



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

CARLOS ALBERTO FRAGOSO DE SOUZA

**DIVERSIDADE DE MUCOROMYCETA EM BREJOS DE ALTITUDE DE  
PERNAMBUCO, BRASIL, E AVALIAÇÃO DE ESPÉCIMES PRODUTORES DE  
PROTEASES COAGULANTES DO LEITE**

RECIFE

2019

CARLOS ALBERTO FRAGOSO DE SOUZA

**DIVERSIDADE DE MUCOROMYCETA EM BREJOS DE ALTITUDE DE  
PERNAMBUCO, BRASIL, E AVALIAÇÃO DE ESPÉCIMES PRODUTORES DE  
PROTEASES COAGULANTES DO LEITE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Departamento de Micologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia de Fungos.

**Área de Concentração** Micologia Básica.

**Orientador:** Dr. André Luiz C. M. de A. Santiago (UFPE).

**Coorientador:** Dra. Keila Aparecida Moreira (UAG-UFRPE).

RECIFE

2019

Catálogo na fonte:

Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Souza, Carlos Alberto Fragoso de

Diversidade de Mucoromyceta em brejos de altitude de Pernambuco, Brasil, e avaliação de espécimes produtores de proteases coagulantes do leite / Carlos Alberto Fragoso de Souza - 2019.

154 folhas: il., fig., tab.

Orientador: André Luiz C. M. de A. Santiago

Coorientadora: Keila Aparecida Moreira

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos. Recife, 2019.

Inclui referências e anexo.

1. Mucoromycotina 2. Taxonomia 3. Ecologia

I. Santiago, André Luiz C. M de A. (Orientador) II. Moreira, Keila Aparecida (Coorientadora) III. Título

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-020

CARLOS ALBERTO FRAGOSO DE SOUZA

**DIVERSIDADE DE MUCOROMYCETA EM BREJOS DE ALTITUDE DE  
PERNAMBUCO, BRASIL, E AVALIAÇÃO DE ESPÉCIMES PRODUTORES DE  
PROTEASES COAGULANTES DO LEITE**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Biologia de Fungos da Universidade  
Federal de Pernambuco, como requisito  
parcial para a obtenção do título de doutor em  
Biologia de Fungos.

Aprovada em: 07/03/2019

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. André Luiz C. M. de Azevedo Santiago  
(UFPE – Departamento de Micologia)

---

Profa. Dra. Leonor Costa Maia  
(UFPE – Departamento de Micologia)

---

Dr. Diogo Xavier Lima  
(UFPE – Departamento de Micologia)

---

Dr. Jadson Diogo Pereira Bezerra  
(UFPE – Departamento de Micologia)

---

Dr. Vitor Xavier de Lima  
(UFPE – Departamento de Micologia)

*Dedico*

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

## AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

A todos os meus familiares pela força e incentivo.

À Vera Príncipe e Odilon Nunes, que me acolheram, incentivaram e apoiaram.

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

Aos amigos, Danielle Príncipe, Ediberto Arruda e Mateus Príncipe, pelo incentivo, apoio, amizade sincera e por compartilharem muito dessa caminhada.

Ao Cristiano, Juscelina e João Marcos, por todo acolhimento, apoio, carinho e incentivo ao longo desses anos.

A toda a família Príncipe, em especial, Enoque, Fátima e Jéssica, pelos momentos compartilhados e o incentivo de sempre.

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

À amiga, Sâmara Paes, por todo carinho, incentivo e orações que, mesmo à distância, se fez tão presente.

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

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

À amiga Thays Sharllye, por todo carinho e incentivo ao longo desses anos.

Aos amigos Rafael Vilela e Pamella, pela amizade, conselhos, acolhimento e todos os momentos compartilhados. Amizade que levarei por toda vida.

Às amigas Catarina Lima e Thalline Leite, pela amizade cultivada durante toda a minha vida acadêmica. Carinho especial que levarei por toda minha vida.

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

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

Ao amigo Valdemar (Dema), pela valiosa ajuda com as coletas de solo, pela convivência, conselhos, compreensão e apoio.

Às amigas Karla Freire e Sandy, pelo apoio no processo de extração enzimática, durante a execução desse trabalho e, em especial, pela amizade.

Ao amigo Jadson, pela amizade, conselhos e acolhimento.

Aos amigos de laboratório Maya, Rejane, Valéria, Camila e Juliana, pelo apoio e pelos momentos de descontração do dia a dia.

Aos “zigomicetólogos” e amigos, Lesleie, Joana, Giovanna, Suzana e, em especial à Ana, pelo apoio e carinho de todos os dias ao longo desses anos.

Aos alunos de iniciação, Gabriel, Stella, Ingrid e Eduarda, que estiveram comigo compartilhando e me incentivando em todos os momentos.

Aos amigos e colegas de turma do doutorado, em especial, ao Michellangelo, pelo companheirismo e amizade sincera.

Aos companheiros e amigos de Departamento.

À colaboradora, Dra. Luciana Gurgel, pela parceria imprescindível para a realização das coletas.

Ao Prof. Dr. Gladstone Silva, pela amizade e momentos de descontração e aconselhamento.

À Profa. Dra. Cristina Motta, pelo apoio, amizade e aconselhamento.

À Profa. Dra. Keila Aparecida Moreira, pela dedicação e empenho.

Ao Prof. Dr. André Luiz C. M de A. Santiago, pela orientação, amizade, dedicação, conselhos e pelo grande incentivo. Um dos maiores responsáveis por chegar tão longe.

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

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), pelo apoio

financeiro o qual possibilitou a realização deste trabalho.

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

## RESUMO

A Mata Atlântica nordestina é composta, dentre outros ecossistemas, pelos brejos de altitude, áreas encravadas no semiárido brasileiro cuja microbiota edáfica contempla espécies de fungos, incluindo as do sub-reino Mucoromyceta. Considerando a importância ecológica e o potencial biotecnológico das espécies de Mucoromyceta, esse trabalho teve como objetivos obter dados ecológicos sobre comunidades de Mucoromyceta em brejos de altitude de Pernambuco e caracterizar cepas de *Mucor* quanto à produção de proteases coagulantes do leite. Foram coletadas amostras de solo nos brejos da Serra do Bituri, Taquaritinga do Norte e Sítio Carro Quebrado, em Pernambuco. Dos solos examinados foram isolados 45 táxons de *Absidia*, *Actinomucor*, *Backusella*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichtheimia*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum* e *Umbelopsis*. Vinte e sete novos registros estão sendo assinalados para os brejos de altitude estudados, incluído três novas espécies e duas primeiras ocorrências para a América do Sul. A riqueza e a diversidade de Mucoromyceta no solo do Sítio Carro Quebrado diferiram em relação ao solo dos outros brejos, embora a composição das comunidades não tenha variado. *Absidia* sp.1, *Cunninghamella bertholletiae* e *G. butleri* foram abundantes nos brejos e *Gongronella butleri* foi muito frequente. Duas espécies de Mucoromyceta foram indicadoras do solo de cada um dos brejos de altitude inventariados. Todas as espécies de *Mucor* testadas foram capazes de produzir proteases coagulantes do leite, tendo *Mucor* sp.1 e *M. souzae* exibido potencial para a produção dessas enzimas em larga escala.

Palavras-chave: Mucoromycotina. Mortierellomycotina. Taxonomia. Ecologia. Renina.

## ABSTRACT

Among other ecosystems, the Northeastern Atlantic Forest is composed of Upland Forests, areas inserted in the Brazilian semi-arid region which soil microbiota includes species of fungi, such as those of the Mucoromyceta subkingdom. Considering the ecological importance and biotechnological potential of the Mucoromyceta species, the present study aimed to obtain ecological data regarding Mucoromyceta communities in Upland Forests of the state of Pernambuco and characterize strains of *Mucor* in terms of the production of milk-clotting proteases. Soil samples were collected from the Upland Forests of Serra do Bituri, Taquaritinga do Norte and Sítio Carro Quebrado, in Pernambuco State. From the studied soils, 45 taxa of *Actinomucor*, *Backusella*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichtheimia*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum* and *Umbelopsis* were reported. The present study describes 27 new records for the Upland Forests, including three new species and two first occurrences for South America. The richness and diversity of Mucoromyceta in the soil of Sítio Carro Quebrado differed from that of the other Upland Forests, although the composition of the communities did not vary. *Absidia* sp.1, *Cunninghamella bertholletiae* and *G. butleri* were abundant in the Upland Forest and *Gongronella butleri* was extremely frequent. Two species of Mucoromyceta were indicative of the soil of each of the Upland Forests inventoried. All the *Mucor* species tested were able to produce milk-clotting proteases, with *Mucor* sp.1 and *M. souzae* displaying the potential to produce these enzymes on a large scale.

Key-words: Mucoromycotina. Mortierellomycotina. Taxonomy. Ecology. Rennet.

## LISTA DE FIGURAS

|           |                                                                                                                                                                                           |    |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1  | – Localização do Município de Brejo da Madre de Deus.....                                                                                                                                 | 62 |
| Figura 2  | – Aspecto da floresta estacional semidecídua montana da Serra do Bituri, Brejo da Madre de Deus - PE.....                                                                                 | 62 |
| Figura 3  | – Localização do Município de Taquaritinga do Norte.....                                                                                                                                  | 63 |
| Figura 4  | – Aspecto da floresta subcaducifólia e caducifólia do brejo de Taquaritinga do Norte – PE.....                                                                                            | 64 |
| Figura 5  | – Localização do Município de Triunfo.....                                                                                                                                                | 65 |
| Figura 6  | – Aspecto da floresta subcaducifólia do brejo do Sítio Carro Quebrado - PE.....                                                                                                           | 65 |
| Figura 7  | – Pluviosidade média mensal (mm) do município de Brejo da Serra do Bituri, Taquaritinga do Norte e Sítio Carro Quebrado - PE durante o período de coletas de solo.....                    | 66 |
| Figura 8  | – Porcentagem dos gêneros, em relação ao número de espécies, de Mucoromyceta presentes no solo do Brejo da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Carro quebrado (SCQ)..... | 74 |
| Figura 9  | – Estimadores de riqueza Chao 1 e Jackknife 1 dos Mucoromyceta no solo de Brejo da Serra do Bituri.....                                                                                   | 81 |
| Figura 10 | – Estimadores de riqueza Chao 1 e Jackknife 1 dos Mucoromyceta no solo do brejo de Taquaritinga do Norte.....                                                                             | 81 |
| Figura 11 | – Estimadores de riqueza Chao 1 e Jackknife 1 dos Mucoromyceta no solo do brejo do Sítio Carro Quebrado.....                                                                              | 82 |
| Figura 12 | – Perfil de diversidade da série de Hill dos Mucoromyceta dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro quebrado (SCQ).....                              | 83 |
| Figura 13 | – Dendograma de Similaridade de Bray-Curtis entre os brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro quebrado (SCQ).....                                       | 84 |

- Figura 14 – *Gongronella brasiliensis*. a-c: esporangióforos com apófises e esporângios de várias formas; d: ramificação do esporangióforo com apófise, esporângio e columela; e: esporangióforo ramificado com dois septos (setas) e apófise com uma pequena columela; f: esporangióforo simples com apófise e columela; g: esporangióforo simples com apófise e columela inconspícua com colar (seta); h: células gigantes; i: esporangiospóros. Barras de escala a, b, d = 25 µm; c, e-i = 20 µm..... 87
- Figura 15 – Árvore filogenética de *Gongronella* construída utilizando as sequências de ITS do rDNA. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). As sequências obtidas neste estudo estão em azul..... 88
- Figura 16 – *Mucor souzae*. a: verso da colônia após cinco dias a 25 °C em AEM; b: esporangióforos simpodialmente ramificados com columela; c: esporangióforos ramificados com columelas; d: esporangióforo simples com esporângio; e: esporangióforo simples com columela; f: esporangióforo simples com columela; g: gotículas de óleo citoplasmáticos no micélio; h: esporangiosporos e oídios..... 91
- Figura 17 – Árvore filogenética de Mucoraceae construída utilizando as sequências de LSU do rDNA. *Mortierella parvispora*, *Backusella lamprospora*, *B. grandis*, *Rhizopus microsporus* e *Actinomucor elegans* foram utilizados como grupo externo. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste estudo está em azul..... 92
- Figura 18 – Árvore filogenética de *Mucor* construída utilizando as sequências de ITS do rDNA do grupo *M. hiemalis*. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste 93

- estudo está em negrito.....
- Figura 19 – *Mucor septatum*. a - d: esporangióforos multiseptados (setas); e - f: esporangióforos simples, multiseptados, com columela; g: esporangióforos simples com esporângio; h: esporangiosporos..... 96
- Figura 20 – Árvore filogenética de Mucoraceae construída utilizando as sequências de LSU do rDNA. *Mortierella parvispora*, *Backusella lamprospora*, *B. grandis*, *Rhizopus microsporus* e *Actinomucor elegans* foram utilizados como grupo externo. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso no GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste estudo está em negrito..... 97
- Figura 21 – Árvore filogenética de Mucoraceae construída utilizando as sequências de LSU do rDNA. *Mucor amphibiorum* foi utilizado como grupo externo. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência bayesiana e das análises de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste estudo esta em negrito..... 98
- Figura 22 – Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências de LSU do rDNA. *Actinomucor elegans*, *Mucor indicus*, *Pilobolus umbonatus* e *Rhizopus microsporus* foram utilizados como grupo externo. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e análise de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente)..... 100
- Figura 23 – Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências do gene codificador de proteína RPB1. *Mucor mucedo* e *M. hiemalis* foram usados como grupo externo. As sequências são rotuladas com seus números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são de inferência Bayesiana e análise de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente)..... 101

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                  |     |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 24 – | Árvore filogenética da família Cunninghamellaceae gerada a partir de sequências da região LSU do rDNA. Valores de suporte são de análise Bayesiana. Os isolados utilizados estão em negrito. <i>Mortierella parvispora</i> foi utilizada como grupo externo..... | 103 |
| Figura 25 – | Atividade específica quanto à produção de proteases coagulantes do leite por espécimes de <i>Mucor</i> .....                                                                                                                                                     | 104 |
| Figura 26 – | Efeito do pH na atividade proteolítica de <i>Mucor</i> sp.1.....                                                                                                                                                                                                 | 105 |
| Figura 27 – | Efeito de pH na atividade proteolítica de <i>M. souzae</i> .....                                                                                                                                                                                                 | 105 |
| Figura 28 – | Efeito de pH na atividade coagulante do leite de <i>Mucor</i> sp.1.....                                                                                                                                                                                          | 106 |
| Figura 29 – | Efeito de pH na atividade coagulante do leite de <i>M. souzae</i> .....                                                                                                                                                                                          | 106 |
| Figura 30 – | Efeito da variação da temperatura na atividade coagulante do leite e proteolítica de <i>Mucor</i> sp.1.....                                                                                                                                                      | 107 |
| Figura 31 – | Efeito da temperatura na atividade coagulante do leite e proteolítica de <i>M. souzae</i> .....                                                                                                                                                                  | 107 |
| Figura 32 – | Efeito do pH na estabilidade da atividade proteolítica de <i>Mucor</i> sp.1, durante 180 minutos.....                                                                                                                                                            | 109 |
| Figura 33 – | Efeito do pH na estabilidade da atividade proteolítica de <i>Mucor souzae</i> , durante 180 minutos.....                                                                                                                                                         | 109 |
| Figura 34 – | Efeito da temperatura na estabilidade da atividade proteolítica de <i>Mucor</i> sp.1, durante 180 minutos.....                                                                                                                                                   | 110 |
| Figura 35 – | Efeito da temperatura na estabilidade da atividade proteolítica de <i>Mucor souzae</i> , durante 180 minutos.....                                                                                                                                                | 110 |
| Figura 36 – | Efeito da concentração de CaCl <sub>2</sub> na atividade coagulante do leite das proteases de <i>Mucor</i> sp.1.....                                                                                                                                             | 111 |
| Figura 37 – | Efeito da concentração de CaCl <sub>2</sub> na atividade coagulante do leite das proteases de <i>Mucor souzae</i> .....                                                                                                                                          | 112 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1 – Classificação dos fungos zigopóricos categorizados até classe (adaptado de Tedersoo, 2018).....                                                                                                                                                        | 25  |
| Tabela 2 – Cepas de <i>Mucor</i> utilizadas para avaliação da produção de proteases coagulantes.....                                                                                                                                                              | 71  |
| Tabela 3 – Número de unidades formadoras de colônia por grama de solo (UFC.g <sup>-1</sup> ) de Mucoromyceta nos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).....                                                   | 75  |
| Tabela 4 – Frequência de ocorrência (Fi %) e abundância relativa (AR %) de Mucoromyceta no solo dos brejos de altitude da Serra do Bituri, Taquaritinga do Norte e Sítio Carro quebrado, PE.....                                                                  | 77  |
| Tabela 5 – Valores de indicação (VI) e grupo indicado no solo dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro quebrado (SCQ).....                                                                                                  | 79  |
| Tabela 6 – Riqueza (S), índice de diversidade de Shannon Wiener (H'), equitabilidade de Pielou's e índice de Margalef das comunidades dos Mucoromyceta no solo dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro quebrado (SCQ)..... | 81  |
| Tabela 7 – Riqueza observada (Sobs) e riqueza estimada pelos estimadores Chao 1 e Jackknife 1 das comunidades dos Mucoromyceta no solo dos brejos de Brejo da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro quebrado (SCQ).....                | 81  |
| Tabela 8 – Análise de similaridade de Bray-Curtis da composição dos Mucoromyceta entre solos dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro quebrado (SCQ).....                                                                   | 83  |
| Tabela 9 – Análise de similaridade (ANOSIM) entre solos dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro quebrado (SCQ).....                                                                                                        | 84  |
| Tabela 10 – Razão de atividade coagulante do leite/atividade proteolítica de proteases de <i>Mucor</i> sp.1, <i>M. souzae</i> e outros coagulantes.....                                                                                                           | 108 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|       |                                    |
|-------|------------------------------------|
| %     | Porcentagem                        |
| BDA   | Batata dextrose Agar               |
| AEM   | Agar Extrato de Malte              |
| °C    | Centígrados                        |
| Km    | Quilômetro                         |
| Cm    | Centímetros                        |
| Mm    | Milímetros                         |
| µm    | Micrômetro                         |
| Diâm. | Diamêtro                           |
| DNA   | Ácido desoxirribonucleico          |
| rDNA  | DNA ribossômico                    |
| ITS   | <i>Internal Transcribed Spacer</i> |
| LSU   | <i>Large subunit</i>               |
| Nm    | Nanômetro                          |
| M     | Molar (mol)                        |
| G     | Gramma                             |
| Mg    | Miligrama                          |
| mg.L  | Miligrama por litro                |
| mL    | Mililitro                          |
| U.mL  | Unidades por Mililitro             |
| µL    | Microlitro                         |
| IPA   | Instituto Agronômico de Pernambuco |
| UFC   | Unidade Formadora de Colônia       |

## SUMÁRIO

|              |                                                                                                                      |           |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                               | <b>21</b> |
| <b>2</b>     | <b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                                                                    | <b>23</b> |
| 2.1          | CLASSIFICAÇÃO DOS FUNGOS ZIGOSPÓRICOS.....                                                                           | 23        |
| 2.2          | MUCOROMYCOTA Doweld.....                                                                                             | 26        |
| 2.3          | MUCOROMYCOTINA Benny.....                                                                                            | 27        |
| <b>2.3.1</b> | <b>Mucorales Schröter.....</b>                                                                                       | <b>28</b> |
| 2.3.1.1      | <i>Absidia</i> Tiegh. e <i>Lichtheimia</i> Vuill.....                                                                | 30        |
| 2.3.1.2      | <i>Actinomucor</i> Schostak.....                                                                                     | 33        |
| 2.3.1.3      | <i>Backusella</i> Hesselt. & J.J. Ellis.....                                                                         | 34        |
| 2.3.1.4      | <i>Cunninghamella</i> Matr.....                                                                                      | 35        |
| 2.3.1.5      | <i>Gongronella</i> Ribaldi.....                                                                                      | 37        |
| 2.3.1.6      | <i>Mucor</i> Fresen.....                                                                                             | 38        |
| 2.3.1.7      | <i>Rhizopus</i> Ehr.....                                                                                             | 39        |
| 2.3.1.8      | <i>Syncephalastrum</i> J. Schröt.....                                                                                | 40        |
| <b>2.3.2</b> | <b>Umbelopsidales Spatafora &amp; Stajich .....</b>                                                                  | <b>41</b> |
| 2.3.2.1      | <i>Umbelopsis</i> Amos & H.L. Barnett.....                                                                           | 43        |
| 2.4          | MORTIERELLOMYCOTA Tedersoo, Koljalg, Bahram, Doring,<br>Schigel, T. May, Sanchez-Ramirez, M. Ryberg & Abarenkov..... | 45        |
| 2.5          | MORTIERELLOMYCOTINA Kerst. Hoffm., K. Voigt & P.M. Kirk.....                                                         | 45        |
| <b>2.5.1</b> | <b>Mortierellales Caval.-Sm.....</b>                                                                                 | <b>46</b> |
| 2.5.1.1      | <i>Mortierella</i> Coem.....                                                                                         | 48        |
| 2.6          | REGIÃO SEMIÁRIDA BRASILEIRA.....                                                                                     | 49        |
| 2.7          | MUCOROMYCETA EM SOLO DO SEMIÁRIDO<br>BRASILEIRO.....                                                                 | 50        |
| 2.8          | MATA ATLÂNTICA.....                                                                                                  | 52        |
| 2.9          | MUCOROMYCETA EM SOLOS DE ÁREAS DE MATA<br>ATLÂNTICA.....                                                             | 54        |
| 2.10         | BREJO DE ALTITUDE.....                                                                                               | 55        |
| 2.11         | MUCOROMYCETA EM SOLOS DE ÁREAS DE BREJO DE<br>ALTITUDE.....                                                          | 57        |

|        |                                                                                     |           |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.12.  | PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR ESPÉCIMES DE MUCOROMYCETA.....                              | 58        |
| 2.12.1 | <b>Protease coagulante do leite – biosíntese por espécimes de Mucoromycota.....</b> | <b>59</b> |
| 3      | <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                      | <b>61</b> |
| 3.1    | ÁREAS DE ESTUDO.....                                                                | 61        |
| 3.1.1  | <b>Brejo da Serra do Bituri.....</b>                                                | <b>61</b> |
| 3.1.2  | <b>Brejo de Taquaritinga do Norte.....</b>                                          | <b>63</b> |
| 3.1.3  | <b>Brejo do Sítio Carro Quebrado.....</b>                                           | <b>64</b> |
| 3.1.4  | <b>Dados pluviométricos.....</b>                                                    | <b>66</b> |
| 3.2    | ISOLAMENTO DOS MUCOROMYCETA.....                                                    | 67        |
| 3.2.1  | <b>Coletas de solo.....</b>                                                         | <b>67</b> |
| 3.3    | ISOLAMENTO, PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS MUCOROMYCETA.....                       | 67        |
| 3.4    | EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DAS REGIÕES ITS E LSU rDNA.....      | 68        |
| 3.5    | ANÁLISES FILOGENÉTICAS.....                                                         | 69        |
| 3.6    | AVALIAÇÃO DAS COMUNIDADES DE MUCOROMYCETA.....                                      | 69        |
| 3.7    | ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....                                                          | 70        |
| 3.8    | AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA COAGULANTE DO LEITE .....                         | 70        |
| 3.8.1  | <b>Preparo do inóculo.....</b>                                                      | <b>70</b> |
| 3.9    | MEIO DE PRODUÇÃO DA PROTEASE.....                                                   | 71        |
| 3.10   | ATIVIDADE PROTEOLÍTICA.....                                                         | 72        |
| 3.11   | QUANTIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS TOTAIS.....                                             | 72        |
| 3.12   | ATIVIDADE DA PROTEASE COMO COAGULANTE DO LEITE.....                                 | 72        |
| 3.13   | ESTABILIDADE DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA.....                                           | 73        |
| 3.14   | EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CaCl <sub>2</sub> SOBRE A COAGULAÇÃO DO LEITE.....        | 73        |
| 4      | <b>RESULTADOS.....</b>                                                              | <b>74</b> |
| 4.1    | MUCOROMYCETA ISOLADOS DE SOLO DOS BREJOS DE ALTITUDE.....                           | 74        |

|         |                                                                                                                           |            |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.2     | TAXONOMIA.....                                                                                                            | 84         |
| 4.2.1   | <b><i>Gongronella brasiliensis</i> C.A.F. de Souza, D.X. Lima &amp; A.L Santiago, sp. nov.....</b>                        | <b>84</b>  |
| 4.2.2   | <b><i>Mucor souzae</i> C.A.F. de Souza, D.X. Lima &amp; AL Santiago, sp. nov.....</b>                                     | <b>89</b>  |
| 4.2.3   | <b><i>Mucor septatum</i> C.A.F. de Souza, T.R. Cordeiro &amp; A.L Santiago, sp. nov.....</b>                              | <b>94</b>  |
| 4.2.4   | <b><i>Backusella</i> sp. nov.....</b>                                                                                     | <b>99</b>  |
| 4.2.5   | <b><i>Absidia</i> sp. nov.....</b>                                                                                        | <b>102</b> |
| 4.3     | CARACTERIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE <i>MUCOR</i> QUANTO À CAPACIDADE DE PRODUZIR PROTEASES COAGULANTES DO LEITE.....          | 104        |
| 4.3.1   | <b>Efeitos do pH e de temperatura nas atividades proteolítica e coagulante do leite e na estabilidade enzimática.....</b> | <b>104</b> |
| 4.3.1.1 | <i>pH e temperaturas ótimos para as atividades proteolítica e coagulante do leite.....</i>                                | 104        |
| 4.3.1.2 | <i>Estabilidade ao pH e temperatura.....</i>                                                                              | 108        |
| 4.3.1.3 | <i>Efeitos da concentração de CaCl<sub>2</sub> na coagulação do leite.....</i>                                            | 111        |
| 5       | <b>DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                    | <b>112</b> |
| 5.1     | ECOLOGIA DAS COMUNIDADES DE MUCOROMYCETA EM DIFERENTES ECOSSISTEMAS DE BREJOS DE ALTITUDE DE PERNAMBUCO.....              | 112        |
| 5.2     | TAXONOMIA.....                                                                                                            | 121        |
| 5.2.1   | <b><i>Gongronella brasiliensis</i> C.A.F. DE Souza, D.X. Lima &amp; A.L Santiago, sp. nov.....</b>                        | <b>121</b> |
| 5.2.2   | <b><i>Mucor souzae</i> C.A.F. de Souza, D.X. Lima &amp; A.L Santiago, sp. nov.....</b>                                    | <b>122</b> |
| 5.2.3   | <b><i>Mucor septatum</i> C.A.F. de Souza, T.R. Cordeiro &amp; A.L Santiago, sp. nov.....</b>                              | <b>123</b> |
| 5.3     | CARACTERIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE <i>MUCOR</i> QUANTO À CAPACIDADE DE PRODUZIR PROTEASES COAGULANTES DO LEITE.....          | 125        |

|         |                                                                                                                           |            |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 5.3.1   | <b>Efeitos do pH e de temperatura nas atividades proteolítica e coagulante do leite e na estabilidade enzimática.....</b> | <b>126</b> |
| 5.3.1.1 | <i>pH e temperaturas ótimos para as atividades proteolítica e coagulante do leite.....</i>                                | 126        |
| 5.3.1.2 | <i>Estabilidade ao pH e à temperatura.....</i>                                                                            | 129        |
| 5.3.1.3 | <i>Efeitos da concentração de CaCl<sub>2</sub> na coagulação do leite.....</i>                                            | 130        |
| 6       | <b>CONCLUSÕES.....</b>                                                                                                    | <b>131</b> |
|         | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                   | <b>135</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O domínio Mata Atlântica é conhecido pela elevada biodiversidade e por apresentar espécies endêmicas de grupos taxonômicos variados (MYERS et al., 2000), incluindo os fungos. O nordeste brasileiro é composto por unidades biogeográficas de Mata Atlântica, abrangendo os estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte, com pequenos enclaves no Ceará e Piauí (TABARELLI; SANTOS, 2004). Parte da Mata Atlântica nordestina é composta pelos brejos de altitude, que são disjunções de Floresta Atlântica estabelecidas em regiões de Caatinga (ANDRADE-LIMA, 1982). A existência dessas “ilhas”, tidas como refúgios de florestas úmidas inseridas no domínio semiárido, está associada à ocorrência de planaltos e chapadas que conferem condições climáticas amenas e maior cobertura vegetal, quando comparadas às áreas da Caatinga (ANDRADE-LIMA, 1966).

O solo é um dos principais substratos microbianos, e a diversidade da microbiota edáfica contempla espécies de todos os grupos de micro-organismos, dentre eles, os fungos, conferindo elevadas heterogeneidades metabólica e fisiológica (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006). As populações de fungos presentes neste habitat desempenham um papel importante nos processos ecológicos globais, pois várias espécies são decompositoras da matéria orgânica (MUMMEY et al., 2010). Dentre os fungos presentes no solo, destacam-se os pertencentes ao sub-reino Mucoromycota, cuja maioria das espécies são decompositoras primárias e pioneiras nos processos de colonização e sucessão ecológica nesse ambiente (RICHARDSON, 2009). Muitos desses fungos, também conhecidos como zigospóricos, podem ser encontrados nas mais variadas regiões do planeta, apresentando elevada diversidade de interações ecológicas (WHITE et al., 2006). Estima-se que o ancestral desses fungos tenha origem no período Pré-Cambriano (BLAIR, 2009), estando filogeneticamente localizado entre as linhagens basais dos fungos (KRINGS et al., 2013).

As ordens Mucorales Schröter, Umbelopsidales Spatafora & Stajich e Mortierellales Caval.-Sm., inseridas nos subfilos Mucoromycotina Benny e Mortierellomycotina Kerst. Hoffm., K. Voigt & P.M. Kirk, compreendem espécies que se caracterizam morfológicamente pela produção dos zigosporângios, estruturas de resistência de origem sexuada resultantes da fusão de dois gametângios que comportam o zigósporo

(BENNY et al., 2016). A maioria das espécies dessas ordens é sapróbia, sendo comumente encontradas no solo, em frutos, excrementos de herbívoros e em grãos estocados (SANTIAGO, 2008).

Embora estudos tenham reconhecido que a diversidade de fungos em ecossistemas semiáridos é elevada (SANTIAGO; SOUZA MOTTA, 2006; GUSMÃO et al., 2006; SANTIAGO et al., 2013; MAIA; CARVALHO JR., 2014; SANTIAGO, 2015), dados sobre comunidades fúngicas, bem como as relações ecológicas desses micro-organismos com os substratos e com outros organismos nesses ecossistemas ainda são escassos.

Apenas 37 táxons de Mucoromyceta foram referidos em áreas de brejo de altitude (CORDEIRO, 2014; ALVES, 2016; TIBPROMMA et al., 2017; DE SOUZA et al., 2018; LIMA, 2018b), incluindo novas espécies (SANTIAGO et al., 2014), o que provavelmente não retrata a real riqueza desses fungos nesses ecossistemas. Além disso, muitas espécies de Mucorales têm sido estudadas pela elevada capacidade de produzirem enzimas, como amilases, inulinases e proteases (ALVES et al., 2005).

As proteases compõem aproximadamente 60% de todas as enzimas comercializadas, devido à elevada aplicabilidade das mesmas nas indústrias de alimentos e de produtos farmacêuticos. Uma das principais aplicações das proteases é na indústria de laticínios, para a produção de queijos, estando esses catalisadores envolvidos no processo de coagulação de caseínas do leite a partir de enzimas proteolíticas (D'AMBROSIO et al., 2003; KUMAR et al., 2005).

A renina ou quimosina, extraída do abomasso dos ruminantes, é um tradicional coagulante do leite (MERHEB-DINI et al., 2010). No entanto, devido à escassez da produção dessa protease, ao aumento do preço e à expansão da produção de queijos, pesquisas têm sido encorajadas a utilizar os micro-organismos como fontes alternativas para a produção de coagulantes do leite que possam ser usados na fabricação de queijos (KAVADIA et al., 2001; MAGNUSON; LASURE, 2004; KUMAR et al., 2005; FERREIRA et al., 2013). Cepas de *Mucor* Fresen., *Rhizopus* Ehrenb. e *Thermomucor* Subrahm., B.S. Mehrotra & Thirum. (Mucoromycotina) foram citadas como promissoras na produção dessas proteases coagulantes do leite (KUMAR et al., 2005; MACHALINSKI et al., 2006; MERHEB-DINI et al., 2010). No entanto, embora com resultados promissores os estudos têm se limitado a poucas cepas dos gêneros supracitados e outros táxons de Mucoromyceta podem ser fontes alternativas para a produção de proteases que substituam

as fontes tradicionais para a coagulação do leite em larga escala.

Em Umbelopsidales, *Umbelopsis isabellina* (Oudem.) W. Gams apresenta elevado potencial na eliminação e desintoxicação do 2,4 - diclorofenoxiacético (2,4-D) (NYKIEL-SZYMAŃSKA et al., 2017), e espécimes de Mortierellales, como *Mortierella alpina* Peyronel, podem ser utilizados na produção de biodiesel (HAO et al., 2015). O isolamento e o depósito desses micro-organismos em coleções de cultura, para avaliação do respectivo potencial biotecnológico é altamente recomendado.

Considerando a importância ecológica e o elevado potencial de produção enzimática dos Mucoromyceta, bem como os escassos relatos desses fungos no Brasil, principalmente em ecossistemas de brejo de altitude, áreas que podem representar refúgios valiosos para a descoberta de novos taxóns, os objetivos deste estudo foram determinar aspectos ecológicos e a similaridade de comunidades dos Mucomyceta em brejos localizados no Estado de Pernambuco, bem como caracterizar cepas isoladas quanto à capacidade da produção de proteases coagulantes do leite.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CLASSIFICAÇÃO DOS FUNGOS ZIGOSPÓRICOS

A filogenia dos fungos zigospóricos tem sido amplamente discutida (O'DONNELL et al., 2001; HIBBETT et al., 2007; VOIGT; KIRK 2014; BENNY 2016; SPATAFORA et al., 2016). Tradicionalmente, os fungos zigospóricos foram considerados membros de Zygomycota Moreau (ALEXOPOULOS, 1962; ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996), que incluía fungos de linhagens basais distribuídos nas classes Trichomycetes Alexop. e Zygomycetes G. Winter (BENNY, 2001; BENNY et al., 2001). De acordo com McNeill et al. (2012), o filo Zygomycota nunca foi validado pela carência, em 1954, da descrição em latim, em concordância com o Código de Nomenclatura Botânica (no presente Código de Nomenclatura para Algas, Fungos e Plantas). Estudos precursores de alterações do sistema de classificação dos Zygomycota (BENNY; O'DONNELL, 2000; BENNY; HUMBER; MORTON, 2001; CAFARO, 2005) concluíram que Amoebias L. Léger & Duboscq e Eccrinalles abrigavam espécimes de Mezomycetozoea (reino Protista), e não de fungos. Outras mudanças surgiram a partir do

estudo de James et al. (2006), que sugeriram a polifilia de Zygomycota. Com base na morfologia e nas relações filogenéticas inferidas a partir de dados moleculares, Hibbett et al. (2007) consideraram os fungos zigospóricos como um agrupamento artificial de clados basais compreendendo, de acordo com Muszewska et al. (2014), quatro subfilos: Mortierellomycotina, Mucoromycotina, Kickxellomycotina Benny e Zoopagomycotina Benny.

Spatafora et al. (2016), após um estudo envolvendo análises de dados em escala genômica, propuseram uma reclassificação filogenética para os fungos zigospórios distribuindo-os em dois filis (Mucoromycota Doweld e Zoopagomycota Gryganskyi, M.E. Smith, Stajich & Spatafora), seis subfilos, [Glomeromycotina (C. Walker & A. Schüßler) Spatafora & Stajich, Mortierellomycotina, Mucoromycotina, Entomophthoromycotina Humber, Kickxellomycotina e Zoopagomycotina], quatro classes (Glomeromycetes Caval.-Sm., Basidiobolomycetes Doweld, Entomophthoromycetes Humber e Neozygitomycetes Humber) e 16 ordens, (Archaeosporales C. Walker & A. Schüßler, Diversisporales C. Walker & A. Schüßler, Glomerales J. B. Morton & Benny, Paraglomerales C. Walker & A. Schüßler, Mortierellales Caval.-Sm., Endogonales Moreau ex R. K. Benj., Mucorales Fr., Umbelopsidales Spatafora & Stajich, Basidiobolales Jacz. & P.A. Jacz., Entomophthorales G. Winter, Neozygitaes Humber, Asellariales Manier ex Manier & Lichtw., Dimargaritales R.K. Benj., Harpellales Lichtw. & Manier, Kickxellales Kreisel ex R.K. Benj. e Zoopagales Bessey ex R.K. Benj.).

Tedersoo et al. (2018) propuseram relevantes alterações na classificação dos fungos zigospóricos, especialmente nas categorias de filo e classe. Com base em filogramas construídos a partir de genes codificantes de proteína (rRNA), bem como no tempo de divergência dos diferentes grupos de fungos, esses autores introduziram a classificação em sub-reinos, permitindo uma ligação entre filis relacionados. Os fungos zigospóricos foram, portanto, classificados nos sub-reinos Mucoromycota e Zoopagomycota e sete filis: Kickxellomycota, Entomophthoromycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Mortierellomycota, Calcarisporiellomycota e Glomeromycota (Tabela 1).

**Tabela 1.** Classificação dos fungos zigospóricos categorizados até classe (adaptado de Tedersoo, 2018).

| <b>Categoria</b> | <b>Classificação</b>                                    |
|------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Sub-reino</b> | <b>Basidiobolomyceta Tedersoo et al.</b>                |
| <b>Filo</b>      | Basidiobolomycota Doweld.                               |
| <b>Subfilo</b>   | Basidiobolomycotina Tedersoo et al.                     |
| <b>Classe</b>    | Basidiobolomycetes Doweld                               |
| <b>Sub-reino</b> | <b>Zoopagomyceta Tedersoo et al.</b>                    |
| <b>Filo</b>      | Entomophthoromycota Humber emend Tedersoo et al.        |
| <b>Subfilo</b>   | Entomophthoromycotina                                   |
| <b>Classe</b>    | Neozygitomycetes Humber                                 |
| <b>Filo</b>      | Kickxellomycota Tedersoo et al.                         |
| <b>Subfilo</b>   | Kickxellomycotina Benny                                 |
|                  | Kickxellomycetes Tedersoo et al.                        |
|                  | Asellariomycetes Tedersoo et al.                        |
| <b>Classe</b>    | Barbatosporomycetes Tedersoo et al.                     |
|                  | Dimargaritomycetes Tedersoo et al.                      |
|                  | Harpellomycetes Tedersoo et al.                         |
|                  | Ramicandelaberomycetes Tedersoo et al.                  |
| <b>Filo</b>      | Zoopagomycota M.E. Smith, Spatafora & Stajich           |
| <b>Subfilo</b>   | Zoopagomycotina Benny                                   |
| <b>Sub-reino</b> | <b>Mucoromyceta Tedersoo et al.</b>                     |
| <b>Filo</b>      | Mucoromycota Doweld                                     |
| <b>Subfilo</b>   | Mucoromycotina Benny                                    |
|                  | Mucoromycetes Doweld                                    |
| <b>Classe</b>    | Endogonomycetes Doweld                                  |
|                  | Umbelopsidomycetes Tedersoo et al.                      |
| <b>Filo</b>      | Calcarisporiellomycota Tedersoo et al.                  |
| <b>Subfilo</b>   | Calcarisporiellomycotina Tedersoo et al.                |
| <b>Classe</b>    | Calcarisporiellomycetes Tedersoo et al.                 |
| <b>Filo</b>      | Mortierellomycota Tedersoo et al.                       |
| <b>Subfilo</b>   | Mortierellomycotina Kerst. Hoffm., K. Voigt & P.M. Kirk |
| <b>Classe</b>    | Mortierellomycetes Doweld                               |

|                |                                                                          |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>Filo</b>    | Glomeromycota C. Walker & A. Schüßler                                    |
| <b>Subfilo</b> | Glomeromycotina Spatafora & Stajich                                      |
|                | Glomeromycetes Caval.-Sm., emend. Oehl, G.A. Silva, B.T. Goto & Sieverd. |
| <b>Classe</b>  | Archaeosporomycetes Sieverd., G.A. Silva, B.T. Goto & Oehl               |
|                | Paraglomeromycetes Oehl, G.A. Silva, B.T. Goto & Sieverd.                |

---

O filo Calcarisporiellomycota, proposto por Tedersoo et al. (2018), inclui fungos filogeneticamente mais relacionados à Mucoromycota e Mortierellomycota (JIANG et al., 2011; HIROSE et al., 2012; YAMAMOTO et al., 2015; TEDERSOO et al., 2017). Os micro-organismos descritos nesse filo são caracterizados pela produção de esporangióforos simples, surgindo de hifas indiferenciadas, com esporângios uniesporados, elipsoides, com ou sem uma pequena columela (TEDERSOO et al., 2018). A criação do filo Mortierellomycota, nessa reclassificação, é baseada nas consistentes diferenças filogenéticas entre Mortierellales e Mucoromycota (JAMES et al., 2006a; SEKIMOTO et al., 2011; SPATAFORA et al., 2016; TEDERSOO et al., 2017). Tedersoo et al. (2018) propuseram também a revalidação de Glomeromycota ao nível de filo, como inicialmente proposto por Schüßler et al. (2001).

## 2.2 MUCOROMYCOTA Doweld

Espécies de Mucoromycota estão distribuídas nas ordens Endogonales, Mucorales e Umbelopsidales (SPATAFORA et al., 2016), constituindo um grupo de fungos heterogêneo, cosmopolita que produz zigósporos característicos do filo. Embora a maioria dos táxons seja terrestre, alguns podem estar associados a hospedeiros aquáticos (VOIGT, 2012). Espécimes desse filo podem se portar como sapróbios, endocomensais em larvas e/ou artrópodes adultos, simbioses obrigatórios (endomicorrízicos) ou como parasitas de animais, plantas e outros fungos (BENNY, 2001; BENNY et al., 2014).

A reprodução assexuada, embora desconhecida em representantes de Endogonales, é a mais frequente entre os Mucoromycota, ocorrendo pela produção de esporangiosporos, esporos e merosporos, formados no interior de esporângios, esporangióolos ou merosporângios, respectivamente, sustentados no ápice de hifas férteis denominadas esporangióforos, esporóforos e merosporangióforos (BENNY, 2009). Em alguns táxons, a formação de clamidosporos ou a fragmentação do micélio, produzindo artrosporos, podem

ocorrer e, em indivíduos dimórficos (ex. *Mucor indicus* Lendn.), a gemação pode ser observada (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996). A reprodução por partenogênese, ainda que rara, ocorre em algumas espécies, com a formação do azigósporo, esporo morfológicamente similar ao zigósporo cujos gametângios envolvidos não se unem na copulação (BENJAMIN; MEHROTRA, 1963; BENNY, 2009).

### 2.3 MUCOROMYCOTINA Benny

O subfilo Mucoromycotina, um dentre os quatro subfilos de Mucoromycota propostos por Tedersoo et al. (2018), abriga táxons das ordens Mucorales, Endogonales e Umbelopsidales. Membros desse subfilo são caracterizados pela formação de micélio bem desenvolvido e cenocítico com septos presentes apenas na base de estruturas reprodutivas. A reprodução assexuada ocorre pela produção de esporos formados no interior de esporângios, esporangíolos e merosporângios, ou pela formação de clamidósporos ou, menos comumente, pela fragmentação do micélio originando artrosporos e pela formação de células leveduriformes. A maioria dos táxons de Mucoromycotina apresenta columelas bem definidas. A reprodução sexuada, quando conhecida, caracteriza-se pela produção do zigósporo (a partir de gametângios opostos ou apostos) no micélio aéreo, no substrato ou no interior de esporocarpos (BENNY et al., 2016).

Endogonales inclui espécies ectomicorrízicas e sapróbias, podendo ser coletadas do solo e de outros substratos orgânicos. Espécimes dessa ordem apenas se reproduzem sexuadamente, formando zigosporângios e zigospóros produzidos por copulação gametangial. As espécies de Endogonales formam hifas cenocíticas ou com poucos septos (BIDARTONDO et al. 2011; DESIRÒ et al., 2017). De acordo com Tedersoo & Smith (2013), é provável que as ectomicorrizas tenham divergido em duas linhagens distintas em Endogonales, apresentando os membros desse grupo origem independente de Glomeromycotina e de espécimes ectomicorrízicos de Dikarya (BIDARTONDO et al. 2011, TEDERSOO; SMITH, 2013; DICKIE et al., 2015).

Informações sobre as ordens Mucorales e Umbelopsidales serão fornecidas abaixo nos itens 2.3.1 e 2.3.2, respectivamente.

### 2.3.1 Mucorales Schröter

Mucorales, proposta por Durmort. (1829), abriga o maior número de espécies descritas de Mucoromycotina, totalizando mais de 200 (KIRK et al., 2008). Inicialmente, essa ordem compreendia quatro famílias (VAN TIEGHEM, 1878), mas, atualmente, Mucorales abrange 14 famílias: Backusellaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Choanephoraceae, Cunninghamellaceae Naumov ex R.K. Benj., Lentamycetaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Lichtheimiaceae Kerst. Hoffm., G. Walther & K. Voigt, Mucoraceae Dumort., Mycocladiaceae Kerst. Hoffmann, Disher & K. Voigt, Mycotyphaceae, Phycomycetaceae, Pilobolaceae, Radiomycetaceae Hesselt. & J.J. Ellis, Rhizopodaceae K. Voigt & P.M. Kirk, Saksenaaceae Hesselt. & J.J. Ellis e Syncephalastraceae (BENNY et al., 2016).

Espécies de Mucorales caracterizam-se pela formação de hifas cenocíticas com septos na base de estruturas reprodutivas ou irregularmente distribuídos quando o micélio envelhece (SANTIAGO et al., 2013). Em geral, membros de Mucorales apresentam rápido crescimento micelial, mesmo em meios de cultura pobres, produzindo estruturas assexuais em abundância e colônias de aspecto cotonoso, com coloração variando entre tons de branco, amarelo, cinza, marrom, preto e laranja (ALVAREZ, 2013). Estruturas especializadas na fixação e absorção de nutrientes, como os rizoides, são comumente visualizadas, bem como a formação de estolões e clamidosporos nas hifas somáticas ou em estruturas de reprodução assexuada (KIRK et al., 2008).

O ciclo reprodutivo assexuado, o mais frequentemente observado, ocorre, principalmente, pela produção de aplanósporos produzidos no interior de esporângios, esporangiólos ou merosporângios, dispostos na extremidade de esporangióforos e podendo se apresentar isolados ou agregados, eretos ou circinados e com variações nos padrões de ramificação, desde simples ou monopodiais, até ramificações cimosas, racemosas e simpodiais (BENJAMIN, 1979; BENNY, 2009; VIRIATO, 2013). A gemação, ainda que incomum, pode ocorrer em decorrência do dimorfismo observado em algumas espécies de Mucorales, especialmente no gênero *Mucor* Fresen., em resposta a variações de temperatura, CO<sub>2</sub>, da concentração de glicose e disponibilidade de oxigênio (BARTNICKI-GARCIA, 1963; ORLOWSKI, 1991). A reprodução assexuada também pode ocorrer pela fragmentação de hifas ou produção de clamidosporos (ALEXOPOULOS et al., 1996).

Em Mucorales, a reprodução sexuada é caracterizada, morfológicamente, pela formação de zigósporos, resultantes da fusão de dois gametângios geneticamente

compatíveis no interior do zigosporângio. Essa última estrutura tem sido considerada por muitos autores como importante na identificação de alguns gêneros, como *Absidia* van Tieghem e *Lichtheimia* Vuill., sendo a presença ou ausência da mesma, bem como o tipo de ornamentação e a presença de apêndices (que surgem a partir das células suspensoras), fatores a serem considerados na diferenciação morfológica de espécies desse grupo de fungos (HOFFMANN et al., 2007). A reprodução sexuada ocorre em menor frequência nesses micro-organismos e, em várias espécies, a formação do zigosporângio e do zigósporo ainda não foi documentada (O'DONNELL et al., 2001).

A dispersão dos esporos por táxons de Mucorales pode ocorrer de forma ativa ou passiva. Espécies de *Pilobolus* Tode, único gênero coprófilo obrigatório dessa ordem, exibem a estratégia de expulsão ativa dos esporos, utilizando-se de um mecanismo de elevação da pressão osmótica da vesícula subesporangial, ocasionando a ruptura da parede do esporangióforo abaixo da columela, lançando o esporângio a distâncias superiores a 2 m do excremento (BULLER, 1934). A dispersão passiva, mais comum entre fungos zigospóricos, dá-se pela liberação dos esporos que podem ser secos ou úmidos. Os esporângios, esporangiólos e merosporângios que portam esporos secos são evanescentes, ou seja, esses propágulos são dispersos por correntes de ar, como observado, por exemplo, nas espécies de *Rhizopus*. Quanto às espécies que produzem esporos úmidos, os esporângios apresentam parede deliquescente (ex. *Backusella* Hesselt. & J.J. Ellis) ou resistente (ex. *Gilbertella* Hesselt.). Os esporos úmidos são liberados imersos em conteúdo citoplasmático e podem ser dispersos pela água, insetos, mamíferos e pássaros (BENNY, 2012).

Cosmopolitas, oligotróficos ou mesotróficos, os Mucorales são representados, em maioria, por espécies sapróbias que apresentam elevada capacidade adaptativa, o que permite a colonização pioneira de vários substratos, degradando desde açúcares simples, à estruturas moleculares complexas, como lignina, hemiceluloses, lipídios e proteínas (DOMSCH et al., 1993; DIX; WEBSTER, 1995). Representantes dos Mucorales são comumente isolados do solo, grãos, frutos estocados, de excrementos de herbívoros e roedores (SANTIAGO et al., 2013; DE SOUZA et al., 2016). A presença desses fungos em variados substratos reflete a importância ecológica do grupo nos processos de biodegradação, decomposição primária e ciclagem de nutrientes (DIX; WEBSTER, 1995; BILLS et al., 2004; RICHARDSON, 2009; SANTIAGO et al., 2013). Embora o hábito

sapróbio ocorra com maior frequência, algumas espécies de Mucorales podem estabelecer interação micoparasitária com outras dessa mesma ordem, como observado em táxons de *Parasitella* Bainier (PARTIDA-MARTINEZ; HERTWECK, 2005; BENNY, 2009). Algumas espécies podem ser patógenas de plantas, infectando órgãos e frutos, como *Choanephora cucurbitarum* (Berk. & Ravenel) Thaxt., *R. arrhizus* var. *arrhizus* A. Fisch. e *R. stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. (DENNIS, 1983; HOWELL, 2002), ou podem causar infecções sistêmicas em humanos (Ex: *M. irregularis* Stchigel, Cano, Guarro & E. Álvarez), especialmente nos imunocomprometidos (RIBES et al., 2000; RODEN et al., 2005; SKIADA et al., 2011; HOFFMAN et al., 2013).

Além da importância ecológica dos Mucorales, estudos sobre aplicações desses fungos na biotecnologia têm aumentado consideravelmente. Táxons de *Mucor*, *Cunninghamella* Matr. e *Rhizopus* estão envolvidos na síntese de diversos produtos industriais, como amilase, lipase, inulinase, pectinase, renina, protease e outros metabólitos (ALVES et al., 2005; SANTIAGO; SOUZA-MOTTA, 2006). Outros são empregados na produção dos ácidos cítrico, linolênico, aracdônico, oxálico e láctico (KAVADIA et al., 2001; MAGNUSON; LASURE, 2004). *Mucor circinelloides* Tiegh., foi citada como promissora para a produção de biodiesel em escala industrial (VICENTE et al., 2009). A composição dos ácidos graxos da membrana plasmática, aliada à capacidade comprovada de crescer em tanques fermentadores industriais, favorecem a utilização desses fungos para a produção de combustíveis sustentáveis (RATLEDGE, 2004). Na indústria alimentícia, espécimes de Mucorales são utilizados na fermentação de alimentos asiáticos, conhecidos como Tempeh, Tofu e o Sofu (HESSELTINE, 1986; NOUT; KIERS, 2005; ALVAREZ, 2013). Táxons de *Thermomucor* Subrahm., B.S. Mehrotra & Thirum. vêm sendo citados como promissores para a produção de proteases coagulantes do leite (NOUT; KIERS, 2005; MERHEB-DINI et al., 2010; XUEFENG et al., 2011), sendo importantes agentes para as indústrias farmacêutica, têxtil e alimentícia.

#### 2.3.1.1 *Absidia* Tiegh. e *Lichtheimia* Vuill.

*Absidia* foi descrito por Van Tieghem (1876) e englobava 19 espécies e seis variedades. Posteriormente, espécies em *Absidia* foram incluídas em cinco gêneros: *Tieghemiella* Berl. & de Toni (BERLÈSE; DE TONI, 1888), *Mycocladus* Beauverie

(BEAUVÉRIE, 1900), *Proabsidia* Vuill. (VUILLEMIN, 1903a), *Lichtheimia* (VUILLEMIN, 1903b) e *Pseudoabsidia* Bainier (BAINIER, 1903). Em seguida, Hesseltine & Ellis (1964) propuseram que *Absidia* fosse dividida em dois subgêneros (*Absidia* e *Mycocladius*), com base na capacidade de algumas espécies de crescerem em temperaturas elevadas e na morfologia do zigósporo. Subsequentemente, Hesseltine & Ellis (1964) e Ellis & Hesseltine (1965, 1966) agruparam as espécies de *Absidia* em concordância com a morfologia dos esporangiosporos, distinguindo-as pela produção de esporos cilíndricos, globosos e ovóides. KIRK et al. (2001) trataram *Tieghemella*, *Mycocladius*, *Proabsidia*, *Pseudoabsidia*, *Lichtheimia* e *Protoabsidia* Naumov. como sinônimos de *Absidia*, gênero até então classificado em Cunninghamellaceae.

Espécies de *Absidia* são sapróbias, colonizando ambientes edáficos, excrementos de animais e de outros substratos em decomposição. No entanto, alguns representantes foram reportados como agentes causais de mucoromicoses em animais, incluindo seres humanos (BENNY, 2010). Táxons de *Absidia* produzem esporangióforos surgindo de estolões, nunca apostos aos rizóides, eretos, simples ou levemente ramificados, frequentemente dispostos em fascículos ou em verticilos surgindo de uma base comum, além de esporângios apofisados e piriformes com parede deliquescente (HELSELTINE; ELLIS, 1964). As columelas podem variar em forma, sendo as cônicas e hemisféricas as mais comuns. Projeções apicais são comumente observadas na maioria das espécies do gênero (HOFFMANN et al., 2007).

CrITÉRIOS morfofisiológicos foram, durante muitas décadas, a base na delimitação e classificação de táxons de *Absidia*. No entanto, Hoffmann et al. (2007) revisaram o gênero adotando uma abordagem filogenética associada a dados morfofisiológicos. Os autores reclassificaram as espécies de *Absidia* em três grupos: micoparasitas – espécies que apresentam capacidade de crescimento em até 20 °C, sendo patogênicas em potencial e que geralmente acometem outros Mucorales; mesofílicas – espécies que crescem entre 20 e 34 °C; termotolerantes – espécies com crescimento em temperaturas elevadas, abrangendo uma faixa entre 35 e 53 °C. De acordo com suas análises, Hoffmann et al. (2007) reportaram a produção de zigósporos sem apêndices nas espécies termotolerantes (diferente das espécies de *Absidia* que formam zigósporos com apêndices), sugerindo que *A. blakesleeana* Lendn., *A. corymbifera* (Cohn) Sacc. & Trotter., *A. hyalospora*. (Saito) Lendn e *A. ramosa* (Zopf) Lendn. fossem realocadas em *Mycocladius*.

Subsequente às alterações inferidas por Hoffmann et al. (2007), e objetivando elucidar as relações filogenéticas, bem como a posição taxonômica de algumas espécies de *Mycocladius*, Hoffmann et al. (2009) verificaram que *M. verticillatus* Beauverie não é termotolerante e produz zigospórangios que apresentam células suspensoras portando apêndices e parede zigosporangial ornamentada, com escalas ou tubérculos, referidas para *Lentamyces parricida* (Renner & Muskat ex Hesselt. & J.J. Ellis) Kerst. Hoffm. & K. Voigt. Consequentemente, Hoffmann et al. (2009) reclassificaram as espécies de *Mycocladius*, alocando-as em *Lichtheimia*, cuja espécie tipo é *L. corymbifera* (Cohn) Vuill. Assim, foram validadas: *L. blakesleeana* (Lendn.) Kerst. Hoffm., Walther & K. Voigt, *L. corymbifera*, *L. hyalospora* (Saito) Kerst. Hoffm., Walther & K. Voigt e *L. ramosa* (Zopf) Vuill., e a família Lichteimiaceae K. Hoffm., G. Walther & K. Voigt foi proposta. Alastruey-Izquierdo et al. (2010) transferiram *A. ornata* A.K. Sarbhoy para *Lichtheimia* [*L. ornata* (A.K. Sarbhoy) A. Alastruey-Izquierdo & G. Walther, comb. nov.], descreveram *L. sphaerocystis* A. Alastruey-Izquierdo & G. Walther e colocaram *L. blakesleeana* em sinonímia com *L. hyalospora*. Posteriormente, Santiago et al. (2014) propuseram *L. brasiliensis* A.L. Santiago, Lima & Oliveira.

Como a maioria dos Mucorales, *Lichtheimia* é representado por espécies sapróbias, comumente isoladas do solo ou de detritos vegetais (ALASTRUEY-IZQUIERDO et al., 2010). No entanto, de acordo com Schwartze et al. (2014), estima-se que espécimes de *Lichtheimia* tenham sido referidos em aproximadamente 5% dos casos de mucormicose notificados no mundo, número que, segundo Alastruey-Izquierdo et al. (2010), pode estar subestimado. Apesar disso, dentre as espécies do gênero, apenas *L. corymbifera* e *L. ramosa* foram apontadas como agentes de maior relevância clínica (ALASTRUEY-IZQUIERDO et al., 2010; SCHWARTZE et al., 2012).

Apesar da similaridade morfológica com espécies de *Absidia*, *Lichtheimia* é constituído por indivíduos predominantemente termotolerantes, em contraste com as espécies mesofílicas de *Absidia*. Além disso, as células suspensoras dos zigospórangios de *Absidia* apresentam apêndices, diferentes das dos zigospórangios de *Lichtheimia*, que não os apresentam (HOFFMANN et al., 2007; HOFFMANN et al., 2009).

### 2.3.1.2 *Actinomucor* Schostak.

*Actinomucor* Schostak., um dos gêneros pertencentes à Mucoraceae, foi originalmente descrito por Schostakowitsh (1898) e revisado por Benjamin & Hesseltine (1957). Esse gênero foi intimamente relacionado à *Mucor* e, com menor frequência, à *Rhizopus* e *Absidia* (BENJAMIN; HESSELTINE, 1957). *Actinomucor* tem sido diferenciado de *Mucor* pela formação de estolões ramificados originando rizoides. Em relação à *Rhizopus* e *Absidia*, *Actinomucor* destaca-se pelo padrão de ramificação dos esporangióforos (descrito abaixo) e pela formação de esporângios não apofisados, além do crescimento limitado dos estolões (BENJAMIN; HESSELTINE, 1957; KHAN et al., 2008).

*Actinomucor* é morfológicamente caracterizado pela produção de esporóforos projetados em verticilos dispostos em ramificações curtas abaixo dos esporângios terminais. Espécimes desse gênero apresentam esporângios multiesporados, mais ou menos globosos, com parede deliquescente ou persistente nos esporângios terminais e persistente nos secundários. Cristais de oxalato de cálcio estão presentes na parede esporangial, estando relacionados à liberação dos esporos. Estolões e rizoides são formados. A produção de zigósporo é desconhecida no gênero (BENJAMIN; HESSELTINE, 1957).

Representantes de *Actinomucor* são ubíquos e têm sido referidos em diferentes substratos e hospedeiros, tais como rizosfera de várias culturas (aveia, cevada, milho, trigo, alfafa e lúpulo), excrementos de roedores, fezes e penas de aves de vida livre, além de material vegetal em decomposição (PHALIP et al., 2006; DOMSCH et al., 2007). Táxons de *Actinomucor* têm sido reportados como agentes etiológicos em vários casos de mucormicose em humanos (DAVEL et al., 2001; KHAN et al., 2008; TULLY et al., 2009; MAHMUD et al., 2012). A ocorrência e patogenicidade de *A. elegans* (Eidam) C.R. Benj. & Hesselt. em insetos (besouro de chafer do trigo: *Anisoplia austriaca*) foi registrada por Karimi et al. (2015), podendo esse fungo ser considerado um potencial agente de biocontrole, em decorrência do rápido crescimento e da abundante produção de propágulos. *Actinomucor elegans* também tem sido utilizado em biotecnologia, para produção de várias enzimas proteolíticas e lipolíticas, além de ser conhecido como produtor de alimentos orientais, como Sufu e Chao (JONG; YUAN, 1985; WANG et al., 1974; HAN et al., 2003; HAN et al., 2004).

*Actinomucor* foi proposto para acomodar *A. elegans* e *A. taiwanensis* S.C. Jong & G.F. Yuan. Posteriormente, outras três espécies [*A. corymbosus* Naumov, *A. harzii* (Berl. & De Toni) e *A. repens* Schostak. Rosemberg] foram descritas (KHAN et al., 2008). Características morfofisiológicas serviram como base para a delimitação das espécies e formas de *Actinomucor* até meados de 2005, até que Zheng & Liu (2005), em um estudo unindo filogenia e morfofisiologia, propuseram que *A. taiwanensis* fosse reduzida a uma variedade de *A. elegans*, descrevendo-a como *A. elegans* var. *meitauzae* (Y.K. Shih) R.Y. Zheng & X.Y. Liu.

Para Khan et al. (2008), as características fenotípicas de *Actinomucor* são insuficientes para a identificação taxonômica dos espécimes, ocorrendo o mesmo para alguns critérios, como tolerância a temperaturas de crescimento e perfis de assimilação de carbono. De acordo com Walther et al. (2013), análises filogenéticas da região ITS (rDNA) contradizem conceitos taxonômicos atribuídos ao gênero, em que espécies com as características morfológicas correspondentes à *A. elegans* var. *meitauzae* foram alocadas em diferentes clados na árvore filogenética utilizando sequências de ITS do rDNA, e que apenas uma fração das cepas pertencentes à *A. elegans* var. *elegans* foi incluída em um mesmo clado, bem suportado, incluindo sequências do ex-tipo de *A. elegans* var. *elegans*. Dessa forma, uma revisão taxonômica detalhada é necessária para elucidar a real posição filogenética dos táxons desse gênero. De acordo com o Species Fungorum (2017), apenas *A. elegans* é aceita.

#### 2.3.1.3 *Backusella* Hesselt. & J.J. Ellis

*Backusella* foi criado por Hesselt. & J.J. Ellis (1969) para acomodar *B. circina* J.J. Ellis & Hesselt. e inclui espécies semelhantes às de *Mucor*, caracterizadas pela formação simultânea de esporângios e esporangióolos dispostos no eixo principal dos esporangióforos ou projetados separadamente em esporangióforos curtos (BENNY, 2005). Inicialmente, esse gênero foi descrito em Mucoraceae, sendo posteriormente transferido para Thamniaceae Fitzp., por Pidoplichko & Milko (1971), com base em semelhanças morfológicas com *Thamnidium* Link. Até o presente, *Backusella* pertence à Backusellaceae, família descrita por K. Voigt & P.M. Kirk, em 2012.

De hábito sapróbio e comumente isoladas de ambientes edáficos, espécies de

*Backusella* são morfológicamente classificadas e diferenciadas dos outros membros de Mucorales em decorrência da formação de esporangióforos transitoriamente curvados (quando jovens) e eretos, surgindo diretamente do substrato ou do micélio aéreo. Os esporângios terminais são multiesporados com parede deliquescente. É comum a formação de esporângios laterais com parede persistente concomitantemente aos esporângios (HOFFMANN et al., 2013; De SOUZA et al., 2014). Os zigósporos, resultantes da copulação gametangial, apresentam células suspensoras opostas (LIMA et al., 2016).

Com base nas relações filogenéticas inferidas a partir de dados das regiões LSU e ITS (rDNA) e em características morfológicas, Walther et al. (2013) observaram que alguns espécimes de *Mucor* estavam geneticamente relacionados aos de *Backusella*. De acordo com esses autores, espécies de *Mucor* que desenvolvem esporângios e esporângios simultaneamente (Ex: *M. recurvus* var. *indicus* Baijal & B.S. Mehrotra e *M. tuberculisporus* Schipper) e que produzem esporangióforos transitoriamente curvados formam um grupo natural de espécies intimamente relacionado e alocado em clados de *Backusella*. Dessa maneira, os autores sugeriram a transferência dessas espécies para *Backusella*. Seguindo essa proposta de classificação, o gênero passou a incluir: *B. grandis* (Schipper & Samson) G. Walther & de Hoog, *B. indica* (Baijal & B.S. Mehrotra) G. Walther & de Hoog, *B. oblongielliptica* (H. Nagan., Hirahara & Seshita ex Pidopl. & Milko) G. Walther & de Hoog, *B. oblongispora* (Naumov) G. Walther & de Hoog, *B. recurva* (E.E. Butler) G. Walther & de Hoog, *B. tuberculispora* (Schipper) G. Walther & de Hoog e *B. variabilis* (A.K. Sarbhoy) G. Walther & de Hoog. De acordo com o Species Fungorum (2017), *Backusella* abriga 13 espécies: *B. circina* J.J. Ellis & Hesselt, *B. constricta* D.X. Lima, de Souza & A.L. Santiago, *B. gigacellularis* J.I de Souza, Pires-Zottarelli Harakava., *B. grandis*, *B. granulispota* L.S. Loh, *B. indica*, *B. johoriensis* L.S. Loh, Nawawi & Kuthub., *B. lamprospora* (Lendn.) Benny & R.K. Benj., *B. oblongielliptica*, *B. oblongispora*, *B. recurva*, *B. tuberculispora* e *B. variabilis*.

#### 2.3.1.4 *Cunninghamella* Matr.

*Cunninghamella* é representado por espécies sapróbias, frequentemente encontradas em solos, grãos estocados e outros substratos orgânicos (ZHENG et al., 2001). Entretanto, alguns espécimes têm causado infecções em seres humanos, especialmente em

indivíduos imunocomprometidos (YU et al., 2015). Por outro lado, representantes desse gênero têm sido comumente referidos em processos de biorremediação (YAN; VIRARAGHAVAN, 2003; ZAFAR et al., 2007) e de produção de fármacos (ZHONG et al., 2003; ASHA; VIDYAVATHI, 2009; PEKALA et al., 2012).

Espécies de *Cunninghamella* têm sido tradicionalmente diferenciadas com base em características morfológicas, principalmente durante o estado esporangial (BAIJAL; MEHROTRA, 1980; ZHENG; CHEN, 2001; YU et al., 2015; HYDE et al., 2016) e se caracterizam pelo desenvolvimento de esporóforos eretos com ramificações em vários padrões: verticiladas, pseudoverticiladas ou de tamanhos diferentes em um mesmo esporóforo, algumas vezes ramificando-se sucessivamente. Esporangióolos uni-esporados são produzidos (ZHENG et al., 2001).

Posteriormente à descrição inicial, fornecida por Matruchot (1903), várias espécies foram adicionadas ao gênero. Zycha (1935) apresentou uma chave de identificação indicando seis espécies: *C. albina* (Saccardo) Matruchot, *C. microspora* (Riv.) Matruchot, *C. elegans* Lendner, *C. ramosa* Pispek, *C. blakesleeana* Lendner e *C. echinulata* (Thaxter) Thaxter ex Blakeslee. Consequente, mudanças na classificação e composição do gênero foram propostas por diversos autores (ALCORN; YEAGER, 1938; NAUMOV, 1939; CUTTER, 1946; MILKO; BELJAKOVA, 1967). Liu et al. (2001) e Zheng & Chen (2001) monografaram o gênero com base nos critérios morfológicos supracitados e propuseram 12 espécies e quatro variedades. Atualmente, são aceitas: *C. elegans*, *C. binariae* R.Y. Zheng, *C. blakesleeana* Lendn., *C. candida* Yosh. Yamam., *C. clavata* R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *C. echinulata*, *C. homothallica* Komin. & Tubaki, *C. intermedia* K.B. Deshp. & Mantri, *C. multiverticillata* R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *C. phaeospora* Boedijn, *C. polymorpha* Pišpek, *C. septata* R.Y. Zheng, *C. Vesiculosa* P.C. Misra, *C. bigelovii* Z. Xin, Y. Zhao & H. Wang e *C. gigacellularis* A.L. Santiago, C.L. Lima & C.A. de Souza (GUO et al., 2015; HYDE et al., 2016; SPECIES FUNGORUM, 2017).

Com base na temperatura máxima de crescimento, cor e textura das colônias, compatibilidade sexual e, consequentemente, na formação do zigósporo, além de dados moleculares, alterações expressivas têm sido observadas na delimitação de espécies e no posicionamento filogenético de *Cunninghamella* dentro de Mucorales (ZHOU; HUANG, 1991; ZHENG; CHEN, 1994, 1998; LIU et al., 2001; GHERBAWY et al., 2010). Estudos demonstraram que esse gênero é monofilético, sendo *Absidia*, *Halteromyces* Shipton &

Schipper e *Chlamydoabsidia* Hesselt. & JJ Ellis os gêneros filogeneticamente mais próximos (HOFFMANN *et al.* 2013; WALTHER *et al.* 2013).

#### 2.3.1.5 *Gongronella* Ribaldi

*Gongronella*, proposto por Ribaldi (1952), pertence à família *Cunninghamellaceae* e inclui espécies caracterizadas por constituírem colônias de crescimento relativamente lento, com estolões, rizóides com desenvolvimento limitado e esporangióforos eretos ou frequentemente dispostos em ramificações levemente circinadas. Os esporângios são, em maioria, pequenos e de parede deliquescente. As columelas são reduzidas em tamanho e apresentam uma apófise muito dilatada que nunca torna o esporângio piriforme. Os esporangiosporos são unicelulares, hialinos, lisos e de formas variadas. A reprodução sexual dos espécimes de *Gongronella* ocorre pela formação de zigósporos, produzidos no interior de zigosporângios que variam em tons de marrom a preto, com células suspensoras paralelas e desprovidas de apêndices (HESSELTINE; ELLIS, 1964; ADAMČÍK *et al.*, 2015; TIBPROMMA *et al.*, 2017).

Ribaldi propôs *Gongronella* para acomodar *G. urceolifera* Ribaldi (atualmente *G. butleri* Lendn.) que compartilhava características semelhantes às das espécies descritas em *Absidia* como, por exemplo, a formação de uma apófise abaixo do esporângio, propondo, à época, que a espécie fosse sinônimo de *A. butleri* Lendn. (ADAMČÍK *et al.*, 2015). Contudo, a presença de apófises globosas ou em forma de urna, com uma constrição entre a apófise e a fixação da parede esporangial, bem como o tamanho reduzido das columelas foram as características principais que motivaram a criação do gênero (UPADHYAY, 1969; ADAMČÍK *et al.*, 2015). Posteriormente, Peyronel & Dal Vesco (1955) e Pici (1955) transferiram *A. butleri* para *Gongronella* com base na presença de uma apófise bem característica, semelhante à observada na espécie tipo. Em seguida, Hesseltine & Ellis (1961) propuseram a adição de outra espécie ao gênero, *G. lacrispora* Hesselt. & J.J. Ellis e, recentemente, quatro novas espécies foram descritas (ADAMČÍK *et al.*, 2015; ARIYAWANSA *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2016; TIBPROMMA *et al.*, 2017), incluindo *G. brasiliensis* C.A. de Souza, D.X. Lima & A.L. Santiago, registrada em solos de brejos de altitude do semiárido brasileiro.

Até o presente, o gênero abrange seis espécies: *G. brasiliensis*, *G. butleri*, *G.*

*guangdongensis* F. Liu, T.T. Liu & L. Cai, *G. koreana* Hyang B. Lee & T.T.T. Nguyen, *G. lacrispora* e *G. orasabula* Hyang B. Lee, K. Voigt, P.M. Kirk & T.T.T. Nguyen. Os espécimes de *Gongronella* têm sido tradicionalmente identificados com base em características morfofisiológicas. No entanto, nos últimos anos, técnicas moleculares têm auxiliado a delimitação das espécies do gênero, contribuindo com a descrição de novos táxons (ADAMČÍK et al., 2015; ARIYAWANSA et al., 2015; TIBPROMMA et al., 2017).

#### 2.3.1.6 *Mucor* Fresen.

*Mucor* é o gênero mais representativo em número de espécies em Mucoromycota, tendo Gherbawy et al. (2010) estimado que, dentre os táxons descritos para o gênero, 50 a 75 espécies sejam válidas. Schipper (1973, 1975, 1976, 1978) descreveu e ilustrou 39 espécies, quatro variedades e 11 formas de *Mucor*. Em seguida, outros 21 táxons foram propostos (MEHROTRA; MEHROTRA, 1978; MIRZA et al., 1979; SUBRAHMANYAM, 1983; CHEN; ZHENG, 1986; SCHIPPER, 1989; SCHIPPER; SAMSON, 1994; WATANABE, 1994; ZALAR et al., 1997; PEI, 2000; ALVES et al., 2002; JACOBS; BOTHA, 2008; ÁLVAREZ et al., 2011; HERMET et al., 2012; MADDEN et al., 2012; LI et al., 2016; VOGLMAYR; CLÉMENÇON, 2016).

A taxonomia de *Mucor* tem sido tradicionalmente baseada em características morfofisiológicas das espécies (O'DONNELL et al., 1977; SCHIPPER, 1978; GINMAN; YOUNG, 1989). Entretanto, a combinação de métodos tradicionais e abordagens moleculares têm permitido a resolução de lacunas taxonômicas, além da descrição de novas espécies para o gênero (WALTHER et al., 2013; VOGLMAYR; CLÉMENÇON, 2016).

Estudos filogenéticos demonstraram que *Mucor* é polifilético (O'DONNELL et al., 2001; KWASNA et al., 2006; JACOBS; BOTHA, 2008; BUDZISZEWSKA; PIATKOWSKA, 2010; ÁLVAREZ et al., 2011) e Walther et al. (2013) destacaram que, embora a polifilia de *Mucor* seja indiscutível, algumas linhagens do gênero apresentam posições filogenéticas inconclusivas. De acordo com esses autores, combinações de características morfológicas, como o tamanho do esporângio e o padrão de ramificação do esporangióforo, são comumente compartilhadas por algumas dessas linhagens, sugerindo que o gênero fosse dividido em seis grupos: *M. mucedo* L., *M. flavus* Bainier., *M. hiemalis*

Wehmer, *M. racemosus* Bull., *M. amphibiorum* Schipper e *M. recurvus* E.E. Butler.

Espécies de *Mucor* são caracterizadas pela produção de esporângios não apofisados em esporangióforos simples ou ramificados que surgem diretamente do substrato, sem a produção de rizóides basais e estolões (ÁLVAREZ et al., 2011; BENNY, 2014). Representantes desse gênero podem ser heterotáticos ou homotáticos, e o zigósporo apresenta células suspensoras opostas mais ou menos iguais e sem apêndices (BENNY, 2013; HOFFMANN et al., 2013). Embora sapróbios, em maioria, alguns representantes de *Mucor*, como *M. circinelloides* Tiegh., *M. indicus* Lendn., *M. irregularis* Stchigel, Cano, Guarro & E. Álvarez, *M. racemosus* e *M. ramosissimus* Samouts. têm sido relatados como patógenos oportunistas causadores de micoses cutâneas, profundas e sistêmicas em seres humanos (ÁLVAREZ et al., 2011; HOFFMAN et al., 2013). Voglmayr & Cléménçon (2016), com base em sequências das regiões SSU, ITS e LSU (rDNA) e na morfologia dos zigósporos, descreveram *M. lilianae* Voglmayr & Cléménçon e *M. rudolphii* Voglmayr & Cléménçon como endoparasitas de basidiomas hipógeos de espécies de *Hysterangium* Vittad., ampliando o conhecimento sobre nicho ecológico desse grupo de fungos. Vários táxons de *Mucor* estão ainda envolvidos em processos biotecnológicos, em decorrência da capacidade de produzirem enzimas e ácidos orgânicos (ALVES et al., 2002, ROA ENGEL et al., 2008).

A partir do início da década de 2000, novas espécies de *Mucor* foram propostas, aumentando o conhecimento da diversidade de Mucorales (PEI, 2000; ALVES, et al., 2002; JACOBS; BOTHA, 2008; HERMET, et al., 2012; MADDEN, et al., 2012; LI et al., 2016; VOGLMAYR; CLÉMENÇON, 2016), incluindo três espécies para o semiárido brasileiro: *M. merdicola* C.A. de Souza & A.L. Santiago, *M. caatinguensis* A.L. Santiago, C.A. de Souza & D.X. Lima e *M. pernambucoensis* C.L. Lima, D.X. Lima & A.L. Santiago (LI et al., 2016; LIMA, et al., 2018).

#### 2.3.1.7 *Rhizopus* Ehr.

Espécies de *Rhizopus* Ehrenb. (1821) caracterizam-se morfologicamente pela formação de esporangióforos que portam esporângios multiesporados, apofisados, com parede evanescente, e que surgem diretamente do micélio aéreo ou de estolões, com ou sem rizóides opostos. Os zigosporângios apresentam paredes ornamentadas e células

suspensoras desprovidas de apêndices (ZHENG; CHEN, 1998; ZHENG et al., 2007). *Rhizopus* foi monografado em dois estudos conduzidos por Schipper (1984) e Schipper & Stalpers (1984). Os autores dividiram o gênero em *R. oryzae* e em dois grupos de espécies: *R. stolonifer* (com duas espécies e duas variedades) e *R. microsporus* (com duas espécies e quatro variedades). Zheng et al. (2007) revisaram o gênero e adicionaram novas combinações, descrevendo 10 espécies e nove variedades: *R. americanus* (Hesselt. & J.J. Ellis) R.Y. Zheng, G.Q. Chen & X.Y. Liu, *R. arrhizus* var. *arrhizus*, *R. arrhizus* var. *delemar* (Boidin ex Wehmer & Hanzawa) J.J. Ellis, *R. arrhizus* var. *tonkinensis* (Vuill.) R.Y. Zheng & X.Y. Liu, *R. caespitosus* Schipper & Samson, *R. homothallicus* Hesselt. & J.J. Ellis, *R. microsporus* var. *microsporus* Tiegh., *R. microsporus* var. *azygosporus* (G.F. Yuan & S.C. Jong) Schwertz, Villaume, Decaris, Percebois & Mejean, *R. microsporus* var. *chinensis* (Saito) Schipper & Stalpers, *R. microsporus* var. *oligosporus* (Saito) Schipper & Stalpers, *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* (Cohn) Schipper & Stalpers, *R. microsporus* var. *tuberosus* R.Y. Zheng & G.Q. Chen, *R. niveus* M. Yamaz., *R. reflexus* Bainier, *R. schipperae* Weitzman, McGough, Rinaldi & Della, *R. sexualis* (G. Sm). Callen e *R. stolonifer*. Em seguida, Dolatabadi et al. (2014), após um amplo estudo baseado na morfologia, fisiologia, genética molecular e em espectrometria de massa (MALDI-ToF), concluíram que todas as variedades de *R. microsporus* são sinônimos e devem ser citadas como *R. microsporus* Tiegh.

Espécimes de *Rhizopus* são extremamente relevantes para a sociedade em vários aspectos. Muitos são contaminantes de uma ampla variedade de produtos agrícolas durante o armazenamento e transporte (DOLATABADI et al., 2014). Representantes deste gênero são citados em diversas áreas do conhecimento como agentes benéficos em uma série de processos (XUEFENG et al., 2011). Na indústria de alimentos, espécies de *Rhizopus* são consideradas agentes de fermentação relevantes na fabricação de produtos asiáticos à base de arroz, conhecidos como Tempeh (NOUT; KIERS, 2005; ALVAREZ, 2013). Quanto à área farmacêutica, espécimes têm sido utilizados para a produção de medicamentos (NOUT; KIERS, 2005; ZHENG et al., 2007).

#### 2.3.1.8 *Syncephalastrum* J. Schröt.

Comumente isolados do solo (SANTIAGO; SOUZA-MOTTA, 2006; SANTIAGO

et al., 2013), espécimes de *Syncephalastrum* caracterizam-se pela formação de merosporângios multiesporados produzidos no ápice de merosporangióforos, simples ou simpodialmente ramificados, sobre a superfície de uma vesícula fértil (MISRA, 1975). Os zigosporângios dos representantes desse gênero assemelham-se aos produzidos por espécies de *Mucor*, em formação e aparência, com células suspensoras mais ou menos iguais em forma e tamanho (BENJAMIN, 1959).

Posteriormente à descrição do gênero, por J. Schröt. (1886), aproximadamente 10 espécies e cinco variedades foram incluídas ao gênero. Contudo, de acordo com Benjamin (1959), variações no diâmetro da vesícula, presença ou ausência de estolões, cor da colônia, dimensões dos merosporângios e forma, tamanho e quantidade dos merósporos em cada merosporângio, não têm valor taxonômico para a diferenciação de espécies. À época, Benjamin (1959) sinonimizou todas as espécies descritas tratando-as como *S. racemosum* Cohn ex J. Schröt. Posteriormente, Zheng et al. (1988) descreveram um novo táxon, *S. monosporum* R.Y. Zheng, G.Q. Chen & F.M. Hu, que apresenta merosporângio uniesporado. No entanto, de acordo com o Species Fungorum (2017), três espécies são consideradas válidas: *Syncephalastrum monosporum* R.Y. Zheng, G.Q. Chen & F.M. Hu, *S. racemosum* Cohn ex J. Schröt. e *S. rhizopi* Vuill.

### 2.3.2 Umbelopsidales Spatafora & Stajich

Tentativas de elucidar incógnitas ao longo do curso evolutivo dos fungos zigospóricos têm resultado em mudanças na classificação do grupo desde a década de 2000 (JAMES et al., 2006; HIBBETT et al., 2007; LIU et al., 2009; CHANG et al., 2015; SPATAFORA et al., 2016). Nesse contexto, Spatafora et al. (2016), após um extenso estudo envolvendo dados em escala genômica, propuseram Umbelopsidales, uma ordem momotípica que compreende Umbelopsidaceae W. Gams & W. Mey. e *Umbelopsis* Amos & H.L. Barnett.

Umbelopsidales é caracterizada por indivíduos que se reproduzem assexuadamente pela formação de esporângios multiesporados ou uniesporados e de clamidósporos. Os esporângios são tipicamente pigmentados em tons de vermelho ou ocre, e produzidos na extremidade de esporangióforos dispostos em ramificações cimosas ou verticiladas. Os esporangiósoros apresentam variações de forma, sendo globosos, elipsoidais ou

poliédricos e pigmentados. As columelas são, em geral, muito pequenas ou ausentes, sendo, muitas vezes, descritas como inconspícuas. A reprodução sexuada em Umbelopsidales é desconhecida (HOFFMANN et al., 2013; WANG et al., 2013; SPATAFORA et al., 2016).

As características fisiológicas e propriedades bioquímicas dos espécimes de Umbelopsidales tornam esses fungos colonizadores primários ou secundários de substratos ricos em carboidratos simples (RICHARDSON, 2009). De distribuição ubíqua, espécimes de Umbelopsidales têm sido principalmente isolados de solos de florestas de regiões tropicais e temperadas (GRANTINA, 2012; GRANTINA-LEVINA et al., 2014). No entanto, há fortes evidências de que esses fungos também ocorram como endófitos (HOFF et al., 2004; TERHONEN et al., 2014).

Umbelopsidales inclui fungos originalmente inseridos em *Micromucor* Malchevsk., *Mortierella* Coem., *Mucor* e *Umbelopsis*. Inicialmente, esse último gênero, tipificado por *U. versiformis* Amos & H. L. Barnett, foi alocado dentre os fungos pertencentes a Deuteromycetes Sacc. No entanto, de acordo com Gams (1977), alguns espécimes apresentavam características morfológicas semelhantes às descritas para *Mortierella*, mas que não correspondiam exatamente à morfologia desse gênero. Dessa maneira, o autor propôs a criação do subgênero *Micromucor* e transferiu para este seis espécies e três variedades descritas como *Mortierella*. Posteriormente, von Arx (1982) elevou o subgênero *Micromucor* à categoria de gênero e considerou *Umbelopsis*, anteriormente descrito em Deuteromycetes, como pertencente a Zygomycetes, relacionado às famílias Mucoraceae ou Thamniaceae. Em seguida, três espécies [*M. isabellinus* (Oudem.) Arx, *M. longicollis* (Dixon-Stew.) Arx e *M. ramannianus* (Möller) Arx] foram mantidas em *Micromucor*, e outros três táxons [*U. nana* (Linnem.) Arx, *U. roseo-nana* (W. Gams & Gleeson) Arx e *U. vinacea* (Dixon-Stew.) Arx] foram incluídos em *Umbelopsis* (VON ARX, 1982; BENNY, 2015; WANG et al., 2013).

Como a maioria dos Mucoromycota, representantes de Umbelopsidales foram tradicionalmente classificados com base em critérios morfofisiológicos. Posteriormente às alterações propostas por Gams (1977) e von Arx (1982), questionamentos foram levantados acerca das distinções morfológicas entre *Micromucor* e *Umbelopsis*. Para Yip (1986), os critérios adotados para separar esses gêneros, como comprimento e padrão de ramificação dos esporangióforos, não seriam confiáveis. De acordo com o autor, a

formação de esporangióforos com ramificações eretas e longas (descritas em *Micromucor*) e a produção de uma ou mais vesículas possuindo uma ou várias ramificações curtas ou dispostas em forma de guarda-chuva (descritas em *Umbelopsis*), foram observadas em *Mortierella isabellina* Oudem., sugerindo que todas as espécies de *Micromucor* fossem transferidas para *Umbelopsis*. Kendrick et al. (1994) destacaram que algumas espécies de *Umbelopsis* podem ser morfológicamente variáveis.

Amono et al. (1992) registraram, com base na composição de ácidos graxos da membrana plasmática, que Umbelopsidales estava mais intimamente relacionada com táxons de Mucoraceae do que com aqueles descritos em Mortierellaceae. Corroborando esse resultado, Ruiter et al. (1993) confirmaram a proximidade entre as espécies de Umbelopsidales e representantes de Mucoraceae pela comparação da composição de polissacarídeos extracelulares antigênicos. Entretanto, em uma continuação dos estudos iniciados por de Ruiter et al. (1993), Meyer & Gams (2003), utilizando técnicas de RFLP das regiões ITS1, 5.8s, ITS2 do rDNA, de todas as espécies conhecidas do grupo *Mortierella isabellina* (*Micromucor/Umbelopsis* – clados de O'Donnell et al., 2001) e algumas outras espécies de *Mortierella*, apresentaram resultados contrários. Foi revelado que as espécies de Umbelopsidales formam um grupo monofilético não relacionado com Mortierellales e apenas distantemente relacionado ao “core group” de Mucoraceae. Em decorrência disso, os autores decidiram subsumir todos os táxons em *Umbelopsis* e propor uma nova família, Umbelopsidaceae, sugerindo novas combinações: *U. isabellina* (Oudem.) W. Gams, *U. ramanniana* (Möller) W. Gams e *U. autotrophica* (E.H. Evans) W. Gams.

#### 2.3.2.1 *Umbelopsis* Amos & H.L. Barnett

*Umbelopsis*, descrito por Amos & Barnett (1966), é o único gênero de Umbelopsidales. Esse gênero, que foi descrito para acomodar *U. versiformis* (inicialmente posicionada dentro de Deuteromycetes), abrange 15 espécies atualmente aceitas: *U. angularis* W. Gams & M. Sugiy., *U. autotrophica* (E.H. Evans) W. Gams, *U. changbaiensis* Y.N. Wang, X.Y. Liu & R.Y. Zheng, *U. dimorpha* Mahoney & W. Gams, *U. fusiformis* H.Y. Yip, *U. gibberispora* M. Sugiy., Tokum. & W. Gams, *U. isabellina*, *U. longicollis* (Dixon-Stew.) Y.N. Wang, X.Y. Liu & R.Y. Zheng, *U. nana*, *U. ovata* (H.Y.

Yip) H.Y. Yip, *U. ramanniana*, *U. swartii* H.Y. Yip, *U. versiformis*, *U. vinacea* e *U. westeae* H.Y. Yip (YIP, 1986, MEYER; GAMS, 2003; SUGIYAMA et al., 2003, MAHONEY et al., 2004, WANG et al., 2014; WANG et al., 2015). Membros de *Umbelopsis* produzem colônias velutinosas e esporângios com cores variando entre ocre, vermelho e rosa, exceto *U. nana*, que apresenta esporângio hialino (SUGIYAMA et al., 2003).

Como destacado, a taxonomia desse gênero de fungos foi extensamente discutida ao longo das últimas décadas, e quase metade dos táxons de *Umbelopsis* foram inicialmente descritos como *Mortierella* (ex: *M. isabellina*, *M. vinacea*, *M. nana*, *M. ramanniana* var. *autotrophica*, *M. roseonana* W. Gams & Gleeson e *M. ovata*), e alguns como *Mucor*. [ex: *M. ramannianus* Möller = *Mortierella ramanniana* (Möller) Linnem.] (WANG et al., 2015). De acordo com Sugiyama et al. (2003), dois critérios morfológicos foram essenciais para a transferência de alguns espécimes de *Mortierella* para *Umbelopsis*: 1 - As columelas pequenas, mas distintas, formadas em *Umbelopsis*, não correspondiam às columelas ausentes ou extremamente reduzidas quase a um septo transversal, ligeiramente convexo, das outras espécies de *Mortierella*; 2 - A ausência dos zigospóros, nunca observados em *Umbelopsis*. À época, representantes de *Umbelopsis* foram classificados em seções (*Mortierella pusilla* Linnem e *M. isabellina*), subgênero (*Micromucor*) e gêneros (*Micromucor* e *Umbelopsis*). Meyer & Gams (2003) subsumiram todos os táxons de *Micromucor* à *Umbelopsis*, com base nas análises do polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP), incluindo sequências da região ITS-1 do rDNA.

A classificação de espécimes de *Umbelopsis* com base na morfologia baseia-se, principalmente, na cor das colônias, no padrão de ramificação dos esporangióforos, na capacidade de produção de pigmentos e na forma e tamanho dos esporângios, das columelas e dos esporangiosporos, além dos tipos de clamidosporos formados (SUGIYAMA et al., 2003; WANG et al., 2015). No entanto, a delimitação de espécies desse gênero também tem sido baseada em critérios fisiológicos e genéticos (MEYER; GAMS, 2003; SUGIYAMA et al., 2003; OGAWA et al., 2011; WANG et al., 2015; SPATAFORA et al., 2016).

## 2.4 MORTIERELLOMYCOTA Tedersoo, Koljalg, Bahram, Doring, Schigel, T. May, Sanchez-Ramirez, M. Ryberg & Abarenkov

Mortierellomycota foi proposto por Tedersoo et al. (2018), com base na reconstrução de filogramas gerados a partir de análise multigênica, corroborados pelas diferenças filogenéticas entre os representantes de Mortierellales e Mucoromyceta (JAMES et al., 2006a; SEKIMOTO et al., 2011; SPATAFORA et al., 2016; TEDERSOO et al., 2017). As espécies de Mortierellomycota estão distribuídas no subfilo Mortierellomycotina, classe Mortierellomycetes e Mortierellales, a única ordem descrita para esse filo (SPATAFORA et al., 2016; TEDERSOO et al., 2018). De distribuição ubíqua, de áreas boreais às tropicais, espécies desse filo podem se portar como sapróbias do solo, de excrementos, como endofíticas ou parasitando animais e outros fungos (BENNY et al., 2016). Caracteristicamente, membros desse grupo apresentam hifas anastomosadas e ramificações dicotômicas frequentes, podendo diferenciar-se produzindo estruturas de fixação e resistência, como rizóides e clamidosporos, e outras de reprodução assexuada, como esporóforos contendo esporângios ou esporangiólos, sem columela. Estilosporos (clamidosporos que apresentam um talo) são produzidos exclusivamente por algumas espécies de Mortierellomycota (VOIGT, 2012; TEDERSOO et al., 2018).

## 2.5 MORTIERELLOMYCOTINA Kerst. Hoffm., K. Voigt & P.M. Kirk

Proposto por Hoffmann et al. (2011), o subfilo Mortierellomycotina é um dentre os quatro subfilos estabelecidos na recente classificação dos fungos zigospóricos dentro de Mucoromyceta (TEDERSOO et al., 2018). Os representantes desse subfilo estão distribuídos em sete gêneros de Mortierellales (Mortierellaceae): *Aquamortierella* Embree & Indoh, *Dissophora* Thaxt., *Echinochlamydosporium* X.Z. Jiang, X.Y. Liu, Xing Z. Liu, *Gamsiella* (R.K. Benj.) Benny & M. Blackw., *Lobosporangium* M. Blackw. & Benny, *Modicella* Kanouse e *Mortierella* (BENNY et al., 2016). *Nothadelphia* Degawa & W. Gams é um provável membro de Mortierellales, embora seja considerado por alguns autores como um gênero de posição incerta (BENNY et al., 2014; BENNY et al., 2016). Esse gênero foi descrito com base no micoparasitismo biotrófico (de espécies de *Mortierella*) por *N. mortierellicola* Degawa & W. Gams.

Hoffmann et al. (2011) propuseram Mortierellomycotina com base em análises

filogenéticas inferidas a partir de um conjunto de dados multigênicos. Espécies desse subfilo são caracterizadas pela formação de micélio delgado, com hifas inicialmente cenocíticas, mas irregularmente septadas na maturidade. Diferenciações das hifas podem resultar em estruturas de fixação ou de resistência, como rizoídes e clamidosporos. A reprodução assexuada ocorre por esporangisporos e esporos produzidos em esporângios e esporangiólos, respectivamente, ou, menos comumente, por estilospores. Dentre os gêneros, apenas *Modicella* produz corpos de frutificação (esporocarpos). A reprodução sexuada ocorre pela produção de zigospóros que apresentam células suspensoras paralelas e apostas. Representantes desse subfilo exalam odor de alho (BENNY et al., 2016; SPATAFORA et al., 2016).

A espécie tipo de *Mortierella* (*M. polycephala* Coem.), descrita por Coemans (1863), foi registrada estabelecendo uma interação parasitária com cogumelos (HOFFMANN et al., 2011). No entanto, espécies classificadas em Mortierellomycotina apresentam uma ampla variedade de relações ecológicas. De maioria sapróbios do solo, táxons desse subfilo, além de terem sido descritos habitando excrementos e matéria orgânica em decomposição, podem ocorrer em ambientes aquáticos, colonizando nematóides de cisto de soja, ou em húmus. Membros de Mortierellomycotina ocasionalmente ocorrem como patógenos oportunistas de animais, incluindo seres humanos (BENNY; BLACKWELL, 2004; de HOOG et al., 2009; JIANG et al., 2011a; BENNY et al., 2014).

### 2.5.1 Mortierellales Caval.-Sm.

Mortierellales, a única ordem descrita em Mortierellomycotina, compreende aproximadamente 100 espécies, sendo uma das maiores ordens dentre os fungos basais em número de táxons descritos (WAGNER et al., 2013). De acordo com Hibbett & Glotzer (2011), de todas as espécies de Mortierellales descritas nos últimos 140 anos, cerca de 50% foram registradas em seis anos por ecólogos moleculares. Táxons de Mortierellales foram historicamente posicionados em outras ordens de Zygomycetes, classe desconsiderada por Hibbett et al. (2007). De características morfológicas marcantes, espécies de Mortierellales apresentam micélio com hifas anastomizadas e ramificações dicotômicas, além de esporangióforos basalmente inflados e alongados em direção ao ápice, produzindo esporângios e esporangiólos com columelas ausentes ou inconspícuas (HOFFMANN et al.,

2011; BENNY et al., 2016). Em geral, espécimes de Mortierellales apresentam colônias com tons de branco a cinza claro, zonadas e com margens irregulares, além de hifas cenocíticas (quando jovens) e irregularmente septadas em colônias mais velhas (WAGNER et al., 2013; WEI et al., 2015).

O ciclo reprodutivo dos táxons de Mortierellales ocorre, principalmente, pela produção de aplanósporos unicelulares, produzidos no interior de esporângios, ou esporangiólos (uni, ou multiesporados), e de clamidósporos lisos ou ornamentados, dispostos de maneira intercalar ou terminal. Em Mortierellales, a reprodução sexuada é pouco documentada e se caracteriza pela formação de zigósporos contidos em zigosporângios com células suspensoras opostas, heterogâmicas ou mais ou menos isogâmicas (PETKOVITS et al., 2011; BENNY et al., 2016). Dentre os gêneros de Mortierellales, *Modicella* é o único que produz esporocarpos, que são compostos por esporângios hialinos de parede lisa, fina, contendo esporangiosporos encapsulados em extensas agregações de hifas (SMITH et al., 2013).

De distribuição cosmopolita, Mortierellales constitui um grupo de fungos heterogêneo, com representantes oligotróficos ou mesotróficos adaptados a uma ampla variedade de substratos. Embora sapróbios comuns do solo [*Gamsiella* (R.K. Benj.) Benny & M. Blackw., *Lobosporangium* M. Blackw. & Benny, *Mortierella* e *Modicella*], onde preferencialmente colonizam detritos de plantas e animais, espécies psicrófilas de *Dissophora* Thaxt. foram referidas em excrementos de herbívoros (WERNER et al., 2016). *Aquamortierella* Embree & Indoh, caracterizado pela produção de esporangiosporos alantóides a reniformes, com estruturas não aderentes, semelhantes aos apêndices, é conhecido apenas em ambientes aquáticos (BENNY et al., 2014). Entretanto, algumas interações simbióticas com outros organismos foram relatadas. A mais conhecida é a de *M. wolfii* B.S. Mehrotra & Baijal, que infecta tecidos de mamíferos. Ocasionalmente, representantes dessa espécie podem estar associados com raízes (JIANG et al., 2011b), folhas (PERŠOH, 2013) e sementes (OCHORA, et al., 2001). *Echinochlamydosporium*, tipificado por *E. variable* X.Z. Jiang, H.Y. Yu, M.C. Xiang, X.Y. Liu & Xing Z. Liu, foi descrito colonizando nematóides de cisto de soja (JIANG et al., 2011a).

### 2.5.1.1 *Mortierella* Coem.

Proposto por Coemans (1863), *Mortierella* foi criado para acomodar *M. polycephala* Coem., espécie descrita como micoparasita. No entanto, espécimes de *Mortierella* estão dentre os fungos zigopóricos frequentemente encontrados no solo, como sapróbios. Apresentam ampla distribuição fitogeográfica e capacidade de adaptação a condições ambientais distintas, tendo sido referidos em diferentes substratos e hospedeiros (HOFFMANN et al., 2011; WERNER et al., 2016). Esse gênero é o mais representativo em número de espécies dentro de Mortierellomycotina, tendo várias espécies relevantes para a biotecnologia. Estima-se que aproximadamente 91 táxons de *Mortierella* sejam aceitos (WAGNER et al., 2013), embora, de acordo com Nagy et al. (2011), esse número possa chegar a 127.

Táxons de *Mortierella* são caracterizados pela produção concomitante de esporangióforos basalmente inflados e columelas ausentes, pouco desenvolvidas, convexas ou septóides, com formação assexuada de clamidosporos, estilosporos ou esporangiosporos unicelulares produzidos em esporângios uni ou multispórados. A reprodução sexual, quando conhecida, ocorre pela formação de zigosporos que apresentam células suspensoras paralelas e apostas, frequentemente cobertos por um emaranhado de hifas espessas (SCHIPPER; STALPERS, 2002; PETKOVITS et al., 2011; BENNY et al., 2016).

As espécies de *Mortierella* foram anteriormente tratadas como Mucorales e divididas em 11 seções: *Alpina*, *Ambigua*, *Dichotoma*, *Elongata*, *Hygrophila*, *Isabellina*, *Minutissima*, *Mutabilis*, *Polycephala*, *Spinosa* e *Stylospora*, distinguidas com base nas formas das colônias, presença de estilosporos, padrão de ramificação e comprimento dos esporangióforos (WEI et al., 2015). Gams (1977) propôs a criação dos subgêneros *Micromucor* e *Umbelopsis* para abrigar espécimes que apresentavam algumas características morfológicas não observadas em *Mortierella*. Em seguida, Benjamin (1978) recomendou a criação de um terceiro subgênero, *Gamsiella*, e von Arx (1982) elevou o subgênero *Micromucor* à categoria de gênero e recomendou a transferência de espécies classificadas em *Umbelopsis* às famílias Mucoraceae e Thamniaceae. Durante várias décadas, a inconclusiva posição taxonômica de membros de *Mortierella* foi discutida e várias outras contribuições foram fornecidas por diversos autores (GAMS 1977; BENJAMIN 1978; von ARX 1982; PETKOVITS et al., 2011; HOFFMANN et al., 2011;

WAGNER et al., 2013).

A identificação dos espécimes desse gênero tem sido tradicionalmente baseada em características morfofisiológicas (PETKOVITS et al., 2011; WAGNER et al., 2013). Entretanto, abordagens filogenéticas e filogenômicas combinadas a métodos tradicionais têm permitido expressivas alterações na delimitação das espécies no gênero (HOFFMANN et al., 2011; WAGNER et al., 2013; SPATAFORA et al., 2016).

Segundo Werner et al. (2016), pouca atenção tem sido dada à ecologia de *Mortierella* porque os táxons são geralmente considerados sapróbios secundários nos ambientes edáficos. Entretanto, algumas interações simbióticas e de micoparasitismo têm sido reportadas para membros desse gênero, que foram ainda referidos abrigando endossimbiontes bacterianos (SATO et al., 2010; DAVIES et al., 2010; PERŠOH, 2013; MELO et al., 2014). Alguns espécimes de *Mortierella* são conhecidos como produtores de ácidos graxos, especialmente o araquidônico, relacionado a funções antitumorais, além de auxiliar no metabolismo lipídico em pacientes com patologias hepáticas (HIGASHIYAMA et al., 2002; GOHEEN et al., 1980; CANUTO et al., 1991; OKITA et al., 1993), enquanto outros possuem elevada capacidade de acumular ômega-3, utilizado na prevenção de tumores de pulmão, da esquizofrenia e demência (FREEMAN, 2000). Táxons de *Mortierella* têm assumido um papel de destaque na produção de biodiesel (HOLLAND, 2001; TRYTEK; FIEDUREK, 2005; KOSA; RAGAUSKAS, 2011).

## 2.6 REGIÃO SEMIÁRIDA BRASILEIRA

O semiárido brasileiro caracteriza-se por apresentar elevadas temperaturas e baixos níveis de precipitação, entre 250 e 1000 mm/ano, com chuvas mal distribuídas ao longo do ano e períodos secos podendo se estender por até 10 meses (PRADO, 2003; SILVA et al., 2003). Com uma extensão de aproximadamente 969.589,4 km<sup>2</sup>, o domínio Caatinga ocupa áreas territoriais compreendidas entre oito estados do Nordeste do Brasil: Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe, além de parte de Minas Gerais (DRUMOND et al., 2002). Estima-se que as zonas semiáridas se distribuam entre 49 nações, em cinco continentes (MELO FILHO; SOUZA, 2006). Contudo, a região semiárida brasileira é muito peculiar, apresentando baixa amplitude térmica, com temperatura geralmente entre 25 a 30°C, com máximas podendo atingir 40°C, e variada cobertura vegetal que resulta em sistemas ecológicos heterogêneos (SAMPAIO, 1995;

ARAUJO, 20011). Caracterizado pela vegetação típica de caatinga, esse domínio exclusivamente brasileiro é constituído por florestas xerofíticas de porte arbóreo a arbustivo, cuja vegetação apresenta diversos mecanismos para suportar as condições climáticas adversas, como folhas decíduais, espinhos ou acúleos, órgãos que armazenam água e área foliar reduzida (microfilia) (GIULIETTI et al., 2006). Com vegetações predominantemente ramificadas e aspecto arbustivo e lenhoso, as espécies vegetais comumente encontradas na Caatinga são: *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith, (“imburana de cheiro”, Fabaceae – Papilionoideae), *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb.) Altschul (“angico”, Fabaceae – Mimosoideae), *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (“pau-pereiro”, Apocynaceae), *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (“catingueira”, Fabaceae - Caesalpinioideae), *Cnidoscolus phyllacanthus* (Müll. Arg.) Pax & Hoffm. (“faveleira”, Euphorbiaceae), *Commiphora leptophloeos* (Mart.) Gillet (“imburana”, Burseraceae, também conhecida como *Bursera leptophloeos* Mart.), várias espécies de *Croton* (“marmeleiros” e “velames”, Euphorbiaceae) e de *Mimosa* (“calumbies” e “juremas”, Fabaceae-Mimosoideae), *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., (“aroeira”, Anacardiaceae), *Schinopsis brasiliensis* Engler (“baraúna”, Anacardiaceae) e *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex A. DC.) Standley (“pau d’arco roxo”, Bignoniaceae) (SOUTO, 2006; SILVA et al., 2003).

Dentro dos limites da Caatinga, 62% da vegetação é nativa, com grau diferenciado de conservação. Áreas de Caatinga *sensu stricto* correspondem à, aproximadamente, 36% do domínio, seguidas por áreas de transição ecológica (18%) e encraves de Cerrado e Mata Atlântica, ocupando 8% da extensão territorial (MMA, 2011). A ocorrência de zonas de transição e encraves de Mata Atlântica e Cerrado na Caatinga decorre de variações climáticas, visto que os parâmetros clima e vegetação estão intimamente relacionados (PILLAR, 1995; COUTINHO, 2006).

## 2.7 MUCOROMYCETA EM SOLO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

O solo é um ambiente dinâmico e complexo cujas atividades biológicas, refletidas nas interações ecológicas entre seus diversos componentes, são regidas, principalmente, pelos micro-organismos, incluindo os Mucoromyceta, que contribuem na decomposição e ciclagem de nutrientes (GOMES et al., 2003; NEWTON et al., 2005; MOREIRA et al., 2008). Estudos relacionados às espécies de Mucoromyceta vêm sendo realizados em solos

do semiárido brasileiro, com a identificação de diversos táxons.

Embora muito fragmentados, estudos sobre a ocorrência de táxons de Mucoromyceta no Brasil, estão concentrados nas regiões Nordeste (principalmente em Pernambuco, com raros relatos para Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba e Maranhão) e Sudeste (especificamente em São Paulo, com raros relatos em Minas Gerais). Esses relatos revelaram elevada diversidade destes fungos em alguns domínios fitogeográficos. Atualmente, 86 espécies distribuídas em 22 gêneros de Mucoromyceta foram citadas em diferentes biomas do Brasil, destacando-se os gêneros: *Absidia*, *Apophysomyces* P.C. Misra, *Backusella*, *Circinella* Tiegh. & G. Le Monn., *Cunninghamella*, *Gilbertella* Hesselt., *Gongronella*, *Isomucor* J.I. Souza, Pires-Zott. & Harakava, *Lichtheimia*, *Mortierella*, *Mucor*, *Mycotypha* Fenner, *Parasitella* Bainier, *Phycomyces* Kunze, *Pilaira* Tiegh., *Pilobolus* Tode, *Poitrasia* P.M. Kirk, *Rhizopus*, *Syncephalastrum*, *Thamnostylum* Arx & H.P. Upadhyay e *Umbelopsis*. Para a região semiárida, no entanto, apenas 28 espécies distribuídas em 11 gêneros foram registradas (SANTIAGO, 2017).

O conhecimento dos Mucoromyceta no semiárido brasileiro vem sendo construído nas últimas duas décadas e algumas das contribuições foram fornecidas por Simões & Tauk-Tornisielo (2005), que identificaram *R. microsporus* em solo de Caatinga, na Floresta Nacional Contentas do Sincorá, município de Ituaçu, Bahia, e por Coutinho et al. (2009), que identificaram *Rhizopus microsporus* (citado como *R. microsporus* var. *chinensis* e *R. microsporus* var. *microsporus*) em solo cultivado com melão, na região do Vale do São Francisco, Petrolina, Pernambuco. Pereira et al. (2010a) isolaram espécimes de *Mucor*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum*, visando conhecer a microbiota fúngica em solo na região da Borborema, Paraíba.

Dentre os trabalhos que referenciaram espécies de Mucoromyceta, destaca-se o de Calvacanti et al. (2006) que, com o propósito de estimar a riqueza de fungos filamentosos em solos da região do Xingó, identificaram 96 táxons, dentre eles oito espécies de Mucorales: *A. cylindrospora* Hagem., *C. elegans*, *G. butleri*, *L. corymbifera* (como *A. corymbifera*), *L. ramosa* (como *A. ramosa*), *R. arrhizus* var. *arrhizus* (como *R. oryzae*) e *R. microsporus*.

Oliveira et al. (2013), em um inventário de fungos do solo da Chapada de São José, no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, 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*.

Algumas das contribuições significativas sobre a taxonomia e diversidade desses fungos no Nordeste do Brasil vêm sendo fornecidas nos últimos anos por estudos dedicados exclusivamente aos Mucoromyceta. Santiago & Souza-Motta (2006) registraram 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* em áreas impactadas por mineração de cobre no município de Jaguarí, Bahia. Santiago et al. (2013) isolaram 19 táxons de Mucorales, distribuídos entre *Absidia*, *Apophysomyces* Misra, *Cunninghamella*, *Fennellomyces* Benny & R. K. Benjamin, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Mycotypha* Fenner, *Rhizopus* e *Syncephalastrum* de solo dos municípios de Belém de São Francisco, Cabrobó e Triunfo, em Pernambuco, e *Apophysomyces elegans* P. C. Misra, K. J. Srivast. & Lata e *M. microspora* Fenner foram registradas pela primeira vez para o Brasil (Santiago & Maia, 2010).

De Souza et al. (2013) registraram cinco táxons de Mucorales em solos do Parque Estadual Mata da Pimenteira, Serra Talhada-PE: *A. cylindrospora*, *C. blakesleeana*, *C. echinulata*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* e *R. arrhizus* var. *delemar*, enquanto Lima et al. (2015) identificaram 13 táxons de Mucorales pertencentes à *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum* em solos de áreas naturais e degradadas de Caatinga no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

Novas espécies de Mucorales isoladas do semiárido brasileiro foram propostas: *A. caatinguensis* D.X. Lima & A.L. Santiago, *Cunninghamella gigacellularis* A.L. Santiago, C.L. Lima & C.A. de Souza, *Lichtheimia brasiliensis*, *Mucor caatinguensis*, *M. merdicola* e *M. pernambucoensis*, ampliando o conhecimento sobre a riqueza de espécies desse filo em ecossistemas semiáridos (SANTIAGO et al., 2014; ARIYAWANSA et al., 2015; HYDE et al., 2016; LI et al., 2016).

## 2.8 MATA ATLÂNTICA

O Domínio Mata Atlântica, considerado um dos 25 *hotspots* mundiais de biodiversidade, é caracterizado por elevada diversidade biológica e alto grau de endemismo. Aproximadamente 95% da extensão desse domínio encontram-se distribuídos ao longo do território brasileiro e os outros 5% podem ser observados na Argentina,

Paraguai e no Uruguai (PINTO; BRITO, 2005). Constituída por um mosaico de florestas e ecossistemas associados, a Mata Atlântica inclui Florestas Ombrófilas Densas, Ombrófilas Mistas, Ombrófilas Abertas, Estacionais Semidecíduais e Estacionais Deciduais, além dos manguezais, restingas, campos de altitude associados e brejos (IBGE, 2011; SOS MATA ATLÂNTICA, 2011).

A Mata Atlântica brasileira está restrita apenas a 8% dos remanescentes da cobertura vegetal original, correspondendo, aproximadamente, a 1.363.000 km<sup>2</sup>, cerca de 15% do território nacional, ocorrendo desde o Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul e apresentando diferentes formas de relevo, composição florística e características climáticas (LAGOS; MULLER, 2007; STEHMANN et al., 2009). Esse domínio apresenta uma diversidade de espécies maior que as das formações amazônicas (NASCIMENTO et al, 2012). Ainda que abrigando áreas pouco conhecidas do ponto de vista biológico, estima-se que entre 1 a 8% da diversidade mundial esteja alocada nesse domínio (MORELLATO; HADDAD, 2000; LAGOS; MULLER, 2007).

A devastação das áreas de Mata Atlântica resultou na fragmentação e na drástica redução da cobertura vegetal desse domínio, reflexos da ocupação territorial e da exploração desordenada dos recursos naturais, decorrentes de sucessivos ciclos extrativistas, do uso indiscriminado da terra para fins comerciais (produção agrícola, expansão agropecuária), da ampliação do parque industrial e do intenso processo de urbanização (CÂMARA, 2003; HIROTA, 2003; MITTERMEIER et al., 2004; MESQUITA et al., 2006). Os impactos gerados durante décadas de exploração têm culminado na devastação de florestas e, conseqüentemente, resultado em uma enorme perda da biodiversidade (RESENDE et al., 2002).

Embora estudos científicos sobre o conhecimento da biodiversidade da Mata Atlântica tenham contribuído com a elevação do conhecimento das comunidades de diversos organismos desse domínio, pode-se dizer que, para muitos grupos de seres vivos, esse conhecimento ainda é insuficiente. Inferências relacionadas à fauna, por exemplo, têm se concentrado em poucos grupos, como pequenas aves e mamíferos (RAMBALDI; OLIVEIRA, 2003; MALDONADO-COELHO; MARINI, 2004), ou em estudos relacionados aos efeitos causais da fragmentação e condições edafoclimáticas sobre a composição taxonômica, ecológica e sobre persistência de plantas vasculares distribuídas na Mata Atlântica (TABANEZ; VIANA, 2000; METZGER, 2000; OLIVEIRA et al.,

2004; CASTELLA; BRITEZ, 2004; PACIÊNCIA; PRADO, 2004; SANTOS; TABARELLI, 2005). Considerando os domínios brasileiros, registros de espécies de fungos na Mata Atlântica somam 3016 espécies, correspondendo a pouco mais de 60 % de todos os fungos registrados no Brasil (FLORA DO BRASIL, 2018). No entanto, há escassez de estudos taxonômicos e, sobretudo, ecológicos, referentes às comunidades de Mucoromyceta em solos deste domínio.

## 2.9 MUCOROMYCETA EM SOLOS DE ÁREAS DE MATA ATLÂNTICA

Estudos da ocorrência dos Mucoromyceta em áreas de Mata Atlântica do Brasil concentram-se, principalmente, nos estados de Pernambuco e São Paulo (TRUFEM, 1981a, 1981b; LIMA et al, 2015), com registro, nesse domínio, de aproximadamente 70 táxons (SANTIAGO, 2017).

Alguns dos primeiros registros de espécimes de Mucoromyceta em solos de Mata Atlântica foram realizados por Trufem (1981), ao citar, em uma série de estudos, Mucorales de solos do estado de São Paulo. TRUFEM (1981a) dedicou-se ao gênero *Mucor*, notificando: *M. corticola* Hagem, *M. fuscus* Bainier, *M. fragilis* Bainier, *M. genevensis* Lendn., *M. heterosporus* A. Fisch., *M. hiemalis* Wehmer, *M. mousanesis* Baijal & B.S. Mehrotra, *M. piriformis* A. Fisch., *M. odoratus* Treschew e *M. suhagiensis* M.D. Mehrotra. Em seguida, registrou a ocorrência de *A. cylindrospora*, *A. pseudocylindrospora* Hesselt. & J.J. Ellis, *A. repens* Tiegh., *A. spinosa* var. *biappendiculata* Rall & Solheim, *Circinella angarensis* (Schostak.) Zycha, *G. butleri*, *R. arrhizus* (como *R. oryzae*) e *R. stolonifer* (como *R. nigricans*) (TRUFEM, 1981b). Por fim, mencionou espécimes de *Circinella* e *Cunninghamella* distribuídos em sete espécies: *Circinella angarensis* (Schostak.) Zycha, *C. muscae* (Sorokín) Berl. & De Toni, *C. rigida* G. Sm., *C. simplex*, *C. bainieri* Naumov, *C. echinulata*, *C. elegans* (TRUFEM, 1981c).

Schoenlein-Crusius & Millanez (1997), em estudo realizado na Reserva Ecológica Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP, contribuíram com o conhecimento dos Mucoromyceta em áreas de Mata Atlântica, registrando 13 táxons de Mucorales em folheto, solo e água, sendo o gênero *Mucor* o mais frequente, representado por quatro espécies e duas variedades, seguido por *Rhizopus*. Dentre as espécies isoladas, *M. hiemalis* e *M. circinelloides* foram consideradas frequentes e *M. silvaticus* (como *M. hiemalis* f.

*silvaticus*), *R. arrhizus*, *R. oligosporus* Saito, *M. japonicus* Komin (como *Z. japonicus*) e *M. macrocarpus* Y. Ling (como *Z. macrocarpus*) foram registrados pela primeira vez para a Mata Atlântica.

Santos et al. (1998), em um estudo sobre a diversidade de fungos do solo na Ilha dos Eucaliptos, na Represa de Guarapiranga, em São Paulo, identificaram nove táxons de Mucorales, citando *Cunninghamella phaeospora* Boedijn como o táxon mais frequente, dentre os isolados. Em trabalho realizado na Estação Ecológica de Juréia-Itatins, no estado de São Paulo, Tauk-Tornisielo et al. (2005) compararam a diversidade de fungos entre uma área natural e outra revegetada, identificando *C. simplex*, *C. elegans* e *M. hiemalis*, sendo a primeira a espécie mais frequente.

Algumas contribuições, como as de Schoenlein-Crusius et al. (2006), registraram a elevada diversidade de Mucorales de solo e folheto de Mata Atlântica, em Cubatão, São Paulo. Os autores notificaram 40 espécies, entre 1993 e 1995. Dentre os isolados, *Mucor amphibiorum* Schipper, *M. prayagensis* Mehrotra & Nand ex Schipper e *Parasitella parasitica* (Bain.) Syd. foram citadas pela primeira vez no Brasil.

De Souza et al. (2008) isolaram e descreveram 13 espécies de Mucorales 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 registrada a primeira ocorrência de *M. bainieri* para o Brasil.

## 2.10 BREJOS DE ALTITUDE

Os brejos de altitude representam áreas de exceção no contexto do semiárido. Favorecidos pelas formações de nevoeiros, chuvas que sucedem as temperaturas baixas e faixas de vegetação que ganham características diferentes das de caatinga, esse ecossistema é composto por disjunções de Floresta Atlântica estabelecidas em regiões de Caatinga (ANDRADE-LIMA, 1982). A existência dessas “ilhas”, tidas como refúgio de florestas úmidas inseridas no semiárido, está associada à ocorrência de planaltos e chapadas que conferem condições climáticas e coberturas vegetais privilegiadas (ANDRADE-LIMA, 1966).

O ecossistema de brejo de altitude, por vezes denominado de mata serrana, é associado ao domínio Mata Atlântica, em decorrência de características orográficas, climáticas e biológicas (RODRIGUES et al., 2008). Encontrados em áreas com altitudes superiores a 600 m, em que o mesoclima varia de úmido a subúmido, os brejos de altitude apresentam precipitação anual que oscila entre 900-1300 mm, além de solos geralmente profundos, argilosos e contendo elevado teor de água disponível (THEULEN, 2004). Distintos das áreas de caatinga circundantes, os solos desses brejos apresentam menor evapotranspiração, contribuindo com a adaptabilidade de vegetais locais que, conseqüentemente, adquirem maior aporte hídrico (SOUSA et al., 2004). De acordo com LINS (1989), as faixas de vegetação que se sucedem e ganham características úmidas na extensão desses ecossistemas variam entre florestas caducifólias ou subcaducifólias, até matas subperenes com espécies perenifólias. Contudo, em altitudes mais elevadas predominam florestas subperenifólias, subcaducifólias e caducifólias (ARAÚJO FILHO et al., 2000).

A mais elevada pluviosidade, associada às temperaturas médias mais baixas (quando comparadas às áreas de caatinga), bem como a presença de vegetação característica de Mata Atlântica, observadas nos brejos de altitude, têm atraído pecuaristas e agricultores que criam gado e/ou desenvolvem lavouras permanentes, como as de banana, café e citros, circundadas por lavouras temporárias, como as de hortaliças, mandioca, milho e feijão, que constituem a base da estrutura sócio-econômica dessas regiões (LINS, 1989). Contudo, o uso desordenado dessas áreas tem desencadeado processos de degradação irreversíveis, ocasionando a perda de habitat e a fragmentação de áreas, diminuindo o percentual dos brejos de altitude (CAVALCANTI; TABARELLI, 2004; TABARELLI; SANTOS, 2004). Estima-se que cerca de 16.000 km<sup>2</sup> da cobertura vegetal dos brejos de altitude nordestinos tenham sido degradados, restando, aproximadamente, 2.500 km<sup>2</sup> da extensão original, o que impacta na diversidade biológica e coloca em risco esse domínio ainda tão pouco conhecido (TABARELLI; SANTOS, 2004).

Pesquisas direcionadas ao conhecimento da biodiversidade dos brejos de altitude são necessárias, considerando as diferenças fisionômicas entre esses ecossistemas, decorrente das diversas condições de umidade e temperatura neles observados (LIMA, 2007). A maior parte dos estudos em brejos de altitude tem sido dedicada à caracterização

e classificação das formações vegetais desse ecossistema (RODAL et al., 2005; ANDRADE et al., 2006; LOPES et al., 2007; NASCIMENTO; RODAL, 2008; PEREIRA et al., 2010b). Os poucos relatos da diversidade dos fungos zigospóricos nos brejos de altitude de Pernambuco registraram 30 táxons (SANTIAGO et al., 2011, 2013; ALVES, 2016; ALVES et al., 2017).

## 2.11 MUCOROMYCETA EM SOLOS DE BREJOS DE ALTITUDE

Embora o importante papel ecológico desempenhado por micro-organismos em ambientes edáficos, como em solo de Mata Atlântica (MICHEREFF et al., 2005), tenha sido referido, o número de espécies de fungos em áreas pouco inventariadas tem sido subestimado, sobretudo nos brejos de altitude.

O conhecimento, ainda fragmentado, da diversidade dos fungos zigospóricos em brejos de altitude se restringe às contribuições de Santiago et al. (2011, 2013), Alves (2016) e Alves et al. (2017), registrando a ocorrência de diversas espécies descritas pela primeira vez nesse ecossistema, além de descrevendo novos táxons para a ciência. Dentre os estudos, Santiago et al. (2011) relataram uma nova espécie, *Syncephalis aggregata*, e Santiago et al. (2013) isolaram *Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*, *Cunninghamella echinulata* var. *echinulata*, *C. echinulata* var. *verticillata*, *C. phaeospora*, *L. hyalospora*, *M. luteus*, *M. prayagensis* e *M. subtilissimus*, em solos do brejo de altitude na cidade de Triunfo, Pernambuco,

Alves (2016) registrou a diversidade de Mucorales nos brejos de altitude da Serra dos Cavalos, Serra Negra e Serra do Jenipapo, localizados respectivamente nas cidades de Caruaru, Bezerros e Sanharó, em Pernambuco. Foram identificados, nas amostras coletadas no Brejo da Serra dos Cavalos, 15 táxons de *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Mucor* e *Rhizopus*, enquanto do solo do Brejo de Jenipapo foram isolados 23 táxons desses gêneros. Em solo coletado no Brejo de Serra Negra, 18 táxons de *Absidia*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichthemia* e *Rhizopus* foram identificados. Considerando os três brejos de altitude, *Absidia* foi mais representativo em relação ao número de espécies, seguido por *Cunninghamella* e *Mucor*.

Recentemente, Alves et al. (2017) registraram a primeira ocorrência de *C. clavata* para o hemisfério ocidental a partir de coleta no Brejo dos Cavalos, localizado na cidade de

Caruaru, Pernambuco, e forneceram uma descrição detalhada da espécie, além de uma chave de identificação para espécies de *Cunninghamella* isoladas no Brasil.

## 2.12 PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR ESPÉCIMES DE MUCOROMYCETA

Os micro-organismos apresentam-se como uma excelente fonte na produção de enzimas, destacando-se pela ampla diversidade bioquímica e susceptibilidade à manipulação genética. Os Mucoromyceta têm sido frequentemente referidos em decorrência da capacidade de sintetizarem enzimas de importância industrial, como amilases, lipases, inulinase, pectinases, renina, proteases e outros metabólitos (ALVES et al., 2005; KUMAR et al., 2005; SANTIAGO; SOUZA-MOTTA, 2006).

Nos processos industriais, a estabilidade de uma enzima em elevadas temperaturas é um dos princípios essenciais para o sucesso do produto final. Celulases termoestáveis, por exemplo, exibem elevada capacidade na degradação de lignocelulose a 65 °C. Enzimas produzidas por fungos mesofílicos geralmente são estáveis em temperaturas próximas a 50 °C, enquanto fungos termofílicos são capazes de produzir enzimas termoestáveis que suportam até 70 °C (VIIKARI et al., 2007).

Dentre os Mucoromyceta, alguns gêneros de Mucorales abrigam espécimes termofílicos ou termotolerantes capazes de produzir enzimas termoestáveis (BERKA et al., 2011). Conhecidos por degradarem, preferencialmente, açúcares solúveis, alguns espécimes de Mucorales também são capazes de degradar moléculas complexas, como pectina, proteínas, lipídios e hemicelulose (SCHULEIN, 2000; DOMSCH et al., 2007), resultantes da produção enzimática de amilases, inulinases e celulases, frequentemente citadas para uso biotecnológico (HOFFMANN et al., 2013; LIMA et al., 2014). Proteases produzidas por fungos termofílicos, por exemplo, espécimes de *Thermomucor* Subrahm., B.S. Mehrotra & Thirum., correspondem a promissoras enzimas proteolíticas aplicadas na indústria de laticínios (NOUT; KIERS, 2005; MERHEB-DINI et al., 2010; XUEFENG et al., 2011). Essas proteases se apresentam estáveis em condições desnaturantes de pH e temperatura, sendo essas características ideais para aplicação na indústria de alimentos, devido à utilização de temperaturas elevadas em diversos processos (MACCHIONE et al., 2008).

### 2.12.1 Protease coagulantes do leite – biosíntese por espécimes de *Mucoromyceta*

As proteases compõem aproximadamente 60% de todas as enzimas comercializadas, devido à elevada aplicabilidade nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. O termo protease é um sinônimo de peptidase, isto é, enzimas proteolíticas ou hidrolases de péptidos que catalisam a clivagem de ligações peptídicas em proteínas (MANDUJANO-GONZÁLEZ et al., 2016). Proteases são categorizadas como alcalinas, neutras ou ácidas, com base em mecanismos catalíticos e no pH ideal para a atividade. As proteases ácidas fúngicas são consideradas substitutos viáveis para três importantes proteases envolvidas no processamento de alimentos: pepsina, renina e papaína (YEGIN et al., 2011; FERREIRA et al., 2013).

Uma das principais aplicações das proteases é na indústria de laticínios, para a produção de queijos, estando essas enzimas envolvidas no processo de coagulação de caseínas do leite a partir de enzimas proteolíticas, sendo renina a principal delas (D'AMBROSIO et al., 2003; KUMAR et al., 2005).

A renina ou quimosina, uma protease do abomaso dos ruminantes é amplamente utilizada como coagulante do leite. No entanto, devido à escassez da produção dessa enzima, ao aumento do preço e à expansão da produção de queijos, pesquisas têm sido encorajadas no intuito de se utilizar micro-organismos como fontes alternativas para a produção de coagulantes do leite que possam ser utilizados na fabricação de queijos (KAVADIA et al., 2001; MAGNUSON; LASURE, 2004; KUMAR et al., 2005; FERREIRA et al., 2013).

Espécimes pertencentes ao subreino *Mucoromyceta* têm atraído considerável atenção com relação aos processos biotecnológicos, já que esses micro-organismos são capazes de crescer em diferentes temperaturas, taxas de oxigenação e concentrações hidrogeniônicas. Dadas as propriedades estruturais, fisiológicas, bioquímicas e genéticas, os *Mucoromyceta* apresentam-se como promissores para a produção de uma grande variedade de metabólitos, incluindo ácidos orgânicos e enzimas (FERREIRA et al., 2013). Dentre os táxons reconhecidos como fontes potenciais de proteases destacam-se cepas de *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* e *Thermomucor*, produtores bem conhecidos de proteinases aspárticas com elevada atividade de coagulação do leite (MERHEB-DINI et al., 2010; YEGIN et al., 2011; SILVA et al., 2013b; SUN et al., 2014).

De acordo com Hashem (1999), um substituto adequado para proteases tradicionais, utilizadas na fabricação de queijos, deve ter coagulação intensa e baixa atividade proteolítica, minimizando a dissolução do coágulo durante o processo. Nesse contexto, proteases aspárticas decorrentes da atividade proteolítica de *Rhizomucor miehei* (= *M. miehei*) e *R. pusillus* (= *M. pusillus*) têm sido referidas, recebendo ampla aceitação industrial, devido aos índices favoráveis de “fator R” (atividade de coagulação do leite/atividade proteolítica), especificidade às ligações peptídicas da caseína, boa qualidade e rendimento do queijo (AIKAWA et al., 2001; BENEVIDES et al., 2004; YUQIU et al., 2015).

Proteases aspárticas produzidas por *Rhizopus* formam uma classe de enzimas conhecidas como “rizopuspepsinas” (LIN et al., 2011; HSIAO et al., 2014). As espécies produtoras dessas proteases incluem *R. microsporus* Tiegh. (citada como *R. chinensis* Saito) e *R. arrhizus* A. Fisch. (citada como *R. hangchow* M. Yamaz. e *R. oryzae*) (SCHOEN et al., 2002; KUMAR et al., 2005; CHEN et al., 2009). Dadas as propriedades bioquímicas de táxons de *Rhizopus*, Hsiao et al. (2014) descreveram, purificaram e caracterizaram uma nova protease derivada das “rizopuspepsinas”, com elevada atividade caseinolítica e perfil de inibição consistente, semelhante às proteases ácidas aspárticas, como a renina, utilizada na fabricação de queijos.

Fraile et al. (1978) realizaram um estudo pioneiro sobre a capacidade de espécimes de *Mucor* em sintetizarem enzimas coagulantes do leite. Foram testadas 41 cepas, das quais 28 delas catalizaram a proteólise de caseínas do leite, distribuídas entre *M. racemosus* Fresen., *M. fragilis* Bainier, *M. mucedo* Sowerby, *M. plumbeus* Bonord. (= *M. spinosus* Schrank), *R. arrhizus* [= *M. rouxii* (Calmette) Wehmer], *M. bacilliformis* Hesselt. e *M. hiemalis*.

Tubeshia & Al-Delaimy (2003) estimaram a atividade proteolítica de 20 táxons de *Mucor* originários da Jordânia. Embora não tenha sido fornecida informação dos isolados ao nível da espécie, este estudo confirma o potencial de espécimes de *Mucor* para a biossíntese de proteinases aspárticas. Posteriormente, Alves et al. (2005) reportaram a biosíntese de proteinases extracelulares por *M. racemosus* f. *chibinensis* (Neophyt.) Schipper, *M. circinelloides* f. *circinelloides* Tiegh., *M. circinelloides* f. *griseo-cyanus* (Hagem) Schipper, *M. circinelloides* f. *janssenii* (Lendn.) Schipper, *M. circinelloides* f. *lusitanicus* (Bruderl.) Schipper, *M. genevensis* Lendn., *M. hiemalis* (= *M. hiemalis* f.

*hiemalis* Wehmer), *M. luteus* Linnem. (= *M. hiemalis* f. *luteus* Linnem. ex Schipper), *M. piriformis* f. *piriformis* A. Fisch., *M. piriformis* f. *nanus* M.H. Alves & Trufem, *M. subtilissimus* Berk., *M. variosporus* Schipper e *M. carbonaceus* M. H. Alves; Trufem & Milanez.

Alguns processos da indústria de laticínios requerem tratamento em elevadas temperaturas, mesmo que o leite pasteurizado seja utilizado. Processos de aquecimento são essenciais para obtenção de uma textura elástica e compacta em queijos Halloumi (típico do mediterrâneo oriental), por exemplo. Esse método influencia as características bioquímicas e de maturação, em particular, a atividade residual de coagulante do leite. Nesse sentido, a utilização de enzimas estáveis ao calor é preferida, pois evita alterações indesejáveis na qualidade organoléptica do produto final. Nesse contexto, Hayaloglu et al. (2014) compararam a estabilidade térmica da quimosina de origem animal e a produzida por *R. miehei*, notificando melhores estabilidade térmica e atividade proteolítica de caseínas do leite pelas enzimas produzidas por *R. miehei*. MERHEB-DINI et al. (2010) reportaram elevada atividade de coagulação do leite, baixa atividade proteolítica e estabilidade térmica em *Thermomucor indicae-seudaticae* Subrah., B.S. Mehrotra & Thirum.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

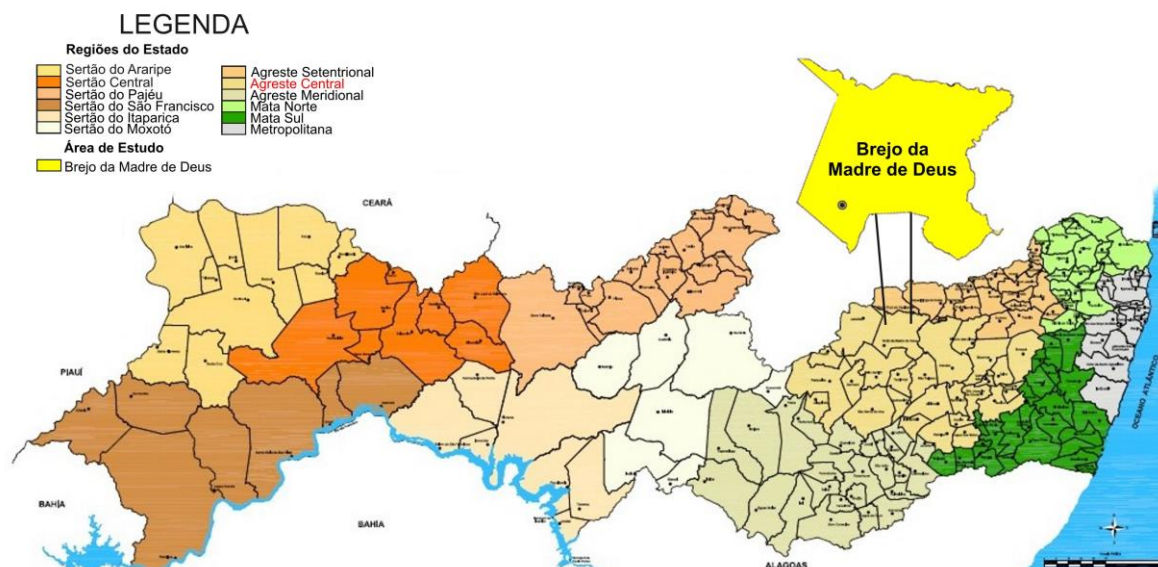
#### 3.1 ÁREAS DE ESTUDO

As amostras de solo foram coletadas em três brejos de altitude do semiárido de Pernambuco: brejos da Serra do Bituri, de Taquaritinga do Norte e do Sítio Carro Quebrado, pertencentes aos municípios de Brejo da Madre de Deus, Taquaritinga do Norte e Triunfo, respectivamente.

##### 3.1.1 Brejo da Serra do Bituri

O brejo da Serra do Bituri compreende áreas dos municípios do Brejo da Madre de Deus, Belo Jardim e Sanharó - PE, com aproximadamente 245 km<sup>2</sup> de extensão (Figura 1).

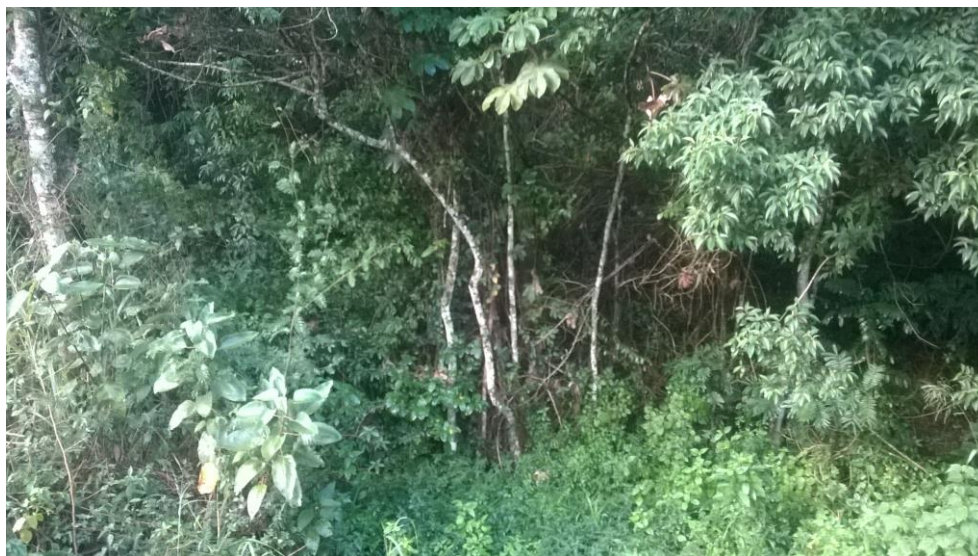
**Figura 1.** Localização do Município de Brejo da Madre de Deus.



**Fonte:** CODEPEM, (2012)

A vegetação original desse brejo é constituída por florestas subcaducifólias, caducifólias, subperenifólias, além de caatinga hipoxerófila (RODRIGUES et al., 2008). A temperatura média anual é de 22,2 °C e a precipitação média é de 948 mm/ano, com período de chuvas se estendendo de março a julho (SILVA et al., 2009), o que caracteriza o clima como tropical úmido-seco, com longa estação seca (RICHARDS, 1996). Esse brejo apresenta um conjunto de fragmentos de floresta estacional semidecídua montana (Figura 2) com altitudes entre 900 e 1.100 m (VELOSO et al., 1991).

**Figura 2.** Aspecto da floresta estacional semidecídua montana da Serra do Bituri, Brejo da Madre de Deus - PE.

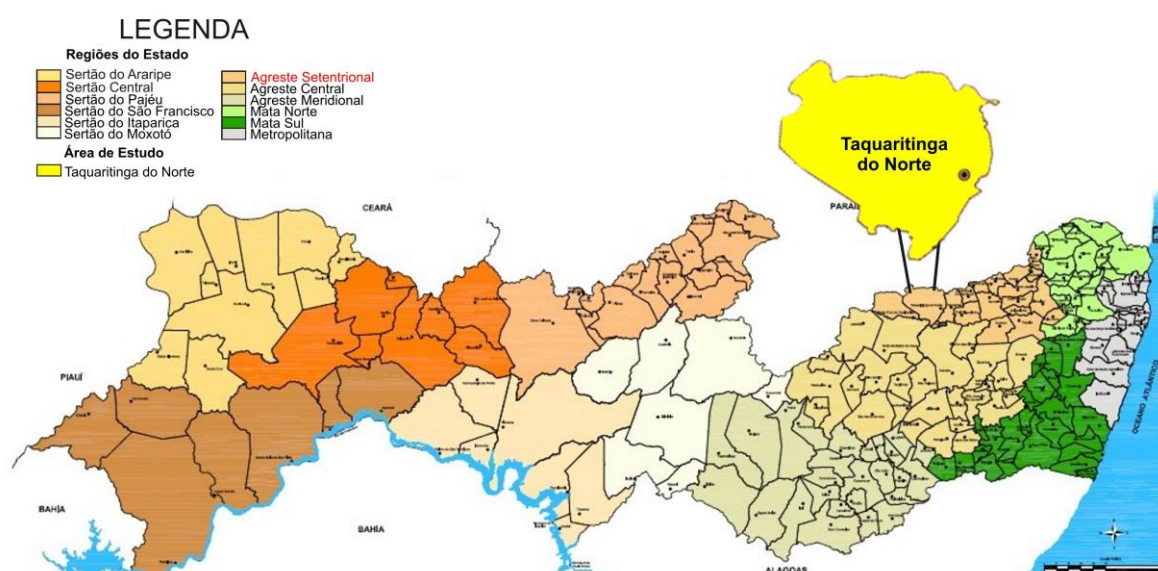


**Fonte:** de Souza, C.A.F.

### 3.1.2 Brejo de Taquaritinga do Norte

O Brejo de Taquaritinga do Norte localiza-se na cidade que recebe o mesmo nome, abrangendo também pequenas áreas dos municípios de Vertentes e Toritama – PE (Figura 3).

**Figura 3.** Localização do Município de Taquaritinga do Norte.



**Fonte:** CODEPEM, (2012)

O brejo apresenta uma área aproximada de 59 km<sup>2</sup> e se caracteriza por um conjunto de elevações com relevo suave ondulado a forte ondulado com declives, às vezes, acentuados, com altitudes entre 750 e 1.000 m e temperatura média de 18 °C. A vegetação original é predominantemente composta por florestas subcaducifólia e caducifólia, ocorrendo, nas porções mais altas, floresta subperenifólia (Rodrigues et al., 2008) (Figura 4). O clima é do tipo tropical chuvoso, com verão seco. A estação chuvosa inicia-se em janeiro/fevereiro com término em setembro, podendo chegar até outubro (MME, 2005a).

**Figura 4.** Aspecto da floresta subcaducifólia e caducifólia do brejo de Taquaritinga do Norte - PE.



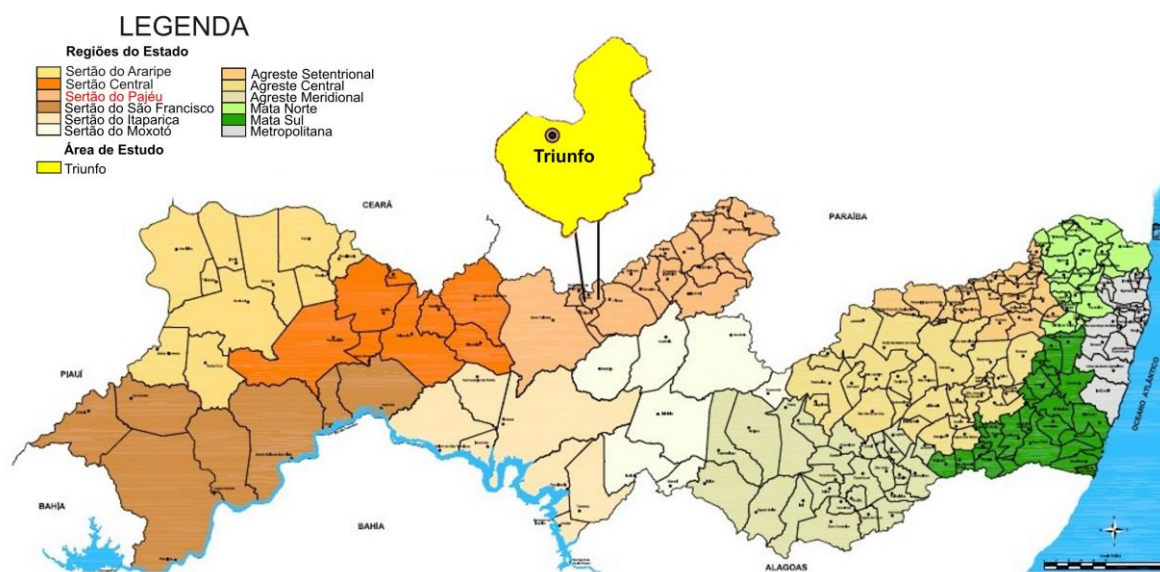
**Fonte:** de Souza, C.A.F.

### 3.1.3 Brejo do Sítio Carro Quebrado

O brejo do Sítio Carro Quebrado está localizado na cidade de Triunfo, na bacia hidrográfica do Pajeú, uma região predominantemente de floresta com vegetação sub-decídua (Figura 5). Apresenta relevo forte ondulado e montanhoso com vegetação predominante do tipo floresta subcaducifólia (Figura 6). De acordo com Ferraz et al. (1998), em Triunfo, áreas de maior altitude (1.100 m) são ocupadas por uma vegetação característica de florestas de terras altas (brejos de altitude), enquanto as áreas de altitudes

mais baixas (500 a 700 m) são caracterizadas pela vegetação típica de caatinga. O clima, segundo a classificação de Köppen, é quente e úmido, com temperatura média anual de 25 °C. A taxa de precipitação anual é de 1.222 mm, com um período de seca de sete meses e chuvas concentradas em março e abril (MME, 2005b).

**Figura 5.** Localização do Município de Triunfo.



**Fonte:** CODEPEM, (2012)

**Figura 6.** Aspecto da floresta subcaducifólia do brejo do Sítio Carro Quebrado, Triunfo-PE.

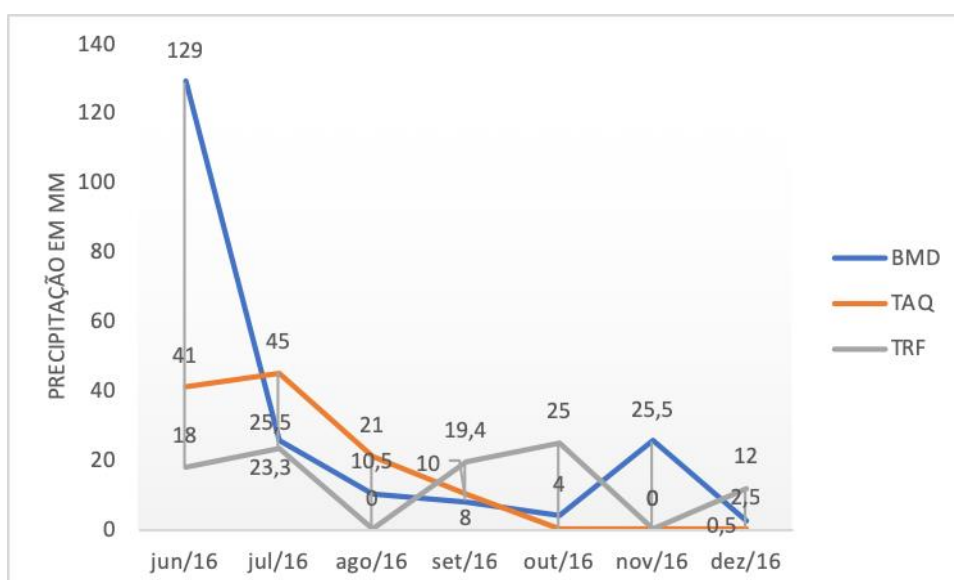


**Fonte:** de Souza, C.A.F.

### 3.1.4 Dados pluviométricos

Os dados pluviométricos dos meses de coleta foram fornecidos pela administração do Instituto Agrônomo de Pernambuco IPA (Figura 7) ([http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php](http://www.ipa.br/indice_pluv.php)).

**Figura 7.** Pluviosidade média mensal (mm) dos municípios Brejo da Madre de Deus, Taquaritinga do Norte e Triunfo - PE durante o período de coletas de solo.



BMD = Brejo da Madre de Deus; TAQ = Taquaritinga do Norte; TRF = Triunfo.

## 3.2 ISOLAMENTO DOS MUCOROMYCETA

### 3.2.1 Coletas de solo

Foram realizadas sete coletas de solo na Serra do Bituri (8°12'41,5"S, 36°23'73"O), em Taquaritinga do Norte (7°52'28"S, 35°59'25"O) e no Sítio Carro Quebrado (7°52'29,42"S, 38°06'12,07"O) entre Junho e Dezembro de 2016. As amostras foram coletadas em dois setores escolhidos aleatoriamente em cada uma das áreas. Em cada área, foram demarcados dois retângulos de 500 m<sup>2</sup> e, em cada retângulo, coletadas nove subamostras de solo a uma profundidade de 5 cm, respeitando-se a distância mínima de 10 m entre cada ponto de coleta, totalizando 18 subamostras de solo para cada área e 54, considerando-se as três áreas por coleta. As amostras de solo foram armazenadas em sacos plásticos e conservadas em caixas de isopor com gelo durante o transporte, sendo processadas em até 24 h, no laboratório. Inicialmente, as nove subamostras de cada quadrante de coleta foram homogeneizadas, originando três amostras compostas por retângulo e seis amostras compostas por área de coleta. No total, foram analisadas 126 amostras compostas de solo, considerando as sete coletas realizadas nos três brejos de altitude.

## 3.3 ISOLAMENTO, PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS MUCOROMYCETA

Para o isolamento dos espécimes de Mucoromyceta, cinco mg de solo foram inoculadas no meio de cultura ágar gérmes de trigo (BENNY, 2008) adicionado de cloranfenicol (100 mg.L<sup>-1</sup>), contido em placas de Petri, em triplicada. O crescimento das colônias foi acompanhado por 96 h em temperatura ambiente (28 ± 2 °C). Para a purificação, um fragmento de cada colônia foi transferido para placas de Petri com o mesmo meio de cultura e, depois de confirmada a pureza, transferido para tubo de ensaio contendo o meio batata dextrose ágar (BDA) (LACAZ et al., 2002).

A identificação dos espécimes foi realizada pela observação das características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas), com base nas descrições de Benjamin e Hesseltine (1957), Benjamin

(1959), Upadhyay (1969), Schipper (1978, 1984, 1990), Benny (1982), Zheng e Chen (2001), Hoffmann et al. (2007) e Zheng et al. (2007).

Espécies que apresentaram características morfológicas distintas das conhecidas foram descritas e ilustradas após crescimento nos meios de cultura ágar extrato de malte (AEM) e BDA em placas de Petri incubadas a 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C, no escuro. O crescimento das colônias foi avaliado a cada 24 horas, determinando-se quantos centímetros as colônias cresceram a cada dia e se houve diferença de coloração entre o dia da inoculação e o dia em que a colônia tomou toda a placa de Petri. A coloração das colônias foi determinada de acordo com o dicionário de cores de Maerz e Paul (1950).

Todas as características microscópicas foram obtidas por análise dos espécimes em microscópio de luz Leica DM500. As microestruturas foram medidas a partir de culturas em lâmina montadas em KOH (3%) ou em Azul de Aman para observação.

#### 3.4 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DAS REGIÕES ITS E LSU DO rDNA

O sequenciamento de regiões específicas do rDNA (ITS, LSU) ou codificador de proteína (RPB1) foi realizado para confirmação molecular das novas espécies, primeiras citações para o Brasil e de isolados que não puderam ser identificados pelas características morfológicas. Para extração do DNA, a biomassa obtida de culturas puras foi transferida para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de 0,5g de contas de vidro “glass beads” para a trituração do material por agitação em alta velocidade em um FastPrep. Em seguida, foi realizada a extração do DNA genômico conforme Griffiths et al. (2000), que inclui uma lavagem com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 µL de água ultrapura.

As regiões ITS e LSU do rDNA foram amplificadas utilizando-se os iniciadores ITS1 e ITS4 (WHITE et al., 1990), F1843 e R3096 (SCHMITT et al., 2009), respectivamente, além do gene codificador de proteína RPB1 (*primers* RPB1-F1843 e RPB1-R3096). Controles negativos contendo todos os componentes, exceto o rDNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações. Os produtos amplificados foram purificados com PureLink – PCR Purification Kit – Invitrogen e posteriormente clonados com o CloneJET PCR Cloning Kit (Fermentas;

Carlsbad, USA), seguindo a metodologia do fabricante. As sequências foram enviadas para sequenciamento na Plataforma Tecnológica de Genômica e Expressão Gênica do Centro de Biociências – Universidade Federal de Pernambuco.

### 3.5 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

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 das análises filogenéticas, o modelo de substituição de nucleotídeos foi estimado utilizando Topali 2.5 (Milne et al., 2004). A caracterização molecular final foi realizada com a avaliação filogenética, com a construção de árvores Bayesianas ( $1 \times 10^6$  geração) em MrBayes 3.1.2 (RONQUIST & HUELSENBECK, 2003) e de máxima verossimilhança (GUINDON & GASCUEL, 2003), executadas com o auxílio do programa Topali 2.5. As sequências dos espécimes isolados foram comparadas às disponíveis no “GenBank” ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) para confirmação genética dos táxons.

### 3.6 AVALIAÇÃO DAS COMUNIDADES DE MUCOROMYCETA

A frequência de ocorrência ( $F_i$ ) das espécies foi estimada segundo a equação:  $F_i = (J_i/k)$ , em que:  $F_i$  = frequência de ocorrência da espécie  $i$ ;  $J_i$  = número de amostras nas quais a espécie  $i$  ocorreu;  $K$  = número total de amostras de solo. De acordo com essa fórmula, as espécies foram classificadas como: muito frequentes ( $> 10\%$ ), frequentes ( $5-10\%$ ), pouco frequentes ( $\geq 1 < 5\%$ ) e raras ( $< 1\%$ ) (HYDE e SARMA, 2001).

A abundância de cada espécie nas áreas foi calculada aplicando-se a fórmula:  $A = (N_i/N) \times 100$ , em que:  $A$  = abundância  $i$ ;  $N_i$  = número de UFC de espécies  $i$ ;  $N$  = número total de UFC (ZAK e WILLIG, 2004). As espécies foram classificadas de acordo com Silva & Cavalcanti (2010) como: raras ( $< 1,5\%$ ), ocasionais ( $1,5-3,5\%$ ), comuns ( $> 3,5-6,5\%$ ) e abundantes ( $> 6,5\%$ ).

Para a estimativa da diversidade de Mucoromyceta nas áreas de estudo foi utilizado o índice de diversidade de Shannon-Wiener:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

em que: S é o número de espécies,  $p_i$  é a proporção da espécie  $i$ , estimada como  $n_i/N$ , em que  $n_i$  é a medida de importância da espécie  $i$  (número de indivíduos, biomassa) e  $N$  é o número total de indivíduos. O perfil de diversidade utilizando a série de Hill também foi calculada para cada área (HILL, 1973).

### 3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A comparação das comunidades fúngicas entre os solos dos brejos de altitude foi realizada por meio da Análise de Similaridade (ANOSIM), tendo a matriz de similaridade Bray-Curtis sido representada graficamente. Valores de espécie indicadora de Dufrêne & Legendre (1997) foram calculados, sendo esse índice baseado na combinação de dados de abundância relativa e frequência de ocorrência das espécies em uma determinada área. A significância do valor indicador (IndVal) para cada espécie foi avaliada utilizando o teste de Monte Carlo, com 1000 permutações, e as espécies foram consideradas indicadoras quando apresentaram  $p < 0,05$  e IndVal maior ou igual a 40% (KUBOSOVA et al., 2010). Curvas de acumulação de espécies também foram calculadas para cada área, o que permitiu estimar a riqueza total de cada área através dos estimadores Chao 1 e Jackknife 1. 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).

### 3.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA COAGULANTE DO LEITE

#### 3.8.1 Preparo do inóculo

Uma cultura de cada espécie de *Mucor* isolada foi selecionada e utilizada para os experimentos descritos nos itens 5.9 e 5.10 (Tabela 2). Inicialmente, cada uma das culturas selecionadas foi repicada para tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, incubada a 30 °C, em estufa, por sete dias, até ocorrer a esporulação. Os esporos foram coletados com a adição de solução salina 0,9% (p/v) e Tween 80 previamente esterilizados, fazendo-se a

remoção por agitação com auxílio de agitador magnético. Após a coleta dos esporos, foi realizada a contagem em câmara de Newbauer para posterior inoculação no meio de produção. A concentração mínima de  $10^6$  esporos por mililitro foi a utilizada durante os experimentos.

**Tabela 2.** Cepas de *Mucor* utilizadas para avaliação da produção de proteases coagulantes.

| <b>Táxons</b>                                     | <b>Número URM-Micoteca</b> |
|---------------------------------------------------|----------------------------|
| <i>Mucor circinatus</i>                           | 7774                       |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i> | 7770                       |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i>   | 7771                       |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i>      | 7880                       |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i>    | 7853                       |
| <i>M. fragilis</i>                                | 7769                       |
| <i>M. guilliermondii</i>                          | 7868                       |
| <i>M. hiemalis</i>                                | 7881                       |
| <i>M. inaequisporus</i>                           | 7871                       |
| <i>M. indicus</i>                                 | 7854                       |
| <i>M. irregularis</i>                             | 7773                       |
| <i>M. lanceolatus</i>                             | 7563                       |
| <i>M. luteus</i>                                  | 7772                       |
| <i>M. septatum</i>                                | 7364                       |
| <i>M. souzae</i>                                  | 7553                       |
| <i>Mucor</i> sp. 1                                | 7869                       |
| <i>Mucor</i> sp. 2                                | 7870                       |

### 3.9 MEIO DE PRODUÇÃO DE PROTEASE

Uma suspensão de esporos dos espécimes selecionados foi inoculada em frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 50 mL de meio MS-2 para a produção dos metabólitos, descrito por Porto et al. (1996), modificado, composto por: farinha de soja 4,0% (p/v),  $K_2HPO_4$  0,435% (p/v),  $NH_4Cl$  0,1% (p/v),  $MgSO_4$  0,06% e 0,1 mL de solução mineral (100 mg de  $FeSO_4$ ,  $MnCl_2$ ,  $ZnSO_4$  e  $CaCl_2$  em 10 mL de água destilada com pH inicial 7.0). Os frascos de Erlenmeyer contendo a suspensão de esporos em meio de cultura foram incubados em agitador orbital por 96 horas, a 120 rpm, a 28 °C. Após as 96 horas, o conteúdo dos frascos foi filtrado com papel filtro Whatman nº.1 e o extrato bruto enzimático obtido foi estocado em tubos falcon e eppendorfs e mantidos a -20 °C até a utilização para as análises seguintes.

### 3.10 ATIVIDADE PROTEOLÍTICA

A determinação da atividade das proteases do extrato bruto das cepas selecionadas foi realizada de acordo com Leighton et al. (1973), modificado, em mistura de reação contendo 100  $\mu\text{L}$  de azocaseína (1,0% p/v em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,6) e 60  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático. Essa mistura foi incubada por 1 hora no escuro à temperatura ambiente ( $28 \pm 1$  °C). Em seguida, a reação foi interrompida pela adição de 480  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (TCA) 10% p/v, centrifugada por 5 minutos a 8000 rpm a 4 °C. Posteriormente, 320  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram pipetados e adicionados a 560  $\mu\text{L}$  de hidróxido de sódio (NaOH) 1M, finalizando com leitura em espectrofotômetro a 440 nm.

### 3.11 QUANTIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS TOTAIS

As dosagens das proteínas totais contidas nos extratos brutos das cepas selecionadas foram realizadas segundo o método de Bradford (1976), modificado, que utiliza o corante “*Coomassie Brilliant Blue*” que detecta quantidades mínimas de proteínas em líquidos biológicos. A curva de calibração foi realizada a partir de soluções estoque de soro albumina bovina (BSA) numa gama de concentração de 25-1000 mg/mL. Em seguida, a determinação da atividade proteolítica total foi realizada através da mistura de 50  $\mu\text{L}$  da amostra com 1500  $\mu\text{L}$  do reagente de Bradford, em triplicata, e a leitura feita em espectrofotômetro a 595 nm. As dosagens de proteína foram expressas em  $\text{mg/mL}^{-1}$  de amostra.

O cálculo para atividade específica foi realizado considerando a razão entre a atividade total enzimática ( $\text{U.mL}^{-1}$ ) e proteína total ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ).

### 3.12 ATIVIDADE DA PROTEASE COMO COAGULANTE DO LEITE

Atividade coagulante do leite (ACL) foi medida seguindo o procedimento descrito pela Federação Internacional de Laticínios (IDF), adaptado. O leite desnatado em pó foi dissolvido a 10% em 100 mL de uma solução de  $\text{CaCl}_2$  0,01M (pH 6,5). Em frascos de penicilina, 5 mL solução contendo leite desnatado na presença de  $\text{CaCl}_2$  foi pré-aquecida em banho-maria a 35 °C, durante 10 min. Após esse tempo, o ensaio de coagulação foi

realizado pela adição de 500  $\mu\text{L}$  do extrato bruto enzimático aos 5 mL deste substrato. O ensaio branco foi preparado contendo apenas a solução de leite na presença de  $\text{CaCl}_2$ . Exatamente após a junção da solução de leite e do extrato enzimático, foi iniciada a contagem do tempo de formação dos primeiros coágulos e a atividade de coagulação foi expressa em International Milk-Clotting Units (IMCU). $\text{mL}^{-1}$  (IDF, 1992), utilizando-se fórmula  $400 \times t^{-1}$ , em que “t” é o tempo necessário para formação dos primeiros coágulos na solução de leite.

### 3.13 ESTABILIDADE DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Para mensurar o melhor pH, a atividade de coagulação do leite foi determinada a 35 °C, em diferentes valores de pH, utilizando as seguintes soluções tampão a 0,2 M: acetato (pHs 5,5 e 6,0); Tris-HCl (6,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0) e glicina-NaOH (8,0; 8,5 e 9,0). A atividade proteolítica foi determinada a 35 °C, em diferentes valores de pH, utilizando as seguintes soluções tampão a 0,2 M: acetato (pHs 5,5 e 6,0); Tris-HCl (6,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0) e glicina-NaOH (8,0; 8,5 e 9,0). A temperatura ideal para ambas as atividades foi determinada através da incubação da mistura da reação em diferentes temperaturas, variando entre 30 e 75 °C, com intervalos de 5 °C, e ensaio da atividade com o pH determinado como ótimo.

Para a avaliação da estabilidade do pH, a enzima foi dispersa (1:1) nas seguintes soluções tampão a 0,2 M: acetato (pHs 5,5 e 6,0); Tris-HCl (6,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0) e glicina-NaOH (8,0; 8,5 e 9,0), e mantida a 25 °C, por 1 hora. Posteriormente, a atividade proteolítica foi determinada em condições ótimas de pH e temperatura. A estabilidade térmica foi testada pela incubação da enzima em diferentes temperaturas, entre 35-75 °C, com intervalos de 5 °C, durante 1 hora. Posteriormente, resíduos de coagulação do leite e as atividades proteolíticas foram determinados em condições ótimas de pH e temperatura.

### 3.14 EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE $\text{CaCl}_2$ NA COAGULAÇÃO DO LEITE

O efeito da concentração de  $\text{CaCl}_2$  na coagulação do leite foi determinada de acordo com o item 6, mas se utilizando concentrações crescentes de solução de cloreto de cálcio (0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,015 e 0,020 M). O resultado foi expresso em atividade

relativa (%), sendo a atividade referência (100%) o melhor resultado obtido no ensaio. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão (DP).

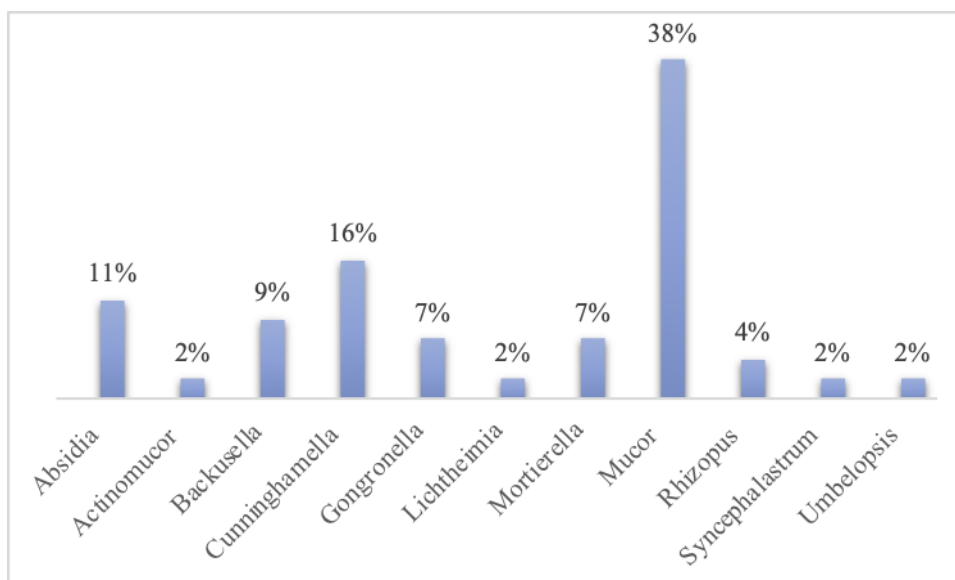
## 4 RESULTADOS

### 4.1 MUCOROMYCETA ISOLADOS DE SOLO DOS BREJOS DE ALTITUDE

Do solo dos brejos de altitude visitados, foram isolados 45 táxons de Mucoromyceta ( $8,84 \times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup> de solo), pertencentes aos gêneros *Absidia*, *Actinomucor*, *Backusella*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichtheimia*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Syncephalastrum* e *Umbelopsis*. Do solo do brejo da Serra do Bituri, foram isolados 28 táxons de *Absidia*, *Backusella*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Umbelopsis*. Do solo do brejo de Taquaritinga do Norte, 28 táxons de *Absidia*, *Actinomucor*, *Backusella*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Mortierella*, *Mucor* e *Rhizopus* foram identificados, enquanto 19 táxons de *Absidia*, *Actinomucor*, *Cunninghamella*, *Gongronella*, *Lichtheimia*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Syncephalastrum* foram obtidos dos solos do brejo do Sítio Carro Quebrado, Triunfo (Tabela 3).

Considerando os três brejos de altitude, *Mucor* foi o gênero com maior número de táxons registrados (17; 38% dos táxons), seguido por *Cunninghamella* (sete; 16%), *Absidia* (cinco; 11%) e *Backusella* (quatro; 9%). Para *Gongronella* e *Mortierella*, três espécies (7%) de cada gênero foram reportadas, enquanto duas espécies de *Rhizopus* (4%) foram isoladas. *Actinomucor*, *Lichtheimia*, *Syncephalastrum* e *Umbelopsis* foram representados por uma única espécie (2%) para cada gênero (Figura 8).

**Figura 8.** Porcentagem dos gêneros, em relação ao número de espécies, de Mucoromyceta presentes no solo dos Brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).



O solo do brejo de Taquaritinga do Norte apresentou maiores valores de unidades formadoras de colônia de Mucoromyceta por grama de solo ( $4,4 \times 10^4$  de UFC.g<sup>-1</sup> de solo), seguindo por Brejo da Serra do Bituri ( $3,2 \times 10^4$  g<sup>-1</sup> de solo) e do Sítio Carro Quebrado ( $1,78 \times 10^4$  g<sup>-1</sup> de solo) (Tabela 2). No solo do Brejo da Serra do Bituri, *Gongronella butleri* apresentou maior número de UFC.g<sup>-1</sup> de solo ( $8,8 \times 10^3$ ), seguida por *C. bertholletiae* ( $6,6 \times 10^3$ ) e *Absidia* sp. 1 ( $8,8 \times 10^3$ ) (Tabela 3), enquanto do solo de Taquaritinga do Norte, as espécies que apresentaram os maiores valores de UFC.g<sup>-1</sup> de solo foram *Absidia* sp. 1 ( $10,6 \times 10^3$ ), *Gongronella butleri* ( $8 \times 10^3$ ) e *C. bertholletiae* ( $5,4 \times 10^3$ ). Do solo inventariado do brejo do Sítio Carro Quebrado, *A. cylindrospora* var. *cylindrospora* ( $3,8 \times 10^3$ ), *A. caatinguensis* ( $3 \times 10^3$ ) e *Actinomucor elegans* ( $3 \times 10^3$ ) foram as espécies com maior número de UFC.g<sup>-1</sup> de solo (Tabela 2).

**Tabela 3.** Número de unidades formadoras de colônia por grama de solo (UFC.g<sup>-1</sup>) de Mucoromyceta nos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).

| Mucoromyceta                                                                          | Áreas             |                    |                   |                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
|                                                                                       | BSB               | TAQ                | SCQ               | Total              |
| <i>Absidia</i> sp. 1                                                                  | $3,2 \times 10^3$ | $10,6 \times 10^3$ | $1 \times 10^3$   | $14,8 \times 10^3$ |
| <i>Absidia</i> sp. 2                                                                  | $8 \times 10^2$   | $4 \times 10^2$    | -                 | $1,2 \times 10^3$  |
| <i>A. caatinguensis</i> D.X. Lima & A.L. Santiago                                     | $4 \times 10^2$   | $5,2 \times 10^3$  | $3 \times 10^3$   | $8,6 \times 10^3$  |
| <i>A. cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i> Hagem                               | $4 \times 10^2$   | $6 \times 10^2$    | $3,8 \times 10^3$ | $4,8 \times 10^3$  |
| <i>A. pseudocylindrospora</i> Hesselt. & J.J. Ellis                                   | $4 \times 10^2$   | -                  | -                 | $4 \times 10^2$    |
| <i>Actinomucor elegans</i> (Eidam) C.R. Benj. & Hesselt.                              | -                 | $2 \times 10^2$    | $2,2 \times 10^3$ | $2,4 \times 10^3$  |
| <i>Backusella</i> sp. 1                                                               | $1,2 \times 10^3$ | $2 \times 10^2$    | -                 | $1,4 \times 10^3$  |
| <i>B. constricta</i> D.X. Lima, C.A.F. de Souza & A.L. Santiago                       | $4 \times 10^2$   | $2 \times 10^2$    | -                 | $6 \times 10^2$    |
| <i>B. gigacellularis</i> J.I. Souza, Pires-Zottar. & Harakava                         | -                 | $2 \times 10^2$    | -                 | $2 \times 10^2$    |
| <i>B. lamprospora</i> (Lendn.) Benny & R.K. Benj.                                     | $2 \times 10^3$   | $8 \times 10^2$    | -                 | $1 \times 10^3$    |
| <i>Cunninghamella bertholletiae</i> Stadel                                            | $6,6 \times 10^3$ | $5,4 \times 10^3$  | $1,2 \times 10^3$ | $13,2 \times 10^3$ |
| <i>C. clavata</i> R.Y. Zheng & G.Q. Chen                                              | $8 \times 10^2$   | -                  | -                 | $8 \times 10^2$    |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>antarctica</i> (Caretta & Piont.) R.Y. Zheng & G.Q. Chen | $8 \times 10^2$   | -                  | -                 | $8 \times 10^2$    |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt. ex Blakeslee              | $8 \times 10^2$   | $4 \times 10^2$    | $8 \times 10^2$   | $2 \times 10^3$    |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>verticillata</i> (F.S. Paine) R.Y. Zheng & G.Q. Chen     | -                 | -                  | $4 \times 10^2$   | $4 \times 10^2$    |
| <i>C. elegans</i> Lendn.                                                              | $4 \times 10^2$   | -                  | -                 | $4 \times 10^2$    |
| <i>C. gigacellularis</i> A.L. Santiago, C.L. Lima & C.A.F. de Souza                   | $2 \times 10^2$   | -                  | -                 | $2 \times 10^2$    |
| <i>Gongronella</i> sp. 1                                                              | $2 \times 10^2$   | $1,6 \times 10^3$  | -                 | $1,8 \times 10^3$  |
| <i>G. brasiliensis</i> C.A.F. de Souza, D.X. Lima & A.L. Santiago                     | $8 \times 10^2$   | $8 \times 10^2$    | $2 \times 10^2$   | $1,8 \times 10^3$  |
| <i>G. butleri</i> (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco                                       | $8,8 \times 10^3$ | $8 \times 10^3$    | $1,4 \times 10^3$ | $18,2 \times 10^3$ |
| <i>Lichtheimia corymbifera</i> (Cohn) Vuill.                                          | -                 | -                  | $2 \times 10^2$   | $2 \times 10^2$    |
| <i>Mortierella</i> sp. 1                                                              | -                 | $8 \times 10^2$    | $8 \times 10^2$   | $1,6 \times 10^3$  |
| <i>Mortierella</i> sp. 2                                                              | -                 | $6 \times 10^2$    | -                 | $6 \times 10^2$    |
| <i>M. turficola</i> Y. Ling                                                           | $2 \times 10^2$   | $6 \times 10^2$    | -                 | $8 \times 10^2$    |
| <i>Mucor</i> sp. 1                                                                    | -                 | $6 \times 10^2$    | -                 | $6 \times 10^2$    |
| <i>Mucor</i> sp. 2                                                                    | -                 | $4 \times 10^2$    | -                 | $4 \times 10^2$    |
| <i>M. circinatus</i> D.X. Lima, G. Walther & A.L. Santiago                            | -                 | $4 \times 10^2$    | -                 | $4 \times 10^2$    |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i> Tiegh.                              | $4 \times 10^2$   | $6 \times 10^2$    | $2 \times 10^2$   | $1,2 \times 10^3$  |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i> (Hagem) Schipper                      | $4 \times 10^2$   | $2 \times 10^2$    | -                 | $6 \times 10^2$    |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i> (Lendn.) Schipper                        | $6 \times 10^2$   | -                  | -                 | $6 \times 10^2$    |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i> (Bruderl.) Schipper                    | $4 \times 10^2$   | $2 \times 10^2$    | -                 | $6 \times 10^2$    |
| <i>M. fragilis</i> Bainier                                                            | -                 | $2 \times 10^2$    | -                 | $2 \times 10^2$    |
| <i>M. guilliermondii</i> Nadson & Filippov                                            | $2 \times 10^2$   | -                  | -                 | $2 \times 10^2$    |
| <i>M. hiemalis</i> Wehmer                                                             | $2 \times 10^2$   | -                  | -                 | $2 \times 10^2$    |
| <i>M. inaequisporus</i> Dade                                                          | -                 | $2 \times 10^2$    | -                 | $2 \times 10^2$    |
| <i>M. indicus</i> Lendn.                                                              | -                 | $2 \times 10^2$    | -                 | $2 \times 10^2$    |
| <i>M. irregularis</i> Stchigel, Cano, Guarro & E. Álvarez                             | -                 | $2 \times 10^2$    | $2 \times 10^2$   | $4 \times 10^2$    |

|                                                                 |                                     |                                     |                                      |                                      |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>M. lanceolatus</i> Hermet                                    | -                                   | -                                   | $2 \times 10^2$                      | $2 \times 10^2$                      |
| <i>M. luteus</i> Linnem.                                        | $2 \times 10^2$                     | -                                   | $4 \times 10^2$                      | $6 \times 10^2$                      |
| <i>M. septatum</i> C.A. de Souza, T.R. Cordeiro & A.L. Santiago | $2 \times 10^2$                     | -                                   | -                                    | $2 \times 10^2$                      |
| <i>M. souzae</i> C.A. de Souza, D.X. Lima & A.L. Santiago       | -                                   | -                                   | $2 \times 10^2$                      | $2 \times 10^2$                      |
| <i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i> A. Fisch.         | -                                   | -                                   | $6 \times 10^2$                      | $6 \times 10^2$                      |
| <i>R. stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.                           | $6 \times 10^2$                     | $1 \times 10^3$                     | $8 \times 10^2$                      | $2,4 \times 10^3$                    |
| <i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn ex J. Schröt.             | -                                   | -                                   | $2 \times 10^2$                      | $2 \times 10^2$                      |
| <i>Umbelopsis ramanniana</i> (Möller) W. Gams                   | $2 \times 10^2$                     | -                                   | -                                    | $2 \times 10^2$                      |
| <b>Total</b>                                                    | <b><math>3,2 \times 10^4</math></b> | <b><math>4,4 \times 10^4</math></b> | <b><math>1,78 \times 10^4</math></b> | <b><math>8,84 \times 10^4</math></b> |
| <b>Riqueza de espécies</b>                                      | <b>28</b>                           | <b>28</b>                           | <b>19</b>                            |                                      |

BSB = Brejo da Serra do Bituri; TAQ = Taquaritinga do Norte; SCQ = Sítio Carro Quebrado.

Dentre os isolados, *G. butleri* apresentou a maior frequência de ocorrência ( $F_i = 22,2\%$ ), seguida por *Absidia* sp. 1 ( $19,8\%$ ), e *C. bertholletiae* ( $19,8\%$ ) (Tabela 3). *Gongronella butleri*, *Absidia* sp. 1, *A. caatinguensis* e *C. bertholletiae* foram muito frequentes nos solos estudados, enquanto *A. cylindrospora* var. *cylindrospora* foi frequente. *Absidia* sp. 2, *A. elegans*, *Backusella* sp.1, *B. constricta*, *B. lamprospora*, *C. echinulata* var. *antarctica*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *Gongronella* sp. 1, *G. brasiliensis*, *Mortierella* sp. 1, *Mortierella* sp. 2, *M. turficola*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. luteus*, *R. arrhizus* var. *arrhizus* e *R. stolonifer* foram pouco frequentes. As demais espécies foram raras nos solos dos brejos (Tabela 4).

Em relação à abundância relativa, a maioria dos táxons isolados foi classificado como raros. Apenas *G. butleri* ( $AR = 20,8\%$ ), *Absidia* sp. 1 ( $16,7\%$ ), *A. caatinguensis* ( $0,7\%$ ) e *C. bertholletiae* ( $16,7\%$ ) foram abundantes, enquanto *A. elegans* ( $2,7\%$ ), *B. lamprospora* ( $3,1\%$ ), *C. echinulata* var. *echinulata* ( $2,2\%$ ), *Gongronella* sp. 1 ( $2,2\%$ ), *G. brasiliensis* ( $2,0\%$ ), *Mortierella* sp. 1 ( $1,8\%$ ) e *R. stolonifer* ( $2,5\%$ ) foram ocasionais nos solos estudados.

**Tabela 4.** Frequência de ocorrência ( $F_i$  %) e abundância relativa ( $AR$  %) de Mucoromyceta no solo dos brejos de altitude da Serra do Bituri, Taquaritinga do Norte e Sítio Carro Quebrado, PE.

| <b>Mucoromyceta</b>                               | <b><math>F_i</math></b> | <b>Classificação</b> | <b>AR</b> | <b>Classificação</b> |
|---------------------------------------------------|-------------------------|----------------------|-----------|----------------------|
| <i>Absidia</i> sp.1                               | 19,8%                   | MF                   | 16,7%     | A                    |
| <i>Absidia</i> sp.2                               | 1,5%                    | PF                   | 0,9%      | R                    |
| <i>A. caatinguensis</i>                           | 13,0%                   | MF                   | 9,7%      | A                    |
| <i>A. cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i> | 7,5%                    | F                    | 5,4%      | C                    |

|                                                   |       |    |       |   |
|---------------------------------------------------|-------|----|-------|---|
| <i>A. pseudocylindrospora</i>                     | 0,7%  | R  | 0,4%  | R |
| <i>Actinomucor elegans</i>                        | 3,1%  | PF | 2,7%  | O |
| <i>Backusella</i> sp.1                            | 2,4%  | PF | 1,5%  | R |
| <i>B. constricta</i>                              | 1,1%  | PF | 0,6%  | R |
| <i>B. gigacellularis</i>                          | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>B. lamprospora</i>                             | 4,3%  | PF | 3,1%  | O |
| <i>Cunninghamella bertholletiae</i>               | 16,7% | PF | 15,0% | A |
| <i>C. clavata</i>                                 | 0,7%  | R  | 0,9%  | R |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>antarctica</i>       | 1,1%  | PF | 0,9%  | R |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>echinulata</i>       | 3,9%  | PF | 2,2%  | O |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>verticillata</i>     | 0,7%  | R  | 0,4%  | R |
| <i>C. elegans</i>                                 | 0,3%  | R  | 0,4%  | R |
| <i>C. gigacellularis</i>                          | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>Gongronella</i> sp.1                           | 3,6%  | PF | 2,2%  | O |
| <i>G. brasiliensis</i>                            | 3,6%  | PF | 2,0%  | O |
| <i>G. butleri</i>                                 | 22,2% | MF | 20,8% | A |
| <i>Lichtheimia corymbifera</i>                    | 0,7%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>Mortierella</i> sp. 1                          | 1,1%  | PF | 1,8%  | O |
| <i>Mortierella</i> sp. 2                          | 1,1%  | PF | 0,6%  | R |
| <i>M. turficola</i>                               | 1,5%  | PF | 0,2%  | R |
| <i>Mucor</i> sp.1                                 | 1,1%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>Mucor</i> sp.2                                 | 0,7%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. circinatus</i>                              | 0,3%  | R  | 0,4%  | R |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i> | 2,4%  | PF | 1,3%  | R |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i>   | 1,1%  | PF | 0,6%  | R |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i>      | 1,1%  | PF | 0,6%  | R |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i>    | 1,1%  | PF | 0,6%  | R |
| <i>M. fragilis</i>                                | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. guilliermondii</i>                          | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. hiemalis</i>                                | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. inaequisporus</i>                           | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. indicus</i>                                 | 0,3%  | R  | 0,4%  | R |
| <i>M. irregularis</i>                             | 0,7%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. lanceolatus</i>                             | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. luteus</i>                                  | 1,1%  | PF | 0,6%  | R |
| <i>M. septatum</i>                                | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>M. souzae</i>                                  | 0,3%  | R  | 0,2%  | R |
| <i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i>     | 1,1%  | PF | 0,6%  | R |
| <i>R. stolonifer</i>                              | 3,6%  | PF | 2,5   | O |
| <i>Syncephalastrum racemosum</i>                  | 0,3%  | R  | 0,8   | R |
| <i>Umbelopsis ramanniana</i>                      | 0,3%  | R  | 0,2   | R |

Para abundância relativa das espécies: R - raras (<1,5%), O - ocasionais (1,5-3,5%), C - comuns (>3,5-6,5%), A - abundantes (>6,5%). Para frequência de ocorrência das espécies: MF - muito frequente, F – frequente, PF – pouco frequente e R – rara.

Utilizando a definição de espécie indicadora de Dufrêne & Legendre (1997), sete táxons de Mucoromyceta foram detectados como indicadores de ecossistemas de brejos de altitude específicos, sendo três indicadores do brejo do Sítio Carro Quebrado (*A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *A. elegans* e *R. arrhizus* var. *arrhizus*), dois do brejo Taquaritinga do Norte (*Absidia* sp.1 e *Gongronella* sp. 1) e dois do Brejo da Serra do Bituri (*Backusella* sp.1 e *C. echinulata* var. *antarctica*) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Valores de indicação (VI) e grupo indicado no solo dos brejos da Serra do Bituri, (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ), PE.

| Mucoromyceta                                             | Espécie indicadora |              |             |
|----------------------------------------------------------|--------------------|--------------|-------------|
|                                                          | Grupo              | VI (%)       | p           |
| <b><i>Absidia</i> sp.1</b>                               | <b>TAQ</b>         | <b>71,1%</b> | <b>0,00</b> |
| <i>Absidia</i> sp.2                                      | BSB                | 35,5%        | 0,08        |
| <i>A. caatinguensis</i>                                  | TAQ/SCQ            | 61,4%        | 0,01        |
| <b><i>A. cylindrospora</i> var. <i>cylindrospora</i></b> | <b>SCQ</b>         | <b>49,4%</b> | <b>0,01</b> |
| <i>A. Pseudocylindrospora</i>                            | BSB                | 26,7%        | 0,33        |
| <b><i>Actinomucor elegans</i></b>                        | <b>SCQ</b>         | <b>37,5%</b> | <b>0,03</b> |
| <b><i>Backusella</i> sp.1</b>                            | <b>BSB</b>         | <b>39,1%</b> | <b>0,03</b> |
| <i>B. constricta</i>                                     | SCQ                | 23,9%        | 0,55        |
| <i>B. gigacellularis</i>                                 | TAQ                | 18,8%        | 1,00        |
| <i>B. lamprospora</i>                                    | TAQ/BSB            | 40,0%        | 0,07        |
| <i>Cunninghamella bertholletiae</i>                      | TAQ/BSB            | 63,0%        | 0,01        |
| <i>C. clavata</i>                                        | BSB                | 26,7%        | 0,33        |
| <b><i>C. echinulata</i> var. <i>antarctica</i></b>       | <b>BSB</b>         | <b>37,7%</b> | <b>0,03</b> |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>echinulata</i>              | BSB/SCQ            | 35,1%        | 0,49        |
| <i>C. echinulata</i> var. <i>verticillata</i>            | SCQ                | 18,8%        | 1,00        |
| <i>C. elegans</i>                                        | BSB                | 18,8%        | 1,00        |
| <i>C. gigacellularis</i>                                 | BSB                | 18,8%        | 1,00        |
| <b><i>Gongronella</i> sp.1</b>                           | <b>TAQ</b>         | <b>38,9%</b> | <b>0,03</b> |
| <i>G. brasiliensis</i>                                   | TAQ/BSB            | 34,8%        | 0,32        |
| <i>G. butleri</i>                                        | TAQ/BSB            | 70,1%        | 0,00        |
| <i>Lichtheimia corymbifera</i>                           | SCQ                | 26,7%        | 0,33        |
| <i>Mortierella</i> sp.1                                  | TAQ                | 18,8%        | 1,00        |
| <i>Mortierella</i> sp.2                                  | TAQ                | 32,7%        | 0,10        |
| <i>M. turficola</i>                                      | BSB                | 26,7%        | 0,33        |
| <i>Mucor</i> sp.1                                        | TAQ                | 32,7%        | 0,10        |

|                                                      |             |              |             |
|------------------------------------------------------|-------------|--------------|-------------|
| <i>Mucor</i> sp.2                                    | TAQ         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. circinatus</i>                                 | TAQ         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>circinelloides</i>    | TAQ/BSB/SCQ | 24,3%        | 0,32        |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>griseocyanus</i>      | TAQ/BSB     | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>janssenii</i>         | BSB         | 31,2%        | 0,23        |
| <i>M. circinelloides</i> f. <i>lusitanicus</i>       | BSB         | 26,7%        | 0,31        |
| <i>M. fragilis</i>                                   | BSB         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. guilliermondii</i>                             | BSB         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. hiemalis</i>                                   | TAQ         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. inaequisporus</i>                              | TAQ         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. indicus</i>                                    | BSB         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. irregularis</i>                                | BSB         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. lanceolatus</i>                                | SCQ         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. luteus</i>                                     | BSB/SCQ     | 23,1%        | 0,76        |
| <i>M. septatum</i>                                   | BSB         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>M. souzae</i>                                     | SCQ         | 18,8%        | 1,00        |
| <b><i>Rhizopus arrhizus</i> var. <i>arrhizus</i></b> | <b>SCQ</b>  | <b>37,7%</b> | <b>0,02</b> |
| <i>R. stolonifer</i>                                 | TAQ/BSB/SCQ | 36,1%        | 0,12        |
| <i>Syncephalastrum racemosum</i>                     | SCQ         | 18,8%        | 1,00        |
| <i>Umbelopsis ramanniana</i>                         | BSB         | 18,8%        | 1,00        |

As espécies em negrito são indicadoras.  $p < 0,05$  (significância para permutação de Monte Carlo).

A diversidade dos Mucoromyceta foi maior no solo do brejo da Serra do Bituri ( $H' = 2,763$ ), enquanto maiores riquezas de espécies foram observadas no solo do brejo de Taquaritinga do Norte e da Serra do Bituri ( $S = 28$ ), embora a diversidade de espécies tenha sido um pouco mais elevada no solo do Sítio Carro Quebrado ( $H' = 2,567$ ), em relação ao observada no solo de Taquaritinga do Norte ( $H' = 2,561$ ). A riqueza e a diversidade de espécies de Mucoromyceta no solo do brejo do Sítio Carro Quebrado diferiram, significativamente, das dos solos dos demais brejos inventariados, que não diferiram entre si (Tabela 6).

A equitabilidade entre os solos dos brejos de altitude foi similar, excetuando-se o brejo de Taquaritinga do Norte, que apresentou índices um pouco menores. O estimador Chao 1 apontou que a riqueza esperada foi alcançada nos brejos Serra do Bituri e do Sítio Carro Quebrado, o mesmo não ocorrendo nos solos do brejo de Taquaritinga do Norte, cujos índices foram menores do que o esperado. Quanto à riqueza estimada por Jackknife 1, os índices indicaram, em todos os brejos, que a riqueza observada foi inferior à esperada (Tabela 7 e Figuras 9, 10 e 11).

**Tabela 6.** Riqueza (S), índice de diversidade de Shannon Wiener (H'), equitabilidade de Pielou's e índice de Margalef das comunidades dos Mucoromyceta no solo dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).

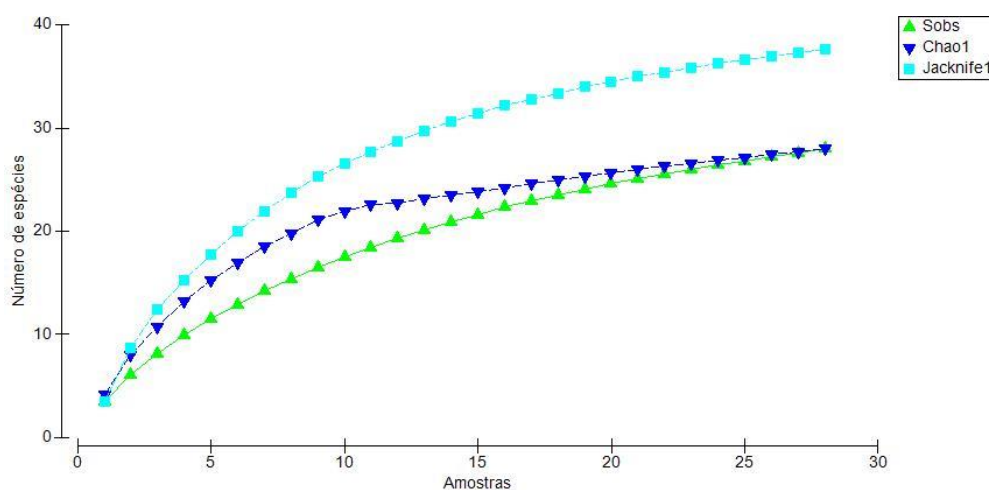
| Áreas de estudo | S   | H'     | J'     |
|-----------------|-----|--------|--------|
| BSB             | 28a | 2,763a | 0,8292 |
| TAQ             | 28a | 2,561a | 0,7684 |
| SCQ             | 19b | 2,567b | 0,8719 |

Os valores seguidos de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p = 0.05$ ).

**Tabela 7.** Riquezas observada (Sobs) e estimada pelos estimadores Chao 1 e Jacknife 1 das comunidades dos Mucoromyceta nos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).

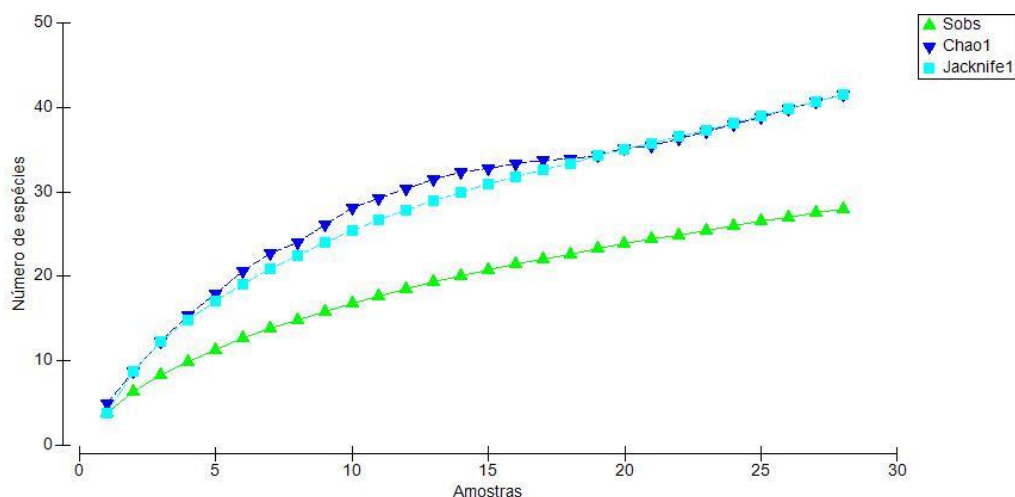
| Áreas de estudo | (Sobs) | Chao 1 | Jacknife 1           |
|-----------------|--------|--------|----------------------|
| BSB             | 28     | 41     | 41,5                 |
| TAQ             | 28     | 28     | 37,64 ( $\pm 9,64$ ) |
| SCQ             | 19     | 19     | 25,75 ( $\pm 6,75$ ) |

**Figura 9.** Estimadores de riqueza Chao 1 e Jacknife 1 dos Mucoromyceta no solo de Brejo da Serra do Bituri.



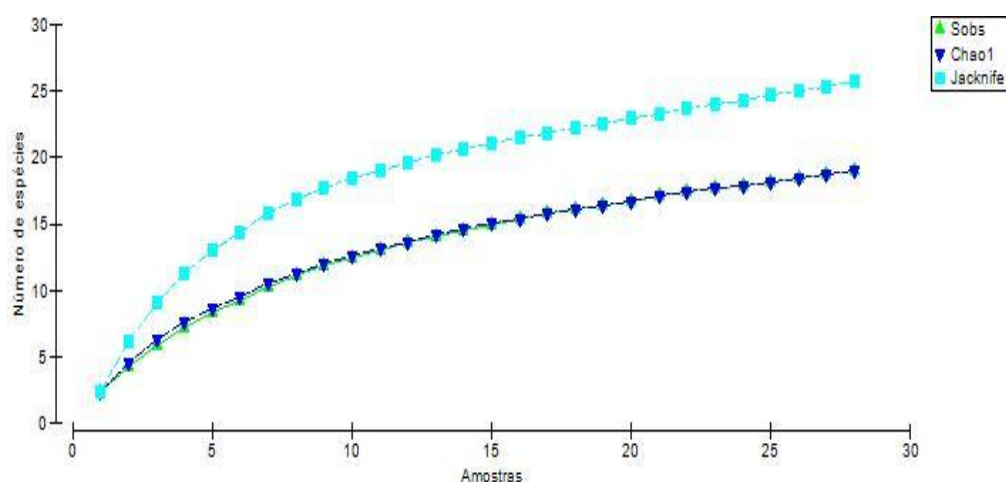
**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Figura 10.** Estimadores de riqueza Chao 1 e Jacknife 1 dos Mucoromyceta no solo do brejo de Taquaritinga do Norte.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

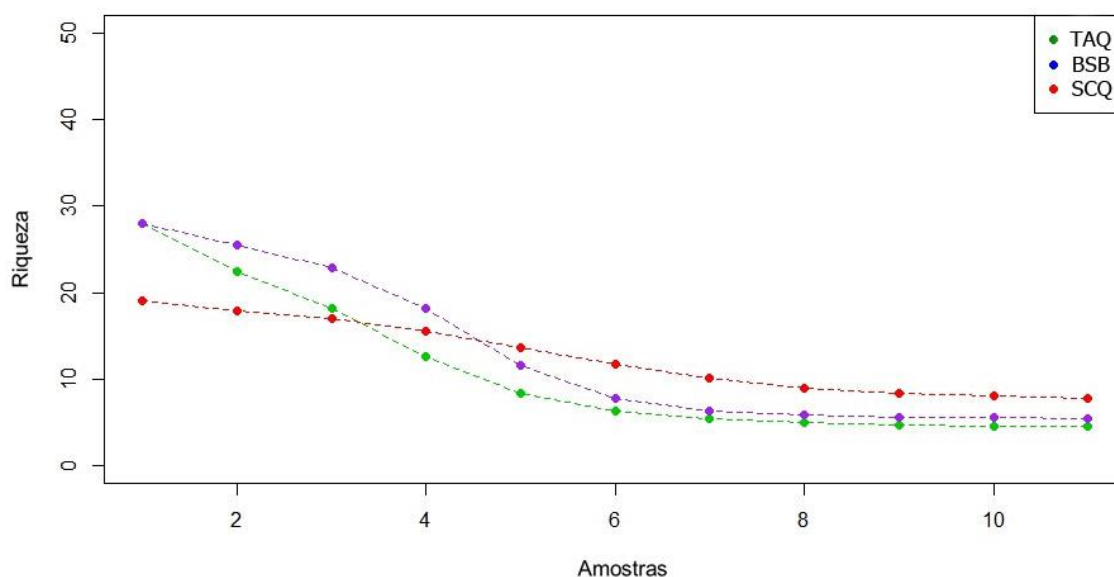
**Figura 11.** Estimadores de riqueza Chao 1 e Jackknife 1 dos Mucoromyceta no solo do brejo Sítio Carro Quebrado.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

Quanto ao perfil de diversidade dos Mucoromyceta nos solos inventariados, usando a Série de Hill, o brejo Sítio Carro Quebrado apresentou uma comunidade tendendo para a equitabilidade, com distribuição mais homogênea das espécies, enquanto as comunidades dos outros dois brejos apresentaram índices mais próximos da dominância, com espécies dominantes mais evidentes (Figura 12).

**Figura 12.** Perfil de diversidade da série de Hill dos Mucoromyceta dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).



Eixo X = amostras; eixo Y = riqueza.

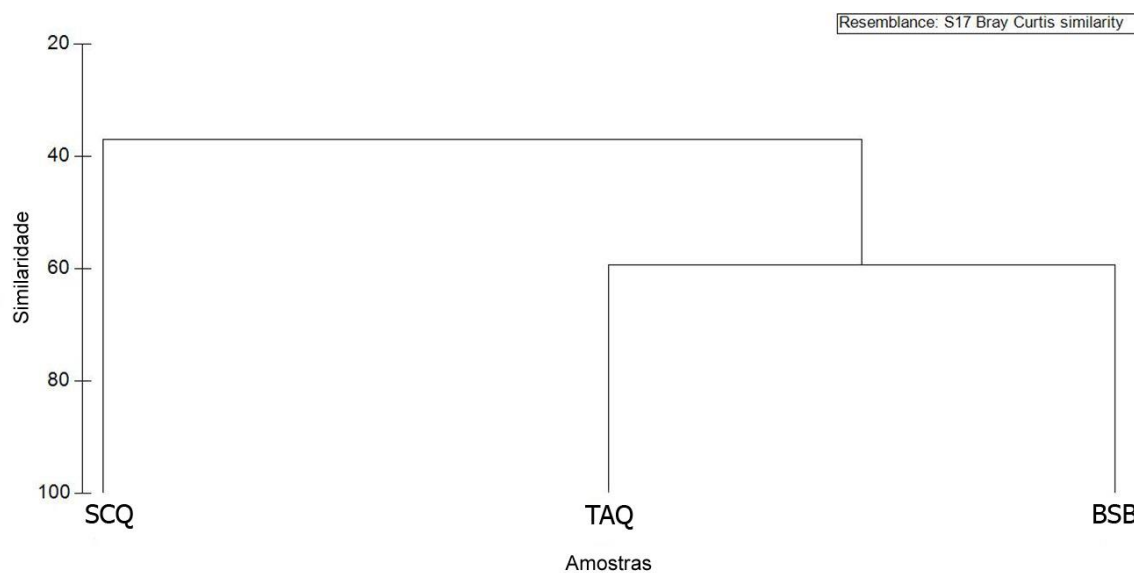
**Fonte:** de Souza, C.A.F.

A análise de similaridade de Bray-Curtis evidenciou maior similaridade da composição de Mucoromyceta entre os solos dos brejos de Taquaritinga do Norte e da Serra do Bituri (59,37%), seguida pelos solos de Taquaritinga do Norte e Sítio Carro Quebrado (39,46%). A menor similaridade foi verificada entre as comunidades dos solos dos brejos Sítio Carro Quebrado e da Serra do Bituri (34,59%) (Tabela 8 e Figura 13). Os diferentes brejos de altitude foram analisados estatisticamente quanto à similaridade pela ANOSIM, que indicou que todos os brejos diferiram entre si quanto à abundância e frequência dos Mucoromyceta. Entretanto, não houve diferenças significativas entre a composição das comunidades no solo dos brejos inventariados ( $R_{\text{global}} = 0,177$ ,  $p < 0,001$ ) (Tabela 9).

**Tabela 8.** Análise de similaridade de Bray-Curtis da composição dos Mucoromyceta entre solos dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).

|     | SCQ    | TAQ    | BSB |
|-----|--------|--------|-----|
| SCQ | -      | -      | -   |
| TAQ | 39,46% | -      | -   |
| BSB | 34,59% | 59,37% | -   |

**Figura 13.** Dendograma de Similaridade de Bray-Curtis entre os brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Tabela 9.** Análise de similaridade (ANOSIM) entre solos dos brejos da Serra do Bituri (BSB), Taquaritinga do Norte (TAQ) e Sítio Carro Quebrado (SCQ).

| Brejos   | R     | p         |
|----------|-------|-----------|
| TAQ, BSB | 0,113 | <0,001*** |
| TAQ, SCQ | 0,199 | <0,001*** |
| BSB, SCQ | 0,226 | <0,001*** |

\*\*\*: Significativo a 0,01% de probabilidade.

## 4.2 TAXONOMIA

### 4.2.1 *Gongronella brasiliensis* C.A.F. de Souza, D.X. Lima & A.L. Santiago, sp. nov. (Figura 14)

COLÔNIAS cotonosas, brancas, baixas, exibindo crescimento lento (6 cm diâm. e 1–2 mm de altura) depois de 7 dias, a 25 °C, em AEM. Reverso creme, com margens irregulares. RIZÓIDES frequentes, hialinos, levemente ramificados, curtos ou longos, até 45 µm de

comprimento. ESTOLÕES presentes, 2–6 µm em diâm., hialinos, em maioria cenocíticos, embora alguns septos possam ser observados quando as colônias estão velhas. Inodoro. ESPORANGIÓFOROS eretos ou levemente recurvados, com parede lisa, hialinos, 26,5–320 × 2,5–5 µm; solitários, surgindo de estolões, ou em verticilos de dois, muitas vezes com um único ramo, predominantemente terminando em um esporângio, enquanto os que emergem diretamente dos micélios aéreos se ramificam repetidamente. Alguns ramos terminam em um esporângio estéril, globoso, 5–17 µm de diâm. Um ou dois septos podem se formar abaixo da apófise. ESPORÂNGIOS inicialmente amarelos, posteriormente, tornando-se castanhos claros, globosos, subglobosos, 9,5–30 µm de diâm., com parede lisa. COLUMELAS hialinas para cinzas claras, parede lisa, globosas, subglobosas, (3–) 4–8 (–9) µm diâm. ou cônico-cilíndricas, 1,5–2,5 × 2–3 µm, algumas tão pequenas que são quase imperceptíveis, até 1 µm de diâm., algumas com colar evidente. APÓFISES hialinas, parede lisa, variáveis em forma, globosas, (3–) 4–5 (–6) µm diâm., em forma de vaso, (3–) 4 × 12 (–14,5) µm e elipsoidais, 5–10 (–12) × 3–7 (–8,5) µm. ESPORANGIOSPOROS hialinos, com parede lisa, alguns contendo gotículas de óleo, reniformes, 1,5–4 × 1,5–2,5 µm, elipsoides para fusiformes, 2–6,5 × 1,5–3 µm, elipsoides com uma extremidade achatada, alguns quase falciformes, 2,5–7,5 × 1,5–4. CLAMIDOSPOROS presentes no micélio aéreo, globosos, subglobosos e doliformes. CÉLULAS GIGANTES globosas, subglobosas, ovóides, algumas semelhantes às hifas e irregularmente inchadas, até 48 µm de diâm. ZIGOSPOROS não observados.

**Material examinado:** Brasil. Pernambuco: brejo de Taquaritinga do Norte, Taquaritinga do Norte (7°52'28"S 35°59'25"W), em amostras de solo. (5 nov 2015) C.A.F. de Souza. URM 7487 (holótipo).

GenBank – ITS: KY114930; KY114931; Index Fungorum – IF 552552.

**Etimologia:** O epíteto específico (*brasiliensis*) refere-se ao país onde a espécie foi isolada pela primeira vez.

*Influência de temperatura:* em AEM, 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento (3,6 cm em diâm., após 192 h) e esporulação pobre; 20 °C - colônias baixas (1–2 mm em 168 h) e crescimento lento (4,3 cm em 168 h); boa esporulação.

Esporangióforos frequentemente apresentando ramificações simples, raramente ramificados. Clamidosporos globosos a subglobosos e células gigantes ausentes. 25 °C - colônias baixas (1–2 mm em 168 h), melhor crescimento (6 cm em 168 h) e excelente esporulação. 30 °C - bom crescimento (5,6 cm em 168 h); excelente esporulação. O crescimento de *G. brasiliensis* em BDA foi ligeiramente mais lento do que em AEM em todas as temperaturas testadas.

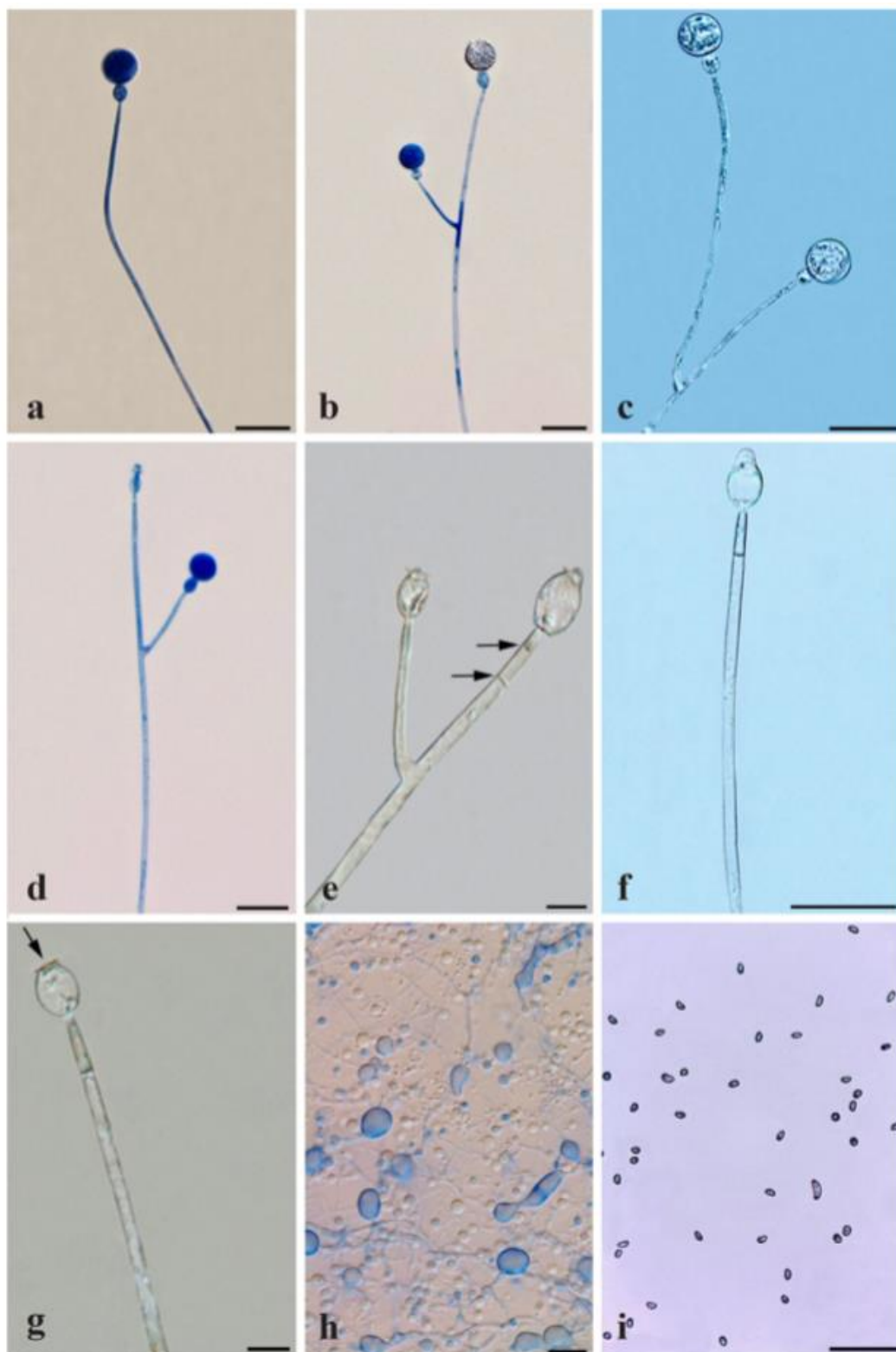
**Habitat:** Solo.

**Distribuição:** Taquaritinga do Norte, Pernambuco (Brasil).

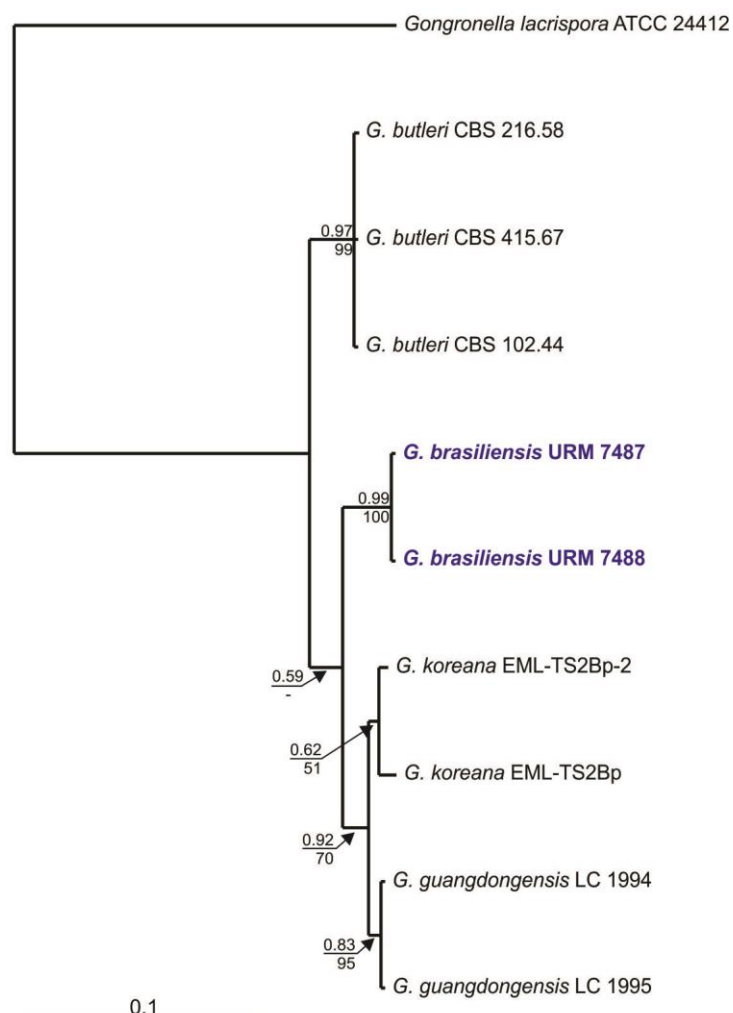
*Notas:* *Gongronella brasiliensis* produz apófises elípticas e columelas globosas, subglobosas ou cônico-cilíndricas, algumas tão pequenas que são quase imperceptíveis. Além disso, esse é o primeiro relato da produção de células gigantes por uma espécie de *Gongronella*.

De acordo com as análises filogenéticas (ITS rDNA), *G. brasiliensis* difere das outras espécies do gênero e é mais próxima de *G. butleri* (Figura 15).

**Figura 14. *Gongronella brasiliensis*.** a-c: esporangióforos com apófises e esporângios de várias formas; d: ramificação do esporangióforo com apófise, esporângio e columela; e: esporangióforo ramificado com dois septos (setas) e apófise com uma pequena columela; f: esporangióforo simples com apófise e columela; g: esporangióforo simples com apófise e columela inconspícua com colar (seta); h: células gigantes; i: esporangiosporos. Barras de escala a, b, d = 25 µm; c, e-i = 20 µm.



**Figura 15.** Árvore filogenética de *Gongronella* construída utilizando as sequências de ITS do rDNA. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). As sequências obtidas neste estudo estão em azul.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

#### 4.2.2 *Mucor souzae* C.A.F. de Souza, D.X. Lima & AL Santiago, sp. nov. (Figura 16)

COLÔNIAS brancas, tornando-se amarelas devido à presença de numerosas gotículas de óleo citoplasmáticas, aspecto sedoso e rápido crescimento (9 cm diâm e 0,5 cm de altura, em 96 h), a 25 °C, em AEM. Reverso amarelo com margens irregulares. Micélios apresentando dilatações, hifas semelhantes a rizoides, com inchaços distribuídos aleatoriamente, globosos, subglobosos e doliformes, 12,5–22 µm diâm. Odor ácido, forte e desagradável. ESPORANGIÓFOROS surgindo do micélio aéreo, simples ou repetidamente simpodialmente ramificados, com longas e curtas ramificações, eretos, alguns levemente curvados, de parede lisa, e hialinos, (3–) 5–11 (–12,5) µm diâm. Em alguns casos, a distância entre o esporângio e o próximo ramo lateral é às vezes reduzida, de modo que alguns esporângios parecem ser sésseis. Um ou dois septos podem ser formados abaixo do esporângio, principalmente nos que apresentam ramificações curtas. ESPORÂNGIOS inicialmente amarelos tornando-se amarelos à castanhos claros, globosos, subglobosos, 30–50 µm diâm., de parede lisa a levemente equinulada, alguns deixando um pequeno colar. COLUMELAS hialinas a cinzas claras, parede lisa, globosas, subglobosas, 15–35 µm diâm ou aplanadas, 12–25 µm × 15–25 µm, algumas vezes com colar evidente. ESPORANGIOSPOROS variáveis em tamanho e forma, hialinos, de parede lisa, principalmente elipsoides, (6–) 7,5–20 × 4,5–7 (–10) µm, elipsoides para fusóides, 2,5–7,5 × 1,5–2,5 µm, reniformes, 6–15 × 3,5–7,5 µm, alguns com formas irregulares, 7,5–22 × 5–10 µm. Oídios frequentemente observados. ZIGOSPOROS não observados.

**Material examinado:** Brasil. Pernambuco: Brejo do Sítio Carro Quebrado, Triunfo (7°52'19,42"S 38°06'07"W), em amostras de solo. (6 nov 2015) C.A.F. de Souza. URM 91186 (holótipo), cultura ex-tipo URM 7553.

GenBank – ITS: KY992878; LSU: KY992879; MycoBank – MB824580; Index Fungorum – IF 824580.

**Etimologia:** O epíteto específico (*souzae*) homenageia o Dr. José Ivanildo de Souza, por suas importantes contribuições para o conhecimento dos fungos mucoraceos no Brasil.

*Influência de temperatura:* em AEM, 10 °C – ausência de crescimento e esporulação; 12 °C – crescimento limitado (3,1 cm diâm., após 96 h), esporulação pobre; 15 °C – crescimento lento (4,5 cm em diâm., após 120 h), pobre esporulação; 20 °C – bom crescimento (7,5 cm diâm. em 96 h), excelente esporulação. Esporangióforos principalmente com ramificações simples; 25 °C – melhor crescimento (9 cm diâm. em 72 h), excelente esporulação; 30 °C – bom crescimento (7 cm diâm. em 72 h), boa esporulação; 35 °C – crescimento limitado (0,8 cm diâm. após 96 h), pobre esporulação. 40 °C – ausência de crescimento e esporulação. O crescimento de *M. souzae* em BDA foi levemente mais lento do que em AEM em todas as temperaturas testadas.

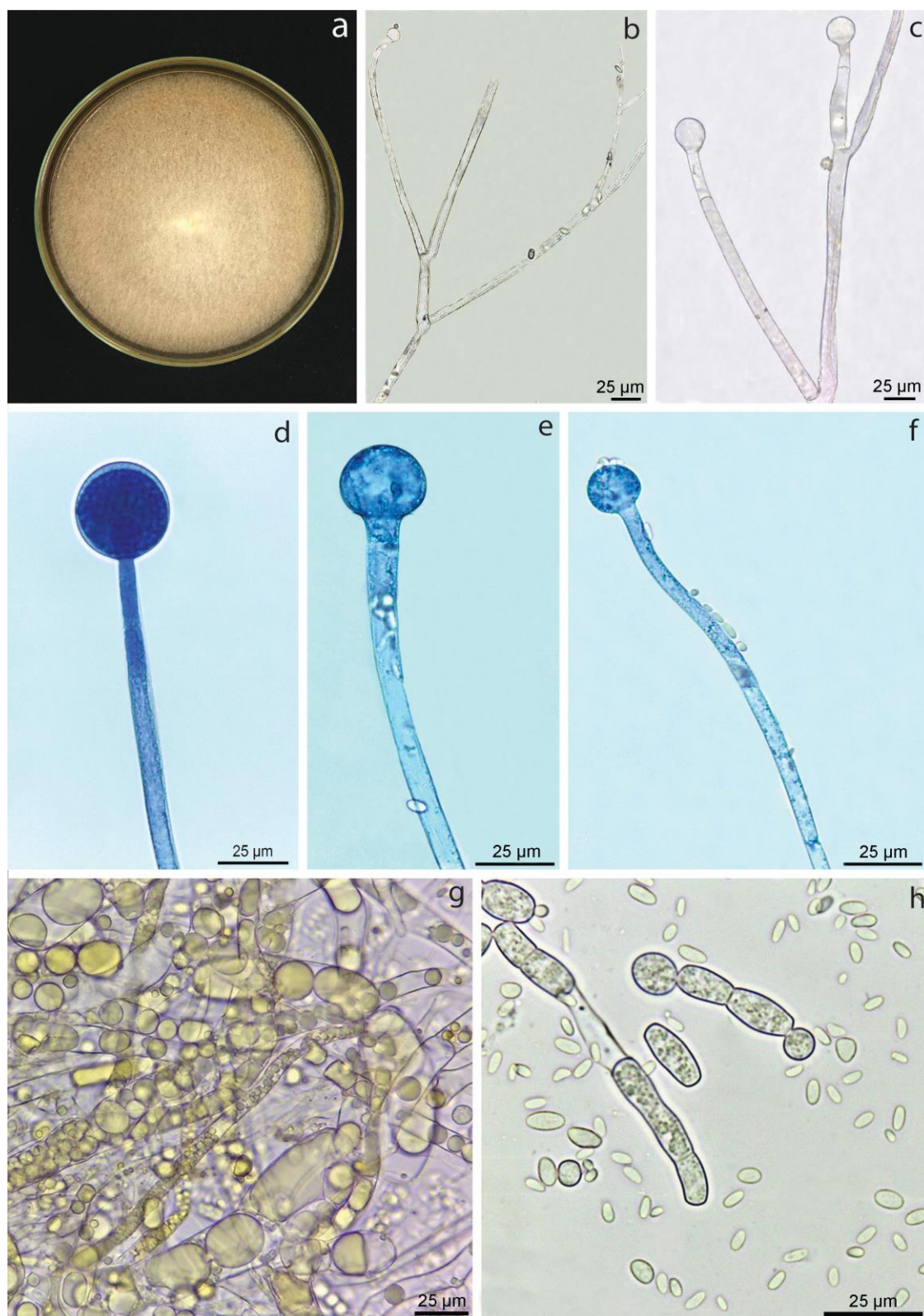
**Habitat:** Solo.

**Distribuição:** Triunfo, Pernambuco (Brasil).

*Notas:* *Mucor souzae* produz esporangióforos surgindo do micélio aéreo, simples ou repetidamente simpodialmente ramificados, com ramificações longas ou curtas e esporangiosporos que são variáveis em forma e tamanho. Um ou dois septos podem ser formados abaixo do esporângio.

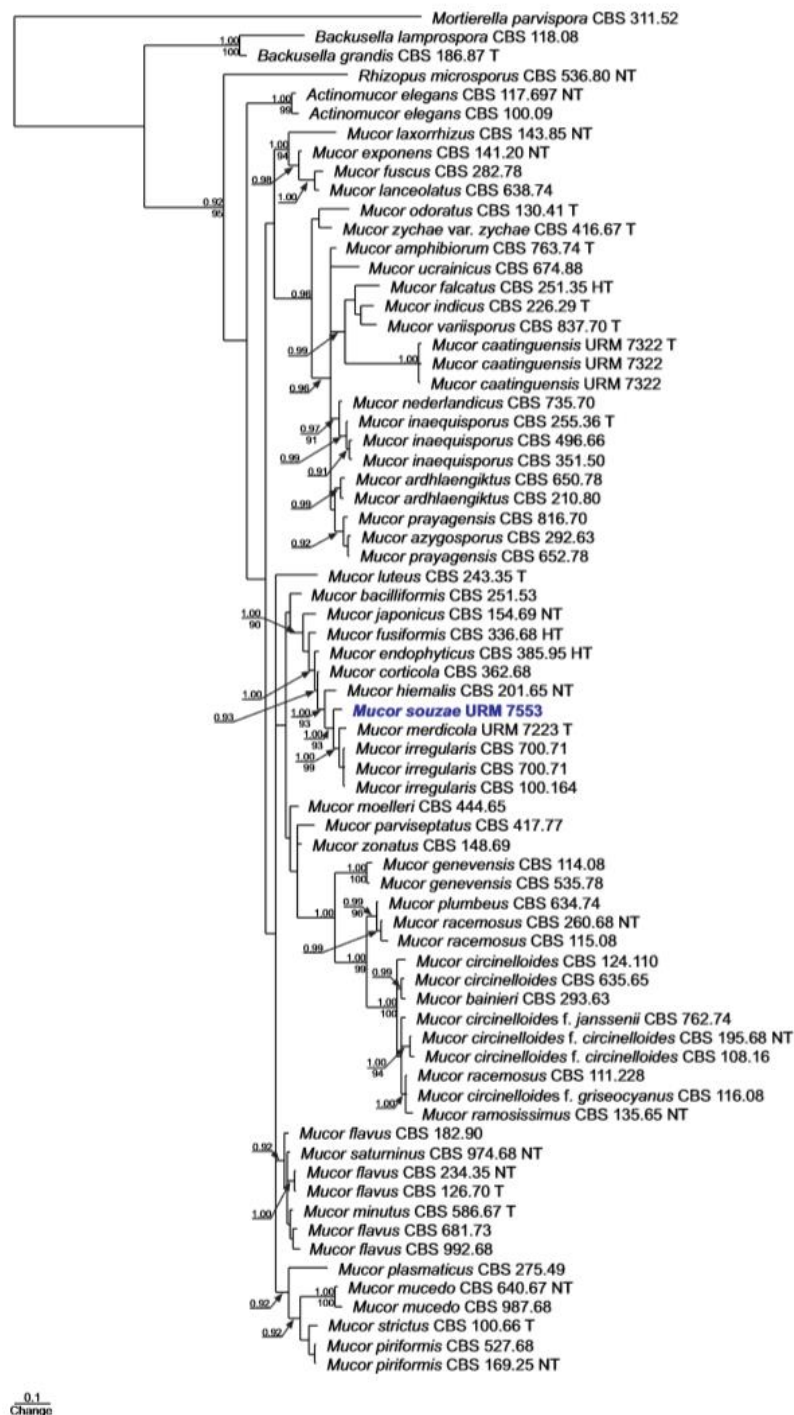
Com base nas relações filogenéticas inferidas a partir das regiões LSU e ITS rDNA, *M. souzae* difere das outras espécies do gênero (Figuras 17 e 18). Na árvore da região ITS, *M. souzae* formou um clado separado entre *M. nidicola* e *M. irregularis*.

**Figura 16. *Mucor souzae*.** **a:** verso da colônia após cinco dias a 25 °C em AEM; **b:** esporangióforos simpodialmente ramificados com columela; **c:** esporangióforos ramificados com columelas; **d:** esporangióforo simples com esporângio; **e:** esporangióforo simples com columela; **f:** esporangióforo simples com columela; **g:** gotículas de óleo citoplasmáticos no micélio; **h:** esporangiosporos e oídios.



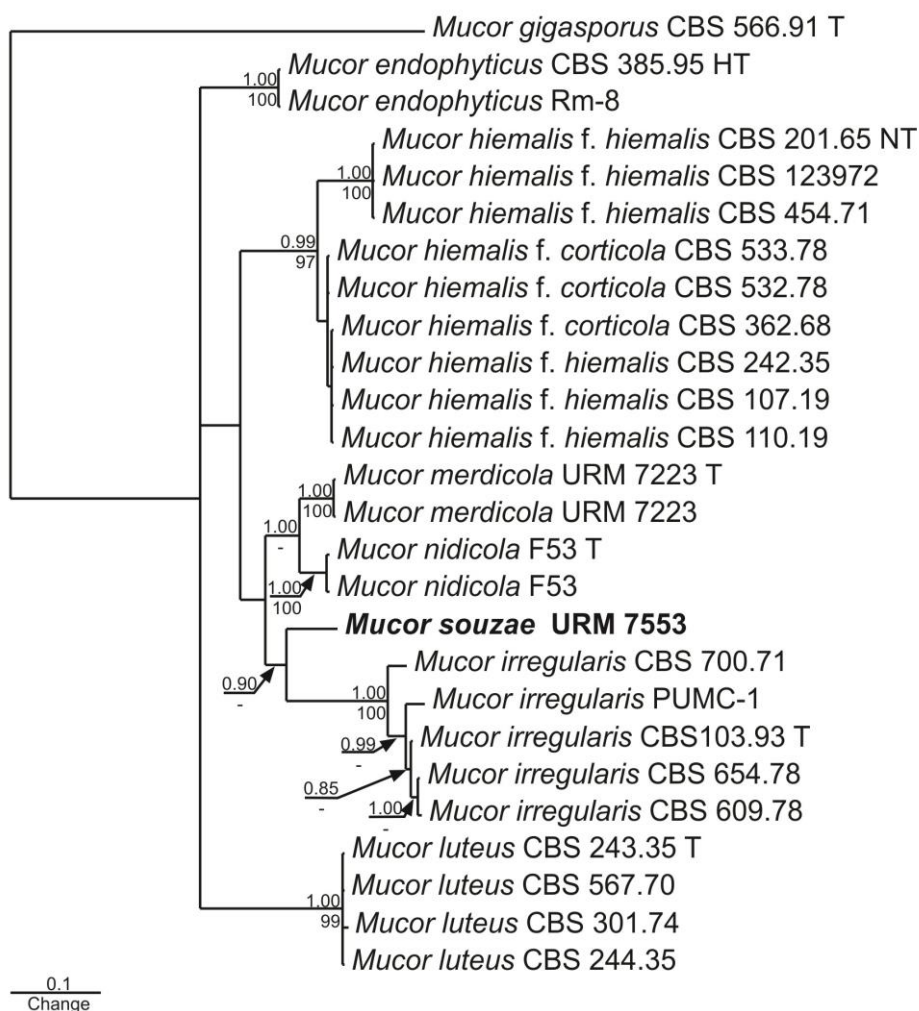
**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Figura 17.** Árvore filogenética de Mucoraceae construída utilizando as sequências de LSU do rDNA. *Mortierella parvispora*, *Backusella lamprospora*, *B. grandis*, *Rhizopus microsporus* e *Actinomucor elegans* foram utilizados como grupo externo. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste estudo está em azul.



Fonte: de Souza, C.A.F.

**Figura 18.** Árvore filogenética de *Mucor* construída utilizando as sequências de ITS do rDNA do grupo *M. hiemalis*. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste estudo está em negrito.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

#### 4.2.3 *Mucor septatum* C.A.F. de Souza, T.R. Cordeiro & A.L. Santiago, sp. nov. (Figura 19)

COLÔNIAS baixas, até 4 mm em altura e 9 cm diâm. em 96 h, inicialmente brancas, tornando-se cinzas escuras, com pontos escuros, em BDA, a 25 °C. Reverso creme, levemente zonado. Micélio estéril abundante. ESPORANGIÓFOROS cinzas a castanhos, em maioria curtos, exibindo um ou vários septos, com paredes levemente rugosas em alguns pontos, alguns apresentando uma leve constrição abaixo do esporângio, 7–20 µm em diâm., eretos ou bentos, simples, monopodialmente ou simpodialmente ramificados, a maioria intensamente ramificados com inchaços ocasionais. Ramificações curtas e longas comumente surgindo do mesmo ponto ou de pontos diferentes no esporangióforo. Ramificações bifurcadas podem ocorrer. ESPORÂNGIOS inicialmente amarelos, tornando-se marrons a cinzas, podendo ser visualizados alguns espinhos cristalinos, 15–45 µm diâm. A parede dos esporângios maiores é evanescente, enquanto os menores apresentam parede persistente, deixando um colar. COLUMELAS cinzas, principalmente aplanadas, algumas subglobosas, parede lisa, (5–) 12,5–30 (–45) × (–4) 12–30 µm. ESPORANGIOSPOROS cinzas esverdeados, parede levemente rugosa, globosos, subglobosos, 4,5–10 (–15) µm diâm., elípticos, 7,5–15,5 × 6–10 µm e irregulares, 10–27,5 × 10–15 µm. ZIGOSPOROS não observados.

**Material examinado:** Brasil. Pernambuco: Brejo da Serra do Bituri, Brejo da Madre de Deus (8°12'41,5"S 36°23'73"W), em amostras de solo. (5 ago 2015) C.A.F. de Souza. URM 904998 (holótipo). Cultura ex-tipo URM 7364.

GenBank – ITS: KY849814, KY849815; LSU: KY849816, KY849817, KY849818; Index Fungorum – IF553964.

**Etimologia:** O epíteto específico (*septatum*) refere-se aos septos frequentemente formados nos esporangióforos.

*Influência de temperatura:* em AEM, 10 °C – crescimento limitado (3,2 cm em diâm. após 168 h), ausência de estruturas reprodutivas; 15 °C – colônias baixas (<1mm em altura) com crescimento lento (6 cm em diâm. após 168 h), boa esporulação; 20 °C – colônias até 3

mm em altura com bom crescimento (9 cm diâm. em 96 h) e boa esporulação; 25 °C – melhor crescimento (9 cm em 96 h), excelente esporulação; 30 °C – bom crescimento (8 cm em 96 h), excelente esporulação; 35 °C – ausência de crescimento e esporulação. *Mucor septatum* exibiu melhores taxas de crescimento e esporulação em BDA do que em AEM, em todas as temperaturas testadas. A 15 °C, em BDA, a cepa apresentou boa produção de estruturas reprodutivas, os esporangióforos se mostraram simples ou levemente simpodialmente ramificados, enquanto, em AEM, a produção de estruturas reprodutivas foi muito pobre, com esporangióforos apresentando ramificações simples. As columelas foram, principalmente, globosas (até 24 µm diâm.) a 15 °C, em BDA e AEM.

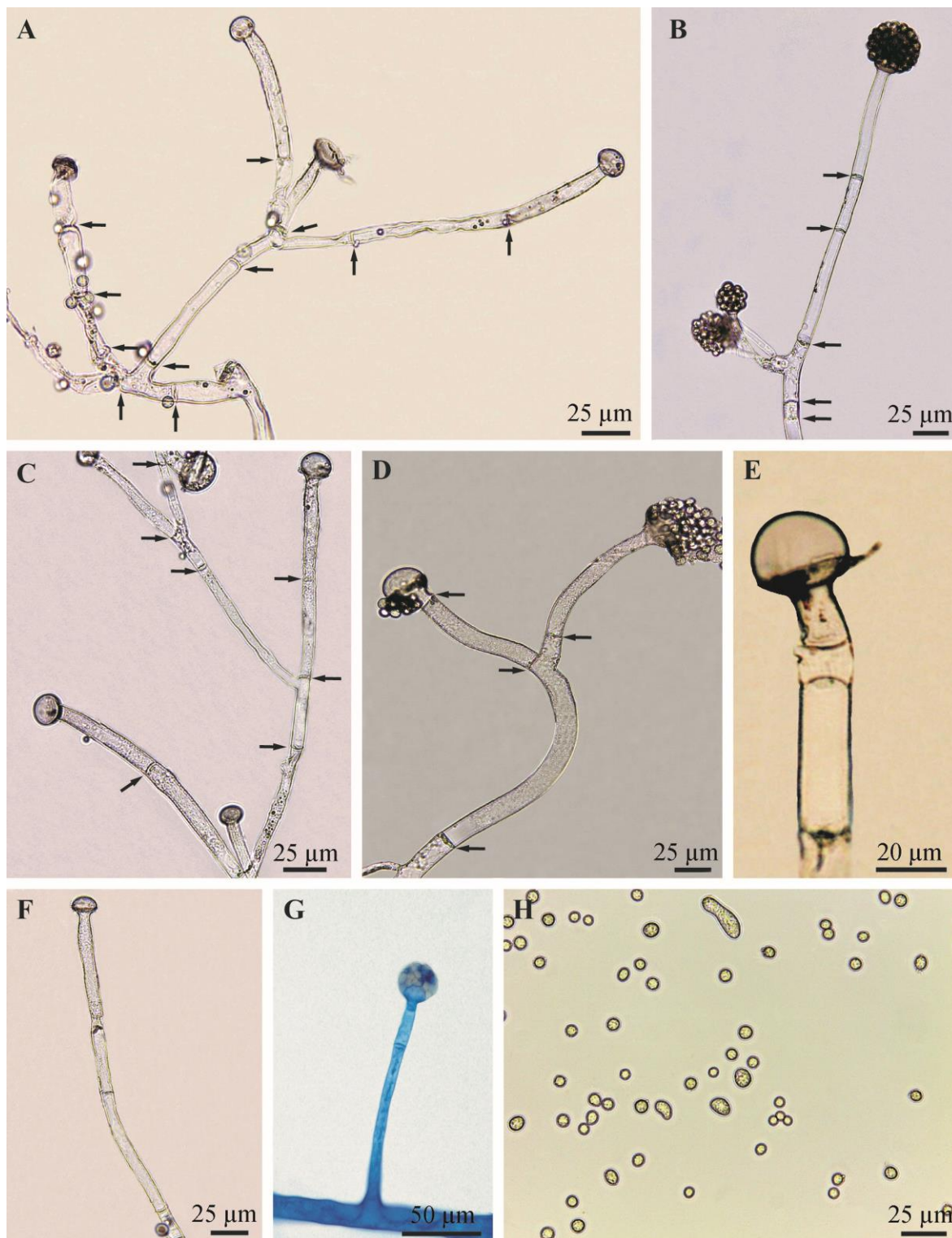
**Habitat:** Solo.

**Distribuição:** Brejo da Madre de Deus, Pernambuco (Brasil).

*Notas:* A presença concomitante de esporangióforos bentos, circinados, simples ou ramificados, em maioria, intensamente ramificados, com inchaços ocasionais e parede levemente rugosa, em alguns pontos, além de um a vários septos ao longo dos esporangióforos, são características incomuns às espécies do gênero, o que suporta morfologicamente o status de nova espécie para *M. septatum*.

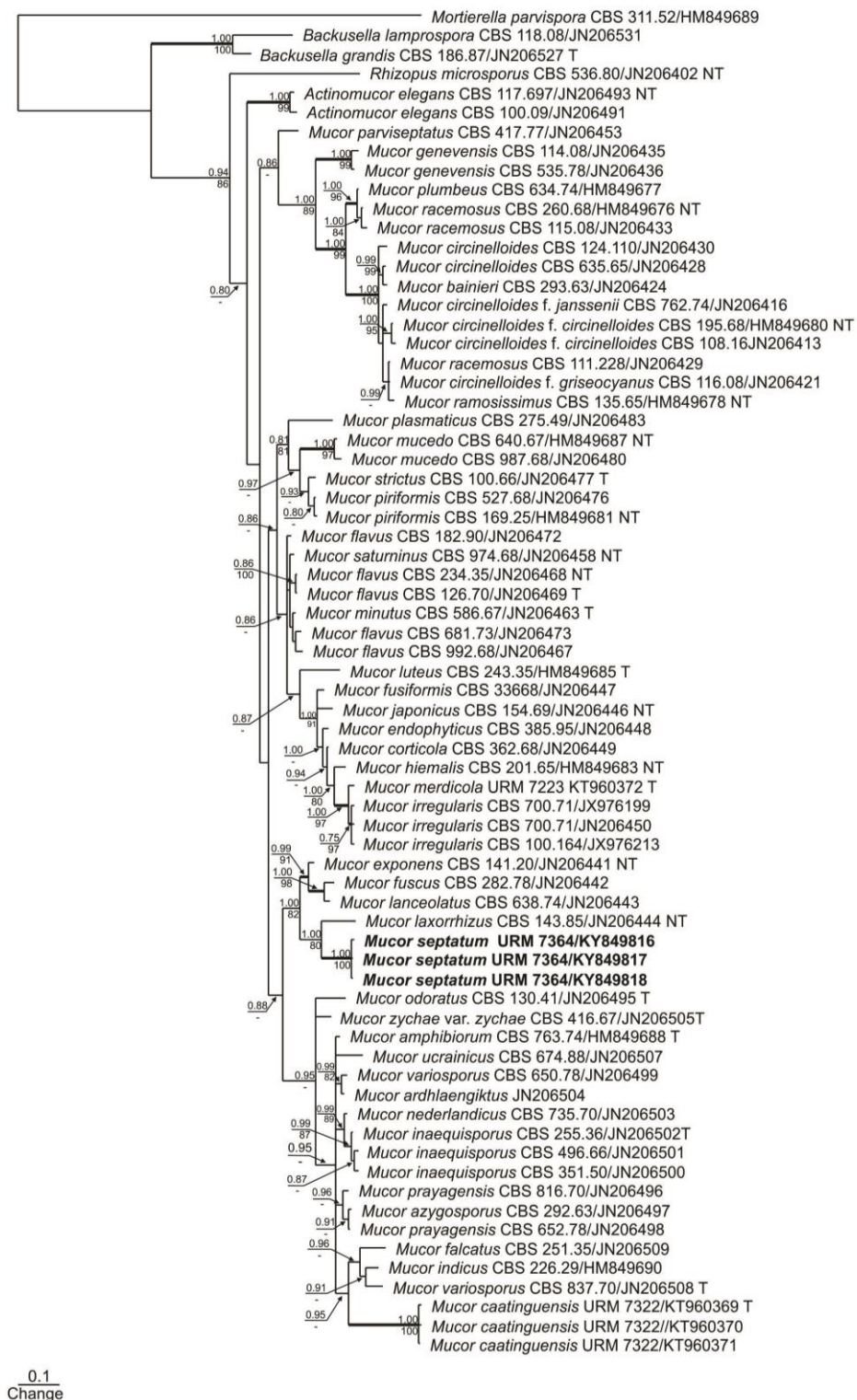
De acordo com as análises filogenéticas (ITS e LSU), *M. septatum* exhibe dados genéticos bem fundamentados que a diferenciam das outras espécies do gênero, delimitando-a como uma nova espécie. Ambas as sequências de ITS e LSU do rDNA de *M. septatum* mostraram que essa espécie é filogeneticamente mais próxima de *M. laxorrhizus* (Figuras 20 e 21).

**Figura 19. *Mucor septatum*.** a - d: esporangióforos multiseptados (setas); e - f: esporangióforos simples, multiseptados, com columela; g: esporangióforos simples com esporângio; h: esporangiosporos.



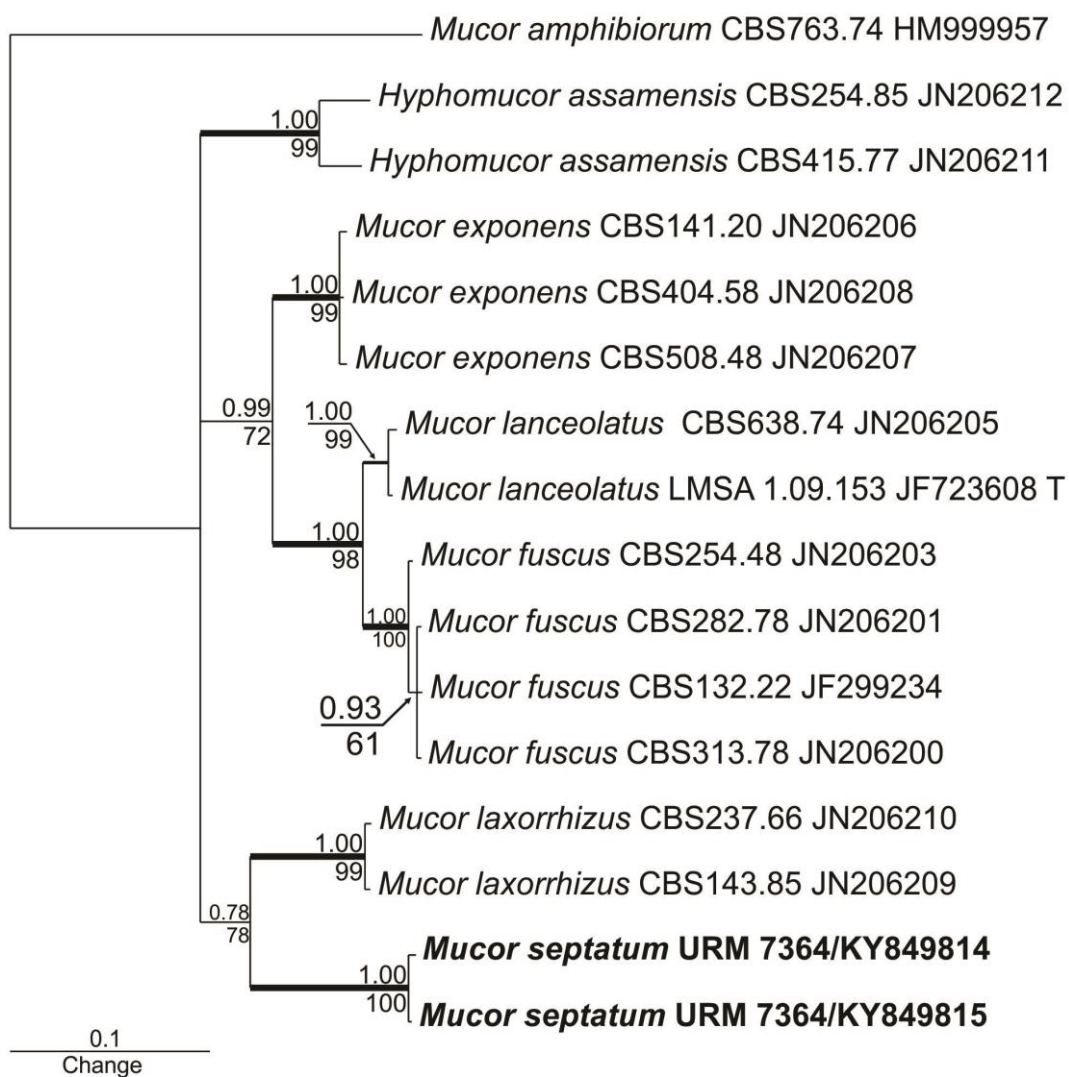
**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Figura 20.** Árvore filogenética de Mucoraceae construída utilizando as sequências de LSU do rDNA. *Mortierella parvispora*, *Backusella lamprospora*, *B. grandis*, *Rhizopus microsporus* e *Actinomucor elegans* foram utilizados como grupo externo. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso no GenBank. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e das análises de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste estudo está em negrito.



Fonte: de Souza, C.A.F.

**Figura 21.** Árvore filogenética de Mucoraceae construída utilizando as sequências de LSU do rDNA. *Mucor amphibiorum* foi utilizado como grupo externo. As sequências estão rotuladas com os respectivos números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são da inferência bayesiana e das análises de máxima verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente). A sequência obtida neste estudo está em negrito.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

#### 4.2.4 *Backusella* sp. 1. nov.

**Material examinado:** Brasil. Pernambuco: Serra do Bituri, Brejo da Madre de Deus (8°12'41,5"S 36°23'73"W), em amostras de solo. (10 Jul 2016) C.A.F. de Souza. URM 7646 (holótipo) URM 7647, URM 7648, URM 7649 (ex-tipo).

*Influência de temperatura:* 10 °C – ausência de crescimento; 15 °C – crescimento lento e esporulação pobre (9 cm em 288 h); 20 °C – crescimento e esporulação melhores do que a 15 °C (9 cm em 168 h); 25, 30 °C – Bons crescimento e esporulação (9 cm em 96 h); 35 °C – ausência de crescimento.

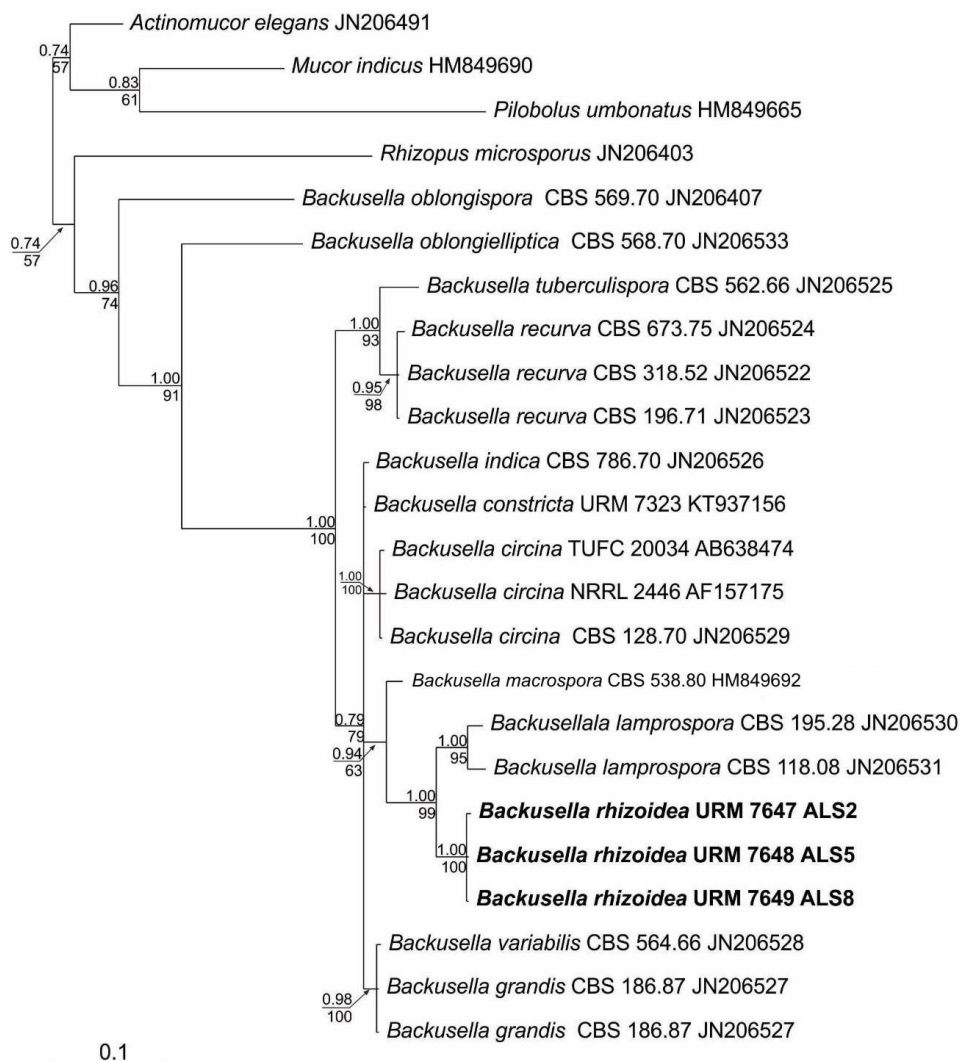
**Habitat:** Solo.

**Distribuição:** Brejo da Madre de Deus e Taquaritinga do Norte, Pernambuco (Brasil).

*Notas:* *Backusella* sp. 1 diferencia-se das outras espécies de *Backusella* por produzir rizóides bem ramificados, algumas vezes enovelados, esporangiosporos globosos, subglobosos e células gigantes.

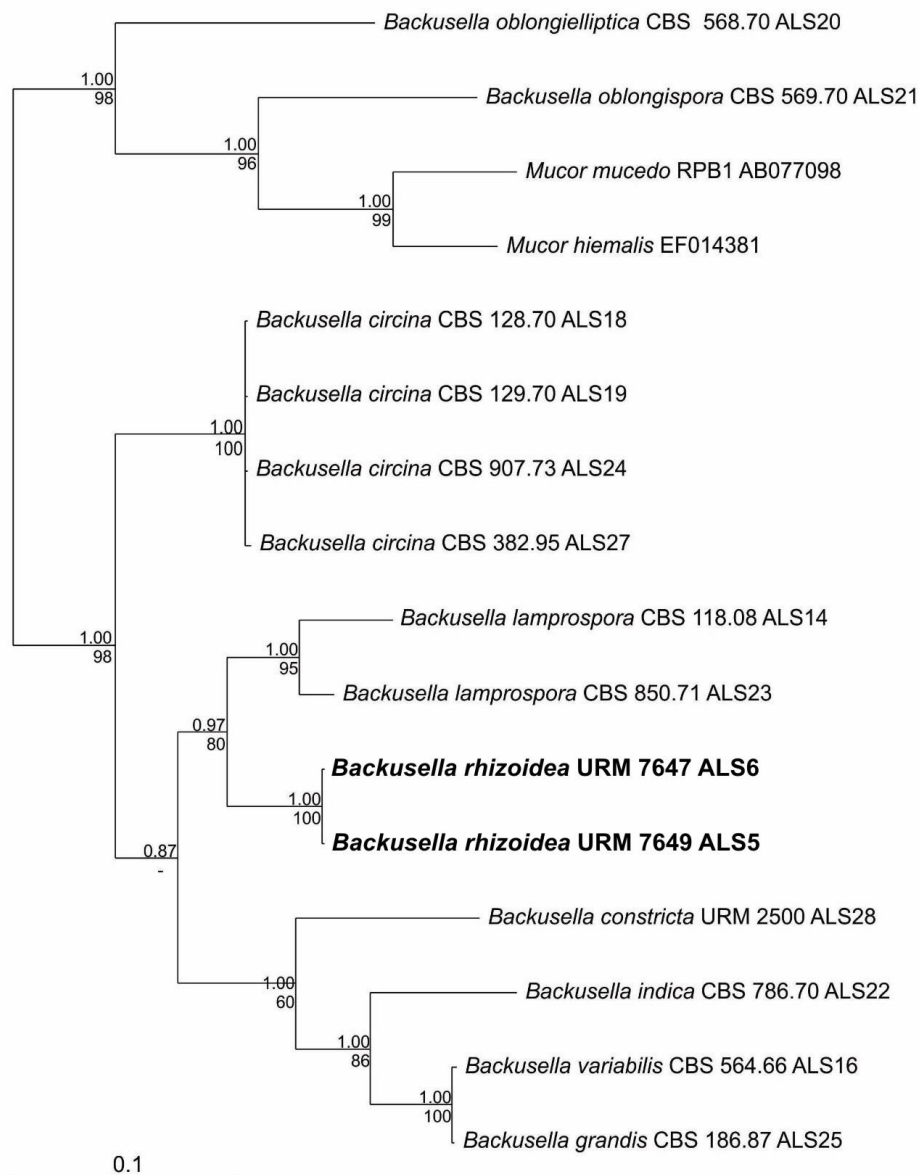
Filogeneticamente, *Backusella* sp. 1 é mais próxima de *B. lamprospora*, com base nas árvores obtidas com sequências das regiões LSU do rDNA e do gene RPB1 (Figura 22 e 23). Morfologicamente, ambas as espécies são caracterizadas pela presença de esporângios uniesporados e multiesporados, sendo estes últimos mais frequentes e pela produção de esporangiosporos globosos e subglobosos. No entanto, diferenciam-se os rizóides enovelados e células gigantes, ausentes em *B. lamprospora* (Benny & Benjamin, 1975).

**Figura 22.** Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências de LSU do rDNA. *Actinomucor elegans*, *Mucor indicus*, *Pilobolus umbonatus* e *Rhizopus microsporus* foram utilizados como grupo externo. Os valores de suporte são da inferência Bayesiana e análise de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente).



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

**Figura 23.** Árvore filogenética de Backusellaceae construída usando as sequências do gene codificador de proteína RPB1. *Mucor mucedo* e *M. hiemalis* foram usados como grupo externo. As sequências são rotuladas com seus números de acesso ao GenBank. Os valores de suporte são de inferência Bayesiana e análise de Máxima Verossimilhança (valores acima e abaixo dos ramos, respectivamente).



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

#### 4.2.5 *Absidia* sp. 1. nov.

**Material examinado:** Brasil. Pernambuco: brejo de Taquaritinga do Norte, Taquaritinga do Norte (7°52'28"S 35°59'25"W), em amostras de solo. (10 Jul 2016) C.A.F. de Souza. URM 7219 (holótipo).

*Influência de temperatura:* Em AEM. A 15 °C – crescimento lento (4,7 cm em 192 h) e boa esporulação. A 20 °C – melhor crescimento do que a 15 °C (79 cm em 96 h) e boa esporulação. A 25 °C – bom crescimento (9 cm em 96 h) e excelente esporulação. A 30 °C – crescimento mais lento que a 25 °C (9 cm em 120 h) e boa esporulação. A 35 °C – ausência de crescimento e esporulação. Em 25 e 30 °C, o crescimento de *Absidia* sp. 1 nov. em BDA foi um pouco mais lento do que em AEM, com baixa esporulação em ambas as temperaturas. A influência da luz não foi detectada.

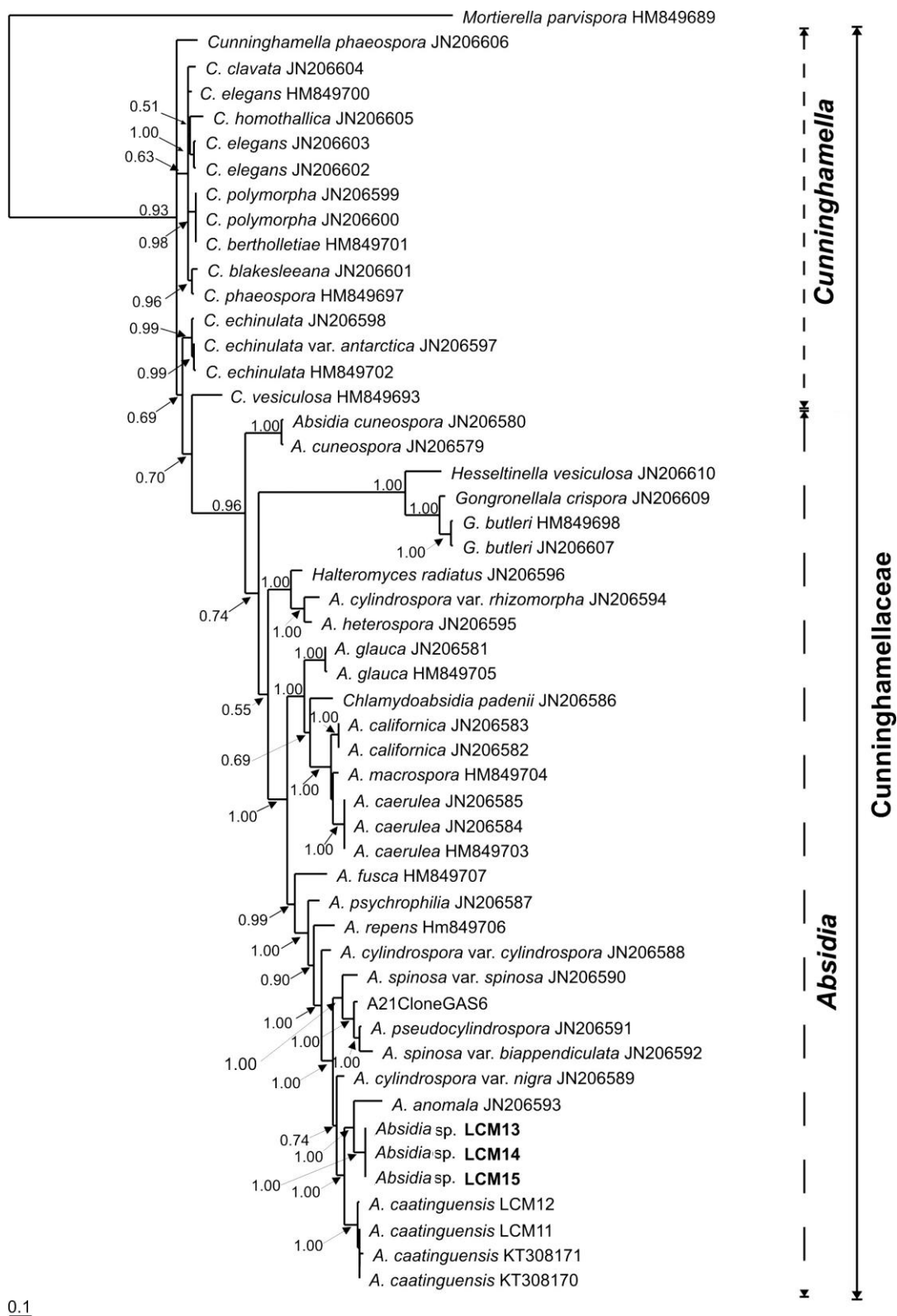
**Habitat:** Solo.

**Distribuição:** Brejo da Madre de Deus, Pernambuco (Brasil).

*Notas:* *Absidia* sp.1 difere das outras espécies do gênero por apresentar frequentemente columelas com duas projeções apicais e também por produzir esporangiosporos cilíndricos e cuneiformes.

A árvore construída com base na região LSU do rDNA demonstrou que as espécies de *Absidia* estão dentro da família Cunninghamellaceae, composta por espécies mesofílicas (Figura 24). Nossas análises filogenéticas mostraram que *Absidia* sp. difere geneticamente das outras dentro de *Absidia*, sendo, portanto, nova.

**Figura 24.** Árvore filogenética da família Cunninghamellaceae gerada a partir de sequências da região LSU do rDNA. Valores de suporte são de análise Bayesiana. Os isolados utilizados estão em negrito. *Mortierella parvispora* foi utilizada como grupo externo.

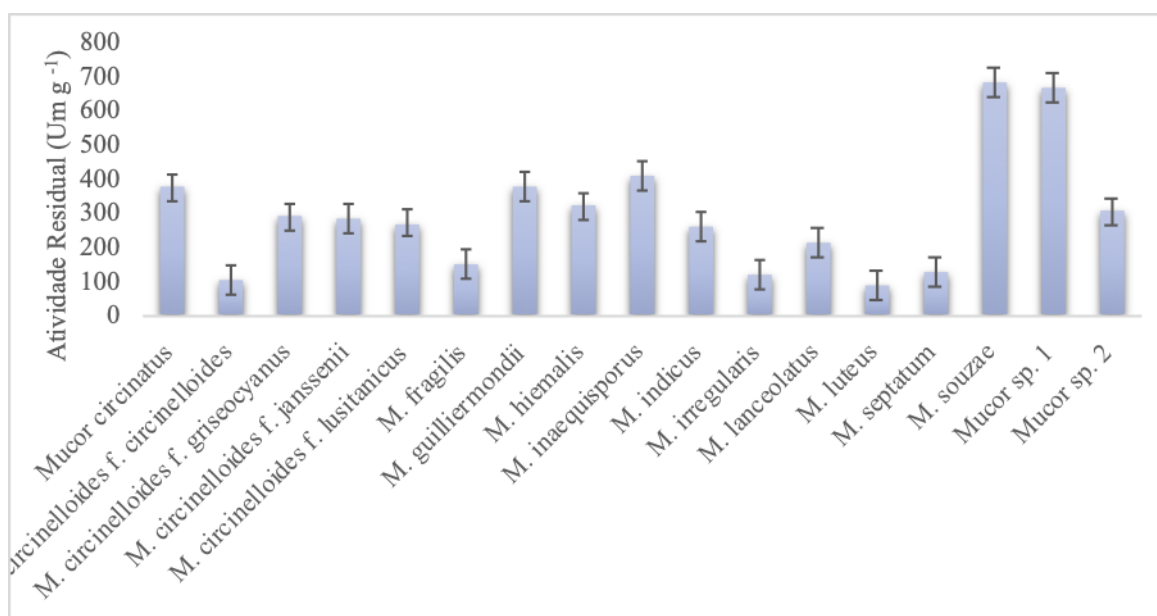


Fonte: D.X. Lima (2018)

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE *MUCOR* QUANTO À CAPACIDADE DE PRODUZIR PROTEASES COAGULANTES DO LEITE

*Mucor* abrange espécies descritas como potenciais produtoras de enzimas coagulantes do leite. Dezesete espécimes de *Mucor* foram testados nesse estudo quanto à capacidade de produzir proteases e todos exibiram atividade proteolítica. As atividades coagulantes dos extratos enzimáticos brutos de *Mucor* sp. e *M. souzae* foram as mais elevadas e com os maiores valores residuais de atividade coagulante do leite (666,66 U.mg<sup>-1</sup>) e (685,71 U.mg<sup>-1</sup>), respectivamente (Figura 25).

**Figura 25.** Atividade específica quanto à produção de proteases coagulantes do leite por espécimes de *Mucor*.



Fonte: de Souza, C.A.F.

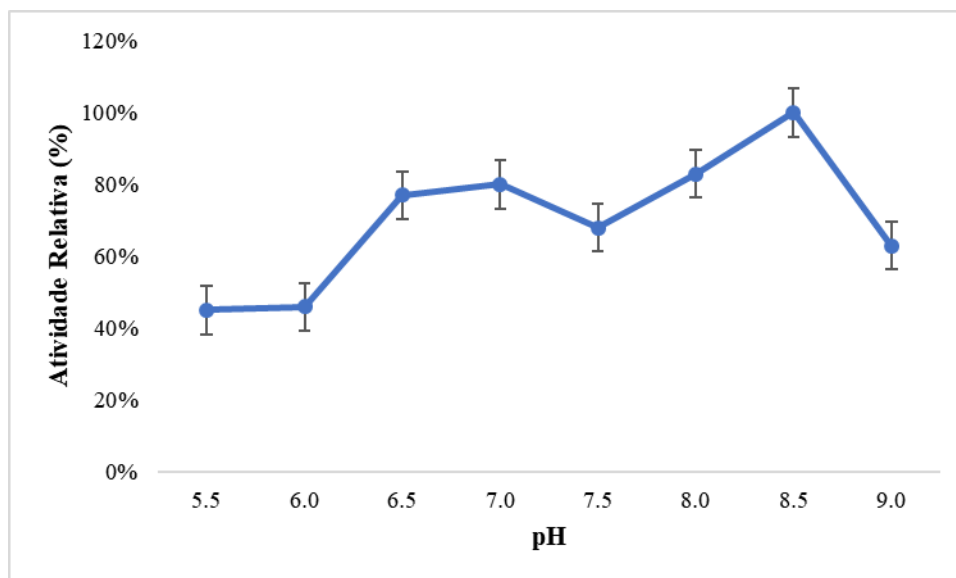
#### 4.3.1 Efeitos do pH e de temperatura nas atividades proteolítica e coagulante do leite e na estabilidade enzimática

##### 4.3.1.1 pH e temperaturas ótimos para as atividades proteolítica e coagulante do leite

No ensaio realizado com extrato de *Mucor* sp.1, nota-se um aumento mais expressivo na atividade proteolítica a partir do pH 6,0, até atingir máxima taxa de reação em pH 8,5 e diminuição em pH 9,0 (Figura 26). Em *M. souzae*, a atividade enzimática foi

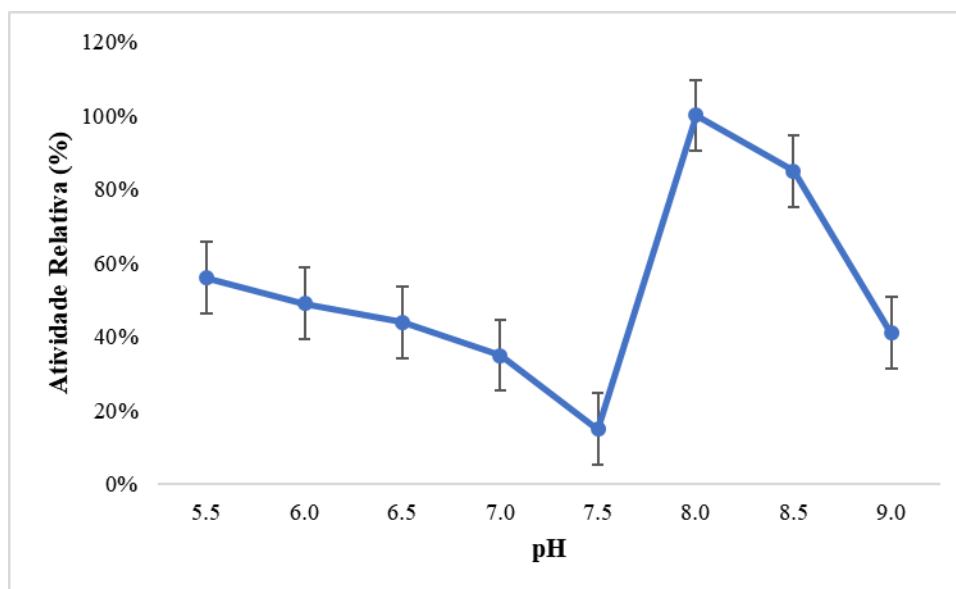
ótima no ensaio em pH 8,0, com diminuição da taxa de reação até pH 9,0 (figura 27).

**Figura 26.** Efeito do pH na atividade proteolítica de *Mucor* sp.1.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Figura 27.** Efeito do pH na atividade proteolítica de *M. souzae*.

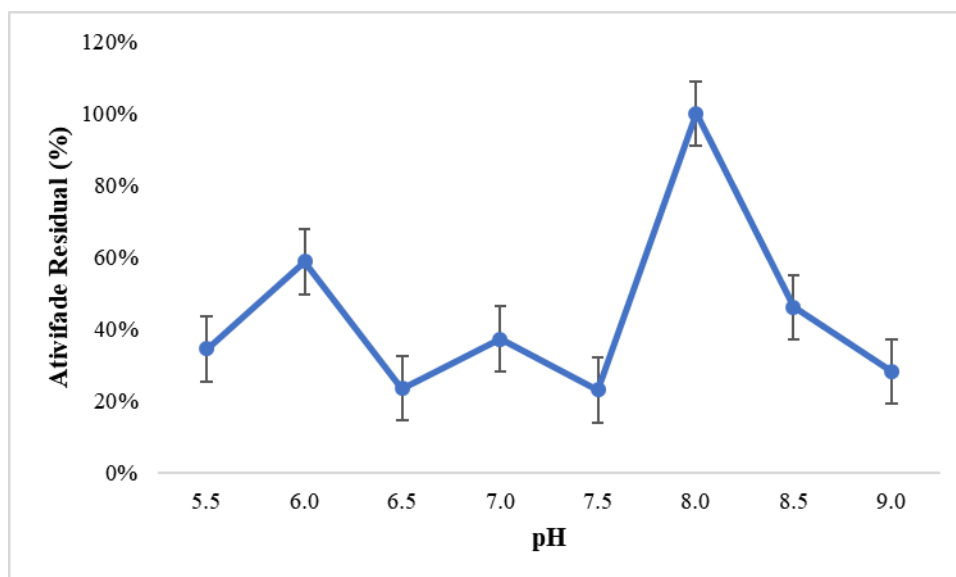


**Fonte:** de Souza, C.A.F.

O pH ótimo da atividade coagulante do leite foi 8,0, em tampão acetato, seguido da diminuição da atividade até pH 9,0, nos ensaios com extra bruto enzimático de *Mucor* sp.1

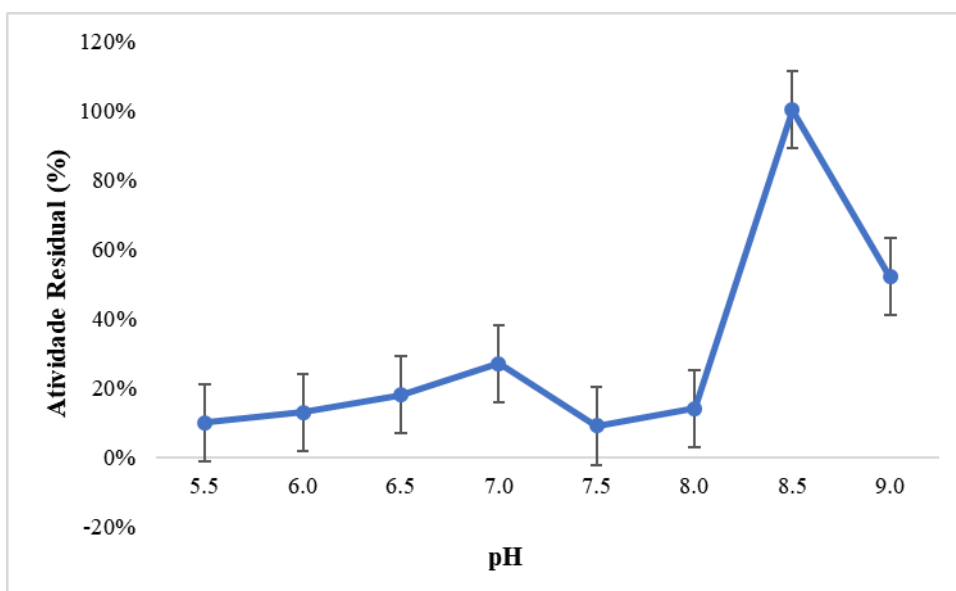
(Figura 28). *Mucor souzae* apresentou máxima atividade em pH 8,5, seguida de declínio na curva de atividade em pH 9,0, em tampão acetato (Figura 29).

**Figura 28.** Efeito de pH na atividade coagulante do leite de *Mucor* sp.1.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Figura 29.** Efeito de pH na atividade coagulante do leite de *M. souzae*.

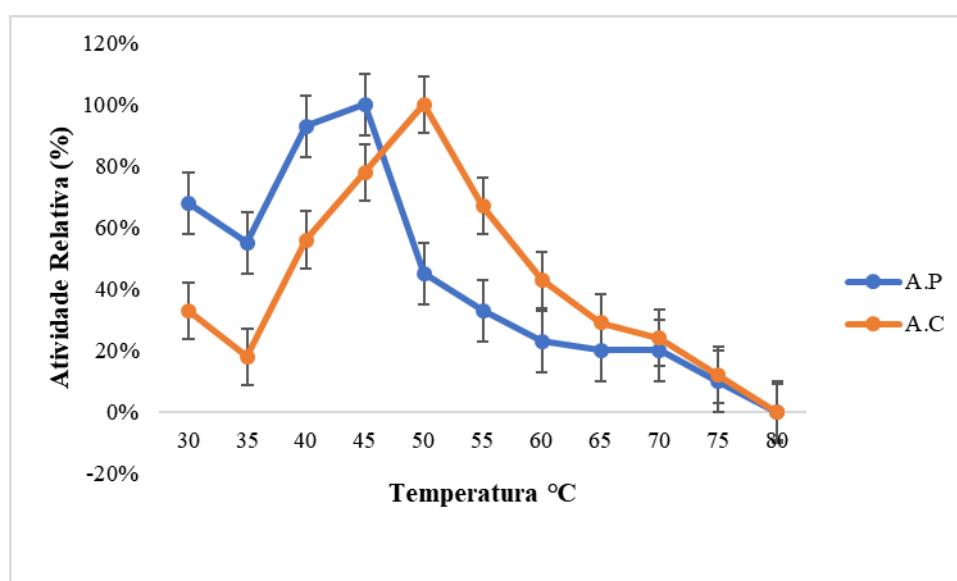


**Fonte:** de Souza, C.A.F.

O extrato enzimático de *Mucor* sp.1 exibiu máximas atividades coagulantes a 50 °C e proteolítica a 45 °C (Figura 30). As menores atividades foram observadas a 75 °C em

ambos os ensaios, apresentando 10% de atividade coagulante e 12% de taxa de reação da atividade proteolítica. Nos ensaios realizados com o extrato de *M. souzae*, a temperatura ótima da atividade coagulante do leite foi 35 °C, seguido da diminuição da atividade até 45 °C, com taxa residual de 51%. Consequente, observou-se aumento para 82% a 50 °C, seguido de uma variação de 40 a 50% na atividade da enzima até 75 °C (Figura 31). Quanto à atividade proteolítica, a máxima taxa de reação foi observada a 45 °C, seguida de diminuição até 75 °C, com 11% de atividade.

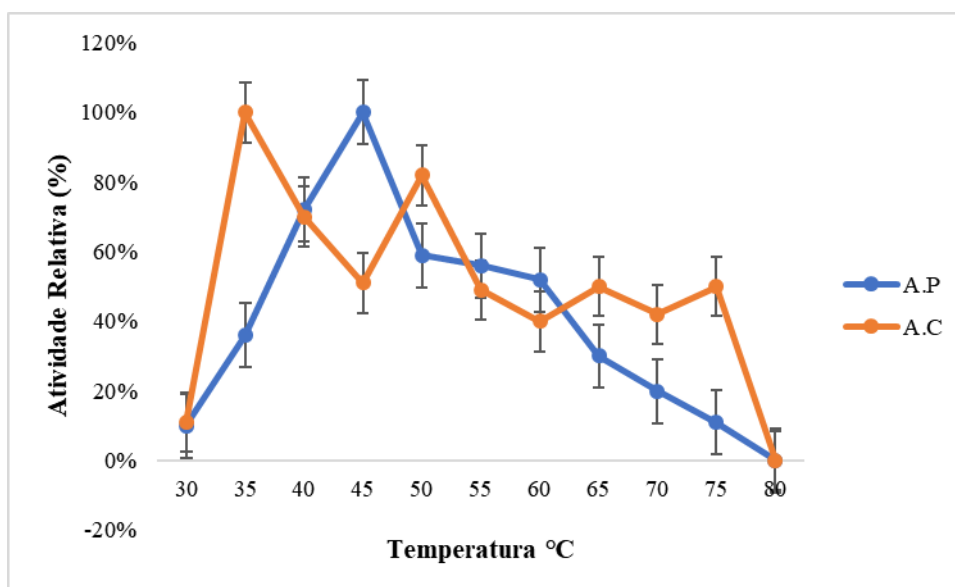
**Figura 30.** Efeito da variação da temperatura na atividade coagulante do leite e proteolítica de *Mucor* sp.1.



A.P = Atividade proteolítica; A.C = Atividade coagulante

**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Figura 31.** Efeito da temperatura na atividade coagulante do leite e proteolítica de *M. souzae*.



A.P = Atividade proteolítica; A.C = Atividade coagulante

**Fonte:** de Souza, C.A.F.

A tabela 9 mostra a razão entre as atividades de coagulação do leite e proteolítica das duas cepas testadas. *Mucor* sp.1 apresentou uma razão entre as atividades coagulante/proteolítica de 7405, enquanto, para *M. souzae*, a razão entre as atividades foi 4172.

**Tabela 10.** Razão de atividade coagulante do leite/atividade proteolítica de proteases de *Mucor* sp.1, *M. souzae* e outros coagulantes.

| Enzima                    | AC <sup>a</sup><br>(U mg <sup>-1</sup> ) | AP <sup>b</sup><br>(U mg <sup>-1</sup> ) | Razão<br>AC/D.O. <sup>c</sup> AP |
|---------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------|
| Quimosina                 | 269                                      | 0,08                                     | 3363                             |
| Renina de <i>Mucor</i>    | 438                                      | 0,16                                     | 2738                             |
| Papaína                   | 208                                      | 0,51                                     | 408                              |
| Protease de Gengibre      | 314                                      | 0,19                                     | 1653                             |
| Protease de Quixaba       | 917                                      | 0,16                                     | 5731                             |
| <i>Mucor</i> sp.1URM 7869 | 1333                                     | 0,18                                     | 7405                             |
| <i>M. souzae</i> URM 7553 | 1043                                     | 0,25                                     | 4172                             |

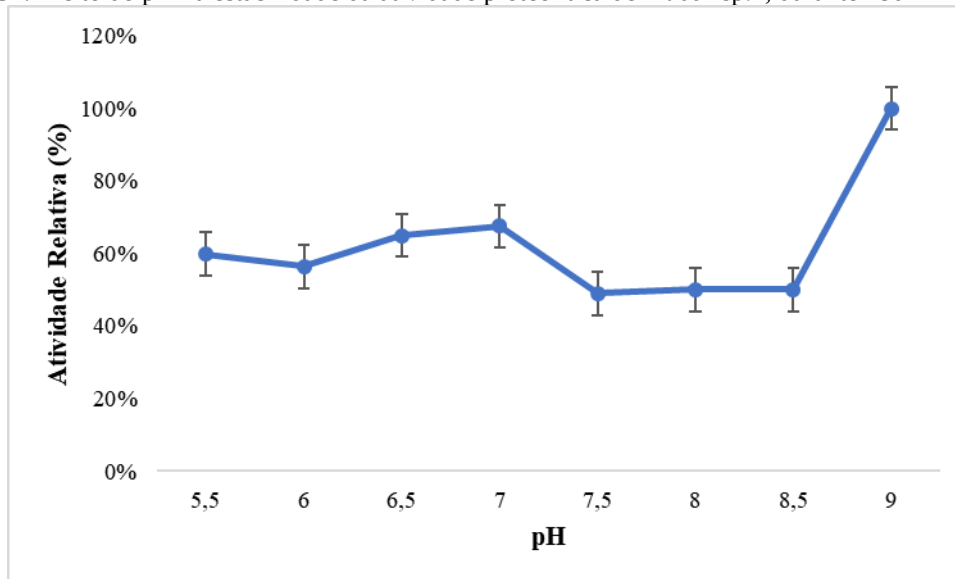
AC<sup>a</sup> = Atividade coagulante; AP<sup>b</sup> = Atividade proteolítica; D.O.<sup>c</sup> = Densidade ótica a 440 nm.

#### 4.3.1.2 Estabilidade ao pH e à temperatura

Os extratos enzimáticos apresentaram estabilidade frente aos diversos valores de pH, durante 180 minutos de reação, em ambos os isolados. As melhores atividades foram

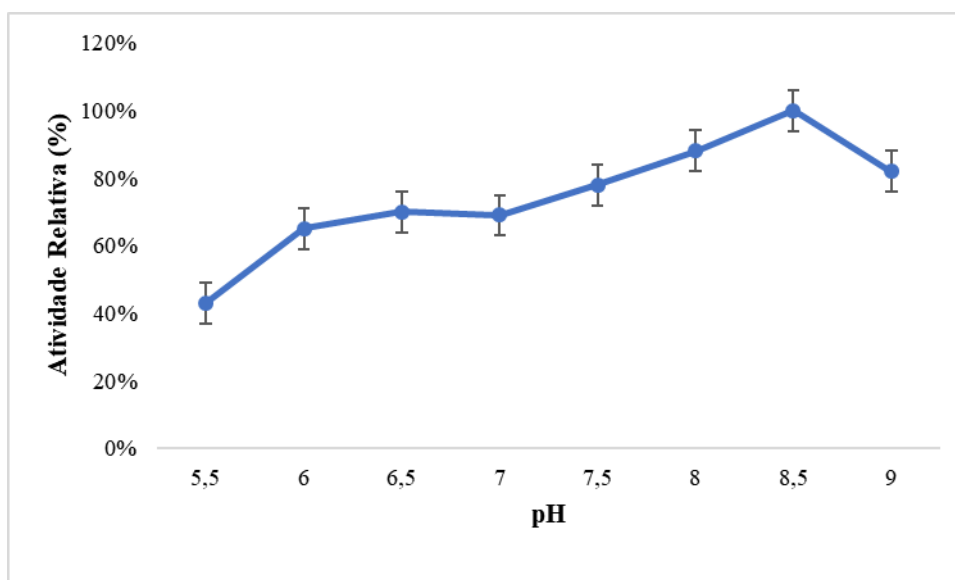
observadas em pH básico. *Mucor* sp.1 apresentou atividade máxima em pH 9,0. Entretanto, a enzima se manteve estável entre pH 5,5 e 8,5, com atividade proteolítica variando de 50 a 68% (Figura 32). Quanto à estabilidade ao pH da enzima de *M. souzae*, foi observado aumento progressivo na atividade, com a enzima se mantendo estável entre pH 6,0 e 8,5, com atividade proteolítica superior a 68% (Figura 33).

**Figura 32.** Efeito do pH na estabilidade da atividade proteolítica de *Mucor* sp.1, durante 180 minutos.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

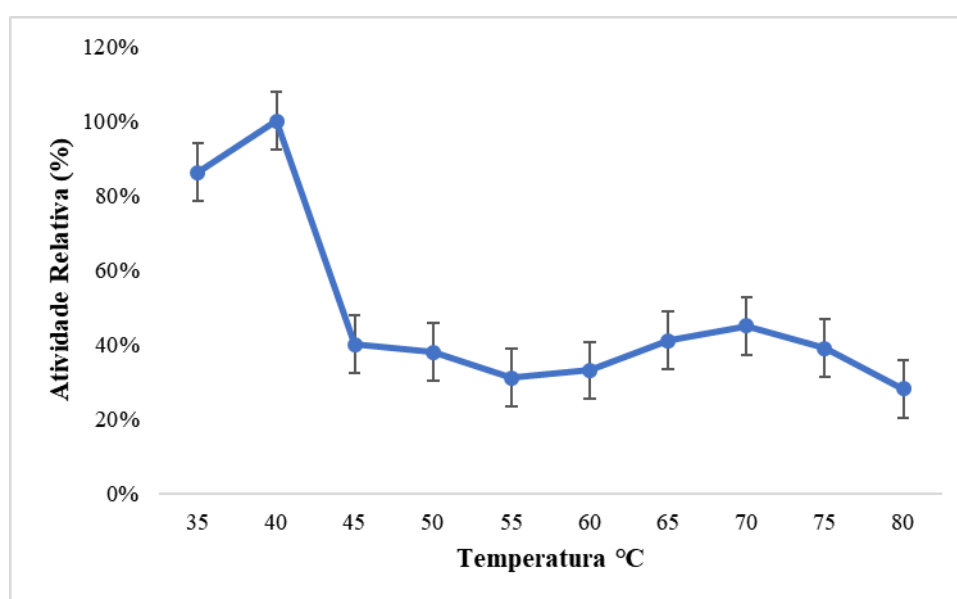
**Figura 33.** Efeito do pH na estabilidade da atividade proteolítica de *Mucor souzae*, durante 180 minutos.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

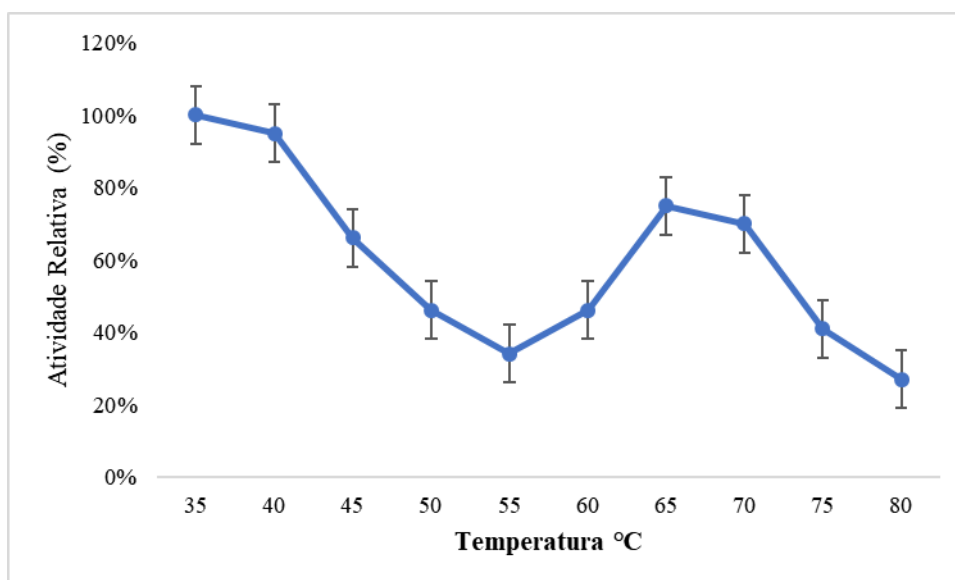
De acordo com o teste de estabilidade nas diferentes temperaturas, a atividade da protease de *Mucor* sp.1 diminuiu com o tempo. A atividade da enzima foi mais elevada a 40 °C, apresentando 100% de atividade após 60 minutos (Figura 34). A enzima produzida por *M. souzae* apresentou 100% de reação a 40 °C, após 60 minutos, seguido de declínio até 55 °C, apresentando 34% de atividade. Posteriormente, o extrato enzimático de *M. souzae* exibiu um novo aumento na curva de reação a 60 °C, com a diminuição de atividade até 80 °C (Figura 35).

**Figura 34.** Efeito da temperatura na estabilidade da atividade proteolítica de *Mucor* sp.1, durante 180 minutos.



**Fonte:** de Souza, C.A.F.

**Figura 35.** Efeito da temperatura na estabilidade da atividade proteolítica de *Mucor souzae*, durante 180 minutos.

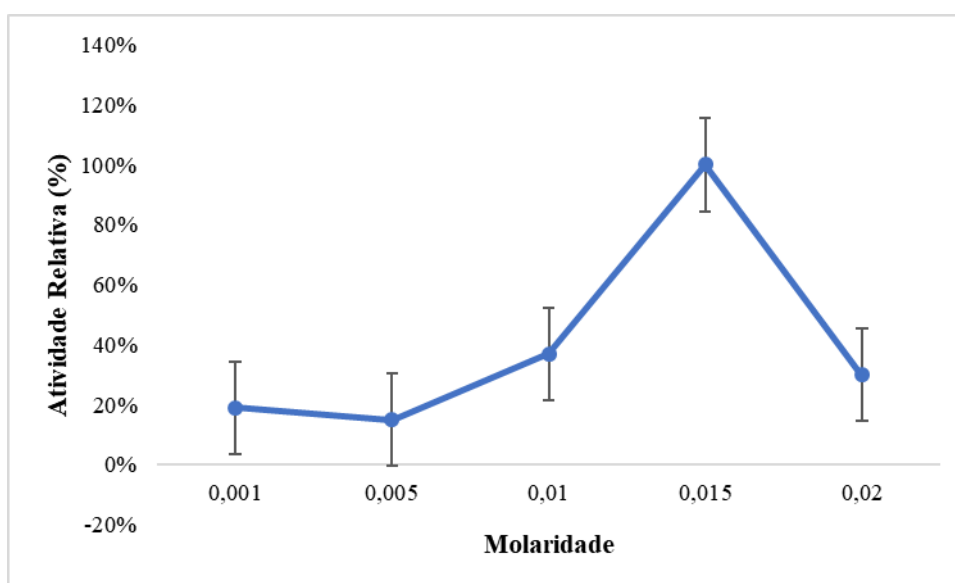


**Fonte:** de Souza, C.A.F.

#### 4.3.1.3 Efeitos da concentração de $\text{CaCl}_2$ na coagulação do leite

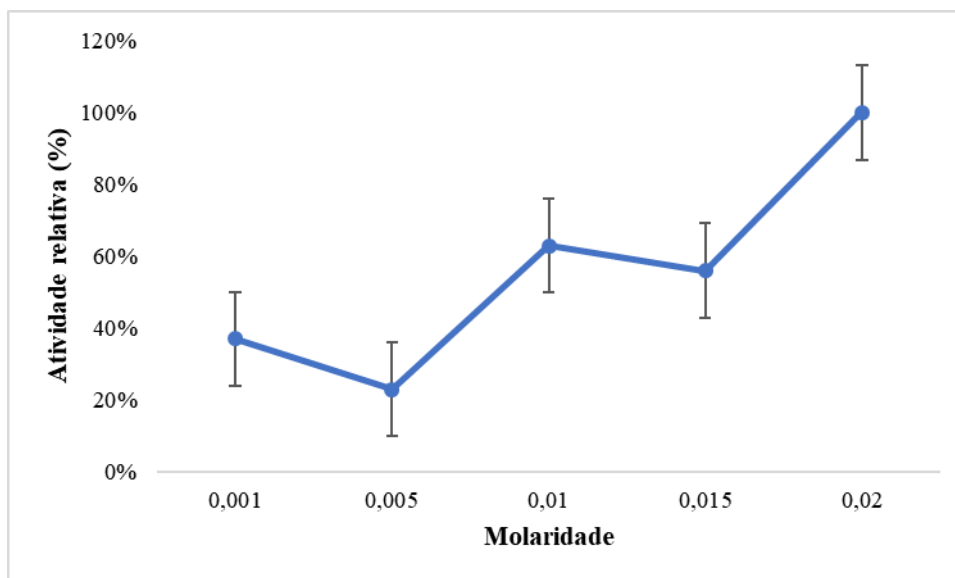
A atividade coagulante máxima da enzima produzida por *Mucor* sp.1 ocorreu na concentração de 0,015 M de  $\text{CaCl}_2$ , com posterior declínio, em seguida, em 0,020 M, com 30% de atividade relativa (Figura 36). Em relação ao *M. souzae*, foi observado aumento progressivo da atividade enzimática, com máxima taxa de atividade a 0,020 M de  $\text{CaCl}_2$  (Figura 37).

**Figura 36.** Efeito da concentração de  $\text{CaCl}_2$  na atividade coagulante do leite das proteases de *Mucor* sp.1.



Fonte: de Souza, C.A.F.

**Figura 37.** Efeito da concentração de  $\text{CaCl}_2$  na atividade coagulante do leite das proteases de *Mucor souzae*.



Fonte: de Souza, C.A.F.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 ECOLOGIA DAS COMUNIDADES DE MUCOROMYCETA EM ECOSISTEMAS DE BREJO DE ALTITUDE DE PERNAMBUCO

O domínio Mata Atlântica caracteriza-se pelo elevado número de espécies endêmicas, estimando-se que os ecossistemas desse domínio detenham, aproximadamente, 8% da biodiversidade mundial (IBGE, 2011). Em decorrência dos contínuos ciclos extrativistas, os ecossistemas desse domínio encontram-se extremamente ameaçados, sendo, portanto, considerados áreas de “hotspot” prioritárias para a conservação da biodiversidade (RIBEIRO et al., 2011). Em consequência do desmatamento e da fragmentação da Mata Atlântica em Pernambuco, calcula-se que restem apenas 5% de áreas florestais desse domínio (IBGE, 2011).

Dentre os ecossistemas da Mata Atlântica encontram-se os “brejos de altitude” que, originalmente, apresentavam 23 áreas de matas úmidas em Pernambuco, ocupando cerca de 4.850,00 km<sup>2</sup> (VASCONCELOS-SOBRINHO, 1971). Contudo, atualmente, esse domínio apresenta dimensões bem menores, resultantes do desmatamento e exploração

desacerbada dos recursos, motivadas pelos ciclos agrícolas e agropecuários, além da expansão urbana e turística, causando a perda da biodiversidade, incluindo a dos fungos (OLIVEIRA & ARAÚJO 2007; MACÊDO 2013; MORO et al., 2015).

No presente estudo foram identificados 45 táxons de Mucoromyceta, isolados do solo dos brejos Sítio Carro quebrado (Triunfo), da Serra do Bituri (Brejo da Madre de Deus) e de Taquaritinga do Norte (Taquaritinga do Norte), contribuindo para o conhecimento da riqueza e diversidade desses fungos em ecossistemas de brejo de altitude, encraves de Mata Atlântica, em meio à Caatinga.

Estudos sobre Mucoromyceta em ecossistemas brasileiros até o presente, para todo o Brasil, registraram apenas 109 táxons, cujos relatos estão concentrados nos domínios da Mata Atlântica (66), Caatinga (27 táxons) e Cerrado (16) (SANTIAGO & MAIA, 2010; LIMA et al., 2016; ALVES et al., 2017; DE SOUZA et al., 2017, 2018; LIMA et al., 2018; FLORA DO BRASIL, 2018). Em relação aos brejos de altitude brasileiros, o conhecimento sobre a comunidade desses fungos é ainda mais escasso, com 37 táxons referidos para os brejos de: Triunfo, Jenipapo, Bonito, dos Cavalos, Serra Negra, do Sítio da Palmeira, e Bituri, em Pernambuco, e de Areia, na Paraíba (SANTIAGO et al., 2013; CORDEIRO, 2014; ALVES, 2016; TIBPROMMA et al., 2017; DE SOUZA et al., 2018; LIMA, 2018b).

A maioria das espécies identificadas neste trabalho foi citada por outros autores (SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 1996, 2006; SCHOENLEIN-CRUSIUS E MILANEZ 1997, 1998; SANTIAGO et al., 2013; ALVES, 2016; LIMA et al., 2017; LIMA, 2018b; DE LIMA, 2018). Entretanto, 27 táxons são novos registros para áreas de brejo de altitude: *Absidia* sp.1, *Absidia* sp. 2, *A. caatinguensis*, *Actinomucor elegans*, *Backusella* sp.1, *B. gigacellularis*, *C. echinulata* var. *antarctica*, *C. echinulata* var. *verticillata*, *Gongronella* sp. 1, *G. brasiliensis*, *Lichtheimia corymbifera*, *Mortierella* sp. 1, *Mortierella* sp. 2, *M. turficola*, *Mucor* sp. 1, *Mucor* sp. 2, *M. circinatus*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. fragilis*, *M. inaequisporus*, *M. indicus*, *M. lanceolatus*, *M. septatum*, *M. souzae* e *Umbelopsis ramanniana*. Os resultados deste trabalho mostram uma elevada riqueza de espécies de Mucoromyceta no solo dos brejos visitados, quando comparada à riqueza verificada nos domínios Caatinga e Cerrado, no Brasil (ALVES et al., 2017; LIMA et al., 2018; FLORA DO BRASIL, 2018),

sugerindo uma boa adaptabilidade das comunidades desse grupo de fungos às condições bióticas e abióticas dessas áreas.

*Mucor* foi o gênero predominante em número de espécies. A dominância de táxons de *Mucor* era esperada, uma vez que, dentre os gêneros de Mucorales, este tem a maior representatividade em número de espécies válidas. Além disso, a ampla distribuição fitogeográfica bem como a capacidade de adaptação às condições ambientais distintas das espécies desse gênero (MADDEN et al., 2012; LI et al., 2016; VOGLMAYR; CLÉMENÇON, 2016; LIMA et al., 2017; LIMA et al., 2018; DE SOUZA et al., 2018), contribuem com a elevada prevalência das mesmas nos solos estudados. Em contrapartida, *Rhizopus*, seguido de *Actinomucor*, *Lichtheimia*, *Syncephalastrum* e *Umbelopsis* exibiram menor representatividade nos solos dos brejos amostrados. Espécies de *Rhizopus*, *Lichtheimia* e *Syncephalastrum* têm sido comumente referidas em regiões semiáridas do Brasil, principalmente, em áreas de Caatinga (CAVALCANTI et al., 2006; SANTIAGO & SOUZA-MOTTA, 2006; SANTIAGO et al., 2014; LIMA et al., 2016). Caracterizada por abrigar florestas desenvolvidas em solos arenosos, a Caatinga apresenta uma vegetação arbustiva e aberta, que contribui com a intensa radiação solar e, consequentemente, elevando as temperaturas nesses ambientes (GIULIETTI et al. 2006; ARAUJO, 20011). A termotolerância de táxons desses gêneros tem sido um fator determinante para a colonização de habitats (DOLATABADI et al, 2014). *Lichtheimia* é constituído por indivíduos predominantemente termotolerantes, com espécies crescendo entre 35 e 53 °C (HOFFMANN et al., 2007; HOFFMANN et al., 2009). Essa condição também foi referida para espécimes de *Rhizopus*, com crescimento em até 52 °C e *Syncephalastrum*, que exibe bom crescimento entre 28 e 38 °C (WONGANU et al., 2008; DOLATABADI et al., 2014). Tal condição pode ter contribuído com a baixa representatividade de espécies desses três gêneros, visto que, quando comparados às regiões de Caatinga, os brejos de altitude apresentam maior cobertura vegetal, propiciando condições amenas de umidade do solo e do ar e temperaturas mais baixas (ANDRADE-LIMA, 2007).

Os valores de UFCs e a riqueza de espécies observados neste trabalho foram superiores aos referidos por Santiago et al. (2013), Alves (2016), de Souza et al. (2018) e Lima (2018b) para áreas de brejo de altitude em Pernambuco. O mesmo se aplica ao se comparar os resultados com o observado para outros ecossistemas de Mata Atlântica, especialmente em áreas de Floresta Ombrófila densa (SCHOENLEIN-CRUSIUS &

MILANEZ, 1997; TAUKE-TORNISIELO et al., 2005; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 2006; LIMA, 2018a). Embora estudos em solo de brejos de altitude apontem similaridade florística do estrato arbóreo dessas disjunções com as florestas de Mata Atlântica (CAVALCANTE, 2005; NASCIMENTO et al., 2012; SILVA, 2016), os graves impactos na qualidade dos ecossistemas originais, bem como a variação de fatores edáficos, como a quantidade de matéria orgânica disponível, e das condições climáticas (ex. variações na pluviosidade e temperatura) podem justificar as diferenças entre as comunidades de Mucoromyceta nesses ecossistemas (SOUTO et al., 2008).

Entre os fungos isolados, *G. butleri* apresentou o maior número de UFC.g<sup>-1</sup> de solo, estando os dados em concordância com os resultados obtidos por Alves (2016) que, dentre as 25 espécies de Mucorales identificadas dos solos dos brejos dos Cavalos, Jenipapo e Serra Negra, referiu *G. butleri* com o maior número de UFC.g<sup>-1</sup> de solo. Resultado semelhante foi obtido por Lima (2018a) em ecossistemas de Mata Atlântica, onde se observou maior número de UFC.g<sup>-1</sup> de solo para esse táxon. *Gongronella butleri* também foi referida em amostras de solo do semiárido por Lima et al. (2015), mas em áreas de Caatinga. Esses autores relataram um baixo número de UFC.g<sup>-1</sup> de solo, bem como baixa frequência de ocorrência (FO = 0,17%) dessa espécie, contrapondo os resultados aqui expostos. Nossos resultados, apoiados pelos de Alves (2016) e Lima (2018a), sugerem uma elevada prevalência de *G. butleri* em áreas de brejo de altitude, o que reforça a suposição de que essa espécie tenha maior distribuição em florestas úmidas. Tal fato pode ser atribuído ao acúmulo de maior quantidade de matéria orgânica no solo dos brejos investigados, apresentando elevada disponibilidade de nutrientes, bem como diferenças das condições climáticas, edáficas e topográficas (TABARELLI et al., 2005; RODRIGUES et al., 2008; CRUZ et al., 2013) em relação ao solo da caatinga.

*Gongronella butleri*, *Absidia* sp. 1, *A. caatinguensis* e *C. bertholletiae* foram muito frequentes, enquanto a maioria das espécies foi classificada como: pouco frequentes, raras e com baixa abundância relativa, tendo *G. butleri* exibido a abundância mais elevada, dentre os isolados. Resultados similares foram relatados por Alves (2016), o qual mencionou que *Cunninghamella* sp, *G. butleri* e *C. elegans* exibiram as mais elevadas abundâncias relativas, dentre os Mucoromyceta, em solo de brejos da mesorregião do agreste pernambucano. A elevada frequência de *G. butleri* em solo foi também notificada por Alves (2016), em brejos da mesorregião do agreste de Pernambuco, além de ter sido

reportada em vários países, como África do Sul (EICKER, 1969), Malásia (VARGHESE, 1972), Nigéria (OGBONNA & PUGH 1982), Costa do Marfim (RAMBELLI et al., 1984) e Uruguai (BETTUCI & ROQUEBERT, 1995). No Brasil, *G. butleri* também foi apontada como frequente em solo de áreas de Mata Atlântica (MAIA et al., 2006; LIMA, 2018a).

As baixas frequências de ocorrência e abundância relativa da maioria dos representantes de Mucoromyceta no solo têm sido comumente registradas em diferentes ecossistemas brasileiros (SANTIAGO et al., 2013; LIMA et al., 2016; LIMA, 2018a). De maneira geral, as comunidades de Mucoromyceta são frequentemente representadas por poucos indivíduos, com maior número de táxons raros e poucas espécies abundantes, diferente do observado, por exemplo, para os fungos conidiais (RICHARDSON, 2001; LIMA 2018a).

Táxons de *Absidia* e *Cunninghamella* são comumente isolados do solo, apresentando frequências de ocorrência e abundância relativa em geral, elevadas, quando comparadas às espécies de outros gêneros de Mucoromyceta (SANTIAGO et al., 2013; LIMA et al., 2016). Em estudo sobre a diversidade de Mucorales em duas áreas de brejos de altitude de Pernambuco, Lima (2018b) registrou as maiores frequências e abundância relativa para *Absidia* sp. e *C. bertholletiae*, corroborando os nossos resultados. No entanto, contrapondo os dados obtidos nesse estudo, Santiago et al. (2013) referiram *C. echinulata* var. *echinulata* como o táxon mais frequente, seguido por *A. cylindrospora* var. *cylindrospora* e *Lichtheimia hyalospora*, no solo do brejo de altitude Sítio Carro Quebrado. Embora a área de brejo de altitude de Triunfo tenha sido previamente estudada, diferenças na composição de uma comunidade micológica podem decorrer de vários fatores abióticos e bióticos, como mudanças dos índices de pluviosidade e temperatura, tipos fitofisionômicos das áreas, bem como adaptabilidade bioquímica dos micro-organismos e estratégias de sucessão ecológica (RICHARDSON, 2001; BILLS et al., 2004). Além disso, coletas realizadas em áreas de zonas transicionais (caatinga/brejos de altitude) bem como em épocas (anos) diferentes podem ter contribuído para diferenças na frequência de ocorrência de algumas espécies.

*Absidia* sp. 1, *A. caatinguensis*, *C. bertholletiae* e *Gongronella butleri* foram abundantes no solo dos brejos de altitude, enquanto os demais táxons isolados foram raros ou ocasionais. Estudos conduzidos em brejos de altitude explorando a abundância relativa de espécies de Mucoromyceta apontaram resultados distintos dos obtidos nesse trabalho.

Alves (2016) registrou *Absidia* sp., *C. bertholletiae* e *G. butleri* como raras em solos de brejos de altitude da mesorregião agreste de Pernambuco, enquanto Lima (2018) mencionou que, dentre os 39 táxons identificados, *C. bertholletiae* e *G. butleri* foram raras nos solos dos brejos de Bonito e Camocim de São Félix, no mesmo Estado.

*Absidia caatinguensis* foi descrita e isolada exclusivamente de amostras de solo do domínio Caatinga, no semiárido brasileiro (LI et al. 2015). Nesse sentido, esse é o primeiro registro dessa espécie em solos de brejo de altitude. Além disso, essa espécie foi muito frequente nos solos coletados, ampliando o conhecimento sobre a distribuição desse táxon nos ecossistemas brasileiros e indicando que o mesmo não é endêmico da Caatinga. Além de *A. caatinguensis*, *C. echinulata* var. *antarctica*, *C. echinulata* var. *verticillata* e *L. corymbifera*, citadas apenas em solos de Caatinga (DE SOUZA et al. 2013; SANTIAGO et al. 2013), *B. gigacellularis*, referidas no Cerrado e *Actinomucor elegans*, *M. fragilis* e *Mucor circinatus*, identificadas em solos de Mata Atlântica (TRUFEM 1981a; SOUZA et al. 2014; LIMA et al. 2017), estão sendo registradas pela primeira vez para brejos de altitude. Esse trabalho também oferece o primeiro registro de *M. turficola*, *M. lanceolatus* e *Umbelopsis ramanniana* para o Brasil. *Mortierella turficola* foi descrita por Ling Yong (1930) em solos turfosos no sul da Alemanha. De distribuição cosmopolita, essa espécie tem sido isolada de solo de diversos países, como Inglaterra (DICKINSON & MAGGS, 1974), Polônia (KWAŚNA et al., 2006), Rússia (SIZONENKO et al., 2010), Suécia (MENKIS et al., 2016), incluindo áreas da Antártica (NEWSHAM et al. 2018), sendo esse o primeiro registro em Florestas Tropicais. *Mucor lanceolatus* foi registrada pela primeira vez em amostras de queijo, na França (HERMET et al., 2012), sendo aqui relatada para amostras de solo. *Umbelopsis ramanniana* tem sido identificada em diversos substratos, apresentando elevada distribuição, de áreas boreais a tropicais, sendo citada em solo no Canadá (SUMMERBELL, 2005), nos Estados Unidos (HOFF et al., 2004), na China (OGAWA et al., 2011), na Letônia (GRANTINA-IEVINA et al., 2013) e na Noruega (GRANTINA-IEVINA et al., 2014).

A diversidade de Mucoromyceta foi mais elevada no solo do Brejo da Serra do Bituri ( $H' = 2,763$ ), seguida pelo brejo de Taquaritinga do Norte ( $H' = 2,561$ ) e Sítio Carro Quebrado ( $H' = 2,567$ ). Embora a riqueza de espécies de Mucoromyceta nesse último brejo tenha sido inferior à observada no solo dos outros brejos, a diversidade foi numericamente similar. A distribuição das espécies, inferida a partir da equitabilidade, pode explicar esse

resultado, visto que a comunidade de Mucoromyceta do solo do Sítio do Carro Quebrado apresentou a maior equitabilidade dentre os diferentes brejos estudados. Tal fato é suportado pelo resultado do perfil de diversidade da série Hill, que apontou normalidade na comunidade de Mucoromyceta na área do brejo Sítio do Carro Quebrado. Além disso, a predominância de espécies raras, verificadas nessas áreas de brejo, como *L. corymbifera*, com apenas dois indivíduos identificados (doubleton), *M. lanceolatus* isolada de apenas uma amostra (1) (unique), *C. enchinulata* var. *echinulata* e *M. irregularis*, isoladas em duas amostras (duplicates), pode ser um fator contribuinte para esses resultados. Comportamento semelhante foi observado por Lima (2018a), na Serra de Bonito e Sítio da Palmeira, outros brejos de Pernambuco, corroborando os dados obtidos desse trabalho.

Destaca-se que os índices de diversidade observados no presente estudo foram superiores aos registrados por Lima (2018b) e por De Lima (2018), para os brejos da Serras do Benedito, Jardim e dos Ventos. Entretanto, Santiago et al. (2013) e Alves (2016) registraram índices mais elevados de diversidade no Sítio Carro Quebrado e no brejo dos Cavalos, em Caruaru ( $H' = 2,85$  e  $3,19$ , respectivamente), embora as riquezas de espécies de Mucoromyceta descritas nesses trabalhos tenham sido inferiores ao observado no presente estudo. Tal fato já era esperado pois, embora os brejos estejam geograficamente localizados no Estado de Pernambuco, as composições florestais e efeitos causais da fragmentação dessas áreas, além das condições edafoclimáticas, particulares de cada brejo, podem ter influenciado nas comunidades desses micro-organismos. De toda forma, os resultados aqui expostos, corroborados por Santiago et al. (2013), Alves (2016) e De Lima (2018), indicam a elevada diversidade de Mucoromyceta em ecossistemas de brejo de altitude.

De acordo com os estimadores de riqueza de espécies, Chao1 e Jackknife 1, é provável que os solos do brejo de Taquaritinga do Norte apresentem um número mais elevado de espécies do que o observado nesse estudo, sugerindo que coletas adicionais de solo devem ser realizadas para que a riqueza esperada seja atingida. Isso pode ser atribuído ao número elevado de espécies raras e/ou a quantidade de uniques, duplicates e dubletons, obtida no solo desse brejo, visto que esses estimadores não paramétricos são baseados na abundância e consideram o número de espécies raras (COLWELL et al., 2004). Para o solo dos brejos Sítio Carro Quebrado e da Serra do Bituri, o estimador Chao 1 apontou que a riqueza esperada foi alcançada. A curva de acumulação de espécies atingiu a assíntota,

indicando que as estimativas fornecidas pelo Chao 1 foram precisas quanto ao número de espécies. No entanto, as estimativas fornecidas a partir do Jackknife 1 indicaram que a riqueza foi inferior à esperada. O mesmo foi observado por Lima et al. (2016), em diferentes ecossistemas do semiárido, e por Lima (2018a), ao estimar a riqueza de Mucorales de solo da Mata Atlântica no litoral pernambucano. De acordo com Gotelli & Colwell (2001), descritores que projetem curvas de riqueza próximas ou alcançando a assíntota, com número igual ou menor de amostras do que a curva de acumulação de espécies observada, podem ser considerados bons estimadores de riqueza. Nesse sentido, Palmer (1990) sugere que a utilização de diferentes estimadores de riqueza permite selecionar o descritor mais adequado para mensurar a riqueza de uma comunidade. Dessa forma, o estimador Chao 1 mostrou-se eficaz para a avaliação de comunidades de Mucoromyceta no presente trabalho, assim como observado por Lima (2018a).

As comunidades de Mucoromyceta dos solos dos brejos variaram quanto à composição de espécies. Embora os índices de similaridade inferidos com base na medida de distância de Bray-Curtis tenham evidenciado elevada similaridade entre os solos dos brejos de Taquaritinga do Norte e da Serra do Bituri, os índices obtidos entre o brejo Sítio Carro Quebrado e as demais áreas apontaram baixa similaridade na composição de Mucoromyceta. Nas análises de similaridade (ANOSIM), em que valores maiores de  $R$  ( $R_{\text{global}} > 0,5$ ) indicam diferenças quanto à composição da comunidade e menores ( $R_{\text{global}} < 0,5$ ) configuram diferenças relacionadas à abundância e frequência dos organismos, os resultados do presente estudo indicaram que todos os brejos diferiram entre si quanto à abundância e frequência dos Mucoromyceta, embora não tenha havido diferenças significativas na composição das comunidades. Esses resultados indicam que a comunidade de Mucoromyceta está estruturada de maneira distinta no solo dos diferentes brejos de altitude. Embora as áreas compartilhem características que indicam pertencerem ao mesmo ecossistema, elas estão geograficamente localizadas em regiões distintas. O brejo Sítio Carro Quebrado está inserido no sertão do alto Pajéu e os brejos de Taquaritinga do Norte e Brejo da Serra do Bituri, situam-se no Agreste Setentrional e Central, respectivamente. Além disso, das áreas estudadas, o brejo Sítio Carro Quebrado apresenta características de antropização avançadas, o que não ocorre nos demais. Tais impactos culminam em alterações na comunidade vegetal, podendo influenciar a composição microbiana na rizosfera (PANDEY & PALNI, 2007), bem como a

compactação do solo, diminuindo a aeração (VZZOTTO et al., 2000) e a quantidade de água infiltrada no solo, aumentando o escoamento na superfície e lixiviando a matéria orgânica (MIGUEL et al., 2009). Ademais, as diferentes características edáficas e climáticas peculiares do Sertão pernambucano podem ter contribuído com a heterogeneidade evidenciada na composição da comunidade fúngica.

Neste estudo, foi possível identificar sete espécies indicadoras para as áreas analisadas: *Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*, *A. elegans* e *R. arrhizus* var. *arrhizus* foram predominantes ou exclusivas no solo do Sítio Carro Quebrado, ocorrendo o mesmo para *Absidia* sp. 1 e *Gongronella* sp. 2, no solo do brejo de Taquaritinga do Norte; *Backusella* sp.1 e *C. echinulata* var. *antarctica* foram predominantes ou exclusivas no solo do Brejo da Serra do Bituri, sugerindo que as condições específicas para ocorrência das mesmas estão presentes nessas áreas. De acordo com Bills et al. (2004), a heterogeneidade de micro-habitats pode estar condicionada a diversos fatores, como a competição intraespecífica e interespecífica, matéria orgânica disponível no substrato, características fisiológicas dos fungos, além de mudanças temporais do clima ou de vegetação. O Sítio Carro Quebrado apresentou a menor pluviosidade dentre as áreas de estudo durante o período de coletas. Todos esses fatores podem ter contribuído, consideravelmente, para as diferenças evidenciadas na composição da comunidade fúngica entre os brejos.

Poucos relatos sobre os Mucoromyceta em áreas semiáridas foram produzidos, com apenas 37 espécies registradas para brejos de altitude (SANTIAGO et al., 2013; CORDEIRO, 2014; ALVES, 2016; TIBPROMMA et al., 2017; DE SOUZA et al., 2018; LIMA, 2018b), o que não reflete a real riqueza desses fungos nesse domínio ainda pouco explorado. No presente estudo, foram identificados 45 táxons de Mucoromyceta. *Absidia* sp. 1 e sp. 2, *Backusella* sp. 1, *Gongronella* sp. 1, *Mortierella* sp. 1 e sp. 2 e *Mucor* sp. 1 e sp. 2 exibiram diferenças morfológicas em relação às outras espécies dos respectivos gêneros, sendo provavelmente novas. Dentre os táxons isolados, *G. brasiliensis*, *M. septatum* e *M. souzae* foram publicadas como novas para a ciência e outros espécimes que representam prováveis novas espécies estão em processo de sequenciamento das regiões ITS e LSU do rDNA e do gene RPB1 para confirmação genética, contribuindo para o conhecimento da riqueza e diversidade desses fungos no Brasil.

Os Mucoromyceta representam importante papel nos ecossistemas, sendo responsáveis pela ciclagem de nutrientes do solo, além de serem bons produtores de ácidos

orgânicos e enzimas. Nesse contexto, a realização de futuras pesquisas relacionadas ao conhecimento desses fungos, em especial em áreas de brejo de altitude, mostra-se indispensável.

## 5.2 TAXONOMIA

As descrições de *Absidia* sp. 1 e *Backusella* sp. 1, identificadas no presente estudo como novas, não serão fornecidas porque ainda não foram publicadas. *Absidia* sp. 2, *Gongronella* sp. 1, *Mortierella* sp. 1, *Mortierella* sp. 2, *Mucor* sp. 1 e *Mucor* sp. 2 apresentaram características morfológicas distintas das espécies descritas para os respectivos gêneros. Entretanto, nossas análises filogenéticas, inferidas a partir de sequências das regiões LSU e ITS do rDNA, ofereceram resultados inconclusivos, sendo necessária a amplificação e sequenciamento de outras regiões do DNA para a confirmação genética dessas espécies.

### 5.2.1 *Gongronella brasiliensis* C.A.F. de Souza, D.X. Lima & A.L. Santiago, sp. nov.

*Gongronella* foi estabelecido para acomodar uma única espécie: *G. urceolifera* Ribaldi (atualmente *G. butleri* Lendn.), anteriormente alocada em Mortierellaceae. A presença de uma apófise globosa bem distinta e o tamanho reduzido das columelas foram as principais características consideradas para a descrição do gênero (UPADHYAY 1969). *Gongronella* abrange cinco espécies: *G. butleri*, *G. guangdongensis* F. Liu, T.T. Liu & L. Cai, *G. koreana* Hyang B. Lee & T.T.T. Nguyen, *G. lacrispora* e *G. orasabula* Hyang B. Lee, K. Voigt, P.M. Kirk & T.T.T. Nguyen.

De acordo com nossas análises morfofisiológicas e filogenéticas (ITS rDNA), *G. brasiliensis* exibe dados genéticos e características morfológicas bem suportados, diferenciando-a das outras espécies do gênero, estando a mesma geneticamente mais próxima de *G. butleri*. Morfológicamente, *G. brasiliensis* pode ser inicialmente confundida com *G. butleri* devido ao padrão de ramificação do esporangióforo, levemente simpodial, e ao tamanho e forma dos esporângios. Entretanto, a produção de apófises elípticas, columelas cônico-cilíndricas, algumas quase inconspícuas, bem como células gigantes, é

observada apenas em *G. brasiliensis*. Além disso, as colônias de *G. brasiliensis* são persistentemente brancas, em contraste com as colônias de *G. butleri* que são inicialmente brancas, tornando-se cinzas olivas (UPADHYAY 1969). Na maioria das espécies de *Gongronella*, um septo abaixo do esporângio é comumente observado e, além de *G. brasiliensis*, a presença de dois septos no esporangióforo delimitando o esporângio foi citada apenas para *G. orasabula*. Além disso, os esporangiosporos de *G. brasiliensis* são variáveis em forma e maiores que os registrados em *G. butleri*, *G. guangdongensis*, *G. koreana* e *G. orasabula*.

### 5.2.2 *Mucor souzae* C.A.F. de Souza, D.X. Lima & A.L. Santiago, sp. nov.

As espécies de *Mucor* caracterizam-se por produzir esporângios não apofisados em esporangióforos simples ou ramificados sem rizóides basais que surgem diretamente do substrato (ÁLVAREZ et al., 2011). Novas espécies de *Mucor* têm sido propostas, elevando o conhecimento da diversidade de Mucoromyceta (PEI 2000; ALVES et al., 2002; JACOBS & BOTHA 2008; HERMET et al. 2012; MADDEN et al. 2012; LI et al. 2016; VOGLMAYR & CLÉMENÇON 2016; LIMA et al., 2017).

Com base nas relações filogenéticas inferidas a partir de sequências das regiões LSU e ITS do rDNA e análise morfofisiológica, *M. souzae* difere das outras espécies do gênero. *Mucor souzae* produz esporangióforos surgindo do micélio aéreo, simples ou repetidamente simpodialmente ramificados, com ramificações longas ou curtas e esporangiosporos variáveis em forma e tamanho. Um ou dois septos podem ser formados abaixo do esporângio. Na árvore de LSU (Figura 17), *M. souzae* foi alocado em um subclado próximo a *M. hiemalis*, *M. merdicola* e *M. irregularis*. *Mucor hiemalis* é caracterizada pela produção de esporangióforos levemente simpodialmente ramificados, bem como columelas elipsoidais com base truncada, enquanto *M. souzae* produz esporangióforos simples ou repetidamente simpodialmente ramificados, além de columelas globosas, subglobosas ou aplanadas. A produção de esporangiosporos elipsoides e elipsoides a fusiformes é comumente observada em *M. souzae* e *M. merdicola*. No entanto, *M. souzae* também produz esporangiosporos irregulares (formas indefinidas) em contraste com os elipsoides a fusiformes, elipsoides ou subglobosos, observados em *M. merdicola*. Na árvore da região ITS (Figura 18), *M. souzae* formou um clado separado entre *M.*

*nidicola* e *M. irregularis*. Macroscopicamente, *M. souzae* pode ser confundida com *M. nidicola* (MADDEN et al., 2012), já que a cor e a altura das colônias podem ser similares. Entretanto, os esporangióforos de *M. nidicola* são simples ou com 1–2 ramificações, o que não corresponde ao o padrão de ramificação observado em *M. souzae*. Além disso, esporângios de *M. souzae* são globosos ou subglobosos, 30–50 µm diâm., de parede lisa a levemente equinulados, enquanto *M. nidicola* produz esporângios globosos, 30–70 µm diâm., com parede lisa a verrugosa.

Ambas as sequências de ITS e LSU rDNA de *M. souzae* revelaram uma estreita relação genética dessa espécie com o grupo *M. hiemalis*, embora *M. souzae* apresente um padrão de ramificação dos esporangióforos diferente do descrito por Schipper (1973) para o grupo *hiemalis*, em que as espécies são caracterizadas como produtoras de esporangióforos com leve ramificação simpodial. Segundo Madden et al. (2012), as diferenças morfológicas entre as espécies dentro do grupo *M. hiemalis* não são tão claras, embora as diferenças entre *M. irregularis* e *M. merdicola* sejam suportadas (ÁLVAREZ et al., 2011).

### 5.2.3 *Mucor septatum* C.A.F. de Souza, T.R. Cordeiro & A.L. Santiago, sp. nov.

De acordo com nossas análises, *M. septatum* exibe um conjunto de dados genéticos (ITS e LSU rDNA) e características morfológicas bem suportadas que a distingue das outras descritas para o gênero. Ambas as sequências de ITS e LSU rDNA de *M. septatum* revelaram uma relação genética estreita entre *M. laxorrhizus*, *M. exponens* e *M. fuscus*. Diferente do esperado, *M. parvisseptatus* G. Walther & de Hoog e *M. septatum* não foram intimamente relacionadas na árvore LSU. Como ambas as espécies, além de *M. laxorrhizus*, são morfológicamente semelhantes por produzirem esporangióforos intensamente ramificados, com um ou vários septos, era esperado que *M. septatum* também fosse agrupada próxima de *M. parvisseptatus* na árvore LSU. Essa última espécie é morfológicamente tão semelhante à *M. laxorrhizus* que Schipper (1989) a descreveu pela primeira vez como uma variedade de *M. laxorrhizus* (*M. laxorrhizus* var. *ovalisporus* Schipper). No entanto, nas duas árvores filogenéticas construídas, *M. laxorrhizus* foi a espécie mais estreitamente relacionada com *M. septatum*.

Morfologicamente, *M. septatum* assemelha-se à maioria das espécies de *Mucor*, produzindo esporangióforos simples ou ramificados que portam esporângios globosos e/ou subglobosos, não apofisados (BENNY, 2014). No entanto, a presença concomitante de esporangióforos bentos, circinados, simples ou ramificados, principalmente intensamente ramificados, com inchaços ocasionais, podendo exibir de um a vários septos, são características incomuns para a maioria das espécies de *Mucor*, mas frequentes em *M. septatum*, *M. laxorrhizus* e *M. parvisseptatus*. Septos em esporangióforos de *Mucor* também foram observados em alguns táxons, como *M. inaequisporus* Dade, *M. nidicola* A.A. Madden, Stchigel, Guarro, Deanna A. Sutton & Starks e *M. ellipsoideus* E. Álvarez, Cano, Stchigel, Deanna A. Sutton & Guarro. Contudo, a maioria desses táxons apresenta septos somente quando o micélio envelhece ou para delimitar estruturas reprodutivas, raramente observando-se mais um septo nos esporangióforos, enquanto *M. septatum*, *M. laxorrhizus* e *M. parvisseptatus* produzem esporangióforos com um ou vários septos sempre presentes. Além disso, foram encontradas algumas diferenças quanto ao tamanho e a forma de algumas estruturas entre essas três espécies. Ling-Young (1930) descreveu *M. laxorrhizus* produzindo esporângios com 60–150 µm diâm., maiores do que os observados em *M. septatum*, e as columelas da primeira espécie variam em forma, sendo depressas, hemisféricas, subglobosas e subcônicas, distintas das columelas da nova espécie, que são principalmente aplanadas. Columelas aplanadas (9–50 × 11–60 µm) foram também reportadas por Schipper (1989) em *M. laxorrhizus* (citado como *M. laxorrhizus* var. *laxorrhizus*) mas essas são maiores do que as de *M. septatum*. Além disso, *M. laxorrhizus* produz esporangiosporos globosos com 4–6 µm diâm. (LING-YONG, 1930; SCHIPPER, 1989), enquanto *M. septatum* produz esporangiosporos variados em forma e tamanho: globosos, subglobosos, 4,5–10 (–15) µm diâm., elípticos, 7,5–15,5 × 6–10 µm e irregulares, 10–27,5 × 10–15 µm.

Como referido, *M. parvisseptatus* foi descrita pela primeira vez como *M. laxorrhizus* var. *ovalisporus* (SCHIPPER, 1989), produzindo esporangiosporos elipsoidais 3,5–4 × 2,5–3 µm, enquanto *M. septatum* produz esporangiosporos variados em forma e maiores do que os de *M. parvisseptatus*. Além do tamanho e das diferentes formas dos esporangiosporos, *M. septatum* difere de *M. parvisseptatus* pela produção de columelas aplanadas e subglobosas, diferentes das columelas elipsoidais a piriformes e elipsoidais observadas em *M. parvisseptatus* (SCHIPPER, 1989).

Em conclusão, nenhuma das espécies descritas em *Mucor* apresenta todas as características morfológicas encontradas em *M. septatum*, que está sendo descrita como nova. As sequências das regiões ITS1-5.8-ITS2 e LSU rDNA são divergentes das outras espécies de *Mucor* conhecidas.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE *MUCOR* QUANTO À CAPACIDADE DE PRODUZIR PROTEASES COAGULANTES DO LEITE

Espécimes de Mucoromyceta têm sido comumente referidos como produtores de renina e vários trabalhos têm reportado a biossíntese dessas proteinases coagulantes do leite por táxons de *Mucor* (BELYAUSKAITE et al., 1980; FRAILE et al., 1981; HANDEL & FRAILE, 1984; FERNANDEZ-LAHORE et al., 1998; ANDRADE et al., 2002; YEGIN et al., 2011; AYANA et al., 2015). No presente estudo, 17 táxons de *Mucor* foram identificados, sendo eles: *M. circinatus*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. fragilis*, *M. guilliermondii*, *M. hiemalis*, *M. inaequisporus*, *M. indicus*, *M. irregulares*, *M. lanceolatus*, *M. luteus*, *M. septatum*, *M. souzae*, *Mucor* sp.1 e *Mucor* sp. 2. Nesse trabalho, ensaios quanto à produção de enzimas coagulantes do leite foram realizados para cada um desses espécimes. Os resultados obtidos mostraram que os representantes de todos os 17 táxons de *Mucor* identificados produziram enzimas coagulantes do leite, com as maiores atividades observadas nos extratos brutos enzimáticos de *Mucor* sp. 1 (666,66 U.mg<sup>-1</sup>) e *M. souzae* (685,71 U.mg<sup>-1</sup>) (Figura 25). Tubesha & Al-Delaimy (2003) estudaram 20 espécimes de *Mucor* originários de amostras ambientais da Jordânia e registraram elevada atividade coagulante do leite em *Mucor* J120 (identificação atribuída pelos autores). Embora não tenham sido fornecidas informações taxonômicas completas dos isolados ao nível de espécie, esse estudo confirma o potencial de espécimes de *Mucor* para a biossíntese de proteases coagulantes.

A otimização da biossíntese de proteases coagulantes do leite foi ensaiada apenas para *Mucor* sp. 1 e *M. souzae*, táxons que apresentaram os melhores resultados quanto à produção dessas enzimas.

### 5.3.1 Efeitos do pH e de temperatura nas atividades proteolítica e coagulante do leite e na estabilidade enzimática

#### 5.3.1.1 pH e temperaturas ótimos para as atividades proteolítica e coagulante do leite

As enzimas produzidas por *Mucor* sp. 1 e *M. souzae* apresentaram forte coagulação da solução de leite desnatado em poucos segundos, com atividades coagulantes específicas de 1333 U mg<sup>-1</sup> e 1043 U mg<sup>-1</sup>, respectivamente. De acordo com Thakur et al. (1990), a razão entre as atividades coagulante do leite e proteolítica é um importante fator para as indústrias de laticínios, especialmente para as que comercializam queijos. No presente estudo, foram calculadas as razões das atividades expressas por *Mucor* sp. 1 e *M. souzae* e comparadas com valores de atividades de enzimas comercialmente conhecidas e originadas de diversas fontes. As enzimas referidas por Hashim et al. (2011) e Silva et al. (2013b) (Tabela 9) apresentaram valores de razão das atividades inferiores aos obtidos nos ensaios realizados com *Mucor* sp. 1 e *M. souzae* e as atividades coagulantes do leite desses espécimes foram superiores às de outros coagulantes de origem microbiana, como a renina produzida por *Mucor* spp. e a extraída do abomaso bovino, enzima amplamente utilizada e considerada uma das melhores proteases coagulantes do leite. Esses resultados sugerem que a biossíntese de proteases coagulantes do leite, pelos espécimes descritos neste estudo, é elevada, sendo essas enzimas promissoras para serem produzidas em escala comercial, nas indústrias de laticínios. Ademais, os dados revelam que as enzimas produzidas pelos nossos isolados apresentam especificidade para a hidrólise da caseína e, conseqüentemente, espera-se a ausência de hidrólises excessivas de outras proteínas não envolvidas no processo de coagulação do leite que podem interferir no rendimento e na qualidade do produto final, como o queijo (NEVES-SOUZA & SILVA, 2005; JAROS et al., 2008).

As proteases do extrato bruto dos espécimes de *Mucor* testados exibiram melhores atividades em pH 8,0 (*M. souzae*) e 8,5 (*Mucor* sp. 1), em tampão glicina. As proteases coagulantes do leite sintetizadas por espécies de Mucoromyceta são, em maioria, aspárticas (EC 3.4.23). Essas enzimas são de natureza ácida, com pontos isoelétricos na faixa de pH entre 3,0 e 4,5 (YEGIN et al., 2011; SILVA et al., 2013a; AYANA et al., 2015). No entanto, diferente do observado nos nossos ensaios, as proteases produzidas por espécimes

de Mucoromyceta exibem, em geral, máxima taxa de reação em pH entre 5,0 e 5,5 (ALVES et al., 2005; KUMAR et al., 2005; SATHYA et al., 2009; MERHEB-DINI et al., 2010). Essa elevada atividade enzimática em pH alcalino, registrada para *Mucor* sp. 1. e *M. souzae*, sugere que as enzimas sintetizadas por esses espécimes pertencem ao grupo das proteases alcalinas (EC.3.4.21-24, 99), enzimas eficientes em pH neutro ou alcalino, sendo essas enzimas consideradas as mais importantes quanto à exploração comercial, pela elevada especificidade ao substrato, resistência a altas temperaturas e capacidade de resistir a ambientes com baixa atividade de água (GUPTA et al., 2002).

Em estudo sobre a produção de proteases extracelulares por espécies de *Mucor*, Alves et al. (2005) registraram a biossíntese dessas enzimas em pH 7,8 e 7,9, por *M. circinelloides* f. *griseo-cyanus*, *M. piriformis* f. *piriformis* e *M. piriformis* f. *nanus*, atividade proteolítica em pH próximos ao obtido no presente estudo por *M. souzae*. Entretanto, Silva et al. (2013b) referiram elevada atividade proteolítica para *Thermomucor indicae-seudaticae* em pH 5,5. Resultados similares foram notificados por Arima et al. (1970), que registraram elevada atividade proteásica em pH 4,5, para *Rhizomucor pusillus*, e por Merheb-dini et al. (2010), que relataram atividade proteolítica ótima por *T. indicae-seudaticae* N31 em pH 5,5.

O pH ótimo da atividade coagulante do leite foi 8,0, em tampão acetato, nos ensaios com extrato enzimático bruto de *Mucor* sp.1, enquanto *M. souzae* apresentou máxima atividade em pH 8,5. Diversos estudos têm sido conduzidos na busca por proteases coagulantes sintetizadas por espécies de Mucoromyceta (SILVA et al., 2013b). Em estudo sobre a biossíntese de enzimas coagulantes do leite produzidas por *M. circinelloides*, Sathya et al. (2009) registraram elevada atividade coagulante em pH 5,0. Resultados similares foram obtidos por Silva et al (2016), com a enzima produzida por *R. miehei* apresentando ótima atividade coagulante em pH 5,5, e por Sun et al. (2014), que relataram máxima atividade coagulante em pH 5,2. Em trabalho sobre a purificação e caracterização de uma quimosina de *R. microsporus* (Cohn) Schipper & Stalpers (citada como *R. microsporus* var. *rizopodiformes*). Os dados desses dois últimos trabalhos se contrapõem aos resultados obtidos no presente estudo.

Atividades coagulantes têm sido, frequentemente, registradas em pH neutros e alcalinos, em estudos realizados com extratos vegetais, como do látex de *Streblus asper* Lour. que apresentou melhor atividade em pH 9,0 (TRIPATHI et al., 2011) e em *Jacaratia*

*corumbensis* O. Kuntze, que exibiu boa atividade coagulante em pH entre 6,5 e 7,0 (DUARTE et al., 2009). Silva et al. (2013a), ao estudarem o potencial do látex de Quixaba [*Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T.D. Penn.] como agente coagulante do leite, referiram elevada atividade proteásica e coagulante em pH 8,0, em tampão Tris-HCl, enquanto Soares et al. (2015), em estudo utilizando látex da fruta pão [*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg], obtiveram máxima taxa de reação em pH 8,5, apoiando os dados fornecidos no presente estudo.

De acordo com Sathya et al. (2009), a temperatura é um dos parâmetros críticos em bioprocessos, sendo necessário o seu controle. Estudos têm demonstrado a influência da temperatura na síntese de enzimas pelos espécimes de Mucoromyceta (TUBESHA & AL-DELAIFY, 2003; YU & CHOU, 2005). De acordo com os resultados obtidos, *Mucor* sp. 1 atingiu máxima atividade coagulante a 50 °C, que foi reduzida em 75 °C, em ambos os ensaios, com 10% de atividade coagulante e 12% de taxa de reação da atividade proteolítica, com completa inibição a 80 °C. Esses resultados contrapõem os observados para outras espécies de *Mucor* que exibem, em maioria, ótima coagulação a 30 °C (YEGIN et al., 2011). Tubesha & Al-Delaimy (2003), em estudo sobre proteases coagulantes do leite por espécimes de *Mucor*, registraram melhor atividade coagulante a 30 °C para *Mucor* J120. Resultado similar foi referido por Sathya et al. (2009), com enzimas produzidas por *M. circinelloides* a 30 °C. Espécies de *Mucor* são, em geral, mesofílicas, pressupondo-se que as proteases produzidas por espécimens desse gênero apresentem sensibilidade às temperaturas elevadas (YEGIN et al., 2011). No entanto, nossos resultados mostraram atividade coagulante da protease de *Mucor* sp. 1. em temperaturas altas, atividades em temperaturas elevadas foram registradas também por Thakur et al. (1990): 42 °C, em extratos enzimáticos de *R. miehei* (como *M. miehei*); Silva et al. (2016): 55 °C, para a protease sintetizada por *R. miehei*; Yuqiu et al. (2015): 60 °C, para enzima produzida por *R. pusillus* (como *M. pusillus*).

Nos ensaios experimentais conduzidos com o extrato bruto enzimático de *M. souzae*, a temperatura ótima da atividade coagulante do leite foi 35 °C, com diminuição da atividade até 45 °C e taxa residual de 51%, notou-se aumento da atividade para 82% a 50 °C, seguido de uma variação de 40 a 50% até 75 °C. Essa oscilação, com um pico de atividade de 82% a 50 °C, pode ter ocorrido devido à presença de cálcio no leite durante a determinação da atividade coagulante, uma vez que, após o pico máximo de reação para

atividade proteolítica, cujo ensaio é realizado sem a adição de cálcio, esse comportamento não foi observado (MERHEB-DINI, 2010). A temperatura ótima para a coagulação do leite observada para a protease produzida por *M. souzae* corresponde às registradas por Tubesha & Al-delaimy (2003): 30 °C para *Mucor* J120, e Sathya et al. (2009): 30 °C, em protease sintetizada por *M. circineloides*.

#### 5.3.1.2 Estabilidade ao pH e temperatura

Os extratos enzimáticos produzidos por *Mucor* sp.1 e *M. souzae* foram estáveis durante 180 minutos de reação em todos os tampões, sendo as melhores atividades obtidas em pH básico. O valor máximo de atividade da enzima sintetizada por *Mucor* sp.1 foi observada em pH 9,0, tendo esse se mantido estável, com atividade proteolítica entre 50 e 68%, na faixa de pH entre 5,5 e 8,5. Quanto à estabilidade ao pH da protease extraída de *M. souzae*, notou-se um aumento progressivo da mesma a partir do pH 5,5, com a enzima mantendo-se estável na faixa de pH entre 6,0 e 8,5, com atividades proteolíticas superiores a 68%. Os resultados aqui expostos são semelhantes aos relatados por Kumar et al. (2005) que, ao caracterizarem uma protease sintetizada por *R. arrhizus* (citada como *R. oryzae*), observaram a estabilidade dessa enzima em pH entre 4,0 e 9,0. Resultados semelhantes foram também fornecidos por El-Baky et al. (2011): uma protease produzida pelo basidiomiceto *Piptoporus soloniensis* se mostrou estável em uma faixa de pH entre 3,0 e 9,0. Enzimas que se mostram estáveis em diferentes faixas de pH são vantajosas para as indústrias de laticínios e, de acordo com Soares et al. (2015), é imprescindível que as proteases coagulantes não apresentem sensibilidade às variações do pH do leite, já que a estabilidade da enzima evita a diminuição do rendimento do queijo, bem como produz defeitos na formatação do produto, resultantes de coágulos flácidos ao corte.

A protease produzida por *Mucor* sp.1 apresentou maior estabilidade a 35 e 40 °C, exibindo 100% de atividade após 60 min de reação a 40 °C. Segundo El-Baky et al. (2011), as temperaturas de processamentos de queijos nas indústrias são geralmente ajustadas entre 30 e 35 °C, tendo esses autores referido máxima atividade da protease de *Penicillium* sp. LPB-5 e *P. soloniensis* nessas temperaturas, permanecendo a enzima estável até 40 °C por 30 min. Resultados similares foram registrados por Germano et al. (2003), em estudo sobre a caracterização e estabilidade de proteases por espécies de *Penicillium* e por Sun et al.

(2014), ao estudarem a quimosina produzida por *R. micorsporus* (citada como *R. micorsporus* var. *rhizopodiformis*). Entretanto, os resultados dos nossos ensaios indicaram que a estabilidade térmica do extrato enzimático bruto de *Mucor* sp.1 foi maior em relação ao tempo de incubação do que o mencionado pelos autores supracitados. Além disso, a protease de *Mucor* sp.1 não exibiu desnaturação completa em nenhuma das temperaturas testadas, apresentando valores de atividade, após o pico máximo, acima de 30%.

A estabilidade da protease produzida por *M. souzae* foi similar à produzida por *Mucor* sp.1, sendo a primeira também estável entre 35 e 40 °C, com 100% de reação a 40 °C, após 60 minutos, seguido de declínio até 55 °C, apresentando 34 % de atividade. Entretanto, o extrato enzimático de *M. souzae* apresentou um novo aumento na curva de reação a 65 °C, com atividade de 75%, seguido por diminuição da atividade até 80 °C, sugerindo a existência de uma outra protease coagulante no extrato bruto obtido desse isolado. A termoestabilidade das enzimas é um importante fator para aplicações comerciais, visto que esse comportamento confere resistência às alterações de temperatura, característica importante para que a enzima suporte as condições de armazenamento e transporte (SILVA et al., 2013b).

#### 5.3.1.3 Efeitos da concentração de $\text{CaCl}_2$ na coagulação do leite

A concentração de  $\text{CaCl}_2$  é um importante fator a ser considerado nos bioprocessos nas indústrias de laticínios, principalmente para a produção de queijos (SILVA et al., 2013b). O cálcio atua na constituição de condições isoelétricas favoráveis, criando pontes entre as micelas de caseína, auxiliando na coagulação do leite (MERHEB-DINI et al., 2010). A adição dessa substância ao leite proporciona a formação adequada do coágulo, reduz o tempo de coagulação, aumenta a firmeza do coalho e atua na força do gel. No entanto, concentrações excessivas de cálcio podem resultar na formação de sabor amargo do produto final (CAVALCANTI et al., 2004).

Em relação aos ensaios da influência das concentrações de  $\text{CaCl}_2$  na atividade coagulante do extrato enzimático de *Mucor* sp.1, verificou-se que a máxima atividade foi observada a 0,015 M. Posteriormente, a atividade apresentou uma diminuição a 0,020 M, com 30% de atividade residual. O cálcio exerce função na agregação das caseínas durante a etapa não enzimática da coagulação do leite, neutralizando os resíduos negativos das

micelas de caseína por  $\text{Ca}^{2+}$  e complexos fosfato-cálcio (MERHEB-DINI et al., 2010). A queda dessa atividade pode ser atribuída à provável saturação dos resíduos negativos das micelas. As proteases microbianas obtidas por El-Baky et al. (2011) e Silva et al. (2013b) exibiram a mesma resposta à diferentes concentrações de cálcio, com aumento inicial na atividade seguido de queda. Entretanto, a atividade máxima foi observada na concentração de 0,04 M.

Em se tratando do extrato bruto enzimático de *M. souzae*, a atividade coagulante apresentou um aumento progressivo, com máxima taxa da atividade enzimática ocorrendo a 0,02 M. A adição de íons cálcio tem apresentado efeito positivo sobre a atividade coagulante, com aumentos significativos da curva de atividade sido reportados por Sun et al. (2014), em ensaios com *R. microsporus*, e por Silva et al. (2013b), com extratos enzimáticos de *Thermomucor indicae-seudaticae*, com máxima atividade com  $\text{CaCl}_2$  a 0,04 M, em ambas as espécies. Concentrações de  $\text{CaCl}_2$  a 0,04 M são frequentemente reportadas na literatura para proteases fúngicas (MERHEB-DINI et al., 2010; EL-BAKY et al., 2011; SILVA et al., 2013), seguindo-se da diminuição da atividade coagulante do leite. De acordo com Silva et al. (2013), concentrações superiores a 0,04 M resultam na saturação de resíduos negativos das micelas de caseína e no aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no meio ou pela força iônica excessiva. Diante dos resultados expressos para *M. souzae*, é possível que comportamento similar fosse observado para protease produzida por esse espécime a 0,04 M. Entretanto, concentrações superiores a 0,02 M não foram testadas nesse estudo.

Os resultados obtidos demonstram que as enzimas sintetizadas por *Mucor* sp.1 e *M. souzae* apresentam características que as credenciam como possíveis alternativas às enzimas de origem animal tradicionalmente utilizadas pelas indústrias. Estudos são necessários a fim de otimizar o potencial de aplicação dessas proteases em indústrias lácteas.

## 6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, dentro dos parâmetros experimentais estabelecidos, conclui-se que:

- *Absidia* sp. 1, *Absidia* sp. 2, *A. caatinguensis*, *A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *A.*

*Pseudocylindrospora*, *Backusella* sp. 1, *B. constricta*, *B. lamprospora*, *Cunninghamella bertholletiae*, *C. clavata*, *C. echinulata* var. *antarctica*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *C. elegans*, *C. gigacellularis*, *Gongronella* sp. 1, *G. brasiliensis*, *G. butleri*, *M. turficola*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. guilliermondii*, *M. hiemalis*, *M. luteus*, *M. septatum*, *R. stolonifer* e *Umbelopsis ramanniana* fazem parte da comunidade de Mucoromyceta no solo do brejo de altitude da Serra do Bituri;

- *Absidia* sp. 1, *Absidia* sp. 2, *A. caatinguensis*, *A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *Actinomucor elegans*, *Backusella* sp. 1, *B. constricta*, *B. gigacellularis*, *B. lamprospora*, *Cunninghamella bertholletiae*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *Gongronella* sp. 1, *G. brasiliensis*, *G. butleri*, *Mortierella* sp. 1, *Mortierella* sp. 2, *M. turficola*, *Mucor* sp. 1, *Mucor* sp. 2, *M. circinatus*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. fragilis*, *M. inaequisporus*, *M. indicus*, *M. irregulares* e *R. stolonifer* fazem parte da micobiota edáfica do brejo de altitude de Taquaritinga do Norte;

- *Absidia* sp. 1, *A. caatinguensis*, *A. cylindrospora* var. *cylindrospora*, *Actinomucor elegans*, *Cunninghamella bertholletiae*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *C. echinulata* var. *verticillata*, *G. brasiliensis*, *G. butleri*, *Lichtheimia corymbifera*, *Mortierella* sp. 1, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. irregulares*, *M. lanceolatus*, *M. luteus*, *M. souzae*, *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus*, *R. stolonifer* e *Syncephalastrum racemosum* fazem parte da comunidade de Mucoromyceta do solo do brejo de altitude de Sítio Carro Quebrado, Triunfo;

- A riqueza de Mucoromyceta no solo dos brejos de altitudes é elevada, sendo representada por x espécies, mas varia em relação aos brejos, sendo mais elevada em Taquaritinga do Norte e na Serra do Bituri;

- O estimador de riqueza Chao 1 é eficaz para mensurar a comunidades de Mucoromyceta, em relação a Jackknife 1;

- As comunidades de Mucoromyceta do solo de Taquaritinga do Norte e do Sítio Carro Quebrado são mais homogêneas em relação à comunidade do solo do brejo da Serra do Bituri;
- A diversidade dos Mucoromyceta é alta no solo das áreas dos brejos de altitude examinados, sendo mais elevada no solo da Serra do Bituri;
- A diversidade de Mucoromyceta no solo do Sítio Carro Quebrado varia em relação à diversidade no solo dos brejos da Serra do Bituri e Taquaritinga do Norte;
- *Gongronella butleri*, *Absidia* sp. 1, *A. caatinguensis* e *C. bertholletiae* são abundantes nos solos dos brejos examinados;
- *Gongronella butleri*, *Absidia* sp. 1, *A. caatinguensis* e *C. bertholletiae* são muito frequentes nos solos dos brejos examinados;
- Os três brejos diferem entre si quanto à abundância relativa e frequência de ocorrência das espécies de Mucoromyceta;
- A composição das comunidades de Mucoromyceta não varia entre os solos dos brejos inventariados;
- *Absidia cylindrospora* var. *cylindrospora*, *A. elegans* e *R. arrhizus* var. *arrhizus* são indicadoras dos solos do brejo Sítio Carro Quebrado;
- *Absidia* sp.1 e *Gongronella* sp. 1 indicadoras do solo do brejo de Taquaritinga do Norte;
- *Backusella* sp.1 e *C. echinulata* var. *antarctica* são indicadoras dos solos do brejo de Brejo da Serra do Bituri;
- *Absidia* sp. 1, *Backusella* sp.1, *G. brasiliensis*, *M. septatum* e *M. souzae* são novas;

- *Mortierella turficola* e *M. lanceolatus* ocorrem na América do Sul, mais especificamente no solo de brejos de altitude em Taquaritinga do Norte e Sítio Carro Quebrado, respectivamente;
- *Mucor* sp.1, *Mucor* sp.2, *Mucor circinatus*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. circinelloides* f. *griseocyanus*, *M. circinelloides* f. *janssenii*, *M. circinelloides* f. *lusitanicus*, *M. fragilis*, *M. guilliermondii*, *M. hiemalis*, *M. inaequisporus*, *M. indicus*, *M. irregulares*, *M. lanceolatus*, *M. luteus*, *M. septatum* e *M. souzae* são produtoras de proteases coagulantes do leite;
- Os extratos enzimáticos brutos de *Mucor* sp.1 e *M. souzae* são fontes potenciais de proteases coagulantes do leite;
- Os extratos enzimáticos brutos de *Mucor* sp.1 e *M. souzae* exibem forte atividade coagulante e baixa atividade proteolítica, com maior atividade coagulante em pH alcalino;
- Os extratos enzimáticos brutos de *Mucor* sp.1 e *M. souzae* são estáveis nos valores de pH e temperatura testados;
- A concentração de  $\text{CaCl}_2$  influencia a atividade coagulante do leite.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMČÍK, S. et al. Fungal Biodiversity Profiles 1–10. **Cryptogamie Mycologie**, v. 36 (2), p. 121–166, 2015.
- AIKAWA, J. et al. Replacements of Amino Acid Residues at Subsites and Their Effects on the Catalytic Properties of Rhizomucor pusillus Pepsin, an Aspartic Proteinase from Rhizomucor pusillus. **Journal of Biochemistry**, v. 129, p. 791–794, 2001.
- ALASTRUEY-IZQUIERDO, et al. Species Recognition and Clinical Relevance of the Zygomycetous Genus *Lichtheimia* (syn. *Absidia Pro Parte*, *Mycocladius*). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 2154–2170, 2010.
- ALCORN, G.D.; YEAGER, C.C. A monograph of genus *cunninghamella*, with additional descriptions of several common species. **Mycologia**, v. 30, p. 635–658, 1938.
- ALEXOPOULOS, C. J. *Introductory Mycology*. 2<sup>a</sup> ed. New York: Wiley, 1962.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. Phylum Zygomycota: class Zygomycetes. In: (orgs.) *Introductory mycology*. New York: John Wiley & Sons, pp.127–171, 1996.
- ALVES, M.H.; TRUFEM, S.F.B.; MILANEZ, A.I. Táxons de *Mucor* Fresen. (Zygomycota) em fezes de herbívoros, Recife, PE, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25 (2), p. 147–160, 2002.
- ALVES, M.A. et al. Detection of extracellular protease in *Mucor* species. **Revista Iberoamericana de Micologia** v. 22, p. 114–117, 2005.
- ALVES, A.L.S.M. **Diversidade de Mucorales em solos de brejos de altitude do semiárido de Pernambuco**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Pernambuco, PE, Brasil. p. 86, 2016.
- ALVES, A.L.S.M. et al. *Cunninghamella clavata* from Brazil: a new record for the western hemisphere. **Mycotaxon**, v. 132, p. 381–389, 2017.
- ÁLVAREZ, et al. 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.
- AMANO, N. et al. Chemotaxonomic significance of fatty acid composition in the genus *Mortierella* (Zygomycetes, Mortierellaceae). **Mycotaxon**, v. 45, p. 257–265, 1992.
- AMOS, R.E.; BARNETT, H.L. *Umbelopsis versiformis*, a new genus and species of the imperfects. **Mycologia**, v. 58, p. 805–808, 1966.
- ANDRADE-LIMA, D. Esboço fitoecológico de alguns “brejos” de Pernambuco. **Boletim Técnico, Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco**, v. 8, p. 3–9, 1966.
- 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.
- ANDRADE, V.S. et al. Production of extracellular proteases by *Mucor circinelloides* using D-glucose as carbon source. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 33, p.106–110, 2002.

- ANDRADE, L.A. et al. Análise florística e estrutural de matas ciliares ocorrentes em brejo de altitude no município de Areia, Paraíba. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 1, p. 31–40, 2006.
- ARAÚJO, F.J.C. et al. **Levantamento de reconhecimento de baixa e média intensidade dos solos do estado de Pernambuco**. Recife: Embrapa Solos – UEP Recife; Rio de Janeiro: Embrapa Solos. pp. 252, 2000.
- ARAÚJO, S.M.S. A região semiárida do nordeste do Brasil: questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. **Rios Eletrônica – Revista Científica da FASETE**, v. 5, p. 89–98, 2011.
- ARIYAWANSA, H.A. et al. Fungal diversity notes 111–252—taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. **Fungal diversity**, v. 75, p. 27–274, 2015.
- ASHA, S.; VIDYAVATHI, M. *Cunninghamella* – A microbial model for drug metabolism studies – A review. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 16–29, 2009.
- BAIJAL, U.; MEHROTRA, B.S. The genus *Cunninghamella* a reassessment. **Sydowia**, v. 33, p. 1–13, 1980.
- BAINIER, G. Sur quelques espèces de Mucorinées nouvelles ou peu connues. **Bulletin trimestriel de la Société mycologique de France**, v.19, p. 153–172, 1903.
- BARTNICKI-GARCIA, S. Symposium on biochemical bases of morphogenesis in fungi. mold-yeast dimorphism of mucor. **Bacteriological Review** v.1 p. 2, 1963.
- BEAUVÉRIE, J. *Mycocladus verticillatus* (gen. nov. sp. nov.). Annales de l'université de Lyon, Séries 2, Sciences. **Médecine** v. 3, p. 162–180, 1900.
- BEGON, M.; HARPER, J. L.; TOWNSEND, C. R. **Ecology: Individuals, Population and Communities**. Inglaterra: Blackwell Sci Publ, 1990.
- BELYAUSKAITE, I.P. et al. Purification and some properties of the extracellular aspartic proteinase from *Mucor renninus*. **Enzyme Microbial Technology**, v.2, p. 37–44, 1980.
- BENEVIDES, C.C.P. et al. Immobilization of Rennet from *Mucor miehei* via its sugar chain. Its use in milk coagulation. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 2029–2033, 2004.
- BENJAMIN, R.C.; HESSELTINE, C.W. The genus *Actinomucor*. **Mycologia** v. 49, p. 240–249, 1957.
- BENJAMIN, R.K. The merosporangiferous Mucorales. **Aliso**, v. 4 (2), p. 321–433, 1959.
- BENJAMIN, R.K. *Gamsiella*, a new subgenus of *Mortierella* (Mucorales: Mortierellaceae). **Aliso**, v.9, p. 157–170, 1978.
- BENJAMIN, R.K. Zygomycetes and their spores. in Kendrick B (ed.), *The Whole Fungus*. Ottawa, Nat. **National Museum of Natural Science** v. 2, p. 573–622, 1979.
- BENNY, G.L.; O'DONNELL, K.L. *Amoebidium parasiticum* is a protozoan, not a Trichomycete. **Mycologia** v. 92, n. 6, p. 1133–1137, 2000.
- BENNY, G.L. Zygomycota: Trichomycetes. In McLaughlin DJ, McLaughlin EG, Lemke PA (eds), *The Mycota*. Systematics and Evolution. Berlin, Springer-Verlag. pp 184–195, 2001.
- BENNY, G.L.; BLACKWELL, M. Lobosporangium, a new name for Echinosporangium Malloch, and Gamsiella, a new genus for Mortierella multidivariata. **Mycologia**, v. 96, p. 143–149, 2004.
- BENNY, G.L. (2005) *Backusella*. Publicado na Internet em <http://www.zygomycetes.org>. 2005.
- BENNY, G.L. Zygomycetes. Publicado na Internet em <http://www.zygomycetes.org>. 2009.
- BENNY, G.L.; HUMBER, R.A.; MORTON, J.B. Zygomycota: Zygomycetes. In: MCLAUGHLIN, D.J.; MCLAUGHLIN, E.G.; LEMPKE, P.A. (orgs.) *The Mycota*.

- Vol. VII. *Systematics and Evolution. Part A*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 113–146, 2001.
- BENNY, G.L.; HUMBER, R.A.; VOIGT, K. Zygomycetous Fungi: Phylum Entomophthoromycota and Subphyla Kickxellomycotina, Mortierellomycotina, Mucoromycotina, and Zoopagomycotina. In: MCLAUGHLIN, D. J.; SPATAFORA, J.W. (orgs.) *The Mycota VII Part A, Systematics and evolution*. 2<sup>a</sup> ed. Berlin: Springer-Verlag, pp. 209–250, 2014.
- BENNY, G.L. et al. Challenges and Future Perspectives in the Systematics of Kickxellomycotina, Mortierellomycotina, Mucoromycotina, and Zoopagomycotina. In: LI, D.-W. (org.) *Biology of Microfungi, Fungal Biology*. Switzerland: Springer International Publishing, pp. 65–126, 2016.
- BERKA, R.M. et al. Comparative genomic analysis of the thermophilic biomass-degrading fungi *Myceliophthora thermophila* and *Thielavia terrestris*. **Nature biotechnology** v. 29, n. 10, p. 922–927, 2011.
- BERLÈSE, A.N.; DE TONI, J.B. **Phycomyceteae** p. 181–322, 1888. In: P.A. Saccardo's Sylloge fungorum. R. Friedländer & Sohn, Berlin, Germany. 1888.
- BIDARTONDO, M.I. et al. The dawn of symbiosis between plants and fungi. **Biology Letters** v. 7, p. 574–577, 2011.
- BILLS, G.F. et al. Saprobic soil fungi. In: MUELLER, G.M.; BILLS, G.F.; FOSTER, M.S. (org.) *Inventory and monitoring methods*. Biodiversity Fungi, pp. 271–302, 2004.
- BLAIR, J.E. Fungi. In: Hedges SB, Kumar S (eds), *The timetree of life*. pp 215–219. 2009.
- BUDZISZEWSKA, J.; PIATKOWSKA, J. Taxonomic position of *Mucor hiemalis* f. *luteus*. **Mycotaxon**, v. 111, p. 75–85, 2010.
- CAFARO, M. Eccrinales (Trichomycetes) are not fungi, but a clade of protists at the early divergence of animals and fungi. **Molecular Phylogenetics and Evolution** v. 35, p. 21–34, 2005.
- CAVALCANTE, A. **Jardins suspensos no Sertão**. *Scientific American*, São Paulo, ano 3, n. 2, p. 66–73, 2005.
- CAVALCANTI, M.T.H. et al. Partial purification of new milk-clotting enzyme produced by *Nocardiopsis* sp. **Bioresource technology**, v. 93, p. 29–35, 2004.
- CALVACANTI, M.A.Q. et al. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios da região Xingó, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 831–837, 2006.
- 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.
- CANUTO, R.A. et al. Lipid peroxidation in rat AH-130 hepatoma cells enriched *in vivo* with arachidonic acid. **Cancer Research**, v. 51, p. 4603–4608, 1991.
- CASTELLA, P.R.; BRITZ, R.M. A floresta com Araucária no Paraná: conservação, e diagnóstico dos remanescentes florestais. **Ministério do Meio Ambiente, Brasília**. p. 1–23, 2004.
- CAVALCANTI, D.; TABARELLI, M. Distribuicao das Plantas Amazonico-Nordestinas no Centro de Endemismo Pernambuco: Brejos de Altitude vs. Florestas de Terras Baixas. In: Porto, K.C., Cabral, J.J.P., Tabarelli, M. (eds.). *Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba História Natural, Ecologia e Conservação*. Brasília, Ministerio do Meio Ambiente, pp. 285–296. 2004.
- CAVALIER-SMITH, T. A revised six-kingdom system of life. **Biological Reviews, Cambridge** v. 73, p. 203–266, 1998.

- CHEN, G. Q.; ZHENG, R.Y. A new species of *Mucor* with giant spores. **Acta Mycol. Sinica, Supplement**, v. 1, n. 1, p. 56–60, 1986.
- CHEN, C.C. et al. Purification and characterization of a new rhizopuspepsin from *Rhizopus oryzae* NBRC 4749. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 742–747, 2009.
- COEMANS, E. Quelques hyphomycètes nouveaux. – Ire. – I. *Mortierella polycephala* et II. *Martensella pectinata*. **Bulletin de l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique**. v. 15, p. 536–544, 1863.
- COLWELL, R. K.; MAO, CHANG XUAN; CHANG, JING. Interpolating, extrapolating, and comparing incidence-based species accumulation curves. **Ecology**, v. 85, n. 10, p. 2717–2727, 2004.
- CORDEIRO, T.R.L. **Diversidade de Mucoromycotina no semiárido do Brasil**. Monografia. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2014.
- COUTINHO, L.M. O conceito de bioma. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 13–23, 2006.
- 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, p. 292–298.
- CRUZ, R. et al. Diversity of filamentous fungi of area from Brazilian Caatinga and high-level tannase production using mango (*Mangifera indica* L.) and surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) leaves under SSF. **Advances in Microbiology**, v. 3, n. 08, p. 52, 2013.
- CUTTER, V.M. The genus *cunninghamella* (Mucorales). **Farlowia**, v. 2, p. 321–362, 1946.
- DAVEL, G. et al. Maxillary sinusitis caused by *Actinomucor elegans*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39 (2), p. 740–742, 2001.
- DAVIES, J.L.; NGELEKA, M.; WOBESER, G.A. Systemic infection with *Mortierella wolfii* following abortion in a cow. **Canadian Veterinary Journal**, v. 51, p. 1391–1393, 2010.
- D'AMBROSIO, A. et al. Proteolytic and milk clotting activities in extracts obtained from the crustaceans Munida. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 22, p. 145–150, 2003.
- DEGAWA, Y.; GAMS, W. A new species of *Mortierella*, and an associated sporangiferous mycoparasite in a new genus, *Nothadelphia*. **Studies in Mycology**, v.50, p. 567–572, 2004.
- DE HOOG, G.S. et al., (eds). **Atlas of clinical fungi**, 3<sup>rd</sup> ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 2009.
- DE LIMA, M.E.F.S. **Diversidade de Mucorales (Mucoromycota) em solos de brejos de altitude de Pernambuco**. Monografia – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, p. 81, 2018.
- DE RUITER, G.A. et al. Approaches to the classification of the *Mortierella isabellina* group (Mucorales). Taxonomic value of extracellular polysaccharides. **Mycological Research**, v. 97, p. 690–696, 1993.
- DE SOUZA, J.I. et al. A new species of *Backusella* (Mucorales) from a Cerrado reserve in Southeast Brazil. **Mycological Progress** v. 13, p. 975–980, 2014.
- DE SOUZA, C.A.F. et al. Mucorales (Mucoromycotina). In: SANTOS E.M., MELO JR. M., SILVA-CAVALCANTI J.S.S., ALMEIDA G.V.L. (eds) *Parque Estadual Mata da*

- Pimenteira: *Riqueza Natural e Conservação da Caatinga*. EDUFERPE, Recife, pp 51–63, 2013.
- DE SOUZA, C.A.F. et al. Coprophilous Mucorales (ex Zygomycota) from three areas in the semi-arid of Pernambuco, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 48(1) p. 79–86, 2016.
- DE SOUZA, C.A.F. et al. A new species of *Mucor* (Mucoromycotina, Mucorales) isolated from an enclave of Upland Atlantic Forest in the semi-arid region of Brazil. **Phytotaxa**, v. 351, n. 1, p. 53 – 62. 2018.
- DESIRÒ, A. et al. Multigene phylogeny of Endogonales, an early diverging lineage of fungi associated with plants. **IMA Fungus**, v. 8, p. 245–257, 2017.
- DICKIE, I.A. et al. Evolving insights to understanding mycorrhizas. **New Phytologist** v. 205 p. 1369– 1374, 2015.
- DICKINSON, C.H; MAGGS, G.H. Aspects of the decomposition of Shagnum leaves in an ombrophilous mire. **New Phytologist**, v. 73, p. 1249–1257, 1974.
- DIX, N.J.; WEBSTER, J. *Fungal ecology*. Chapman & Hall, London. pp. 549, 1995.
- DOLATABADI, S. et al. Diversity and delimitation of *Rhizopus microsporus*. **Fungal Diversity**, v. 64, p. 145–163, 2014.
- DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. *Compendium of soil fungi*. 1. Academic Press, San Francisco. 1993.
- DOMSCH, K.H., GAMS, W., ANDERSON, T.H. *Compendium of Soil Fungi*. IHW-Verlag, San Francisco. pp. 43, 2007.
- 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, p. 37–43, 2002.
- DUARTE, A.R. et al. *Jacaratia corumbensis* O. Kuntze a new vegetable source for milk-clotting enzymes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 1–9, 2009.
- DUFRENE, M.; LEGENDRE, P. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. **Ecological Monographs**, V. 67, 345–366, 1997.
- EL-BAKY, H.A. et al. PsoP1, a Milk-Clotting Aspartic Peptidase from the Basidiomycete Fungus *Piptoporus soloniensis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 10311–10316, 2011.
- FERNANDEZ-LAHORE, H.M. et al. Aspartic proteinase recovery from solid state fermentation system. **Journal of Biotechnology**, v. 62, p. 83–93, 1998.
- FERREIRA, J.A. et al. Zygomycetes-based biorefinery: Present status and future prospects. **Bioresource technology**, v. 135, p. 523–532, 2013.
- FLORA DO BRASIL 2018, ALGAS, FUNGOS E PLANTAS. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB120276>>. Acesso em: 30 set. 2018.
- FRAILE, E.R. et al. Selección de cepas de *Mucor* sp productoras de enzimas coagulantes de leche. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 10, p. 65–69, 1978.
- FRAILE, E.R, et al. Milk-clotting enzyme from *Mucor bacilliformis*. **European Journal of Applied Microbiology Biotechnology**, v. 13, p. 191–193, 1981.
- FREEMAN, M.P. Omega-3 fatty acids in psychiatry: a review. **Annals of Clinical Psychiatry**, v. 12, n.3, p. 159–165, 2000.

- GERMANO, S. et al. Characterization and stability of proteases from *Penicillium* sp. produced by solid-state fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 32, p. 246–25, 2003.
- GRANTINA, L. et al. The influence of the land use on abundance and diversity of soil fungi: comparison of conventional and molecular methods of analysis. **Environmental and Experimental Biology**, v. 9, p. 9–21, 2011.
- GRANTINA, L. et al. Monitoring seasonal changes in microbial populations of spruce Forest soil of the Northern Temperate Zone. **Estonian Journal of Ecology**, v. 61, p. 190–214, 2012.
- GRANTINA-LEVINA, L. et al. Production of fatty acids by *Mortierella* and *Umbelopsis* species isolated from temperate climate soils. **Environmental and Experimental biology**, v. 12, p. 15–27, 2014.
- GUPTA, R.; BEG, Q.K.; LORENZ, P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 15–32, 2002.
- GHERBAWY, Y. et al. Molecular barcoding of microscopic fungi with emphasis on the mucoralean genera *Mucor* and *Rhizopus*. In: GHERBAWY, Y.; VOIGT, K. (eds.) *Molecular identification of fungi*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. pp. 213–250, 2010.
- 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.
- GIULLIETI, A.M.; CONCEICAO, A.; QUEIROZ, L.P. *Diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido brasileiro*. Associacao Plantas do Nordeste, Recife. 2006.
- GOHEEN, S.C. et al. Dietary arachidonic acid reduces fatty liver, increases diet consumption and weight gain in ethanol-fed rats. **Lipids**, v. 15, p. 328–336, 1980.
- GOMES, N.C.M. et al. Dynamics of Fungal Communities in Bulk and Maize Rhizosphere Soil in the Tropics. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 3758–3766, 2003.
- GOTELLI, N.J.; COLWELL, R.K. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. **Ecology letters**, v. 4, n. 4, p. 379–391, 2001.
- GUO, J. et al. Isolation of *Cunninghamella bigelovii* sp.no. CGMCC 8094 as a new endophytic oleaginous fungus from *Salicornia bigelovii*. **Mycological Progress**, v. 14(3), 2015.
- GUSMÃO, L.F.P.; BARBOSA, F.R.; BARBOSA, F.F. **Fungos Conidiais**. In: Gusmão LFP; Maia LC. (Org.). *Diversidade e caracterização dos fungos no semi-árido*. 1. Ed. Recife: Associação Plantas do Nordeste, V. 2, p. 27–47, 2006.
- HAN, B.Z. et al. Effects of temperature and relative humidity on growth and enzyme production by *Actinomucor elegans* and *Rhizopus oligosporus* during sufu pehtze preparation. **Food Chemistry**, v. 81 (1) p. 27–34, 2003.
- HANDEL, M.; FRAILE, E.R. Production of milk-clotting enzymes by aerated submerged culture of the strain of *Mucor mucedo*. **Acta Cientifica Venezolana**, v. 35, p. 111–115, 1984.
- HAN, B.Z. et al. Mucoraceous moulds involved in the commercial fermentation of Sufu Pehtze. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 85, p. 253–257, 2004.
- HAO, G. et al. Metabolic engineering of *Mortierella alpine* for arachidonic acid production with glycerol as carbon source. **Microbial Cell Factories**, v. 14, p. 1–14, 2015.

- HASHEM A.M. Optimization of milk-clotting productivity by *Penicillium oxalicum*. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 203–207, 1999.
- HASHIM, A.B. et al. Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cysteine protease. **Phytochemistry**, v. 72, p. 458–464, 2011.
- HAYALOGLU, A.A.; KARATEKIN, B.; GURKAN, H. Thermal stability of chymosin or microbial coagulant in the manufacture of Malatya, a Halloumi type cheese: Proteolysis, microstructure and functional properties. **International Dairy Journal**, v. 38, p. 136–144, 2014.
- HERMET, A. et al. Molecular systematics in the genus *Mucor* with special regards to species encountered in cheese. **Fungal Biology**, v. 116, p. 692–705, 2012.
- HELSELTINE, C.W.; ELLIS, J.J. Notes on Mucorales, especially *Absidia*. **Mycologia**, v. 53, p. 406–426, 1961.
- HELSELTINE, C.W.; ELLIS, J.J. The genus *Absidia*: *Gongronella* and cylindrical-spored species of *Absidia*. **Mycologia**, v. 56, p. 568–601, 1964.
- HELSELTINE, C.W. Zygomycetes in food fermentation. **Mycologist**, v. 5, n. 1, p.162–169, 1986.
- HIBBETT, D.S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research** v. 3, p. 509–547, 2007.
- HIBBETT, D.; GLOTZER, D. Where are all the undocumented fungal species? A study of *Mortierella* demonstrates the need for sequence- based classification. **New Phytologist**, v. 191, p. 592–596, 2011.
- HIGASHIYAMA, K.; FUJIKAWA, S.; PARK, E.Y. Production of arachidonic acid by *Mortierella* fungi. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 7, p. 252–262, 2002.
- HILL, M.O. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. **Ecology**, v. 54 (2), 427–432, 1973.
- HIROSE, D. et al. The anamorphic genus *Calcarisporiella* is a new member of the Mucoromycotina. **Mycoscience**, v. 53, p. 256–260, 2012.
- HIROTA, M.M. **Monitoring the Brazilian Atlantic Forest cover** p. 60–65, 2003. 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. 2003.
- HOFF, J.A.. et al. Fungal endophytes in woody roots of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and ponderosa pine (*Pinus ponderosa*). **For Pathology** v. 34 p. 255–271, 2004.
- HOFFMANN, K.; 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, 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.; WALTHER, G.; VOIGT, K. Mycocladus vs. Lichtheimia: a correction (Lichtheimiaceae fam. nov., Mucorales, Mucoromycotina). **Mycological Research**, v. 113, p. 277–278, 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, K. et al. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. **Persoonia** v. 30, p. 57–76, 2013.
- HOLLAND, H.L. Biotransformation of organic sulfides. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 171–181, 2001.
- HSIAO, N-W. et al. Purification and characterization of an protease from the *Rhizopus oryzae* protease extract, Peptidase R. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 17, p. 89–94, 2014.
- HYDE, K.D. et al. Fungal diversity notes 367–490: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. **Fungal Diversity**, v. 80, p. 1–270, 2016.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2011. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: Junho 2017.
- IBRAHIM, A.A. et al. Statistical optimization of milk clotting enzyme biosynthesis by *Mucor mucedo* KP736529 and its further application in cheese production. **International Journal of Dairy Science**, v. 10, p. 61–76, 2015.
- 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, T.Y. et al. Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. **Nature** v. 443, p. 818–822, 2006.
- JAROS, D.; SEITLER, K.; RAHM, H. Enzymatic coagulation of milk: animal rennets and microbial coagulants differ in their gelation behaviour as affected by pH and temperature. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p. 1721–1727, 2008.
- JIANG, X. et al. *Echinochlamydosporium variable*, a new genus and species of Zygomycota from soil nematodes. **Fungal Diversity**, v. 46, p. 43–51, 2011a.
- JIANG, W. et al. Species composition and molecular analysis of symbiotic fungi in roots of *Changnienia amoena* (Orchidaceae). **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, p. 222–228, 2011b.
- JONG, S.C.; YUAN, G.F. *Actinomucor taiwanensis* sp. nov., for manufacture of fermented soybean food. **Mycotaxon** v. 23, p. 261–264, 1985.
- KARIMI, K. et al. Phenotypic and molecular characterization of the causal agent of chafer beetle mortality in the wheat fields of the Kurdistan province, Iran. **Journal of Plant Protection Research**, v. 55, 227–234, 2015.
- KAVADIA, A. et al. Lipid and linolenic acid accumulation in strains of Zygomycetes growing on glucose. **Journal of American Oil Chemists` Society** v. 78, p. 341–346, 2001.
- KENDRICK, B. et al. A study of morphological variability, character analysis, and taxonomic significance in the zygomycetous anamorph-genus *Umbelopsis*. **Mycotaxon**, v. 51, p. 15–26, 1994.
- KHAN, Z.U. et al. *Actinomucor elegans* var. *kuwaitiensis* isolated from the wound of a diabetic patient. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 94 (3), p. 343–352, 2008.
- KIRK, P.M. et al. **Dictionary of the Fungi**, 10th ed. CABI, Wallingford, UK. 2008.
- KOSA, M.; RAGAUSKAS, A.J. Lipids from heterotrophic microbes: advances in metabolism research. **Trends in Biotechnology**, v. 29, p. 53–61, 2011.
- KRINGS, M.; TAYLOR, T.N.; DOTZLER, N. Fossil evidence of the zygomycetous fungi. **Persoonia** v. 30, p. 1–10, 2013.
- KUBOSOVA, K. et al. Selection of indicative taxa for river habitats: a case study on benthic macroinvertebrates using indicator species analysis and the random forest methods. **Hydrobiologia**, v. 651, p. 101–114, 2010.

- KUMAR, S. et al. Extracellular acid protease from *Rhizopus oryzae*: Purification and characterization. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1701–1705, 2005.
- KWAŚNA, H.; WARD, E.; BATEMAN, G.L. Phylogenetic relationships among Zygomycetes from soil based on ITS1/2 rDNA sequences. **Mycological Research**, v. 110, p. 501–510, 2006.
- LAGOS, A.R.; MULLER, B.L. *Hot spot* Brasileiro: Mata Atlântica. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 2, p. 35–45, 2007.
- LI, G.J. et al. Fungal diversity notes 253–366: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. **Fungal Diversity**, v. 77, p. 1–237, 2016.
- LIMA, D.A. Estudos fitogeográficos de Pernambuco. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 4, p. 243–274, 2007.
- LIMA, D.X. et al. *Circinella simplex* – a misapplied name of *Mucor circinatus* sp. nov. **Phytotaxa**, v. 329, p. 269–276, 2017.
- LIMA, C.L.F. et al. Description of *Mucor pernambucoensis* (Mucorales, Mucoromycota), a new species isolated from the Brazilian upland rainforest. **Phytotaxa**, v. 350, p. 274–282, 2018.
- LIMA, D.X. **Aspectos ecológicos e caracterização enzimática de Mucorales de solos de Mata Atlântica do litoral de Pernambuco, Brasil**. Tese de doutorado – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. p. 112, 2018a.
- LIMA, C.F.L. **Diversidade de Mucorales em duas áreas de brejo de altitude de Pernambuco**. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2018b.
- LIMA, D.X.; SANTIAGO, A.L.C.M. 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. et al. Description of *Backusella constricta* sp. nov. (Mucorales, ex Zygomycota) from the Brazilian Atlantic Rainforest, including a key to species of *Backusella*. **Phytotaxa**, v. 289, p. 59–68, 2016.
- LIN, J.S. et al. Purification and characterization of a novel extracellular tripeptidyl peptidase from *Rhizopus oligosporus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 330–337, 2011.
- LING-YONG, M. Étude des phénomènes de la sexualité chez Mucorinées. **Revue Générale de Botanique**, v. 42, p. 567–768, 1930.
- LINS, R.C. **As áreas de exceção do agreste de Pernambuco**. Sudene, Recife. p. 260, 1989.
- Lista das espécies e flora do Brasil 2017. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do;jsessionid=08999AB74B64BB48D677F3FE9C27B4E0>>. Acessado 10 mai. 2017.
- LIU, X.Y.; HUANG, H.; ZHENG, R.Y. Relationships within *Cunninghamella* based on sequence analysis of ITS r DNA. **Mycotaxon**, v. 80, p. 77–95, 2001.
- LOPES, C.G.R.; FERRAZ, E, M.N.; ARAUJO, E.L. Caracterizacao fisionomica de um fragmento de Floresta Atlantica no municipio de Sao Vicente Ferrer, PE, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 1174–1176, 2007.
- MACÊDO, M. B. **Diferentes nuances de uma mesma cor: mudanças de significado da Serra de Maranguape (CE)**. In: E. Funes et al. (eds.). *Natureza e Cultura: capítulos de história social*. Expressão Gráfica, Fortaleza, v. 10, p. 131–145, 2013.
- MACHALINSKI, C. et al. Structural aspects of the *Mucor bacilliformis* proteinase, a new member of the apartyl-proteinase family. **Journal of Biotechnology**, v. 123, p. 443–452, 2006.

- MACCHIONE, M.M. et al. Protease production by different thermophilic fungi. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.146, p.223–230, 2008.
- MADDEN, A.A. et al. *Mucor nidicola* sp. nov., a novel fungal species isolated from an invasive paper wasp nest. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 62, p. 1710–1714, 2012.
- 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**. pp 307–340, 2004.
- MAHMUD, A. et al. *Actinomucor elegans* as an emerging cause of Mucormycosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50 (3), p. 1092–1095, 2012.
- MALDONADO-COELHO, M.; MARINI, M.A. Mixed-species bird flocks from Brazilian Atlantic forest: the effects of forest fragmentation and seasonality on their size, richness and stability. **Biological Conservation**, v. 116, n. 1, p. 19–26, 2004.
- MANDUJANO-GONZÁLEZ, V. et al. Secreted fungal aspartic proteases: A review. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 33, p. 76–82, 2016.
- McNEILL, J. et al. (eds & comps) *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code), adopted by the Eighteenth International Botanical Congress, Melbourne, Australia, July 2011*. Koeltz Scientific Books, Königstein, Germany. Regnum Vegetabile v. 154, 2012.
- MEHROTRA, B.S.; MEHROTRA, B.M. Another azygosporic species of *Mucor* from India. **Sydowia**, v. 31, n. 1, p. 94–96, 1978.
- MELO FILHO, J.F.; SOUZA, A.L.V. O manejo e a conservacao do solo no Semi-arido baiano: desafios para a sustentabilidade. **Bahia Agrícola**, v. 7, p. 50–60, 2006.
- MELO, I.S, et al. Isolation and biological activities of an endophytic *Mortierella alpina* strain from the Antarctic moss *Schistidium antarctici*. **Extremophiles**, v. 18, p. 15–23, 2014.
- MENKIS, A. et al. High-throughput sequencing shows high fungal diversity and community segregation in the rhizospheres of container-grown conifer seedlings. **Forests**, v. 7, 44, p. 1–15, 2016.
- MERHEB-DINI, C. et al. Production and characterization of a milk-clotting protease in the crude enzymatic extract from the newly isolated *Thermomucor indica-seudaticae* N31. **Food Chemistry** v. 120, 87–93, 2010.
- MESQUITA, C.A.B. et al. O papel do setor florestal na conservação da biodiversidade na Mata Atlântica. In: BENSUSAN, N.; BARROS, A.C.; BULHÕES, B.; ARANTES (ed.) *A Biodiversidade: é para comer, vestir ou para passar no cabelo? Para mudar o mundo!* Editora Peirópolis, pp. 175–193, 2006.
- METZGER, J.P. Tree functional group richness and landscape structure in a Brazilian tropical fragmented landscape. **Ecological Applications**, v. 10, p. 1147–1161, 2000.
- MILKO, A.A.; BELJAKOVA, L.A. The genus *Cunninghamella* Matruchot and taxonomy of Cunninghamellaceae. **Microbiologiya**, v. 86, p. 684–699, 1967.
- MIRZA et al. **Mucorales of Pakistan**. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan. p. 183, 1979.
- MISRA, P.C. Uma nova espécie de *Syncephalastrum*. **Mycotaxon**, v. 3, p. 51–54, 1975.
- 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.

- MMA – Ministerio do Meio Ambiente. *Quarto relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica: Brasil*. Brasília. 2011.
- MORELLATO, L.P.C.; HADDAD, C.F.B. Introductions: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**, v. 32, p. 786–792, 2000.
- MORO, M.F. et al. **Vegetação, unidades fitoecológicas e diversidade paisagística do estado do Ceará**. *Rodriguésia*, v. 66, n. 3, p. 717–743, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201566305>>.
- MUMMEY, D.L.; CLARKE, J.T.; COLE, C.A.; O’CONNOR, B.G.; GANNON, J.E.; RAMSEY, P.W. Spatial analysis reveals differences in soil microbial community interactions between adjacent coniferous forest and clearcut ecosystems. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 7, p. 1138–1147, 2010.
- NASCIMENTO, L. M.; RODAL, M.J.N.; SILVA, A.G. **Florística de uma floresta estacional no Planalto da Borborema, Nordeste do Brasil**. *Rodriguésia*, v. 63, n. 2, p. 429–440, 2012.
- NAGY, L.G. et al. Where is the unseen fungal diversity hidden? A study of Mortierella reveals a large contribution of reference collections to the identification of fungal environmental sequences. **New Phytologist**, v. 191, p. 789–794, 2011.
- NASCIMENTO, L.M.; RODAL, M.J.N. Fisionomia e estrutura de uma floresta estacional montana do macico da Borborema, Pernambuco – Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, p. 27–39, 2008.
- NAUMOV, N.A. Clés des Mucorinées (Mucorales). Paris, 1939.
- NEVES-SOUZA, R.D.; SILVA, R.S.S.F. Study of cost and yield of minas like fresh cheese produced with added fat free soybean hydrosoluble extract powder with curd formed by different coagulants agents. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 170–174, 2005.
- NEWSHAM, K.K. et al. Discrete taxa of saprotrophic fungi respire different ages of carbon from Antarctic soils. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1–10, 2018.
- NEWTON, P. et al. Microbiota dos solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J., ANDRADE, D.E.G.T. & MENEZES, M. (Eds.) *Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais*. Imprensa Universitária, pp. 61–93, 2005.
- 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.
- NYKIEL-SZYMAŃSKA, J.; STOLAREK, P.; BERNAT, P. Elimination and detoxification of 2,4-D by *Umbelopsis isabellina* with the involvement of cytochrome P450. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 2738–2743, 2017.
- OCHORA, J. et al. Symbiotic seed germination in twelve Kenyan orchid species. **Systematics and Geography of Plants**, v. 71, p. 585–596, 2001.
- O’DONNELL et al. 1977. *Azygosporengensis* in *Mucor azygosporeus*. **Canadian Journal of Botany**, v. 55, n. 1, p. 2712–2720, 1977.
- O’DONNELL, K. et al. Evolutionary relationships among mucoralean fungi (Zygomycota): evidence for family polyphyly on a large scale. **Mycologia** v. 93, p. 286–297, 2001.
- OKITA, M. et al. Improvement of Polyunsaturated Fatty Acid deficiency in decompensated cirrhotic patients by arachidonic acid-rich oil capsules. In: YASUGI, T.; NAKAMURA H.; SOMA, M. (orgs.) *Advances in Polyunsaturated Fatty acid Research*. The Netherlands: Elsevier Science Publishers B. V., pp. 241–242, 1993.

- OLIVEIRA, T.S.; ARAÚJO, F.S. 2007. **Diversidade e conservação da biota na Serra de Baturité, Ceará**. Editora da Universidade Federal do Ceará - COELCE, Fortaleza. 465p, 2007.
- OLIVEIRA, M.A.; GRILLO, S.A.; TABARELLI, M. Forest edge in the Brazilian Atlantic Forest: drastic changes in tree species assemblages. **Oryx**, v. 38, p. 389–394, 2004.
- OLIVEIRA, L.G. et al. Diversity of filamentous fungi isolated from the soil in the semiarid area, Pernambuco, Brazil. **Journal of Arid Environments**, v. 95, p. 49–54, 2013.
- ORLANDELLI, R.C. et al. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia** v. 7, n. 3, p. 97–109, 2012.
- ORLOWSKI, M. *Mucor* Dimorphism. **Microbiological Reviews** v. 55, n. 2, p. 234–258, 1991.
- PACIÊNCIA, M.L.B.; PRADO, J. 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.
- PALMER, M.W. The estimation of species richness by extrapolation. **Ecology**, v. 71, p. 1195–1198, 1990.
- PARTIDA-MARTINEZ, L.P.; HERTWECK, C. Pathogenic fungus harbors endosymbiotic bacteria for toxin production. **Nature** v. 437, p. 884–888, 2005.
- PEKALA, E.; KUBOWICZ, P.; ŁĄŻEWSKA, D. *Cunninghamella* as a Microbiological Model for Metabolism of Histamine H3 Receptor Antagonist 1-[3-(4-tert-Butylphenoxy) propyl]piperidine. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, p. 1584–1593, 2012.
- PEI, K.Q. A new variety of *Mucor variosporus* and the validation of *M. luteus* Linnemann and *M. variosporus* Schipper. **Mycosystema**, v. 19, p. 10–12, 2000.
- PEREIRA, F.O. et al. Microbiota fúngica do solo e ar atmosférico na região da Borborema, Estado da Paraíba, Brasil. **RBAC**, v. 42, n. 2, p. 123–126, 2010a.
- PEREIRA, R.C.A.; SILVA, J.A.; BARBOSA, J.I.S. Flora de um “brejo de altitude” de Pernambuco: Reserva Ecológica da Serra Negra. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 7, p. 286–304, 2010b.
- PERŠOH, D. Factors shaping community structure of endophytic fungi – evidence from the Pinus-Viscum-system. **Fungal Diversity**, v. 60, p. 55–69, 2013.
- PETKOVITS, T. et al. Data partitions, Bayesian analysis and phylogeny of the zygomycetous fungal family Mortierellaceae, inferred from nuclear ribosomal DNA sequences. **PLoS One**, v. 6, 27–57, 2011.
- PEYRONEL, B.; DAL VESCO, G. Ricerche sulla microflora di un terreno agrario presso Torino. **Allionia**, v. 2, p. 357–417, 1955.
- PHALIP, V. et al. An overview of fungal community diversity in diseased hop plantations. **FEMS Microbiology Ecology** v. 56 (2), p. 321–329, 2006.
- PICI, G. Qualche osservazione sopra due Mucoraceae. **Atti Inst Bot Univ Pavia**, v. 13, p. 38–44, 1955.
- PIDOPLICHKO, N.M.; MILKO, A.A. **Atlas of mucoralean fungi**. Academic Science Ukrainian S.S.R, Kiev, pp. 188, 1971.
- PILLAR, V.D. 1995. Clima e vegetação. UFRGS, Departamento de Botânica. Disponível em: <<http://ecoqua.ecologia.ufrgs.br>>. Acesso em: 28 maio 2017.
- PINTO, L.P.; BRITO, C.W. Dinâmica da perda da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira: uma introdução. Belo Horizonte: SOS Mata Atlântica / Conservação Internacional do Brasil. 2005.

- 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*. Editora Universitária, Recife. pp. 3–74, 2003.
- RAMBALDI, D.M.; OLIVEIRA, D.A.S. **Fragmentação de Ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas**. Brasília: MMA/SBF, p. 510, 2003.
- RATLEDGE, C. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production. **Biochimie**, v. 86, p. 807–15, 2004.
- RESENDE, M.; LANI, J.L.; REZENDE, S.B. Pedossistemas da Mata Atlântica: considerações pertinentes sobre sustentabilidade. **Revista Árvore** v. 26, n. 3, p. 261–269, 2002.
- RIBEIRO, M.C. et al. **The Brazilian Atlantic Forest: A Shrinking Biodiversity Hotspot**. In.: F.E. Zachos & J.C. Habel (eds.). *Biodiversity Hotspots*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 405–434, 2011.
- RIBES, J.A.; VANOVER-SAMS, C.L.; BAKER, D.J. Zygomycetes in human disease. **Clinical Microbiology Reviews** 13, p. 236–301, 2000.
- RICHARDSON, M.J. The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure. **Clinical Microbiology and Infection** v. 15, p. 2–9, 2009.
- ROA ENGEL, C.A. et al. Fumaric acid production by fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 78, p. 379–389, 2008.
- RODAL, M.J.N. et al. Flora de um Brejo de Altitude na escarpa oriental do planalto da Borborema, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, p. 843–858, 2005.
- RODEN, M.M, et al. Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. **Clinical Infectious Diseases** v. 41, p. 634–653, 2005.
- RODRIGUES, P.C.G. et al. Ecologia dos Brejos de Altitude de Pernambuco. **Revista de Geografia**, v. 25, n. 3, p. 20–34, 2008.
- SAMPAIO, E.V.S.B. Overview of the Brazilian Caatinga. **Seasonally dry forests**. Cambridge, p. 35–58, 1995.
- SANTIAGO, A.L.C.M.A.; SOUZA-MOTTA, C.M. Mucorales isolados do solo de mineração de cobre e produção de amilase e inulinase. **Acta Botanica Brasilica** v. 20, p. 641–647, 2006.
- SANTIAGO, A.L.C.M.A.; MAIA, L.C. Two new records of Mucorales from the brazilian semi-arid region. **Mycotaxon** v. 114, p.171–177, 2010.
- SANTIAGO, A.L.C.M.A.; BENNY, G.L.; MAIA, L.C. *Syncephalis aggregate*, a new species from the semiarid region of Brasil. **Mycologia**, v. 103, p. 135–138, 2011.
- SANTIAGO, A.L.C.M.A.; SANTOS, P.J.P.; MAIA, L.C. Mucorales from the semiarid of Pernambuco, **Brazilian Journal of Microbiology** v. 44 (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.
- SANTOS, A.M.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.
- SATHYA, R. Production of milk clotting protease by a local isolate of *Mucor circinelloides* under SSF using agro-industrial wastes. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 14, p. 788–794, 2009.
- SATO, Y. et al. Detection of Betaproteobacteria inside the mycelium of the fungus *Mortierella elongata*. **Microbes and Environments**, v. 25, p. 321–324, 2010.

- SCHIPPER, M.A.A. A study on variability in *Mucor hiemalis* and related species. **Studies in Mycology**, v. 4, p. 1–40, 1973.
- SCHIPPER, M.A.A. *Mucor mucedo*, *Mucor flavus* and related species. **Studies in Mycology**. V. 10, p. 1–33, 1975.
- SCHIPPER, M.A.A. On *Mucor circinelloides*, *Mucor racemosus* and related species. **Studies in Mycology**, v. 12, p. 1–40, 1976.
- SCHIPPER, M.A.A. On certain species of *Mucor* with a key to all accepted species. **Studies in Mycology**, v. 17, p. 1–69, 1978.
- SCHIPPER, M.A.A. A revision of the genus *Rhizopus* I. The *Rhizopus stolonifer* group and *Rhizopus oryzae*. **Studies in Mycology**, v. 25, p. 1–34, 1984.
- SCHIPPER, M.A.A.; 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. *Mucor laxorhizus*. **Studies in Mycology** v. 31, p. 151–155, 1989.
- SCHIPPER, M.A.A.; Samson R.A. Miscellaneous notes on Mucoraceae. **Mycotaxon**, v. 50, p. 475–491, 1994.
- SCHIPPER, M.A.A.; STALPERS, J.A. Zygomycetes: the order Mucorales. In: Howard DH, editor **Pathogenic Fungi in Humans and Animals**, 2<sup>a</sup>ed, *Mycology Series* v. 16, p. 67–125, 2002.
- SCHOEN, C. et al. Molecular cloning of an extracellular aspartic proteinase from *Rhizopus microsporus* and evidence for its expression during infection. **Medical Mycology**, v. 40, p. 61–71, 2002.
- SCHÜLEIN, M. Protein engineering of cellulases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology* v. 1543, n. 2, p. 239–252, 2000.
- SCHWARTZE, V.U. et al. *Lichtheimia* Species Exhibit Differences in Virulence Potential. **PLoS ONE**, v.7, p. 1–11, 2012.
- SCHWARTZE, V.U. et al. The pathogenic potential of the *Lichtheimia* genus revisited: *Lichtheimia brasiliensis* is a novel, non-pathogenic species. **Mycoses**, v. 57, p. 1–4, 2014.
- SEKIMOTO, S. et al. A multigene phylogeny of *Olpidium* and its implications for early fungal evolution. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, p. 331, 2011.
- SILVA, R.A.; SANTOS, A.M.M.; TABARELLI, M. 2003. Riqueza e diversidade de plantas lenhosas em cinco unidades de paisagem da Caatinga. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C (orgs) *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Editora Universitária, Recife. p 356, 2003.
- SILVA, C.F.; CAVALCANTI, L.H. Myxomycota of the Brazilian Atlantic Forest: species on Oil Palm Tree (*Elaeis guineensis*, Arecaceae). **Rodriguésia**, v. 61, p. 575–583, 2010.
- SILVA, A.C. et al. Potential of Quixaba (*Sideroxylon obtusifolium*) latex as a milk clotting agent. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 494–499, 2013a.
- SILVA, B.L. et al. Production and Characterization of a Milk-clotting Protease Produced in Submerged Fermentation by the Thermophilic Fungus *Thermomucor indica-seudaticae* N31. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 172, p. 1999–2011, 2013b.
- SILVA, V.F. **Diversidade funcional de espécies arbóreas dominantes na borda e interior de um fragmento de Mata Atlântica em Pernambuco**. Dissertação. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

- SILVA, R.R. et al. Evaluation of the catalytic specificity, biochemical properties, and milk clotting abilities of an aspartic peptidase from *Rhizomucor miehei*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 1059–1069, 2016.
- SIMÕES, M.L.G.; TAUKE-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, p. 94–103, 2006.
- SIZONENKO, T.A.; ZAGIROVA, S.V.; KHABIBULLINA, F.M. Microbial communities in the litter of middle taiga bilberry-spruce forests. **Eurasian Soil Science**, v. 43, p. 1132–1139, 2010.
- SKIADA, A. 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, p. 1859–1867, 2011.
- SMITH, M.E. et al. Phylogenetic analysis of the genus *Modicella* reveals an independent evolutionary origin of sporocarp-forming fungi in the Mortierellales. **Fungal Genetics and Biology**, v. 61, p. 61–68, 2013.
- SOARES, E.F. et al. Potencial do latex da fruta pão (*Artocarpus altilis*) como agente coagulante do leite. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 45, p. 149–154, 2015.
- SOS MATA ATLÂNTICA. 2011. Disponível em: <<http://www.sosmatatlantica.org.br/observatorio/plmataatlantica.html>>. Acesso em: Junho 2017.
- SOUSA, M.A.N.; LANGGUTH, A.; GIMENEZ, E.A. Mamíferos dos Brejos de Altitude Paraiba e Pernambuco. In: Porto, K.C., Cabral, J.J.P., Tabarelli, M. (eds.). *Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba História Natural, Ecologia e Conservação*. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, pp. 229–254, 2004.
- SOUTO, P.C. **Acumulação e decomposição da serapilheira e distribuição de organismos edáficos em área de caatinga na Paraíba, Brasil**. 2006.150f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2006.
- SPATAFORA, J.W. et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. **Mycologia** v. 108. n. 5, p. 1028–1046, 2016.
- STEHMANN, J.R. et al. *Diversidade taxonômica na Floresta Atlântica*. Plantas da Floresta Atlântica. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
- SUBRAHAMANYAM, A. Studies on themomycology. *Mucor thermo-hyalospora* sp. nov. **Bibliotheca mycologica**, v. 91, n.1, p. 421–423, 1983.
- SUGIYAMA, M. et al. *Umbelopsis gibberispora* sp. nov. from Japanese leaf litter and a clarification of *Micromucor ramannianus* var. *angulisporus*. **Mycoscience**, v. 44, p. 217–226, 2003.
- SUMMERBELL, R.C. Root endophyte and mycorrhizosphere fungi of black spruce, *Picea mariana*, in a boreal forest habitat: influence of site factors on fungal distributions. **Studies in Mycology**, v. 53, p. 121–145, 2005.
- SUN, Q. et al. Purification and Characterization of a Chymosin from *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformi*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 174, p. 174–185, 2014.
- TABANEZ, A.A.J.; VIANA, M.V. Patch structure within Brazilian Atlantic forest fragments and implications for conservation. **Biotropica**, v. 32, p. 925–933, 2000.

- TABARELLI, M.; SANTOS, A.M.M. Uma breve descricao sobre a historia natural dos Brejos nordestinos. In: Porto, K.C.; Cabral, J.J.P.; Tabarelli, M. (eds.) *Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba História Natural, Ecologia e Conservação*. Brasília, Ministerio do Meio Ambiente, pp. 17–24, 2004.
- TEDERSOO, L.; SMITH, M.E. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. **Fungal Biology Reviews** v. 27 p. 83–99, 2013.
- TEDERSOO, L. et al. Novel soil-inhabiting clades fill gaps in the fungal tree of life. **New Phytology**, v. 217, p. 1370–1385, 2017.
- TEDERSOO, L. et al. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. **Fungal Diversity**, p. 1–25, 2018.
- TERHONEN, E. et al. Endophytic fungi of Norway spruce roots in boreal pristine mire, drained peatland and mineral soil and their inhibitory effect on *Heterobasidion parviporum* in vitro. **Fungal Ecology** v. 9 p.17–26, 2014.
- THAKUR, M.S. et al. Production of fungal rennet by *Mucor miehei* using solid state fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 409–413, 1990.
- THAXTER, R. A New England *Choanephora*. **Rhodora**, v. 5, p. 97–102, 1903.
- THEULEN, V. Conservação dos Brejos de Altitude no Estado de Pernambuco. In: Porto, K.C., Cabral, J.J.P., Tabarelli, M. (eds.). *Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba História Natural, Ecologia e Conservação*. Brasília, Ministerio do Meio Ambiente, pp. 299–302, 2004.
- TIBPROMMA, S. et al. Fungal diversity notes 491–602: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. **Fungal diversity**, v. 83, p. 1–261, 2017.
- TISSERANT, E. et al. Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 110, p. 20117–20122, 2013.
- TRUFEM, S.F.B. Mucorales do Estado de São Paulo 1: Gênero *Mucor* Micheli. **Rickia**, v. 9: 81-91, 1981a.
- TRUFEM, S.F.B. Mucorales do Estado de São Paulo 3. Gêneros *Circinella* van Tieghem & Le Monnier e *Cunninghamella* Matruchot. **Rickia**, v. 9, p. 113–120, 1981b.
- TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. A novel psychrotrophic fungus, *Mortierella minutissima*, for D–limonene biotransformation. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 149–153, 2005.
- TUBESHA, Z.A.; AL-DELAIFY, K.S. Rennin like milk coagulant enzyme produced by local isolate of *Mucor*. **International Journal of Dairy Technology**, v. 56, p. 237–241, 2003.
- TULLY, C.C. et al. Fatal *Actinomucor elegans* var. *kuwaitiensis* infection following combat trauma. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47 (10), p. 3394–3399, 2009.
- UPADHYAY, H.P. Soil fungi from north-east and north Brazil—VII. The genus *Gongronella*. **Nova Hedwigia**, v. 17, p. 65–73, 1969.
- VAN TIEGHEM, P. Troisième mémoire sur les Mucorinées. **Annales des Sciences Naturelles-Botanique et Biologie Vegetale** v. 4, n. 4, p. 312–399, 1878.
- VASCONCELOS-SOBRINHO, J. **As regiões naturais do Nordeste, o meio e a civilização**. CONDEPE – Conselho de Desenvolvimento de Pernambuco, Recife. 1971.
- VICENTE, G. et al. 2009. Biodiesel production from biomass of an oleaginous fungi. **Biochemical Engineering Journal**, v. 48, n. 1, p. 22–27, 2009.
- VIKARI, L. et al. Thermostable enzymes in lignocellulose hydrolysis. **Biochemical Engineering Biotechnology** v. 108, p. 121–145, 2007.

- VIRIATO, A. **Mucorales (Zygomycota) coprófilos e de solo: diversidade e aspectos ecológicos**. Dissertação de Mestrado, São Paulo. pp 162. 2003.
- VOIGT, K. Zygomycota Moreau. In: FREY, W. (org.), *Syllabus of plant families. A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien, Blue-green algae, Myxomycetes and Myxomycete-like organisms, Phytoparasitic protists, heterotrophic Heterokontobiota and Fungi*. 13<sup>a</sup> ed., Berlin: Borntraeger Science Publishers, pp. 130–162, 2012.
- VOIGT, K.; KIRK, P.M. Fungi classification of Zygomycetes: reappraisal as coherent class based on a comparison between traditional versus molecular systematics. In: Batt, C.A.; Tortorello, M.L. (eds) *Encyclopedia of food microbiology*, 2nd edn. Elsevier B.V, London, pp. 54–67, 2014.
- VOGLMAYR, H.; CLÉMENÇON, H. Identification and taxonomic position of two mucoralean endoparasites of *Hysterangium* (Basidiomycota) based on molecular and morphological data. **Mycological Progress**, v. 15, p. 1–17, 2016.
- VON ARX, J.A. On Mucoraceae s. str. and other families of the Mucorales. **Sydowia**, v. 35, p. 10–26, 1982.
- VUILLEMIN, P. Importance taxonomique de l'appareil zygosporé des Mucorinées. **Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France**, v. 19, n. 1, p. 106–118, 1903a.
- VUILLEMIN, P. Le genre Tieghemella et la série des Absidiées. **Bulletin Trimestriel de la Société 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, G. et al. DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity. **Persoonia**, v. 30, p. 11–47, 2013.
- WANG, H.L.; VESPA, J.B.; HESSELTINE, C.W. Acid protease production by fungi used in soybean food fermentation. **Journal of Applied Microbiology**, V. 27, P. 906–911, 1974.
- WANG, Y-N.; LIU, X-Y.; ZHENG, R-Y. Four new species records of *Umbelopsis* (Mucoromycotina) from China. **Journal of Mycology**, v. 2013, p. 1–6, 2013.
- WAGNER, L. et al. comprehensive molecular phylogeny of the *Mortierellales* (*Mortierellomycotina*) based on nuclear ribosomal DNA. **Persoonia, Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 30, p. 77–93, 2013.
- WEI, S-F.; HO, H-M.; CHANG, C-H. Notes on Zygomycetes of Taiwan (XIII): The genus *Mortierella*. **Fungal Science**, v. 30 p. 22–59, 2015.
- WERNER, S.; PERŖOH, D.; RAMBOLD, G. New aspects of the biology of *Mortierella alliacea*. **Mycological progress**, v. 15, p. 1293–1301, 2016.
- WHITE, M.M. et al. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. **The Mycological Society of America** n. 98(6), p. 872–884, 2006.
- WONGANU, B. et al. Cloning, expression and characterization of a thermotolerant endoglucanase from *Syncephalastrum racemosum* (BCC18080) in *Pichia pastoris*. **Protein Expression and Purification**, v. 58, p. 78–86, 2008.
- WU, X. 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.
- YAMAMOTO, K. et al. Morphology and phylogeny of four *Endogone* species and *Sphaerocreas pubescens* collected in Japan. **Mycology Progress**, v. 14, p. 86, 2015.
- YAN, G.; VIRARAGHAVAN, T. Heavy metals removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. **Water Research** v. 37, n. 18, p. 4486–4496, 2003.

- YEGIN, S. et al. Aspartic proteinases from *Mucor* spp. in cheese manufacturing. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, p. 949–960, 2011.
- YIP, H-Y. Two new species of *Umbelopsis* from soil in Australia. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 86, p. 243–248, 1986.
- YU, P-J.; CHOU, C-C. Factors Affecting the Growth and Production of Milk-Clotting Enzyme by *Amylomyces rouxii* in Rice Liquid Medium. **Food Technology and Biotechnology**, v. 43, p. 283–288, 2005.
- YU, K.; WALTHER, G, et al. DNA barcoding of clinically relevant *Cunninghamella* species. **Medical Mycology**, v. 53, p. 99–106, 2015.
- YUQIU, L. et al. Screening and characterization of a mutant fungal aspartic proteinase from *Mucor pusillus*. **The open Biotechnology Journal**, v. 9, p. 119–126, 2015.
- 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, P. et al. *Mucor troglophilus*, a new species from cave crickets. **Mycotaxon**, v. 65, n. 1, p. 507–516, 1997.
- ZHENG, R.; CHEN, G.Q.; HU, F-M. *Monosporus* variedades de *Syncephalastrum*. **Mycosystema**, v. 1, p. 35–52, 1988.
- ZHENG, R.Y.; CHEN, G.Q. *Cunninghamella phaeospora* var. *multiverticillata* var. nov. and its mating with var. *phaeospora*. **Mycosystema**, v. 7, p. 1–11, 1994.
- 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, R.Y.; LIU, X.Y. *Actinomucor elegans* var. *meitauzae*, the correct name for *A. taiwanensis* and *Mucor meitauzae* (Mucorales, Zygomycota). **Nova Hedwigia**, v. 80, p. 419–432, 2005.
- ZHONG, D-F. et al. Microbial transformation of naproxen by *Cunninghamella* species. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 24, p. 442–447, 2003.
- ZHOU, Z.W.; HUANG, H. Base composition of DNA and classification of Mucorales. **Mycosystema**, v. 4, p. 1–14, 1991.
- ZYCHA, H. Mucorineae. *Pilze II, Kryptogamenfl.* Mark Brandenb, pp. 264, 1935.
- VOIGT, K. Zygomycota Moreau. In: FREY, W. (org.), *Syllabus of plant families. A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien, Blue-green algae, Myxomycetes and Myxomycete-like organisms, Phytoparasitic protists, heterotrophic Heterokontobiota and Fungi*. 13<sup>a</sup> ed., Berlin: Borntraeger Science Publishers, pp. 130–162, 2012.
- VOIGT, K.; KIRK, P.M. Fungi classification of Zygomycetes: reappraisal as coherent class based on a comparison between traditional versus molecular systematics. In: Batt, C.A.; Tortorello, M.L. (eds) *Encyclopedia of food microbiology*, 2nd edn. Elsevier B.V, London, pp. 54–67, 2014.
- VOGLMAYR, H.; CLÉMENÇON, H. Identification and taxonomic position of two mucoralean endoparasites of *Hysterangium* (Basidiomycota) based on molecular and morphological data. **Mycological Progress**, v. 15, p. 1–17, 2016.
- VON ARX, J.A. On Mucoraceae s. str. and other families of the Mucorales. **Sydowia**, v. 35, p. 10–26, 1982.

- VUILLEMIN, P. Importance taxonomique de l'appareil zygosporé des Mucorinées. **Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de France**, v. 19, n. 1, p. 106–118, 1903a.
- VUILLEMIN, P. Le genre Tieghemella et la série des Absidiées. **Bulletin Trimestriel de la Société 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, G. et al. DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity. **Persoonia**, v. 30, p. 11–47, 2013.
- WANG, H.L.; VESPA, J.B.; HESSELTINE, C.W. Acid protease production by fungi used in soybean food fermentation. **Journal of Applied Microbiology**, V. 27, P. 906–911, 1974.
- WANG, Y-N.; LIU, X-Y.; ZHENG, R-Y. Four new species records of *Umbelopsis* (Mucoromycotina) from China. **Journal of Mycology**, v. 2013, p. 1–6, 2013.
- WAGNER, L. et al. comprehensive molecular phylogeny of the *Mortierellales* (Mortierellomycotina) based on nuclear ribosomal DNA. **Persoonia, Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 30, p. 77–93, 2013.
- WEI, S-F.; HO, H-M.; CHANG, C-H. Notes on Zygomycetes of Taiwan (XIII): The genus *Mortierella*. **Fungal Science**, v. 30 p. 22–59, 2015.
- WERNER, S.; PERŖOH, D.; RAMBOLD, G. New aspects of the biology of *Mortierella alliacea*. **Mycological progress**, v. 15, p. 1293–1301, 2016.
- WHITE, M.M. et al. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. **The Mycological Society of America** n. 98(6), p. 872–884, 2006.
- WONGANU, B. et al. Cloning, expression and characterization of a thermotolerant endoglucanase from *Syncephalastrum racemosum* (BCC18080) in *Pichia pastoris*. **Protein Expression and Purification**, v. 58, p. 78–86, 2008.
- WU, X. 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.
- YAMAMOTO, K. et al. Morphology and phylogeny of four Endogone species and *Sphaerocreas pubescens* collected in Japan. **Mycology Progress**, v. 14, p. 86, 2015.
- YAN, G.; VIRARAGHAVAN, T. Heavy metals removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. **Water Research** v. 37, n. 18, p. 4486–4496, 2003.
- YEGIN, S. et al. Aspartic proteinases from *Mucor* spp. in cheese manufacturing. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, p. 949–960, 2011.
- YIP, H-Y. Two new species of *Umbelopsis* from soil in Australia. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 86, p. 243–248, 1986.
- YU, P-J.; CHOU, C-C. Factors Affecting the Growth and Production of Milk-Clotting Enzyme by *Amylomyces rouxii* in Rice Liquid Medium. **Food Technology and Biotechnology**, v. 43, p. 283–288, 2005.
- YU, K.; WALTHER, G. et al. DNA barcoding of clinically relevant *Cunninghamella* species. **Medical Mycology**, v. 53, p. 99–106, 2015.
- YUQIU, L. et al. Screening and characterization of a mutant fungal aspartic proteinase from *Mucor pusillus*. **The open Biotechnology Journal**, v. 9, p. 119–126, 2015.
- 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, P. et al. *Mucor troglophilus*, a new species from cave crickets. **Mycotaxon**, v. 65, n. 1, p. 507-516, 1997.
- ZHENG, R.; CHEN, G.Q.; HU, F-M. Monosporus variedades de Syncephalastrum. **Mycosystema**, v. 1, p. 35-52, 1988.
- ZHENG, R.Y.; CHEN, G.Q. *Cunninghamella phaeospora* var. *multiverticillata* var. nov. and its mating with var. *phaeospora*. **Mycosystema**, v. 7, p. 1-11, 1994.
- ZHENG, R.Y.; CHEN, G. Q. *Cunninghamella clavata* sp. nov., fungus with a unusual type of branching 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, R.Y.; LIU, X.Y. *Actinomucor elegans* var. *meitauzae*, the correct name for *A. taiwanensis* and *Mucor meitauzae* (Mucorales, Zygomycota). **Nova Hedwigia**, v. 80, p. 419-432, 2005.
- ZHONG, D-F. et al. Microbial transformation of naproxen by *Cunninghamella* species. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 24, p. 442-447, 2003.
- ZHOU, Z.W.; HUANG, H. Base composition of DNA and classification of Mucorales. **Mycosystema**, v. 4, p. 1-14, 1991.
- ZYCHA, H. Mucorineae. *Pilze II, Kryptogamenfl.* Mark Brandenb, pp. 264, 1935.