



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

ANA ELISA DE ALMEIDA SOUZA

**MUCORALES CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E
HORTALIÇAS EM MERCADOS DO RECIFE**

Recife
2024

ANA ELISA DE ALMEIDA SOUZA

**MUCORALES CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E
HORTALIÇAS EM MERCADOS DO RECIFE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Reis Machado (UFPE)

Co-Orientador: Prof. Dr. André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago (UFPE)

Recife

2024

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Souza, Ana Elisa de Almeida.

Mucorales causadores de podridões pós-colheita de frutos e hortaliças em mercados do Recife. / Ana Elisa de Almeida Souza. – 2024.

75f. : il., fig.

Orientador: Alexandre Reis Machado.

Coorientador: André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia de fungos, 2024.

Inclui referências.

1. Etiologia. 2. Fitopatógenos. 3. Mucoromycotina - taxonomia. I. Machado, Alexandre Reis.(Orient.). II. Santiago, André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo. (coorient.). III. Título.

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-078

ANA ELISA DE ALMEIDA SOUZA

**MUCORALES CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E
HORTALIÇAS EM MERCADOS DO RECIFE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos. Área de concentração: Micologia Aplicada.

Aprovado em: 21/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Reis Machado (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr. André Angelo Medeiros Gomes (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Prof. Dr. Diogo Lima Xavier (Examinador Externo)
Secretaria de Educação e Esportes de Pernambuco – SEE/PE

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pela sua graça e sustento ao longo da caminhada;

Ao meu orientador prof. Dr. Alexandre Reis Machado pelos ensinamentos, paciência e dedicação constante;

Ao meu co-orientador prof. Dr. André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago pelos auxílios;

Aos meus colegas de laboratório e de equipe por todo apoio e companheirismo;

Aos meus pais, Antônio Nelson e Rute Sebastiana pelo apoio e presença em todos os momentos;

Ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, onde minhas pesquisas foram desenvolvidas;

A FACEPE, CNPq e Propesqi pelo suporte financeiro;

A todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho.

RESUMO

Mucorales é a maior e mais diversa ordem de fungos em *Mucoromycota* (*Mucoromycotina*) com 340 espécies, distribuídas em 55 gêneros e 14 famílias. A maioria destes fungos possui o hábito sapróbio, entretanto, há espécies parasitas de outros fungos, animais, humanos e plantas. Como fitopatógenos, os *Mucorales* são encontrados em uma ampla gama de hospedeiros, especialmente, em frutos e hortaliças causando podridão mole pós-colheita. No Brasil, ainda são escassos os estudos que abordam a identificação de *Mucorales* na pós-colheita. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo conhecer as comunidades de *Mucorales* em diferentes frutos e hortaliças coletadas de mercados do Recife e comprovar a patogenicidade de espécimes. Para isto, foram realizadas coletas de frutos apresentando sintomas de podridão mole em mercados do Recife e encaminhados ao laboratório para isolamento em meio BDA. Foram obtidos 41 isolados de *Rhizopus*, 27 de *Mucor* e 9 isolados de *Gilbertella*. Estes foram avaliados morfologicamente utilizando literatura de referência para cada gênero encontrado. Em seguida, foram realizadas análises filogenéticas por Inferência Bayesiana para *Rhizopus* com a região gênica LSU rDNA, enquanto, para *Mucor* e *Gilbertella* as regiões ITS e LSU foram amplificadas e avaliadas. Seis espécies foram identificadas, sendo essas: *G. persicaria*, *M. inaequisporus*, *M. merdicola*, *M. variisporus*, *Mucor* sp. e *R. stolonifer*. Posteriormente, testes de patogenicidade foram realizados com cumprimento dos Postulados de Koch. No presente estudo, *G. persicaria* foi relatada pela primeira vez causando podridão mole em frutos de acerola, fruta-pão, mamão e pseudofruto de caju, originando o artigo intulado “New reports of *Gilbertella persicaria* causing post-harvest rot in different fruits in Brazil” (Apêndice da dissertação). *Mucor inaequisporus* foi relatado pela primeira vez causando podridão do pseudofruto de caju, em frutos de goiaba, jambo-vermelho e associado à fruta-pão; *M. variisporus* em fruto de banana; *M. merdicola* em fruto de melancia; *R. stolonifer* foi relatado pela primeira vez causando podridão mole dos frutos de abacate, berinjela e pêra no Brasil e associado ao fruto de achachairu. O presente estudo contribui para o conhecimento da comunidade de *Mucorales* na pós-colheita.

Palavras-chave: Etiologia. Fitopatógenos. *Mucoromycotina*. Taxonomia.

ABSTRACT

Mucorales is the largest and most diverse order of fungi in *Mucoromycota* (*Mucoromycotina*) with 340 species, distributed in 55 genera and 14 families. Most of these fungi have a saprobic habit, however, there are parasitic species of other fungi, animals, humans and plants. As phytopathogens, *Mucorales* are found in a wide range of hosts, especially in fruits and vegetables causing post-harvest soft rot. In Brazil, there are few studies that address the identification of *Mucorales* in post-harvest. Therefore, the present study aimed to understand the *Mucorales* communities in different fruits and vegetables collected from markets in Recife and proving the pathogenicity of specimens. For this, fruits showing symptoms of soft rot were collected in markets of Recife and sent to the laboratory for isolation in PDA medium. Forty-one isolates of the genus *Rhizopus*, 27 of *Mucor* and 9 isolates of *Gilbertella* were obtained. These were morphologically evaluated using reference literature for each genus found. Then, phylogenetic analyzes were carried out using Bayesian Inference for *Rhizopus* with the LSU rDNA gene region, while for *Mucor* and *Gilbertella* the ITS and LSU regions were amplified and evaluated. Six species were identified, namely: *G. persicaria*, *M. inaequisporus*, *M. merdicola*, *M. variisporus*, *Mucor* sp. and *R. stolonifer*. Subsequently, pathogenicity tests were carried out in compliance with Koch's Postulates. In the present study, *G. persicaria* was reported for the first time causing soft rot in acerola, cashew, breadfruit and papaya fruits, originating the article entitled “New reports of *Gilbertella persicaria* causing post-harvest rot in different fruits in Brazil” (Appendix of the dissertation). *Mucor inaequisporus* was reported for the first time causing soft rot of cashew pseudofruit, guava and red jambo fruits, and associated with breadfruit; *M. variisporus* in banana fruit; *M. merdicola* in watermelon fruit; *R. stolonifer* has been reported for the first time causing fruit soft rot of avocado, eggplant and pear in Brazil and associated with achachairu fruit. The present study contributes to the knowledge of the *Mucorales* community in the post-harvest period.

Keywords: Etiology. Phytopathogens. *Mucoromycotina*. Taxonomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1 – NOVOS RELATOS DE *Rhizopus* E *Mucor* CAUSANDO PODRIDÃO PÓS-COLHEITA EM FRUTOS TROPICAIS NO BRASIL

Figura 1 –	Sintomas de podridão mole em frutos de pêra (<i>Pyrus communis</i>) (a), berinjela (<i>Solanum melongena</i>) (b), maracujá (<i>Passiflora edulis</i>) (c), goiaba (<i>Psidium guajava</i>) (d), Jambo-vermelho (<i>Syzygium malaccense</i>) (e) e melancia (<i>Citrullus lanatus</i>) (f).	27
Figura 2 –	Características morfológicas de <i>Mucor inaequisporus</i> (URM8812). Esporângio e esporangióforo (a), columela e esporangióforo (b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 µm.	39
Figura 3 –	Características morfológicas de <i>Mucor inaequisporus</i> (URM8814). Esporângio e esporangióforo (a) esporângio e columela (b), esporangiósporos (c). Barras de escala: a = 15 µm, b= 12 µm, c= 8 µm.	39
Figura 4 –	Características morfológicas de <i>Mucor merdicola</i> (URM8818). Esporangióforos e columelas (a, b), esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 µm.	40
Figura 5 –	Características morfológicas de <i>Mucor</i> sp. (ARM1300). Esporângio e esporangióforo (a), columela e esporangióforo (b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 µm.	40
Figura 6 –	Características morfológicas de <i>Mucor variisporus</i> (URM8811). Esporângios, columelas e esporangióforos (a,b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 µm.	41
Figura 7 –	Características morfológicas de <i>Rhizopus stolonifer</i> (URM8800). Esporângio (a), columela e esporangióforo (b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 µm.	42
Figura 8 –	Árvore filogenética de <i>Mucor</i> com a região LSU por Inferência Bayesiana. Os valores de probabilidade posterior acima de 95% estão atrás dos nós. As espécies obtidas neste estudo estão destacadas em negrito.	45
Figura 9 –	Árvore filogenética de <i>Mucor</i> concatenada com as regiões ITS e LSU por Inferência Bayesiana. Os valores de probabilidade posterior acima de 95% estão atrás dos nós. As espécies obtidas neste estudo estão destacadas em negrito.	47

- Figura 10 – Árvore filogenética de *Rhizopus* gerada a partir da análise Bayesiana da região gênica LSU. Probabilidades posteriores acima de 95% são indicadas atrás dos nós. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito. 48
- Figura 11 – Resultado dos testes de patogenicidade de *Mucor*. (a1)–(a2) controle, (a3)–(a4) sintomas em *Persea americana*. (b1)–(b2) controle, (b3)–(b4) sintomas em *Musa sapientum*. (c1)–(c2) controle, (c3)–(c4) sintomas em *Anacardium occidentale*. (d1)–(d2) controle, (d3)–(d4) sintomas em *Psidium guajava*. (e1)–(e2) controle, (e3)–(e4) sintomas em *Syzygium malaccense*. (f1)–(f2) controle, (f3)–(f4) sintomas em *Citrullus lanatus*. 50
- Figura 12 – Resultado dos testes de patogenicidade de *Rhizopus*. (a1)–(a2) controle, (a3)–(a4) sintomas em *Persea americana*. (b1)–(b2) controle, (b3)–(b4) sintomas em *Solanum melongena*. (c1)–(c2) controle, (c3)–(c4) sintomas em *Artocarpus heterophyllus*. (d1)–(d2) controle, (d3)–(d4) sintomas em *Carica papaya*. (e1)–(e2) controle, (e3)–(e4) sintomas em *Passiflora edulis*. 51
- Figura 13 – Resultado dos testes de patogenicidade de *Rhizopus*. (f1)–(f2) controle, (f3)–(f4) sintomas em *Cucumis melo*. (g1)–(g2) controle, (g3)–(g4) sintomas em *Fragaria × ananassa*. (h1)–(h2) controle, (h3)–(h4) sintomas em *Pyrus communis*. (i1)–(i2) controle, (i3)–(i4) sintomas em *Vitis vinifera* cv. Crimson. (j1)–(j2) controle, (j3)–(j4) sintomas em *Vitis vinifera* cv. Muscat. 52

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1 – NOVOS RELATOS DE *Rhizopus* E *Mucor* CAUSANDO PODRIDÃO PÓS-COLHEITA EM FRUTOS TROPICAIS NO BRASIL

Tabela 1 –	Números de acesso do GenBank de sequências usadas para análises filogenéticas.	29
Tabela 2 –	Comparação entre as características morfológicas dos isolados examinados no estudo com estudos publicados.	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1	FRUTOS E HORTALIÇAS: IMPORTÂNCIA SOCIAL ECONÔMICA	13
2.2	PODRIDÃO MOLE DE <i>MUCORALES</i> EM FRUTOS E HORTALIÇAS	14
2.3	<i>MUCOROMYCOTINA</i> BENNY	15
2.4	<i>MUCORALES</i> FRIES	16
2.4.1	<i>Choanephora</i>	18
2.4.2	<i>Gilbertella</i>	19
2.4.3	<i>Mucor</i>	20
2.4.4	<i>Rhizopus</i>	21
3	ARTIGO 1 – NOVOS RELATOS DE <i>Rhizopus</i> e <i>Mucor</i> CAUSANDO PODRIDÃO PÓS-COLHEITA EM FRUTOS TROPICAIS NO BRASIL	23
	REFERÊNCIAS	56
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
	APÊNDICE A – NEW REPORTS OF <i>Gilbertella persicaria</i> CAUSING POST-HARVEST ROT IN DIFFERENT FRUITS IN BRAZIL	70

1 INTRODUÇÃO

A pós-colheita é o conjunto de etapas que abrangem, desde o momento da colheita de produtos agrícolas, passando pelo armazenamento, comercialização, até a residência do consumidor (MARI et al., 2014). Dentre esses produtos, frutos e hortaliças se destacam como importantes fontes de nutrientes que fazem parte das necessidades básicas de uma população e contribuem para uma melhor qualidade de vida (ZIV; FALLIK, 2021). No Brasil, a produção de hortifruti apresenta grande relevância econômica, gerando empregabilidade e lucro. Além disso, o país é o terceiro maior produtor de frutos, com um volume anual acima de 50 milhões de toneladas, ficando atrás apenas da China e Índia (FAOSTAT, 2021a). Na região Nordeste, o agronegócio é a base econômica, especialmente pela produção de frutas e seus derivados, seja para exportação ou para o comércio local (SILVA et al., 2019).

Frutos e hortaliças são altamente perecíveis, em geral, devido a sua taxa respiratória, quantidade de água e ampla superfície. Durante a pós-colheita e na maturidade, a mercadoria é mais suscetível aos danos mecânicos que podem ocorrer pelo manuseio, transporte ou armazenamento (LUENGO et al., 2007). Países em desenvolvimento, perdem cerca de 50% dos frutos e hortaliças produzidos (FAOSTAT, 2021b) e, embora seja difícil estimar, as perdas no Brasil se encontram em torno de 40% (EMBRAPA, 2019). As populações mais carentes são as mais afetadas, pois adquirem menor quantidade de alimentos, o que compromete seu quadro nutricional (IBGE, 2020).

Entre as causas de perdas pós-colheita estão as doenças causadas por microrganismos como fungos e bactérias, além de pragas causadas por animais. Considerando apenas a produção de frutas no país, doenças causadas por microrganismos fitopatogênicos levam a perdas de até 80%, sendo a maioria destas causadas por fungos (CAMARGO et al., 2011; SINGH; SHARMA, 2018). As perdas por fungos são especialmente atribuídas a produtos danificados fisicamente, em armazenamento prolongado e/ou submetidos a temperaturas inadequadas (SINGH; SHARMA, 2018). Estes ocasionam doenças, como as podridões, capazes de causar perdas substanciais no campo e após a colheita (COATES; JOHNSON 1997).

Entre os fatores limitantes para produção agrícola, está a podridão mole (CRUZ-LACHICA et al., 2017). Recorrente e devastadora para diversas culturas, a doença tem como agentes causais bactérias, tais como *Erwinia* e *Pseudomonas* ou fungos, dentre os quais se destacam os zigospóricos, representados pela ordem *Mucorales*, com *Rhizopus*, *Mucor*, *Gilbertella* e *Choanephora* sendo os gêneros mais citados (CSERNETICS et al., 2005; BHAT

et al., 2010; HYDE et al., 2014). Quando causada por fungos, é conhecida como podridão de *Rhizopus* ou de *Mucor*, por serem esses os principais agentes associados, com destaque para *R. stolonifer* Ehrenb. Além disso, vale salientar que os fungos mucoráceos exibem tendências de rápido contágio entre os frutos e vegetais próximos, principalmente durante o armazenamento, e entre os que estão danificados mecanicamente, tal como para morangos (COATES; JHONSON, 1997; FELIZIANI; ROMANAZZI, 2016).

No Brasil, o conhecimento a respeito das comunidades de *Mucorales* é escasso e fragmentado, são 75 espécies reportadas, distribuídas nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2024). Quanto aos estudos no Nordeste do país, há poucos relatos da ordem como causadores da podridão mole em frutos e hortaliças, sendo estes nos estados da Bahia, Paraíba e Pernambuco, o último, no município de Chã-Grande (HENZ et al., 1994; PINHO et al., 2014; VIEIRA et al., 2018).

Considerando a carência de estudos sobre *Mucorales* fitopatogênicos no Nordeste e a relevância desses agentes na pós-colheita, é imprescindível preencher as lacunas sobre o conhecimento das comunidades desses fungos associadas à podridão de frutos e hortaliças no Recife, com estudos de taxonomia clássica e biologia molecular. Esse trabalho é o primeiro no Brasil a abordar o levantamento da riqueza de *Mucorales* na pós-colheita de frutos e hortaliças. Dados coletados contribuirão para futuros estudos sobre a taxonomia e ecologia dos fungos mucoráceos, além de ações voltadas para o estabelecimento de estratégias de controle das podridões causadas por fungos.

Sendo assim, o estudo teve como objetivos identificar e descrever espécies de *Mucorales* provenientes de frutos e hortaliças, com sintomas de podridão mole em áreas comerciais do Recife e comprovar a patogenicidade de isolados em seus respectivos hospedeiros.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FRUTOS E HORTALIÇAS: IMPORTÂNCIA SOCIAL E ECONÔMICA

Frutos e hortaliças são partes comestíveis de plantas, cultivadas ou selvagens, em estado bruto ou pouco processado. Além disso, ricas fontes de compostos bioativos de baixo valor calórico como vitaminas, fibras e sais minerais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022a). O Brasil é um país de grande extensão territorial, com variadas condições climáticas e sistemas de cultivo de plantas (PIEDRA-BONILLA et al., 2020). Destaca-se como principal produtor e exportador de culturas de diversas espécies e origens, dentre as quais predominam a soja, seguida pelo milho, cana-de-açúcar e o café. Quanto às raízes, a mandioca é a mais comercializada e, entre as frutas, laranja e banana (IBGE, 2021).

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, com 59 milhões de toneladas produzidas por ano, apenas atrás da China (265 MTPa) e Índia (93 MTPa). A maior parte da produção de frutas no país é destinada ao mercado interno e cerca de 3% para a exportação (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI, 2021; FAOSTAT, 2021a). Recentemente, a exportação de frutas no país corresponde a 980 mil toneladas, onde a região Nordeste é destaque com as culturas de melão, banana, abacaxi, uva e manga (SECEX, 2022; ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI, 2023). No ano de 2022, o Nordeste exportou 390 mil toneladas de frutas, sendo o estado de Pernambuco considerado o maior exportador do Brasil com o rendimento equivalente a U\$D 244 milhões (ABRAFRUTAS, 2023).

Alguns frutos também podem ser classificados como hortaliças, devido ao cultivo realizado em hortas, curto ciclo e por serem plantas do tipo herbáceas, como a melancia e o melão. O Brasil produz cerca de 20 milhões de toneladas de hortaliças por ano, com quase todo volume destinado ao consumo doméstico (EMBRAPA, 2020). Isto porque as hortaliças são facilmente cultivadas em pequenas propriedades, tornando-se uma alternativa de renda para pequenos produtores. No Nordeste, onde as áreas de propriedades estão cada vez mais reduzidas, o cultivo de hortaliças tem beneficiado com lucro e empregabilidade, pelo ciclo curto das hortaliças e necessidade de mão de obra intensiva (BRAINER, 2021).

Embora o setor de hortifruti seja promissor no Brasil, segundo a Rede Brasileira de Pesquisa em Soberania e Segurança Alimentar, 33 milhões dos brasileiros vivem em condição de insegurança alimentar, ou seja, sem o acesso regular a alimentos de qualidade (REDE PENSSAN, 2022). As perdas que ocorrem ao longo da cadeia produtiva e de comercialização estão entre os fatores que mais limitam o acesso da população aos alimentos e prejudicam o setor comercial (EMBRAPA, 2019).

Estima-se que no Brasil, 26 milhões de toneladas de alimentos são desperdiçados ou perdidos, o que poderia suprir as necessidades de 40 milhões de pessoas (CEDES, 2018). A maioria das perdas de frutos e hortaliças ocorrem na etapa pós-colheita variando com a estação, perecibilidade dos produtos, forma de colheita, manejo, transporte e armazenamento (KITINOJA; KADER, 2015). A redução de perdas pós-colheita combate à fome e o desemprego, reduz os desperdícios de recursos de produção, promove a segurança alimentar e a sustentabilidade ambiental (FAOSTAT, 2022).

As perdas pós-colheita podem ser frequentemente causadas por bactérias como *Bacillus*, *Pectobacterium* e *Pseudomonas* (BHAT et al., 2010) tal como por fungos, os quais são considerados os principais agentes de deterioração, destacando-se representantes como: *Colletotrichum* spp., *Botrytis cinerea*, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Monilinia* spp., *Alternaria alternata* e fungos da ordem *Mucorales* como *Rhizopus stolonifer* (ZHANG et al., 2021).

Os *Mucorales* (*Mucoromycotina*, *Mucoromycota*) representam importantes fitopatógenos na pós-colheita de diversos frutos e hortaliças causando a podridão mole, doença caracterizada pela formação de áreas macias e aquosas no tecido vegetal (CRUZ-LACHICA et al., 2017). Tal doença é um problema socioeconômico, especialmente em países subdesenvolvidos, tropicais e subtropicais, desvalorizando os produtos e prejudicando a qualidade nutricional e segurança do consumidor (CENCI, 2006; HYDE et al., 2014; KUMAR; PRASAD, 2021).

2.2 PODRIDÃO MOLE DE *MUCORALES* EM FRUTOS E HORTALIÇAS

Em evolução conjunta aos fungos, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra o ataque ao tecido vivo, os frutos apresentam barreiras físicas como a cutícula vegetal e químicas como ácidos fenólicos e fitoalexinas, os quais são compostos antifúngicos pré-formados ou induzidos (PRUSKY, 1997; MOSS, 2008). Contudo, as infecções causadas por fungos são recorrentes para diversas culturas e podem acontecer ainda em campo, com patógeno permanecendo quiescente em seu hospedeiro até que condições fisiológicas e ambientais o modifiquem na maturidade (COATES e JOHNSON, 1997).

Os frutos são substratos que oferecem vantagem ao crescimento fúngico em relação às bactérias, isto devido ao baixo pH, grande quantidade de água, riqueza de sais minerais, açúcares e vitaminas (MOSS, 2008). Na maturação, ocorre a redução dos compostos fenólicos e protopectínicos e o aumento da quantidade de água, nutrientes e açúcares. Tais fatores em conjunto ao manuseio, transporte e armazenamento inadequados na pós-colheita, tornam os

produtos suscetíveis a danos físicos que favorecem a deterioração por patógenos oportunistas (PRUSKY, 1997; FATIMOH et al., 2017).

De acordo com o estilo de vida, os fungos fitopatogênicos podem ser classificados como necrotróficos, biotróficos ou hemibiotróficos. A maioria destes são necrotróficos, os quais infectam e causam a morte das células vegetais durante a sua nutrição, com ação de metabólitos secundários tóxicos, proteínas ou enzimas (HORBACH et al., 2011).

Os representantes da ordem *Mucorales* são importantes causadores da podridão mole pós-colheita de frutos e hortaliças (CRUZ-LACHICA et al., 2021). Sapróbios por natureza, podem desenvolver um estilo de vida necrotrófico, necessitando de ferimentos no hospedeiro para estabelecer o processo de infecção, por isso, considerados “patógenos fracos” (CRUZ-LACHICA et al., 2017; COATES & JOHNSON, 1997). No entanto, já foi possível constatar em experimentos, a capacidade de penetração direta desses fungos em frutos intactos por meio de esporos germinados em solução nutritiva (BAGGIO, 2013). Porém, as maiores taxas de colonização são para os frutos feridos e inoculados (LISKER, 1996).

Sobre condições ambientais favoráveis de alta umidade e suscetibilidade do hospedeiro, ocorre a germinação de esporangiósporos aderidos à cutícula vegetal e hifas intracelulares invasivas se desenvolvem, culminando no surgimento dos sintomas da doença e nos sinais do fungo (STRUCK; MENDGEN, 1998; CRUZ-LACHICA et al., 2018). Em poucos dias, o tecido torna-se completamente danificado e amolecido por ação de enzimas hidrolíticas, tais como endoglucanase, exoglucanase e pectinases, que destroem a integridade da parede celular e da lamela média vegetal, fornecendo nutrientes ao fungo (CRUZ-LACHICA et al., 2018). Em contrapartida, os sintomas de podridão mole causados por bactérias, tais como *Pectobacterium* spp., diferem de maneira significativa da podridão fúngica pela a secreção de líquido com odor fétido (KIMATI et al., 1997).

2.3 MUCOROMYCOTINA BENNY

O antigo filo “Zygomycota” Moreau agrupava fungos que se reproduzem por meio de copulação gametangial com a formação de um zigósporo, sendo o nome “Zygos” derivado do grego “equilíbrio”, devido aos suspensores que se formam e sustentam o esporo sexual (HASSAN, 2019). Os fungos zigospóricos estão entre os primeiros a divergirem na escala evolutiva, sendo também considerados um agrupamento inválido, pela falta de suporte filogenético e molecular entre as espécies, cujas análises de sequências de diferentes regiões gênicas demonstram polifiletismo (JAMES et al., 2006). A partir disto, foram sugeridos os subfilos *incertae sedis*: *Mucoromycotina*, *Kickxellomycotina*, *Zoopagomycotina*,

Entomophthoromycotina (HIBBETT et al., 2007) e *Mortierellomycotina* (HOFFMANN et al. 2011). Posteriormente, SPATAFORA et al. (2016) sugeriram os filos *Mucoromycota* Doweld e *Zoopagomycota* para comportar os subfilos citados acima, além de sugerir *Glomeromycotina*.

Mucoromycotina Benny é o maior subfilo de *Mucoromycota*, separado em três ordens: *Umbelopsidales*, *Mucorales* e *Endogonales*. Enquanto *Umbelopsidales* e *Mucorales* representam os fungos sapróbios, parasitas e endofíticos, *Endogonales* representam as ectomicorrizas e alguns sapróbios (SPATAFORA et al., 2016). Os representantes do grupo são conhecidos pela capacidade de degradar carboidratos simples como monossacarídeos, por isso, chamados de “fungos do açúcar” (RICHARDSON, 2009). Tal habilidade os proporciona a colonização de diferentes substratos, incluindo alimentos como frutos e hortaliças, de onde são frequentemente isolados causando deterioração pré e pós-colheita (BENNY et al., 2014). Além disso, são considerados metabolicamente versáteis e possuem uma variedade de enzimas capazes de assimilar fontes complexas de carbono como os biopolímeros de origem vegetal, a citar espécies *Rhizopus* que degradam a celulose (PAWLOWSKA et al., 2019).

Mucoromycotina é morfológicamente caracterizado pela presença de micélio ramificado, cenocítico ou irregularmente septado, reprodução assexuada por meio de esporangiósporos unicelulares, os quais são produzidos por clivagem citoplasmática em esporângios multiesporados ou formam esporângios e merosporângios com esporos contáveis. Os esporangiósporos podem estar ausentes e, raramente, podem formar artrósporos (BENNY et al., 2016). A columela é geralmente visível e de formatos distintos, contudo, para *Umbelopsidales* são discretas ou ausentes (WANG et al., 2013; WALTHER et al., 2019). Clamidósporos são comumente formados em táxons como *Gilbertella*, *Mucor* e *Rhizopus* (SCHIPPER, 1978; KIMURA et al., 2012; CRUZ-LACHICA et al., 2017) e células de levedura são registradas para os gêneros *Mucor*, *Benjaminiella*, *Bifiguratus* e *Mycotypha* (BENNY et al., 2014; TORRES-CRUZ et al., 2017).

2.4 MUCORALES FRIES

Mucorales, a maior ordem em número de espécies dentro do filo *Mucoromycota*, inclui, aproximadamente, 340 espécies, distribuídas em 55 gêneros (WIJAYAWARDENE et al., 2022). Considerados ubíquos, os *Mucorales* são comumente pioneiros na colonização de substratos ricos em açúcares simples (RICHARDSON, 2009). Em sua maior parte, apresentam estilo de vida sapróbio, podendo haver parasitas de animais, inclusive humanos, outros fungos, plantas e espécies endófitas (JEFFRIES, 1984; BENNY et al., 2014; JIN et al., 2015). Frequentemente são isolados a partir do solo, ar, excrementos, matéria orgânica em

decomposição e de alimentos estocados, como frutas e hortaliças (WHITE et al. 2006; HOFFMANN et al., 2013).

Os membros de *Mucorales* são os únicos no subfilo *Mucoromycotina* reconhecidos como fungos fitopatogênicos (BENNY et al., 2014; BENNY et al., 2016). Frequentemente, responsáveis pela podridão mole de frutos e hortaliças, ocorrendo com menos frequência para flores, ramos e folhas (KWON; JEE, 2005; GOGOI et al., 2016). Entre os gêneros de maior importância relatados, estão: *Rhizopus*, *Mucor*, *Gilbertella* e *Choanephora* (CSERNETICS et al., 2005; BENNY et al., 2014).

Existem também espécies micoparasitas, como *Parasitella* spp. que podem acometer outros fungos da ordem (BENNY, 2008). Muitas espécies têm importância clínica, com representantes causadores de mucormicose em seres humanos e animais, infecção oportunista e rara que costuma afetar os indivíduos imunocomprometidos (DANNAOUI, 2017). Há representantes de interesse industrial, como *Rhizopus* spp. e *Mucor* spp. na produção de metabólitos secundários, como os ácidos orgânicos e álcool, assim como, para a fermentação de alimentos populares como queijo, tempeh e sufu (ALEXOPOULOS; MIMS, 1979).

Morfologicamente, a ordem é caracterizada pelo rápido desenvolvimento de um micélio aéreo com aspecto cottonoso e estruturas assexuais abundantes, sendo fungos facilmente cultiváveis (WHITE et al., 2006). As hifas são cenocíticas ou irregularmente septadas em porções antigas ou danificadas. A diferenciação das hifas dá origem a estruturas reprodutivas assexuais que projetam-se sob o micélio, como os esporangióforos, os quais podem ser eretos ou curvos, estar solitários ou em grupos, sendo simples ou com ramificações (KIRK, 2008; SCHIPPER; STALPERS, 1984). No ápice dos esporangióforos são formados esporângios multiesporados com uma columela interior ou esporangiólos e merosporângios, sustentados por vesículas (BENNY et al., 2016). A presença de columelas bem desenvolvidas e de formatos variados é uma característica comum aos membros de *Mucorales* (WALTHER et al., 2019).

A reprodução sexuada ocorre por meio de zigósporos formados pela copulação gametangial, sendo essa uma reprodução menos frequente e desconhecida para várias espécies (O'DONNELL et al., 2001). Os zigósporos também são esporos de resistência, os quais permitem a sobrevivência do fungo em situações adversas do ambiente, podendo permanecer viáveis, com baixo metabolismo, por até 50 anos (TERESHINA et al., 2003). Os zigósporos representam importantes caracteres taxonômicos, podendo ser discriminados quanto à sua ornamentação e apêndices (HOFFMANN et al., 2007).

Tradicionalmente, a taxonomia de *Mucorales* é baseada na morfologia, com descrição de forma, coloração e ornamentação de esporangiósporos, esporângios, esporangiólos,

merosporangios e zigósporos, padrão de ramificação dos esporangióforos, formatos das columelas e presença ou ausência de estruturas como rizóides, estolões e apófises (SCHIPPER, 1978; LACKNER et al., 2014). Os agrupamentos por semelhança morfológica resultaram em famílias e gêneros bem definidos, porém, a presença de poucos caracteres morfológicos suficientemente distinguíveis entre táxons de *Mucorales*, tornou conflituosa a taxonomia do grupo, gerando a abundância de clados polifiléticos (SCHIPPER, 1973; HOFFMANN et al., 2013).

Os primeiros trabalhos moleculares e filogenéticos da ordem abordaram problemas na classificação de famílias definidas primariamente por morfologia, devido ao polifiletismo detectado. Os taxa *Thamnidaceae*, *Mucoraceae*, *Chaetocladiaceae* e *Radiomycetaceae*, não eram suportados em monofilia, a partir de então, o conceito de família foi revisado e alterações significativas ocorreram (O'DONNELL et al., 2001; VOIGT; WÖSTEMEYER, 2001).

Recentemente, os estudos filogenéticos foram ampliados, com ênfase em cepas de importância clínica e biotecnológicas, como *Mucor circinelloides* e *Rhizopus oryzae*, permitindo reconhecer a presença de complexos de espécies crípticas em *Mucorales* (WALTHER et al., 2013; WALTHER et al., 2019). Contudo, em comparação a fungos pertencentes a *Ascomycota* e *Basidiomycota*, *Mucorales* (*Mucoromycota*) ainda é constantemente negligenciado e as suas análises compreendem poucas regiões gênicas, frequentemente, o Espaço Interno Transcrito (ITS) e a Maior Subunidade Ribossomal (LSU) (LAX et al., 2020). Atualmente, cerca de 700.000 sequências de DNA de *Mucorales* estão depositadas no GenBank, sendo a maioria do gênero *Rhizopus*, com destaque para *R. arrhizus*, *R. delemar* e *R. microsporus*, evidenciando a recorrência e importância do gênero na área clínica, biotecnológica e agrônômica (GENBANK, 2024).

2.4.1 *Choanephora*

Choanephora foi sugerida por CURREY (1873) que descreveu a espécie única *Cunninghamia infundibulifera*, posteriormente renomeada como *Choanephora infundibulifera*. Atualmente, são consideradas as duas espécies que foram validadas por KIRK (1984), *Choanephora cucurbitarum* e *C. infundibulifera*, o mesmo autor também sugeriu que a forma e estriação do esporangiólo indeiscente representam as características principais para distinguir ambas as espécies.

Morfologicamente, *C. cucurbitarum* é reconhecida por esporangiólos elipsóides, normalmente contendo estrias longitudinais, enquanto *C. infundibulifera* apresenta esporangiólos de formato subgloboso a obovóide, comumente com ornamentação variável entre

estriada, lisa e tênue (KIRK, 1984). Estudos moleculares do gênero demonstraram que sequências da região ITS rDNA são suficientes para a distinção das espécies em *Choanephora*, enquanto as regiões das subunidades grande e pequena do rDNA (LSU e SSU), são importantes para a colocação em nível superior na ordem (HYDE et al., 2014). A espécie *C. cucurbitarum* tem se destacado como a mais isolada, representando também o maior número de sequências de DNA depositadas (GENBANK, 2024).

Choanephora cucurbitarum e *C. infundibulifera* apresentam hábito sapróbio e estão associadas a podridões de flores, frutos, caules e folhas de diversas plantas (KWON; JEE, 2005; YIN et al., 2023). Famílias como Cucurbitáceas, Solanáceas e Malváceas são afetadas pelas espécies (AKWAJI et al., 2014; HOSSAIN et al., 2021). No Brasil, *Choanephora* foi relatada para repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) e pimenta (*Capsicum annuum* e *C. chinense*) (MENDES et al., 1998; MELLO et al. 2021).

A presença da podridão de *Choanephora* costuma ocorrer em lavouras, prejudicando a fase de colheita, com tendência à infecção do fruto a partir da flor ou por meio de ferimentos causados por insetos. Epidemias causadas pelo fungo podem ocorrer devido a sua capacidade de infectar culturas mistas, sob condições favoráveis, as perdas de rendimento podem chegar a até 100% (AKWAJI et al., 2014; KURIAN et al., 2018). Fatores como temperatura e umidade relativa demonstram ter relação com a incidência da doença, sendo o clima quente e úmido favorável à sua rápida disseminação (KURIAN et al., 2018).

2.4.2 *Gilbertella*

Gilbertella é um gênero reconhecido pela sua espécie única *G. persicaria*, descrita por HESSELTINE (1960). Comumente encontrada em regiões tropicais e subtropicais como um importante agente causador de podridão mole pós-colheita em diferentes frutos (HYDE et al., 2014). Além disso, a espécie também é encontrada em variados substratos, como o esterco (SANTIAGO, 2007), solo (CRUZ-LACHICA et al., 2018), água doce (LEE et al., 2018) e em flores (RUANGWONG et al., 2022). No Brasil, *G. persicaria* foi relatada como agente de podridão mole em frutos de ameixa roxa (*Syzygium cumini*) (PINHO et al., 2014) e berinjela (*Solanum melongena*) (VIEIRA et al., 2018).

Isolada pela primeira vez de pêssegos (*Prunus persica* (L.) Batsch.) em deterioração no mercado, *G. persicaria* foi inicialmente obtida e descrita por EDDY (1925) como *Choanephora persicaria* devido às características morfológicas assexuais do gênero, tais como a sutura longitudinal dos esporângios e presença de apêndices hialinos nas extremidades dos

esporangiósporos. Contudo, HESSELTINE (1960) a retirou de *Choanephora* introduzindo-a em um novo táxon de epíteto *Gilbertella persicaria*, devido à ausência de esporângios e presença de zigósporos *Mucor*-like. Por tais características, o mesmo inseriu *Gilbertella* na família *Mucoraceae*, assim como outros autores (MEHROTRA; MEHROTRA 1963a; KIRK 1984). Posteriormente, BENNY (1991) reconheceu a maior semelhança morfológica de *Gilbertella* a *Choanephoraceae*, exceto por características como a ausência de esporângios e melanina nas paredes dos esporangiósporos, por isso, sugeriu a família monotípica *Gilbertellaceae*. No entanto, para os estudos moleculares e filogenéticos atuais, *G. persicaria* é posicionada em *Choanephoraceae* (HOFFMANN et al., 2013; WALTHER et al., 2013).

Gilbertella persicaria é caracterizada por colônias de rápido crescimento, esporângios pretos de sutura longitudinal na maturidade, esporangióforos tipicamente simples e arqueados abaixo do esporângio, esporangiósporos com apêndices apicais hialinos e columelas de formatos variados, incluindo cilíndricas, obovoides e obopiriformes (HESSELTINE, 1960; BENNY, 1991). Características diferenciadas da descrição citada foram visualizadas posteriormente e originaram as descrições *G. persicaria* var. *indica* e *G. hainanensis*, a primeira por colônias de lento crescimento e esporangióforos ramificados, enquanto a espécie *G. hainanensis* proposta por base na morfologia dos esporangiósporos, números de apêndices, cor de colônia e habitat (MEHROTRA; MEHROTRA, 1963b; CHENG & HU, 1965). Contudo, testes de cruzamento realizados mostraram a capacidade de formação de zigósporos entre os diferentes isolados de *Gilbertella*, sendo as variações morfológicas consideradas insuficientes para distinguí-las, portanto sinonimizadas a *G. persicaria* (BENNY, 1991).

2.4.3 *Mucor*

Mucor Fresenius é o maior e mais rico gênero em *Mucoraceae* Dumort., com 98 espécies descritas (WIJAYAWARDENE et al., 2022). Compreendem muitos sapróbios, os quais ocorrem em amostras de solo, esterco e em plantas como endófitos ou fitopatógenos (HYDE et al., 2014; SOUZA et al., 2017; DOMKA et al., 2018). Diversas espécies, como *M. hiemalis*, apresentam interesse biotecnológico pela produção de metabólitos capazes de realizar biorremediação de metais pesados, produção de biocombustíveis e fermentação de alimentos como o queijo (HERMET et al., 2012; MORIN-SARDIN et al., 2017; HOQUE, 2019). Além disso, algumas espécies são conhecidas por causar infecções oportunistas em humanos, tais como *M. circinelloides*, *M. indicus* e *M. ramosissimus* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022b).

Desde a antiguidade, representantes como *M. mucedo* são relatados causando deterioração de frutas (LINDLEY, 1856). A podridão causada por *Mucor* inclui o amolecimento

do tecido, por vezes, com margens acentuadas ou acompanhada de odor adocicado (HYDE et al., 2014). Entre as espécies que destacam-se na pós-colheita, está *M. piriformis* (FISHER, 1892), descrita pela primeira vez associada a podridão de maçãs e reconhecida por perdas significativas à culturas de pêssegos, nectarinas (MICHAILIDES, 1991), tangerinas (SAITO et al., 2016), maçãs, pêras (AMIRI, 2020) armazenadas a frio. *Mucor piriformis* tem capacidade de infectar frutos em temperaturas abaixo de 5°C, onde a maioria dos fitopatógenos são inibidos (SHOLBERG, 1990). Além desta, outras espécies isoladas são *M. irregularis* causando podridão de mamão (CRUZ-LACHICA et al., 2017) e mangostão (WANG, 2022), *M. circinelloides* em inhame (IKOTUN, 1983), tangerinas (SAITO et al., 2016), *M. inaequisporus* em morangos (HUAN et al., 2023) e *M. racemosus* em tomates (KWON; HONG, 2005), ameixa roxa (ESEIGBE; BANKOLE, 1996) e tangerinas (SAITO et al., 2016).

Mucor é considerado um gênero polifilético (O'DONNELL et al., 2001; ÁLVAREZ et al., 2011), sendo a caracterização morfológica a base para a taxonomia do grupo reconhecido pela presença de esporângios não apofisados, predominantemente globosos a subglobosos, esporangióforos simples ou ramificados e ausência de estolões (BENNY, 2013). De acordo com o padrão de ramificação dos esporangióforos, tamanho dos esporângios e também análises da região gênica LSU (rDNA), podem ser considerados os seis grupos: *M. mucedo*, *M. flavus*, *M. hiemalis*, *M. racemosus*, *M. amphibiorum* e *M. recurvus* (WALTHER et al., 2013).

2.4.4 *Rhizopus*

Rhizopus Ehrenb. é um gênero pertencente a *Rhizopodaceae*, com 13 espécies descritas (WIJAYAWARDENE et al., 2022). Comumente são encontrados como sapróbios do solo, esterco e em restos vegetais. Frequentemente, causam a deterioração de frutos e hortaliças e grãos armazenados (RICHARDSON; RAUTEMAA-RICHARDSON, 2020). Espécies de *Rhizopus* também são importantes produtores de metabólitos secundários, muito apreciados na indústria alimentícia para fermentação, produção de fármacos ou catalisação de medicamentos. Assim como, também há espécies de importância médica, capazes de causar mucormicose em humanos e em animais (ZHENG et al., 2007).

Representantes de *Rhizopus* são fitopatógenos recorrentes durante a etapa pós-colheita de diversos frutos e hortaliças, sendo *R. stolonifer* a espécie de maior destaque, além de *R. oryzae* (NELSON, 2005; BAUTISTA-BAÑOS et al., 2014). A doença causada por *Rhizopus* é também conhecida como mofo preto ou podridão de trânsito, em decorrência do seu comum desenvolvimento em caixas de frutos transportados. Nessa condição, a alta umidade e a

proximidade entre os frutos infectados e os adjacentes, tornam todos os exemplares de uma caixa suscetíveis à deterioração em período de dois a três dias (ROBERTS et al., 2005). A incidência do fungo pode ocasionar perdas superiores a 50% a depender do embarque (EMBRAPA, 2007).

O gênero é documentado como patógeno vegetal desde a antiguidade, ao exemplo de *R. nigricans* (= *R. stolonifer*) causando podridão mole em raízes de batata doce em 1890, desde então, tal espécie é reconhecida como causadora de uma das doenças mais comuns e devastadoras dessa cultura (KEAN, 1890; NELSON, 2009). Além disso, é uma das doenças mais prejudiciais da cultura do morango (*Fragaria × ananassa*), também relatada para tomates (*Lycopersicon esculentum*), pêras (*Pyrus serotina*), uvas e entre outras (KWON et al., 2001; ODEH, 2006).

Rhizopus é morfológicamente caracterizado pela presença de rizóides, estolões, columelas apofisadas e bem desenvolvidas que colapsam no ápice de esporangióforos, adquirindo um formato de “guarda-chuva”. Os esporangióforos, normalmente, surgem de estolões com rizóides opostos e os esporangiósporos do gênero são tipicamente angulares, subglobosos a elipsoidais, com presença de estrias na superfície (SCHIPPER; STALPERS, 1984; ZHENG et al., 2007).

3 ARTIGO 1 – NOVOS RELATOS DE *Rhizopus* e *Mucor* CAUSANDO PODRIDÃO PÓS-COLHEITA EM FRUTOS TROPICAIS NO BRASIL

Ana Elisa de Almeida Souza¹, Amanda Cupertino de Queiroz Brito¹, Jordana Alves de Melo², André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago¹, Cristina Maria de Souza-Motta¹, Alexandre Reis Machado¹

¹Departamento de Micologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. da Engenharia s/n, Cidade Universitária, 50740-600, Recife, Pernambuco, Brazil.

²Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brazil

E-mail: anaelisasouza11@gmail.com

ORCID: 0000-0003-0161-3637

Resumo

Mucorales é uma importante ordem do subfilo *Mucoromycotina* que inclui fungos sapróbios e fitopatógenos causadores de podridão mole em diversas frutas e hortaliças. Entre os representantes, espécies de *Rhizopus* e *Mucor* são frequentemente relatadas associadas a perdas e desvalorização de produtos agrícolas na pós-colheita. O objetivo deste estudo foi identificar e descrever espécies de *Mucorales* provenientes de frutas e hortaliças com sintomas de podridão mole e confirmar a patogenicidade dos isolados em seus respectivos hospedeiros. Em mercados do município de Recife, Pernambuco, Brasil, foram coletados frutos e hortaliças com sintomas de podridão mole. Ao todo, 68 isolados de *Mucorales* foram obtidos provenientes de 18 hospedeiros diferentes. Através de análises morfológicas e filogenéticas das regiões gênicas LSU e ITS, 41 isolados foram reconhecidos como *R. stolonifer* e 27 distribuídos no gênero *Mucor*, sendo esses: *M. inaequisporus*, *M. merdicola*, *M. variisporus* e *Mucor* sp. Para os testes de patogenicidade, um isolado representativo de cada hospedeiro foi inoculado em frutas e hortaliças sadias. Lesões com estruturas fúngicas foram observadas entre 2 e 7 dias, exceto para a batata-doce inoculada com *R. stolonifer*. O estudo trás o primeiro relato de *M. inaequisporus* causando podridão mole em pseudofruto de caju, frutos de goiaba e jambo-vermelho, assim como é a primeira vez que a espécie está associada à fruta-pão. Este também é o primeiro relato

de *M. merdicola* causando podridão mole em frutos de melancia e primeira vez em que a espécie é relatada para um hospedeiro vegetal; além do primeiro relato de *M. variisporus* causando podridão mole em fruto de banana, *R. stolonifer* em frutos de abacate, berinjela e pêra no Brasil e primeira vez em que a espécie é relatada associada ao fruto de achachairu.

Palavras-chave: Etiologia, *Mucorales*, Taxonomia.

1 Introdução

A ordem *Mucorales* é a maior e mais diversa de *Mucoromycota* (*Mucoromycotina*), com 340 espécies, distribuídas em 55 gêneros e 14 famílias (Wijayawardene et al., 2022). Esses fungos estão presentes em diversos substratos, como solo (Cruz-Lachica et al., 2018), esterco (Souza et al., 2017), água (Lee et al., 2018), flores (Park et al., 2016) e frutas (Benny et al., 2014). A maioria possui hábito sapróbio, porém muitas espécies podem parasitar outros fungos, humanos, animais e plantas (Jeffries, 1985; Saito et al., 2016; Walther et al., 2019).

Mucorales são morfologicamente caracterizados pelo rápido desenvolvimento de um micélio cenocítico ou irregularmente septado, de aspecto cottonoso e estruturas de reprodução assexuada como esporangióforos, columelas e esporângios multispórados (White et al., 2006; Benny et al., 2016). Enquanto isso, a reprodução sexuada é menos frequente e desconhecida para diversas espécies, ocorrendo através de zigósporos formados pela copulação gametangial (O'Donnell et al., 2001). Os estudos morfológicos de *Mucorales* podem ser confirmados através de dados filogenéticos das subunidades grandes e pequenas do ribossomo (LSU e SSU) e pelo espaçador interno transcrito (ITS) (Hyde et al., 2014).

Os fungos da ordem são pioneiros na colonização de substratos ricos em açúcares simples e frequentemente causam podridão mole em frutas e hortaliças (Richardson, 2009; Cruz-Lachica et al., 2017). Durante a fase de pós-colheita, as culturas tornam-se ainda mais suscetíveis a doenças, devido a fatores como o aumento da maturação e danos mecânicos causados por manejo, transporte e armazenamento inadequados (Prusky, 1997; Singh & Sharma, 2018).

Dentre os principais agentes fitopatogênicos do grupo estão *Rhizopus*, *Mucor*, *Gilbertella* e *Choanephora*, sendo estes, fungos polívoros de ampla distribuição (Csernetics et al., 2005; Hyde et al., 2014). Contudo, a doença é comumente conhecida como podridão de

Rhizopus ou *Mucor*, pois estes são os principais agentes relacionados aos sintomas (Coates & Jhonson, 1997, Feliziani & Romanazzi, 2016).

Rhizopus Ehrenb. é um gênero da família *Rhizopodaceae*, com 13 espécies descritas (Wijayawardene et al., 2022) reconhecidas pela presença de columelas bem desenvolvidas e apofisadas, que colapsam no ápice dos esporangióforos, adquirindo um formato de “guarda-chuva”. Os esporangióforos geralmente surgem de estolões com rizóides opostos e sustentam esporângios com esporangiósporos tipicamente angulares, subglobosos a elipsoidais com presença de estrias distintas (Schipper & Stalpers, 1984; Zheng et al., 2007). De acordo com as características dos esporângios e a temperatura de crescimento, três grupos podem ser considerados: grupo *R. stolonifer*, grupo *R. oryzae* e grupo *R. microsporus* (Schipper & Stalpers, 1984).

As relações filogenéticas de *Rhizopus* podem ser elucidadas com base em análises de ITS, contudo, há constante dificuldade de sequenciamento para o grupo *R. stolonifer* (Abe et al., 2006; Walther et al., 2013). Com isso, a região LSU tornou-se um marcador frequentemente utilizado por ser facilmente sequenciado e capaz de esclarecer as espécies (Liou et al., 2007).

Mucor Fresenius pertence à família *Mucoraceae* com 98 espécies descritas, sendo o maior e mais diverso gênero em *Mucorales* (Hoffmann et al., 2013; Wijayawardene et al., 2022). A taxonomia de *Mucor* é amplamente baseada em caracteres morfológicos e reconhecida pela presença de esporângios não apofisados, predominantemente globosos a subglobosos, tal como por esporangióforos simples ou ramificados que surgem diretamente do substrato (Benny et al., 2016). Além disso, esses fungos podem produzir rizóides, esporangióolos ou azigósporos (Walther et al., 2013).

Contudo, a alta similaridade entre diferentes espécies de *Mucor* e plasticidade fenotípica podem levar a identificações equivocadas (Hoffmann et al., 2013; Walther et al., 2013). *Mucor* é um gênero polifilético, cujas relações filogenéticas ainda não são completamente compreendidas. Porém, a análise da região gênica ITS tem sido recomendada para a descrição de espécies, devido à sua alta variabilidade molecular. Além disso, a região LSU rDNA é constantemente utilizada para reconstruir a filogenia, juntamente a ITS. Por meio de análises da região LSU, associadas ao estudo do tamanho dos esporângios e padrão de ramificação dos esporangióforos é possível considerar os seis grupos: *M. mucedo*, *M. flavus*, *M. hiemalis*, *M. racemosus*, *M. amphibiorum* e *M. recurvus* (Walther et al., 2013).

O conhecimento da comunidade de *Mucorales* em frutos e hortaliças é de extrema importância, visto que esses fungos possuem ampla gama de hospedeiros e causam perdas econômicas em diversas culturas. Devido à frequente ocorrência da podridão mole e carência de estudos etiológicos no Brasil, o presente estudo teve como objetivo identificar as espécies de *Mucorales* associadas à podridão mole em frutos e hortaliças obtidos em mercados de Recife, bem como testar a patogenicidade de isolados em diferentes hospedeiros.

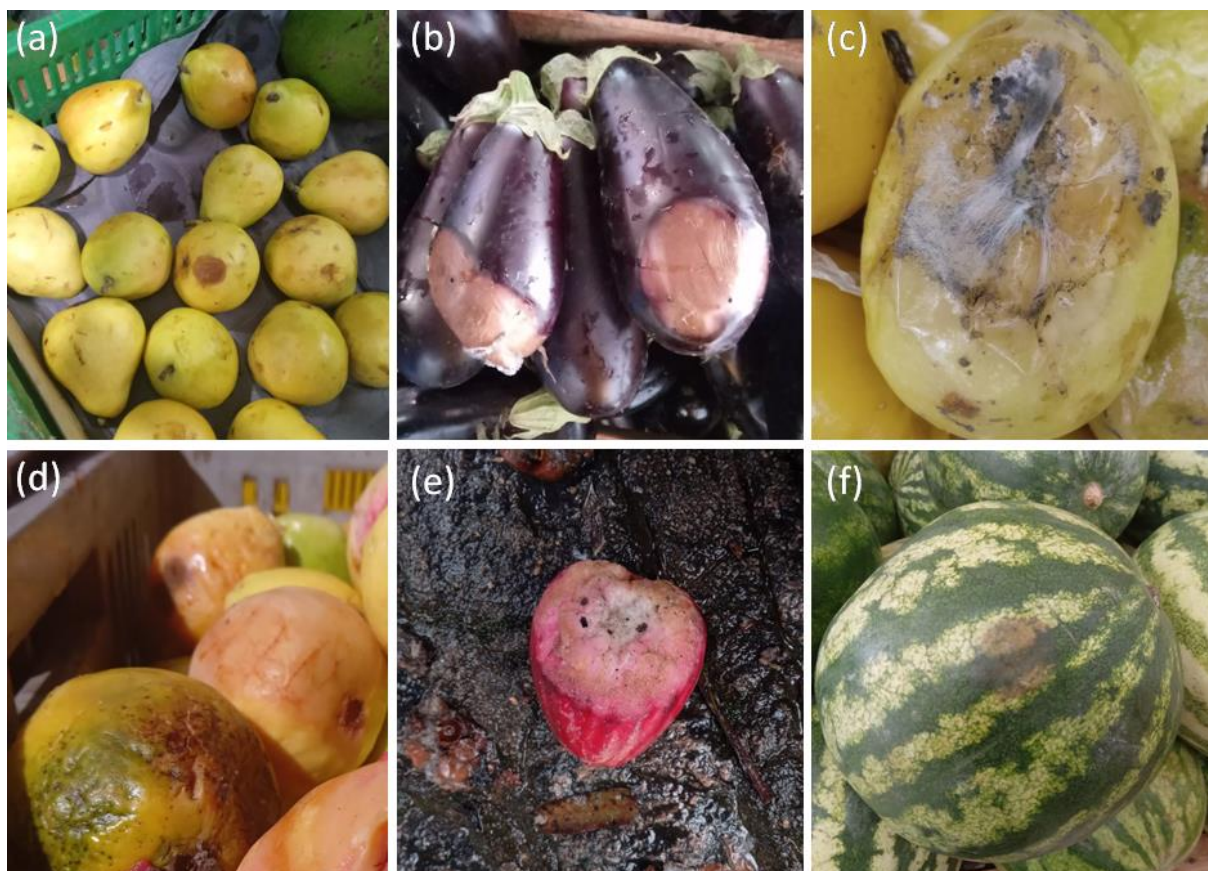
2 Materiais e Métodos

2.1 Coleta e isolamento de fungos

Entre os meses de março a dezembro de 2022, foram coletados frutos e hortaliças de diferentes espécies com sintomas de podridão mole em áreas comerciais na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil, como o Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco (CEASA/PE), supermercados, varejos e feiras. Apenas as amostras sintomáticas de jambo (*Syzygium malaccense*) foram coletadas no campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os sintomas visualizados incluíam a descoloração do tecido vegetal, acompanhada de podridão mole, aquosa e presença de micélio abundante com estruturas reprodutivas do fungo (Figura 1). Os materiais foram encaminhados ao Laboratório de Micologia Ambiental do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco. Quando necessário, as amostras foram incubadas em caixas plásticas vedadas contendo papel umedecido, para indução de esporulação fúngica por 3 dias.

Os fungos foram isolados diretamente com auxílio de uma agulha esterilizada e um microscópio estereoscópico (Global Optics) para meio BDA com antibiótico (Benny, 2008) e incubados por 4 dias a 25°C (Alfenas et al. 2016). Em seguida, foram cultivados em placas contendo meio ágar-água por 2 dias e pontas de hifas foram coletadas e transferidas para novas placas contendo meio BDA (25°C). As culturas fúngicas foram armazenadas pelo método de Sherf (1943) e Castellani (1967).

Figura 1 – Sintomas de podridão mole em frutos de pêra (*Pyrus communis*) (a), berinjela (*Solanum melongena*) (b), maracujá (*Passiflora edulis*) (c), goiaba (*Psidium guajava*) (d), Jambo-vermelho (*Syzygium malaccense*) (e) e melancia (*Citrullus lanatus*) (f).



Fonte: A autora (2023).

2.2 Identificação morfológica dos isolados

Os isolados fúngicos foram descritos após crescimento em meio BDA, entre 3 a 5 dias no escuro (25°C). As lâminas foram montadas em lactoglicerol e azul de algodão, caracteres morfológicos foram observados e 30 medidas de estruturas reprodutivas assexuadas (esporangióforos, columelas, esporângios e esporangiósporos) foram avaliadas, utilizando microscópio (Zeiss Axiostar Plus) com aumento de 40×. Novas ocorrências de hospedeiros foram descritas e fotografadas.

2.3 Extração de DNA, PCR e sequenciamento

O DNA genômico foi extraído de culturas puras em BDA por 3 dias (25 °C). Em seguida, parte do micélio foi removido, depositado em microtubos de 2,0 ml com 3 esferas de vidro (3 mm) e foram adicionados 300µL de Nuclei Lysis Solution. As amostras foram maceradas por 90 segundos a 4350 rpm no equipamento L-beader 6 (Loccus) e incubadas em

banho seco a 65°C por 15 minutos. O procedimento de extração foi realizado utilizando o kit de purificação de DNA genômico da Promega (Wizard Genomic DNA Purification Kit), seguindo o protocolo do fabricante para extração de DNA de plantas, com adaptações.

Para as Reações em Cadeia da Polimerase (PCRs), isolados representativos de cada hospedeiro foram selecionados para amplificação e sequenciamento da subunidade maior do ribossomo (LSU), utilizando os iniciadores LR0R/LR5 (Vilgalys & Hester 1990). O volume total das reações correspondeu a 12,5 µL, sendo 6,25 µL de Taq Pol Master Mix (Cellco), 0,5 µL de cada primer (10 µM), 4,25 µL de água ultrapura e 1 µL de cada amostra de DNA (25 ng). As condições para amplificação da região LSU consistiram em um ciclo inicial de desnaturação a 94 °C por 5 min, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 52 °C por 45 s, extensão a 72 °C. por 90 segundos e extensão final a 72°C por 7 minutos.

Somente para isolados de *Mucor*, o espaçador interno transcrito (ITS) também foi amplificado e sequenciado, utilizando primers ITS1/ITS4 (White et al. 1990). Para a região ITS, as condições de PCR consistiram em um ciclo inicial de desnaturação a 95 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 30 s, anelamento a 58 °C por 30 s, extensão a 72 °C por 1 min. e extensão final a 72°C por 5 min.

Os produtos finais de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose (1%), corado com GelRed™ em adição ao Tris-acetato EDTA (TAE 1X) e visualizados sob luz UV transiluminadora. Posteriormente, os produtos de PCR foram purificados utilizando a enzima Exo+SAP (Cellco) seguindo o protocolo do fabricante. As amostras foram sequenciadas pelo método Sanger (ABI-3500 Genetic Analyzer, Applied Biosystems) na Plataforma de Sequenciamento do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil).

2.5 Análises filogenéticas

As sequências foram montadas utilizando o software MEGA v. 7 (Kumar et al., 2016), e alinhadas, com auxílio da ferramenta MUSCLE no mesmo programa, comparando às sequências disponíveis no banco de dados GenBank (NCBI) (Tabela 1). Quando necessário, ajustes manuais foram feitos. As sequências do estudo foram depositadas no GenBank, seguindo o protocolo estabelecido pelo banco genômico (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Tabela 1 – Números de acesso do GenBank de sequências usadas para análises filogenéticas.

Espécies	Isolados	Hospedeiro/substrato	Números de acesso no GenBank ¹	
			ITS	LSU
<i>Backusella grandis</i>	CBS 186.87*	-	NR_103648	JN206527
<i>Syzygites megalocarpus</i>	CBS 372.39	-	-	JN206401
<i>Mucor abundans</i>	CBS 388.35*	Solo de floresta	JN206111	NG_063979
<i>M. aligarensis</i>	CBS 993.70*	Solo	NR_103634	NG_057920
<i>M. amphibiorum</i>	CBS 763.74*	Anfíbio	NR_103615	NG_057877
<i>M. ardhlaengiktus</i>	CBS 210.80*	Solo de jardim	NR_152960	NG_069778
<i>M.aseptatophorus</i>	MFLU21-0040*	Solo	MZ433252	MZ433249
<i>M. atramentarius</i>	CBS 202.28*	Solo	MH854979	JN206418
<i>M. amethystinus</i>	CBS 526.68*	-	JN206015	JN206426
<i>M. azygosporus</i>	CBS 292.63*	Esterco de largato	NR_103639	NG_057928
<i>M. bacilliformis</i>	CBS 251.53*	Solo	NR_145285	NG_057916
<i>M. bainieri</i>	CBS 293.63*	Solo de floresta	NR_103628	JN206424
<i>M. caatinguensis</i>	URM 7223	Solo	KT960377	KT960371
<i>M.chiangraiensis</i>	MFLU 21-0079*	Solo	MZ433253	MZ433250
<i>M.chuxiongensis</i>	NYNU 174111*	Madeira podre	MG255732	MG255711

<i>M.circinatus</i>	URM 7218*	Solo	KY008576	KY008571
<i>M. circinelloides</i>	CBS 195.68*	Ar	NR_126116	NG_055735
<i>M. circinelloides</i>	CBS 108.16	-	JN205954	MH866163
<i>M. corticola</i>	CBS 362.68	Solo de floresta	JN206132	JN206449
<i>M. ctenidius</i>	CBS 293.66*	Solo de deserto	MH858796	JN206417
<i>M. durus</i>	CBS 156.51*	Solo	NR_145295	NG_057918
<i>M. ellipsoideus</i>	ATCC MYA-4767*	-	NR_111683	NG_042602
<i>M. endophyticus</i>	CBS 385.95*	<i>Triticum aestivum</i> , folhas	NR_111661	NG_057970
<i>M. exponens</i>	CBS 141.20*	-	MH854686	JN206441
<i>M. falcatus</i>	CBS 251.35*	Favo de mel	NR_103647	NG_057931
<i>M. fluvii</i>	CNUFC MSW21-1	-	MF667992	MF667995
<i>M. flavus</i>	CBS 230.35*	Esterco	JN206061	JN206464
<i>M. fragilis</i>	CBS 236.35	<i>Tremella</i>	JF299225	FN650671
<i>M. fuscus</i>	CBS 230.29*	-	JN206204	FN650659
<i>M. fusiformis</i>	CBS 336.68*	<i>Picea abies</i>	NR_111660	NG_057915
<i>M. genevensis</i>	CBS 114.08*	Solo	NR_103632	NG_057971
<i>M. gigasporus</i>	CBS 566.91*	Solo	NR_103646	NG_057926
<i>M. guilhermondii</i>	CBS 174.27*	<i>Periplaneta americana</i> , Esterco	NR_103636	NG_057923
<i>M. grylli</i>	CNUFC CY102*	<i>Gryllus</i> sp.	OM868230	OM843127
<i>M. griseocyanus</i>	CBS 116.08*	Solo	NR_126136	NG_056283
<i>M. heterogamus</i>	CBS 405.58*	-	JN206167	JN206487

<i>M. hiemalis</i>	CBS 201.65*	-	NR_152948	NG_057968
<i>M. hyangburmii</i>	CNUFC CY22	<i>Gryllus</i> sp.	OM868232	OM843129
<i>M. inaequisporus</i>	CBS 255.36*	<i>Spondias mombin</i> , fruto	JN206177	NG_057929
<i>M. inaequisporus</i>	CBS 351.50	<i>Musa sapientum</i> , fruto	JN206178	MH868169
<i>M. inaequisporus</i>	DNMI02	<i>Prunus salicina</i>	OR136170	OR136180
<i>M. inaequisporus</i>	ARM985	<i>Psidium guajava</i> , fruto	PP065579	PP065597
<i>M. inaequisporus</i>	ARM989	<i>Psidium guajava</i> , fruto	OR337906	OR338770
<i>M. inaequisporus</i>	ARM1041	<i>Anacardium occidentale</i> , fruto	PP065580	PP065598
<i>M. inaequisporus</i>	ARM1153	<i>Psidium guajava</i> , fruto	OR337912	OR338776
<i>M. inaequisporus</i>	ARM1154	<i>Psidium guajava</i> , fruto	PP065581	PP065599
<i>M. inaequisporus</i>	ARM1155	<i>Psidium guajava</i> , fruto	OR337913	OR338777
<i>M. inaequisporus</i>	ARM1156	<i>Psidium guajava</i> , fruit	PP065582	PP065600
<i>M. inaequisporus</i>	ARM1193	<i>Artocarpus altilis</i> , fruto	OR337914	OR338781
<i>M. inaequisporus</i>	URM8812	<i>Psidium guajava</i> , fruto	OR337905	OR338769
<i>M. inaequisporus</i>	URM8813	<i>Syzygium malaccense</i> , fruto	OR337907	OR338771
<i>M. inaequisporus</i>	URM8814	<i>Syzygium malaccense</i> , fruto	OR337908	OR338772
<i>M. inaequisporus</i>	URM8815	<i>Anacardium occidentale</i> , fruto	OR337909	OR338773
<i>M. inaequisporus</i>	URM8816	<i>Syzygium malaccense</i> , fruto	OR337910	OR338774
<i>M. inaequisporus</i>	URM8817	<i>Syzygium malaccense</i> , fruto	OR337911	OR338775
<i>M. indicus</i>	CBS 226.29*	-	NR_077173	NG_057878
<i>M. irregularis</i>	CBS 103.93*	Humano, mão	JN206150	NG_056285

<i>M. japonicus</i>	CBS 154.69*	Solo de floresta	JN206158	JN206446
<i>M. koreanus</i>	EML-QT1*	Tangerina, fruto	KT936259	NG_068529
<i>M.kunryangriensis</i>	CNUFC CY223*	<i>Gryllus</i> sp.	OM868234	OM843131
<i>M. lanceolatus</i>	CBS 638.74	Queijo	JN206205	JN206443
<i>M. laxorrhizus</i>	CBS 143.85*	Lama de lago	NR_103642	NG_057914
<i>M.lusitanicus</i>	CBS 108.17*	-	JN205980	NG_056279
<i>M. luteus</i>	CBS 243.35*	-	JX976254	NG_057969
<i>M. megalocarpus</i>	CBS 215.27*	-	NR_145286	NG_057925
<i>M. merdicola</i>	URM 7222	<i>Bos taurus</i> , Esterco	KT960374	KT960372
<i>M. merdicola</i>	URM8818	<i>Citrullus lanatus</i> , fruto	PP065583	OR338778
<i>M. merdicola</i>	URM8819	<i>Citrullus lanatus</i> , fruto	PP065584	OR338779
<i>M. merdicola</i>	URM8820	<i>Citrullus lanatus</i> , fruto	PP065585	OR338780
<i>M. merdophylus</i>	URM 7908*	Esterco de cachorro	MK775467	MK775466
<i>M. minutus</i>	CBS 586.67*	-	NR_152958	JN206463
<i>M. moelleri</i>	CBS 444.65*	Solo	0MH858663	NG_057875
<i>M. mousanensis</i>	CBS 999.70*	Esterco de rato	NR_103629	NG_057912
<i>M. mucedo</i>	CBS 640.67*	Vaca, canal nasal	JN206085	HM849687
<i>M. multiplex</i>	CBS 110662*	Solo de arrozal	NR_111662	NG_057924
<i>M. nidicola</i>	H13	Ninho de vespas	KX375786	KX375769
<i>M. nederlandicus</i>	MFLUCC 210045	Solo	MZ433254	MZ433251
<i>M. nederlandicus</i>	CBS 735.70		MH859923	MH871720

<i>M. odoratus</i>	CBS 130.41*	Ar de laboratório	NR_145287	NG_057927
<i>M. orantomantidis</i>	CNUFC-MID1-1*	Fezes de inseto	MH594737	MH591457
<i>M. parviseptatus</i>	CBS 417.77	Solo	JN206108	JN206453
<i>M. piriformis</i>	CBS 169.25*	<i>Pyrus communis</i> , fruto	NR_103630	NG_057874
<i>M. pernambucoensis</i>	URM 7640*	Solo	MH155323	MH155322
<i>M. plasmaticus</i>	CBS 275.49	Esterco de rato	JN206078	JN206483
<i>M. plumbeus</i>	CBS 295.63	Serrapilheira	MH858289	MH869898
<i>M. plumbeus</i>	CBS 634.74	humano, material de biópsia	HM999955	HM849677
<i>M. prayagensis</i>	CBS 652.78	Esterco de musaranho	JN206189	JN206498
<i>M. prayagensis</i>	CBS 816.70	-	MH859957	JN206496
<i>M. pseudolusitanicus</i>	CBS 540.78*	Malte de sorgo	NG_076698	MF495059
<i>M. pseudocircinelloides</i>	CBS 541.78	<i>Zea mays</i>	JN206013	JN206431
<i>M. racemosus</i>	CBS 260.68*	-	NR_126135	HM849676
<i>M. ramosissimus</i>	CBS 135.65*	Humano, lesão nasal	NR_103627	NG_056280
<i>M. rongii</i>	CICC 41,725*	Paredes úmidas	MK903014	MK903013
<i>M. saturninus</i>	CBS 974.68*	Solo	NR_103635	JN206458
<i>M. stercorarius</i>	CNUFC-UK2-1*	Esterco de rato	KX839689	KX839685
<i>M. strictus</i>	CBS 100.66*	Solo de pastagem	JN206035	JN206477
<i>M. souzae</i>	URM 7553*	Solo	KY992878	KY992879
<i>M. septatum</i>	URM 7364	Solo	KY849814	KY849816
<i>M. silvaticus</i>	CBS 249.35	Solo de floresta	JN206122	JN206455

<i>Mucor</i> sp.	ARM1299	<i>Persea americana</i> , fruto	-	PP065601
<i>Mucor</i> sp.	ARM1300	<i>Persea americana</i> , fruto	-	PP065602
<i>M. takensis</i>	MFLU 21-0082*	Solo	MZ379497	MZ379500
<i>M. ucrainicus</i>	CBS 221.71	Esterco de rato	MH860077	MT523853
<i>M. variisporus</i>	CBS 837.70*	-	NR_152951	NG_057972
<i>M. variisporus</i>	ARM941	<i>Musa acuminata</i> , fruto	OR337903	OR338767
<i>M. variisporus</i>	URM8811	<i>Musa acuminata</i> , fruto	OR337904	OR338768
<i>M. variicolumellatus</i>	CBS 236.35*	<i>Tremella</i>	JN205979	JN206422
<i>M. velutinosus</i>	CBS 762.74	Leite em pó	JN206011	JN206416
<i>M. velutinosus</i>	UTHSC-04-1961	-	JF299208	FN650657
<i>M. zonatus</i>	CBS 148.69*	Solo	NR_103638	NG_057917
<i>M. zychnae</i>	CBS 416.67*	Solo adubado	NR_103641	NG_057930
<i>Rhizopus americanus</i>	CBS 340.62*	Ar		NG_057873
<i>R. arrhizus</i>	CBS 112.07*	-		NG_056282
<i>R. arrhizus</i>	CBS 130146	-		MH877020
<i>R. caespitosus</i>	CBS 427.87*	-		NG_057871
<i>R. caespitosus</i>	BCRC 33515	-		DQ466604
<i>R. homothallicus</i>	CBS 111232	-		JN206404
<i>R. homothallicus</i>	CBS 336.62*	Solo de deserto		NG_057870
<i>R. lyococcus</i>	CBS 319.35	-		AB250195
<i>R. lyococcus</i>	CBS 320.35	-		JN206534

<i>R. microsporus</i>	CBS 112285	Milho, amedoim	JN206403
<i>R. microsporus</i>	CBS 699.68*	Solo	MH870925
<i>R. rhizopodiformis</i>	CBS 536.80	Malte de sorgo	JN206402
<i>R. rhizopodiformis</i>	CBS 607.73	Cereais armazenados	HM849667
<i>R. schipperae</i>	CBS 138.95	Humano, lavagem brônquica	HM849672
<i>R. schipperae</i>	ATCC 96514*	-	NG_059417
<i>R. sexualis</i>	CBS 336.39*	<i>Fragaria</i> , fruto	HM849673
<i>R. stolonifer</i>	CBS 150.83	-	AB250199
<i>R. stolonifer</i>	SICAUCC190001	-	MN148530
<i>R. stolonifer</i>	ARM944	<i>Carica papaya</i> , fruto	PP065603
<i>R. stolonifer</i>	ARM1022	<i>Carica papaya</i> , fruto	PP065604
<i>R. stolonifer</i>	ARM1029	<i>Vitis vinifera</i> , fruto	PP065605
<i>R. stolonifer</i>	ARM1038	<i>Pyrus communis</i> , fruto	PP065606
<i>R. stolonifer</i>	ARM1162	<i>Cucumis melo</i> , fruto	PP065607
<i>R. stolonifer</i>	ARM1166	<i>Solanum melongena</i> , fruto	PP065608
<i>R. stolonifer</i>	ARM1174	<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> , fruto	PP065609
<i>R. stolonifer</i>	ARM1175	<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> , fruto	PP065610
<i>R. stolonifer</i>	ARM1183	<i>Carica papaya</i> , fruto	PP065611
<i>R. stolonifer</i>	ARM1184	<i>Carica papaya</i> , fruto	PP065612
<i>R. stolonifer</i>	ARM1208	<i>Artocarpus heterophyllus</i> , fruto	PP065613
<i>R. stolonifer</i>	ARM1306	<i>Persea americana</i> , fruto	PP065614

<i>R. stolonifer</i>	URM8789	<i>Vitis vinifera</i> , fruto	OR122326
<i>R. stolonifer</i>	URM8799	<i>Vitis vinifera</i> , fruto	OR122327
<i>R. stolonifer</i>	URM8800	<i>Pyrus communis</i> , fruto	OR122328
<i>R. stolonifer</i>	URM8801	<i>Passiflora edulis</i> , fruto	OR122329
<i>R. stolonifer</i>	URM8802	<i>Cucumis melo</i> , fruto	OR122330
<i>R. stolonifer</i>	URM8803	<i>Ipomoea batatas</i> , raíz	OR122331
<i>R. stolonifer</i>	URM8804	<i>Solanum melongena</i> , fruto	OR122332
<i>R. stolonifer</i>	URM8805	<i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> , fruto	OR122333
<i>R. stolonifer</i>	URM8806	<i>Artocarpus heterophyllus</i> , fruto	OR122334
<i>R. stolonifer</i>	URM8807	<i>Garcinia humilis</i> , fruto	OR122335

Fonte: A autora (2023).

Os isolados obtidos no estudo estão em negrito.

¹ ITS Internal transcribed spacers, LSU large ribosomal subunit

*TYPE

As análises filogenéticas de Inferência Bayesiana (BI) foram aplicadas utilizando o método Markov Monte Carlo (MCMC), com uma matriz de sequências da região do gene LSU para *Rhizopus* e sequências concatenadas das regiões ITS e LSU para *Mucor*. Os modelos de substituição de nucleotídeos foram selecionados utilizando MrMODELTEST 2.3 (Posada & Buckley, 2004), com base no critério de informação de Akaike (AIC), sendo GTR + I + G para *Mucor* e GTR + G para *Rhizopus*.

As análises foram concluídas com MrBayes v.3.1.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) no portal “CIPRES Science Gateway” (Miller et al., 2010) em 1.000.000 gerações com uma árvore amostrada a cada 1.000 gerações, gerando 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores com os menores valores de probabilidade foram descartadas (Burnin 25%) da análise e os valores de probabilidade subsequentes (Rannala & Yang, 1996) foram determinados a partir da árvore de consenso, através das 7.500 árvores restantes. As árvores filogenéticas resultantes foram visualizadas usando o software FigTree (Rambaut, 2009).

2.6 Testes de patogenicidade

Para confirmar os agentes etiológicos, um isolado representativo de cada hospedeiro foi escolhido aleatoriamente para inoculação e cultivados em meio BDA por 4 dias no escuro a 25°C: URM8811, URM8812, URM8814, URM8815, URM8818, URM8798, URM8799, URM8800, URM8801, URM8802, URM8803, URM8804, URM8805, URM8806, ARM1183, ARM1300 e ARM 1306.

Frutos e hortaliças saudáveis foram desinfestados em hipoclorito de sódio (1%) por 2 minutos, lavados em água destilada esterilizada e secos ao ar (± 25). Em seguida, cinco frutos e hortaliças de cada tipo foram feridos em 3 mm de profundidade, com auxílio de uma agulha esterilizada e inoculados com 20 μ L de suspensão de esporangiósporos (10^5 esporangiósporos/mL) (Souza et al., 2023). Apenas a melancia foi inoculada através de uma injeção de suspensão de mesma concentração (Oladele, 2018). Para o controle, água destilada esterilizada foi injetada na melancia e pipetada para os outros frutos. Os tratamentos foram incubados em câmara úmida a temperatura ambiente (± 25 °C) e fotoperíodo de 12 horas. Entre 2 a 7 dias após a inoculação, os fungos foram reisolados e confirmados por meio de características morfológicas, para cumprimento dos Postulados de Koch.

3 Resultados

3.1 Sintomatologia e isolamento de fungos

Em mercados do Recife, Nordeste do Brasil, foram obtidos 68 isolados de *Mucorales* de 18 hospedeiros diferentes apresentando sintomas de podridão mole. Entre os exemplares, 41 foram identificados como pertencentes ao gênero *Rhizopus*, provenientes de 12 hospedeiros: Abacate (*Persea americana* Mill.), achachairu (*Garcinia humilis* Vahl.), berinjela (*Solanum melongena* L.), uva verde (*Vitis vinifera* cv. Muscat), uva roxa (*Vitis vinifera* cv. Crimson), jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), melão (*Cucumis melo* L.), mamão (*Carica papaya* L.), maracujá (*Passiflora edulis* Sims), pêra (*Pyrus communis* L.), morango (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) e raiz de batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Enquanto, 27 dos isolados foram identificados como *Mucor*, obtidos dos frutos de abacate (*Persea americana* Mill.), banana (*Musa sapientum* L.), fruta-pão (*Artocarpus altilis* Park.), caju (*Anacardium occidentale* L.), goiaba (*Psidium guajava* L.), jambo-vermelho (*Syzygium malaccense* L.) e melancia (*Citrullus lanatus* Thumb.). Isolados representativos foram depositados na coleção de culturas Micoteca URM do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

3.2 Taxonomia

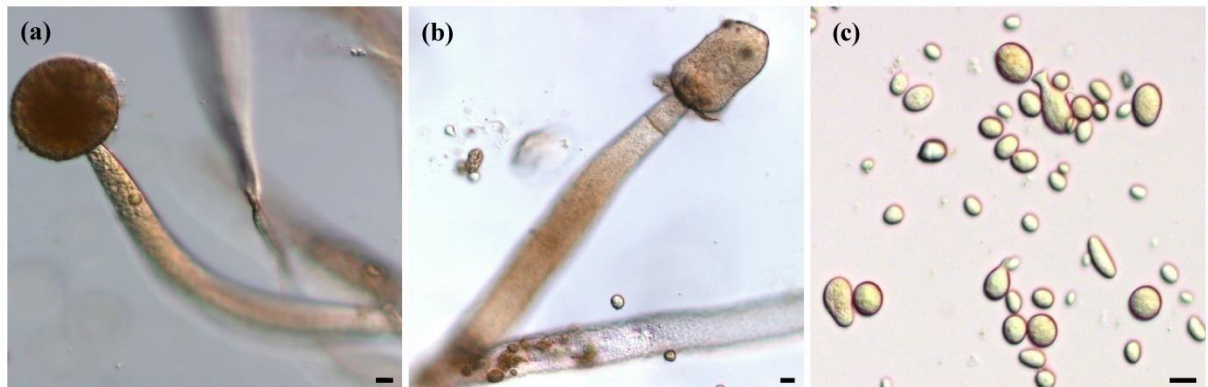
***Mucor inaequisporus* Dade, Trans Br. Mycol. Soc. 21 (1): 25, 1937.**

Colônias amarelo intenso com reverso amarelo, alcançando 9 cm em 3 dias a 25°C. Rizóides curtos ou longos. Esporangióforos eretos, curvos, simples ou simpodialmente ramificados, podendo haver presença de grânulos amarelos e constrição próxima ao esporângio, 12.5 – 40 (-55) µm de diâmetro. Esporângios globosos a subglobosos, amarelos quando jovens e marrons na maturidade, 30 – 140 µm de diâmetro. Columelas de formatos variados, piriformes, elipsóides, cônicas, globosas, subglobosas e obovóides com colarinho, (20-) 45 – 105 (-112.5) × (20-) 30 – 80 (-110) µm. Esporangiósporos hialinos com conteúdo granular, formatos variados, incluindo elipsóides, 5 – 15 (-20) × 2.5 – 10 (-15) µm globosos a subglobosos (<22.5 µm de diâmetro) e irregulares (<42.5 µm de diâmetro). Clamidósporos não observados (Figura 2 e 3).

Hospedeiros: Pseudofruto de caju e frutos de goiaba, fruta-pão e jambo-vermelho.

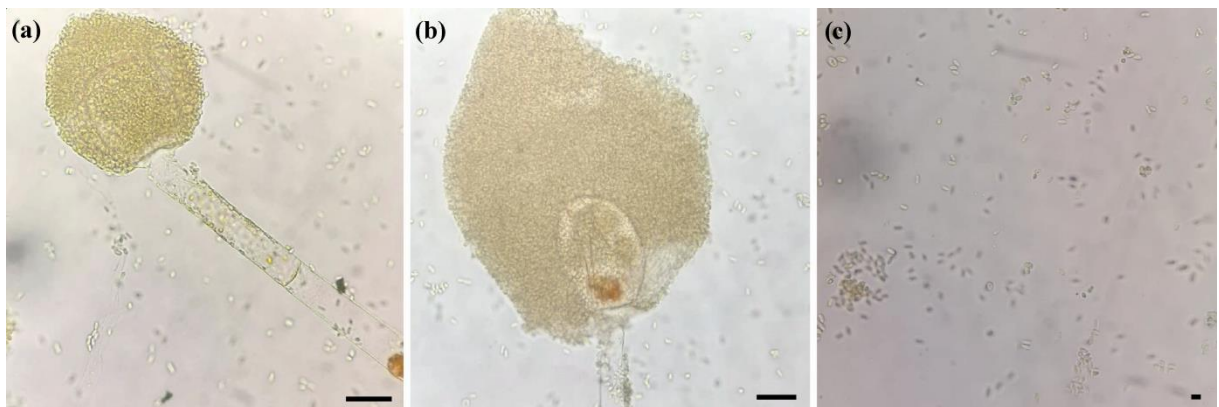
Materiais analisados: Isolados URM8812 e URM8814.

Figura 2 – Características morfológicas de *Mucor inaequisporus* (URM8812). Esporângio e esporangióforo (a), columela e esporangióforo (b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 μ m.



Fonte: A autora (2023).

Figura 3 – Características morfológicas de *Mucor inaequisporus* (URM8814). Esporângio e esporangióforo (a) esporângio e columela (b), esporangiósporos (c). Barras de escala: a = 15 μ m, b= 12 μ m, c= 8 μ m.



Fonte: A autora (2023).

***Mucor merdicola* C.A.F. de Souza & A.L. Santiago, in Li et al., Fungal Diversity: 78, 2016.**

Colônias de coloração creme, alcançando 9 cm em 3 dias a 25°C. Esporangióforos eretos ou levemente curvados, simples ou simpodialmente ramificados, (2.5-) 5 – 15 (-20) μ m de diâmetro. Esporângios amarelos a marrons, globosos (10-) 17.5 – 60 (-62.5) μ m de diâmetro. Columelas globosas a subglobosas, (10-) 15 – 30 μ m de diâmetro. Esporangiósporos hialinos, elipsóides a subglobosos, (2.5-) 5 – 10 (-12.5) $\times$ (2.5-) 5 – 7.5 (-10) μ m. Clamidósporos globosos, subglobosos a elipsóides (Figura 4).

Hospedeiro: Fruto de melancia.

Material analisado: Isolado URM8818.

Figura 4 – Características morfológicas de *Mucor merdicola* (URM8818). Esporangióforos e columelas (a, b), esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 μ m.



Fonte: A autora (2023).

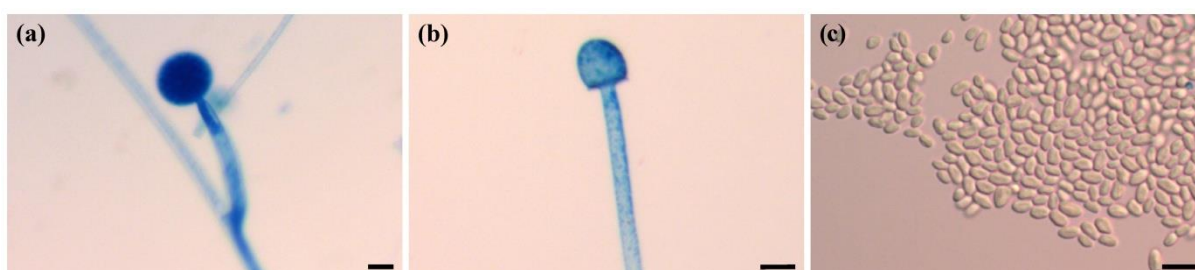
***Mucor* sp.**

Colônias creme em verso e reverso, alcançando 9 cm em 5 dias a 25°C. Esporangióforos eretos, simples ou simpodialmente ramificados, 5 – 17.5 μ m de diâmetro. Esporângios globosos a subglobosos, marrons, 20 – 47.5 $\times$ 22.5 – 50 μ m de diâmetro. Columelas globosas, subglobosas, elipsóides a cilíndricas, 12.5 – 37.5 $\times$ 10 – 40 μ m. Esporangiósporos elipsóides, 5 – 7.5 (-10) $\times$ 2.5 – 7.5 μ m (Figura 5).

Hospedeiro: Fruto de abacate.

Material analisado: Isolado ARM1300.

Figura 5 – Características morfológicas de *Mucor* sp. (ARM1300). Esporângio e esporangióforo (a), columela e esporangióforo (b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 μ m.



Fonte: A autora (2023).

***Mucor variisporus* MAA Schipper, Studies in Mycology, 17: 11, 1978.**

Colônias amarelo em verso e reverso, alcançando 9 cm em 3 dias a 25°C. Esporangióforos eretos, simples ou com ramificações monopodiais, com presença ou ausência de grânulos amarelos, 12.5 – 37.5 μ m de diâmetro. Esporângios globosos a subglobosos, amarelos a marrons, 40 – 140 μ m de diâmetro. Columelas elipsóides, piriformes, 45 – 90 $\times$ 40 – 65 μ m a

globosas, 20 – 55 μm de diâmetro. Esporangiósporos elipsóides, subglobosos a globosos, 5 – 27.5 $\times$ 2.5 – 10 (-20) μm (Figura 4).

Hospedeiro: Fruto de banana.

Material analisado: Isolado URM8811.

Figura 6 – Características morfológicas de *Mucor variisporus* (URM8811). Esporângios, columelas e esporangióforos (a, b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 μm .



Fonte: A autora (2023).

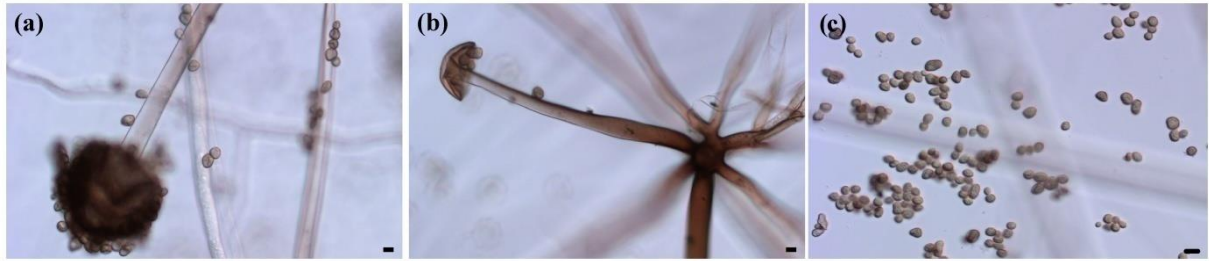
***Rhizopus stolonifer* (Ehrenb) Vuill., Revue Mycologia, Toulouse 24: 54, 1902.**

Colônias brancas a acinzentadas, reverso esbranquiçado, atingindo 9 cm em 3 dias a 25°C. Rizóides e estolões bem desenvolvidos. Esporangióforos eretos, solitários ou em grupos de 2-5, 850 – 4.000 μm de altura e 12.5 – 42.5 μm de diâmetro. Esporângios globosos a subglobosos, marrom escuro, 87.5 – 250 (-300) μm diam. Columelas apofisadas de formato ovóides, cônicas, globosas a subglobosas, com presença de apófise, (15-) 37.5 – 167.5 (-200) $\times$ (20-) 47.5 – 142.5 (-190) μm . Esporangiósporos globosos a subglobosos, irregular ou angular com estrias distintas, 5 – 17.5 (-25) $\times$ 5 – 20 (22.5) μm . Clamidósporos ausentes (Figura 6).

Hospedeiros: Frutos de abacate, achachairu, berinjela, jaca, mamão, maracujá, melão, morango, pêra, uva verde, uva roxa e raiz de batata doce.

Material analisado: Isolado URM8800.

Figura 7 – Características morfológicas de *Rhizopus stolonifer* (URM8800). Esporângio (a), columela e esporangióforo (b) e esporangiósporos (c). Barras de escala: a, b, c = 10 μ m.



Fonte: A autora (2023).

Tabela 2 – Comparação entre as características morfológicas dos isolados examinados no estudo com estudos publicados.

Espécies	Esporangióforos	Columelas	Esporângios	Esporangiósporos	Referências
<i>Mucor</i>	35–49 µm diam.	80 × 60µm	100–150µm diam.	3.5 × 2.5µm ou 25 × 20µm	Dade (1937)
<i>inaequisporus</i>	12.5–55µm diam.	20–112.5 × 20–110µm	30–140 µm diam.	5–20 × 2.5–15µm até 42.5 µm diam.	Este estudo
<i>Mucor merdicola</i>	3–18 µm diam.	12.5–50 µm diam.	16–85 µm diam.	4–7.5 × 3–10µm ou 2.5–8.5µm diam.	Souza & Santiago (2016)
	2.5 – 20µm diam.	10–30µm diam.	10–62.5 µm diam.	2.5 –12.5 × 2.5–10 µm	Este estudo
<i>Mucor</i> sp.	5–17.5µm diam.	12.5–37.5 × 10–40 µm	20 – 47.5 × 22.5 – 50µm	5–10 × 2.5–7.5 µm	Este estudo
<i>Mucor</i>	14 (-23) µm diam.	72 × 60µm	Até 150 µm diam.	5.5–13.5 × 3.5–8 µm	Schipper (1978)
<i>variisporus</i>	12.5 – 37.5µm diam.	20 – 90 × 40 – 65µm	40 – 140 µm diam.	5 – 27.5 × 2.5 – 20 µm	Este estudo
<i>Rhizopus</i>	8 – 49 µm diam.	18 – 212 × 33 – 182µm	47 – 274µm diam.	4.5 – 19 × 4 – 14µm	Zheng et al. (2007)
<i>stolonifer</i>	12.5 – 42.5 µm diam.	15–200 × 20 – 190 µm	87.5–300 µm diam.	5 –25 × 5 –22.5 µm	Este estudo

Fonte: A autora (2023).

3.3 Análises filogenéticas

Análises de Inferência Bayesiana (BI) da região LSU sustentaram os estudos morfológicos, inserindo os isolados de *Mucor* em clados correspondentes a *M. inaequisporus*, *M. merdicola*, *Mucor* sp. e *M. variisporus*. O alinhamento incluiu 109 táxons e 688 caracteres. A árvore foi enraizada com *Backusella grandis* CBS 186.87 (Figura 8).

As sequências de DNA de quinze isolados representativos foram segregadas em dois clados equivalentes a *M. inaequisporus*. O primeiro agrupamento, composto por cinco isolados de *Syzygium malaccense* (URM8813, URM8814, ARM1045, URM8816 e URM8817) e a cepa do GenBank DNMI02, com 95% de probabilidade posterior. O segundo clado incluiu dez isolados do estudo, obtidos de caju, fruta-pão e goiaba (ARM985, ARM989, ARM1041, ARM1153, ARM1154, ARM1155, ARM1156, ARM1193, URM8812 e URM8815) e o isolado CBS 351.50 com 100% de probabilidade posterior.

As sequências de três isolados do estudo (URM8818, URM8819 e URM8820) formaram um clado de 100% de probabilidade posterior com *M. merdicola* (URM7222). Dois isolados (ARM941 e URM8811) uniram-se ao isolado tipo de *M. variisporus* (CBS 837.70) com 100% de probabilidade posterior. Enquanto, outros dois isolados (ARM1299 e ARM1300), identificados apenas por análises de LSU, formaram um novo clado com 100% de probabilidade posterior e se dispuseram próximos a *M. bainieri* (CBS 293.63), porém apresentam morfologia distinta (Figura 5).

Figura 8 – Árvore filogenética de *Mucor* com a região LSU por Inferência Bayesiana. Os valores de probabilidade posterior acima de 95% estão atrás dos nós. As espécies obtidas neste estudo estão destacadas em negrito.



Fonte: A autora (2023).

Nas análises concatenadas das regiões gênicas ITS e LSU foram detectadas as espécies anteriormente referidas como *M. merdicola* e *M. variisporus*, com 100% de probabilidade posterior. Quanto aos isolados considerados *M. inaequisporus*, diferenciaram-se em organização. O primeiro clado, composto por cinco isolados, segregou totalmente dos que estavam próximos, incluindo da espécie tipo (CBS 255.36). Enquanto, o clado formado por dez isolados, mantiveram-se próximos a cepa CBS 351.50, porém apresentando subdivisões de alta probabilidade posterior. O alinhamento incluiu 109 táxon e apresentou 1732 caracteres. A árvore foi enraizada com *Backusella grandis* CBS 186.87 (Figura 9).

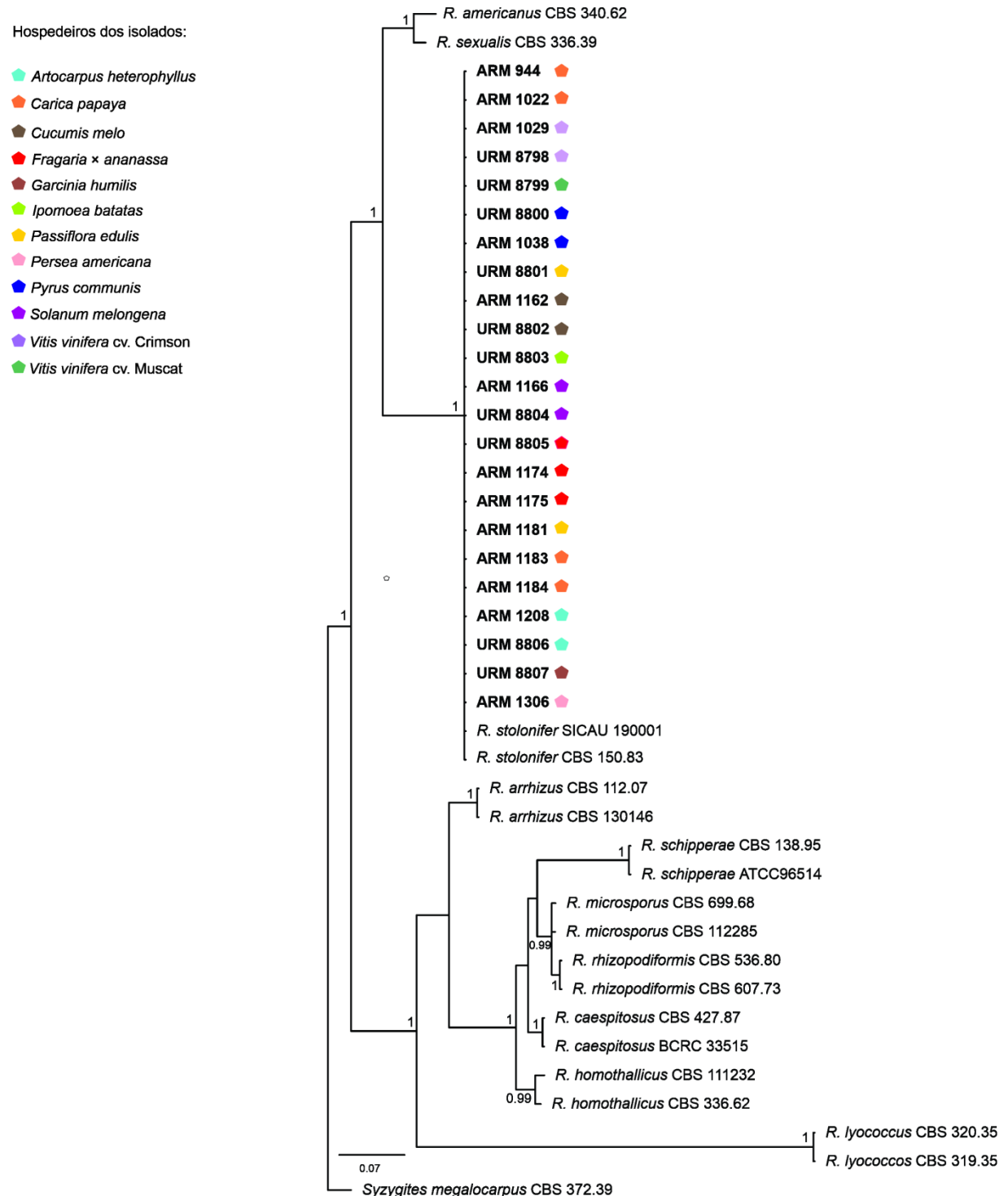
Para o gênero *Rhizopus*, a análise filogenética de Inferência Bayesiana agrupou todos os isolados em um único clado correspondente a *R. stolonifer* (CBS 150.83, SICAU190001), com 100% de probabilidade posterior. O alinhamento de LSU apresentou 42 táxons e um total de 676 caracteres. A árvore foi enraizada em *Syzygites megalocarpus* CBS 372.39 (Figura 10).

Figura 9 – Árvore filogenética de *Mucor* concatenada com as regiões ITS e LSU por Inferência Bayesiana. Os valores de probabilidade posterior acima de 95% estão atrás dos nós. As espécies obtidas neste estudo estão destacadas em negrito.



Fonte: A autora (2023).

Figura 10 – Árvore filogenética de *Rhizopus* gerada a partir da análise Bayesiana da região gênica LSU. Probabilidades posteriores acima de 95% são indicadas atrás dos nós. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito.



Fonte: A autora (2023).

3.4 Testes de patogenicidade

Testes realizados com isolados representativos de cada hospedeiro confirmaram a patogenicidade de *M. inaequisporus* para frutos de goiaba, jambo e pseudofruto de caju (URM8812, URM8814, URM8815), *M. merdicola* para melancia (URM8818), *M. variisporus* para banana (URM8811) e *R. stolonifer* para os frutos de abacate, berinjela, jaca, mamão, maracujá, melão, morango, pêra, uva verde e uva roxa (ARM 1183, ARM1306, URM8798, URM8799, URM8800, URM8801, URM8802, URM8804, URM8805, URM8806). Apenas o isolado de *R. stolonifer* de batata-doce não foi considerado patogênico (URM8803).

Os sintomas de *Mucor* surgiram entre 24h-72h, exceto para o abacate (96h) e melancia, cuja lesão interna advinda do método de injeção foi perceptível somente após o desmonte do teste, em sete dias (168h). A progressão das manchas com produção de micélio amarelo (*M. inaequisporus* e *M. variisporus*) ou creme (*M. merdicola* e *Mucor* sp.) foi observada entre 48h-96h e em 168h para abacate e melancia (Figura 11).

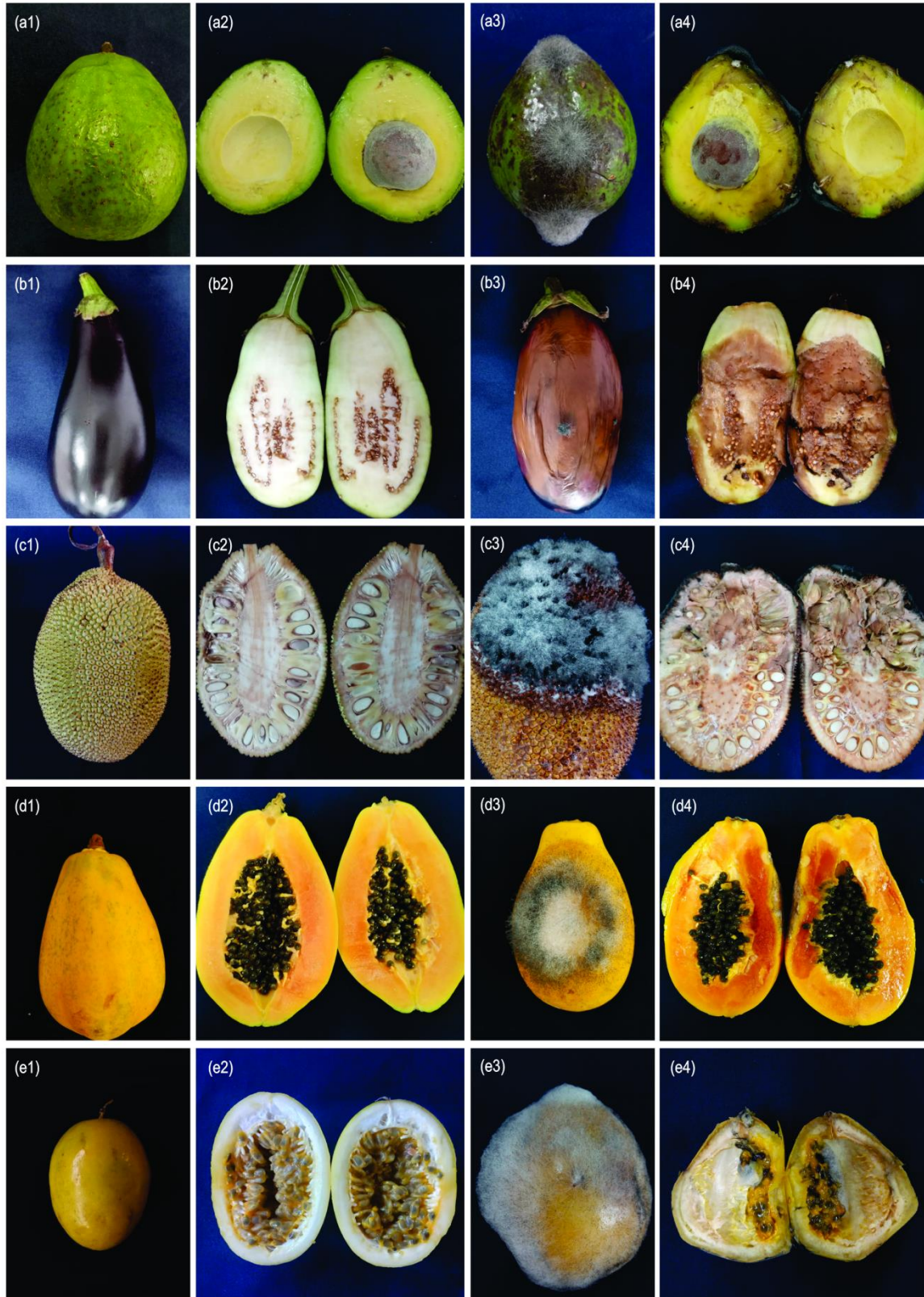
Nos testes de *R. stolonifer*, os primeiros sintomas apareceram entre 24h-48h, com produção de micélio branco a acinzentado e esporulação abundante entre 48h-96h para frutos de abacate, berinjela, mamão, morango, pêra, uva verde e uva roxa. Enquanto, os frutos de jaca, maracujá e melão apresentaram esporulação abundante em sete dias (168h) (Figura 12 e 13). Todas as amostras controle permaneceram intactas. Os fungos testados foram reisolados para cumprimento dos Postulados de Koch.

Figura 11 – Resultado dos testes de patogenicidade de *Mucor*. (a1)–(a2) controle, (a3)–(a4) sintomas em *Persea americana*. (b1)–(b2) controle, (b3)–(b4) sintomas em *Musa sapientum*. (c1)–(c2) controle, (c3)–(c4) sintomas em *Anacardium occidentale*. (d1)–(d2) controle, (d3)–(d4) sintomas em *Psidium guajava*. (e1)–(e2) controle, (e3)–(e4) sintomas em *Syzygium malaccense*. (f1)–(f2) controle, (f3)–(f4) sintomas em *Citrullus lanatus*.



Fonte: A autora (2023).

Figura 12 – Resultado dos testes de patogenicidade de *Rhizopus*. (a1)–(a2) controle, (a3)–(a4) sintomas em *Persea americana*. (b1)–(b2) controle, (b3)–(b4) sintomas em *Solanum melongena*. (c1)–(c2) controle, (c3)–(c4) sintomas em *Artocarpus heterophyllus*. (d1)–(d2) controle, (d3)–(d4) sintomas em *Carica papaya*. (e1)–(e2) controle, (e3)–(e4) sintomas em *Passiflora edulis*.



Fonte: A autora (2023).

Figura 13 – Resultado dos testes de patogenicidade de *Rhizopus*. (f1)–(f2) controle, (f3)–(f4) sintomas em *Cucumis melo*. (g1)–(g2) controle, (g3)–(g4) sintomas em *Fragaria* × *ananassa*. (h1)–(h2) controle, (h3)–(h4) sintomas em *Pyrus communis*. (i1)–(i2) controle, (i3)–(i4) sintomas em *Vitis vinifera* cv. Crimson. (j1)–(j2) controle, (j3)–(j4) sintomas em *Vitis vinifera* cv. Muscat.



Fonte: A autora (2023).

Discussão

A podridão mole de *Mucorales* é uma doença que constantemente afeta frutos e hortaliças na pós-colheita, tornando os produtos menos atrativos ou inviáveis para comércio e consumo. A doença é caracterizada pela formação de áreas macias e úmidas. À medida que os sintomas progridem, ocorre o desenvolvimento de micélio abundante e formação de estruturas reprodutivas fúngicas. Tal deterioração é frequentemente causada por espécies de *Rhizopus* e *Mucor*, gêneros também obtidos no presente estudo, onde foram avaliados fungos com aparência de *Mucorales*, isolados de podridão mole em diferentes hospedeiros.

Por meio de análises morfológicas, as espécies foram confirmadas pela forma e dimensão de estruturas como esporangióforos, columelas, esporângios e esporangiósporos, tal como pela presença ou ausência de estruturas como apófises, clamidósporos, estolões e rizóides. Para as análises de Inferência Bayesiana, os isolados representativos de cada hospedeiro foram utilizados. Ao todo, 41 isolados foram considerados *R. stolonifer*, 20 *M. inaequisporus*, três *M. merdicola*, dois como *Mucor* sp. e dois como *M. variisporus*.

Rhizopus stolonifer foi morfológicamente reconhecido por características, tais como a altura dos esporangióforos, diâmetro de esporângios, presença de rizóides, estolões e de columelas apofisadas (Zheng et al., 2007). A análise de Inferência Bayesiana da região gênica LSU se mostrou suficiente para suportar a filogenia do grupo, concordando com os dados morfológicos. Em estudos anteriores, a patogenicidade de *R. stolonifer* havia sido registrada em uvas (Latorre et al., 2007), melão (Kwon, 2008), raiz de batata-doce (Nelson, 2009), maracujá (Bomfim et al., 2010), morango, tomate, mamão (Bautista-Baños et al., 2014) jaca (García-Estrada et al., 2019) e entre outros frutos e hortaliças. Porém, este é o primeiro relato da espécie causando podridão em frutos de abacate, berinjela e pêra no Brasil, bem como é o seu primeiro registro em associação ao fruto de achachairu no mundo.

Os isolados morfológicamente identificados como *M. inaequisporus* se destacaram por apresentar as características típicas da espécie como esporangiósporos e columelas de formatos muito variáveis (Schipper, 1978). Além da similar aparência entre as culturas, coloração e estruturas de dimensões aproximadas às descritas por Dade (1937).

Por análises de ITS e LSU, a separação dos isolados de jambo (ARM1045, URM8813, URM8814, URM8816 e URM8817), dos demais representantes de *M. inaequisporus* corresponderia a uma novidade taxonômica. No entanto, não há evidências morfológicas

suficientes para diferenciá-los de isolados referência. Para estes, foi visualizada apenas uma pequena variação no formato e tamanho de esporos, os quais são menores e predominantemente elipsoidais (Figura 3).

As variações intraespecíficas são comuns em *Mucorales*, logo, são recomendadas avaliações de diferentes características morfológicas para o reconhecimento de uma espécie, tal como o padrão de ramificação dos esporangióforos e tamanho de esporângios. Além da plasticidade fenotípica do grupo, sabe-se que a avaliação molecular em *Mucorales* ainda é restrita e majoritariamente baseada nas regiões ITS e LSU, por muitas vezes, essas regiões não abrangem a variedade dentro das espécies (Walther et al., 2013). Portanto, a identidade dos isolados do estudo foi mantida como *M. inaequisporus*.

Quanto aos isolados do segundo clado, formado por caju, fruta pão e goiaba (ARM985, ARM989, ARM1041, ARM1153, ARM1154, ARM1155, ARM1156, ARM1193, URM8812, URM8815), são morfolologicamente mais similares ao isolado tipo de *M. inaequisporus* (CBS 255.36), em especial, pela variação de tamanho dos esporos.

Mucor inaequisporus foi descrito pela primeira vez em frutos de cajá (*Spondias mombin*) em Gana (Dade, 1937). Desde então, tem sido relatado em diferentes frutas como ameixa (*Syzygium cumini*) (Santiago et al., 2013), caqui (*Diospyros kaki*) (Lee, 2020) e morango (*Fragaria × ananassa*) (Ren et al., 2023). Entretanto, este é o primeiro relato de *M. inaequisporus* causando podridão em pseudofruto de caju e em frutos goiaba e jambo-vermelho. Assim como, é o primeiro relato da espécie associada à fruta-pão.

Os isolados de *M. merdicola* apresentaram características típicas, descritas por Souza & Santiago (2016), como altos esporangióforos com ramificações simpodiais e esporângios pequenos. Em análises filogenéticas da região LSU e concatenada (ITS e LSU), os isolados do estudo formam um clado correspondente a *M. merdicola*. A espécie foi primeiramente descrita em amostras de esterco, posteriormente, também encontrada no solo (Li et al., 2016; Cordeiro, 2023). O presente estudo traz o primeiro relato de *M. merdicola* causando podridão em fruto de melancia e a primeira vez em que a espécie é registrada como fitopatogênica.

Os isolados identificados como *M. variisporus* apresentaram características da espécie como esporangiósporos elipsóides a globosos e esporangióforos simples a monopodiais, como descrito por Schipper (1978), diferenciando-se pela presença de columelas piriformes. Por meio de análises filogenéticas, os espécimes formaram um clado correspondente a *M. variisporus*. O presente estudo traz o primeiro relato de *Mucor variisporus* causando podridão em fruto de

banana. Anteriormente, a espécie havia sido registrada como agente de podridão em fruto de caqui (Brackmann et al., 2006).

Quanto aos dois isolados de *Mucor*, provenientes de amostras de abacate (ARM1299 e ARM1300), apresentaram características morfológicas como esporangióforos simples a simpodialmente ramificados e esporangiósporos elipsóides. Com base em análises da região gênica LSU, foi visualizada a formação de um novo clado. O agrupamento é próximo a *M. bainieri*, no entanto, não são compatíveis com a espécie, que produz zigósporos em abundância à temperatura ambiente (Benjamin, 1963). Futuramente, a análise da região ITS será necessária para melhor definir a identidade do fungo.

Os dados obtidos no presente estudo contribuem para trabalhos de identificação de *Mucorales* e reconhecimento de sintomas de podridão mole em frutos e hortaliças, assim como, contribui para com as medidas de controle para mitigar a doença pós-colheita.

REFERÊNCIAS

- ABE, A.; ODA, Y.; ASANO, K.; SONE, T. The Molecular Phylogeny of the Genus *Rhizopus* Based on rDNA Sequences. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 70, n. 10, p. 2387-2393, 2006.
- ABRAFRUTAS. 2023. Conheça a região Nordeste do Brasil e sua importância na fruticultura brasileira. Disponível em: <<https://abrafrutas.org>>. Acesso em 2023.
- AKWAJI, P. I.; JHONSON, U. E.; EFFIONG, U. S.; ANIEDI-ABASI, M.; NTUI, O. E., JHONSON, U. I. Determination of Pathogenicity of *Choanephora cucurbitarum* (Berkeley and Ravenel) Thaxt, Amongst Commonly Cultivated Vegetables in Calabar, Cross River State, Nigeria. **Phytopathology**, v. 3, n. 2, 2014.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS C. W. Introductory Mycology. 3rd Edition. New York: John Wiley & Sons, 1979.
- ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; MAFIA, R. G.; GONÇALVES, R. C. Isolamento de Fungos Fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (eds). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed., UFV, 2 ed. p. 56, 2016.
- ÁLVAREZ, E; CANO, J; STCHIGEL, A.M; SUTTON, D.A; FOTHERGILL, A.W; SALAS, V; RINALDI, M.G; GUARRO, J. Two new species of *Mucor* from clinical samples. **Medical Mycology**, v. 49, n. 1, p. 62-72, 2011.
- AMIRI, A.; BROEK, K. V. D. *Mucor* rot. Disponível em: <<https://treefruit.wsu.edu/crop-protection/disease-management/mucor-rot/>>. Acesso em: 4 de julho de 2022.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI: Brazilian horti & fruit yearbook. Editora Gazeta. p. 15, 2021. Disponível em: <<https://www.editoragazeta.com.br/produto/anuario-brasileiro-de-horti-fruti-2021/>>. Acesso em: 03 de setembro de 2022.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI & FRUTI: Brazilian horti & fruit yearbook. Editora Gazeta. 2023. Disponível em: <<https://www.editoragazeta.com.br/produto/anuario-brasileiro-de-horti-fruti-2023>>. Acesso em: 03 setembro de 2022.
- BAGGIO, J. S. Penetração de *Rhizopus stolonifer* em pêssegos não injuriados e progresso espaço-temporal da podridão mole. 2013. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; BARRERA-NECHA, L. L. *Rhizopus stolonifer* (soft rot). In: BAUTISTA-BAÑOS, S. (Ed.) **Postharvest Decay: Control Strategies**. 1 ed. Morelos: Academic Press, p. 1-44, 2014.
- BENJAMIN, R. K. Obligate A Obligate Azygospore Formation in Two Species of *Mucor* (*Mucorales*). **Aliso: A journal of Systematic and Floristic Botany**, v.5, n. 3, 1963.

BENNY, G. L. Gilbertellaceae, A New Family of the *Mucorales* (Zygomycetes). **Mycologia**, v. 83, n. 2, p. 150-157, 1991.

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

BENNY, G. L.; 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^a ed. Berlin: Springer-Verlag, p. 209-250, 2014.

BENNY, G. L., SMITH, M. E., KIRK, P. M.; TRETTER, E. D.; WHITE, M. M. Challenges and Future Perspectives in the Systematics of Kickxellomycotina, Mortierellomycotina, Mucoromycotina, and Zoopagomycotina . In: LI, D. W. (eds) **Biology of Microfungi**. Fungal Biology. Springer, Cham., p. 65-126, 2016.

BHAT, K. A.; MASOOD, S. D.; BHAT, N. A.; BHAT, M. A., RAZVI, S. M.; MIR, M. R.; AKHTAR, S.; WANI, N.; HABIB, M. Current status of postharvest soft rot in vegetables: a review. **Asian Journal Plant Sciences**, v. 9, p. 200-208, 2010.

BOMFIM, M.P.; SÃO JOSÉ, A.R.; REBOUÇAS, T.N.H.; ALMEIDA, S.S.; SOUZA, I.V.B.; DIAS, N.O. Avaliação antagonística in vitro e in vivo de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.1, p.61-67, 2010.

BRACKMANN, A.; PINTO, J.A.V.; NEUWALD, D. A.; GIEHL, R.F.H; SESTARI, I. Temperatures for the storage of ‘fuyu’ persimmon. **Uruguaiana**, v.13, n.1, p. 82-89, 2006.

BRAINER. 2021. Produção de hortaliças na área de atuação do BNB. Disponível em: <<https://www.bnb.gov.br/s482-dspace>>. Acesso em: 02 de outubro de 2023.

CAMARGO, R. B.; PEIXOTO, A. R.; TERAPO, D.; ONO, E. O.; CAVALCANTI, L. S. Fungos causadores de podridões pós-colheita em uvas apirênicas no pólo agrícola de Juazeiro-BA e Petrolina-PE. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 1, p. 15-19, 2011.

CASTELLANI, A. A maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further researches. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, p. 181-184, 1967.

CEDES – Centro de Estudos e Debates Estratégicos. Perdas e desperdício de alimentos – estratégias para redução. Brasília, DF, pág. 260, 2018.

CENCI, S. A. Boas Práticas de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças na Agricultura Familiar. In: Fenelon do Nascimento Neto. (Org.). **Recomendações Básicas para a Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação na Agricultura Familiar**. 1ª Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 67-80, 2006.

CHENG, J. Y., HU, F. M. A new species of *Gilbertella*. **Acta Phytotaxonomica Sinica**, v. 10, p. 105–109, 1965.

COATES, L. M.; JOHNSON, G. I. Chapter 33: Postharvest diseases of fruit and vegetables. In: Brown, J., Ogle, H. (Eds.). **Plant Pathogens and Plant Diseases**. Rockvale Publications, Cambridge, UK, p. 533-547, 1997.

CORDEIRO, Thalline Rafhaella Leite. Diversidade de Mucoromycota no solo de gradientes de altitude em brejos do semiárido de Pernambuco. 2023. Tese (Doutorado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

CRUZ-LACHICA, I.; MARQUEZ-ZEQUEZA, I.; GARCÍA-ESTRADA, R.S.; CARRILLO-FASIO, J.A.; LÉON-FÉLIX, J.; ALLENDE-MOLAR, R. Identification of mucoralean fungi causing soft rot in papaya (*Carica papaya* L.) fruit in Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 35, p. 397-417, 2017.

CRUZ-LACHICA, I.; MARQUEZ-ZEQUERA, I.; ALLENDE-MOLAR, L.; SAÑUDO-BARAJAS, J. A.; LEON-FELIX, J.; LEY-LOPEZ, N.; GARCIA-ESTRADA, R.S. Diversity of mucoralean fungi in soils of papaya (*Carica papaya* L.) producing regions in Mexico. **Fungal Biology**, v. 122, n. 8, p. 810-816, 2018.

CRUZ-LACHICA, I.; MARQUEZ-ZEQUERA, I.; ALLENDE-MOLAR, R.; LEÓN-FÉLIX, J.; SAÑUDO-BARAJAS, J. A.; GARCÍA-ESTRADA, R. S. Expression analysis of the NEP-1 and cell-wall degrading genes of *Gilbertella persicaria* during pathogenesis in papaya (*Carica papaya* L.) fruits. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 115, 2021.

CSERNETICS, A.; PÉTERI, Z. S.; LINKA, B.; TAKÓ, M. Physiological and genetic variability of Zygomycetes causing postharvest decay. **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, v. 40, p. 267-277, 2005.

CURREY, J. Note on *Cunninghamia infundibulifera*. **Journal of the Linnean Society**, v. 13, p. 578, 1873.

DADE, H. A. 1937. New Gold Coast fungi. Transactions of the British Mycological Society 21(1–2): 16–28. Doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536\(37\)80003-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1536(37)80003-0).

DANNAOUI, E. Antifungal resistance in Mucorales. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 5, p. 617-621, 2017.

DOMKA, A. ROZPADEK, P.; WAZNY, R; TURNAU, K. *Mucor* sp.—An endophyte of Brassicaceae capable of surviving in toxic metal-rich sites. **Journal of Basic Microbiology**, 2018. Doi: doi.org/10.1002/jobm.201800406.

EDDY, E. D. A storage rot of peaches caused by a new species of *Choanephora*. **Phytopathology**, v. 15, p. 607–610, 1925.

EMBRAPA. 2007. Podridão de *Rhizopus*. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br>>. acesso em: 2 julho de 2022.

EMBRAPA. 2019. Embrapa e ABRAS querem reduzir perdas de alimentos no varejo. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias>>. Acesso em: 22 fevereiro 2023.

EMBRAPA. 2020. Crise do coronavírus afeta exportações e importações brasileiras de hortaliças. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/hortalicas/busca-de-noticias/-/noticia/51886734/>>. Acesso em: 02 de setembro de 2023.

ESEIGBE, D. A.; BANKOLE, S. A. Fungi associated with post-harvest rot of black plum (*Vitex doniana*) in Nigeria. **Mycopathologia**, v. 136, p. 109-114, 1996.

FAOSTAT. 2021a. Production: Crops and livestock products. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>>. Acesso em: 20 de março de 2022.

FAOSTAT. 2021b. International Year of Fruits and Vegetables. Disponível em: <<https://www.fao.org/fruits-vegetables-2021/en/>>. Acesso em: 29 de março de 2022.

FAOSTAT. 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org>>. Acesso em: 03 de agosto 2022.

FATIMOH, A. O.; AKINJIDE, A.; ADEKUNLE, O. B.; OLOWOLAJU, O. D. Isolation and Identification of Rot Fungi on Post-Harvest of Pepper (*Capsicum annum* L.) Fruits. **AASCIT Journal of Biology**, v. 3, n. 5, p. 24-29, 2017.

FELIZIANI, E.; ROMANAZZI, G. Postharvest Decay of Strawberry Fruit: Etiology, Epidemiology, and Disease Management. **Journal of Berry Research**, v. 6, p. 47-63, 2016.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Mucorales* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB120276>>. Acesso em: 10 de janeiro 2024.

GARCÍA-ESTRADA, R.S. LÓPEZ-MARTÍNEZ, J.C., MEDINA-LÓPEZ, R., MÁRQUEZ-ZEQUERA, CRUZ-LACHICA, I. First Report of *Rhizopus stolonifer* causing fruit rot in Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) in Mexico. **Plant Disease**, 2019. Doi: 10.1094/PDIS-02-19-0395-PDN .

GENBANK. 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>>. Acesso em: 20 janeiro de 2022.

GOGOI, R.; KULANTHAIVEL, S.; RAI, S. N.; AHUJA, D. B. Leaf rot disease of cauliflower caused by *Choanephora cucurbitarum* in India. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 11, n. 27, 2016. Doi: 10.1007/s13314-016-0214-5.

HASSAN, M. I. A.; VOIGT, K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. **Medical Mycology**, v. 57, 245-256, 2019.

HENZ, G. P.; LOPES, C. A.; SANTOS, F. F. Postharvest diseases of arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) in Brazil. 1994.

HERMET, A.; MÉHEUST, D. MOUNIER, J. BARBIER, G.; JANY, J. L.. Molecular systematics in the genus *Mucor* with special regards to species encountered in cheese. **Fungal Biology**, v. 116, n. 6, 692-705, 2012.

HESELTIME, C. W. *Gilbertella* Gen. Nov. (Mucorales). Bulletin of the torrey botanical club, v. 87, n. 1, p. 21-30, 1960.

HIBBETT, D.; BISCHOFF, J. F.; BLACKWELL, M.; BINDER, M. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, n.5, p. 509-547, 2007.

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

HOFFMANN, K.; PAWŁOWSKA, J.; WALTHER, G.; WRZOSEK, M.; HOOG, G.S.; BENNY, G.L.; KIRK, P.M.; VOIGT, K. The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies. **Persoonia**, v. 30, p. 57-76, 2013.

HOQUE, E.; FRITSCHER, J. Multimetal bioremediation and biomining by a combination of new aquatic strains of *Mucor hiemalis*. **Scientific Reports**, v. 9, 2019. Doi: 10.1038/s41598-019-46560-7.

HORBACH, R.; NAVARRO-QUESADA, A. R.; KNOGGE, W.; DEISING, H. B. When and how to kill a plant cell: Infection strategies of plant pathogenic fungi. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 51-62, 2011.

HOSSAIN, A.; MUNSHI, A. R.; HOSSEN, S.; RAHMAN, K., Z.; KARIM, R.; KIMURA, Y. Morpho-molecular characterization of causative agents of wilting, leaf spot, fruit blight and stem canker of okra (*Abelmoschus esculentus* L.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 54, 2021. Doi: 10.1080/03235408.2021.1917283.

HUAN, R.; YANG, G.; FENG, E. X.; HE, S. HUANG, Q. First Report of *Mucor inaequisporus* Dade (Mucorales, Mucoromycota) causing Postharvest rot of Strawberry Fruit in Kunming, China. **Plant Disease**, 2023. Doi: 10.1094/PDIS-09-22-2262-PDN.

HYDE, K.; NILSSON, R.; ALIAS, S.; ARIYAWANSA, H. A.; BLAIR, J. E.; CAI, L. One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera: I (2014). **Fungal Diversity**, v. 67, p. 21-125, 2014.

IBGE. 2020. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018: Avaliação nutricional da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 8 dezembro 2021.

IBGE. 2021. Produção Agropecuária. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/>>. acesso em 25 agosto 2022.

IKOTUN, T. Postharvest microbial rot of yam tubers in Nigeria. **Fitopatologia brasileira**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 1983.

JAMES, T. Y.; KAUFF, F.; SCHOCH, C. L.; MATHENY, P. B.; HOFSTETTER, V.; COX, C. J.; CELIO, G.; GUEIDAN, C.; FRAKER, E.; MIADLIKOWSKA, J.; H LUMBSCH, T.; RAUHUT, A. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. **Nature**, v. 443, n. 19, p. 818-822, 2006.

JEFFRIES, P. Mycoparasitism within the Zygomycetes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 91, p. 135-150, 1985.

JIN, H. J.; YANG, X.; LU, D.; Li, C.; YAN, Z.; LI, X.; ZENG, L.; QUIN, B. Phylogenetic diversity and tissue specificity of fungal endophytes associated with the pharmaceutical plant, *Stellera chamaejasme* L. revealed by a cultivation independent approach. **Antonie van Leeuwenhoek**, 108: 835-850, 2015.

KEAN, A. L. On the nature of certain plant diseases. **Botanical gazette**, p. 171-174, 1890.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. M.; CAMARGO, L. E. A. Manual de Fitopatologia. In: JANAKA, M. A. S.; BETTI, J. A. & KIMATI, H. (eds). Doenças das Crucíferas. Editora agrônômica Ceres, 2 ed., p. 298, 1997.

KIMURA, M.; NISHIMURA, K., ENOKI, E.; CHIKUGO, T.; MAENISHI, O. Chlamydospores of *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* in Tissue of Pulmonary Mucormycosis. **Mycopathologia**, v. 174, p. 441-450, 2012.

KIRK, P. M. 1984. A monograph of the Choanephoraceae. **Mycological Papers**, v. 152, n. 1.

KIRK, P. M. **Dictionary of the Fungi**, 10th ed. CABI, Wallingford, UK.p. 784, 2008.

KITINOJA, L.; KADER, A. A. 2015. Measuring Postharvest Losses of Fresh Fruits and Vegetables in Developing Countries. **The Postharvest Education Foundation Paper**. n. 15-02. Doi: 10.13140/RG.2.1.3921.6402.

- KUMAR, S.; STECHER, G., TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, p. 1870-1874, 2016.
- KUMAR, Y.; PRASAD, B. Disease Management of Vegetables. **International Journal of Modern Agriculture**, v. 10, n.2, p. 2856-2865, 2021.
- KURIAN, P. S.; ANITHA, P.; LIJI, K. O.; DAVIS, F. First report on incidence of inflorescence blight and pod rot (*Choanephora infundibulifera*) on dolichos bean (*Dolichos lablab*, L.) and yard long beanin (*Vigna unguiculata* sub sp. *sesquipedalis*) India. **Journal of Horticultural Sciences**, v. 13, n.2, 2018.
- KWON, J. H.; KANG, S. W.; KIM, J. S.; PARK, C. S. *Rhizopus* Soft Rot on Cherry Tomato Caused by *Rhizopus stolonifer* in Korea. **Mycobiology**, v. 29, n. 3, p. 176-178, 2001.
- KWON, J. H.; JEE, H. J. Soft Rot of Eggplant (*Solanum melongena*) Caused by *Choanephora cucurbitarum* in Korea. **Mycobiology**, v. 33, n. 3, p. 163-165, 2005.
- KWON, J. H.; HONG, S. B. Soft Rot of Tomato Caused by *Mucor racemosus* in Korea. **Mycobiology**, v. 33, n. 4, 2005.
- KWON, J. H. Occurrence of *Rhizopus* Soft Rot on Melon (*Cucumis melo* L.) Caused by *Rhizopus stolonifer* in Korea. **The Korean Journal of Mycology**, v. 36, n. 2, 2008.
- LATORRE, B. A.; VIERTEL, S.C.; SPADARO, I. Severe Outbreaks of Bunch Rots Caused by *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* on Table Grapes in Chile. **Plant Disease**, v.86, n.7, 2007.
- LAX, C.; PÉREZ-ARQUES, C.; NAVARRO-MENDOZA, M. I. Genes, Pathways, and Mechanisms Involved in the Virulence of Mucorales. **Genes**, v. 11, n. 3, 2020.
- LEE, S. H., NGUYEN T.T.T.; LEE, H. B. Isolation and characterization of two rare mucoralean species with specfic habitats. **Mycobiology**, v. 46, p. 205–214, 2018.
- LEE, S. Y.; JUNG, H.Y. First Report of Persimmon (*Diospyros kaki*) Fruit Rot Caused by *Mucor inaequisporus* in South Korea, **Plant Disease**, v. 104, n.7, 2020.
- LI, G. J.; HYDE, K. D.; ZHAO, R. L. Fungal diversity notes 253–366: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa. **Fungal Diversity**, 78:1–237, 2016.
- LINDLEY, J. Medical and economical botany. Bradbury & Evans, 1856.
- LIYOU, G.Y.; CHEN, S.R.; WEI, Y.H.; LEE, F.L.; FU, H.M.; YUAN, G.F.; STALPERS, J.A. Polyphasic approach to the taxonomy of the *Rhizopus stolonifer* group. **Mycological research**, v. 111, n. 2, p. 196–203, 2007.

LISKER, N.; KEREN-SHACHAM, Z.; SARIG, P.; ZUTKHI, Y.; BEN-ARIE, R. The biology and pathology of the fungus *Rhizopus stolonifer*, cause of black mould disease of table grapes in Israel. **Plant Pathology**, v. 45, n. 6, p. 1099-1109, 1996.

LUENGO, R.; HENZ, G.P.; MORETTI, C.L.; CALBO, A.G. Pós-colheita de hortaliças. 1 ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

MARI, M.; FRANCESCO, A. D.; BERTOLINI, P. Control of fruit postharvest diseases: Old issues and innovative approaches. **Stewart Postharvest Review**, v. 10, p. 1-4, 2014.

MEHROTRA, M. D. Fruit rot of tomato caused by *Gilbertella persicaria* var. *indica*. **Sydowia**, v. 17, p. 17–19, 1963a.

MEHROTRA, M. D. Fruit rot of pear caused by *Gilbertella persicaria* var. *indica*. **Sydowia**, v. 17, p. 124–125, 1963b.

MELLO, S.; KAROLINE, K.; SEVERO, R. Ocorrência da podridão de *Choanephora* em frutos de pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*), em Santarém, Pará: Diagnose, assistência técnica e recomendações de controle. **Revista de Extensão da Integração Amazônica**, v.2, n. 1, p. 19-22, 2021.

MENDES, M. A. S.; DA SILVA, V. L.; DIANESE, J. C. Fungos em Plantas no Brasil. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa Cenargen, 1998.

MICHAILIDES, T. J. Characterization and Comparative Studies of *Mucor* Isolates from Stone Fruits from California and Chile. **Plant Disease**, v. 75, p. 373:380, 1991.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2022a. Recomendações para o aumento do consumo de frutas, legumes e verduras. Disponível em: <<https://bvsmis.saude.gov.br/>> Brasília – DF. Acesso em: 03 de março de 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2022b. Classificação de Risco dos Agentes Biológicos. Disponível em: <<https://bvsmis.saude.gov.br/>>. Acesso em: 05 outubro 2023.

MILLER, M. A.; PFEIFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Proceedings of the gateway computing computing environments workshop (GCE), New Orleans. E-book. New Orleans, 1–8, 2010.

MORIN-SARDIN, S.; NODET, P.; COTON, E.; JANY, J. L. *Mucor*: A Janus-faced fungal genus with human health impact and industrial applications. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 1, p. 12-32, 2017.

MOSS, M. O. Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 1239-1243, 2008.

NELSON, S. 2005. *Rhizopus* rot of jackfruit. University of Hawaii, Honolulu. Disponível em: <<https://scholarspace.manoa.hawaii.edu>>. Acesso em: 1 jul. 2022.

NELSON, S. *Rhizopus* Soft Rot of Sweetpotato. **Cooperative Extension Service**. College of Tropical Agriculture and Human Resources. University of Hawai. 2009.

ODEH, M. I. A. Biological Control of Gray Mold, Blue Mold & *Rhizopus* Soft Rot on Grape, Pear, Kiwi, Strawberry by *Trichoderma harzianum*. 2006. Master in Environmental Sciences – Najah National University, Nablus, Palestine.

O'DONNELL, K.; LUTZONI, F. M.; WARD, T. J.; BENNY, G. L. Evolutionary relationships among mucoralean fungi (Zygomycota): evidence for family polyphyly on a large scale. **Mycologia**, v.93, n. 1, p. 286–297, 2001.

OLADELE, O. O. Control of *Rhizopus*: Induced decay in watermelon (*Citrullus lanatus* L.) fruits using heat treatment. **Brazilian Journal of Biological Sciences**, v. 5, n. 10, p. 619-626, 2018.

PARK, J. H.; CHO, S. E.; SUYAMA, M.; DEGAWA, Y.; SHIN, H. D. Identification and characterization of *Choanephora* spp. causing *Choanephora* flower rot on *Hibiscus syriacus*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, p. 949–961, 2016.

PAWŁOWSKA, J.; Okraśńska, A.; KISŁO, K.; ALEKSANDRZAK-PIEKARCZYK, T.; SZATRAJ, K.; DOLATABADI, S.; MUSZEWSKA, A. Carbon assimilation profiles of mucoralean fungi show their metabolic versatility. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019. Doi: 10.1038/s41598-019-48296-w.

PIEDRA-BONILLA, E.; CUNHA, D. A.; BRAGA, M. J. Climate variability and crop diversification in Brazil: An ordered probit analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 256, 2020.

PINHO, D. B.; PEREIRA, O. L.; SOARES, D. J. First report of *Gilbertella persicaria* as the cause of soft rot of fruit of *Syzygium cumini*. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 9, p. 143, 2014.

POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology**, v. 53, p. 793-808, 2004.

PRUSKY, D. Mechanisms of Resistance of Fruits and Vegetables to Postharvest Diseases. In: JHONSON, G. I.; HIGHLEY E.; JOYCE, D. C. (Ed.) **Disease Resistance in Fruit**. Camberra: Proceedings of an International Workshop, p. 19-33, 1997.

RAMBAUT A. 2009. FigTree 1.2.2. Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>>. Acesso em: 9 agosto 2021.

RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal of Molecular Evolution**, v. 43, p. 304-311, 1996.

REDE PENSSAN. 2022. Insegurança alimentar e Covid-19 no Brasil. Disponível em: <<https://olheparaafome.com.br>>. Acesso em: 01 de julho de 2022.

REN, H.; GAO, Y.; FENG, E.X.; HE, S.; HUANG, Q. First Report of *Mucor inaequisporus* (Mucorales, Mucoromycota) Causing Postharvest Rot of Strawberry Fruit in Kunming, China. **Plant Disease**, v. 107, n. 7, 2023.

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

RICHARDSON, M. D.; RAUTEMAA-RICHARDSON, R. Biotic Environments Supporting the Persistence of Clinically Relevant Mucormycetes. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, 2020. Doi: 10.3390/jof6010004.

ROBERTS, T. A. CORDIER, J. L.; GRAM, L.; TOMPKIN, R. B.; PITT, J. I; GORRIS, L. G. M.; SWANSON, K. M. J. Fruits and fruit products. In: ROBERTS, T. A. (eds.). **Microbial ecology of food commodities**, ed. London, 2005, p. 332-333.

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

RUANGWONG, O.U.; KUNASAKDAKUL, K.; WONGLOM, P.; DY, K. S.; SUNPAPAO, A. Morphological and molecular studies of a rare mucoralean species causing fower rot in *Hylocereus polyrhizus*. **Journal of Plant Phytopathology**, v. 170, p. 214-220, 2022.

SAITO, S.; MICHAILIDES, T. J., XIAO, C. L. *Mucor* Rot-An Emerging Postharvest Disease of Mandarin Fruit Caused by *Mucor piriformis* and other *Mucor* spp. in California. **Plant Disease**, v. 100, p. 1054-1063, 2016.

SANTIAGO, A. L. C. M. A.; CAVALCANTI, M. A. Q. *Gilbertella persicaria* (Mucorales): a new record from Brazil. **Mycotaxon**, v. 102, n. 33, p. 333-337, 2007.

SANTIAGO, A.L.C.M.A.; RODRIGUES, A.; CANEDO, E. M.; FILHO, E. R. Taxonomic studies on *Mucor inaequisporus*, isolated for the first time in South America. **Mycotaxon**, v. 124, 219-229, 2013.

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

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

SECEX - Secretaria de Comércio Exterior. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/mdic/pt-br>>. Acesso em: 02 de março de 2023.

SHERF, A. F. A. Method for Maintaining *Phytophthora* in Culture for Long Periods without Transfer. **Phytopathology**, v. 33, p. 330-332, 1943.

SHOLBERG, P. L. A new postharvest rot of peaches in Canada caused by *Mucor piriformis*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 12, n. 2, p. 219, 221, 1990.

SILVA, L. M. R.; SOUZA, P. H. M.; SABINO, L. B. S.; PRADO, G.M. Brazilian (North and Northeast) Fruit By-Products. In: ROCIO CAMPOS-VEGA, B. DAVE OOMA, HAYDÉ AZENETH VERGARA-CASTAÑEDA (eds.). **Food Wastes and By-products: Nutraceutical and Health Potential**. p. 127-158, 2019.

SINGH, D.; SHARMA, R. R. Postharvest diseases of fruits and vegetables and their management. In: SIDDIQUI, M.W. (ed.). **Postharvest disinfection of fruits and vegetables**. Índia, Academic Press, p. 1-52, 2018.

SOUZA, A. E. A.; SANTIAGO, A. L. C. M. A.; BRITO, A. C. Q.; NETO, J. V.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MACHADO, A. R. New reports of *Gilbertella persicaria* causing post-harvest rot in different fruits in Brazil. **Journal of Plant Disease and Protection**, 2023. Doi: 10.1007/s41348-023-00816-7.

SOUZA, C. A. F.; LIMA, D. X.; GURGEL, L. M. S.; SANTIAGO, A. L. C. M. .A. Coprophilous *Mucorales* (ex Zygomycota) from three areas in the semi-arid of Pernambuco, Brazil. v. 48, n. 1, p. 79-86, 2017.

SPATAFORA, J. W.; CHANG, Y.; BENNY, G. L.; LAZARUS, K.; SMITH, M. E.; BERBEE, M. L.; BONITO, G.; CORRADI, N. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. **Mycologia**, v. 108, n. 5, 1028-1046, 2016.

STRUCK, C.; MENDGEN, K. Infection strategies. In: JONES, D. G. (ed.). **The epidemiology of plant diseases**. Springer-science business media, B.V., p. 103-117, 1998.

TERESHINA; MEMORSKAYA, A. S.; FEOFILOVA, E. P. Zygote Formation in *Blakeslea trispora*: Morphological Peculiarities and Relationship with Carotenoid Synthesis. **Microbiology**, v. 72, p. 448- 454, 2003.

TORRES-CRUZ, T. J.; TOBIAS, T. L. B.; ALMATRUK, M.; HESSE, C. N.; KUSKE, C. R.; DESIRO, A. *Bifiguratus adelaidae* gen. et sp. nov., a new member of Mucoromycotina in endophytic and soil-dwelling habitats. **Mycologia**, 2017. Doi: 10.1080/00275514.2017.1364958.

VIEIRA, J. C. B.; CÂMARA, M. P. S.; BEZERRA, J. D. P.; MOTTA, C. M. S.; MACHADO, A. R. First Report of *Gilbertella persicaria* Causing Soft Rot in Eggplant Fruit in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, p. 1172, 2018.

VILGALYS R.; HESTER, M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. **Journal of Bacteriology**, 172:4238–4246, 1990.

VOIGT, K.; WOSTEMEYER, J. Phylogeny and origin of 82 zygomycetes from all 54 genera of the Mucorales and Mortierellales based on combined analysis of actin and translation elongation factor EF-1 α genes. **Gene**, v. 270, p. 113-120, 2001.

WALTHER, G.; PAWLOWSKA, J.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; WRZOSEK, M., RODRIGUEZ-TUDELA, J. L.; DOLATABADI, S.; CHAKRABARTI, A.; HOOG, G. S. DNA barcoding in *Mucorales*: an inventory of biodiversity. **Persoonia**, v. 30, p. 11-47, 2013.

WALTHER, G.; WAGNER, L.; KURZAI, O. Updates on the Taxonomy of Mucorales with an Emphasis on Clinically Important Taxa. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 4, 2019. Doi: 10.3390/jof5040106.

WANG, T.; SUN, C. X.; ZHU, P, K. First Report of *Mucor irregularis* Causing Postharvest Fruit Rot on *Garcinia mangostana* in China. **Plant Disease**, v. 106, n. 2, 2022.

WANG, Y. N.; LIU, X. Y.; ZHENG, R. Y. Four New Species Records of *Umbelopsis* (Mucoromycotina) from China. **Journal of Mycology**, 2013. Doi: 10.1155/2013/970216.

WHITE T. J., BRUNS T., LEE. S., TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols, a guide to methods and applications, pp. 315–322, 1990.

WHITE, M. M; JAMES, T. Y.; O'DONNELL, K. O.; CAFARO, M. J., TANABE, Y.; SUGIYAMA, J. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. **Mycologia**, v. 98, p. 872-884, 2006.

WIJAYAWARDENE, N. N.; HYDE, K. D.; DAI, D. Q.; SÁNCHEZ-GARCÍA, M.; GOTO, B. T.; SAXENA, R. K.; ERDOĞDU, M.; SELÇUK, F.; RAJESHKUMAR, K. C.; APTROOT, A.; BLASZKOWSKI, J.; BOONYUEN, N.; DA SILVA, G.; DE SOUZA, F. A.; DONG, W.; ERTZ, D.; HAELEWATERS, D.; JONES, E. B. G.; KARUNARATHNA, S. C.; KIRK, P. M.; KUKWA, M.; KUMLA, J.; LEONTYEV, D. V.; LUMBSCH, H. T.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; MARGUNO, F.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, P.; MESIC, A.; MONTEIRO, J. S.; OEHL, F.; PAWLOWSKA, J.; PEM, D.; PFLIEGLER, W. P.; PHILLIPS, A. J. L.; POSTA, A.; HE, M. Q.; LI, J. X.; RAZA, M.; SRUTHI, O. P.;

SUETRONG, S.; SUWANNARACH, N.; TEDERSOO, L.; THIYAGARAJA, V.; TIBPROMMA, S.; TKALCEC, Z.; TOKAREV, Y. S.; WANASINGHE, D. N.; WIJESUNDARA, D. S. A.; WIMALASEANA, S. D. M. K.; MADRID, H.; ZHANG, G. Q.; GAO Y.; SÁNCHEZ-CASTRO I.; TANG L. Z.; STADLER M.; YURKOV A. and THINES M. Outline of Fungi and fungus-like taxa – 2021. **Mycosphere**, v. 13, n. 325-327, 2022.

YIN, H.; TIAN, M.; PENG, Y.; QUIN, N.; LU, H.; REN, L.; ZHAO, X. First Report on *Choanephora cucurbitarum* Causing *Choanephora* Rot in *Chenopodium* Plants and Its Sensitivity to Fungicide. *Journal of Fungi*, v. 9, n. 9, p. 881, 2023.

ZHANG, Z. Q., CHEN, T., LI, B. Q.; QUIN, G.Z.; TIAN, S.P. Molecular basis of pathogenesis of postharvest pathogenic Fungi and control strategy in fruits: progress and prospect. **Molecular Horticulture**, v. 1, n. 2, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1186/s43897-021-00004-x>.

ZHENG, R. Y.; CHEN, G. Q.; HUANG, H.; LIU, X.Y. A Monograph a *Rhizopus*. **Sydowia**, v. 59, n. 2, p. 273-37, 2007.

ZIV, C.; FALLIK, E. Postharvest Storage Techniques and Quality Evaluation of Fruits and Vegetables for Reducing Food Loss. **Agronomy**, v. 11, 1133. Doi: [10.3390/agronomy11061133](https://doi.org/10.3390/agronomy11061133).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A partir do presente estudo foi possível identificar 77 isolados de *Mucorales* provenientes de diferentes frutos e hortaliças em áreas comerciais do Recife;
- Entre esses, 9 isolados foram reconhecidos como *Gilbertella persicaria*, constatados como agentes de podridão em frutos de acerola, mamão, fruta pão e em pseudofruto de caju. Os relatos originaram o artigo intitulado “New reports of *Gilbertella persicaria* causing post-harvest rot in different fruits in Brazil” (Publicado na revista Journal of Plant Disease and Protection – Apêndice A).
- Outros 68 isolados obtidos no estudo pertencem aos gêneros *Rhizopus* e *Mucor*, distribuídos nas espécies: *M. inaequisporus*, *M. merdicola*, *M. variisporus*, *Mucor* sp. e *R. stolonifer*;
- Com base nas análises filogenéticas da região gênica LSU, foi possível construir a filogenia de *Rhizopus* em concordância com o estudo morfológico;
- Para *Mucor*, as análises filogenéticas concordaram com os estudos morfológicos, exceto, para um clado próximo a *M. inaequisporus* (URM8813, URM8814, ARM1045, URM8816 e URM8817) com pequenas variações morfológicas.
- Os testes de patogenicidade confirmaram que os isolados encontrados associados à podridão mole são agentes da doença, exceto, o isolado de *R. stolonifer* em batata-doce;
- Este é o primeiro relato de *M. inaequisporus* causando podridão em pseudofruto de caju, frutos de goiaba e jambo no mundo e a primeira vez da espécie associada à fruta-pão;
- Primeiro relato de *M. merdicola* causando podridão em fruto de melancia, assim como, a primeira vez da espécie isolada como um fitopatógeno;
- Primeiro relato de *M. variisporus* causando podridão do fruto de banana no mundo;
- Primeiros relatos de *R. stolonifer* causando podridão dos frutos de abacate, berinjela e pêra no Brasil e primeira vez da espécie associada ao fruto de achachairu no mundo.
- O presente estudo contribui para o conhecimento da comunidade de fungos da ordem *Mucorales* isolados de frutos e hortaliças.

APÊNDICE A – NEW REPORTS OF *Gilbertella persicaria* CAUSING POST-HARVEST ROT IN DIFFERENT FRUITS IN BRAZIL

Journal of Plant Diseases and Protection
https://doi.org/10.1007/s41348-023-00816-7



SHORT COMMUNICATION



New reports of *Gilbertella persicaria* causing post-harvest rot in different fruits in Brazil

Ana Elisa de Almeida Souza¹ · André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago¹ · Amanda Cupertino de Queiroz Brito¹ · Juliana Ferreira de Mello¹ · José Vitorino da Silva Neto² · Cristina Maria de Souza-Motta¹ · Alexandre Reis Machado¹

Received: 19 June 2023 / Accepted: 27 September 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft 2023

Abstract

Mucorales is an order of mostly saprobic fungi which includes broad host range plant pathogens. They are often associated with fruits, causing post-harvest deterioration and economic loss. In markets in the municipality of Recife, Pernambuco, Brazil, fruits with symptoms of soft rot and the presence of fungi with the appearance of *Mucorales* have been observed. Sporangiophores bearing black and globose sporangia were visualized on the surface of the rotten tissues. Isolates obtained from symptomatic tissues were cultured in potato dextrose agar culture medium, and cultural and microscopic observations were performed. According to the morphological characteristics, the isolates were identified as *Gilbertella persicaria* and their identity was confirmed by phylogenetic analyses of the ITS and LSU rDNA regions. *Gilbertella persicaria*, the unique species of the genus, is commonly found in soil, water, dung and often isolated from fruit with post-harvest soft rot. In the present study, nine isolates were obtained and identified, five from acerola, two from cashew, one from papaya and breadfruit. To our knowledge, this is the first report of *G. persicaria* causing acerola and papaya rot in Brazil and the first report of the species as a cashew and breadfruit pathogen in the world.

Keyword Breadfruit · Cashew · *Choanephoraceae* · Post-harvest rot · Taxonomy · Tropical fruit

Introduction

Gilbertella (*Choanephoraceae*, *Mucorales*) is a monospecific genus typified by *G. persicaria* (Hesseltine 1960), which was firstly isolated by Eddy (1925) from deteriorating peaches [*Prunus persica* (L.) Batsch.] and described as *Choanephora persicaria*. Commonly found in tropical and subtropical environments, *Gilbertella persicaria* is the etiological agent of soft rot in different post-harvest fruits (Guo et al. 2012; Hyde et al. 2014; Pinho et al. 2014; Vieira et al. 2018). As a saprobic species it can also be isolated from dung (Santiago and Cavalcanti 2007), soil (Cruz-Lachica

et al. 2018), fresh water (Lee et al. 2018) and flowers (Ruangwong et al. 2022).

Gilbertella persicaria is morphologically characterized by forming multi-spored sporangia that dehisce along a pre-formed, longitudinal suture, besides striate sporangiospores with hyaline polar appendages. The *Mucor*-like zygospores are brown and formed between opposed suspensors (Hesseltine 1960; Benny 1991). The morphological study of *G. persicaria* is considered efficient for identification, which can also be confirmed through phylogenetic analyses of the internal transcribed spacer (ITS), and large and small ribosomal subunits (LSU and SSU) (Papp et al. 2003; Walther et al. 2013; Hyde et al. 2014).

During a survey on mucoralean fungi causing soft rot symptoms on fruits stored in markets in Recife, Pernambuco, Brazil, nine specimens of *G. persicaria* were isolated. Thus, the objective of the study was to confirm the causative agent of the disease through morphological and phylogenetic analyses and confirm the pathogenicity of the isolates.

✉ Ana Elisa de Almeida Souza
anaelisasouza11@gmail.com

¹ Departamento de Micologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco 50740-600, Brazil

² Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, Pernambuco 52171-900, Brazil

Materials and methods

Acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), breadfruit (*Artocarpus altilis* Park.), cashew (*Anacardium occidentale* L.) and papaya (*Carica papaya* L.) fruits showing symptoms of soft rot were collected in markets in Recife, Pernambuco, Brazil. The samples were taken to the Laboratório de Micologia Ambiental, of the Departamento de Micologia at the Universidade Federal de Pernambuco and, when necessary, were incubated in plastic boxes for induction of sporulation. The fungi were isolated directly using a sterilized needle under a stereoscopic microscope (Global Optics) (Alfenas et al. 2016). For the description of the specimens, the fungal isolates were cultivated on PDA at 25 °C in the dark until they grew throughout the Petri dish (9 cm). After three days, morphological characters were observed and described 40 measurements of the asexual reproductive structures (sporangiophores, columellae, sporangia and sporangiospores), using the microscope (Zeiss Axiostar Plus) at a 40× magnification.

Genomic DNA was extracted from pure cultures with four days of growth in PDA, using the Wizard Genomic DNA Purification Kit, following the manufacturer's protocol. PCRs were performed for internal transcribed spacer (ITS) and large ribosomal subunit (LSU) rDNA regions using primers ITS4/ITS5 and LR0R/LR5, respectively

(Vilgalys and Hester 1990; White et al. 1990). The PCRs contained a total volume of 12.5 µL, being 1 µL of each DNA sample (25 ng), 0.5 µL of each primer (10 µM), 6.25 µL of Taq Pol Master Mix (Cellco) and 4.25 µL of ultrapure water.

The conditions for amplification of the ITS region consisted of an initial denaturation cycle at 95 °C for 5 min, 30 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, annealing at 55 °C for 30 s, extension at 72 °C for 2 min and final extension at 72 °C for 10 min. For LSU region, the conditions consisted of an initial denaturation cycle at 94 °C for 5 min, followed by 30 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 52 °C for 45 s, extension at 72 °C for 90 s and final extension at 72 °C for 7 min. Final PCR products were analyzed by agarose gel electrophoresis (1%), stained with GelRed™, visualized under UV light on the transilluminator and purified using the enzyme Exo+ SAP (Cellco). The products with concentration of 20 ng/ul were sequencing by Sanger method (ABI-3500 Genetic Analyzer, Applied Biosystems) in the Sequencing Platform of Centro de Biociências of the Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brazil).

For the phylogenetic analyses, the sequences were analyzed with isolates from the *Choanephoraceae* family obtained from GenBank (Table 1). The phylogenetic analyses were performed by Bayesian inference (BI) method, using MrBayes v.3.2.7a (Ronquist and Huelsenbeck 2003) on the CIPRES Science Gateway (<https://www.cipres.science.gateways.edu/>).

Table 1 GenBank accession numbers of sequences used for phylogenetic analyses

Species	Isolates	Host/substrate	GenBank access number ¹	
			ITS	LSU
<i>Blakeslea trispora</i>	CBS 130.59	Soil	JN206227	MH869368
<i>Blakeslea trispora</i>	CBS 564.91*	Soil	JN206230	JN206515
<i>Choanephora cucurbitarum</i>	CBS 674.93	n.a	JN206233	JN206514
<i>Choanephora infundibulifera</i>	CBS 153.51	n.a	JN206236	JN206513
<i>Gilbertella persicaria</i>	CBS 190.32*	<i>Prunus persica</i> , fruit	HM999958	HM849691
<i>Gilbertella persicaria</i>	CBS 565.91	Dung of swine	JN206226	MH873959
<i>Gilbertella persicaria</i>	CBS532.77	Dung of mouse	JN206224	JN206517
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8757	<i>Carica papaya</i> , fruit	OQ780808	OQ780850
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8758	<i>Malpighia emarginata</i> , fruit	OQ780809	OQ780851
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8759	<i>Malpighia emarginata</i> , fruit	OQ780810	OQ780852
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8760	<i>Malpighia emarginata</i> , fruit	OQ780811	OQ780853
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8761	<i>Malpighia emarginata</i> , fruit	OQ780812	OQ780854
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8762	<i>Malpighia emarginata</i> , fruit	OQ780813	OQ780855
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8763	<i>Anacardium occidentale</i> , fruit	OQ780814	OP896854
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8764	<i>Anacardium occidentale</i> , fruit	OQ780815	OP896855
<i>Gilbertella persicaria</i>	URM8765	<i>Artocarpus altilis</i> , fruit	OQ780816	OQ780856
<i>Poitrasia circinans</i>	CBS 153.58*	Soil	JN206239	JN206516
<i>Hyphomucor assamensis</i>	CBS 415.77*	n.a	JN206211	MH872849

The isolates obtained in the study are in bold

¹ITS Internal transcribed spacers, LSU large ribosomal subunit

*TYPE

phylo.org/) (Miller et al. 2010) with 10 million generations. The substitution models used were GTR + G for ITS and GTR + I + G for LSU, both calculated for each gene region with MrModeltest 2.3 (Posada and Buckley 2004), based on the Akaike information criterion (AIC).

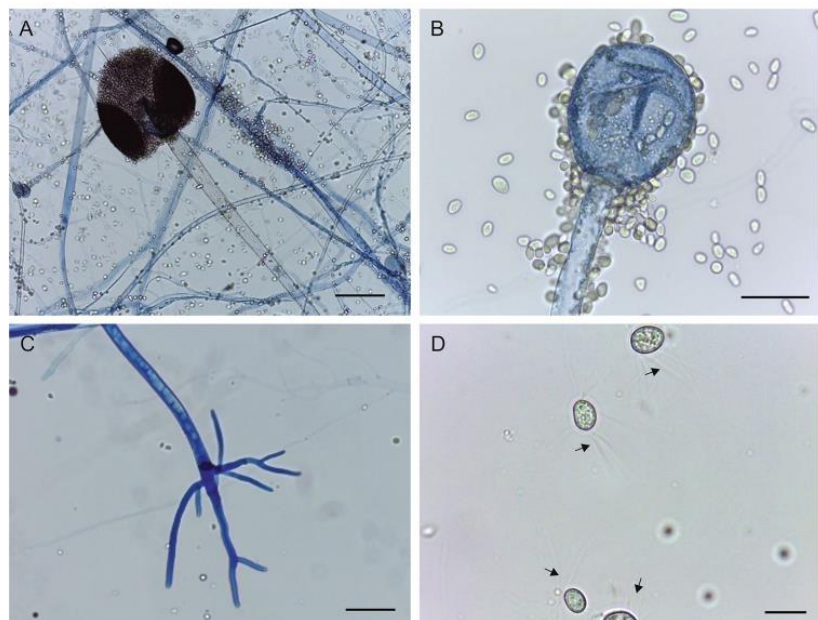
The pathogenicity tests were conducted with healthy fruits of papaya, acerola, cashew and breadfruit, obtained from local markets. For this purpose, four isolates of *G. persicaria* were selected: URM8757, URM8760, URM8764 and URM8765. In the laboratory, fruits were superficially disinfected with sodium hypochlorite (1%) for 2 min, washed in sterilized distilled water and air-dried. Five fruits of each kind (acerola, breadfruit, cashew and papaya) were wounded in 3 mm deep with aid of a sterilized needle and inoculated with 20 μ L of sporangiospores suspension (10^5 sporangiospores/mL), except for breadfruit, which was inoculated by an injection of suspension of the same concentration. Sterilized distilled water was inject in control of breadfruit and pipetted on acerola, cashew and papaya fruits. The treatments were incubated in a moist chamber and kept at room temperature ($\pm 25^\circ\text{C}$) under a 12-h period of light. After between 2 and 4 days after inoculation, the fungi were re-isolated and identified by morphological characteristics in order to test Koch's postulates.

Results

Soft rot symptoms (soft fruit tissues with a white to dark gray mycelium and sporangiophores bearing black sporangia) were observed in mature fruit from markets in Northeast Brazil in 2022. Nine isolates were obtained from symptomatic samples and transferred to Petri dishes with PDA culture medium, where the cultures reproduced characteristics similar to those previously observed. The isolates were deposited in the public URM culture collection of the Departamento de Micologia of the Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil (URM8757, URM8758, URM8759, URM8760, URM8761, URM8762, URM8763, URM8764, URM8765).

The isolates presented coenocytic mycelium, composing erect sporangiophores, some curved near the apex, simple or rarely branched, 12.5–80 μ m diam. Sporangia yellow-brown when young, turning dark brown to black at maturity, with a longitudinal suture when mature, 40–190 μ m diam wall persistent. Columellae varied in shape, obopyriform, obovoid, globose, conical, cylindrical, ellipsoidal and applanate with basal collars, 20–125 $\times$ 22.5–142 μ m. Sporangiospores hyaline, more or less globose, ellipsoid to irregular with hyaline appendages at the ends, 5–25 $\times$ 5–17.5 μ m. Chlamydospores globose, ovoid, cylindrical to irregular in shape, commonly observed interspersed in hyphae, 12.5–47.5 $\times$ 12.5–30 μ m (Fig. 1). The phylogenetic analysis of Bayesian inference (BI) supported the morphological data, inserting the isolates

Fig. 1 *Gilbertella persicaria* (URM8764). **A** Sporangiophore with sporangium showing longitudinal suture. **B** Sporangiophore with columella. **C** Rhizoid. **D** Sporangiospores with hyaline appendages indicated by arrows. Scales bars: **a**, **b**, **c** = 50 μ m; **d** = 10 μ m



into a clade corresponding to *G. persicaria*, separated of the closely related *Blakeslea*, *Choanephora* and *Poitrasia* strains with 100% of posterior probability (Fig. 2).

The tests confirmed the pathogenicity of representative isolates URM8757, URM8760, URM8764 and URM8765 on the respective fruits. In 24 h, soft lesions appeared on the acerola, cashew and papaya fruits with a yellowish color for the first two fruits. The spots progressed in 48 h with the production of white to grayish mycelium in maturity and abundant sporulation. For breadfruit, the symptoms appeared in about 72 h with brown soft lesions on the outside and

purplish inside, the presence of fungal structures at 96 h. All control samples remained intact (Fig. 3). The fungi were successfully re-isolated to comply with Koch's postulates.

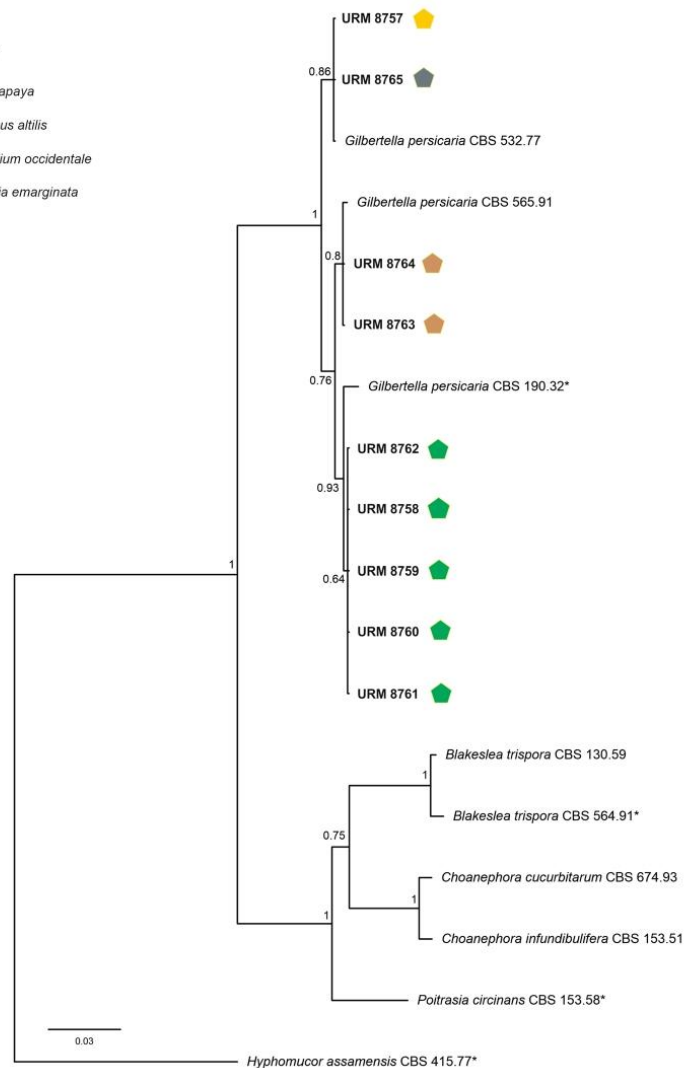
Discussion

The morphological characteristics of our *G. persicaria* isolates are similar to the description of Benny (1991), except for the presence of rhizoid, a structure found in all our isolates but not reported for this genus so far. Different

Fig. 2 Phylogenetic tree generated by the Bayesian inference analysis of internal transcribed spacer (ITS) and large ribosomal subunit (LSU) sequences of *Gilbertella persicaria*. The numbers above the branches are posterior probability values

Host strains:

- *Carica papaya*
- *Artocarpus altilis*
- *Anacardium occidentale*
- *Malpighia emarginata*



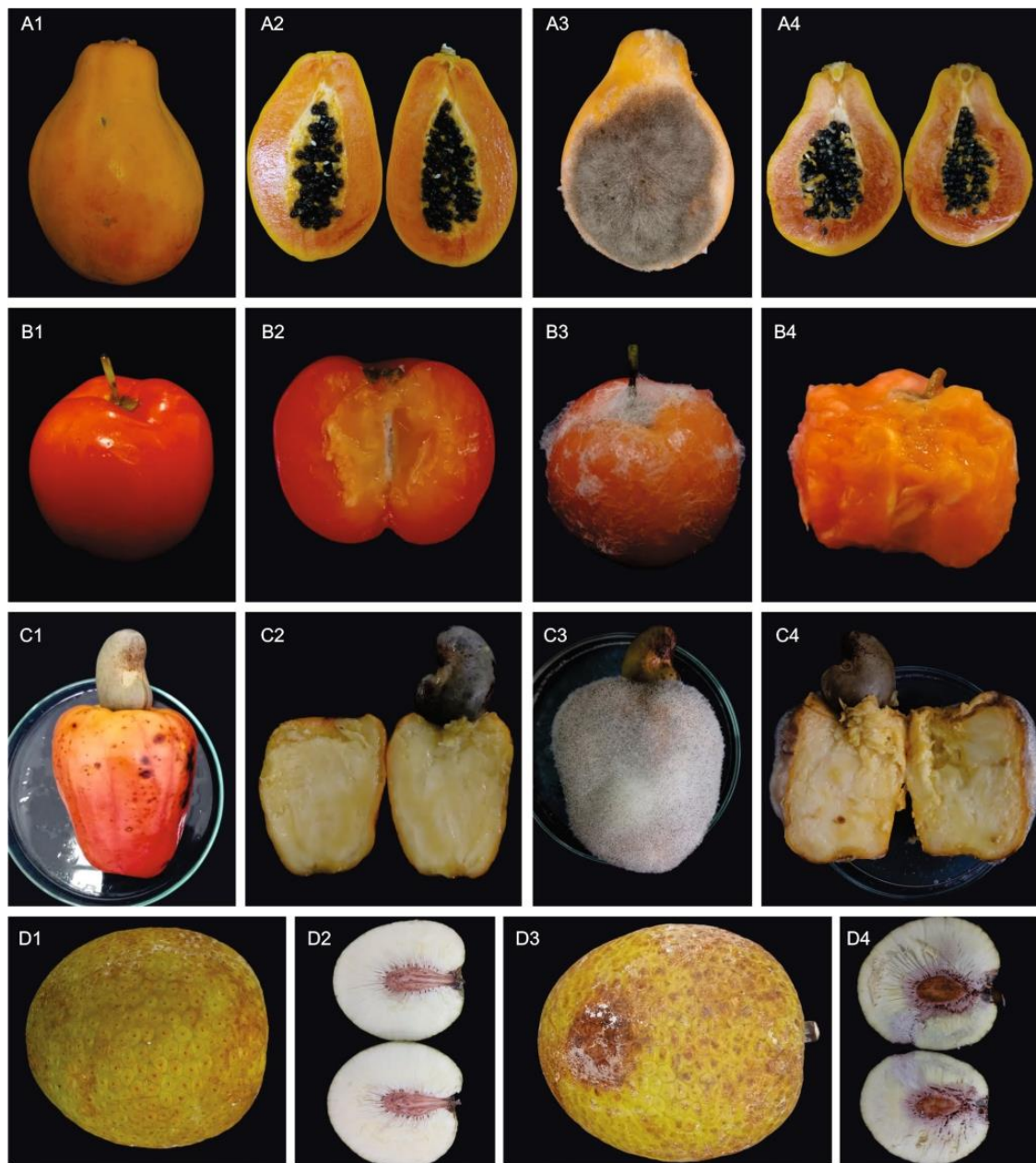


Fig. 3 Results of pathogenicity tests. **A1–A2** control, **A3–A4** rot symptoms on *Carica papaya*. **B1–B2** control, **B3–B4** symptoms on *Malpighia emarginata*. **C1–C2** control, **C3–C4** symptoms on *Anacardium occidentale*. **D1–D2** control, **D3–D4** symptoms on *Artocarpus altilis*

characteristics from that description had already been visualized by other authors. Mehrotra and Mehrotra (1963a) described *G. persicaria* var. *indica*, with sporangiophores and slow growing colony. Cheng and Hu (1965) had

proposed *G. hainanensis* based on habitat, colony color, morphology of sporangiospores and number of appendages. However, tests of crosses performed demonstrated the formation of zygospores between the different related

strains of *Gilbertella* and the morphological characteristics of the descriptions were considered insufficiently variable to distinguish the isolates. Therefore, nomenclatures were synonymized by Benny (1991) and revised with morphological and molecular studies keeping *G. persicaria* as a single (Walther et al. 2013).

In previous studies, the pathogenicity of *G. persicaria* has been detected in peach fruits (Hesseltine 1960), tomatoes, pears (Mehrotra 1963b; Mehrotra and Mehrotra 1963), dragon fruit (Guo et al. 2012) and strawberry (Zhang et al. 2020). The species have been isolated as a pathogen from acerola in Japan (Takushi et al. 2020) and from papaya in Mexico (Cruz-Lachica et al. 2015). However, to our knowledge this is the first report of *G. persicaria* causing fruit rot of acerola and papaya in Brazil, as well is the first time as a pathogen of cashew and breadfruit in the world. Despite its great importance as a post-harvest fruit pathogen, there are few reports of *G. persicaria* in Brazil, in purple plum (Pinho et al. 2014) and eggplant fruits (Vieira et al. 2018). The present study contributes to the knowledge of the mucoralean community in fruits, and given the reported pathogenicity, control measures must be adopted to reduce post-harvest losses and extend the storage time of the products.

Acknowledgements The first author thanks the Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) for the master's fellowship (IBPG-0230-2.03/22); A.R. Machado, A. L. C. M. A. Santiago and C.M. Souza-Motta thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for research fellowships. The authors also thank the Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support and the Micoteca URM Culture Collection for assistance in the execution of this study.

References

- Alfenas AC, Ferreira FA, Mafia R, Gonçalves R (2016) Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: Alfenas AC, Mafia RG (eds) Viçosa, UFV, p 56
- Benny GL (1991) *Gilbertellaceae*, a new family of the *Mucorales* (Zygomycetes). *Mycologia* 83:150–157. <https://doi.org/10.2307/3759930>
- Cheng JY, Hu FM (1965) A new species of *Gilbertella*. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 10:105–109
- Cruz-Lachica I, Marquez-Zequera I, Garcia-Estrada RS, Carrillo-Fasio JA, Leon-Felix J, Allende-Molar R (2015) First report of *Gilbertella persicaria* causing papaya fruit rot. *Plant Dis* 100:227. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-15-0607-PDN>
- Cruz-Lachica I, Marquez-Zequera I, Allende-Molar R, Sañudo-Barajas JA, Leon-Felix J, Ley-Lopez N, Garcia-Estrada RS (2018) Diversity of mucoralean fungi in soils of papaya (*Carica papaya* L.) producing regions in Mexico. *Fungal Biol* 122:810–816. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.04.008>
- Eddy ED (1925) A storage rot of peaches caused by a new species of *Choanephora*. *Phytopathology* 15:607–610
- Guo LW, Wu YX, Mao ZC, Ho HH, He YQ (2012) Storage rot of dragon fruit caused by *Gilbertella persicaria*. *Plant Dis* 96:1826
- Hesseltine CW (1960) *Gilbertella* Gen. Nov. (*Mucorales*). *Bull Torrey Bot Club* 87:21–30. <https://doi.org/10.2307/2483058>
- Hyde KD et al (2014) One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera: I. *Fungal Diversity* 67:21–125. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0298-1>
- Lee SH, Nguyen TTT, Lee HB (2018) Isolation and characterization of two rare mucoralean species with specific habitats. *Mycobiology* 46:205–214. <https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1509513>
- Mehrotra MD (1963a) Fruit rot of tomato caused by *Gilbertella persicaria* var. *indica*. *Sydowia* 17:17–19
- Mehrotra MD (1963b) Fruit rot of pear caused by *Gilbertella persicaria* var. *indica*. *Sydowia* 17:124–125
- Mehrotra BS, Mehrotra MD (1963) A morphological and physiological study of *Gilbertella* in India. *Mycologia* 55:582–594
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Proceedings of the gateway computing computing environments workshop (GCE), New Orleans, E-book. New Orleans, 1–8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>
- Papp T, Ács K, Nyilasi I, Nagy E, Vágvolgyi CS (2003) Phylogenetic relationship of the genus *Gilbertella* and related genera within the order *Mucorales* based on 5.8 S ribosomal DNA sequences. *Acta Biol Hung* 54:393–402. <https://doi.org/10.1556/ABiol.54.2003.3-4.17>
- Pinho DB, Pereira OL, Soares DJ (2014) First report of *Gilbertella persicaria* as the cause of soft rot of fruit of *Syzygium cumini*. *Aust Plant Dis Notes* 9:143. <https://doi.org/10.1007/s13314-014-0143-0>
- Posada D, Buckley TR (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Syst Biol* 53:793–808. <https://doi.org/10.1080/10635150490522304>
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Ruangwong OU, Kunasakdakul K, Wonglom P, Dy KS, Sunpapao A (2022) Morphological and molecular studies of a rare mucoralean species causing flower rot in *Hylocereus polyrhizus*. *J Plant Phytopathol* 170:214–220. <https://doi.org/10.1111/jph.13072>
- Santiago ALCMA, Cavalcanti MAQ (2007) *Gilbertella persicaria* (*Mucorales*): a new record from Brazil. *Mycotaxon* 102:333–337
- Takushi T, Yamashiro M, Kawano S, Matsumura M (2020) First report of fruit rot caused by *Gilbertella persicaria* on Barbados cherry (*Malpighia glabra* L.) in Japan. *Jpn J Phytopathol* 86:102–107. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.86.102>
- Vieira JCB, Câmara MPS, Bezerra JDP, Motta CMS, Machado AR (2018) First report of *Gilbertella persicaria* causing soft rot in eggplant fruit in Brazil. *Plant Dis* 102:1172–1172. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1379-PDN>
- Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol* 172:4238–4246. <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>
- Walther G, Pawłowska J, Alastruey-Izquierdo A, Wzosek M, Rodriguez-Tudela JL, Dolatabadi S, Chakrabarti A, de Hoog GS (2013) DNA barcoding in *Mucorales*: an inventory of biodiversity. *Persoonia* 30:11–47. <https://doi.org/10.3767/003158513X665070>
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols, a guide to methods and applications, pp 315–322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Zhang J, Kou J, Ozbudak E, Zhong T, Pan T, Bai J, Cano LM, Ritenour MA (2020) First report of *Gilbertella persicaria* causing postharvest soft rot of strawberry fruit in Florida. *Plant Dis* 104:2736. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2081-PDN>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.