20 dez. 2009.

BENNY, G.L. The methods used by Dr. R.K. Benjamin, and other Mycologists to isolate Zygomycetes. **Aliso**, v. 26, n. 1, p. 37-61, 2008.

BENNY, G.L. Current systematics of the zygomycotan fungi with a brief discussion of their biology p. 55-105, 2012.In.: Misra JK, Tewari JP, Deshmukh SK (eds), Systematics and evolution of fungi. **Progress in mycological research.Science Publishers**, Enfield, New Hampshire, USA. 2012.

BENNY, G.L. 2010. **Zygomycetes**. Disponível em: http://www.zygomycetes.org.>. Disponível em: <a href="http://www.zygomycetes.org">http://www.zygomycetes.org</a>. Acesso em: 21 maio 2014.

BENNY, G.L. 2014. **Zygomycetes** – Disponível em:<a href="http://www.zygomycetes.org">http://www.zygomycetes.org</a>.>. Acessado em: 10 jan. 2014.

BERLESE, A.N; DE TONI, J.B. Phycomyceteae p. 181-322, 1888. In.; P.A. Saccardo's Sylloge fungorum. **R. Friedländer & Sohn**, Berlin, Germany. 1888.

BILLS et al. Saprobic soil fungi. In.: Mueller, G.M., 149-153. Cavalcanti, M.A.Q., de Oliveira, L.G., Fernandes, M.J., Lima, D.M. 2006. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios da região Xingó, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 1, n. 1, p.831-837, 2004.

BRAGA et al. Conservação dos recursos hídricos em brejos de altitude - O caso de Brejo dos Cavalos, Caruaru, PE. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.3, p.539-546, 2002

BUDZISZEWSKA, J; PIATKOWSKA, J. Taxonomic position of Mucor hiemalis f. luteus. **Mycotaxon**, v.111, n. 1, p. 75-85, 2010.

CÂMARA, I. G. 2003. Brief history of conservation in the Atlantic Forest p. 31-42, 2003.In.: C. Galindo- Leal & I. G. Câmara (eds.). The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook. **Center for Applied Biodiversity Science and Island Press.** Washington, D.C. 2003.

CASTELLA, P. R; BRITEZ, R. M. A floresta com Araucária no Paraná: conservação, e diagnóstico dos remanescentes florestais. **Ministério do Meio Ambiente**, Brasília. p. 1-23, 2004.

CALVACANTI et al. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios da região Xingó, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 831-837, 2006.

CHEN, G. Q; ZHENG, R.Y. A new species of Mucor with giant spores. **Acta Mycoly**. Sinica, Supplement, v. 1, n. 1, p. 56-60, 1986.

CLARKE, K.R.; GORLEY, R.N. 2006. **Primer v.6 User Manual\Tutorial**. Primer-E Ltd, Plymouth. 2006.

CORDEIRO NETO, F; PERSSONI, R.A.B; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1997. Fungos produtores de inulinases isolados da rizosfera de Asteraceae herbácea do cerrado (Moji- Guaçu, SP, Brasil). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, n. 2, p. 149-153, 1997.

COUTINHO, F. P; CAVALCANTI, M. A. Q; YANO-MELO, A. M. 2009. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (Cucumis melo L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. Scientific Note. **Acta Botanica Brasilica**, v. 3, n. 1, p. 292-298.

[CPRH] COMPANHIA PERNAMBUCANA DO MEIO AMBIENTE. **Diagnóstico para recuperação do Parque Ecológico João Vasconcelos Sobrinho** p. 220, 1994. CPRH, Recife. 1994.

DEAN, W. A. Ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira.

Companhia das Letras, São Paulo. p. 3345, 1996.

DE HOOG et al. **Atlas of Clinical Fungi**.2nd ed. Centraal bureau voor Schimmel cultures, Utrecht, The Netherlands, University Rovirai Virgili, Reus, Spain.p. 1126, 2000.

DENNIS, C. Soft fruits. In.: Dennis C (ed), **Post-harvest pathology of fruits and vegetables**. v. 1, n. 1, p. 23-42, 1983.

DE SIQUEIRA, M. M. **Diversidade de Zygomycetes em Solos de Pernambuco**. Monografia- Universidade Federal Rural de Pernambuco- UFRPE, Serra Talhada, p. 36, 2011.

DE SOUZA, J.I; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I.H; OLIVEIRA, L.H.S. Selected species of Mucorales from soil contaminated. **Mycotaxon**, v. 106, n.1, p. 273-288, 2008.

DE SOUZA, C.A.F. Aspectos taxonômicos, ecológicos e caracterização de ácidos graxos de mucorales coprófilos do semiárido de Pernambuco. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de Pernambuco- UFPE, Recife, p. 85, 2014.

DIX, N.J; WEBSTER, J. Development of fungal communities on herbaceous sterms and grasses p. 128-144, 1995. In.: **Fungal ecology**, Dix, N.J., Webster, J., Eds. London, Chapman & Hall. v. 1, n. 1, p. 128-144, 1995.

DRUMOND, M.A; KIILL, L.H.P; NASCIMENTO, C.E.S. **Inventário e sociabilidade de espécies arbóreas e arbustivas da Caatinga na Região de Petrolina**, PE. Brasil Florestal, v. 74, n. 1, p. 37-43, 2002.

EBERSOHN, C; EICKER, A. Determination of the coprophilous fungal fruit body successional phases and the delimitation of species association classes on dung substrates of African game animals. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.38, n. 1, p. 183-190, 1997.

FELFILI, J.M; VENTUROLI, F. Tópicos em análise de vegetação. **Comunicações técnicas florestais**. v. 2, n. 2, p. 1-25, 2000.

FONSECA, G. A. B. The vanishing Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, p.34, n. 1, p. 17-34, 1985.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. **Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados no domínio da Mata Atlãntica**. 1998. Disponível em: <a href="https://www.sosma.org.br/">https://www.sosma.org.br/</a> Acessado 15 jan. 2016.

GAUGER, W. Sexuality of an azygosporic strain of Mucor hiemalis. I. Breakdown of the azygosporic component. **American Journal of Botany**, v. 53, n. 1, p. 751-755, 1966.

GAUGER, W. Further studies on sexuality in azygosporic strains of Mucor hiemalis. **Britanic Mycoly Society**, v. 64, n. 1, p. 113-118, 1975.

GINMAN, A.T.; YOUNG, T.W.K. Azygospore morphology in Mucor azygospora and M. bainieri.**Mycological Research**, v.93, n. 1, p.314-320, 1989.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P; BARBOSA, M. R.V; NETA, A. L. B; FIGUEIREDO, M. A. Espécies endêmicas da caatinga. In.: SAMPAIO, E. V. S. B. GIULIETTI, A. M; VIRGÍNIO, J; GAMARRA-ROJAS, C. F. L. Vegetação e flora da caatinga. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2002. cap. 2, p. 11-24.

GIULIETTI A.M. et al. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In.: Silva JMC, Tabarelli M & Fonseca MT (Orgs.). **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2004. p. 20-37.

GIULIETTI, A.M; CONCEIÇÃO, A; QUEIROZ, L.P. **Diversidade e caracterização das fanerógamas do Semiárido brasileiro**. Recife:. Associação Plantas do Nordeste, 2006. 488 p.

GÓES-NETO, A; LOGUERCIO-LEITE, C; GUERRERO, R.T. DNA extraction from frozen field collected and dehydrated herbarium fungal basidiomata: performance of SDS and CTAB- base methods. **Biotemas**, v.18, p. 19-32, 2005.

GRISHKAN, I; ZAADY, E; NEVO, E. Soil crust microfungi along a southward rainfall gradient in desert ecosystems. **Journal of Arid Environments**, v. 53, n. 3, p. 409-417, 2006.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposion**, v. 41, n. 1, p. 95–98, 1999.

HESSELTINE, C.W. The section Genevensis of the genus Mucor. **Mycologia**, v.46, n. 1, p. 358-366, 1954.

HESSELTINE, C.W; ELLIS.J.J. The genus Absidia: Gongronella and cylindrical-spored species of Absidia. **Mycologia** v. 56, n. 1, p. 568-601, 1964.

HESSELTINE, C.W; ELLIS, J.J. The genus Absidia: globose-spored species. **Mycologia**, v. 57, n. 1, p. 22–235, 1965.

HESSELTINE C.W; ELLIS J.J. Species of Absidia with ovoid sporangiospores. **Mycologia**, v. 58, n. 1, p.761–785, 1966.

HESSELTINE, C.W; ELLIS, J.J. Mucorales. In: Ainsworth, G.C., Sparrow, F.K. eds. The Fungi: An Advanced Treatise, vol 5B. A Taxonomic Review with Keys: Basidiomycetes and Lower Fungi. NewYork, **Academic Press**. v. 1, n. 1, p. 187-217. 1973.

HESSELTINE, C.W. Zygomycetes in food fermentation. **Mycologia**, v.5, n. 1, p.162-169, 1986.

HESSELTINE, C.W; FENNEL, D.I. The genus Circinella. **Mycologia**, v. 7, n. 1, p. 193-211, 1995.

HIBBETT et al.A Higher-level Phylogenetic Classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, n. 1 p. 509-547.

HYDE, K.D; SARMA, V.V. Vismaya chaturbeeja gen et sp. nov. from a dicotyledonous twig in Hong Kong. **Nova Hedwigia**, v. 73, n. 1-2, p. 247-252, 2001.

HILL et al. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. **Applied Soil Ecology**, v. 15, n. 1, p.25-36, 2000.

HIROTA, M. M. Monitoring the Brazilian Atlantic Forest cover. In.: Galindo-Leal C. & I. G. Câmara (eds.). The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook. **Center for Applied Biodiversity Science and Island Press**. Washington, D.C. v. 1, n. 1, p. 60-65, 2003.

HOFFMANN, K; DISCHER, S; VOIGT, K. Revision of the genus Absidia (Mucorales, Zygomycetes) based on physiological, phylogenetic, and morphological characters; thermotolerant Absidia spp. form a coherent group, Mycocladiaceae fam. nov. **Mycological Research**, v.111, n. 1, p. 1169-1183, 2007.

HOFFMANN, K; VOIGT, K. Absidia parricida plays a dominant role in biotrophic fusion parasitism among mucoralean fungi (Zygomycetes): Lentamyces, a new genus for A. parricida and A. zychae. **Journal of Plant Biology**, v.11, n. 1, p. 537–554, 2009.

HOFFMANN, K; VOIGT, K; KIRK, P.M. Mortierellomycotina subphyl.nov., based on multi-gene genealogies. **Mycotaxon**, v. 115, n. 1, p. 353–363, 2011.

HOFFMANN et al. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. **Persoonia**, v.30, n.1, p. 57–76, 2013.

HSIEH et al. Disseminated zygomycosis caused by Cunninghamella bertholletiae. In.: patient with hematological malignancy and review of published case reports. **Mycopathologia**, v.175, n.1, p.99–106, 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 1985**. Disponível em: <a href="http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/47/ca\_1985\_n20\_rj.pdf">http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/47/ca\_1985\_n20\_rj.pdf</a>. Acessado 15 jan. 2016.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2011**. Disponível em: <a href="http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/47/ca\_1985\_n20\_rj.pdf">http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/47/ca\_1985\_n20\_rj.pdf</a>. Acessado 15 jan. 2016.

JACOBS, K; BOTHA, A. Mucor renisporus sp. nov., a new coprophilous species from Southern Africa. **Fungal Diversity**, v. 29, n. 1, p.27-35, 2008.

JAMES et al.Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. **Nature**, v.443, n. 1, p. 818–822, 2006.

KAVADIA et al. Lipid and linolenic acid accumulation in strains of Zygomycetes growing on glucose. **Journal of American Oil Chemists` Society**, v.78, n. 1, p. 341–346, 2001.

KENDRICK, B. The Fifth Kingdom. 3 ed. Massachusetts: Focus Publishing, 2000.

KIRK et al. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi**.9th ed. CAB International, Wallingford, UK, p. 655, 2001.

KIRK et al. Dictionary of the Fungi, 10th ed. CABI, Wallingford, UK.p. 784, 2008.

KWASNA, H; WARD, E; BATEMAN, G.L. Phylogenetic relationship among zygomicetes from soil based on ITS1/2 rDNA sequences. **Mycology Reserch**, v. 110, n. 1, p. 501-510, 2006.

LACAZ et al. **Tratado de micologia médica**. Lacaz. 9º ed, Sarvier, São Paulo. 2002.

LARKIN et al. Clustal Wand Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, p. 2947–2948, 2007.

LIMA, D.X. Diversidade de Mucorales do solo e de excrementos de herbívoros do Parque Nacional do Catimbau-PE, Brasil. Dissertação de Mestrado- Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Recife, p. 59, 2013.

LIMA, D.X; SANTIAGO, A.L.C.M DE A; SOUZA-MOTTA, C.M.. Diversity of Mucorales in natural and degraded semi-arid soils. **Brazilian Journal of Botany**, v. 38, n. 1, p. 1–9, 2015.

LIMA, D.X; SANTIAGO, A.L. Absidia caatinguensis. **Fungal Diversity**, v. 75, n. 1, p. 330-331, 2015.

LINS, R.C. As áreas de exceção do agreste de Pernambuco. Sudene, Recife. p. 260, 1989. Lista das espécies e flora do Brasil 2016. Disponível em: <a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do;jsessionid=0">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do;jsessionid=0</a> 8999AB74B64BB48D677F3FE9C27B4E0>. Acessado 10 jan. 2016.

LU et al. Primary Cutaneous Zygomycosis Caused by Rhizomucor variabilis: A New Endemic Zygomycosis? A Case Report and Review of 6 Cases Reported from China. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 1, p. 39-43, 2009.

LUNN, J.A; SHIPTON, W.A. Re-evaluation of taxonomic criteria in Cunninghamella. Transactions of the British **Mycological Society**, v. 81, n. 1, p. 303-312, 1983.

MAGNUSON, J.K; LASURE, L.L. Organic Acid Production by Filamentous Fungi. In.: Tkacz JS, Lange L (eds.), **Advances in fungal biotechnology for industry, agriculture, and medicine**. v. 1, n. 1. p. 307-340, 2004.

MALDONADO-COELHO, M.; MARINI, M.A. Mixed-species bird flocks from Brazilian Atlantic forest: the effects of forest ragmentation and seasonality on their size, richness and stability. **Biological Conservation**, v. 116, n. 1, p. 19-26, 2004

MARQUES et al. Mucormicose: infecção oportunística grave em paciente imunossuprimido. Relato de caso. **Diagnóstico Tratamento**, v. 15, n. 2, p. 64-68, 2010.

MARTINEZ, O. V; VALENZUELA, E.F. Zygomycota citados para Chile. **Boletín Micológico**, v. 18, p. 67 – 74, 2003.

MEHROTRA, B.S; MEHROTRA, B.M. Another azygosporic species of Mucor from India. **Sydowia**, v.31, n. 1, p. 94-96, 1978.

METZGER, J. P. Tree functional group richness and landscape structure in a Braziliantropical fragmented landscape. **Ecological Applications**, v.10, p. 1147-1161, 2000.

MYERS et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n.1, p. 853-858, 2000.

MILLATI, R; EDEBO, L; TAHERZADEH, M.J. Performance of Rhizopus, Rhizomucor, and Mucor in ethanol production from glucose, xylose, and woodhydrolyzates. **Enzyme and Microbial Technology**, v.36, n. 1, p. 294 – 300, 2005.

MILNE et al. TOPALi: Software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple Alignments. **Bioinformatics**, v. 20, p. 1806–1807, 2004.

MITTERMEIER et al. Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. Cemex. Washington, DC. Nout, M.J.R., Kiers, J.L. 2005. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, n.1, p. 789–805, 2004.

MIRZA et al. Mucorales of Pakistan. University of Agriculture, **Faisalabad, Pakistan**. v. 1, n. 1, p. 183, 1979.

NOUT, M.J.R; KIERS, J.L. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, n. 1, p. 789–805, 2005.

O'DONNELL, K.L; ELLIS, J.J; HESSELTINE, C.W; HOOPER, G.R. Azygosporogensis in Mucor azygosporus. **Canadian Journal of Botany**, v.55, n. 1, p. 2712-2720, 1977.

O'DONNELL, K.L. **Zygomycetes in culture**. University of Georgia, Georgia, 1979.

O'DONNELL et al. Evolutionary relationships among mucoralean fungi (Zygomycota): evidence for family polyphyly on a large scale. **Mycologia**, v.93, n. 1, p.286–297, 2001.

OLIVEIRA-FILHO, A. T; FONTES, M. A. L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, v. 32, n. 4b, p. 793-810, 2000.

OLIVEIRA, M. A; GRILLO, S. A; TABARELLI. M. Forest edge in the Brazilian Atlantic Forest: drastic changes in tree species assemblages. Oryx, v. 38, n. 4, p. 389-394, 2004.

OLIVEIRA et al. Diversity of filamentous fungi isolated from the soil in the semiarid area, Pernambuco, **Brazil. Journal of Arid Environments**, v.95, n. 1, p. 49-54, 2013.

OLIVEIRA et al. Corniculariella brasiliensis, a new species of coelomycetes in the rhizosphere of Caesalpinia echinata (Fabaceae, Caesalpinioideae). Brazil. – **Phytotaxa**, v. 178, p. 197–204, 2014.

PARDINI, R. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape. **Biodiversity Conservation**, v. 13, n. 1, p. 2567-2586, 2004.

PACIÊNCIA, M. L. B; J. PRADO. Efeitos de borda sobre comunidades de pteridófitas na Mata Atlântica da região de Una, sul da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 27, n. 4, p. 641-653, 2004.

PEREIRA et al. 2010. Microbiota fúngica do solo e ar atmosférico na região da Borborema, Estado da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira Análises Clinícas**, v. 42, n. 2, p. 123-126.

PEYRONEL, B; DAL VESCO, G. Ricerche sulba microflorade um terreno agrário impresso torino. **Allionia**, v. 2, n. 1 p. 235-417, 1955.

PRADO, D.E. As Caatingas da America do Sul. In.: Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. (orgs). **Ecologia e Conservação da Caatinga**. v. 1, n. 1, p. 3-74, 2003.

PENNINGTON, T.D. Sapotaceae. Flora Neotropica, 1 Ed. New york, 770 p, 1990.

PRANCE, G.T. Forest refuges: evidences from woody angiosperms. In.: PRANCE, G.T. (ed.) Biological diversification in the tropics. **Columbia University Press**, New York. v. 1, n. 1, p. 137-158, 1982.

RAMBALDI, D.M; OLIVEIRA, D.A.S. Fragmentação de Ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas. Brasília: MMA/SBF, 2003.

RIBALDI, M. Spra um interessante zygomicete terrícola: Gongronella urceolifera n.gen.et sp. **Review Biomology**, v. 44, n. 1, p. 157-166, 1952.

RIBES, J.A; VANOVER-SAMS, C.L; BAKER, D.J. Zygomycetes in human disease. Clinical Microbiology Reviews, v. 13, n. 1, p. 236-301, 2000.

RICHARDSON, M. The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure. **Revista Clinic Microbiology Infecting**, v.15, n. 1, p.2-9, 2009.

RODEN et al. Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 1, p. 634–653, 2005.

RODRIGUES, M.T. Herpetofauna da Caatinga. In.: Tabarelli M, Silva JMC & Leal I (Eds.). **Biogeografia, Ecologia e Conservação da Caatinga**. Editora da Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2003.

RODRIGUES et al. Ecologia dos Brejos de Altitude de Pernambuco. **Revista de Geografia**, v. 25, n. 3, p. 20-34, 2008.

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

SANTIAGO, A. L. C. M. DE A; SOUZA-MOTTA, C. M.Isolation of Mucorales from processed maize (Zea mays L.) and screening for protease activity. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 698-700, 2008.

SANTIAGO et al. Zygomycetes from herbivore dung in the ecological reserve of Dois Irmãos, Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**,v. 42, n. 1, p. 111-122, 2011.

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

SANTIAGO et al. A new species of Lichtheimia (Mucoromycotina, Mucorales) isolated from Brazilian soil. **Mycological Progress**, v. 13, p. 343-352, 2014.

SANTIAGO, A. L. C. M. A. 2016. **Mucorales in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB120276">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB120276</a>>. Acessado em: 09 de Jan. 2016.

SANTIAGO et al. A new species of Lichtheimia (Mucoromycotina, Mucorales) isolated from Brazilian soil. **Mycologial Progress**, v. 13, n. 1, p. 342-352, 2014.

SANTOS, V.B; WELLBAUM, C; SCHOENLEIN-CRUSIUS, I.H. Fungos filamentosos do solo da Ilha dos Eucaliptos na Represa do Guarapiranga em São Paulo, SP. **Acta Botanica Brasilica**, v. 12, n. 1, p. 101-110, 1998.

SANTOS, A.M; TABARELLI, M. Árvores ameaçadas de extinção no Centro de Endemismo Pernambuco. Relatório parcial de pesquisa. Fundação O Boticário de Proteção à Natureza. Curitiba. 2005.

SCHIPPER, M.A.A. A study on variability in Mucor hiemalis and related species. **Studies** in Mycology (Baarn), v. 4, n. 1, p. 1-40, 1973.

SCHIPPER, M.A.A. Mucor mucedo, Mucor flavus and related species. **Studies in Mycology (Baarn)**,v. 10, n. 1, p. 1-33, 1975.

SCHIPPER, M.A.A. On Mucor circinelloides, Mucor racemosus and related species. **Studies Mycology** (**Baarn**), v. 12, n. 1, p. 1-40, 1976.

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

SCHIPPER, M.A.A., Stalpers, J.A. 1984. A revision of the genus Rhizopus. II. The Rhizopus microsporus-group. **Studies in Mycology (Baarn)**, v. 1, v. 1, 25:20-34.

SCHIPPER, M.A.A; STALPERS, J.A.A revision of the genus Rhizopus. II. The Rhizopus microsporus-group. **Studies in Mycology**, v. 25, p. 20-34, 1984.

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

SCHIPPER, M.A.A; SAMSON, R.A. Miscellaneous notes on Mucoraceae, **Mycotaxon**, v. 50, n. 1, p. 475-491, 1994.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I.H; MILANEZ, A.I. Mucorales (Zygomycotina) da Mata Atlânticada reserva biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP. **Acta Botanica Brasilica**, v. 11, n. 1, p. 95-1001, 1997.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I.H.; MILANEZ, A.I. Fungos zoospóricos (Mastigomycotina) da Mata Atlântica da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, município de Santo André, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, p. 177-181, 1998.

SCHOENLEIN-CRUSIUS et al. Microscopic fungi in the atlantic rainforest in cubatão, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 1, p. 267-275, 2006.

SILVA, J. M. C; TABARELLI, M. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. **Nature**, v. 404, n.1, p. 72-74, 2000.

SILVA, T. A. A. Mucoromycotina do Parque Nacional do Catimbau, Buíque – PE. Monografia- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, p. 45, 2014.

SIMÕES, M.L.G; TAUK-TORNISIELO, S.M. Comparação da Técnica Tradicional e do Método Turbidimétrico Automatizado no Cultivo em Diferentes Fontes de Carbono de Fungos Filamentosos Isolados de Solo de Área de Caatinga. **Holos Environment**, v. 5, n. 2, p. 94-103, 2006.

SIQUEIRA FILHO, J.A. DE; MACHADO, I.C.S. Biologia reprodutiva de Canistrum aurantiacum E. Morren (Bromeliaceae) em remanescente da Floresta Atlântica, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.15, n. 3, p. 427-443, 2001.

SKIADA et al. Zygomycosis in Europe: analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology ECMM Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. **Clinical Microbiology and Infection**, v.17, n. 1, p. 1859–1867, 2011.

SOUTO et al. Comunidade microbiana e mesofauna edáficas em solo sob Caatinga no semiárido da Paraíba. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 32, p. 151-160, 2008.

SORENSEN, T. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analysis of the vegetation on Danish commons p. 235-249, 1978. In.; Mcintosh RP (Ed.). Phytosociology. Benchmark **Papers in Ecology**, Stroudsburg, 1978.

STATSOFT. 1997. Statistic for Windows 5.1. CD ROM. Tulsa, StatSoft Inc. 1997.

SUBRAHAMANYAM, A. Studies on themomycology.Mucor thermo-hyalospora sp. nov.Bibliotheca mycologica,v. 91, n.1, p. 421-423, 1983.

TABANEZ, A. A. J.; VIANA, M. V. Patch structure within Brazilian Atlantic forest fragments and implications for conservation. Biotropica, v. 32, n. 4, p. 925-933, 2000.

TABARELLI, M.; SIQUEIRA FILHO, J.A. Biodiversidade e conservação do Centro de Endemismo Pernambuco p. 42-48, 2004. In.: Anais XXVII Reunião Nordestina de Botânica, Petrolina. 2004.

TAYLOR, N.P.; ZAPPI, D. 2002. Distribuição das espécies de Cactaceae na caatinga. In.: Vegetação e flora das caatingas. Sampaio EVSB, Giulietti AM, Virgínio J, Gamarra-Rojas CFL (Ed.). APNE / CNIP, Recife, PE. 2002.

TRUFEM, S.F.B. Mucorales do Estado de São Paulo 1: gênero Mucor Micheli. Rickia,9: 81-91, 1981

TRUFEM, S.F.B. Mucorales do Estado de São Paulo 3. Gêneros Circinella van Tieghem & Le Monnier e Cunninghamella Matruchot.Rickia,v. 9, n. 1, p. 113-120, 1981.

TRUFEM et al.Filo Zygomycota p. 97-107, 2006. In.: Maia, L.C., Gusmão, L.F.P. Diversidade e caracterização dos fungos do semiárido brasileiro.Recife, 2006.

UPADHWAY, H.P. Soil fungi from North-East Brazil.Mycopathologia et Mycologia Applicata, v. 30, n. 2, p. 276-286, 1966.

PEYRONEL, B.; DALVESCO, G. Ricerche sulla microflora di um terreno agrário presso torino. Allonia, v. 2, n. 1, p. 235-417, 1955.

VAN TIEGHEM, P. Troisième mémoire sur les Mucorinées. Annales des Sciences Naturelles-Botanique et Biologie Vegetale, v. 4, n. 4, p. 312-399, 1878.

VAN TUINEN et al. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. Mology Ecology, v. 7, n 1, p. 879–887, 1998.

VASCONCELOS SOBRINHO, J. Os brejos de altitude e as matas serranas. P. 79-86, 1970. In.: VASCONCELOS SOBRINHO, J. (ed.). As regiões naturais do Nordeste, o meio e a civilização. CONDEPE. Recife. 1970.

VASCONCELOS SOBRINHO, J. As Regiões Naturais do Nordeste, o Meio e a Civilização. Recife, CONDEPE. p.441, 1971.

VICENTE et al. 2009. Biodiesel production from biomass of an oleaginous fungi.Biochemical Engineering Journal, v. 48, n. 1, p. 22–27, 2009.

VIRIATO, A. Diversidade e aspectos ecológicos de Mucorales (Zygomycetes) de solo e de fezes de herbívoros, no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. Dissertação de mestrado-Universidade de Guarulhos-São Paulo, SP, Brasil. p. 96, 1996.

VIRIATO, A. Mucorales (Zygomycota) coprófilos e de solo: diversidade e aspectos ecológicos. Dissertação de Mestrado- Universidade de São Paulo- USP, São Paulo. p 162, 2003.

VOIGT, K.; OLSSON, I. Molecular phylogenetic and scanning electron microscopical analysis places the Choanephoraceae and the Gilbertellaceae in a monophyletic group within the Mucorales (Zygomycetes, Fungi). Acta Biologica Hungarica, v.59, n 1, p.365-383, 2008.

VOIGT et al. Revision of the family structure of the Mucorales (Mucoromycotina, Zygomycetes) based on multigene-genealogies: Phylogenetic analyses suggest a bigeneric Phycomycetaceae with Spinellus as sister group to Phycomyces p. 313-332, 2009. In.: Y. Gherbawy, R.L. Mach and M.K. Rai. [eds.]. Current Advances in Molecular Mycology.Nova Science Publishers, Hauppauge, New York. U.S.A. 2009.

VUILLEMIN, P. Importance taxonomique de l'appareil zygospore ' des Mucorine' es. Bulletin Trimestriel de la Socie'te' Mycologique de France, v. 19, n. 1, p. 106–118, 1903a.

VUILLEMIN, P. Le genre Tieghemella et la se´rie des Absidie´es. Bulletin Trimestriel de la Socie´te´ Mycologique de France, v. 19, n. 1, p. 119–127, 1903b.

WATANABE, T. Two new species of homothallic Mucor in Japan.Mycologia, v.86, n. 1, p. 691-695, 1994.

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

WU et al.Physicochemical Properties and Bioactivity of Fungal Chitin and Chitosan.Journal.Agricutural. Food Chemistry, v. 53, n. 1, p. 3888-3894, 2005.

XUEFENG et al. Production of L-lactic acid by Rhizopus oryzae using semicontinuous fermentation in bioreactor. Biotechnology Journal of Industrial Microbiology, v. 38, n. 1, p. 565-571, 2011.

YAN, G.; VIRARAGHAVAN T. Heavy metals removal from aqueous solution by fungusMucor rouxii.Water Research,v. 37, n.18, p. 4486-4496, 2003.

ZAFAR, S.; AQIL, F.; AHMAD, I. Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. Bioresource Technology, v. 98, n. 13, p.2557-2561, 2007.

ZALAR et al. Mucor troglophilus, a new species from cave crickets. Mycotaxon, v. 65, n. 1, p. 507-516, 1997.

ZHENG, R.Y.; CHEN, G. Q. Cunninghamella clavata sp. nov., fungus with na uniusual type of braching of sporophore. Mycotaxon, v. 69, n. 1, p. 187-198, 1998.

ZHENG, R. Y.; CHEN, G. Q.A Monograph of Cunninghamella. Mycotaxon 80: 1-75, 2001.

ZHENG et al. 2007. A Monograph a Rhizopus. Sydowia, v. 59, n. 2, p. 273-37, 2007.