



## Mucorales em solo de brejos de altitude do semiárido de Pernambuco <sup>(1)</sup>.

**Ana Lúcia Sabino de Melo Alves <sup>(2)</sup>; Carlos Alberto Fragoso de Souza <sup>(3)</sup>; Diogo Xavier Lima <sup>(3)</sup>; Stela Caroline Nascimento da Costa <sup>(4)</sup>; Andrews Emanuel Araújo <sup>(5)</sup>; André Luiz Cabral Monteiro de Azevedo Santiago <sup>(6)</sup>.**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do Projeto “Mucoromycotina em brejos de altitude do semiárido de Pernambuco” - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 458391/2014-0).

<sup>(2)</sup> Mestranda no Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco; [abiomelo@gmail.com](mailto:abiomelo@gmail.com); <sup>(3)</sup> Doutorandos do Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos, UFPE; [carlos\\_fragoso1@hotmail.com](mailto:carlos_fragoso1@hotmail.com), [diogo\\_xavier00@hotmail.com](mailto:diogo_xavier00@hotmail.com); <sup>(4)</sup> Graduanda do Curso de Ciências Biológicas ênfase em Ambientais, UFPE, [stelacaroline7@hotmail.com](mailto:stelacaroline7@hotmail.com); <sup>(5)</sup> Graduando do Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, UFPE, [andrews\\_wushu@hotmail.com](mailto:andrews_wushu@hotmail.com); <sup>(6)</sup> Professor adjunto da Universidade Federal de Pernambuco, [andrelcabral@msn.com](mailto:andrelcabral@msn.com).

**RESUMO:** Os Mucorales são fungos em maioria sapróbios, caracterizadas pela produção do zigosporo que tem origem sexuada. Embora esses fungos sejam comuns em diferentes substratos, é no solo onde são mais abundantes. Até o momento, há apenas um relato da ocorrência desses fungos em áreas de brejo de altitude no Brasil. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é conhecer a comunidade dos Mucorales nos brejos de altitude da Serra Negra e de Genipapo, localizados nas cidades de Bezerros e Sanharó-PE, respectivamente. Coletas de solo foram realizadas mensalmente entre setembro/2014 e fevereiro/2015. Para o isolamento, 5mg de solo foram adicionadas ao meio de cultura de ágar gérmen de trigo adicionado de cloranfenicol contido em placas de Petri. Para cada amostra de solo foram preparadas placas em triplicata. Do brejo da Serra Negra foram isolados seis táxons de Mucorales distribuídos em quatro gêneros: *Cunninghamella elegans*, *Gongronella butleri*, *Rhizopus stolonifer* e três prováveis espécies novas para a ciência: *Cunninghamella* sp.1, *Cunninghamella* sp.2 e *Absidia* sp.1. Do brejo de Genipapo foram isolados nove táxons distribuídos em cinco gêneros: *Absidia* sp.1, *C. blasklesleeana*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *C. elegans*, *G. butleri*, *R. stolonifer* e outras três prováveis espécies novas: *Absidia* sp.2, *Absidia* sp.3 e *Mucor* sp. Dentre os isolados, *Cunninghamella elegans* e *Gongronella butleri* apresentam maior número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama de solo bem como as mais elevadas frequência de ocorrência e abundância relativa, seguidas por *Cunninghamella* sp.1, *Absidia* sp.2, *R. stolonifer*, *Absidia* sp.1 e *G. butleri*.

**Termos de indexação:** ecologia, fungos, Mucoromycotina.

### INTRODUÇÃO

O Mucorales são fungos caracterizados pela produção do zigosporângio, estrutura de resistência de origem sexuada, formada pela fusão de dois gametângios, iguais ou não, que comportam o zigósporo (Hibbett et al., 2007). Podem ser isolados de diversos substratos, como solo, excrementos de herbívoros e de alimentos, incluindo grãos estocados (Santiago et al., 2013). No entanto, é no solo onde são mais abundantes (Bills et al., 2004), desempenhando um papel importante na decomposição de matéria orgânica, realizando a ciclagem de nutrientes, disponibilizando-os para outros organismos e para as plantas (Hill et al., 2000). Em geral, no solo, são encontrados entre  $10^4$  a  $10^6$  organismos por grama de substrato, observando-se maior diversidade em amostras coletadas próximas aos materiais orgânicos, como raízes e exsudatos de plantas (Blackwell, 2011). Além de decompositores, os Mucorales são conhecidos pela capacidade de produzirem enzimas, antibióticos e ácidos orgânicos, metabólitos importantes para a produção de tecidos, papel, remédios e alimentos (Hoffmann et al., 2013; Lima et al., 2015). Esses microrganismos têm sido isolados de solos de várias regiões do Brasil, incluindo o semiárido (de Souza et al., 2013). Dentro do semiárido, nas áreas mais elevadas, encontramos os brejos de altitude, locais onde a vegetação encontra-se relacionada com a Mata Atlântica, diferente das formações da Caatinga existente. Esses brejos constituem o setor mais ameaçado da Mata Atlântica brasileira (Rodrigues et al., 2008).

Trabalhos sobre a ocorrência dos Mucorales em regiões do semiárido nordestino reportaram apenas 20 espécies de Mucorales, das quais apenas oito foram isoladas de uma região de brejo de altitude em Triunfo-PE (Santiago et al., 2013), o que não reflete a real riqueza desses fungos nesse ecossistema. Dessa forma, esse trabalho contribui diretamente para o conhecimento da riqueza, frequência de ocorrência e abundância relativa desses fungos nessas áreas.



## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de solo

Foram realizadas seis coletas mensais entre setembro/2014 e fevereiro/2015 nos brejos de altitude da Serra Negra e de Genipapo, localizados nas cidades de Bezerros e Sanharó-PE, respectivamente. Em cada brejo foram marcados dois retângulos de 500 m<sup>2</sup> de onde dez subamostras de solo foram coletadas a cinco centímetros de profundidade, respeitando-se a distância mínima de 10 metros entre cada ponto de coleta. Ao final, 20 subamostras de solo foram retiradas de cada brejo em cada coleta. As amostras de solo foram acondicionadas em sacos plásticos e conservadas em caixas de isopor com gelo durante o transporte. No laboratório foram homogeneizados volumes iguais das dez subamostras de cada quadrante de coleta, originando duas amostras compostas por setor e quatro para cada coleta. Considerando que foram realizadas seis coletas de solo, 24 amostras compostas de solo por área foram analisadas.

### Isolamento e identificação de Mucorales

Para o isolamento, 5mg de solo foram adicionadas ao meio de cultura de ágar germen de trigo (Benny, 2008) adicionado de cloranfenicol (80mg.L<sup>-1</sup>) contido em placas de Petri. Para cada amostra de solo foram preparadas placas em triplicata. O crescimento das colônias foi acompanhado por 72 horas em temperatura ambiente (28 ± 2°C). Para a purificação dos Mucorales, fragmentos das colônias foram transferidos separadamente para o meio ágar malte (Benny, 2008) adicionado de cloranfenicol (80 mg.L<sup>-1</sup>) contido em placas de Petri e, após confirmada a pureza, transferidos para tubos de ensaio contendo batata dextrose ágar – BDA (Lacaz et al., 2002).

Os espécimes foram identificados pela observação das características macroscópicas (coloração, aspecto e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas), de acordo com Hesseltine & Fennel (1995), Zheng & Chen (2001) e Zheng et al. (2007).

### Avaliação das comunidades dos Mucorales

As comunidades de Mucorales foram avaliadas a partir de dados ecológicos (frequência de ocorrência e abundância relativa). A frequência de ocorrência (FO) das espécies foi estimada segundo a equação:  $FO = J_i/k$ , em que FO = frequência de ocorrência da espécie i;  $J_i$  = número de amostras nas quais a espécie i ocorreu; K = número total de amostras de

solo. A abundância relativa de cada espécie foi calculada aplicando-se a fórmula:  $Ar = (N_i/N) \times 100$ , onde Ar = abundância relativa da espécie i;  $N_i$  = número de UFC da espécie i; N = número total de UFC, sendo cada espécie considerada: rara =  $Ar < 0,5\%$ ; ocasional =  $Ar \geq 0,5 < 1,5\%$ ; comum =  $Ar \geq 1,5 < 3,0\%$ ; abundante =  $Ar \geq 3,0\%$  (Schnittler & Stephenson, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras de solo inventariadas no brejo da Serra Negra foram isolados seis táxons de Mucorales distribuídos em quatro gêneros: *Cunninghamella elegans*, *Gongronella butleri*, *Rhizopus stolonifer* e três prováveis espécies novas para a ciência: *Cunninghamella* sp.1, *Cunninghamella* sp.2 e *Absidia* sp.1. *Cunninghamella elegans* apresentou maior número de UFC por grama de solo, seguida por *Cunninghamella* sp.1, *G. butleri*, *Absidia* sp.1, *Cunninghamella* sp.2 e *R. stolonifer* (**Tabela 1**).

Das amostras de solo do brejo de Genipapo, foram isolados nove táxons de Mucorales distribuídos em cinco gêneros: *C. blasklesleeana*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *C. elegans*, *G. butleri*, *R. stolonifer*, e quatro prováveis espécies novas: *Absidia* sp.1, *Absidia* sp.2, *Absidia* sp.3 e *Mucor* sp. Dentre esses isolados, *G. butleri* apresentou o maior número de UFC/g de solo, seguida por *Absidia* sp.2, *R. stolonifer* e *Absidia* sp.1. Diferente do observado nesse estudo, Lima et al. (2015) verificaram baixo número de UFC/g de solo no parque Nacional do Catimbau. Resultados diferentes aos desse trabalho também foram citados por Santiago et al. (2013) que constataram elevado número de UFC para *C. echinulata* var. *echinulata*. Saliencia-se que os dois autores supracitados trabalharam em áreas de Caatinga, que se apresentam mais secas em com temperaturas médias mais elevadas ao observado para os brejos de altitude. Nesse caso, *G. butleri* pode ser mais sensível ao estresse hídrico e térmico, ocorrendo o contrário para *C. echinulata* var. *echinulata*.

No solo das duas áreas estudadas *G. butleri* apresentou a maior frequência de ocorrência, seguida por *C. elegans* (**Tabela 1**). No entanto Santiago et al. (2013) e Lima et al. (2015) obtiveram frequências de ocorrência mais baixas para essas espécies em solos de Caatinga. Em relação à abundância relativa dos isolados, *Absidia* sp.1, *Absidia* sp.2, *C. elegans* e *G. butleri* podem ser consideradas ocasionais, enquanto *Absidia* sp.3, *C. blasklesleeana*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *C. elegans*, *Cunninghamella* sp.1, *Cunninghamella*



sp.2, *Mucor* sp. e *R. stolonifer* são raras nos solos estudados (**Tabela 1**). Santiago et al. (2013) também citaram *R. stolonifer* como rara em solos do semiárido de Pernambuco, enquanto Lima et al. (2015) reportaram *C. elegans* e *C. echinulata* var. *echinulata* como comuns em solos de Caatinga.

Os resultados desse trabalho mostram que a comunidade de Mucorales presente em solos de brejo de altitude difere em relação à comunidade de solos da Caatinga (Santiago et al., 2013; Lima et al., 2015). Dentre todas as espécies isoladas no presente estudo *G. butleri* se destacou pelo maior número de UFC/g de solo e pela mais elevada frequência de ocorrência em relação aos outros táxons, sendo uma espécie comum em solos de Mata Atlântica em diversos países (Trufem 1981; Bettuci & Roquebert, 1995). *Cunninghamella blaskesleeana*, *C. echinulata* var. *echinulata* e *C. elegans* também têm sido frequentemente isoladas de solos de Mata Atlântica no Brasil (Schoenlein-Crusius & Milanez, 1997; Schoenlein-Crusius et al., 2006). Entretanto, *Absidia* sp.1, *Absidia* sp.2, *Absidia* sp.3, *Cunninghamella* sp.1, *Cunninghamella* sp.2 e *Mucor* sp. apresentam características morfológicas que as diferem de outras espécies dentro de cada gênero, sendo prováveis espécies novas para a ciência. Os resultados indicam que a riqueza de Mucorales em solos de brejo de altitude é elevada.

### CONCLUSÕES

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

*Absidia* sp.1, *Cunninghamella* sp.1, *Cunninghamella* sp.2, *C. elegans*, *G. butleri* e *R. stolonifer* ocorrem no brejo de Serra Negra.

No brejo de Genipapo ocorrem *Absidia* sp.1, *Absidia* sp.2, *Absidia* sp.3, *C. blaskesleeana*, *C. echinulata* var. *echinulata*, *C. elegans*, *G. butleri*, *Mucor* sp. e *R. stolonifer*.

*Cunninghamella elegans* e *Gongronella butleri* apresentam maior número de UFC por grama de solo, seguidas por *Cunninghamella* sp.1, *Absidia* sp.2, *R. stolonifer* e *Absidia* sp.1.

*Gongronella butleri* é o táxon mais frequente, embora ocasional, nos solos inventariados. Todos os outros táxons são raros.

*Absidia* sp.1, *Absidia* sp.2, *Absidia* sp.3, *Cunninghamella* sp.1, *Cunninghamella* sp.2 e *Mucor* sp. são prováveis espécies novas para ciência.

### REFERÊNCIAS

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

BETTUCI, L. & ROQUEBERT, M. F. Microfungi from tropical rain Forest litter and soil, a preliminary study. *Nova Hedwigia*, 61:111–118, 1995.

BILLS, G.F.; CHRISTENSEN, M.; POWELL, M. et al. Saprobic soil fungi. In: Mueller, G.M.; Bills, G.F.; Foster, M. S. Inventory and monitoring methods. *Biodiversity Fungi 2 ed.* New York: Cambridge University Press, 2004. p 271–302.

BLACKWELL, M. The Fungi: 1,2,3...5.1 million species?. *American Journal of Botany*, 98: 426–438, 2011.

DE SOUZA, C.A.F.; COSTA, C.M.C.; SANTIAGO, A.L.C.M. de A. et al. Mucorales (Mucoromycotina) In: Santos, E.M.; Júnior, M.M.; Cavalcanti, J.S.S; Almeida, G.V.L. eds. Parque Estadual Mata da Pimenteira: Riqueza natural e conservação da caatinga. Serra Talhada – PE, ADUFRPE, 2013. p 52–64.

HIBBETT, D.S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J.F. et al. A Higher-level Phylogenetic Classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111: 509–547, 2007.

HESELTIME, C.W. & FENNEL, D.I. The genus *Circinella*. *Mycologia*, 7:193–211,1995.

HILL, G.T.; MITKWSK, N.A.; ALDRICH, W.L. et al. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 15:25–36, 2000.

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

LACAZ, C. S.; PORTO E.; MARTINS, J.E.C.M. et al. Tratado de micologia médica. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1104p.

LIMA, D.X.; SANTIAGO, A.L.C.M de A.; MAIA, L.C. et al. Diversity of Mucorales in natural and degraded semi-arid soils. *Brazilian Journal of Botany*, 38(1):1–9, 2015.

RORIGUES, P.C.G.; CHAGAS, M.G.S.; SILVA, F.B.R. et al. Ecologia dos brejos de altitude do agreste pernambucano. *Revista de Geografia*, 3:20–34, 2008.

SANTIAGO, A.L.C.M de A.; PEREIRA, P.J.S.; MAIA, L.C. et al. Mucorales from the semiarid of Pernambuco, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44 (1): 299–305, 2013.

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

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. & Milanez, A. I. Mucorales (Zygomycotina) da Mata Atlântica da reserva biológica do



Alto da Serra de Paranapiacaba, Santo André, SP. Acta Botanica Brasilica, 11:95–101,1997.

SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H. Microscopic fungi in the Atlantic rainforest in Cubatão, São Paulo, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 37:267–275, 2006.

SCHNITTLER, M. & STEPHENSON, S. L. Myxomycete biodiversity in four different forest types in Costa Rica. Mycologia, 92:626–637, 2000.

TRUFEM, S. F. B. Mucorales do Estado de São Paulo 2: gêneros *Absidia* van Tieghem, *Gongronella* Ribaldi e *Rhizopus* Ehrenberg. Rickia, 9:99–106,1981.

ZHENG, R.-Y. & Chen, G.-q. A Monograph of *Cunninghamella*. Mycotaxon, 80:1–75, 2001.

ZHENG, R.-Y; CHENG, GUI-Q; HUANG, H. et al. A Monograph a *Rhizopus*. Sydowia, 59:273–372,2007.

**Tabela 1-** Número de UFC, frequência de ocorrência e abundância relativa de Mucorales nos brejos de altitude de Serra Negra e brejo de Genipapo – PE

Mucorales	Sanharó	Bezerros	Total	F.O.	A.R
<i>Absidia</i> sp.1	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$3 \times 10^3$	8,33%	0,66%
<i>Absidia</i> sp.2	$2,5 \times 10^3$	0	$2,5 \times 10^3$	6,94%	0,72%
<i>Absidia</i> sp.3	$1,5 \times 10^3$	0	$1,5 \times 10^3$	4,17%	0,18%
<i>Cunninghamella</i> sp.1	0	$3,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	9,72%	0,42%
<i>Cunninghamella</i> sp.2	0	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	2,78%	0,12%
<i>C. blakesleeana</i> (Thaxt.) Thaxt.	$1,5 \times 10^3$	0	$1,5 \times 10^3$	4,17%	0,18%
<i>C. echinulata</i> var. <i>echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt. ex Blakeslee	$5 \times 10^3$	0	$5 \times 10^3$	1,39%	0,06%
<i>C. elegans</i> Lendn.	$1 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	$5,5 \times 10^3$	15,28%	0,66%
<i>Gongronella butleri</i> (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco	$4,5 \times 10^3$	$2 \times 10^3$	$6,5 \times 10^3$	18,06%	0,78%
<i>Mucor</i> sp.	$1,5 \times 10^3$	0	$1,5 \times 10^3$	4,17%	0,30%
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	$2 \times 10^3$	$5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^3$	6,94%	0,30%

F.O. = Frequência de ocorrência; A.R = Abundância relativa

