

A particularidade de ser um fungo – I. Constituintes celulares

Clarice Loguercio-Leite*
Claudia Groposo
Elisandro Ricardo Dreschler-Santos
Nívea de F. Figueiredo
Péricles da S. Godinho
Rosana Leon Abrão

Laboratório de Micologia, Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas,
Universidade Federal de Santa Catarina, CEP 88040 900, Florianópolis, SC, Brasil

*Autora para correspondência
clete@ccb.ufsc.br

Submetido em 16/09/2005
Aceito para publicação em 26/10/2005

Resumo

O Reino Fungi baseado em características morfológicas e reprodutivas inclui, atualmente, quatro filos (Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota). Suas organelas e componentes extracelulares vêm sendo estudadas em poucas espécies, fazendo com que o conhecimento a respeito das mesmas seja restrito. Apesar de compartilhar muitas organelas com os demais eucariontes, algumas delas apresentam modificações, e outras são exclusivamente fúngicas. Agrupar e divulgar informações sobre tais características fúngicas foi o escopo desta revisão.

Unitermos: SPBs, hidrogenossomos, endomitoses, corpos de Woronin, componentes extracelulares

Abstract

The particularity of being a fungus – I. Cellular components. Morphological and reproductive characteristics have been used to define the four phyla (Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota and Basidiomycota) that make up the Kingdom Fungi. However, fungal organelles and extracellular components have been studied in few species, and knowledge about them is restricted. In spite of the fact that fungi share some organelles with other eukaryotic organisms, they often show changes, but others are only found in Fungi. Compilation and divulgation of information about such fungal characteristics is the subject of this review.

Key words: SPBs, hydrogenosome, endomitosis, Woronin bodies, extracellular components

Os fungos, os vegetais e os animais – organismos eucariontes – divergiram de um ancestral comum há cerca de 1×10^9 anos. Entretanto, quando se compara plantas e animais, grupos de indivíduos diplóides e de cresci-

mento limitado, aos fungos, constata-se, ao contrário, que estes, em sua maioria, são haplóides e capazes, potencialmente, de crescimento ilimitado.

O Reino Fungi está delimitado atualmente com base em certas características peculiares, que incluem aspectos morfológicos (macroscópico, microscópico e ultramicroscópico), bem como fisiológicos. Apesar de muitas estruturas fúngicas serem similares às dos animais, com os quais o Reino está mais relacionado filogeneticamente, outras apresentam variações e outras ainda, são exclusivas dos fungos. Este trabalho se aterá à singularidade de suas organelas (Moore e Frazer, 2002; Burnett, 2003).

Constata-se que o soma fúngico (fase vegetativa) se apresenta como duas unidades morfológicas básicas, a leveduriforme e a hifal. As células únicas, delimitadas e pequenas, são denominadas leveduriformes, ao contrário das hifas que são células extremamente polarizadas, na forma de tubos, que se estendem, continuamente, em suas extremidades (Sievers et al., 1999).

Quando ocorrem em conjunto em diversos substratos (frutas, material em decomposição, paredes, lentes de vidro, entre outros) as culturas (ou colônias) de leveduras podem ser vistas a olho nu. Apresentam, quando isoladas *in vitro*, cores variadas e aspecto céreo brilhante, similares às bactérias. Certos fungos leveduriformes, quando em divisão e em determinadas condições de crescimento em meio sólido, podem manter suas células unidas, formando uma estrutura denominada pseudomicélio.

No caso dos fungos hifais ou filamentosos, que são o mais extraordinário exemplo de crescimento polarizado (Wendland, 2001), há a adoção de uma organização pseudocelular, com a finalidade de impedir os efeitos deletérios de senescência ou trauma, ou para permitir a diferenciação de estruturas (Markham, 1994).

O conjunto de hifas, ramificadas ou não, denomina-se micélio, o qual pode ser visualizado a olho nu, como um emaranhado de fios delgados que pode variar do hialino (incolor) ao colorido, dependendo da espécie. Ao microscópio óptico (MO) é possível distinguir hifas com duas morfologias, umas com paredes transversais (septos) e outras que não as apresentam (aseptados ou cenocíticos). Os fungos com estágio somático cenocítico (Chytridiomycota e Zygomycota) podem, contudo, apresentar septação para diferenciação de estruturas esporulantes ou na delimitação de zonas de defesa, devi-

do à senescência ou a ataque externo (animais, vírus, bactérias ou outros fungos).

A septação nos fungos filamentosos leva à formação de compartimentos individuais na hifa (Walther e Wendland, 2003). Alguns autores como, por exemplo, Alexopoulos et al. (1996), consideram esses fungos multicelulares. Entretanto, apesar de separados por septos, os compartimentos não são completamente fechados.

A estrutura septal ao microscópio eletrônico de transmissão (MET), pode apresentar um poro central simples, ocluído ou não por corpos de Woronin (Ascomycota, incluindo os anamórficos) ou um poro mais complexo, o doliporo-parentossomo (Basidiomycota). Este último tipo pode estar associado, em alguns casos, a fíbulas – ramificações curtas, laterais, que conectam um compartimento hifal a outro. O septo que une a fíbula à hifa também é do tipo doliporo-parentossomo (Markham, 1994). Tais poros interconectam os compartimentos através do citoplasma e permitem a passagem de organelas incluindo núcleos, o que leva a afirmação de que todos os fungos são unicelulares, pelo menos funcionalmente. O fechamento do poro septal pelos corpos de Woronin permite a preservação da integridade hifal, desde que em uma hifa danificada pode ocorrer a lise do ápice. O mecanismo de construção do poro, durante a formação ou após o término do septo, ainda permanece obscuro (Walther e Wendland, 2003).

Em certas espécies como *Neurospora crassa*, *Wetzelinia sclerotium*, *Aspergillus repens* e *Sordaria brevicollis* têm sido observados cristais hexagonais que obliteram o poro septal. Embora com uma estrutura distinta, acredita-se que eles possam ser uma subclasse de corpos de Woronin. Ambos originam-se na membrana, próximos ao ápice das hifas a partir de microcorpos. Esta hipótese foi recentemente corroborada pela observação de possíveis corpos de Woronin em associação com estruturas da membrana, arranjadas numa seqüência lógica, sugerindo variações na síntese (Markham, 1994).

É interessante mencionar que várias espécies apresentam a capacidade de alternar entre fase micelial e leveduriforme, fenômeno denominado dimorfismo. Tais alterações podem ser causadas por variações nos nutri-

entes, temperatura e/ou aeração (Griffin, 1994). Mecanismos moleculares para definir a similaridade, quanto à morfogênese, entre leveduras gemulantes (*Saccharomyces cerevisiae*) e fungos filamentosos vêm sendo estudados. Segundo Wendland (2001), um destes processos seria influenciado pelo AMPc.

A análise da superfície hifal e leveduriforme mostra a presença de três matrizes interconectadas: a extracelular ou capsular, a parede e a membrana plasmática. No interior, o citoplasma inclui uma série de organelas, como em todos os eucariontes.

A matriz extracelular é formada por substâncias mucilaginosas que têm função de adesão em diferentes grupos de fungos e por diversas enzimas extracelulares (Moore-Landecker, 1996). A mucilagem ocorre livremente na parede e no meio e pode ser um precursor ou um produto da degradação do β -glucano alcali-insolúvel. A insolubilidade característica do β -glucano é uma forma derivada de sua ligação à quitina (Van Wetter et al., 2000).

Em certas situações, a matriz extracelular contém hidrofobinas – pequenas proteínas (cerca de 100 aminoácidos) que exibem a propriedade de auto-reunião a interfaces hidrofílico/hidrofóbicas, formando películas anfipáticas (Wessels, 1993). Elas desempenham um importante papel ao cobrir, pelo menos, o micélio aéreo com esta camada impermeável atuando no crescimento (emergência das hifas aéreas) e na diferenciação, i. e., na formação de estruturas protetoras (Van Wetter et al., 2000). A presença destas proteínas já foi comprovada em *Mucor mucedo* (Zygomycota), *Neurospora crassa*, *Emericella nidulans* (Ascomycota), *Aspergillus niger*, *Penicillium crysogenum* (anamórficos), *Schizophyllum commune*, *Coprinus cinereus* e *Agaricus bisporus* (Basidiomycota). Além de atuarem de formas diferentes na morfogênese fúngica, elas interfeririam em outras atividades como, por exemplo, nos mecanismos de simbiose e parasitismo (Wessels, 1993; Bartnicki-Garcia, 1999).

Cristais de oxalato de cálcio foram encontrados nos materiais mucilaginosos extracelulares (bainha hifal) de *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Rigidoporus lignosus* e *Phellinus noxius*. Nestes casos, a matriz extracelular pode contribuir para a imobilização de metais pesados (Baldrian, 2003). Em *Gilbertella*

persicaria sugeriu-se que os cristais ajudariam a reforçar a parede e, possivelmente, a protegeriam da ingestão por pequenos animais (Whitney e Arnott, 1988).

Logo abaixo desta matriz, localiza-se a parede que é constituída de polissacarídeos (80 a 90%), proteínas, lípidios e carboidratos, sendo responsável pela forma e integridade estrutural do organismo (Moretti, 2003). Algumas proteínas são enzimas que digerem nutrientes extracelulares ou modificam estruturalmente a parede. Há também as glicoproteínas, envolvidas nos processos de reconhecimento celular. Os glucanos constituem um dos polímeros mais significativos, no entanto, a quitina é o maior componente estrutural da parede de *Aspergillus fumigatus* e outros fungos filamentosos (Mellado et al., 2003). A quitina é um β -glucano, como a celulose e o quitosano, sendo a enzima quitina-sintetase a responsável pela sua síntese (Griffin, 1994; Mellado et al., 2003).

Resumindo, as microfibrilas de quitina estão interiorizadas em uma matriz amorfa, produzindo uma armação que dá a morfologia da parede. Esta matriz é que contém as proteínas e os polissacarídeos tais como os glucanos ou mananos (Moore-Landecker, 1996). A parede de ascomicetos e basidiomicetos filamentosos consiste principalmente do complexo (1-3)/(1-6) β -glucano-quitina, (1-3) α -glucano e de (glico) proteínas. Há evidências que todos os componentes são expelidos na área da parede como entidades separadas e subsequentemente são modificados (Van Wetter et al., 2000).

Outro aspecto da parede é a coloração, que nos fungos é determinada por diferentes pigmentos (Chen e Johns, 1993; Hawksworth et al., 1995; Smânia et al., 1997; Buzzini e Martini, 1999; Hosoe et al., 1999; Sakaki et al., 2000), encontrados principalmente na parede, mas que também podem estar presentes nos fluídos, livres da parede e, então, geralmente, na forma de grânulos (Butler e Day, 1998). Os pigmentos da parede, freqüentemente polifenólicos, funcionam presumivelmente como reforço da rede de proteínas e polissacarídeos, através de ligações cruzadas oxidativas ou pela impregnação com um polímero hidrofóbico (Peter, 2001).

Tais pigmentos podem conferir diferentes colorações às culturas e às frutificações (ascomas, basidiomas): amarela (monascina e ancaflavina em *Monascus*

purpureus), amarelo-alaranjado (aurofusarina e rubrofusarina em *Fusarium culmorum*), laranja (cinabarina em *Pycnoporus sanguineus*, rubropunctatina em *Monascus purpureus*, β -caroteno e torularodina em *Rhodotorula glutinis*), azul (boletol em *Boletus luridus*) e vermelha (monoascorubramina em *Monascus purpureus*; auxarconjugatinas em *Auxarthron conjugatum*). Muitas micotoxinas também são pigmentadas, como por exemplo, as naftoquinonas de *Penicillium* e *Aspergillus*. Alguns importantes hormônios sexuais, tais como o ácido trispórico de *Blakeslea trispora*, são pigmentos carotenóides. A função de certos pigmentos seria antioxidativa, como para os β -carotenos e a torularodina. Alguns carotenóides poderiam ser utilizados como substituintes alternativos para corantes sintéticos de alimentos, antioxidantes e possíveis agentes inibidores de tumores (Buzzini e Martini, 1999; Durán et al., 2001).

Freqüentemente, encontram-se, fungos completamente escuros, tanto na forma micelial quanto na de estruturas esporuladoras e/ou esporos. Neste caso, o pigmento responsável é a melanina. Um exemplo é *Xylaria* (Ascomycota) cujo estroma é externamente escuro e produz também ascósporos melanizados na maturidade (Butler e Day, 1998). As melaninas protegem os organismos do estresse ambiental (exposição a metais pesados, dissecação, condições hiperosmóticas e temperaturas extremas como em *Gaeumannomyces graminis*), do antagonismo de outros organismos (*Phellinus weirii*), da limitação de nutrientes, do choque de pH e contra a radiação ionizante e UV.

No caso de fungos fitopatogênicos, a melanina pode desempenhar um papel importante na proteção contra os radicais livres de oxigênio, gerados pela planta, como resposta à infecção pelo fungo (Henson et al., 1999). Um estudo ao MET com *Cladosporium carrionii* indicou que a melanina, que pode ser granular ou fibrilar, se forma em vacúolos citoplasmáticos e então é excretada para a parede. Em *Venturia inequalis* (patógeno da maçã) enzimas extracelulares hidrolíticas estão ligadas à melanina da parede, o que proporcionaria concentração e viabilização da atividade enzimática fúngica frente à planta (Butler e Day, 1998).

Abaixo da parede, a membrana plasmática mostra a estrutura típica, constituída por uma camada dupla de fosfolipídios e um arranjo de proteínas embebidas em uma bicamada lipídica, com proteínas de superfície fracamente ligadas à membrana e pequenas quantidades de carboidratos. Há enzimas tais como H^+ -ATPase e quitina-sintetase, fundamentais na função mediadora dos fenômenos que ocorrem na superfície. A estrutura lipoprotéica da membrana é uma barreira efetiva para muitos tipos de moléculas, que a atravessam por difusão ou transporte ativo (Thevissen et al., 2003).

O componente lipídico fúngico, o ergosterol (esterol não polar), difere daquele das membranas animais, o colesterol. O ergosterol é responsável por inúmeras características físicas importantes das membranas, tais como estrutura, permeabilidade e modulação da fluidez. Sua ausência causa alterações na permeabilidade da membrana plasmática e inibição do crescimento (Santos e Carvalho, 2001; Thevissen et al., 2003). Além disso, ele pode também, estar envolvido na regulação da síntese da quitina. (Griffin, 1994; Moretti, 2003).

Os processos de crescimento e de formação de parede são variados quando comparamos espécies leveduriformes e hifais, e mesmo entre as leveduriformes já estudadas, sejam as que realizam cissiparidade (*Schizosaccharomyces pombe*) ou gemulação (*Saccharomyces cerevisiae*), ocorrem diferenças (Harold, 2002).

Para entender tais seqüências morfogênicas é necessário que certas organelas sejam apresentadas. Entre elas o citoesqueleto e as proteínas associadas, bem como o transporte vesicular, que dirige a formação, transporte e fusão de vesículas secretórias com membranas-marcadas (Harris e Momany, 2004).

Deve-se ressaltar a importância do transporte vesicular, como sistema essencial para a entrega de proteínas e lipídios de seus sítios de síntese aos seus respectivos lugares de localização e ação (Ashimoto et al., 2002). Entre os processos vinculados estão a extensibilidade apical da hifa e a exocitose localizada de vesículas de Golgi, que levam precursores para a síntese de novas membranas e parede e, possivelmente, as enzimas que atuam no enfraquecimento da parede. As

vesículas secretoras abarrotam o ápice das hifas em crescimento, formando uma agregação denominada Spitzenkörper – corpo apical em alemão (Harold, 2002). Este é formado por uma área central mais clara (“core”) que contém actina (Harold, 2002) e outros pequenos componentes (microvesículas, microtúbulos, microfilamentos, ribossomos e outros). O centro é uma pequena região diferenciada no grupo de vesículas apicais, embora possa ter posição e tamanho variáveis. Alguns Spitzenkörpers contém mais de uma área central. Eles exibem uma dinâmica pleomórfica e, segundo López-Franco e Bracker (1996), também reagem às condições de estresse (luz, danos físicos e campos elétricos). Apesar de serem componentes usuais, nem sempre são encontrados nos ápices hifais (Heath et al., 2003). Segundo Harold (2002) diversos estudos implicam os microtúbulos na formação e movimentos dos Spitzenkörpers.

O maior papel da actina nos fungos filamentos, imprescindível também para a polarização das leveduras, é o de servir como sinal para o transporte de vesículas, baseadas em miosina, para os sítios de polarização. Os filamentos de actina presumivelmente direcionam o transporte do Spitzenkörper para o ápice hifal (Harris e Momany, 2004). Já no anamorfo *Geotrichum candidum*, estudos comprovaram a presença de actina concentrada no Spitzenkörper e em placas associadas à membrana plasmática, diferente de outros ascomicetos hifais. Em ascomicetos e basidiomicetos essas placas provavelmente correspondem a filassomos. Entretanto, as funções e comportamento dos filassomos permanecem vagas (Heath et al., 2003).

Riquelme et al. (1998) realizaram o mapeamento da trajetória do Spitzenkörper e a respectiva correlação com a direcionalidade de crescimento em hifas de *Neurospora crassa* (ascomiceto filamentos). Os autores sustentam a idéia de que a morfogênese hifal é controlada pela posição do Spitzenkörper que funciona como um centro de suprimento de vesículas, e que o determinante primário de sua trajetória, bem como da morfologia hifal, é o citoesqueleto tubular.

As hifas são bem conhecidas pela habilidade de mudar de direção em resposta a estímulos externos – comportamento trópico, provavelmente, os estímulos tró-

picos operem modulando um mecanismo intrínseco de crescimento hifal retilinear, fazendo com que as hifas apresentem tendência a crescer em uma direção fixa.

Rhizoctonia solani (anamorfo de *Ceratobasidium*) apresenta um Spitzenkörper bipartido com um “core” rodeado por uma região escura em contraste de fase. No “core” não há vesículas secretoras, mas sim material fibrilar, microvesículas, pequenos túbulos com membranas e ribossomos (Grove e Sweigard, 1996).

Em um estudo detalhado de *Neurospora crassa*, Riquelme et al. (2002) propuseram a divisão das hifas maduras e em crescimento em 4 regiões, de acordo com a organização e comportamento citoplasmáticos: a região apical (I) e três regiões subapicais (II, III, e IV). Um Spitzenkörper, bem definido, dominou o citoplasma da região I. Na região II, tipicamente desprovida de núcleos, vesículas (~0.48 em diâmetro) e mitocôndrias mantiveram, em princípio, uma localização constante no citoplasma apical. Nas regiões III e IV, vesículas e uma pequena população de mitocôndrias apresentaram movimentos rápidos de precessão e de retrocessão, enquanto a maioria manteve uma posição constante. Nestas regiões muitos núcleos ocuparam o citoplasma. Os mesmos autores (Riquelme et al., 2002) referem que uma cepa mutante desta espécie, com alterações na organização e estabilidade do Spitzenkörper, apresentou profundas perturbações na organização e função dos microtúbulos e, conseqüentemente, na dinâmica e posicionamento das organelas, levando a uma severa redução na taxa de crescimento e alterações na morfologia das hifas.

O sistema citoesqueletal compreende elementos estruturais, tais como filamentos de actina e microtúbulos, bem como proteínas que ligam estes elementos, que controlam suas configurações ou são responsáveis pelos processos de transporte usando os elementos estruturais como vias. Variações entre a configuração e a função do citoesqueleto revelam princípios gerais que governam a relação entre este e o crescimento celular (Geitmann e Emons, 2002).

Um exemplo do que acontece em leveduriformes pode ser encontrado em *Saccharomyces cerevisiae* onde a formação da gema, revelada por métodos mais moder-

nos, é sofisticada e intrincada. Aqui cerca de setenta proteínas estão envolvidas, atuando na seleção do lugar de gemação, construção do citoesqueleto polarizado, exocitose do precursor de vesículas, retração da membrana e deposição localizada de materiais de parede. A gema emerge, progressivamente, destes lugares de forma programada (Harold, 2002).

O processo de crescimento inclui secreção polarizada controlada e expansão apical, e está baseado no transporte intracelular ao longo dos dois maiores elementos citoesqueléticos, a F-actina e os microtúbulos. Apesar da importância dos fungos filamentosos e dos dimórficos, o conhecimento da base molecular do crescimento polar está restrito principalmente a *Saccharomyces cerevisiae* (gemulante) bem como a *Schizosaccharomyces pombe* (fissão) que são modelos úteis no estudo do citoesqueleto (Steinberg e Fuchs, 2004).

O complexo de Golgi (CG), uma organela autônoma, está na posição central do tráfego entre o retículo endoplasmático (RE), vesículas associadas e endossomo, vacúolo e membrana plasmática (Ashimoto et al., 2002). As vesículas, originadas a partir do CG localizam-se no ápice hifal e estão relacionadas à extensão hifal, contendo proteínas, polissacarídeos e fosfatases similares às aquelas das cisternas do CG. A maioria dos grupos de fungos, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota, apresenta CG atípico. O complexo, nestes grupos, está reduzido a um ou poucos elementos de membrana, consistindo de cisternas únicas ou túbulos localizadas no subápice hifal (Griffin, 1994; Bracker et al., 1996; Deacon, 1997). As membranas do CG têm características estruturais e bioquímicas intermediárias entre o invólucro nuclear e o RE e suas vesículas secretoras são envolvidas por membrana plasmática (Bracker et al., 1996). A maturação dos materiais transportados, incluindo a modificação de carboidratos e o processamento proteolítico, ocorre no CG da mesma forma que em mamíferos.

Saccharomyces cerevisiae apresenta cisternas únicas isoladas no citosol. Por outro lado, em *Pichia pastoris* e *Schizosaccharomyces pombe*, o CG é formado por cisternas empilhadas, localizadas próximas aos sítios de RE transicional, sendo tal localização independente dos microtúbulos (Ashimoto et al., 2002). Os CG em *Schizosaccharomyces pombe* localizam-se muito próxi-

mos ao núcleo e se dispersam durante o processo de formação da parede (Osumi, 1998).

Estudos recentes sobre o sistema de endomembranas e do tráfego entre RE e CG em *Pisolithus tinctorius*, baseados no uso da Belfredina A, metabólito fúngico que age sobre os microtúbulos reguladores da mobilidade dos vacúolos, afetando o crescimento e a diferenciação dos fungos filamentosos, mostraram que a maioria das organelas (CG e sistema vacuolar tubular) se recuperou após a lavagem da droga, exceto o RE que não se recuperou no tempo analisado (Cole et al., 2000).

Quando consideramos os núcleos, constata-se que diferentemente de outros eucariontes, nos fungos eles se caracterizam por serem muito pequenos, 1-5µm de diâmetro. Além disso, seu complemento de histonas é um pouco diferente. O genoma dos fungos é, correspondentemente, pequeno, podendo variar entre 200 e 12000 kbp. Portanto, eles têm um DNA intermediário entre procariontes e demais eucariontes (plantas e animais) segundo Griffin (1994).

Outro aspecto ainda obscuro se refere à migração nuclear. Embora esse processo pareça ser uma função celular simples, o progresso contínuo das pesquisas durante os últimos anos demonstrou o quão complicado ele é. Estudos em diferentes fungos revelaram funções comuns de proteínas-motor, embora algumas só tenham sido descritas para certas espécies. Além disso, percebeu-se a importância de se fazerem análises moleculares com organismos diferentes a fim de desenvolver um modelo unificado e descobrir características espécie-específicas (Suelmann e Fischer, 2000b).

A membrana nuclear é formada por duas unidades, uma interna e outra externa, além de um espaço perinuclear. Essas membranas são unidas por poros que têm a função de passagem entre o citoplasma e o nucleoplasma, mas estudos recentes propõem novas funções, como a de um mecanismo mediador (“gated”). Os poros podem ser visualizados por uma variedade de técnicas, que mostram sua estrutura com muitos grânulos periféricos e um central. Seu tamanho varia de 70 a 140nm, sendo a quantidade diretamente relacionada com as fases das divisões. As membranas nucleares mostram associações diretas com o RE, o CG e diversas vesículas.

Essas conexões estão relacionadas ao funcionamento e manutenção do núcleo, bem como do restante da hifa (Griffin, 1994).

A maioria dos fungos (Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota) tem mitose acêntrica, sem centríolo, havendo em substituição uma associação com os corpos polares do fuso (SPB – Spindle Polar Bodies), enquanto em Chytridiomycota há mitose cêntrica (Griffin, 1994).

O SPB, que funciona como um centríolo, ou seja, como um centro organizador de microtúbulos durante a divisão nuclear, se encontra, usualmente, adjacente à membrana nuclear tanto na interfase quanto no núcleo em divisão dos fungos não flagelados (Beckett, 1980).

Na mitose, o envoltório nuclear (carioteca) não desaparece, o nucléolo normalmente é retido, alongando-se externamente e dividindo-se entre os núcleos filhos (Zickler, 1981).

A microscopia eletrônica mostrou que em *Saccharomyces cerevisiae* o nucléolo está sempre no fundo do núcleo em íntimo contato com o envoltório nuclear, já em *Schizosaccharomyces pombe*, não há este contato entre as estruturas. Em *Cochliobolus sativus*, o nucléolo persiste durante o período de divisão nuclear. Por outro lado, em *Fusarium oxysporum*, este se dispersa na prófase, reaparecendo na próxima interfase (Taga et al., 2003).

Na maioria dos fungos, o aparato mitótico consiste de cromossomos aderidos via cinetócoros a fusos de microtúbulos (MTs) de várias categorias que compreendem um fuso bipolar, estruturas polares chamadas SPBs e ásteres microtubulares.

Peculiaridades na mitose de fungos filamentosos incluem: a ausência de uma *placa metafásica* bem definida e a disjunção assincrônica das cromátides irmãs depois da metafase, o que leva a uma anáfase curta. A permanente adesão dos cromossomos ao SPB deve ser mais estudada quanto a sua natureza e significado, durante o ciclo celular. Adicionalmente, necessita-se de melhores métodos *in vivo* para visualizar o aparato mitótico. A cromatina está compactada nos nucleossomos, muito menores do que os de mamíferos. As tubulinas *a* e *b* são similares às dos eucariontes superiores. A tubulina-*g* descoberta em fun-

gos filamentosos, é organizadora de centros MTs, e possivelmente ocorre em todos os eucariontes, apesar de seu papel essencial na nucleação e polimerização do MT ainda não ter sido determinado. As proteínas-motor mitóticas, associadas a microtúbulos – forças da mitose, necessitam ser melhor caracterizadas *in vitro* em relação à mobilidade (Aist e Morris, 1999).

As divisões meióticas entre os fungos, geralmente mantêm a carioteca, o nucléolo, as características dos SPBs e microtúbulos, mas também podem degenerar o envelope nuclear, normalmente quando se aproxima da prófase, e logo depois, o nucléolo. Há duas formas de meiose intranuclear (envoltório nuclear persistente): em uma o núcleo se divide na telófase I, e na outra, acontece um atraso até a telófase II. Os eventos fisiológicos da meiose são difíceis de serem analisados, pois a meiose dos fungos, na maioria das vezes é acompanhada de outros eventos de desenvolvimento da frutificação ou processos de esporulação. O isolamento de fases meióticas específicas é realizado de forma excelente com mutantes de *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Podospora* e *Neurospora* (Griffin, 1994).

Ao considerarmos o vacúolo, compartimento intracelular, no qual diversos componentes celulares estão localizados, constata-se que aparentemente realiza três funções: (a) armazenamento de nitrogênio (como aminoácidos básicos e glutamina) e fosfato; (b) empacotamento e secreção de enzimas hidrolíticas (proteases, invertases, glucanases) e (c) síntese e secreção de polissacarídeos extracelulares. As funções de armazenamento e secreção são mutuamente exclusivas, e já se obtiveram evidências da diferença entre vesículas secretoras e vacúolos (Griffin, 1994). Os vacúolos formam um sistema vacuolar tubular. Tal sistema apresenta motilidade sendo capaz de transferir compostos ao longo da hifa e de compartimento a compartimento; apesar da semelhança, o padrão não é idêntico em todos Filos de fungos (Rees et al., 1994).

Uma outra organela, que apresenta algumas diferenças com a dos demais eucariontes, é a mitocôndria, a maior organela presente nas hifas. Denominadas de *casa de força* da célula, as mitocôndrias são responsáveis pela maior parte da síntese de ATP em condições aeróbicas (Paumard et al., 2002). Elas se movem ativamente ao

longo de vias citoesqueléticas e, frequentemente, mudam de forma podendo ser alongadas, ovais ou não lineares, e de tamanho variado devido a eventos de fusão e fissão. A mobilidade mitocondrial, fissão e fusão têm importantes papéis na adaptação para os requerimentos de energia e na herança das mitocôndrias pelas células-filhas durante a divisão celular (Westermann e Prokisch, 2002).

As mitocôndrias contêm DNA, com um nucleóide no centro. Os nucleóides consistem em uma ou várias moléculas de DNA mitocondrial, que podem ser extraídas e examinadas por microscopia eletrônica. Na maioria dos fungos esse material é um filamento duplo circular, mas em alguns organismos, inclusive na levedura *Hansenula mrakii*, a molécula é linear. O DNA mitocondrial contém os genes de transferência do tRNA e rRNA. O genoma mitocondrial de fungos difere em tamanho entre as espécies, os de *Schizosaccharomyces pombe* e *Aspergillus nidulans* já foram totalmente seqüenciados (Carlile et al., 2004).

Uma única mitocôndria gigante foi registrada em *Saccharomyces cerevisiae*, mas em outras espécies como *Schizosaccharomyces pombe*, *Exophiala dermatitidis* e *Bullera alba* demonstrou-se a presença de múltiplas mitocôndrias, que mudam em número e forma dependendo dos estádios do ciclo celular e das condições de crescimento (Yamaguchi et al., 2003).

Contudo, em fungos filamentosos, as mitocôndrias são observadas tipicamente como organelas na forma de pequenos filamentos distribuídos através da célula e orientados longitudinalmente ao eixo (Westermann e Prokisch, 2002).

Apesar de certa similaridade, as cristas mitocondriais dos fungos são estruturas achatadas, contrastando com as cristas tubulares dos demais organismos (Griffin, 1994). A formação de tais cristas deve-se à invaginação da membrana interna das mitocôndrias que forma uma grande quantidade de membranas contendo as enzimas da cadeia de transporte de elétrons. Até recentemente era desconhecida a forma como a membrana interna formava as cristas. Uma hipótese lançada a partir de estudos com *Saccharomyces cerevisiae* e *Neurospora crassa* associou os dímeros de ATP-sintase ao desenvolvimento das cristas. Sua biogênese seria con-

trolada, na verdade, por inter-relações moleculares das subunidades *e* e *g* da ATP-sintase mitocondrial, não só nessas espécies, como nos demais eucariontes (Paumard et al., 2002).

É necessário ressaltar que diversos aspectos importantes do comportamento mitocondrial são diferentes nos fungos filamentosos quando comparados às leveduras. Primeiro, o transporte das mitocôndrias se dá pela intervenção de diferentes sistemas citoesqueléticos. O transporte dependente dos microtúbulos é o mais importante na maioria dos fungos, mas não em leveduras. Segundo, a herança do DNA mitocondrial (mtDNA) está intimamente ligada à integridade do compartimento mitocondrial, sendo sua transmissão uniparental nos cruzamentos sexuais em fungos filamentosos, ao contrário das leveduras gemulantes onde é biparental, apesar da maquinaria molecular permanecer desconhecida. Terceiro, o movimento direcionado das mitocôndrias até o ápice ou a distribuição das organelas para os conidiósporos não pode ser estudada em leveduras. Em *Neurospora crassa* a mobilidade das organelas é mais similar a das células de mamíferos do que a de leveduras, porque as mitocôndrias são transportadas ao longo dos microtúbulos. Ainda mais, os fungos filamentosos têm um ciclo de vida um pouco mais complexo, o qual requer eventos regulatórios que diferem daqueles das leveduras (Westermann e Prokisch, 2002).

Suelmann e Fischer (2000a) ao estudar *Aspergillus nidulans* concluíram que os microtúbulos citoplasmáticos não são responsáveis pela manutenção da morfologia tubular e mobilidade das mitocôndrias. Desta maneira, a formação e a função mitocondrial dependem da ação citoesquelética da célula, bem como, de proteínas, como a miosina, que garantem o movimento da organela.

Quando se considera os fungos leveduriformes constata-se que a motilidade e o posicionamento das mitocôndrias são determinados por microfilamentos (actina) e microtúbulos (tubulina), dependendo da espécie. Assim, em *Saccharomyces cerevisiae* os microfilamentos são os responsáveis por tais características e em *Schizosaccharomyces pombe*, os microtúbulos (Westermann e Prokisch, 2002).

A grande maioria das proteínas requeridas para a estrutura e o funcionamento mitocondrial é codificada

por genes nucleares e são importadas pela organela. É interessante ressaltar que defeitos na morfologia mitocondrial podem ser causados por mutações em alguns componentes do maquinário de translocação das proteínas. Mutações da membrana externa mitocondrial no receptor Tom77 resultam na extensão das mitocôndrias em *Podospira anserina* e em *Neurospora crassa* (Westermann e Prokisch, 2002).

A próxima organela, o hidrogenossomo, apresenta semelhanças com as mitocôndrias, com relação ao processo de divisão, incorporação de cálcio, membranas internas e seqüências de proteínas (Almeida et al., 1997).

Embley e Martin (1998) propuseram-se a descrever a origem dos hidrogenossomos através da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) e da comparação das seqüências genéticas dos hidrogenossomos com as mitocôndrias de *Nyctotherus ovalis*, um ciliado. Há evidências de que eles derivaram das mitocôndrias pela presença de duas membranas, consistente com uma origem endossimbiótica; pelas invaginações da membrana interna, similares às cristas mitocondriais; por desempenharem um importante papel na geração de energia, os hidrogenossomos usam prótons como aceptores de hidrogênio e as mitocôndrias usam o oxigênio para formar água; e por último, porque as enzimas málicas, componentes-chave do metabolismo, são sintetizadas de maneira homóloga em ambas organelas (Carlile et al., 2004).

Os hidrogenossomos, geralmente esféricos, envoltos por duas membranas firmemente justapostas, com uma matriz homogênea e finamente granular, e medindo 0,5 µm de diâmetro, são obrigatórios para a produção de ATP e hidrogênio molecular (Benchimol, 2001). Assim, sua função é respiratória, tanto sob aerobiose quanto anaerobiose, sendo encontradas individualmente em espécies anaeróbicas (Almeida et al., 1997). Condições anaeróbicas levam a organela a produzir quantidades equimolares de CO₂, H₂ e acetato, a partir do piruvato. Na presença de oxigênio, a organela produz CO₂ e acetato, fosforilando o ADP em ATP, com consumo de O₂ e não havendo formação do H₂ molecular, i. e., a organela assume uma função respiratória típica (Carlile et al., 2004).

Suas enzimas também participam do metabolismo do piruvato formado durante a glicólise como, por exem-

plo, a piruvato:ferrodoxina-óxido-redutase que oxida o piruvato; a hidrogenase, sensível ao oxigênio e que utiliza a ferrodoxina reduzida como doadora de elétrons. A natureza da oxidase envolvida no processo respiratório nos hidrogenossomos é desconhecida. Não se encontram enzimas típicas do ciclo de Krebs, nem citocromos ou citocromo-oxidases, nem tampouco enzimas características dos peroxissomos (Benchimol, 2001).

Carlile et al. (2004) analisaram a dupla membrana que envolve o hidrogenossomo no fungo anaeróbio *Neocallimastix frontalis* (Chytridiomycota), constatando que a matriz é granular e que as membranas são densas e mais compactadas do que as membranas plasmáticas. Testes imunocitoquímicos localizaram a síntese de b-succinyl CoA na dupla membrana em zoósporos e hifas.

Por outro lado, técnicas de microscopia eletrônica e de imunocitoquímica possibilitaram a identificação de DNA e de ribossomos nos hidrogenossomos do ciliado *Nyctotherus ovalis*. Esse DNA pode ter sido herdado de mitocôndrias ou hidrogenossomos de protobactérias. Portanto, a pesquisa demonstrou a presença de um código genético nos hidrogenossomos de um ciliado anaeróbio, o que aumenta as possibilidades de ocorrer o mesmo nos fungos (Akhamanova et al., 1998).

Outra família de organelas é formada pelos microcorpos. Estes são rodeados por uma só membrana e têm várias funções na célula. O maior grupo de microcorpos é o dos peroxissomos, sendo este termo usado muitas vezes no lugar de microcorpos. Sua função oxidativa/respiratória difere daquela das mitocôndrias por não conservar energia na forma de ATP. Também atuam na β-oxidação de ácidos graxos em *Saccharomyces cerevisiae* e são um sítio para as enzimas do ciclo do glicoxilato, neste caso sendo conhecidos, às vezes, como glicoxissomos (Carlile et al., 2004).

Vamos ater-nos aos peroxissomos, estruturas geralmente esféricas, envoltas por uma única membrana, finamente granular, com 0,2-1 µm de diâmetro. Sua matriz apresenta inúmeras enzimas, responsáveis por diferentes funções desempenhadas pela organela (Loureiro e Felisbino, 2001). Tanaka e Ueda (1993), em estudos realizados com *Candida tropicalis* os caracterizaram bioquimicamente por apresentarem uma ou mais moléculas de hidrogênios.

Os peroxissomos são responsáveis pelo metabolismo dos alcanos (metano, etano, propano, álcool, petróleo e seus derivados), pela degradação do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), pela oxidação de moléculas pequenas de etanol e metanol e pela ação catabólica no metabolismo de lipídios, sendo que a catalase representa 40% das enzimas presentes na organela (Lourenço e Felisbino, 2001). Eles podem ser avaliados para várias aplicações práticas, tais como: produção e aplicação em síntese de proteínas e enzimas, controle e indução de genes que sintetizam proteínas, acúmulo de proteínas no seu interior e biocatalisadores (Tanaka e Ueda, 1993).

Os compostos usados para armazenamento de energia e translocação de nutrientes em fungos, as chamadas substâncias de reserva são derivados de açúcares comuns tais como glicose e frutose. No primeiro caso lipídios, glicogênio (um polímero de glicose) e trehalose (dissacarídeo não reduzível), e no segundo, trehalose e polióis, tais como manitol, arabitol ou ribitol em Zygomycota. O manitol pode atuar também como regulador metabólico e substância de reserva (Deacon, 1997). Os corpos lipídicos, envoltos por membrana simples, podem ser observados em esporos e em hifas maduras e senescentes, parecem derivar-se do RE. O glicogênio pode formar agregados (15-30nm) que podem estar associados às membranas citoplasmáticas ou apresentarem-se livre no citosol (Moore-Landecker, 1996).

Concluindo, o reino dos fungos, comparável em diversidade ao das plantas e dos animais, e numericamente superior ao último, apresenta características diferenciadas muitas das quais completamente desconhecidas para a maioria dos estudantes. Esta realidade levou a uma sumarização de tais estruturas que conferem aos fungos características únicas entre os seres vivos.

Referências

- Akhamanova, A.; Voncken, F.; Alen, T.; Hoek, A.; Boxma, B.; Vogels, G.; Veenhuijsen, M.; Hackstein, H. P. 1998. A hydrogenosome with a genome. **Nature**, **396**: 527-528.
- Alexopoulos, C. J.; Mims, C. W.; Blackwell, M. 1996. **Introductory Mycology**. 4th ed. John Wiley & Sons, New York, USA, 869pp.
- Almeida, J. C. A.; Benchimol, M.; Durand, R. 1997. A double membrane surrounds the hydrogenosomes of the anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*. **FEMS Microbiology Letters**, **VI 154**: 277.
- Aist, J. R.; Morris, N. R. 1999. Mitosis in Filamentous Fungi: How We Got Where We Are Fungal. **Genetics and Biology**, **27**: 1-25.
- Ashimoto, H.; Abe, M.; Hirata, A.; Noda, Y.; Adachi, H.; Yoda, K. 2002. Progression of the stacked Golgi compartments in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* by overproduction of GDP-mannose transporter. **Yeast**, **19**: 1413-1424.
- Baldrian, P. 2003. Interactions of heavy metals with white-rot fungi. **Enzyme and Microbial Technology**, **32**: 78-91.
- Bartnicki-García, S. 1999. Hyphal tip growth; outstanding questions. *In*: Osiewacz, H. D. (ed.). **Molecular Biology of Fungal Development**. Marcel Dekker, New York, USA, p.29-58.
- Beckett, A. 1980. Ultrastructure and behaviour of nuclei and associated structures within the meiotic cells of *Euscomycetes*. *In*: Gull, K. & Oliver, S. G. (eds.). **The fungal nucleus**. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p.37-62.
- Benchimol, M. 2001. 16. Hidrogenossomos. *In*: Carvalho, H. F. & Recco-Pimentel, S. M. (orgs). **A Célula 2001**. Ed. Manole, Barueri, Brasil, p.181-186.
- Bracker, C. E.; Morré, D. J.; Grove, S. N. 1996. Structure, differentiation, and multiplication of Golgi apparatus in fungal hyphae. **Protoplasma**, **194**: 250-274.
- Burnett, J. 2003. **Fungal populations & species**. Oxford University Press, Oxford, USA, 348pp.
- Butler, M. J.; Day, A. W. 1998. Fungal melanins: a review. **Canadian Journal of Microbiology**, **44**: 1115-1136.
- Buzzini, P.; Martini, A. 1999. Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw material of agro-industrial origin. **Bioresearch Technology**, **71**: 41-44.
- Carlile, M. J.; Watkinson, S. C.; Gooday, G. W. 2004. **The fungi**. 2nd ed. Elsevier Academic Press, London, England, 588pp.
- Chen, M-H.; Johns, M. R.. 1993. Effect of pH and nitrogen source on pigment production by *Monascus purpureus*. **Applied Microbiology & Biotechnology** **40**: 132-138.
- Cole, L.; Davies, D.; Hyde, G. J.; Ashford, A. E. 2000. Brefeldin A affects growth, endoplasmic reticulum, Golgi bodies, tubular vacuole system, and secretory pathway of *Pisolithus tinctorius*. **Fungal genetics and biology**, **29**: 95-106.
- Deacon, J. W. 1997. **Modern Mycology**. 3rd ed. Blackwell Science, London, England, 303pp.
- Durán, N.; Teixeira, M. F. S.; De Conti, R.; Esposito, E. 2001. Ecological-friendly pigments from fungi. **Critical Review Food Science Nutrition**, **42**: 53-66.
- Embley, T. M.; Martin, W. 1998. A hydrogen-producing mitochondrion. 1998. **Nature**, **VI 396**: 517-519.
- Geitmann, A.; Emons, A. M. C. 2002. The cytoskeleton in plant and fungal cell tip growth. **Journal of Microscopy**, **198** (3): 218-245.
- Griffin, D. H. 1994. **Fungal physiology**. 2nd ed. Wiley-Liss, Wiley & Sons, Nova York, USA, 458pp.
- Grove, S. N.; Sweigard, J. A. 1996. **Apical cytoplasmic organization and polar growth in *Rhizoctonia solani* are modified by cytochalasins**. WWW J. Biol. 2: Disponível em <<http://eprint.com/w3jbio/vol2/grove/grove.htm>>. Acesso em 14 abril de 2003.

- Harold, F. M. 2002. Force and compliance: rethinking morphogenesis in walled cells. **Fungal Genetics and Biology**, **37**: 271-282.
- Harris, S. D.; Momany, M. 2004. Polarity in filamentous fungi: moving beyond the yeast paradigm. **Fungal Genetics and Biology**, **41**: 391-400.
- Hawksworth, D. L.; Kirk, P. M.; Sutton, B. C.; Pegler, D. N. 1995. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi**. 8th ed. CAB International, Londres, England, 616pp.
- Heath, I. B.; Bonham, M.; Akram, A.; Gupta, G. D. 2003. The interrelationships of actin and hyphal tip growth in the ascomycete *Geotrichum candidum*. **Fungal Genetics and Biology**, **38**: 85-97.
- Henson, J. M.; Butler, M. J.; Day, A. W. 1999. The dark side of the mycelium: melanins of phytopathogenic fungi. **Annual Review Phytopathology**, **37**: 447-471.
- Hosoe, T.; Fukushima, K.; Takizawa, K.; Miyaji, M.; Kawai, K. 1999. Three pyrrolyloctatetraenyl-a-pyrone from *Auxarthron conjugatum*. **Phytochemistry**, **52**: 459-463.
- López-Franco, R.; Bracker, C. E. 1996. Diversity and dynamics of the Spitzenkörper in growing hyphal tips of higher fungi. **Protoplasma**, **195**: 90-111.
- Lourenço, L. B.; Felisbino, S. L. 2001. 15. Peroxissomos. *In*: Carvalho, H. F. E. & Recco-Pimentel, S. M. (orgs). **A Célula 2001**. Ed. Manole, Barueri, Brasil, p.72-180.
- Markham, P. 1994. Occlusions of septal pores in filamentous fungi. **Mycological Research**, **98** (10): 1089-1106.
- Mellado, E. G.; Dubreucq, P. M.; Sarfati, J.; Paris, S.; Diaquin, M.; Holden, D. W.; Rodriguez-Tudela, J. L.; Latg, J. P. 2003. Cell wall biogenesis in a double chitin synthase mutant (chsG-/chsE-) of *Aspergillus fumigatus*. **Fungal Genetics and Biology**, **38**: 98-109.
- Moore, D.; Frazer, L. N. 2002. **Essential Fungal Genetics**. Springer, New York, USA, 357pp.
- Moore-Landecker, E. 1996. **Fundamentals of the Fungi**. 4th ed. Prentice Hall, New Jersey, USA, 574pp.
- Moretti, P. E. 2003. **Projeto Microorganismos: Fungo**. Disponível em <http://www.fam.br/microorganismos/microfun_citologia.htm>. Acesso em 01 de abril de 2003.
- Osumi, M. 1998. The ultrastructure of yeast: Cell wall structure and formation. **Micron**, **29** (2/3): 207-233.
- Peter, M. G. 2001. Chitin and Chitosan in Fungi. *In*: Steinbüchel, A. (ed.). **Biopolymers**. Wiley-Vch, Bonn, Germany, p.44-52.
- Paumard, P.; Vaillier, J.; Couly, B.; Schaeffer, J.; Soubannier, V.; di Rago, J-P.; Velours, J. 2002. The ATP synthetase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. **The EMBO Journal**, **21** (3): 221-230.
- Riquelme, M.; Reynaga-Penã, C. G.; Gierz, G.; Bartnicki-García, S. 1998. What determines growth direction in fungal hyphae? **Fungal Genetics and Biology**, **24**: 101-109.
- Riquelme, M.; Roberson, R. W.; McDaniel, D. P.; Bartnicki-García, S. 2002. The effects of ropy-1 mutation on cytoplasmic organization and intracellular motility in mature hyphae of *Neurospora crassa*. **Fungal Genetics and Biology**, **37**: 171-179.
- Rees, B.; Shepherd, V. A.; Ashford, A. E. 1994. Presence of a motile tubular vacuole system in different phyla of fungi. **Mycological Research**, **98** (9): 985-992.
- Santos, A. R.; Carvalho, H. F. 2001. 4. Biomembranas. *In*: Carvalho, H. F. E. & Recco-Pimentel, S. M. (orgs). **A Célula 2001**. Ed. Manole, Barueri, Brasil, p.39-56.
- Sakaki, H.; Nakanishi, T.; Satonaka, K-Y.; Miki, W.; Fujita, T.; Komemushi, S. 2000. Properties of a high-torularhodin mutant of *Rhodotorula glutinis* cultivated under oxidative stress. **Journal Bioscience Bioengineering**, **89** (2): 203-205.
- Sievers, N.; Bertsch, E.; Fischer, R. 1999. Isolation of nuclear migration mutants of *Aspergillus nidulans* using GFP expressing strains. **Mycological Research**, **103** (8): 961-966.
- Smânia, E. F. A.; Smânia Jr, A.; Loguercio-Leite, C.; Gil, M. L. 1997. Optimal parameters for cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus*. **Journal Chemistry Technology & Biotechnology**, **70**: 57-59.
- Steinberg, G.; Fuchs, U. 2004. The role of microtubules in cellular organization and endocytosis in the plant pathogen *Ustilago maydis*. **Journal of Microscopy**, **214** (2): 114-123.
- Suelmann, R.; Fischer, R. 2000a. Mitochondrial movement and morphology depend on an intact actin cytoskeleton in *Aspergillus nidulans*. **Cell Motility and the Cytoskeleton**, **45**: 42-50.
- Suelmann, R.; Fischer, R. 2000b. Nuclear migration in fungi – different motors at work. **Research Microbiology**, **151**: 247-254.
- Tanaka, A.; Ueda, M. 1993. Assimilation of alkanes by yeasts: functions and biogenesis of peroxisomes. **Mycological Research**, **97** (9): 1025-1044.
- Taga, M.; Dai, T.; Minoru, M. 2003. Dynamic changes of rDNA condensation state during mitosis in filamentous fungi revealed by fluorescence *in situ* hybridisation. **Mycological Research**, **107** (9): 1012-1020.
- Thevissen, K.; Kathelijne, K. A.; Ferket, I.; François, E. J. A.; Cammue, B. P. A. 2003. Interactions of antifungal plant defensins with fungal membrane components. **Peptides**, **24** (11): 1705-1712.
- Van Wetter, M-A.; Wösten, H. A. B.; Sietsma, J. H.; Wessels, J. G. H. 2000. Hydrophobin gene expression affects hyphal wall composition in *Schizophyllum commune*. **Fungal Genetics and Biology** **31**: 99-104.
- Walther, A.; Wendland, J. 2003. Septation and cytokinesis in fungi. **Fungal Genetics and Biology**, **40**: 187-196.
- Wendland, J. 2001. Comparison of morphogenetic networks of filamentous fungi and yeast. **Fungal Genetics and Biology**, **34**: 63-82.
- Wessels, J. G. H. 1993. Tansley Review N° 45 – Wall growth, protein excretion and morphogenesis in fungi. **New Phytologist**, **123**: 397-413.
- Westermann, B.; Prokisch, H. 2002. Mitochondrial dynamics in filamentous fungi. **Fungal Genetics and Biology**, **36**: 91-97.
- Whitney, K. W., Arnott, H. D. 1988. The effect of calcium on mycelial growth and calcium oxalate crystal formation in *Gilbertella persicaria* (Mucorales). **Mycologia**, **80**: 707-715.
- Yamaguchi, M.; Biswas, S. K.; Suzuki, Y.; Furukawa, H.; Takeo, K. 2003. Three-dimensional reconstruction of a pathogenic yeast *Exophiala dermatitidis* cell by freeze-substitution and serial sectioning electron microscopy. **FEMS Microbiology Letters**, **219**: 17-21.
- Zickler, D. 1981. **Ultrastructure of yeast nucleus**. *In*: Gull, K. & Oliver, S. G. (eds). **The fungal nucleus**. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p.63-84.