

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
FITOSSANIDADE E BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**DISSERTAÇÃO**

**CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS ASSOCIADOS À  
VEGETAÇÃO DE MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DO RIO  
DE JANEIRO E ALGUNS FUNGOS ENDOFÍTICOS “DARK  
SEPTATE” PROVENIENTES DE RORAIMA, RR.**

**Peter Soares Medeiros**

**2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E  
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS ASSOCIADOS À VEGETAÇÃO DE  
MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E ALGUNS  
FUNGOS ENDOFÍTICOS “DARK SEPTATE” PROVENIENTES DE  
RORAIMA, RR.**

**PETER SOARES MEDEIROS**

*Sob a orientação do Professor*  
**Dr. Carlos Antonio Inácio**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração Fitossanidade.

Seropédica, RJ  
Setembro, 2015

579.5  
M488c  
T

Medeiros, Peter Soares, 1975-  
Caracterização de fungos associados à  
vegetação de Mata Atlântica do Estado do Rio  
de Janeiro e alguns fungos endofíticos "dark  
septate" provenientes de Roraima, RR / Peter  
Soares Medeiros. - 2015.  
161 f.: il.

Orientador: Carlos Antonio Inácio.  
Dissertação (mestrado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de  
Pós-Graduação em Fitossanidade e  
Biotecnologia Aplicada, 2015.  
Bibliografia: f. 130-143.

1. Fungos - Teses. 2. Fungos - Mata  
Atlântica - Teses. 3. Fungos endofíticos -  
Roraima - Teses. 4. Relação planta-fungo -  
Teses. I. Inácio, Carlos Antonio, 1966- II.  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e  
Biotecnologia Aplicada. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E  
BIOTECNOLOGIA APLICADA

PETER SOARES MEDEIROS

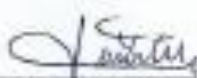
Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada. Área de concentração em **Fitossanidade**.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/09/2015



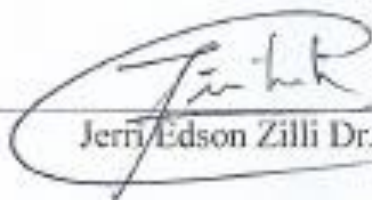
---

Carlos Antonio Inácio, Dr. UFRRJ  
(Orientador)



---

João Pedro Pimentel Dr. UFRRJ



---

Jerri Edson Zilli Dr. EMBRAPA Agrobiologia



---

Anibal Alves de Carvalho Dr. UFRJ - JB



## DEDICATÓRIA

*À minha família e amigos,  
Dedico*

## AGRADECIMENTO

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e o Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada por tornar possível a realização de mais uma etapa profissional importante em minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro à pesquisa, através da concessão de bolsa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Antonio Inácio, pela grandiosa colaboração, atenção, sugestões e ensinamentos transmitidos.

Ao pesquisador Dr. Jerri Édson Zilli, pela inestimável colaboração e conselhos realizados.

Aos professores do programa pelos ensinamentos transmitidos.

A todos os funcionários do Programa de Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Ivanete, Adriana, Vera, Silvana, Hemilson, Carol, Seu João entre outros, pelo carinho e atenção, sobretudo ao secretário Roberto Tadeu pela dedicação e disponibilidade.

Aos colegas Karine Moura de Freitas, Samuel R. Passos e João da EMBRAPA Agrobiologia – Seropédica/RJ, pela ajuda, ensinamentos e dedicação dispensados a mim durante a realização deste trabalho.

À Aline do Laboratório de Multiusuários de biologia Molecular da EMBRAPA Agrobiologia – Seropédica/RJ, pela ajuda no sequenciamento das amostras de DNA.

Ao Ms. Thiago Azevedo Amorim do Departamento de Botânica/UFRRJ, pelo grande auxílio na identificação das amostras de material vegetal coletado.

À minha mãe Helena S. Medeiros, pelo apoio, dedicação e carinho.

Aos meus familiares e amigos que de uma maneira e de outra colaboraram com a realização deste trabalho.

## RESUMO

MEDEIROS, Peter Soares. **Caracterização de fungos associados à vegetação de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro e alguns fungos endofíticos “dark septate” provenientes de Roraima, RR.** 2015. 148 p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Entomologia e Fitopatologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

Neste trabalho, foram estudadas 19 espécies de fungos associadas à plantas provenientes, principalmente da Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro. Dentre os fungos anamórficos hifomicéticos foram encontradas uma provável espécie nova de *Cercospora* em *Tectaria* (*Tectariaceae*); uma provável espécie nova de *Pseudocercospora* em *Solanum asperum* (*Solanaceae*); uma provável espécie nova de *Arthrinium* em *Pennisetum purpureum* (*Poaceae*). Dentre os celomicetos foram encontrados: uma provável espécie nova de *Neopestalotiopsis* em *Inga laurina* (*Fabaceae*); uma provável espécie nova de *Colletotrichum* em *Solanum swartzianum* (*Solanaceae*). No grupo dos ascomicetos, foram encontradas uma provável espécie nova de *Apiospora* em *Pennisetum purpureum* (*Poaceae*); uma provável espécie nova de *Asterinella* em *Eugenia florida* (*Myrtaceae*); uma nova variedade de *Meliola*, *M. manaosellae* var. nov. em *Handroanthus ochraceous* (*Bignoniaceae*); uma provável espécie nova de *Meliola* em *Olyra* sp. (*Poaceae*); *Meliola sorindeiae* em *Astronium graveolens* (*Anacardiaceae*); uma provável espécie nova de *Myriagium* em *Ctenanthe sephora* (*Marantaceae*); uma provável espécie nova de *Perisporiopsis* em *Erythroxylon pulchrum* (*Erythroxylaceae*); uma provável espécie nova de *Scolecobonaria* em *Chlomolaena maximilliani* (*Asteraceae*); um provável gênero novo em *Justicia wasshauseniana* (*Acanthaceae*). Também foram caracterizadas cinco espécies de fungos endofíticos “dark-septate” isolados de “arroz selvagem” (*Oryza glomaepatula*) proveniente do Estado de Roraima e depositados na coleção da Embrapa Agrobiologia, Seropédica – R.J. das quais, uma provável espécie nova de dark-septate (AM 101) de raízes de (*Poaceae*); uma provável espécie nova de *Cladosporium* (AM 102) um provável gênero novo (AM 103) em *Lentitheciaceae* (*Ascomycota*); provável gênero novo (AM 104) em *Lentitheciaceae* (*Ascomycota*); provável gênero novo (AM 105) em *Lentitheciaceae* (*Ascomycota*).

**Palavras-chave:** fungos endofíticos, fungos dark-septate, anamórficos, hifomicetos, celomicetos, ascomicetos

## ABSTRACT

MEDEIROS, Peter Soares. **Fungal characterization associated with the vegetation of the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro and some endophytic fungi “dark septate” from Roraima, RR.** RJ. 2015. 148p. Dissertation (Master in Applied Biotechnology and Plant health). Institute of Biological Sciences and Health, Department of Entomology and Plant Health, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. Brazil

In this work were studied 19 fungal species associated to plants mainly from Atlantic forest of State of Rio de Janeiro. Among anamorphic hyphomycetes were found a probable new species of *Cercospora* on *Tectaria* (*Tectariaceae*); a probable new species of *Pseudocercospora* on *Solanum asperum* (*Solanaceae*); a probable new species of *Arthrinium* on *Pennisetum purpureum* (*Poaceae*). Among the Coelomycetes, were found: a probable new species of *Neopestalotiopsis* on *Inga laurina* (*Fabaceae*); a probable new species of *Colletotrichum* on *Solanum swartzianum* (*Solanaceae*). In the group of Ascomycetes, it was found a probable new species of *Apiospora* on *Pennisetum purpureum* (*Poaceae*); a probable new species of *Asterinella* on *Eugenia florida* (*Myrtaceae*); a probable new variety of *Meliola*, *M. manaosellae* var. nov. on *Handroanthus ochraceus* (*Bignoniaceae*); a probable new species of *Meliola* on *Olyra* sp. (*Poaceae*); *Meliola sorindeiae* on *Astronium graveolens* (*Anacardiaceae*); a probable new species of *Myriagium* on *Ctenanthe sephora* (*Marantaceae*); a probable new species of *Perisporiopsis* on *Erythroxylon pulchrum* (*Erythroxylaceae*); a probable new species of *Scolecobonaria* on *Chlomolaena maximilliani* (*Asteraceae*); a probable new genus on *Justicia wasshauseniana* (*Acanthaceae*). It was also characterized 5 species of endopiphytic “dark-septate” fungi isolated from “wild rice” (*Oryza glomaepatula*) from the State of Roraima, deposited in the collection of Embrapa Agrobiologia, Seropédica – R.J. from these: a probable new species of dark-septate (AM 101) fungus from roots; a probable new species of *Cladosporium* (AM 102); a probable new genus (AM 103) in *Lentitheciaceae* (*Ascomycota*); a probable new genus (AM 104) in *Lentitheciaceae* (*Ascomycota*); a probable new genus (AM 105) in *Lentitheciaceae* (*Ascomycota*).

**Keys-word:** endophytic fungi, dark-septate fungi, anamorphs, hyphomycetes, coelomycetes, ascomycetous

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Sequência dos <i>primers</i> utilizados nas ampliações das regiões ITS, 18S, $\beta$ -tubulina e Fator alfa-1 de translação e alongação, otimização da condição da PCR e volume final da reação de 25 $\mu$ L para cada amostra.....	18
<b>Tabela 2</b> – Lista de fungos trabalhados neste estudo.....	19
<b>Tabela 3</b> - Comparação de algumas espécies de <i>Arthrinium</i> encontradas em diferentes <i>Poaceae</i> de diferentes locais com a encontrada na Mata Atlântica.....	23
<b>Tabela 4</b> - Comparação entre espécies de <i>Cercosporas</i> encontradas em samambaias a partir de diferentes países.....	26
<b>Tabela 5</b> - Comparação entre as espécies de <i>Pseudocercospora solani asperi</i> provenientes do Brasil e Trinidad e o espécime encontrado em <i>Solanum asperum</i> .....	30
<b>Tabela 6</b> - Comparação entre espécies de <i>Colletotrichum</i> e o espécime encontrado em folhas de <i>Solanum swartzisnum</i> .....	36
<b>Tabela 7</b> - Espécies de <i>Neopestalotiopsis</i> validadas pelo <i>Index fungorum</i> e o espécime encontrado na Mata Atlântica.....	40
<b>Tabela 8</b> - Comparação entre espécies de <i>Neopestalotiopsis</i> e o espécime encontrado baseado nos resultados das análises filogenéticas.....	44
<b>Tabela 9</b> - Comparação entre membros de <i>Ascomycota</i> que apresentam ascósporos alantóides e o espécime estudado.....	53
<b>Tabela 10</b> - Espécies de <i>Apiospora</i> comparadas com espécie encontrada na Mata Atlântica..	61
<b>Tabela 11</b> - Espécies de <i>Apiospora</i> em <i>Poaceae</i> no mundo.....	62
<b>Tabela 12</b> - Comparação entre as espécies de <i>Asterinella</i> encontradas em <i>Myrtaceae</i> em diferentes países.....	68
<b>Tabela 13</b> - Comparação entre espécies de <i>Meliola</i> encontradas em <i>Bignoniaceae</i> oriundas do Brasil e diferentes países.....	72
<b>Tabela 14</b> - Comparação entre espécies de <i>Meliola</i> em diferentes hospedeiras da família <i>Poaceae</i> o espécime encontrado em <i>Olyra</i> sp.....	76
<b>Tabela 15</b> - Comparação entre espécies de <i>Meliola</i> relatadas em <i>Anacardiaceae</i> e o espécime em estudo encontrado no Brasil.....	79
<b>Tabela 16</b> - Comparação entre espécies de <i>Myriangium</i> em diferentes famílias a partir de diferentes países e o espécime estudado.....	82
<b>Tabela 17</b> - Comparação entre espécies de <i>Perisporiopsis</i> em diferentes hospedeiros oriundos do Brasil.....	85
<b>Tabela 18</b> - Comparação entre espécies de <i>Scolecobonaria</i> válidas atualmente e o espécime encontrado em <i>Asteraceae</i> .....	89
<b>Tabela 19</b> - Característica do isolado AM 101 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.....	93
<b>Tabela 20</b> - Característica do isolado AM 102 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.....	101
<b>Tabela 21</b> - Comparação entre espécies de <i>Cladosporium</i> e o isolado AM 102 baseado no resultado filogenético.....	106
<b>Tabela 22</b> - Característica do isolado AM 103 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.....	109
<b>Tabela 23</b> - Característica do isolado AM 104 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.....	115
<b>Tabela 24</b> - Característica do isolado AM 105 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.....	121

## LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1** - Localização Geográfica do município de Paracambi evidenciando o Parque Natural Municipal Curió.....12
- Fig. 2** - Mapa evidenciando a Trilha dos Bugios em verde e a Trilha dos Escravos em laranja no Parque Natural Municipal Curió de Paracambi.....13
- Fig. 3** - A-H. *Arthrinium* (provável espécie nova no 1) em hastes de *Peninisetum purpureum*. A. Corpos de frutificação. B. Detalhe das colônias com conídios. Detalhe da colônia vista em (MEV). D. Conidioma acervular em corte transversal vertical. E. Células da parede. F. Conidióforos dando origem a conídios. G. Conídios lenticulares em vista lateral. H. Conídio.....24
- Fig. 4** - A-F. *Cercospora* (provável espécie nova no. 2) em folhas de *Tectaria* sp. A. Folha de *Tectaria* sp. com sintomas de manchas foliares. B. Colônias anfígenas esparsas. C. Detalhe dos conidióforos visto em microscopia eletrônica (MEV). D. Corte transversal vertical mostrando os conidióforos originando-se a partir do estroma. E. Conidióforo originando conídio. F. Conídios.....28
- Fig. 5** - A-H. *Pseudocercospora* (provável espécie nova n° 3) em folhas de *Solanum asperum*. A-B. Folhas de *Solanum asperum* com sintomas de mancha foliar. C-D. Corpos de frutificação anfígenos. E. Detalhe do estroma visto microscopia eletrônica (MEV). F-G. Estroma em corte transversal vertical com conidióforos. H. Conídio.....31
- Fig. 6** - A-I. *Colletotrichum* (provável espécie nova n°4) em folhas de *Solanum swartzisnum*. A. Folhas de *S. swartzisnum* com sintômas de manchas foliares. B. Colônias na parte adaxial das folhas. C. Detalhe do conidioma acervular visto em (MEV). D. Conidioma em corte transversal vertical. E. Seta. F. Células da parede. G. Grupo de células conidiogênicas com presença de setas. H. Detalhe da célula conidiogênica mostrando a conidiogênese enteroblástica. I. Conídios.....37
- Fig. 7** - A-F. *Neopestalotiopsis* (provável espécie nova n°5) em folhas de *Inga laurina*. A. Lesões em folha de *I. laurina*. B. Colônias anfígenas. C. Conidioma acervular em corte transversal vertical. D. Células conidiogênicas em corte transversal vertical. E. Células conidiogênicas em maceração dando origem a conídios. F. Conídios.....45
- Fig. 8** - A-G. Conídios versicorados. H-I. Colônia de *Neopestalotiopsis* sp. em BDA. H. Vista de cima. I. Vista de baixo.....46
- Fig. 9** - Árvore filogenética baseada na região ITS do rDNA do isolado *Pestalotiopsis* através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 0,5 substituição a cada 100 nucleotídeos.....47
- Fig. 10** - Árvore filogenética baseada na região ITS,  $\beta$ -tubulina e *TEF* do rDNA do isolado *Pestalotiopsis* através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 2 substituição a cada 100 nucleotídeos.....48
- Fig. 11** - A-K. (Provável gênero novo no. 1 e provável espécie nova no. 6) associado a folhas de *Justicia wasshaseniana*. A. Florescência de *J. wasshaseniana*. B. Colônias na parte adaxial da folha. C. Detalhe do corpo de frutificação sobre a nervura da folha. D. Ascoma. E. Ascoma visto em (MEV) .....56
- Fig. 12** - A-F. (Provável gênero novo no.1 e provável espécie nova no. 6) associado a folhas de *J. wasshauseniana*. A. Folhas de *J. wasshauseniana* no PNMCP. B. Florescência de *J. wasshauseniana*. C-D. Corpo de frutificação sobre nervura da folha. E. Frutificação em corte vertical. F. Frutificação em corte horizontal.....57

- Fig. 13** - Árvore filogenética do espécime em estudo baseada na região ITS do rDNA através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 2 substituição a cada 100 nucleotídeos.....58
- Fig. 14** - A-H. *Apiospora* (provável sp. nov. no. 7) em hastes de *Pennisetum purpureum*. A. Sintoma geral com corpos de frutificação na superfície da haste. B. Ascoma em maior detalhe. C. Ascoma em corte transversal vertical. D. Corte transversal do ascoma em maior detalhe. E. Células da parede. F. Paráfises. G. Ascos. H. Ascósporo.....65
- Fig. 15** - A-I. *Asterinella* (provável sp. nov. no. 8) em folhas de *Eugenia florida*. A. Colônias na parte adaxial da folha. B. Corpos de frutificação. C. Tiriotécio. D. Hifas. E. Ascoma em corte transversal vertical. F. Paráfises. G. Asco bitunicado. H. Ascósporos imaturos. I. Ascósporos.....69
- Fig. 16** - A-J. *Meliola* (provável variedade nova no.1) em folhas de *Handroanthus ochraceus*. A. Colônias epifilas. B. Detalhe do peritécio. C. Ascoma em corte transversal vertical. D. Células da parede. E. Micélio. F. Apressório capitado. G. Apressório mucronado. H. Seta. I. Asco imaturo. J. Ascósporo.....74
- Fig. 17** - A-J. *Meliola* (provável espécie nova no. 9) em folhas de *Olyra* sp. A. Colônias anfígenas. B-C. Peritécio em maior detalhe. D. Ascoma em corte transversal vertical. E. Células da parede. F. Micélio. G. Apressório capitado e apressório mucronado. H. Seta. I. Asco imaturo. J. Ascósporo.....77
- Fig. 18** - A-M. *Meliola sorindeiae* em folhas de *Astronium glaucolens*. A. Colônias epifilas. B-C. Detalhe do peritécio. D. Peritécio e seta bifurcada vista em (MEV). E. Ascoma em corte transversal vertical. F. Células da parede. G. Micélio. H. Apressório mucronado. I. Apressório capitado. J. Seta bifurcada. K. Seta bifurcada vista em (MEV). L. Asco imaturo. M. Ascósporo.....80
- Fig. 19** - A-I. *Myriangium* (provável espécie nova no. 10) em folhas de *Ctenanthe sefora*. A. Folha com estromas. B. Corpo de frutificação estromático em detalhe. C. Ascoma estromático em corte transversal vertical. D. Células da parede. E. Ascoma em maior detalhe mostrando ascos em lóculos individuais. F. Ascos bitunicados. G. Asco. H. Mecanismo jack-in-the box. I. Ascósporo.....83
- Fig. 20** - A-I. *Perisporiopsis* (provável espécie nova no. 11) em folha de *Erytroxylum pulchrum*. A-B. Colônias dispostas na parte abaxial da folha. C. Corpos de frutificação em maior detalhe. D. Ascoma em corte transversal vertical. E. Células da parede. F. Paráfises. G. Asco bitunicado. H. Ascósporos imaturos. I. Ascósporo.....86
- Fig. 21** - A-G. *Scolecobonaria* (provável espécie nova no. 12) em folhas de *Chromolaena maximilliani*. A. Folhas com frutificações. B-C. Ascomas. D. Células da parede. E. Ascos. F. Asco em detalhe. I. Ascósporos.....90
- Fig. 22** - Colônias do isolado AM 101 (provável espécie nova no. 13) A-B. em BDA após 12 dias a 30 °C. C-D. em AM após 12 dias a 30 °C. E. em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C. F. em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C. G. em EAM após 12 dias a 28 °C. H. em EFM após 12 dias a 28 °C. I. em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron.....94
- Fig. 23** - A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em meio BDA.....95
- Fig. 24** - A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em meio AM.....95
- Fig. 25** - A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).....96
- Fig. 26** - A-F: Lâminas do Isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EA (bloco).....96
- Fig. 27** - A-I: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EAM.....97
- Fig. 28** - A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EFM.....97
- Fig. 29** - A-C: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EFM (fitotron)..98
- Fig. 30** - Colônias do isolado AM 102 (provável espécie nova no. 14) A-B. em BDA após 12 dias a 30 °C. C-D. em AM após 12 dias a 30 °C. E. em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C. F.

em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C. G. em EAM após 12 dias a 28 °C. H. em EFM após 12 dias a 28 °C. I. em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron.....	102
<b>Fig. 31</b> - A-L. <i>Cladosporium</i> sp. A-E. Conidióforo macronematoso. F-G. Ramoconídio. H-I. Conidióforo micronematoso. J. Ramoconídio secundário. K. Conídio intercalar. L. Conídios.....	103
<b>Fig. 32</b> - Árvore filogenética baseada na região ITS do rDNA do isolado AM 102 através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 0,5 substituição a cada 100 nucleotídeos.....	104
<b>Fig. 33</b> - Árvore filogenética concatenada baseada na região ITS e alfa1-TEF do rDNA do isolado AM 102 através do método “Neighbor-joining” com cálculo da distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de “bootstrap” com mil repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 1 substituição a cada 100 nucleotídeos.....	105
<b>Fig. 34</b> - Visão geral dos diferentes tipos de conídios cladosporiídeos. Conidióforo com ramoconídio ainda preso ao conidióforo a direita e a esquerda já destacado, ramoconídio secundário, conídio intercalar e conídio terminal pequeno. Barra = 10 um.....	107
<b>Fig. 35</b> - Colônias do isolado AM 103 (provável gênero novo no. 2). A-B. em BDA após 12 dias a 30 °C. C-D. em AM após 12 dias a 30 °C. E. em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C. F. em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C. G. em EAM após 12 dias a 28 °C. H. em EFM após 12 dias a 28 °C. I. em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron.....	110
<b>Fig. 36</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em meio BDA.....	111
<b>Fig. 37</b> - A-B: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em meio AM.....	111
<b>Fig. 38</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).....	111
<b>Fig. 39</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EA (bloco).....	112
<b>Fig. 40</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EAM.....	112
<b>Fig. 41</b> - A-F: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EFM.....	112
<b>Fig. 42</b> - A-F: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EFM (fitotron).....	113
<b>Fig. 43</b> - Colônias do isolado AM 104 (provável gênero novo no. 3). A-B. em BDA após 12 dias a 30 °C. C-D. em AM após 12 dias a 30 °C. E. em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C. F. em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C. G. em EAM após 12 dias a 28 °C. H. em EFM após 12 dias a 28 °C. I. em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron.....	116
<b>Fig. 44</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em meio BDA.....	117
<b>Fig. 45</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em meio AM.....	117
<b>Fig. 46</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).....	117
<b>Fig. 47</b> - A-D: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EA (bloco).....	117
<b>Fig. 48</b> - A-H: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EAM.....	118
<b>Fig. 49</b> - A-F: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EFM.....	118
<b>Fig. 50</b> - A-F: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EFM (fitot.).....	119
<b>Fig. 51</b> - Colônias do isolado AM 105 (provável gênero novo no. 4). A-B. em BDA após 12 dias a 30 °C. C-D. em AM após 12 dias a 30 °C. E. em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C. F. em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C. G. em EAM após 12 dias a 28 °C. H. em EFM após 12 dias a 28 °C. I. em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron.....	122
<b>Fig. 52</b> - A-D: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em meio BDA.....	123
<b>Fig. 53</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em meio AM.....	123
<b>Fig. 54</b> - A-F: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).....	124
<b>Fig. 55</b> - A-D: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EA (bloco).....	124
<b>Fig. 56</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EAM.....	124
<b>Fig. 57</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EFM.....	125
<b>Fig. 58</b> - A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EFM (fitot.).....	125



**Fig. 59** - Árvore filogenética baseada na região 18S dos isolados AM 103, 104 e 105 através do método “Neighbor-joining” com cálculo da distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de “bootstrap” com mil repetições usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 0,5 substituições a cada 100 nucleotídeos.....127

**Fig. 60** - Árvore filogenética baseada na região ITS do rDNA dos isolados AM 103, 104 e 105 através do método “Neighbor-joining” com cálculo da distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de “bootstrap” com mil repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 2 substituições a cada 100 nucleotídeos.....128

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 Divisão <i>Ascomycota</i> .....	3
2.2 Fungos Anamórficos.....	4
2.3 Hifomicetes.....	4
2.4 Celomicetes.....	6
2.5 Agonomycetes.....	6
2.6 Fungos Endofíticos Dark Septate (FEDS).....	7
<b>3.OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
3.1 Objetivo geral.....	10
3.1.1 Objetivos específicos.....	10
<b>4.MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
4.1. Área de Estudo.....	11
4.2. Amostragem fúngica do PNM Curió .....	13
4.3. Laboratório de Fitopatologia e microscopia eletrônica .....	13
4.4. Amostras de material vegetativo provenientes de outros locais.....	14
4.5. Fungos da coleção COFMEA <i>dark septate</i> .....	15
4.5.1. Tratamentos .....	15
4.6. Extração do DNA genômico.....	15
4.6.1. Gênero <i>Neopestalotiopsis</i> (isolado da planta hospedeira <i>Inga laurina</i> ).....	15
4.6.2. Extração do DNA genômico do provável gênero novo.....	16
4.6.3. Extração do DNA genômico dos FEDS .....	16
4.7. Caracterização molecular .....	16
4.8. Análise filogenética .....	16
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
<b>6. CAPÍTULO I – HIFOMICETOS ASSOCIADOS A VEGETAÇÃO ARBÓREA NO PARQUE NATURAL MUNICIPAL CURIÓ DE PARACAMBI, RJ. E NA FLORESTA NACIONAL .....</b>	<b>20</b>
6.1 <i>Arthrinium</i> provável espécie nova no. 1.....	21
6.2 <i>Cercospora</i> provável espécie nova no. 2.....	25
6.3 <i>Pseudocercospora</i> provável espécie nova no. 3.....	29
<b>7. CAPÍTULO II - CELOMICETOS ASSOCIADOS A VEGETAÇÃO ARBÓREA NO PARQUE NATURAL MUNICIPAL CURIÓ DE PARACAMBI, RJ. E UMA ESPÉCIE DO VIVEIRO FLORESTAL LOCALIZADO NA UFRRJ .....</b>	<b>32</b>
7.1 <i>Coletotrichum</i> provável espécie nova no. 4.....	35
7.2 <i>Neopestalotiopsis</i> provável espécie nova no. 5 .....	38

<b>8. CAPÍTULO III - ASCOMICETOS ASSOCIADOS A VEGETAÇÃO ARBÓREA NO PARQUE NATURAL MUNICIPAL CURIÓ DE PARACAMBI, RJ.....</b>	<b>49</b>
8.1 Provável gênero novo no. 1 (e possível espécie nova no. 6).....	51
8.2 <i>Apiospora</i> sp. provável espécie nova no. 7 .....	59
8.3 <i>Asterinella</i> provável espécie nova no. 8.....	66
8.4 <i>Meliola manaosellae</i> provável variedade nova no. 1.....	70
8.5 <i>Meliola</i> provável espécie nova no. 9 .....	75
8.6 <i>Meliola sorindeiae</i> .....	78
8.7 <i>Myriangium</i> provável espécie nova no. 10 .....	81
8.8 <i>Perisporiopsis</i> provável espécie nova no. 11.....	84
8.9 <i>Scolecobonaria</i> provável espécie nova no. 12 .....	87
<b>9. CAPITULO IV -CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DARK SEPTATE .....</b>	<b>91</b>
9.1 Isolado AM 101 provável espécie nova no. 13.....	91
9.2 Isolado <i>Cladosporium</i> sp. provável espécie nova no. 14 .....	98
9.3 Isolado AM 103, provável gênero novo. no. 2 .....	108
9.4 Isolado Am 104, provável gênero novo. no. 3.....	113
9.5 Isolado AM 105, provável gênero novo. no. 4 .....	119
9.6. Avaliação dos resultados da análise filogenética e fenotípica dos isolados AM 103, AM 104 e AM 105. ....	125
<b>10. CONCLUSÃO.....</b>	<b>129</b>
<b>11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>130</b>
<b>12. GLOSSÁRIO.....</b>	<b>144</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A Mata Atlântica brasileira representa um dos biomas terrestres mais biodiversos do planeta, compreendendo um conjunto de formações florestais, além de campos naturais, restingas, manguezais e outros tipos de vegetação considerados ecossistemas associados e, ao mesmo tempo, um dos mais ameaçados pela ação antrópica (Ministério do meio Ambiente, 2015).

Mesmo reduzida a aproximadamente à 22% de sua cobertura original, e distribuída em milhares de fragmentos, os remanescentes de vegetação nativa ainda guardam altos índices de biodiversidade de fauna e flora e prestam inestimáveis serviços ambientais de proteção de mananciais hídricos, de contenção de encostas e de regulação do clima (Ministério do Meio Ambiente, 2015). Na busca de meios para conservação desse bioma, vários estudos sobre a diversidade de espécies de plantas e animais foram realizados (AMORIM 2012) porém, ainda há pouca informação acerca dos micro-organismos que compõem esse ambiente.

Conhecer a micobiota de uma região é de fundamental importância, uma vez, que são um componente importante da biodiversidade global, controlando taxas e processos chave no ecossistema (PEAY *et al.*, 2008). Os fungos são considerados os mais abundantes no solo em termos de biomassa e atividade fisiológica, produzem uma vasta gama de enzimas extracelulares capazes de quebrar polímeros de complexos orgânicos em formas mais simples disponibilizando para outros organismos, atuam na decomposição da matéria orgânica, armazenamento de carbono e nitrogênio, ciclos biogeoquímicos, estabilização do solo e parasitismo em plantas (PEAY *et al.*, 2008; BILLS *et al.*, 2004).

Os fungos pela sua estreita relação com as plantas, podem ser um dos determinantes primários da estrutura das comunidades vegetais e são amplamente influenciados por esta comunidade, são os mais comuns e importantes patógenos de plantas causando perdas em culturas e modificando a estrutura e a composição natural dessas comunidades (PEAY *et al.*, 2008; MUMMEY *et al.*, 2010).

Hawksworth (1991) em pesquisa realizada nas Ilhas britânicas, estimou a existência de 1.500.000 espécies fúngicas com base na proporção fungo:planta vascular. Segundo Hawksworth & Rossman (1997), cerca de 70.000 espécies estão descritas, implicando que 1.430.000 permanecem não descritas. Em dados mais recentes Kirk *et al.*, (2008) relatam a existência de aproximadamente 100.000 espécies de fungos descritos. Se as estimativas de Hawksworth estiverem certas, menos de 5% dos fungos foram descritos (MUELLER & SCHMIT 2007).

Baseado na proporção entre o número de fungos detectados por sequenciamento em grande escala de solo a partir de dois lotes de diferentes partes de uma floresta e o número de espécies de plantas em cada local, O'Brien *et al.*, (2005), sugerem uma estimativa global de 3.5 a 5.1 milhões de fungos. Entretanto, Hawksworth (2012), ressalta a importância de se manter prudente, até que haja uma maior certeza da validade das extrapolações utilizadas por vários autores em alcançar suas estimativas, e como não se tem evidências confiáveis quanto ao número em milhões, seria mais prudente usar a frase: pelo menos 1.5 milhões a 3 milhões de fungos existentes.

O Filo *Ascomycota* (comumente chamado Ascomycetes) é considerado, de longe, o maior grupo de fungos taxonômico dentro do *Eumycota*, onde estima-se a existência de mais de 32.000 espécies descritas. Na décima edição do *Dictionary of the Fungi* (Kirk *et al.*, 2008) são aceitas 64163 espécies. Cabe mencionar a importância dos trabalhos iniciados por Augusto Chaves Batista em 1954 no Recife, os quais contribuíram significativamente para o conhecimento de fungos do Brasil. Os membros de *Ascomycota* produzem em sua fase reprodutiva assexuada, esporos endógenos, denominados ascósporos, delimitados por

estruturas especializadas denominadas ascos, que, em geral, ficam protegidos dentro de ascomas, também produzem esporos de reprodução assexuada, denominados de conídios, formados geralmente à partir de células conidiogênicas contidas em conidióforos formados a partir da diferenciação de hifas vegetativas.

Muitos dos micro-organismos que se associam aos vegetais são endófitos e auxiliam no seu desenvolvimento (JUMPPONEN & TRAPPE 1998), fungos endofíticos dark septate (FEDS) tem sido tratado como benéficos a algumas culturas, como em tomate e arroz, embora em condições iniciais de desenvolvimento vegetativo ou desenvolvimento generativo, demonstram alta taxa de colonização e possivelmente favorecem resistência a doenças conduzindo a um melhor desempenho ecológico. (LINARES *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.* 2011).

Os fungos presentes em fragmentos de Mata Atlântica são pobremente estudados, e existe uma grande falta de conhecimento da micobiota associada a famílias inteiras de plantas (PINHO *et al.*, 2012). Esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de ampliar o conhecimento da biodiversidade fúngica associada a diferentes famílias botânicas representadas no Parque Natural Municipal Curió de Paracambi (PNMCP), realizar o levantamento de fungos associados a plantas arbóreas, arbustivas do (PNMCP), assim como, caracterizar morfológicamente FEDS depositados na coleção da Embrapa Agrobiologia isolados a partir de raízes de arroz silvestre da espécie *Oryza glomaepatula*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Divisão *Ascomycota*

O Filo *Ascomycota* (comumente chamado Ascomycetes ou ascomicetos) é considerado, o maior grupo taxonômico de fungos dentro do Eumycota, estima-se incluir mais de 32.000 espécies descritas em 3400 gêneros (KIRK *et al.*, 2001). Na décima edição do *Dictionary of the Fungi* (KIRK *et al.*, 2008) são aceitas 15 classes, 68 ordens em 327 famílias com 6355 gêneros em 64163 espécies.

O nome *Ascomycota* é derivado das palavras gregas askos (um saco, bexiga) e mykes (um fungo), os esporos de origem sexual chamados de “ascósporos”, estão contidos dentro de um saco, denominado “asco” e são originados após os processos de plasmogamia (união dos protoplastos), cariogamia (fusão de núcleos, formando um zigoto diplóide) e meiose (que reduz o número de cromossomos a condição haplóide) entre organismos compatíveis (WEBSTER & WEBER 2007).

Em sua maioria o asco contém oito ascósporos que são liberados por vários mecanismos, sendo um deles por pressão ou por outros como: deliquescência da parede na porção apical, mecanismo “jack-in-the box”, opérculo, entre outros (Ver Eriksson, 1981), mas dependendo do gênero pode ocorrer uma variação no número de ascósporos produzidos (LUZ & INÁCIO, 2009).

Os ascos são formados no interior ou sobre estruturas denominadas ascomas ou ascocarpos também chamados corpos frutíferos, os quais são formados pela diferenciação das hifas do sistema vegetativo e apresentam uma conformação e nomes variados (SCHOCH *et al.*, 2009). Quando os ascos são produzidos dentro de frutificações globosas, fechadas (astomatosas) são denominados cleistotécio, quando em forma de frasco ou pêra, a mais comum, o ascoma é denominado peritécio, mas podem ser ovais ou esféricos, ovoides a globulares, quando em ascomas em forma de taça ou disco são denominados apotécio, e se apresentam de forma aberta com uma camada paliçada de ascos chamada de (himênio) expostos ao ar na maturidade sem nenhuma estrutura envolta, quando num lóculo isolado envolto por tecido estromático é chamado pseudotécio, mas diferentemente do peritécio, não é envolto por uma parede distinta, quando o ascoma se apresenta na forma de barco ou “canôa” é denominado histerotécio, quando o ascoma se apresenta de forma achatada é denominado tiritotécio, quando formado por hifas frouxas gimnotécio, quando uma hifa se assemelha a um estipe que suporta os ascos e os ascósporos ascóforo e por último os ascomas loculares ou ascostroma onde ao invés de possuir um peritécio no interior do estroma, desenvolvem uma ou mais cavidades, isto é, lóculos (SILVEIRA 1995; BUCKLEY, 2008; LUZ & INÁCIO, 2009).

Os fungos são cosmopolitas, ocorrendo em uma gama de habitats em ecossistemas aeróbicos, embora alguns estão envolvidos em processos fermentativos, os nichos mais comuns que abrigam numerosos táxons são o ar, a água e o solo (HASAN & GUPTA, 2012). Eles colonizam uma vasta gama de substratos e realizam diversas funções (SCHOCH *et al.*, 2009).

Alguns apresentam estilo de vida saprofítico, vivendo sobre detritos vegetais e substâncias orgânicas em decomposição, secretam enzimas digestivas que degradam o substrato orgânico e se nutrem absorvendo os nutrientes, alguns são necrotróficos, matam as células do tecido da planta hospedeira e se alimentam a partir do tecido morto, outros são parasitas de plantas, animais ou seres humanos, (BUCKLEY 2008, PIEPENBRING *et al.*, 2011), muitos crescem como endófitos em associações simbióticas sem gerar sintomas e promovendo troca de benefícios mútuos com a planta hospedeira como por exemplo, os líquens que compõem cerca de 40% das espécies descritas de *Ascomycetes*, os fungos micorrízicos arbusculares e os fungos

endofíticos Dark Septate (WEBSTER & WEBER 2007; USUKI & NARISAWA 2007; PEREIRA *et al.*, 2011).

Fungos do filo *Ascomycota* são de grande importância uma vez em que são responsáveis por uma grande série de malefícios que causam as plantas, seres humanos e aos animais, por outro lado, são essenciais aos processos de degradação e reciclagem da matéria orgânica nos ecossistemas, muitos são utilizados de forma benéfica na produção de alimentos, na medicina e no controle de pragas como micopesticidas (LUZ & INÁCIO, 2009).

## 2.2 Fungos Anamórficos

Muitos fungos apresentam apenas a fase assexuada e são, por isso, classificados como anamórficos. Por muito tempo foram colocados dentro de uma classe chamada Deuteromycetes, sendo também referidos como fungos imperfeitos. Fungos anamórficos incluem um conjunto diversificado de fungos que ocupam todos os ecossistemas concebíveis dentro da Biosfera. Existem espécies aquáticas e terrestres; alguns são saprofíticos, e alguns são patogênicos para os seres humanos, animais, plantas, micro-organismos e até mesmo para outros fungos. Seus muitos tipos de esporos e corpos somáticos levaram à dispersão e invasão de ambientes resultando na evolução deste grupo de fungos altamente diversificado (BARNETT & HUNTER, 1998).

Kirk *et al.*, (2008) na oitava edição do *Dictionary of the Fungi*, optaram por uma nomenclatura informal para esses fungos, colocando-os no grupo dos Fungos Mitospóricos, para diferenciá-los dos fungos meiospóricos, ou seja, membros do Reino *Fungi* com esporos de origem sexual. Em geral os fungos mitospóricos possuem micélio septado e a reprodução assexual constitui na mais importante fase do seu ciclo vital.

Fungos mitospóricos são disseminados por propágulos onde não ocorre a meiose. A maioria desses propágulos são referidos como conídios, mas muitos derivam de um micélio vegetativo não especializado (KIRK *et al.*, 2008). Os conídios (Gr. Konidion, diminutivo de Konis = poeira) (SUTTON, 1986), se desenvolvem a partir de uma **célula conidiogênica** e frequentemente a partir de **conidióforos**, estes variam de extremamente curtos a longos ou em complexas ramificações, também podem ser produzidos de forma livre sem qualquer organização evidente a partir de uma hifa somática comum ou eles também podem ser organizados em corpos de frutificações definidos (ELLIS, 1971).

Os fungos anamórficos são representados por três classes informais importantes, denominados Hifomicetos, Celomicetos e Agonomictos (KIRK *et al.*, 2008).

## 2.3 Hifomicetes

Os Hifomicetos são caracterizados por originarem seus conídios de forma livre, ou seja, a hifa vegetativa em desenvolvimento, se diferencia em uma estrutura de reprodução especializada chamada **conidióforo**, estes suportam células conidiogênicas que produzem os conídios (SEIFERT *et al.*, 2011). O conidióforo é uma hifa fértil, podendo ser simples ou ramificada e as vezes é referida como estruturas reduzidas a células conidiogênicas (KIRK *et al.*, 2008).

Quando os conidióforos se apresentam unidos pela base em direção a extremidade formando um feixe paralelo (fascículos) é denominado de sinêmio (Gr. Prefixo *syn* = juntos) (BARNETT & HUNTER, 1995). Entretanto, em muitos ascomycetes os conidióforos desenvolvem sobre ou dentro de um **estroma** (Gr. *stroma* = cama, colchão), uma agregação de células pseudoparenquimatosas. Quando um número de conidióforos arranjados como uma massa de hifas curtas surgem a partir da superfície desse estroma a estrutura é denominada

**esporodóquio** (Gr. *Spora* = semente, *doche* = recipiente). Os conidióforos podem ser constituídos de uma única hifa isolada ou um conjunto de hifas, uma coluna alongada, ereta denominada **corêmio** ou **sinêmio** (CARMICHAEL *et al.*, 1980). Esse grupo de conidióforos pode se apresentar de forma determinada, isto é, com uma zona conidiogênica terminal não alongada com cessação do crescimento após a esporulação ter iniciado ou de forma indeterminada, com uma zona fértil alongada, as vezes cobrindo todo o conidioma, e com crescimento contínuo após esporulação (SEIFERT *et al.*, 2011).

Não existe um sistema perfeito de classificação para os *Fungos Anamórficos*. Uma obra clássica e indispensável à micologia são os trabalhos publicados por Píer Andrea Saccardo e seus discípulos entre 1882 e 1931 geralmente designado e citado como “*Siolloge fungorum*”. Em seu sistema de classificação, Saccardo (1886) havia definido a morfologia do conidióforo em micronemático quando muito similar a hifa vegetativa, quando morfológicamente distinto da hifa vegetativa denominado como macronemático, sendo mononemático o conidióforo livre ou em tufo (KIRK *et al.*, 2008). Contudo, a casos onde o conidióforo difere apenas levemente da hifa vegetativa, sendo considerado semi-macronemático (ELLIS 1971). Carmichael *et al.*, (1980) no livro *Genera of Hyphomycetes* apresenta ilustrações primorosas deste grupo de fungos.

Existem dois tipos principais de desenvolvimento conidial: Blástica e Tálica. O modo blástico é marcado pelo alargamento inicial do conídio antes da delimitação do septo, sendo subdividido em: Holoblástica, onde ambas as paredes (interna e externa) da célula conidiogênica participam na formação do conídio e Enteroblástica, quando apenas a parede interna da célula conidiogênica participa na formação do conídio. Este último tipo pode ainda ser dividido em: (a) Trética - quando há produção de conídios geralmente solitários, as vezes em cadeias acrópetas (ver glossário), mas por protusão da parede interna são formados um ou mais canais (poros) após a liberação, (b) Fialídica – quando conídios são produzidos frequentemente em grande número em sucessão basípeta através de uma ou várias aberturas na parede celular, nenhuma parede contribui na formação do conídio (ELLIS 1971; MINTER *et al.*, 1982; 1983).

O termo monoblástica e poliblástica referem-se à célula conidiogênica com um ou vários pontos ou locais de produção de conídio (KIRK *et al.*, 2008). As designações monotrética e politrética referem-se, respectivamente à liberação do conídio em apenas um ponto, sendo visualizado um poro na célula conidiogênica, ou em vários pontos, sendo formado vários poros. Na monofialídica é formada apenas uma fiálide por célula conidiogênica e na polifialídica várias fiálides (KIRK *et al.*, 2008).

A disposição das células conidiogênicas no conidióforo é uma importante característica. Assim, as células são classificadas como: Integradas, quando estão incorporadas no eixo principal do conidióforo ou ramificações, sendo intercalares ou terminais e evidentes, quando tem forma distinta (ampuliforme, lageniforme etc...) do conidióforo (ELLIS 1971). O termo esquizolítico é utilizado para caracterizar quando o conídio se separa do conidióforo pela ruptura das duas camadas de parede do septo onde as partes ficam tanto no conídio quanto no conidióforo. Se aplica o termo rexolítico para a separação do conídio onde restos da parede do conidióforo permanece a ele fixada (KIRK *et al.*, 2008; SEIFERT *et al.*, 2011).

Pela variedade de formas, septação e textura (liso, verrucoso, reticulado) os conídios tem importância primordial na taxonomia (CARMICHAEL *et al.*, 1980). Podem se apresentar unicelulares ou catenulados, quando formados em cadeias simples ou ramificadas ou ainda agrupados, em mucilagem ou secos (ELLIS 1971). Entre os critérios morfológicos utilizados por Saccardo (1886) um importante foi a septação dos esporos: Amerospóro (asseptados); Didymospóro (um septo); Fragmospóro (com dois ou mais septos); Dictyospóro (com septos transversais e longitudinais); Scolecospóro (em forma de agulha, filiforme); Staurósporo (em forma de estrela); Helicospóro (helicoides).



Quanto as formas podem ser clavados, falcados, filiformes, fusiformes, ovais entre outros. Às vezes, fazendo parte dos conídios encontram-se estruturas como apêndices, apículos, sétulas e outras que auxiliam na identificação (ELLIS 1971; CARMICHAEL *et al.*, 1980).

## 2.4 Celomicetes

Os Celomicetes diferentemente dos Hifomicetes, originam seus conídios dentro de frutificações fechadas denominadas **conidiomas**. Um tipo de conidioma é o **acérvulo** (Lat. *Acervulus* = um monte ou montinho), o qual pode se desenvolver dentro do tecido da planta hospedeira, subepidermal ou em sua superfície. (SEIFERT *et al.*, 2011) O acérvulo subepidermal desenvolve-se a partir de um estroma pseudoparenquimatoso, e quando se torna maduro rompe a epiderme sobrejacente do hospedeiro para expor conídios formados a partir das células conidiogênicas localizadas na base do conidioma. Os conídios são mantidos juntos e são dispersos principalmente pelos respingos da chuva.

Segundo Sutton (1980) conidiomas acervulares e esporodóquias muitas vezes são de difícil diferenciação em meio de cultura. Um bom exemplo de fungo acervular é o *Colletotrichum* (WEBSTER & WEBER, 2007), algumas espécies de *Colletotrichum* podem apresentar estruturas longas, duras, pontiagudas de coloração escura que se parecem com cerdas, usualmente chamada **setas** (ALEXOPOULOS, 1962). Como patógeno de planta, espécies de *Colletotrichum* são descritos como causadores de antracnose gerando lesões necróticas em folhas, caules, flores e frutos em culturas como manga, banana, morango, berinjela, feijão, milho (CANNON *et al.*, 2012).

Em muitos ascomicetes o conídio se origina dentro de conidiomas que apresentam formato semelhante a frasco ou bexiga denominados **picnidios** (Gr. Diminutivo de *pyknos* = compacto, embalado, concentrado). O picnidio pode ser superficial ou imerso na planta hospedeira e apresentam um **ostíolo**, abertura por onde são liberados os conídios originados a partir de células conidiogênicas que revestem a parede interior do conidioma (WEBSTER & WEBER, 2007).

O conidioma pode se apresentar na forma de um escudo (escutatos) forrados internamente por um himênio invertido denominado **picnotírio** ou ainda, os conídios são simplesmente produzidos sobre ou dentro de uma massa de tecido fúngico de forma, cor e textura variadas, uni ou multiloculares denominada **estroma**.

## 2.5 Agonomycetes

Este grupo de fungo é conhecido como “*micelia sterilia*” formas miceliais estéreis, são geneticamente incapazes de produzir conídios ou qualquer tipo de célula reprodutiva, ou seja, não são conhecidos estados anamórficos ou teleomórficos, no entanto se reproduzem por fragmento do micélio e formam estruturas de resistência denominadas **clamidósporos**, **microesclerócios** ou **esclerócios** (BARNET & HANTER, 1998).

O micélio vegetativo imerso no substrato ou na superfície é composto por hifas septadas, filamentos cilíndricos com paredes que delimitam um protoplasma multinucleado que continuamente estabelece novo material no ápice de crescimento, ramificações podem ocorrer logo atrás do ápice ou mais para trás e os septos possuem um poro simples no meio.

Os protoplasmas tendem a migrar para determinada região da hifa, seja entre os septos ou para sua extremidade onde vai enchendo, ocorre acúmulo de melanina de coloração escura e uma parede rígida originando uma estrutura de resistência denominada clamidósporo, as hifas as vezes começam a agregar-se formando uma compacta massa de hifas, os esclerócios (ELLIS, 1971). Os agonomycetes incluem gêneros importantes fitopatologicamente como *Sclerotium*

*rolfsii* e *Rhizoctonia solani* que são normalmente encontrados no solo causando tombamento e podridão de raízes das plantas hospedeiras (SERRA & SILVA 2005; DIAS *et al.*, 2013). Outro grupo de fungos com total ausência de esporulação sendo considerado “*micelia sterilia*” são espécies do gênero *Acephala*, os quais são isolados de raízes de plantas e suas principais características morfológicas é a presença de hifas escuras e microesclerócios no córtex das raízes, atualmente, tais fungos são denominados de fungos endofíticos dark septate e tem sido isolado de raízes de culturas como arroz e tomate (RIBEIRO *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011).

## 2.6 Fungos Endofíticos Dark Septate (FEDS)

A maioria das espécies de plantas se encontra associada a determinados fungos de solo numa simbiose mutualística tipo micorrízica (BERBARA *et al.*, 2006). Nesse sentido, os fungos micorrízicos arbusculares tem sido o grupo de maior interesse agrônômico (PASCAL, DUÓ & GRÜNIG 2010; RIBEIRO *et al.*, 2011; ANGELINI *et al.*, 2012; KNAPP *et al.*, 2015). Entretanto, nos últimos anos têm crescido o interesse por parte dos pesquisadores e estudiosos em relação à funcionalidade, comportamento e ecologia de um gênero de fungo denominado “Fungos Endofíticos Dark Septate” (FEDS) (SIEBER 2002).

O uso mais comum do termo "endófito" é para organismos cujas infecções são internas e discretas, e na qual os tecidos do hospedeiro infectados são pelo menos transitoriamente, assintomático. Endófitos incluem um conjunto de micro-organismos com estratégias de vida diferente: Aqueles que, após uma fase de crescimento endofítico, crescem saprofiticamente em tecido morto ou em senescência. Estas interações parasitárias podem variar de mutualístico a comensalista a latente patogênico e explorador (SCHULZ & BOYLE 2006).

Os fungos “dark Septate” são assim denominados em função de suas hifas serem septadas e apresentarem coloração escura em seu interior devido à presença de melanina. Sua presença em raízes de plantas forma um tipo de associação simbiótica, considerada por vários estudos como mutualística e cujos benefícios ainda são poucos conhecidos (JUPPONEN & TRAPPE 1998).

Os FEDS podem co-colonizar raízes juntamente com fungos micorrízicos arbusculares, embora possam ser influenciados por condições abióticas como umidade e comprimento do dia (LINGFEI *et al.*, 2005; USIKI & NARISAWA 2007). Entretanto, diferentemente dos fungos micorrízicos arbusculares os FEDS não são biotróficos obrigatórios, ou seja, não precisam estar colonizando um hospedeiro para completar seu ciclo de vida, o que facilita seu cultivo e multiplicação em meio de cultura, fato que confere facilidade e rapidez ao isolamento e estruturas de coleções fúngicas, assim como o desenvolvimento de inoculantes que visem à promoção do crescimento vegetal (PEREIRA *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2011).

De acordo com Pereira *et al.* (2011), em experimentos com arroz silvestre em solo de mata e cerrado, evidenciaram que solos com maior teor de matéria orgânica e nutrientes (mata) e plantas em estágio reprodutivo, apresentam maior porcentagem de colonização. Segundo Yuan *et al.* (2010), raízes colonizadas por FEDS podem apresentar diferentes respostas em seu desenvolvimento principalmente em sua morfologia e no desenvolvimento de mudas.

Segundo Japponen & Trappe (1998); Sieber (2002), os FEDS foram inicialmente descritos como *Mycelium radialis atrovirens* (MRA), a partir do isolamento de um fungo pseudomicorrízico apresentando um micélio não esporulado, marrom à marrom escuro e septado associado a raízes de *Picea abies* e *Pinus sylvestris* (MELIN 1922;1923), os quais cresceram a partir de partes velhas de micorrizas em raízes submetidas a crescimento secundário. Conforme Sieber (2002), os fungos relacionados foram caracterizados por hifas

intracelulares na epiderme e células corticais, mas nem rede de Hartig nem um manto foi formado. Segundo O'dell *et al.* (1993) fungos *dark septate*, ocasionalmente desenvolvem um manto com finas camadas de espessura.

Os pesquisadores Wang & Wilcox (1985), deram um importante avanço na classificação dos MRA ao isolarem fungos com hifas estéreis e marrons a partir de coníferas, representando três novas espécies de Hyphomycetes nomeadas como *Chloridium paucisporum*, *Phyalophora finlandia* e *Phialocephala fortinii*, tais pesquisadores conseguiram induzir a esporulação após um prolongado período de cultura à reduzida temperatura (5°C) em meio de cultura Melin-Norkrans modificado (MMN).

Avaliando os níveis de infecção micorrízicas em comunidades de plantas em ecossistemas alpinos, Read & Haselwandter (1981), introduziram o termo hifas “Dark Septate” (DS), reconhecendo o tipo de infecção pela presença de micro-esclerócios nas células corticais, diferentemente dos fungos micorrízicos arbusculares que foram reconhecidos pela presença de vesículas e arbúsculos.

A presença de FEDS no solo, madeiras velhas e raízes de espécies hospedeiras que pertencem a diferentes famílias de plantas sugere não só a presença ubíqua e falta de especificidade do hospedeiro, mas também um papel de importância em ecossistemas naturais (JUPPONEN & TRAPPE 1998). Sua abundância em diferentes habitats e em diferentes hospedeiros ainda é em grande parte desconhecido. *Phialocephala fortinii* Wang & Wincox, é um dos FEDS mais estudados e domina a microbiota endofítica em raízes de coníferas e membros da família *Ericaceae*, florestas e ecossistemas alpinos (WANG & WINCOX 1985). Um FEDS não esporulante que difere de *P. fortinii* por taxas de crescimento mais lento e escassez de micélio aéreo foi descrito como uma nova espécie: *Acephala applanata* Grünig & Sieber (GRÜNIG & SIEBER 2005). *A. applanata* é ecológica e filogeneticamente intimamente relacionada com *P. fortinii* e este grupo de fungos também é designado como Complexo de espécies *P. fortinii* - *A. applanata* (PAC) para facilidade de entendimento (GRÜNIG & SIEBER 2005).

Esse grupo está atribuído em sete espécies de *Phialocephala*: *P. fortinii* C.J.K. Wang & H.E. Wilcox, *P. europaea* C.R Grünig e T.N Sieber, *P. helvética* C.R Grünig e T.N Sieber, *P. letzii* C.R Grünig e T.N Sieber, *P. subalpina* C.R. Grünig e T.N. Sieber, *P. turiciensis* C.R Grünig e T.N Sieber, e *P. uotolensis* C.R. Grünig e T.N. Sieber (GRÜNIG *et al.*, 2008). Tem-se observado sua ocorrência no leste e oeste da América do Norte, Europa e Japão, sugerindo uma distribuição global (JUPPONEN & TRAPPE 1998).

Estudos morfológicos de raízes colonizadas têm revelado, no entanto, que FEDS ocasionalmente desenvolve uma parcial rede de Hartig e uma manta fina apenas algumas camadas celulares de espessura (O' DELL *et al.*, 1993). A caracterização dos FEDS tem sido baseada em suas características fenotípicas comuns como a presença de hifas septadas, melanizadas e microesclerócios localizadas no córtex das raízes das plantas (RIBEIRO *et al.*, 2011).

Alguns micologistas baseiam-se principalmente em métodos moleculares com sequenciamento de DNA de fungos desconhecidos comparados com sequências de nucleotídeos similares depositadas em Banco de genes (PIRTTILÄ & FRANK, 2011). Alguns FEDS esporulam rapidamente em meio de cultura como em espécies de *Cadophora* e *Phialophora* (SIEBER & GRÜNIG, 2006), porém, uma total ausência de esporulação é comum em vários FEDS quando submetidos a um prolongado período de incubação à baixa temperatura, o que dificulta a identificação quando baseada na morfologia (GRÜNIG *et al.*, 2011).

Os FEDS formam um grupo de fungos endofíticos distribuídos em numerosas ordens do filo *Ascomycota*, como *Capnodiales*, *Chaetothyriales*, *Eutiriales*, *Helotiales*, *Hypocreales*, *Microascales*, *Pleosporales*, *Sordariales*, *Xilariales* (JUMPONEM & TRAPPE 1998;

RODRIGUEZ *et al.*, 2008; KNAPP *et al.*, 2012, 2015). Com o aprimoramento e facilidade das técnicas moleculares, estas têm sido bastante utilizadas em estudos filogenéticos, os quais têm revelado numerosos novos gêneros e espécies (MAHARACHCHIKUMBURA *et al.*, 2012b).

Estudos recentes revelam a ordem *Pleosporales* como uma significativa ordem dentro da classe *Dothideomycetes* (ZHANG *et al.*, 2009), em regiões semiáridas é considerada a ordem mais representativa dos FEDS (PORRAS-ALFARO *et al.*, 2008). Em estudos mais recentes, com base em análise multilocos e dados morfológicos, três novos gêneros representantes dos FEDS provenientes de região semiárida foram introduzidos na ordem *Pleosporales* denominados: *Aquilomyces* pertencendo a família *Morosphaeriaceae*, *Flavomyces* representando uma linhagem incertae sedis de *Massarinaceae* e *Darksidea* com seis novas espécies aliadas a família *Lentitheciaceae* (KNAPP *et al.*, 2015).

A análise molecular baseada na amplificação e sequenciamento de regiões alvo específicas no DNA é uma ferramenta útil para diferenciar grupos estreitamente relacionados e espécies morfológicamente semelhantes. Entretanto, dados fornecidos a partir de marcadores moleculares como ITS muitas vezes não é suficiente para discriminar espécies, ou seja, a resolução é geralmente muito pobre, resultando em árvores filogenéticas com estruturas politômicas (BENSCH *et al.*, 2012). Muitas pesquisas buscando solucionar a taxonomia de várias taxas têm mostrado que a partir de uma abordagem multiloco com regiões alvo ITS,  $\beta$ -tubulina, TEF1, actina, calmodulina, entre outras, proporcionaram uma resolução muito melhor e uma distinção entre taxas estreitamente relacionados (SCHUBERT *et al.*, 2007; CROUS *et al.*, 2007; BENSCH *et al.*, 2012; MAHARACHCHIKUMBURA *et al.*, 2014b; LIU *et al.*, 2015). Fungos endofíticos representam um grande grupo de micro-organismos pouco investigados que representam uma fonte abundante de potenciais para exploração com ampla variedade de aplicações seja na área de alimentação, indústria, medicina ou agricultura (SELIM *et al.*, 2011).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Ampliar o conhecimento da biodiversidade fúngica associada a diferentes famílias botânicas representadas no Parque Natural Municipal Curió de Paracambi (PNMCP).

Realizar o levantamento de fungos associados a plantas arbóreas, arbustivas do (PNMCP) e alguns isolados depositados na coleção da EMBRAPA Agrobiologia.

#### **3.1.1. Objetivos específicos**

- Caracterização morfológica e identificação taxonômica da maioria dos membros presentes no PNMCP e representantes de FEDS provenientes do Estado de Roraima (RR).
- Caracterização molecular de alguns desses membros.
- Descrever e ilustrar potenciais novos táxons.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Área de Estudo

O Parque Natural Municipal Curió de Paracambi (PNMCP), localizado no município de Paracambi – RJ, entre as coordenadas geográficas 22°36'39" S, 43°42'33" W (Figura 1), passou a ser definido como uma Unidade de Proteção Integral (UPI) a partir de sua criação que ocorreu através do Decreto nº 1001, de 29 de Janeiro de 2002, sua criação derivou da necessidade de conservação do mais importante remanescente florestal do município com uma extensão de 1.100 ha, inserido no bioma Mata atlântica em área considerada prioritária para a conservação desse ecossistema. Regularizada pela Lei Municipal nº 921, de 30 de abril de 2009, atualmente dispõe de novo limite, possuindo 913,961 ha de áreas montanhosas (SECRETARIA MUNICIPAL DE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DE PARACAMBI E INSTITUTO TERRA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL 2010; URBANISMO, MEIO AMBIENTE, HABITAÇÃO 2006).

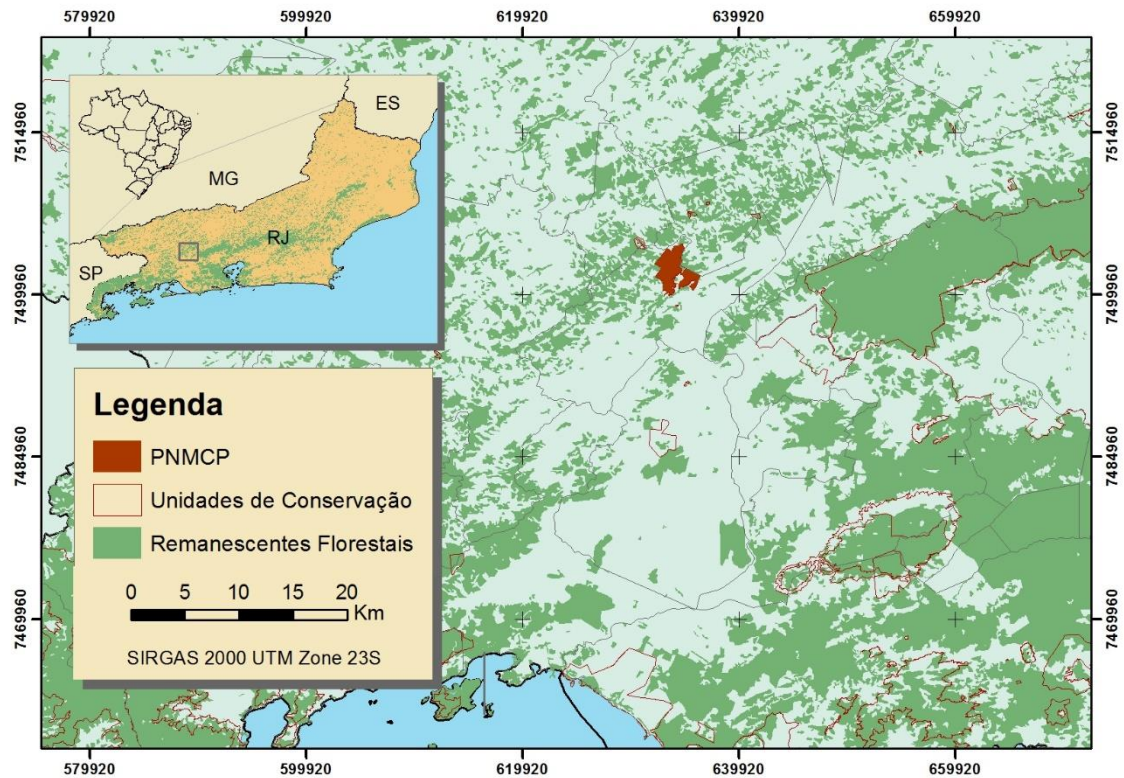
O PNMCP engloba um dos maiores fragmentos florestais em excelente estado de conservação da Baixada Fluminense, sendo essa área de mata considerada de grande importância no Corredor de Biodiversidade Tinguá-Bocaina, que busca aumentar a conexão entre os remanescentes florestais inseridos no Parque Nacional da Serra da Bocaina e na Reserva Biológica Tinguá (ASSOCIAÇÃO PRÓ-GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL 2013). Situado junto à divisa com os municípios de Engenheiro Paulo de Frontin e Mendes, o PNMCP está inteiramente situado na escarpa de falha da Serra do Mar, mas especificamente no domínio Suíte Serra das Araras, localmente denominado de Serra de Paracambi, possui uma amplitude de relevo de mais de 600m, estando a parte inferior junto à cota de 60m de altitude e seus limites superiores nos topos das montanhas chegando a mais de 680m de altitude (SEMADES/ITPA 2010). Entretanto, a maior parte da UPI está em altitudes entre 100 e 500m, inserido na formação geomorfológica Serras e Morros Altos, apresenta relevo forte e ondulado, nas áreas de baixada onde o relevo é menos movimentado, a formação geomorfológica é Planície Alúvio-Coluvionar devido à influência da bacia do Rio Guandu, e as altitudes variam entre 100 e 300m (PREFEITURA MUNICIPAL DE PARACAMBI 2002; SEMADES/ITPA 2010). A vegetação do parque possui alta diversidade biológica, típica da Mata Atlântica, sendo classificada como Floresta Ombrófila Densa secundária em diferentes estágios de regeneração (VELOSO *et al.*, 1991; IBGE 2012), cobrindo cerca de 70% da área do PNMCP (AMORIM 2012).

O clima da região está enquadrado como *Aw* segundo a classificação de Köppen-Geiger (PEEL *et al.*, 2007), classificado como tropical úmido com temperatura média anual entre 20°C e 27°C e elevados índices pluviométricos, cuja média anual varia de 1000 mm a 2300 mm, o período de precipitação máxima vai de novembro a março e o de mínima de junho a agosto, sendo o mês de julho o mais seco, com precipitação média abaixo de 50 mm, e janeiro o mais chuvoso, com média mensal de 300 mm (ASSOCIAÇÃO PRÓ-GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL, 2012/2013; SEMADES/ITPA, 2010).

Segundo os dados agroclimatológicos observados na Estação Experimental de Avelar, RJ. Localizada segundo as coordenadas (LAT.: 21° 22' S – LONG.: 43° 25' W) e ALT.: 507 metros, o intervalo de variação (média das médias mensais) de temperatura do ar para o Município de Paracambi entre os meses de Setembro a Dezembro de 2013 foram: 18,8°C (setembro) e 23,4°C (dezembro). Em relação à umidade relativa do ar a média ficou entre 73,4% (setembro) e 77,3% (dezembro). O valor total de pluviosidade entre os meses de setembro a dezembro de 2013 foi de 501,6 mm. O mês de menor precipitação pluviométrica foi o de

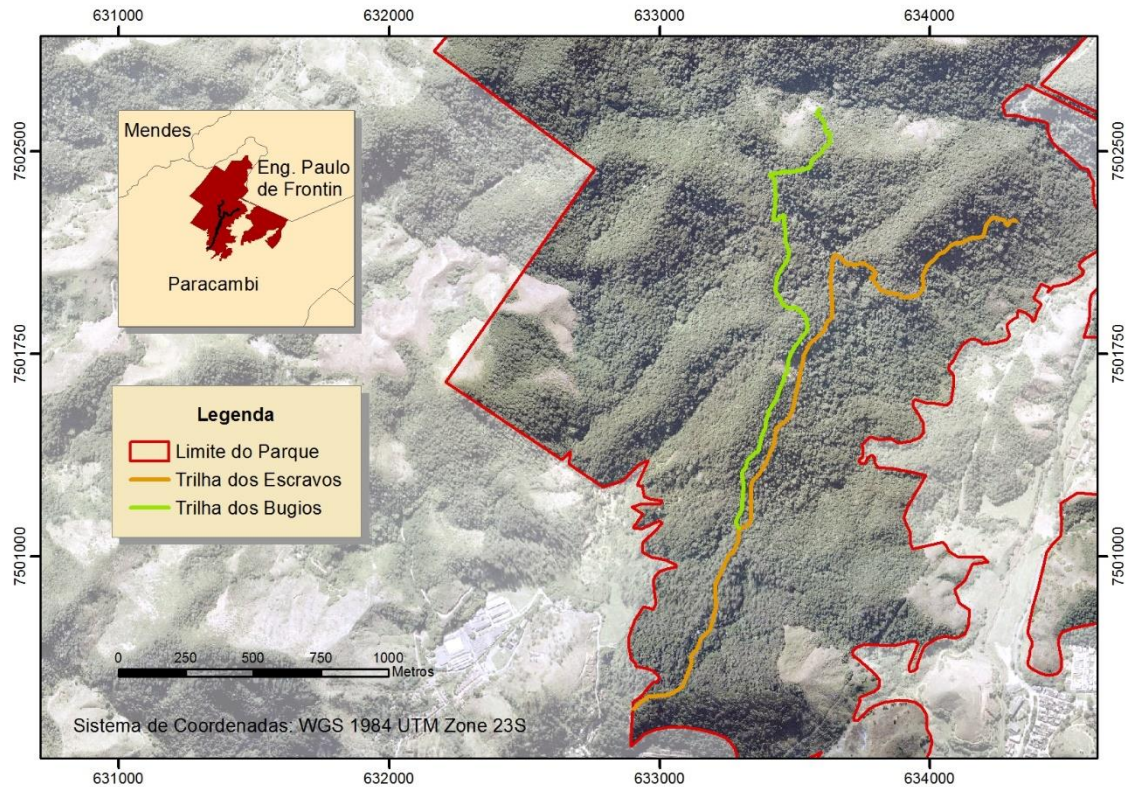
outubro com 90,7mm e o de maior precipitação foi o de novembro com 170,6 mm. O intervalo de variação da temperatura do ar entre os meses de Janeiro de 2014 a Dezembro de 2014 foram de 16,3°C (julho) e 24,3°C (janeiro). Em relação à umidade relativa do ar a média ficou entre 62,1% (outubro) e 80,2% (julho). O valor total de pluviosidade entre janeiro e dezembro de 2014 foi de 740,3 mm. O mês de menor precipitação pluviométrica foi o de agosto com 5,6 mm e o de maior precipitação foi o de abril com 139,1 mm.

O Parque é composto por seis trilhas conhecidas como: Caminho dos Escravos, Trilha dos Bugios, Trilha do Jequitibá, Trilha da Cachoeira, Trilha do Costa-campinho e Trilha do Grotão - Tariatá (SEMADES/ITPA 2010). As trilhas tiveram suas origens vinculadas às suas atividades históricas, relacionadas à extinta Companhia Têxtil Brasil Industrial, fundada no ano de 1871 e que funcionou até o ano de 1996. A água dos mananciais encontrados na área do Parque era canalizada em direção a fábrica para movimentar a central hidrelétrica, para acessar os mananciais foram abertas trilhas para a instalação das tubulações e assim permitir a drenagem promovida pela instalação das tubulações (AMORIM 2012). A Trilha dos Escravos e a Trilha dos Bugios continuam sendo as mais utilizadas atualmente e ambas são consideradas as maiores trilhas do Parque Curió, com aproximadamente 2000m, e 1630m, respectivamente (Figura 2) (PREFEITURA MUNICIPAL DE PARACAMBI 2012).



**Figura 1:** Localização Geográfica do município de Paracambi evidenciando o Parque Natural Municipal Curió.





**Figura 2:** Mapa evidenciando a Trilha dos Bugios em verde e a Trilha dos Escravos em laranja no Parque Natural Municipal Curió de Paracambi (AMORIM, 2012).

#### 4.2. Amostragem fúngica do PNM Curió

As amostras de material vegetativo arbóreo (folhas, ramos, galhos) foram coletadas ao longo de toda extensão da Trilha dos Escravos e Trilha dos Bugios. As amostras foram excisadas com auxílio de tesoura de poda e acomodadas em sacos plásticos comuns. Ao todo foram realizadas cinco coletas, entre os períodos de dezembro de 2013 e maio de 2014. O material foi conduzido ao laboratório do Departamento de Entomologia e Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). As amostras foram prensadas e secas em estufa à  $\pm 60^{\circ}\text{C}$  durante cinco dias e posteriormente preservadas em envelopes. Um total de 67 excisatas foram analisadas. As plantas hospedeiras foram identificadas pelo Ms. Thiago Azevedo Amorim, do Departamento de Botânica da UFRRJ.

#### 4.3. Laboratório de Fitopatologia e microscopia eletrônica

A identificação preliminar dos fungos foi realizada com a utilização de microscópio estereoscópico e microscópio de luz, observando-se sintomas como manchas e áreas escurecidas e, nelas, sinais do fungo como micélio superficial e frutificações diversas, bem como evidência de colonização do tecido por fungos e a presença de fungos hiperparasitas.

Para o manuseio do material e a retirada de amostras fúngicas, foram utilizados estiletes. Cortes histológicos foram realizados a mão-livre a fim de determinar a relação fungo-planta através da observação da presença de suas estruturas imersas no tecido hospedeiro e a morfologia da relação dessas com os fungos. Amostras fúngicas removidas por estiletes ou agulhas, como também os cortes, foram montadas em lâminas para microscopia utilizando o



corante azul de algodão / lactoglicerol, floxina / KOH glicerol e também água destilada para observar as estruturas do fungo em geral.

As lâminas foram examinadas em microscópio de luz Olympus BX41 e as análises morfométricas foram feitas utilizando ocular com régua micrométrica. A documentação microfotográfica foi realizada com câmera Cannon - Power Shot Elph 100 HS aproximando-a às oculares do microscópio de luz e estereoscópio. Estudos adicionais de caracterização foram efetuados com utilização de microscópio eletrônico de varredura PHILCO-HITACHI TM 1000, situado nas dependências do Instituto de Biologia (IB) da UFRRJ.

As medidas referentes a cada estrutura fúngica foram tomadas com 50 repetições e foram consideradas as dimensões extremas (maior valor e menor valor). As medidas dispostas entre parênteses referem-se aos valores extremos ocasionalmente encontrados.

As identificações dos fungos foram feitas ou confirmadas com base em chaves apropriadas contidas em literatura de cada grupo fúngico como: Ellis (1971, 1976), Carmichael *et al.* (1980), Chupp (1954), Seifert *et al.* (2011) para hifomicetos; Ainsworth *et al.* (1973) para hifomicetos e ascomicetos; Sutton (1980) para celomicetos; Dennis (1981), Sivanesan (1984), Von Arx & Müller (1973), Müller & Von Arx (1962), para ascomicetos.

A verificação de nomes científicos, nomes de autores, validade e sinônimas foram feitas em portais *on line* como: o *Index Fungorum* ([www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org)) do CABI Bioscience Database, elaborado por Paul Kirk e colaboradores, o *Cyberliber* (<http://www.cybertruffle.org.uk/cyberliber/>) mantido por David W. Minter, o portal do *United State Department of Agriculture* (<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/fungushost/fungushost.cfm>) sob a responsabilidade de Farr & Rossman, e o banco de dados da coleção micológica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (<http://pragawall.cernagen.embrapa.br/aigweb/michtml/fgbanco01.asp>).

Alguns táxons e ocorrências inéditas referente à tipo de hospedeira e local já foram publicados em forma de resumo em Congressos Nacionais e Internacionais.

#### **4.4. Amostras de material vegetativo provenientes de outros locais**

Durante o presente trabalho algumas amostras vegetais foram coletadas de locais distintos do PNMCP, sendo quatro da Floresta Nacional, Seropédica, RJ (FLONA): *Handroanthus ochraceus* (Bignoniaceae), *Solanum asperum* (Solanaceae), *Erythroxylum pulchrum* (Erythroxylaceae) e *Eugenia florida* (Myrtaceae), uma amostra *Inga laurina* (Fabaceae) proveniente do Viveiro guapuruvú - Empresa GWA. Empreendimentos Florestais. UFRRJ (Empresa incubada) e cinco fungos endofíticos dark septate provenientes da Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia (COFMEA), Seropédica, RJ.

## 4.5. Fungos da coleção COFMEA *Dark Septate*

### 4.5.1. Tratamentos

Para as análises morfológicas e moleculares dos DSE, foram usadas cinco extirpes denominadas AM 101, AM 102, AM 103, AM 104 e AM 105 depositadas na Coleção de Fungos Micorrízicos da Embrapa Agrobiologia (COFMEA) – Seropédica, RJ.

Para avaliar a esporulação e o crescimento micelial, foram feitos três tratamentos utilizando cinco meios de cultura: 1º) (BDA - batata-dextrose ágar e AM - ágar-malte) à temperatura de 30 °C e fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro. 2º) (EAM – Extrato de Arroz Moído - bloco e EA – Extrato de Aveia – bloco; EAM - extrato de arroz moído e EFM - extrato de farinha de mandioca) à temperatura de 28 °C e fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro com umidade a 45% em BOD, no décimo primeiro dia de incubação o regime de luz foi modificado para luz negra 24 h, e no décimo sétimo dia de incubação a temperatura foi reduzida para 15 °C. 3º) (extrato de mandioca) à temperatura de 29 °C (dia) e 24 °C (noite) com fotoperíodo de 12 h e umidade de 72% em Fitotron.

Durante o período de incubação (12 dias) as colônias foram mensuradas de quatro em quatro dias, com auxílio de paquímetro determinando-se o diâmetro, totalizando três medições, concomitantemente, foi realizado uma caracterização em relação a textura e coloração das colônias. Após a terceira medição, amostras fúngicas removidas por estilete foram montadas em lâminas para microscopia utilizando o corante azul de algodão, floxina e água destilada para observar as estruturas do fungo em geral. Referente ao 2º tratamento, passados 10 dias de incubação com redução de temperatura para 15 °C foram confeccionadas novas lâminas.

As análises morfométricas e a documentação microfotográfica foi realizada utilizando o microscópio AxioPlan – (Zeiss) com AzioCam MRC. As lâminas foram examinadas a partir das fotos tiradas utilizando o programa Axion Vision Release 4.6.

## 4.6. Extração do DNA genômico

### 4.6.1. Gênero *Neopestalotiopsis* (isolado da planta hospedeira *Inga laurina*)

Para a extração do DNA fúngico foi adaptado um método utilizando-se o kit para extração Wizard® Genomic DNA Purification, Promega. O micélio de cada isolado fúngico foi crescido em meio ágar batata dextrose (PDA) por aproximadamente 8 dias. Após esse período, 4 a 6 discos de micélio foram retirados da placa com auxílio de ponteira (1mL) esterilizada e colocados em microtubos com capacidade de 2,0 mL contendo 0,2 g de Pérolas de vidro 106 microns (Sigma), o qual foi preparado pipetando-se 1 mL de água Milli-Q esterilizada, agitação em (Vortex T Genie 2) por 1 minuto em rotação vigorosa, centrifugação por 1,5 minutos a 13000 rpm, com posterior descarte do sobrenadante e devidamente autoclavado.

Como adaptação ao protocolo de extração de DNA do fabricante, optou-se em adicionar aos discos de micélio 600 µL de solução de lise celular, e realizar a maceração do micélio com auxílio de pistilo esterilizados, seguindo-se de agitação vigorosa em Vortex por 2 minutos. Acrescentou-se, então, 600 µL de solução de lise nucleica, seguindo-se agitação por 10 minutos em Vortex, posteriormente, realizou-se três ciclos de aquecimento/resfriamento (95 °C/ Gelo) por 10 minutos. Posteriormente, acrescentou-se 400 µL da solução de precipitação proteica e após agitação em Vortex por 20 segundos seguiu-se, incubação no gelo por 5 minutos e centrifugação 13000 rpm por 3min. Após essa etapa, 600 µL do sobrenadante foram retirados e transferidos para novo microtubo contendo 600 µL de isopropanol. Seguiu-se por breve inversão dos microtubos e centrifugação a 13000 rpm por 2 minutos. O sobrenadante foi

descartado e 600 µL de etanol 70% foram adicionados para lavagem do pellet. O material foi novamente centrifugado por 3 minutos, após o descarte do sobrenadante, foi seco em *Speed vacuum* CENTRIVAP CONCENTRATOR (LabConco) por 10 minutos e ressuspendido em 100 µL da solução de reidratação de DNA com posterior incubação à 65 °C por 30 minutos em termomix. Após a extração, as amostras foram armazenadas em freezer a -20 °C.

### **3.5.2. Extração do DNA genômico do provável gênero novo**

A extração do DNA genômico do fungo considerado como provável gênero novo seguiu-se o mesmo padrão de procedimento realizado com o fungo representante do gênero *Neopestalotiopsis*, apresentando modificação apenas no que diz respeito ao número de ciclos (Termomix 95°C/Gelo) 10 minutos cada, que ao invés de três foram seis.

### **3.5.3. Extração do DNA genômico dos FEDS**

A extração do DNA genômico dos fungos DSE seguiu-se o mesmo padrão de procedimento realizado com o fungo representante do gênero *Neopestalotiopsis*, apresentando modificação apenas no que diz respeito ao número de ciclos (Termomix 95°C/Gelo) 10 minutos cada, que ao invés de três foram cinco, e também, os isolados AM 101, AM 102 e AM 103 foram agitados em rotação mediana e os isolados AM 104 e AM 105 agitados em rotação vigorosa.

## **4.7. Caracterização molecular**

Para a análise molecular do fungo *Neopestalotiopsis* e dos representantes do DSE foram realizadas reações de PCR utilizando os iniciadores ITS1 e ITS4 que amplificam as regiões espaçadoras internas 1 e 2 do rDNA além do 5.8S rDNA (ITS1-5.8-ITS2), os iniciadores NS3 e YM951r que amplifica a região 18S, os iniciadores BT2A e BT2B que amplificam a região parcial β-tubulina e os iniciadores EF1-526F e EF1-1567R que amplificam a região parcial fator alfa-1 de translação e elongação, já para o fungo considerado como provável gênero novo, foram utilizados apenas os iniciadores ITS1/ITS4 e NS3/YM951 (Tabela 2).

Os reagentes usados na preparação do Mix para reações da PCR com seus respectivos volumes finais, assim como as condições de amplificação estão descritas na (Tabela 1). O tamanho do fragmento amplificado e sua qualidade foram determinados por eletroforese com 5µl do produto em gel de agarose preparada a 1% utilizando-se 0,3 g de agarose em 30 mL de tampão TAE (Tris-Acetato-EDTA) 1x. Para migração dos fragmentos de DNA, a corrente elétrica foi usada em uma faixa de 90 V com duração de 60 minutos. A reação de sequenciamento dos fragmentos amplificados foi realizada a partir de 100 ng de DNA; 1,5 µL de tampão para sequenciamento 5x (Applied Biosystems Cat 4336697); 1 µL de Big Dye Terminator v3.1 (Applied Biosystems Cat 4336917) e 1 µL de iniciador direto e reverso na concentração de 5µM. A reação foi realizada partindo de 96 °C por 1 minuto, seguida por 35 ciclos, envolvendo uma desnaturação a 96 °C por 15 segundos, anelamento a 50 °C por 15 segundos e extensão de 60 °C por 4 minutos. O equipamento 3500 Applied Biosystems foi utilizado para obtenção das sequências.

## **4.8. Análise filogenética**

Foi realizado inicialmente uma busca de sequências através da ferramenta *Basic Alignment search Tool* – BLAST – visando comparação com as sequências depositadas no *National Center for Biotechnology Information* NCBI. Posteriormente realizou-se alinhamento múltiplo para análise filogenética das sequências através da ferramenta “muscle” com auxílio do programa MEGA 6.0 (TAMURA *et al.*, 2011). A construção da árvore foi realizada através do método “Neighbor-joining” com cálculo da distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter”

com análise de “bootstrap” com mil repetições utilizando também o programa MEGA 6.0 (TAMURA *et al.*, 2013).

**Tabela 1.** Sequência dos *primers* utilizados nas ampliações das regiões ITS, 18S,  $\beta$ -tubulina e Fator alfa-1 de translação e alongação, otimização da condição da PCR e volume final da reação de 25  $\mu$ L para cada amostra.

REGIÃO	PRIMER	SEQUÊNCIA	CONDIÇÕES DE PCR	Para 25 $\mu$ L de reação foram utilizados
ITS*	ITS1 F	(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG- 3')	97°C por 7 min, 35 ciclos, Desnaturação a 94°C por 1 min; Anelamento a 55°C por 1 min; Alongamento a 72°C por 1 min; Final 72 por 10 min.	Água 14,63 $\mu$ L; Buffer 1,00 X; MgCl <sub>2</sub> 2,50 mM; dNTP 0,25 mM; ITS1 0,20 $\mu$ M; ITS4 0,20 $\mu$ M; NS3 0,20 $\mu$ M; YM951r 0,20 $\mu$ M; Taq DNA polimerase 1,25 U
	ITS4 R	(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC- 3')		
	NS3 F	(5'-CGCCCGCCGCGCGCG- 3')		
18S**	YM951 R	(5'-TTGGCAAATGCTTTCGC- 3')		
Parcial $\beta$ - tubulina (TUB) ***	BT2A F	(5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT- 3')	96°C por 2 min, 35 ciclos, Desnaturação a 94°C por 45sec; Anelamento a 45°C por 45 sec; Alongamento a 72° C por 2 min. Final 72° por 10 min.	Água 14,63 $\mu$ L; Buffer 1,00 X; MgCl <sub>2</sub> 2,50 mM; dNTP 0,25 mM; BT2A 0.2 $\mu$ M; BT2B 0.2 $\mu$ M; EF1-526 0.2 $\mu$ M; EF1-1567 0.2 $\mu$ M; Taq DNA polimerase 1,25 U
	BT2B R	(5'-TCTGGATGTTGTTGGGAATCC- 3')		
Parcial Fator alfa-1 de translação e alongação (TEF) ****	EF1-526 F	(5'-GTCGTYGTYATYGGHCAYGT- 3')	96°C por 2 min, 35 ciclos, Desnaturação a 94°C por 45 sec; Anelamento a 49°C por 45 sec; Alongamento a 72°C por 2 min. Final 72°C por 10 min.	
	EF1-1567 R	(5'-ACHGTRCCRATACCACCRATCTT- 3')		

\* White *et al.* (1990); \*\* Wuyts *et al.* (2002); Haruta *et al.* (2006); \*\*\* O'Donnell & Cigelnik (1997); \*\*\*\* Rehner (2001)

## 5. RESULTADOS

**Tabela 2.** Lista de fungos trabalhados neste estudo.

FUNGO	HOSPEDEIRO	FAMÍLIA	DATA DA COLETA	AMOSTRA	LOCAL
<i>Apiospora</i> sp. nov.	<i>Peninisetum purpureum</i>	<i>Poaceae</i>	06/03/2014	A4 (3°)	PNMC
<i>Arthrinium</i> sp. nov.	<i>Peninisetum purpureum</i>	<i>Poaceae</i>	06/03/2014	A4 (3°)	PNMC
<i>Colletotrichum</i> sp. nov.	<i>Solanum swartzianum</i>	<i>Solanaceae</i>	19/03/2014	A14 (4°)	PNMC
<i>Cercospora</i> sp. nov.	<i>Tectaria</i> sp.	<i>Tectariaceae</i>	19/03/2014	A5 (4°)	PNMC
Provável gênero novo	<i>Justicia wasshauseniana</i>	<i>Acanthaceae</i>	02/05/2014	A (5°)	PNMC
<i>Scolecobonaria</i> sp. nov.	<i>Chromolaena maximilliani</i>	<i>Asteraceae</i>	07/12/2013	A2 (1°)	PNMC
<i>Meliola sorindeiae</i>	<i>Astronium graveolens</i>	<i>Anacardiaceae</i>	07/12/2013	A10 (1°)	PNMC
<i>Meliola</i> sp. nov.	<i>Olyra</i> sp.	<i>Poaceae</i>	19/12/2013	A6 (2°)	PNMC
<i>Myriangium</i> sp. nov.	<i>Ctenanthe sefora</i>	<i>Marantaceae</i>	07/12/2013	A5 (1°)	PNMC
<i>Neopestalotiopsis</i> sp. nov	<i>Inga laurina</i>	<i>Fabaceae</i>	Jun. 2014	-	<sup>2</sup> VIVEIRO
AM 101 sp. nov	<i>Oriza glumaepatula</i>	<i>Poaceae</i>	Set. 2009/Mar. 2010	-	<sup>3</sup> COFMEA
AM 102 sp. nov.	<i>Oriza glumaepatula</i>	<i>Poaceae</i>	Set. 2009/Mar. 2010	-	COFMEA
AM 103 prov. gên. novo	<i>Oriza glumaepatula</i>	<i>Poaceae</i>	Set. 2009/Mar. 2010	-	COFMEA
AM 104 prov. gên. novo	<i>Oriza glumaepatula</i>	<i>Poaceae</i>	Set. 2009/Mar. 2010	-	COFMEA
AM 105 prov. gên. novo	<i>Oriza glumaepatula</i>	<i>Poaceae</i>	Set. 2009/Mar. 2010	-	COFMEA
<i>Meliola manaosellae</i> var. nov.	<i>Handroanthus ochraceus</i>	<i>Bignoniaceae</i>	Jul. 2013	A18	<sup>4</sup> FLONA
<i>Pseudocercospora</i> sp. nov.	<i>Solanum asperum</i>	<i>Solanaceae</i>	Jul. 2013	A5	FLONA
<i>Perisporiopsis</i> sp. nov.	<i>Erythroxylum pulchrum</i>	<i>Erythroxylaceae</i>	Jul. 2013	A10	FLONA
<i>Asterinella</i> sp. nov.	<i>Eugenia florida</i>	<i>Myrtaceae</i>	Jul. 2013	A14	FLONA

<sup>1</sup>Instituto de Biologia (UFRRJ); <sup>2</sup>Viveiro Guapuruvú- Empresa GWA, Empreendimentos Florestais, UFRRJ (Empresa incubada); <sup>3</sup>COFMEA – Coleção de Fungos Micorrizicos da Embrapa agrobiologia; <sup>4</sup>FLONA- Floresta Nacional, Seropédica-R.J.

## 6. CAPÍTULO I

### HIFOMICETOS ASSOCIADOS A VEGETAÇÃO ARBÓREA NO PARQUE NATURAL MUNICIPAL CURIÓ DE PARACAMBI, RJ. E NA FLORESTA NACIONAL

Os hifomicetos descritos, discutidos e ilustrados neste capítulo pertencem ao gênero *Arthrinium*, *Cercospora* e *Pseudocercospora*.

***Arthrinium* Kunze**, in Kunze & Schmidt, *Mykologische helfe* (Leipzig) **1**: 9 (1817)

**Espécie-tipo:** *A. caricicola* Kunze & J.C Schmidt, *Mykologische hefte* (Leipzig) **1**: 9 (1817)

**Teleomorfo:** *Apiospora* Sacc. *Atti Soc. Veneto- Trent. Sci. nat., Padova*, Sér. 4 **4**: 85 (1875)

O gênero *Arthrinium* pertence ao grupo dos Fungos Anamórficos e tem como espécie-tipo *A. caricicola* Kunze & J.C. Schmidt (1917) (CROUS & GROENEWALD 2013), e como fase sexuada o fungo *Apiospora* Sacc. (1875), caracterizando-se por ser um hifomiceto formador de conidióforos reduzidos, ramificados ou não, marrons e com células conididiogênicas blásticas e basáxicas e conídios amerospóricos, marrons, solitários e com uma fenda germinativa (ELLIS 1971, 1976; SEIFERT et al.; 2011; CARMICHAEL et al., 1980). O fungo é cosmopolita, podendo ser saprófita em poáceas e também em folhas, hastes e raízes de diferentes plantas hospedeiras tendo sido reportado como patógeno causando queimas em grãos de cevada e tombamentos em trigo, bem como endófitos em tecidos de plantas (CROUS & GROENEWALD 2013; SEIFERT et al., 2011).

***Cercospora* Fresen.**, *Beitr. Mycol.* **3**: 91 (1963).

**Espécie-tipo:** *Cercospora penicillata* (Ces.) Fresen *Beiträge Zur Mykologie* 3:93 1863 [= *C. depazeoides* (Desm.) Sacc.].

As espécies do gênero *Cercospora* Fresen. são representadas por fungos fitoparasitas, polípagos e cosmopolitas, causando manchas foliares, manchas em frutos e perdas em diferentes culturas no mundo. Estes fungos pertencem a um dos mais abundantes grupos na natureza, ou seja, os Fungos Anamórficos e são caracterizados por serem hifomicetos que na maioria das vezes encontram-se associados como sua fase sexuada, ou seja, fungos previamente colocados no gênero *Mycosphaerella* (Capnodiales, *Mycosphaerellaceae*) (STEWART et al. 1999, CROUS et al. 2000; GROENEWALD et al. 2013). Cabe mencionar que o gênero *Mycosphaerella* foi recentemente tratado como polifilético e foi dividido em vários gêneros, como exemplo *Davidiella* Crous & Braun (2003) (*Davidiellaceae* C.L. Schoch, Spatafora, Crous, Shoemaker, 2007), verificou-se também que o gênero *Cercospora* agora é considerado um gênero holomórfico ou seja, o nome é único para todas as formas do fungo seja anamórfica ou teleomórfica (*micosphaereláceo*) e que o gênero *Mycosphaerella* Johanson (1884) agora é restrito aos anamorfos de *Ramularia* (1883), onde segundo as regras do Código de Nomenclatura Internacional para Algas, Fungos e Plantas (CNI), o nome mais antigo que prevalece sobre o mais recente.

Essas novas modificações na nomenclatura são baseadas na mudança do artigo 59 do Código de Nomenclatura Internacional para Algas, Fungos e Plantas (CNI), também chamado

(Código Melbourne) que trata dos fungos com ciclo de vida pleomórfico, mudanças adotadas durante o XVIII Congresso Botânico Internacional realizado em Melbourne, Austrália, em julho de 2011. O sistema de nomeação dos fungos que apresentam pleomorfismo em seu ciclo de vida tem sido bastante discutido e a necessidade de um sistema nomeclatural que visa um único nome para todos os fungos é reconhecido (HAWKSWORTH et al., 2011; TAYLOR et al., 2011). Cabe mencionar que análises moleculares têm dado suporte a essa ideia, uma vez que, uma única sequência de DNA comparada com sequências depositadas em banco de genes estão ligadas a dois nomes, isto é, o mesmo fungo com sequências depositadas para o nome teleomorfo e outra para o nome anamorfo (BRAUN & CROUS 2007; TAYLOR et al., 2011). Chupp's (1954) em sua monografia propôs um amplo conceito para o gênero *Cercospora* baseado-se nas hilas, (cicatrices visíveis ou não, formadas pelo acúmulo de células após secessão do conídio, podendo ser visíveis tanto na célula conidiogênica quanto na parte basal do próprio conídio) se elas eram espessas ou não, e se os conídios eram pigmentados, únicos ou ocorrendo em cadeias. Desde então, uma combinação de características morfológicas como estruturas conidiomáticas, micélio, conidióforos, células conidiogênicas e conídios, que são usadas para diferenciar o gênero (GROENEWALD et al., 2013). Espécies do gênero *Cercospora* formam células conidiogênicas geniculadas, desenvolvimento simpodial, com loco conidiogênico conspicuos, evidenciando cicatrizes laterais ou no ápice das células conidiogênicas, ou seja, os conídios são liberados tanto lateralmente quanto a partir da extremidade de onde esta localizado o loco conidiogênico. Os conidióforos estão presos a células estromáticas que culminam na formação de fascículos de conidióforos.

***Pseudocercospora* Speg.**, Anal. Mus. Nac. B. Aires, Ser. 3 13: 437 (1911).

**Espécie-tipo:** *Pseudocercospora vitis* (Lev.) Speg. Anal. Mus. B. aires, Ser. 3 13: 438 (1911)

O gênero *Pseudocercospora* foi estabelecido por Spegazzini (1910) baseado na espécie-tipo de *P. vitis*, causando manchas foliares em *Vitis vinífera*. O gênero tem sido reportado como patógeno em várias espécies de plantas em diferentes locais e culturas (EL GHOLL et al., 1993; SINGH et al., 1996; BRAUN et al., 2013), causando perdas significativas nestes hospedeiros (DEWDNEY & TIMMER 2009; DAGNEW et al., 2014), podendo ser também utilizado para controle biológico de plantas daninhas (FARR & ROSSMAN, 2015; MENDES & URBEN, 2015; PEREIRA & BARRETO, 2006). Como o gênero *Cercospora*, o fungo tem sido encontrado associado com sua fase sexuada o gênero *Mycosphaerella*, onde hoje o nome do holomorfo é dado para o anamorfo ou seja, *Pseudocercospora*, tais que as considerações sobre os micosphaereláceos já encontram-se discutidas neste capítulo. Cabe mencionar que, o gênero *Pseudocercospora* hoje é aceito para acomodar fungos sinemáticos análogos de *Cercospora* como *Phaeoisariopsis Ferraris* (1909) e para fungos com estruturas conidiogênicas pigmentadas e conídios com hilos não engrossados e não escurecidos (DEIGHTON 1976, CROUS & BRAUN 1995).

## 6.1 *Arthrinium* provável espécie nova no. 1

Descrição:

Corpos de frutificação 582-1.081(1.410) × 169-319 µm, escuros, irrompentes, subepidermais, fusiformes, cinza-escuros (Fig 3. A, B e C) Conidiomas 441-552 × 58-120 µm, esporoquiais (Fig. 3. D). Células da parede 4-9 µm de diâmetro, textura *angularis*, marrons (Fig. 3. E). Conidióforos 29-86 × 4-6 µm, inicialmente hialino tornando-se marrom pálido, septados, verruculosos, macronematosos, mononematosos, crescimento basáuxico (Fig 3. F). Conídios



21-29 × 13-23 (24) µm, lenticulares em vista lateral, com fenda equatorial pálida (Fig. 3. G) e marrons para marrom-escuros, lisos, globosos para elipsoides, asseptados 23-26 µm de diâmetro (Fig. 3. H).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi, PNMCP. 6 Mar. 2014. Em espécie de *Pennisetum purpureum* (*Poaceae*). Leg. P.S. Medeiros. 9; (UFRRJ 298).

#### *Discussão:*

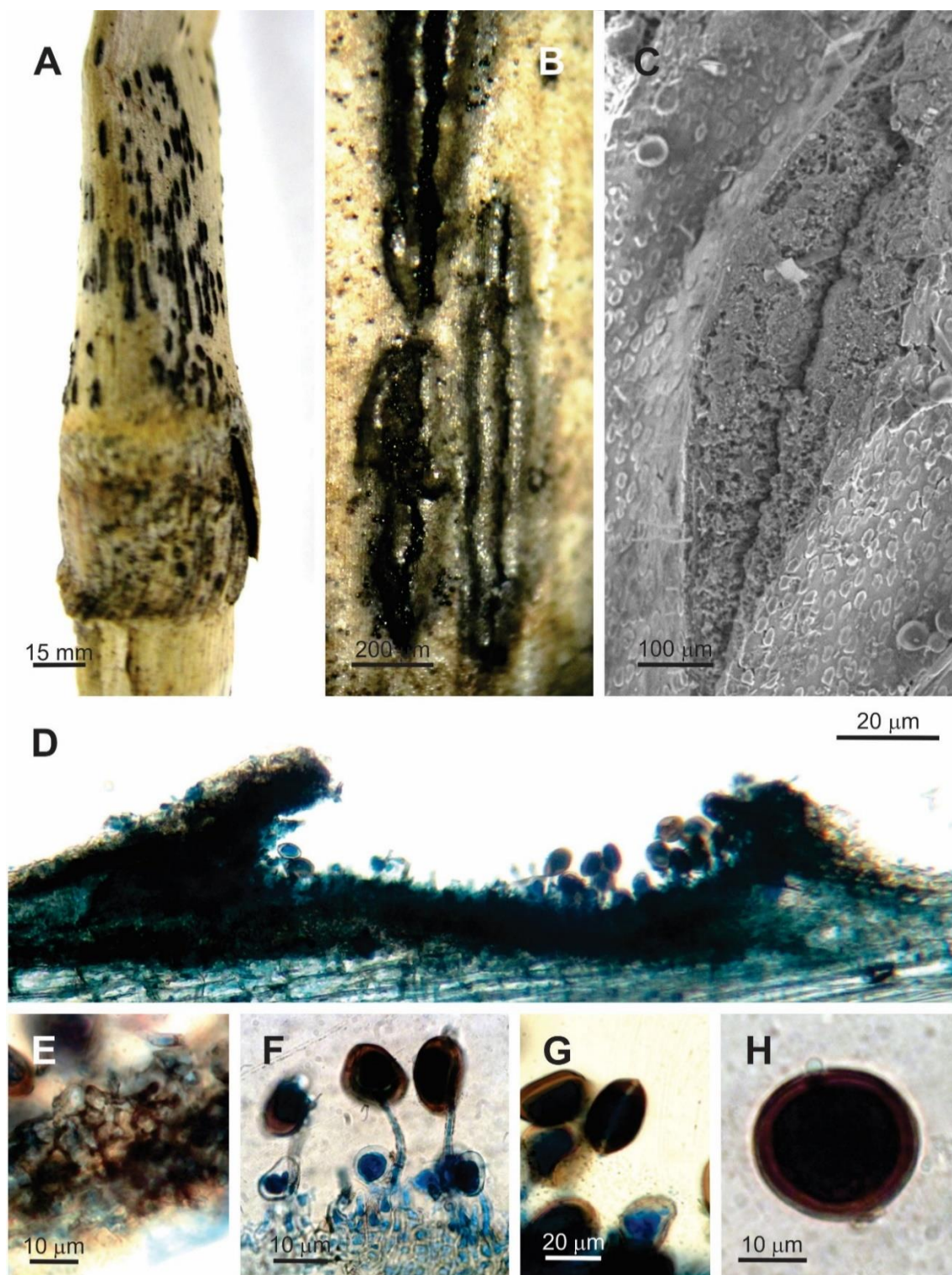
O gênero *Arthrimum* Kunze, o qual esta inserido na família *Apiosporaceae* Hyde *et al.*, (1998), foi introduzido em 1817, tendo como espécie tipo *A. caricicola* Kunze & J. C. Schmidt (1817). Conforme ilustrado por Ellis (1971), *A. caricicola* forma colônias compactas, pulvinadas, castanho-escuras a escuras, conidióforos eretos ou ascendente, simples, flexuosos, conídios fusiformes ou forma de cigarro quando visto de frente, em parte frequentemente marrom escuro e o reso de coloração pálida com um distinto aro hialino. Cabe mencionar que a espécie foi encontrada em várias espécies do gênero *Carex* L. (*Cyperaceae*).

Algumas espécies do gênero, encontradas em *Poaceae*, principalmente provenientes da América do Sul, estão listados na Tabela 3. Verificando a tabela, pode se notar que, *A. phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis (1965), *A. saccharicola* F. Stevens (1917), *A. spgazzini* Subram. (1956) e *Arthrimum sachari* (Speg.) M.B. Ellis (1965), reportadas da América do Sul, são distintas da espécie encontrada na Mata Atlântica nas dimensões estruturais como conídios e conidióros, bem como foram encontradas em hospedeiros distintos. A espécie mais próxima foi *A. sphaerospermum* Fuckel (1874), proveniente da Suíça que forma conidiomas e conidióforos de mesmo comprimento (500 µm; 10-80 µm respectivamente), porém o diâmetro dos conídios (7-9 µm) e conidióforos (2-3 µm) é bem inferior ao da espécie encontrada, bem como foi reportada em hospedeiro distinto ou seja *Phleum pratense* L. Baseado no exposto, o espécime encontrado no Parque Natural Municipal do Curió, Paracambi – R.J., trata-se provavelmente de uma nova espécie a ser publicada de acordo com as regras do CIN.

**Tabela 3.** Comparação de algumas espécies de *Arthrinium* encontradas em diferentes plantas hospedeiras de *Poaceae* de diferentes locais com a encontrada na Mata Atlântica.

ESPÉCIES DE <i>Arthrinium</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	FAMÍLIA DA PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	CONIDIOMA ( $\mu\text{m}$ )	CONIDIÓFORO ( $\mu\text{m}$ )	CONÍDOS ( $\mu\text{m}$ )
<i>A. sacchari</i> <sup>2</sup>	<i>Saccharum officinarum</i> , <sup>3</sup> <i>Hyparrhenia hirta</i> , <sup>4</sup> <i>H. rufa</i>	<i>Poaceae</i>	Argentina, Venezuela	-	40-130 $\times$ 1-1,5	6-8 (7) $\times$ 3-4 (3,8)
<i>A. sphaerospermum</i> <sup>2</sup>	<i>Phleum pratense</i>	<i>Poaceae</i>	Suíça	500 comp.	10-80 $\times$ 2-3	7-9 diâm.
<i>A. saccharicola</i> <sup>1, 2, 5</sup>	<i>Saccharum</i>	<i>Poaceae</i>	Venezuela	-	25-130 $\times$ 2-4	7 - 10 (9) $\times$ 4 - 6 (5,1)
<i>A. spgazzini</i> <sup>1,2</sup>	<i>Saccharum officinarum</i>	<i>Poaceae</i>	Argentina	-	15-140 $\times$ 3-4,5	5 - 8 9 (6,5) $\times$ 3 - 6 (4)
<i>A. phaeospermum</i> <sup>1,2</sup>	<i>Bambú</i>	<i>Poaceae</i>	-	2000-3000 $\times$ 500	5-65 $\times$ 1 - 1,5	8 - 12 (9,9) $\times$ 5 - 7 (5,9)
<b><i>Arthrinium sp.</i></b>	<b><i>Pennisetum purpurem</i></b>	<b><i>Poaceae</i></b>	<b>Brasil</b>	<b>441-552 <math>\times</math> 58-120</b>	<b>29-86 <math>\times</math> 4-6</b>	<b>21-29 <math>\times</math> 13-23 (24)</b>

<sup>1</sup>Ellis (1976); <sup>2</sup>Ellis (1965); <sup>3</sup>Urtiaga (2004); <sup>4</sup>Urtiaga (1986); <sup>5</sup>Dennis (1970)



**Figura 3: A-H.** *Arthriniium* (provável espécie nova no 1) em hastes de *Penisetum purpureum*. **A.** Corpos de frutificação. **B.** Detalhe das colônias com conídios. **C.** Detalhe da colônia vista em (MEV). **D.** Conidioma acervular em corte transverso vertical. **E.** Células da parede. **F.** Conidióforos dando origem a conídios. **G.** Conídios lenticulares em vista lateral. **H.** Conídio.

## 6.2 *Cercospora* provável espécie nova no. 2

### Descrição:

*Lesões* até 10 mm de diâmetro, anfígenas, maioria epifilas, esparsas, às vezes coalescentes, circulares a irregular, coloração marrom-avermelhada para marrom tornando-se marrom claro no centro (Fig. 4. A). *Colônias* anfígenas, maioria hipófilas, marrom-claras a marrom-escuras, cespitosas (Fig. 4. B). *Micélio* interno, pálido para marrom-pálido, alcançando o mesófilo. *Hifas* 1-4 µm de largura, pálidas para marrom-pálido, septadas, ramificadas. *Estromas* 14-48 × 22-53 µm, marrons, irregulares, imersos (Fig. 4. D). *Conidióforos* 67-106 × 3-4 µm, macronemáticos, mononemáticos, numerosos, marrons, lisos, densamente cespitosos, surgindo a partir do estroma, 2-11 septos, retos ou ligeiramente sinuosos. *Células conidiogênicas* integradas, poliblasticas, maioria monoblasticas e comumente terminais, simpodial, geniculadas e loco conidiogênico conspicuo (Fig. 4. E). *Conídios* 35-80 × 3-4 µm, solitários, 2-10 septos, sinuosos para curvados, raramente reto, subcilíndrico para obclavados, lisos, pálidos, sub-hialinos para pálido-oliváceos, atenuado no ápice, truncado na base, cicatrizado (Fig. 4. F).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi, PNMCP. Em folhas de *Tectaria* sp. (*Tectariaceae*). Mar. 2014; Leg. P. S. Medeiros 19; (UFRRJ 278).

### Discussão:

O gênero *Cercospora* Fresen. foi introduzido por Fresenius (1863), baseado na espécie tipo *C. apii* Fresen. associada a aipo (*Apium graveolens* L. – *Apiaceae*), a qual forma conidióforos geniculados, coloridos, em fascículos, retos ou curvados, com ou sem septos, dando origem a um ou mais esporos lateralmente ou no ápice, conídios retos ou curvados, obclavados, multiseptados, hialinos (CHUPP 1954). Conforme ilustrado na (Tabela 3), as espécies *C. adiantigena* U. Braum & Crous (2003) encontrada em *Adiantum philippense* L. (*Pteridaceae*) e *C. athyrii* J. M. Mend. encontrada em *Athyrium esculentum* (Retz.) Copel. (*Athyriaceae*) atualmente sinônimo de *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. morfometricamente estas espécies estão próximas a espécie encontrada na Mata atlântica, contudo diferenças são observadas, onde, a espécie *C. adiantigena* forma conidióforos (25 - 150 × 4 -10 µm) mais longos e mais largos, conídios (10 - 90 × 5 - 8 µm) pouco mais longos e pouco mais largos, quando comparados com a espécie em estudo, os conídios formados pela espécie *C. adiantigena* apresentam de (1) 3 - 6 (8) septos, diferenciando da espécie encontrada na Mata atlântica cujos conídios apresentam de 2 - 10 septos. A espécie *C. athyrii*, diferencia-se da espécie em estudo por formar conídios (20 - 90 µm) mais longos (tabela 4). Ainda não verificou-se a ocorrência de *Cercospora* em *Tectaria* e apesar das espécies *C. adiantigena* e *C. athyrii* serem as mais próximas do espécime em estudo, ocorrem em hospedeiras de famílias distintas ou seja, *Pteridaceae* e *Athyriaceae* respectivamente (ver Tabela 4), provavelmente, o fungo encontrado na Mata Atlântica, trata-se de uma provável espécie nova, sendo também considerado como o primeiro relato de *Cercospora* associada a folhas da espécie *Tectaria*.

**Tabela 4** - Comparação entre espécies de *Cercosporas* encontradas em samambaias a partir de diferentes países.

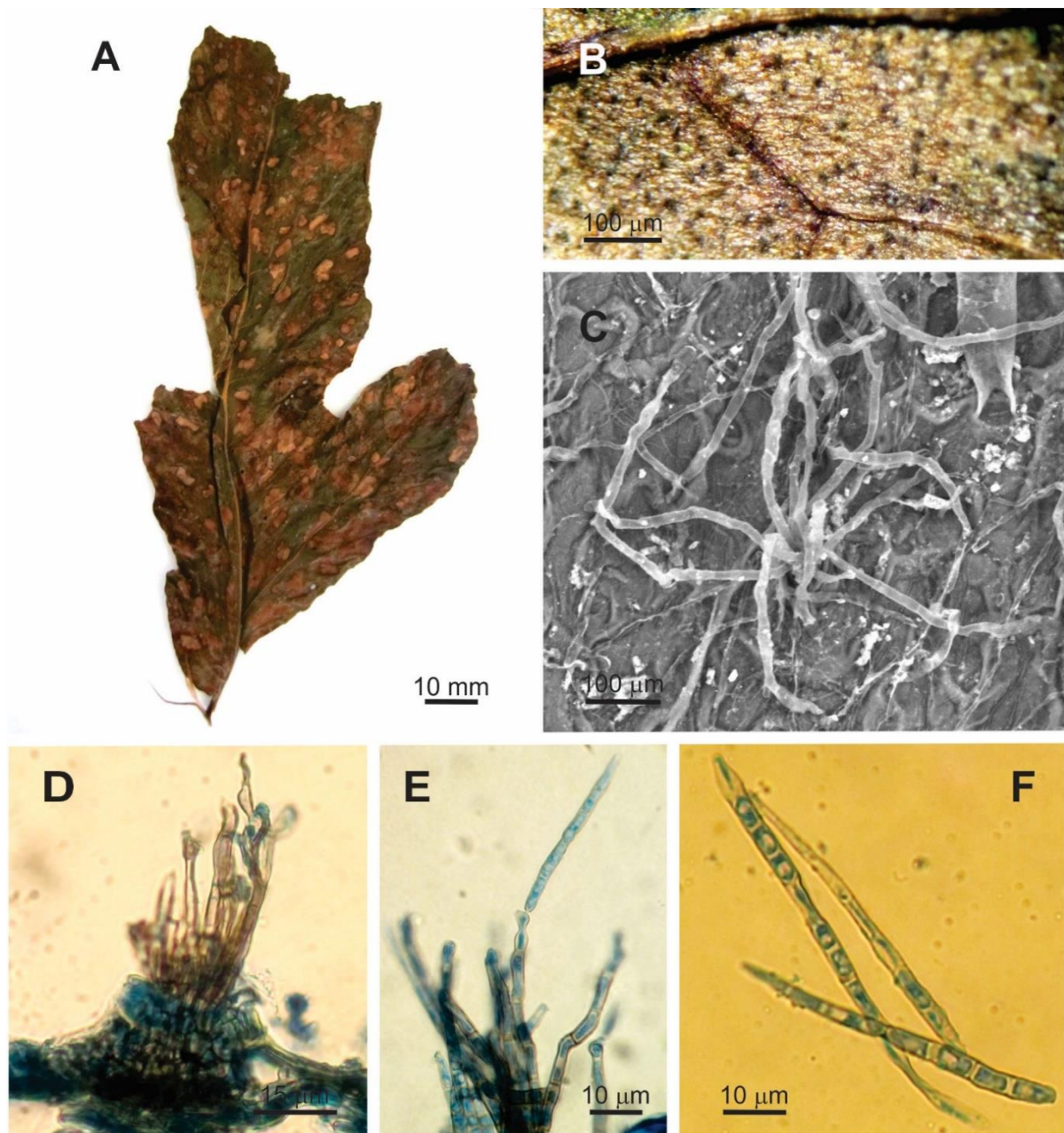
ESPÉCIES DE <i>Cercospora</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ESTROMA (µm)	CONIDIÓFORO (µm)	CONÍDIO (µm)
<i>C. abacopteridis</i> <sup>1</sup>	<i>Abacopteris urophylla</i> ( <i>Thelypteridaceae</i> )	Singapura	Ausente	15 - 120 × 4 - 5 1 - 5 septos	60 - 400 × 2 - 4 1 - 35 septos
<i>C. adianticola</i> <sup>1</sup>	<i>Adiantum venustum</i> ( <i>Pteridaceae</i> )	Índia	Ausente ou pouco desenvolvido	70 - 140 × 3 - 6 septado	50 - 100 × 2 - 4 3 - 11 septos
<i>C. adiantigena</i> <sup>1</sup>	<i>Adiantum philippense</i> ( <i>Pteridaceae</i> )	Tanzânia	<b>10 - 50 diam.</b>	<b>25 - 150 × 4 - 10</b>	<b>40 - 90 × [4] 5 - 8 [1] 3 - 6 [8] septos</b>
<i>C. asplenii</i> <sup>1</sup>	<i>Asplenium trichomanes</i> ( <i>Aspleniaceae</i> )	Croácia	Até 75 diam	20 - 120 × 4 - 5.5 pluriseptado	20 - 120 × 2 - 4 pluriseptado
<i>C. athyrii</i> <sup>1</sup>	<i>Diplazium</i> (= <i>Athyrium</i> ) <i>esculentum</i> ( <i>Athyriaceae</i> )	Filipinas	<b>Pequeno</b>	<b>30 - 105 × 3.5 - 5 pluriseptado</b>	<b>20 - 90 × 3 - 5 pluriseptado</b>
<i>C. camptosori</i> <sup>1</sup>	<i>Asplenium radicans</i> ( <i>Aspleniaceae</i> )	USA	20 - 50 diam.	20 - 60 × 4 - 20 septado	30 - 125 × 1.5 - 3.5 Indistintamente pluriseptado
<i>C. cheilanthis</i> <sup>1</sup>	<i>Aleuritopteris farinosa</i> ( <i>Pteridaceae</i> )	Índia	15 - 45 diam.	30 - 165 × 3 - 5.5 2 - 6 septos	10 - 130 × 1.5 - 3 1 - 19 septos
<i>C. cyclosori</i> <sup>1</sup>	<i>Cyclosurus</i> sp ( <i>Thelypteridaceae</i> )	Taiwan	Ausente ou pequeno	25 - 160 × 4 - 5 0 - 4 septos	50 - 110 × 3 - 4 Indistintamente pluriseptado
<i>C. diplaziicola</i> <sup>1</sup>	<i>Diplazium esculentum</i> ( <i>Woodsiaceae</i> , <i>Athyriaceae</i> )	Índia	15 - 25 diam.	40 - 190 × 4 - 6.5 2 - 8 septos	40 - 155 [230] × 3 - 5 [6] 3 - 20 septos
<i>C. diplaziicola</i> <sup>2</sup>	<i>Diplazium esculentum</i> ( <i>Woodsiaceae</i> , <i>Athyriaceae</i> )	Tailândia	15 - 25 diam.	40 - 76 × 4 - 6 2 - 4 septos	52 - 156 × 3 - 4 3 - 18 septos
<i>Cercospora</i> sp.	<i>Tectaria</i> sp. ( <i>Tectariaceae</i> )	Brasil	<b>22 - 53 diam</b>	<b>67 - 106 × 3 - 4 2 - 11 septos</b>	<b>35 - 80 × 3 - 4 2 - 10 septos</b>

**Tabela 4** - continuação

ESPÉCIES DE <i>Cercospora</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ESTROMA (µm)	CONIDIÓFORO (µm)	CONÍDIO (µm)
<i>C. dryopteridis</i> <sup>3</sup>	<i>Dryopteris polypodioidis</i> ( <i>Dryopteridaceae</i> )	China	Ausente	40 - 150 [210] × 4 - 6 1 - 5 septos	95 - 250 × 3.7 - 4.8 pluriseptado
<i>C. filicum</i> <sup>4</sup>	<i>Nephrodium</i> sp. ( <i>Dryopteridaceae</i> )	Brasil	–	–	30 - 60 × 5
<i>C. lygodiicola</i> <sup>1</sup>	<i>Lygodium japonicum</i> ( <i>Lygodiaceae/ Schizaeaceae</i> )	Índia	Ausente ou pequeno	15 - 50 × 4 - 5 Contínuo ou às vezes septados	25 - 130 × 3 - 4 Indistintamente pluriseptado
<i>C. marsileae</i> <sup>1</sup>	<i>Marsilea quadrifolia</i> ( <i>Marsileaceae</i> )	Índia	Bem desenvolvido	50 - 130 × 3.5 - 5 1 - 3 septos	45 - 225 × 3 - 5.5 4 - 26 septos
<i>C. platycerii</i> <sup>1</sup>	<i>Platycerium</i> sp. ( <i>Polypodiaceae</i> )	USA	Ausente ou pequeno	30 - 200 × 3 - 5 pluriseptado	40 - 150 × 2.5 - 5 pluriseptado
<i>C. selaginellarum</i> <sup>1</sup>	<i>Selaginella denticulata</i> ( <i>Selaginellaceae</i> )	França	15 - 40 diam.	150 - 400 × 4.5 - 6 pluriseptado	Até 300 µm de comp.
<b><i>Cercospora</i> sp.</b>	<b><i>Tectaria</i> sp.</b> ( <b><i>Tectariaceae</i></b> )	<b>Brasil</b>	<b>22 - 53 diam</b>	<b>67 - 106 × 3 - 4</b> <b>2 - 11 septos</b>	<b>35 - 80 × 3 - 4</b> <b>2 - 10 septos</b>

<sup>1</sup>Braun *et al.*, (2013); <sup>2</sup>Phengsintham *et al.*, (2013); <sup>3</sup>Guo *et al.*, (1997); <sup>4</sup>Hennings (1902).





**Figura 4: A-F.** *Cercospora* (provável espécie nova no. 2) em folhas de *Tectaria* sp. **A.** Folha de *Tectaria* sp. com sintomas de manchas foliares. **B.** Colônias anfígenas esparsas. **C.** Detalhe dos conidióforos visto em microscopia eletrônica (MEV). **D.** Corte transversal vertical mostrando os conidióforos originando-se a partir do estroma. **E.** Conidióforo originando conídio. **F.** Conídios.

### 6.3 *Pseudocercospora* provável espécie nova no. 3

#### Descrição:

*Lesões* até 20 mm de diâmetro, anfígenas, maioria epífilas, esparsas, às vezes confluentes, circulares com irregularidade, amarelada tornando-se marrom-avermelhado, centro marrom-claro tornando-se necrosado de coloração marrom-escuro e centro acinzentado. *Colônias* anfígenas, maioria hipófilas, cespitosa, esparsas (Fig. 5. C-D). *Micélio* interno, pálido para marrom-pálido, alcançando o mesófilo. *Hifas* 2-4  $\mu\text{m}$  de largura, pálidas para marrom-pálido, septadas, ramificadas. *Estromas* 30-80  $\mu\text{m}$  de largura, marrons, subepidermais, irrompentes (Fig. 5. F-G). *Conidióforos* 20-60 (70)  $\times$  1-4  $\mu\text{m}$ , numerosos, macronemáticos, mononematicos, marrons, lisos, densamente cespitosos, surgindo a partir do estroma no lado superior da folha ou a partir do micélio no lado inferior, 2-7 septos, retos ou ligeiramente sinuosos, às vezes curtos (Fig. 5. F-G). *Células conidiogênicas* integradas, poliblasticas, maioria monoblasticas, comumente terminais, simpodial, geniculadas, *loco* conidiogênico inconspícuo (foto MEV) (Fig. 5. E). *Conídios* 20-140 (217)  $\times$  2-6  $\mu\text{m}$ , 1-16 septos, sinuosos para curvados, raramente reto, subcilíndrico para obclavados, lisos, pálidos, sub-hialinos para oliváceo-pálidos, atenuados no ápice, truncados na base, não cicatrizados (Fig 5. H).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, FLONA. 29 de Jul. 2014. Em folhas de *Solanum asperum* (*Solanaceae*). Leg. E. S. Barbosa 10; (UFRRJ 286).

#### Discussão:

O gênero *Pseudocercospora* Speg. foi introduzido por Spegazzini (1910) baseado na espécie tipo *P. vitis* (Lév.) Speg. isolada como patógeno de videira (CROUS *et al.*, 2013) características da espécie são: estromas presentes ou ausentes, conidióforos bem desenvolvidos, curtos ou longos, simples ou ramificados, contínuos ou septados, agregados em fascículos que saem do estroma qual forma conídios pluriseptados, catenulados, conidióforos longos e distintos (SACCARDO & TROTTER 1944d).

Existe apenas uma espécie de *Pseudocercospora* em *Solanum asperum*, tal que o material-tipo, não foi estudado neste trabalho mas, nota-se que a espécie reportada por Deighton (1976) e Crous & Braun (2003) forma conídios (34 - 72  $\times$  3 - 4  $\mu\text{m}$ ) e e conidióforos (26  $\times$  4  $\mu\text{m}$ ) menores que o espécime encontrado na Mata Atlântica e bem como os conídios são pouco septados [3 - 7 (3)] e a reportada por Chupp (1954) & Baker & Dale (1951) forma conídios (30 - 80  $\times$  3 - 4  $\mu\text{m}$ ) menores e pouco septados (3-11) (tabela 5). Cabe mencionar que, ambas descrições mencionam que o fungo forma frutificações somente hipófilas, o que difere do fungo em estudo que que forma colônias contendo frutificação anfígenas, principalmente hipófilas. Comparando com a espécie tipo *P. vitis*, isolada de folhas de videira, o espécime encontrado na Mata Atlântica forma conidióforos mais curtos, conídios mais longos e com maior número de septos.

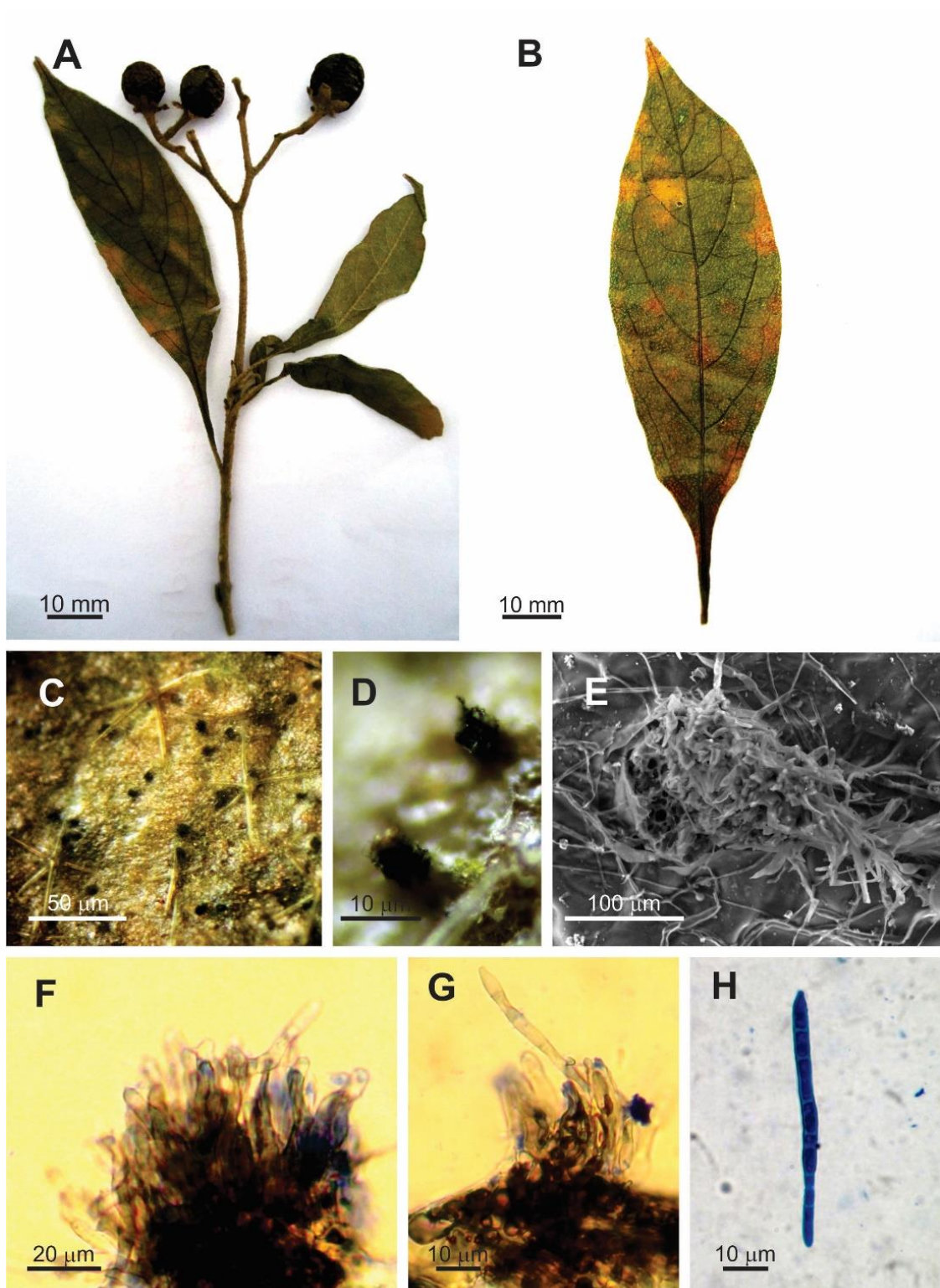
Baseado nas diferenças apresentadas, conclui-se que o espécime encontrado no Estado do Rio de Janeiro, trata-se provavelmente de uma nova espécie a ter sua publicação efetiva efetuada.



**Tabela 5.** Comparação entre as espécies de *Pseudocercospora solani asperi* provenientes do Brasil e Trindade e o espécime encontrado em *Solanum asperum*.

Espécies de <i>Pseudocercospora</i>	LOCAL	PLANTA HOSPEDEIRA	ESTROMA (µm)	CONIDIÓFORO	CONÍDIO (µm)	Nº DE SEPTO DO CONÍDIO	SINTÔMAS
<i>Pseudocercospora solani asperi</i> = <i>Cercospora solani-asperi</i>	Trindade & Tobago <sup>1, 2</sup> Brasil <sup>2</sup>	<i>Solanum asperum</i> ( <i>Solanaceae</i> )	-	26 × 4	34 - 72 × 3 - 4	3 - 7 [3]	Manchas foliares indistintas, áreas amareladas irregulares, caespitosas, frutificações hipófilas, efusas, olivácea pálidas, visivelmente escassas.
<i>Pseudocercospora solani asperi</i> = <i>Cercospora solani-asperi</i>	Trindade & Tobago <sup>3, 4</sup>	<i>Solanum asperum</i> ( <i>Solanaceae</i> )	-	10 - 60 × 3 - 5	30 - 80 × 3 - 4	3 - 11	Ausência de manchas foliares ou indistintas, áreas amareladas irregulares epífilas, frutificações hypófilas, em áreas oliváceas, efusas, escassas.
<i>P. vitis</i>	Europa <sup>5</sup> , Índia, Japão, Malasia, Paquistão, América do Norte	<i>Vitis</i> ( <i>Vitaceae</i> )		Até 500 µm	35 - 95 × 6 - 8	5 - 14	Colônias anfígenas
<i>Pseudocercospora</i> sp.	Brasil	<i>Solanum asperum</i> ( <i>Solanaceae</i> )	30 - 80 diam.	20 - 60 [70] × 1 - 4	20 - 140 [217] × 2 - 6	1 - 16	<b>Manchas foliares indistintas, circulares ou irregulares, amarelas para marrom-avermelhadas, colônias anfígenas, principalmente hipófilas, escassas.</b>

<sup>1</sup>Deighton (1976); <sup>2</sup>Crous & Braun (2003); <sup>3</sup>Chupp (1954); <sup>4</sup>Baker & Dale (1951); <sup>5</sup>Ellis (1971).



**Figura 5: A-H.** *Pseudocercospora* (provável espécie nova n° 3) em folhas de *Solanum asperum*. **A-B.** Folhas de *Solanum asperum* com sintomas de mancha foliar. **C-D.** Corpos de frutificação anfígenos. **E.** Detalhe do estroma visto microscopia eletrônica (MEV). **F-G.** Estroma em corte transversal vertical com conidióforos. **H.** Conídio.

## 7. CAPÍTULO II

### CELOMICETOS ASSOCIADOS À VEGETAÇÃO ARBÓREA DO PARQUE NATURAL MUNICIPAL CURIÓ DE PARACAMBI, RJ E UMA ESPÉCIE DO VIVEIRO FLORESTAL LOCALIZADO NA UFRRJ

Os celomicetos descritos, discutidos e ilustrados neste capítulo referem-se a uma espécie de *Colletotrichum* e *Pestalotiopsis* inserido no novo gênero *Neopestalotiopsis* proposto por Maharachchikumbura *et al.* (2014).

***Colletotrichum*** Corda, *Deutschl. Fl., 3 Abt. (Pilz. Deutsch.)* **3** (12): 41, tab. 21 (1831).

**Espécie-tipo:** *Colletotrichum lineola* Corda (1831)

**Teleomorfo:** *Glomerella* Spaud. & Schrenk, *Science*, N.Y. 17: 751 (1903)

O gênero *Colletotrichum* foi descrito por Corda (1831) como fungos que crescem sobre ramos mortos, formando acérvulos escuros, imersos, irrompentes a superficiais com setas escuras e conídios unicelulares, fusiformes e recurvados. Na época foi colocado junto com os *Melanconiales* de Saccardo (1884), onde se caracterizavam por formarem acérvulos rasos, imersos no substrato, escuros, setosos, com conídios unicelulares, incolores (VON ARX 1957). Sutton (1980) descreve o gênero como formando micélio imerso, ramificado, septado, hialino, marrom-claro ou escuro. Conidiomas acervulares, subcuticulares, epidermais, subepidermais ou peridermais, isolado ou confluentes; compostos de uma parede fina ou grossa, hialina a marrom-escura, com textura angularis e deiscência irregular. Células conidiogências enteroblásticas fialídicas, hialina, lisa, determinada, cilíndrica, integrada ou discreta. Conídios hialinos a asseptados, estreitos ou falcados, lisos, parede fina, às vezes gutulados.

Nota-se que este gênero é cosmopolita e tem provocado perdas significativas em diversas culturas de valor econômico (FREIRE *et al.*, 2002; FARR *et al.*, 2006; TOZZE *et al.*, 2009; HYDE *et al.*, 2009; RAMPERSAD, 2011; FREITAS *et al.*, 2013; CANNON *et al.*, 2012; DANN *et al.*, 2012; MENDES & URBEN, 2015)

***Pestalotiopsis*** Stey., *Bull. Jard. Bot. Brux.* **19**: 300 (1949).

**Espécie-tipo:** *Pestalotiopsis guepinii* (Desm.) Steyaert

**Teleomorfo:** *Pestalosphaeria* M.E. Barr, *Mycologia* **67**(1): 188 (1975)

O gênero *Pestalotiopsis* Steyaert (1949), são celomicetos que pertencem à família *Amphisphaeriaceae* G. Winter (1885) a qual compreende 32 gêneros (+ 47 sin.) em 499 espécies (Kirk *et al.*, 2008), e estudos baseados em análises moleculares tem demonstrado ser um grupo monofilético (Jeewon *et al.*, 2003a). Atualmente, existem 295 espécies descritas (*Index Fungorum*). Nas últimas décadas, a importância dos caracteres morfológicos que são usados como marcadores de identificação entre as espécies de *Pestalotiopsis* tem sido assunto bastante discutido entre os taxonomistas (STEYAERT 1949; GUBA 1961; JEEWON *et al.* 2003b; YANG *et al.* 2012; MAHARACHCHIKUMBURA *et al.* 2012a, b; 2014a, b).

Segundo Sutton (1980), seu micélio é imerso, ramificado, septado, hialino a marrom claro. Conidioma acervular, epidermal a subepidermal formado por células de textura angularis, delgadas e marrons. Seus conidióforos são hialinos, ramificados e septados, cilíndricos a lageniformes, formados a partir de células do pseudoparênquima. As células conidiogências são holoblásticas, anelídicas, indeterminadas, integradas, cilíndricas, hialinas

*e lisas com várias proliferações percorrentes. Os conídios são fusiformes, retos ou ligeiramente curvados, apresentando 4 septos, célula basal hialina, truncada com um apêndice endógeno, unicelular, simples ou raramente ramificado. Célula apical cônica, hialina, com dois ou mais apêndices, simples ou ramificados, espatulados ou não espatulados. Células medianas marrons, às vezes versicoradas, de parede grossa, lisa ou verrugosa. Cabe mencionar que, Sutton (1980), tem revisto o gênero Pestalotia e sua relação com os gêneros Pestalotiopsis e Truncatella, e ele também descreveu o gênero Pestalotia, o qual forma conidiomas eustromáticos, cupulados, separados ou confluentes, inicialmente imersos tornando-se irrompentes, os conídios são formados por 6 células; já o gênero Truncatella forma conidiomas acervulares, epidermais a subepidermais, separados ou confluentes, formados por células de paredes finas, marrons de textura angularis semelhante a Pestalotiopsis, porém difere dos 2 últimos na septação do conídio, ou seja os conídios são 3-septados, onde o número de apêndices geralmente é 1 ou poucos, diferindo dos outros que formam conídios de 2 ou mais apêndices.*

*Em fungos do gênero Pestalotiopsis estão amplamente distribuídos tanto em regiões tropicais como temperadas, sendo isolados a partir do solo, casca de árvore, galhos, ramos, sementes, folhas mortas e frutos, causando uma variedade de doenças como podridão, manchas foliares, clorose severa, cancro reduzindo a produção e levando a perdas econômicas (KEITH et al., 2005; TURKKAN et al., 2011; ERPER & CELIK, 2011; SONG et al., 2013; GENG et al., 2013; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2012a, 2014a;). Atualmente, além da já conhecida capacidade fitopatogênica de muitas espécies de Pestalotiopsis, espécies endofíticas tem sido estudadas em função de sua capacidade em produzir metabólitos secundários, com aplicação na medicina e na agricultura, sendo relatado mais de 130 compostos que apresentam bioatividades antifúngicas, antimicrobianas e antitumorais (XU et al., 2010; YANG et al., 2012).*

*Muitos são isolados como endofíticos (HU et al., 2007; Watanabe et al., 2010), ou ocorrem como saprófitas (Maharachchikumbura et al., 2012b). Algumas espécies têm sido associadas a infecções em animais e seres humanos assim como algumas espécies tem sido isolada como parasimbiontes e de ambientes extremos (SU et al., 2002).*

*A partir de uma revisão a respeito de Pestalotia De Not. (1839), Steyaert (1949) dividiu o gênero em três grupos principais com base na forma dos conídios, por esse critério, introduziu dois novos gêneros sendo Truncatella cujos conídios possuem 4-células, Pestalotiopsis para acomodar os conídiosaqueles cujos apresentam 5-células em sua morfologia e Pestalotia permanecendo com conídios apresentando 6-células. Pestalotia foi considerado ser um gênero monofilético e Steyaert (1949) sugeriu que a espécie tipo Pestalotiopsis guelpinii, poderia ser distinguida de Pestalotiopsis por ela ter conidioma cupulado e células medianas distoseptadas.*

*Steyaert (1949) também dividiu o gênero Pestalotiopsis em diferentes seções com base no número de apêndices apicais que os conídios apresentavam: Monosetulado, Bisetulado, Trisetulado, e Multisetulado para espécies tendo 1, 2, 3, e mais de 3 apêndices apicais, respectivamente. Os conídios com três ou possuindo em média três apêndices foram classificados como Trisetulados, que foram mais tarde divididos em conídios concolorados ou versicorados, fusiformes ou claviformes, apresentando apêndices espatulados ou não espatulados.*

*De uma forma geral, o gênero Pestalotiopsis é facilmente distinguível por suas características únicas, sendo o conídio geralmente fusiforme, reto ou ligeiramente curvado com 3-4 euseptos. As três células medianas possuem coloração concolor ou seja (conídios que possuem pigmentação homogênea em suas células medianas) ou versicolor (conídios que possuem as duas células medianas superiores mais escuras do que a célula mediana inferior), os apêndices apicais são filiformes, maioria de 2-3, ramificados ou não, surgindo a partir do*

ápice da célula apical, apêndice basal normalmente presente surgindo a partir da célula basal (STEYAERT 1949).

Por sua vez, Guba (1961) agrupou espécies de *Pestalotiopsis* levando em consideração a pigmentação das células medianas em três grupos principais: Concorados (para aqueles que possuem células medianas igualmente coloridas), Versicorados: âmbar oliváceas (duas células medianas superiores âmbar e célula mediana inferior amarelo-marrom), Versicorados: olivácea fuliginosa (duas células medianas superiores fuliginosas, geralmente opacas, frequentemente inchada com uma faixa central escura, e célula mediana inferior castanho-clara).

Em sua monografia, um total de 258 espécies foram descritas sendo, 40 espécies inseridas no grupo versicolor âmbar-olivácea e o grupo versicolor olivácea-fuliginosa compreendendo 56 espécies. Segundo Maharachchikumbura et al. (2014b), os dois grupos versicolores foram diferenciados de acordo com a intensidade da pigmentação das células medianas, uma vez em que as dimensões dos conídios foram similares.

A classificação do gênero é baseada na morfologia dos conídios como principal caractere na distinção entre espécies estreitamente relacionadas, assim, baseado no tamanho do conídio a maioria das espécies são divididas em diferentes grupos (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2011; YANG et al., 2012). Morfologicamente, o comprimento e a largura são marcadores taxonômicos essenciais para o gênero, sendo o comprimento dos apêndices apicais e o número de apêndices caracteres amplamente utilizados na identificação das espécies, podendo surgir a partir do ápice, do meio ou de diferentes posições na célula hialina apical e alguns podem ser ramificados, a presença ou ausência de apêndice basal também é um importante caractere de identificação, além das dimensões morfométricas, a pigmentação das células medianas tem sido bastante estudada e utilizada como marcador taxonômico a nível de espécie e gênero (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2011, 2014b).

Em estudos realizados, Jeewon et al. (2003b), ressaltam a importância da evolução e do entendimento dos caracteres morfológicos como marcadores na identificação taxonômica do gênero *Pestalotiopsis* e propõem seu delineamento com fins taxonômicos baseando-se em primeiro lugar no grau de pigmentação das células medianas (concoradas ou versicoradas), em segundo na morfologia da extremidade dos apêndices (se espatulado ou não espatulado), em terceiro no comprimento do apêndice apical e em quarto no comprimento dos conídios.

Em estudos filogenéticos, baseado nos dados de sequenciamento utilizando uma análise conjunta das regiões ITS,  $\beta$ -tubulina e TEF-1, Jeewon, Liew & Hide (2003a); Liu et al. (2010); Maharachchikumbura et al. (2011, 2012b) revelaram *Pestalotiopsis* em três clados bem suportados com valores de bootstrap, correspondendo a três tipos de conídios com base na pigmentação das células medianas: concoradas (com coloração marrom-pálida ou olivácea), concolores (com coloração escura) e versicoradas. Liu et al. (2010) e Maharachchikumbura et al. (2011), baseado em análise de sequenciamento de DNA multilocus, concluíram que a divisão do grupo versicorados proposto por Guba (1961) baseado na intensidade de coloração da pigmentação das três células medianas não seria um marcador taxonômico confiável.

Baseado no alinhamento das sequências mediante a concatenação das regiões ITS,  $\beta$ -tubulina e TEF-1 Maharachchikumbura et al. (2014b), reporta dois bens suportados clados com alto valores de bootstrap, os quais dois novos gêneros são criados *Neopestalotiopsis* e *Pseudopestalotiopsis*, ambos segregados a partir de *Pestalotiopsis*. *Pseudopestalotiopsis* se revelou como um grupo irmão de *Pestalotiopsis* e agrupado como um clado irmão basal de *Neopestalotiopsis*.

Segundo Maharachchikumbura et al. (2014b), as espécies apresentando células medianas versicoradas formariam um clado monofilético parecendo ter evoluído a partir da linhagem de *Pseudopestalotiopsis*, membros os quais apresentam células medianas concolores,

baseado-se nos dados das análises filogenéticas e morfológicas, ao invés de usar dois grupos para conídios que apresentam pigmentação versicolorada, como proposto por Guba (1961), *Neopestalotiopsis* é proposto como um novo gênero para o grupo de conídios versicolores, pertencente à família *Amphisphaeriaceae*.

De acordo com o *Index fungorum* existem 24 espécies de *Neopestalotiopsis* validadas atualmente, todas isoladas e identificadas a partir de diferentes países e plantas hospedeiras. Análises de sequenciamento da região ITS e 5.8S tem demonstrado alto suporte de bootstrap na relação filogenética entre espécies que possuem células medianas concoradas e espécies que são caracterizadas com células medianas versicoloradas (JEEWON *et al.*, 2003b).

### 7.1 *Coletotrichum* provável espécie nova no. 4

*Descrição:*

*Lesões* até 10 mm de diâmetro, epífilas, centro marrom a marrom claro, bordas escuras, irregulares, isoladas ou confluentes (Fig. 6. A). *Corpos de frutificação* 106-154 × 72-106 µm, epífilos, agrupados ou dispersos, escuros, setosos, as vezes com presença de cirro conidial (Fig. 6. B e C). *Conidomas* 36-72 × 60-198 µm, acervulares, subcuticulares, irrompentes (Fig. 6. D). *Setas* 24-67 × 4-7(10) µm, marrons, retas ou ligeiramente curvadas, 2-3 septos, as vezes sinuosas, ápice truncado ou atenuado (Fig. 6. E). *Células da parede* 3-7 µm de diâmetro, *textura angularis*, marrons (Fig. 6. F). *Células conidiogênicas* 6-11 × 3-5 µm, cilíndricas, hialinas (Fig. 6. G e H). *Conídios* 12-18 × 4-6 µm, cilíndricos para oblongo-cilíndricos, hialinos, retos ou falcados, asseptados (Fig. 6. I).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi, PNMCP. 19 de Mar. 2014. Em folhas de *Solanum swartzianum* (*Solanaceae*). Leg. P.S. Medeiros 19; (UFRRJ 281).

*Discussão:*

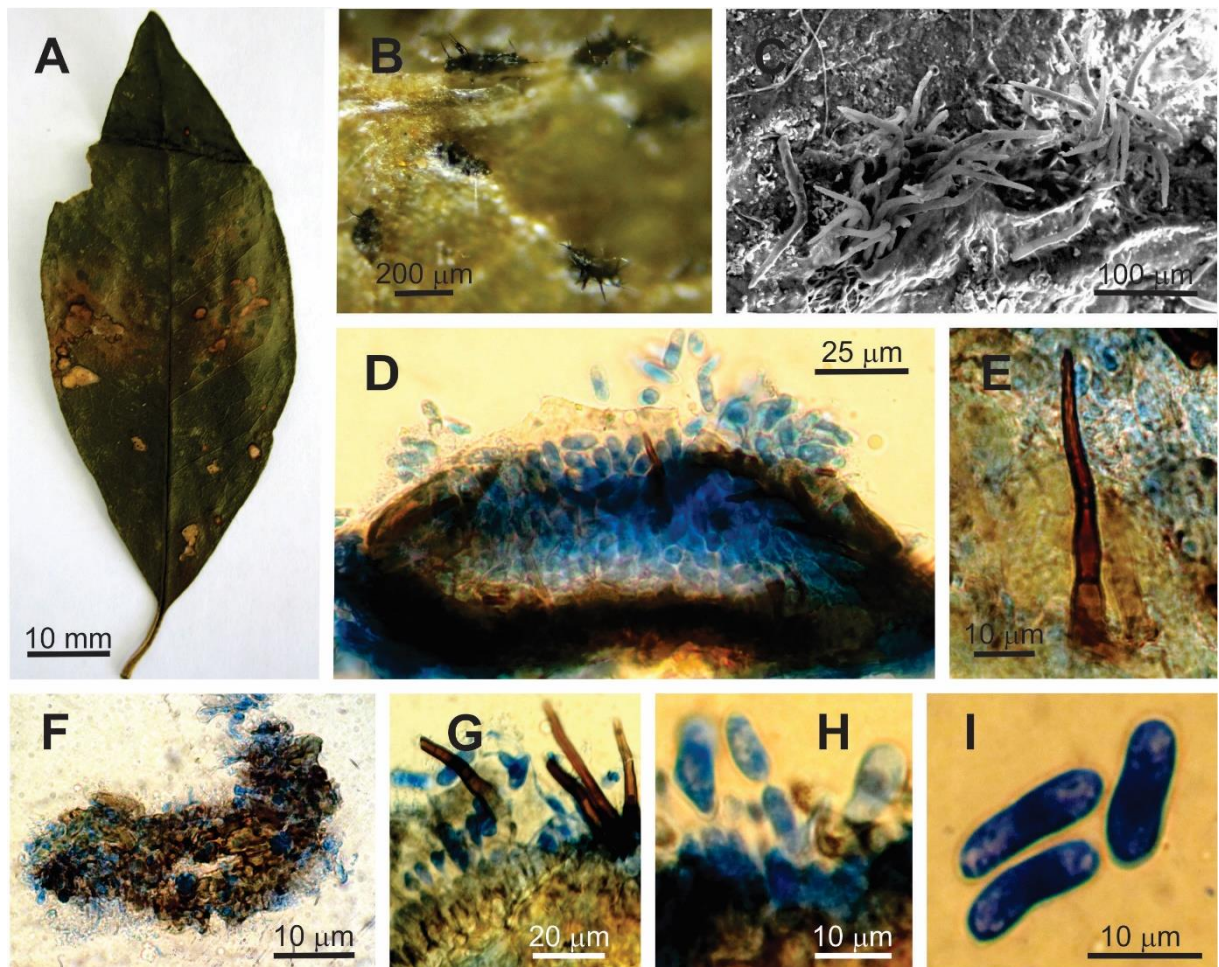
Baseado nas informações contidas na Tabela 6 (abaixo), nota-se que a espécie *C. gloeosporioides* que normalmente é encontrada associada a diversos hospedeiros, mostrou-se próxima da encontrada, porém exibe algumas diferenças morfológicas. Neste trabalho, não foi possível o cultivo deste fungo em meio de cultura, impedindo desta forma caracterizações complementares, tais como a cultura de apressórios (SUTTON 1980) e análise molecular (CANNON *et al.*, 2012). Ainda não houve relato de uma espécie de *Coletotrichum* neste hospedeiro, e o espécime encontrada na Mata Atlântica, trata-se possivelmente de espécie ainda a ser publicada de acordo com o C.I.N.

**Tabela 6.** Comparação entre espécies de *Colletotrichum* e o espécime encontrado em folhas de *Solanum swartzianum*.

ESPÉCIES DE <i>Colletotrichum</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	CONIDIOMA (diam.)	CONÍDIO ( $\mu\text{m}$ )	CÉLULA CONIDIOGÊNICA ( $\mu\text{m}$ )	SETA ( $\mu\text{m}$ )
<i>C. gloeosporioides</i> <sup>1</sup>	<i>Citrus</i> ( <i>Rutaceae</i> )	Pádua		9 - 24 $\times$ 3 - 4.5	-	-
= <i>C. mutinensi</i> <sup>2</sup>	<i>Humuli lupuli</i> ( <i>Cannabaceae</i> )	-	400 - 700	14 - 18 $\times$ 3	-	-
= <i>C. montemartinii</i> <sup>3</sup>	<i>Rohdea japonicae</i> ( <i>Asparagaceae</i> )	-	80 - 120	15 - 18 $\times$ 3.5 - 4	-	-
= <i>C. catechu</i> <sup>4</sup>	-	Filipinas	100 - 400	10 - 18 $\times$ 3.5 - 5	10 - 20	50 - 80 $\times$ 4 - 5
= <i>Gloesporium syringae</i> <sup>5</sup>	<i>Syringa alba</i> ( <i>Oleaceae</i> )	Munique		6 - 15 $\times$ 3 - 6	-	-
= <i>Gloesporium vanillae</i> <sup>6</sup>	<i>Vanilla</i> ( <i>Orchidaceae</i> )	Antióquia		18 - 25 $\times$ 5 - 6	-	-
<b><i>Colletotrichum</i> sp.</b>	<b><i>Solanum swartzianum</i></b> ( <i>Solanaceae</i> )	<b>Brasil</b>	<b>60 - 198</b>	<b>12 - 18 <math>\times</math> 4 - 6</b>	<b>5 - 11 <math>\times</math> 2 - 6</b>	<b>24 - 67 <math>\times</math> 4 - 7 [10]</b>

<sup>1</sup>Sutton (1980); <sup>2</sup>Saccardo (1902); <sup>3</sup>Traverso (1913); <sup>4</sup>Sydow & Sydow (1913); <sup>5</sup>Allescher (1895); <sup>6</sup>Cooke (1886)





**Figura 6: A-I.** *Colletotrichum* (provável espécie nova n°4) em folhas de *Solanum swartzianum*. **A.** Folhas de *S. swartzianum* com sintômas de manchas foliares. **B.** Colônias na parte adaxial das folhas. **C.** Detalhe do conidioma acervular visto em (MEV). **D.** Conidioma em corte transversal vertical. **E.** Seta. **F.** Células da parede. **G.** Grupo de células conidiogênicas com presença de setas. **H.** Detalhe da célula conidiogênica mostrando a conidiogênese enteroblástica. **I.** Conídios.



## 7.2 *Neopestalotiopsis* provável espécie nova no. 5

### Descrição:

*Manchas* foliares, até 40 mm de diâmetro, marrom-avermelhadas para pálidas, circulares, maioria irregulares, anfigenas (Fig. 7. A). *Colônias* 192-288 µm de diâmetro, anfigenas, conidiomas circular escuros (Fig. 7. B). *Conidioma* 24-85 × 65-193 µm, em corte transverso vertical, acervular, sub-epidermal, as vezes parcialmente irrompentes (Fig. 7. C). *Conidióforos* correspondem a células conidiogênicas com origem no interior do acérvulo. *Células conidiogênicas* 4.8-7.7 × 1-1.9 (2.9) µm, lageniformes, discretas, hialinas, parede lisa (Fig. 7. D e E). *Conídio* 20-23 × (5) 6-8 µm, fusóides, retos para ligeiramente curvados, 4 septos (Fig. 7. F). *Três Células medianas* (11.5) 12-14 × 5-9 µm, versicolor, marrom-escuro, septo entre a 3° e 4° mais escuro e largo em relação ao resto da célula (Fig. 8. A a G). *Segunda célula a partir da base* 4-6 × (4) 5-7 µm, marrom-pálido (Fig. 8. A a G). *Terceira célula a partir da base* 4-7 × (5) 6-9 µm, marrom-escuro (Fig. 8. A a G). *Quarta célula a partir da base* 4-6 (7) × 4-8 µm, marrom-escuro para oliváceo (Fig. 8. A a G). *Célula apical* 4-5 µm comprimento, hialina, obcônica, 2-4 apêndices (maioria 3), parede fina e lisa (Fig. 8. B a G). *Apêndices apical* 10-24 µm de comprimento, surgindo a partir do ápice apical, não espatulado, não ramificado, tubular (Fig. 8. B a G). *Célula basal* 3-5 µm de comprimento, cônica, hialina, parede fina e lisa (Fig. 8. B a G). *Apêndice basal* 3-6 µm de comprimento, filiforme, único, cêntrico, não ramificado (Fig. 8. B a G).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica. Viveiro Guapuruvu. BR 465, Km 07. UFRRJ. Em folhas de *Inga laurina* (*Fabaceae*). Leg. G.W. Abaurre; 1 (UFRRJ 280).

### Discussão:

As árvores filogenéticas foram construídas individualmente para cada um dos genes ITS, TUB e *TEF* e também considerando-se as três sequências concatenadas. Nas análises foram incluídas as 24 espécies de *Neopestalotiopsis* atualmente validadas (Tabela 7) juntamente com as espécies tipo *N. protearum* usada como base do gênero *Neopestalotiopsis*, a espécie tipo *Pseudopestalotiopsis theae* do gênero *Pseudopestalotiopsis* e o espécime em estudo.

De acordo com a análise filogenética com base nos dados de sequenciamento da região ITS, o isolado agrupou juntamente com 21 espécies de *Neopestalotiopsis* com alto valor de *bootstraps*, indicando que o mesmo pertence ao gênero *Neopestalotiopsis* proposto por (MAHARACHCHIKUMBURA *et al.*, 2014b) (Fig. 9). Como observado por estes autores apenas a região ITS não é apropriado para separação das espécies de *Neopestalotiopsis*, uma vez que espécies distintas apresentam a mesma sequência do ITS.

Dados de sequenciamento com região alvo ITS são relativamente pobres de informações para espécies de *Pestalotiopsis*, embora seja um marcador filogenético universal para fungos (SCHOCH *et al.*, 2012; MAHARACHCHIKUMBURA *et al.*, 2012b, 2014b). Apenas pela sequência da região ITS as espécies *N. cubana* e *N. saprophytica* são idênticas, mas a partir de uma árvore concatenada com os marcadores ITS, TUB e *TEF* eles são bem separados (Figura 10), indicando que o isolado possa ser uma possível nova espécie.

O uso da região alvo ITS, *TEF* e β-tubulina como marcadores moleculares são bastante usados e relatos evidenciando resultados robustos na resolução de espécies de *Pestalotiopsis*, tem sido reportado. Além disso, análises de sequências concatenadas do ITS, β-tubulina e *TEF* ou ITS, β-tubulina tem demonstrado melhor resolução entre espécies filogeneticamente próximas (HU *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2010; MAHARACHCHIKUMBURA *et al.*, 2012b,

2014b). Conforme ilustrado na (Fig. 10), baseado no resultado do alinhamento concatenado das regiões ITS,  $\beta$ -tubulina e *TEF*, observa-se que o isolado se agrupou no mesmo clado juntamente com *N. saprophytica*, embora, valor de *bootstrap* menor que 70%.

A espécime encontrada no Estado do Rio de Janeiro, Brasil estava associada a manchas foliares em *I. laurina*. De acordo com os dados das análises moleculares nota-se que as espécies mais próximas foram: *N. cubana*; *N. clavispota* e *N. saprophytica*, onde a espécie aqui descrita difere da primeira por formar células conidiogênicas [4.8- 7.7  $\times$  1-1.9(2.9)  $\mu$ m] mais curtas, conídios [20-23  $\times$  (5)6-8  $\mu$ m] um pouco mais curtos e estreitos e célula basal lisa. Difere de *N. clavispota* por formar células conidiogênicas [4.8- 7.7  $\times$  1-1.9(2.9)  $\mu$ m] mais curtas, conídios [20-23  $\times$  (5)6-8  $\mu$ m] mais curtos, célula apical (4-5  $\mu$ m) de comprimento, mais longa, apêndice apical (10-24  $\mu$ m) de comprimento, mais curto e célula basal lisa e finalmente difere de *N. saprophytica* por apresentar conídios [20-23  $\times$  (5)6-8  $\mu$ m] um pouco mais largos e curtos, célula basal (3-5  $\mu$ m) de comprimento, mais curta e apêndices apical e basal (10-24  $\mu$ m) de comprimento, (3-6  $\mu$ m) de comprimento, mais curtos, respectivamente.

Embora filogeneticamente relacionados com *N. saprophytica*, morfologicamente o espécime isolado apresenta diferenças dimensionais, sendo proposta como uma possível nova espécie dentro do gênero *Neopestalotiopsis* (Tabela 8). Vale destacar que, considerada a distância filogenética, a nova espécie possui aproximadamente 2% de diferença na similaridade com *N. saprophytica*, sendo uma distância maior do que as que possuem *N. honoluluana* e *N. zimbabwana*, e entre outras também.

**Tabela 7.** Espécies de *Neopestalotiopsis* validadas pelo *Index fungorum* e o espécime encontrado na Mata Atlântica.

ESPÉCIES DE <i>Neopestalotiopsis</i>	CONIDIOMA (EM PDA) (µm)	CÉLULA CONIDIOGÊNICA (µm)	CONÍDIO (µm)	CÉLULA BASAL (µm)	TRÊS CÉLULAS MEDIANAS (µm)	SEGUNDA CÉLULA (µm)	TERCEIRA CÉLULA (µm)	QUARTA CÉLULA (µm)	CÉLULA APICAL (µm)	APÊNDICES APICAL (µm)	APÊNDICES BASAL (µm)
<i>N. aotearoa</i>	200-450 diam. Picnidial	5-20 × 2-10 Apice 2-5 diam.	[19.5] 21-28 [29] x [6] 6.5-8.5 [9] 4septos;	4-6.5 comp.	[13] 14-18 [18.5] comp.	4-6 comp.	3.5-7 comp.	4-6.5 comp.	3.5-5.5 comp. 2-3 taa;	[3] 5-12 [13] comp.	1.5-4
<i>N. australis</i>	100-500 diam. Picnidial	5-12 x 2-7 Apice 1-2 diam.	[19] 21-17 [28] x [7] 7.5-9 [9.5] 4septos;	3.5-5.5 comp.	(13) 14-18 (18.5) comp.	3.5-6.5 comp.	4-7 comp.	5-6.5	3-6 comp. 3-4 taa;	[19] 21-32 [34] comp.	3-7 comp.
<i>N. cubana</i>	Acima de 250 diam. Picnidial	5-12 x 2-4	[19] 20-25 [27] x [7.5] 8-9.5 [10] 4septos;	3-5 comp.	[13.5] 14-16.5 [17.5] comp.	4.5-6 comp.	4.5-6.5 comp.	4-5.5 comp.	4-5 comp. 2-4 taa;	[19] 21-27 [28] comp.	4-7 comp.
<i>N. eucalypticola</i>	100-400 diam. Picnidial	3-10 x 2-8 abertura 2-6 diam.	[22] 23-30 [31] x [9] 7.5-9 [9.5] 4septos;	5-7 comp.	[15.5] 16- 19.5 [20] comp.	5-7 comp.	4.5-7.5 comp.	5-7 comp.	4.5-7.5 comp. taa 1-2;	[20] 32-55 [66] comp.	6-11 comp.
<i>N. formicarum</i>	200-500 diam. Picnidial	3-10 x 2-5 Apex 1-3 diam.	[20] 21-28 [29] x 7.5-9.5 4septos;	4.5-6 comp.	[14]15-16.5 [17] comp.	4-6.5 comp.	4-6 comp.	4.5-6.5 comp.	4-5.5 comp. 2-3 taa;	[20] 23-33 [36] comp.	4-8 comp.
<i>N. honoluluana</i>	100-400 diam. Picnidial	5-20 x 2-6 abertura 1-3 diam.	[21] 24-34 [35] x [7] 7.5-9.5 [10] 4septos;	4.5-7 comp.	[14.5] 15-20 [21] comp.	4.5-7 comp.	4-6.5 comp.	5.5-7.5 comp.	4-7.5 comp. 3 taa;	[22] 23-40 [47] comp;	2.5-10 comp.
<i>N. javaensis</i>	Acima de 250 diam. Picnidial	5-25 x 3-10 Apice 2-4 diam.	[24] 25-30 [31] x [6.5] 7-8.5 [9] 4septos;	4.5-6.5 comp.	[14.5] 15-18.5 [19] comp.	5-7 comp.	5-7 comp.	5.5-7.5 comp.	3.5-5.5 comp. 1-3 taa;	2-10 [18] comp.	2-4 comp.
<i>N. mesopotamica</i>	Acima de 250 diam. Picnidial	8-20 x 2-7	[20] 26-32 [34] x [7] 7.5-9 [9.5] 4septos;	6-7.5 comp.	[17] 17.5-20 [21] comp.	5-7.5 comp.	5.5-7.5 comp.	6.5-7.5 comp.	4.5-6 comp. 3-4 taa;	[25] 28-38 [41] comp.	4-6.5 comp.

**Tabela 7. Continuação**

<i>N. foedans</i> (holotype)		Discreta,	19-24 × 5.7-6.9 4septos;	3-2 × 4-5 comp.	12.5-14.6 comp.	4.3-5.7	4.7-6 comp.	4.5-5	4-5 comp. 2-3 taa;	6-18 comp.	3-5
<i>N. foedans</i> (epitype)		2-4	19.2-23.4 × 5.6-7 4septos;	3-2 × 5 comp.	12.7-15.3 comp.	4.1-5.2	4.7-5.3 comp.	4.9-5.7	3.3-4.4 comp. 2-3 taa;	8-15 comp.	3-6
<i>N. saprophytica</i>		Discreta ou integrada;	22-30 × 5-6 4septos;	4-7 comp.	14-20 comp.	4.5-7	4-5	4-6 comp.	4-5 comp. 2-4 taa;	23-35 comp.	4-7 comp.
<i>N. umbrinospora</i>		Discreta ou integrada;	19-25 × 6-8 4septos;	3-4.5 comp.	12-14 comp.	3-4.5	3.5-5	3.5-4.5	3-4.5 comp. 1-3 taa;	22-35 comp.	5-7
<i>N. magna</i>	200-400 diam. Picnidial	3-8 × 2-6	[40] 42-46 [47] × [9] 9.5-12 4septos;	8.5-9 comp.	[30] 31- 33.5 [34] comp.	9.5-11.5 comp.	9.5-11 comp.	10.5-12 comp.	5-8 comp. 2-4 taa;	[10] 16-26 [30] comp.	11-15 comp.
<i>N. steyaertii</i>	300-500 diam. Picnidial	5-12 × 2-4	[25] 27-34 × 7-9.5 [10] 4septos;	6-8 comp.	[16] 18-23 [25] comp.	6-8 comp.	7-9	6-9	6-8 comp. 1-5 taa;	[17] 20-31[34] comp.	2-6 comp.
<i>N. protearum</i>	No hospedeiro [100] 195-240 [400] picnidial para acervular.	[4] 5.5-6.5 [8] × [2] 4-5 [6]	Elipsoidal para obovoide, 4septos;	[3.5] 5-6 [7.5] × 4-4.5 [6]	[4] 16-17 [8] × [6.5] 8-9 [10]	[4] 5-5.5 [6]	[4] 5-6 [7]	[4] 5.5-6 [7] comp.	[3] 3.5-4.5 [6] × [3] 3.5-4 [5] 2-4 taa;	[15] 26-32 [43] comp.	[2] 4.5-6 [9]
<i>N. protearum</i> ( <i>in vitro</i> )			Elipsoidal para obovoide, 4septos;	[4] 5-6 [8] × 4-4.5 [5]	[14.5] 16-17 [19] × [6] 7-7.5 [8] comp.	[5] 5.5-6 [7] comp.	[4] 5-5.5 [7] comp.	[4.5] 5-5.5 [6]	[3.5] 4-4.5 [5] × 3.5-4 [5] 2-4 taa;	[10] 15-17 [22] comp.	[2] 3-3.5 [5]

**Tabela 7. Continuação**

<i>N. piceana</i>	100-300 diam. Picnidial	4-12 × 2-10	Apice 2-5 diam.	[19] 19.5-25 [26] × [6] 7.5-9 [9.5] 4septos;	3.5-5.5 comp.	[13] 13.5-16 [16.5] comp.	4-6 comp.	4.5-6.5 comp.	6-7 comp.	3-6 comp. 3 taa;	[19] 21-31 [33] comp.	6-23 comp.
<i>N. rosae</i>	100-300 diam. Picnidial		5-20 × 2-8	[20] 22-37 [29] × [7] 7.5-9.5 [10.5] 4septos;	3.5-6 comp.	[14] 14.5-18 [18.5] comp.	4.5-6.5 comp.	5-7 comp.	5-7 comp.	3.5-5.5 comp. 3-5 taa;	[22] 24-31 [33] comp.	3-8 comp.
<i>N. surinamensis</i>	Acima de 350 diam. Picnidial	4-10 × 2-6	Apice 1-2 diam.	[23] 24-28 [29] × [7] 7.5-9 [9.5] 4septos;	5-7.5 long.	[14.5] 15-17 [17.5] comp.	5.5-6.5 comp.	5-6.5 comp.	4.5-6 comp.	4-5.5 comp. 2-3 taa;	[15] 18-27 [28] comp.	5-7 comp.
<i>N. zimbabwana</i>	150-400 diam. Picnidial	5-15 × 3-8	Apice 2-5 diam.	[22] 23-29 [30] × [6.5] 7-8.5 [9] 4septos;	3.5-5.5 long.	[15] 15.5-17.5 [18] comp.	4.5-6.5 comp.	4.5-6.5 comp.	5-7 comp.	4-6.5 comp. 2-3 taa;	[18] 23-35 [41] comp.	3-9.5 comp.
<i>N. asiatica</i>			3-12 comp..	20-26 × 5-7 4septos;	3-5 long.	13-15.5 comp.	4.5-5.5 comp.	4-5 comp.	4-5 comp.	3.5-5 comp. 2-4 taa;	20-30 comp.	4-8 comp.
<i>N. chrysea</i>			Discreta ou integrada,	20-24 × 5.5-7 4septos;	3-5 long.	14-16 comp.	4-5	4-5	4-5	3.5-4.5 comp. 3 taa;	22-30 comp.	3-6 comp.
<i>N. clavispora</i> (holotype)	150-250 diam.			18-26 × 6.5-8.5 4septos;	4-5 long.	13.7-15.3 comp.	4.3-5.3	5.5-6.4	4.5-5.8	3.3-4.2 comp. 2-3 taa; 3-5 comp.	19-30 comp.	presente; filiforme
<i>N. clavispora</i> (epitype)			4-10 comp.	20-24 × 6-8 4septos;	3-5 long.	13-15 comp.	4-5	4-5	4-5	2-3 taa;	22-32 comp.	3-5.5

**Tabela 7. Continuação**

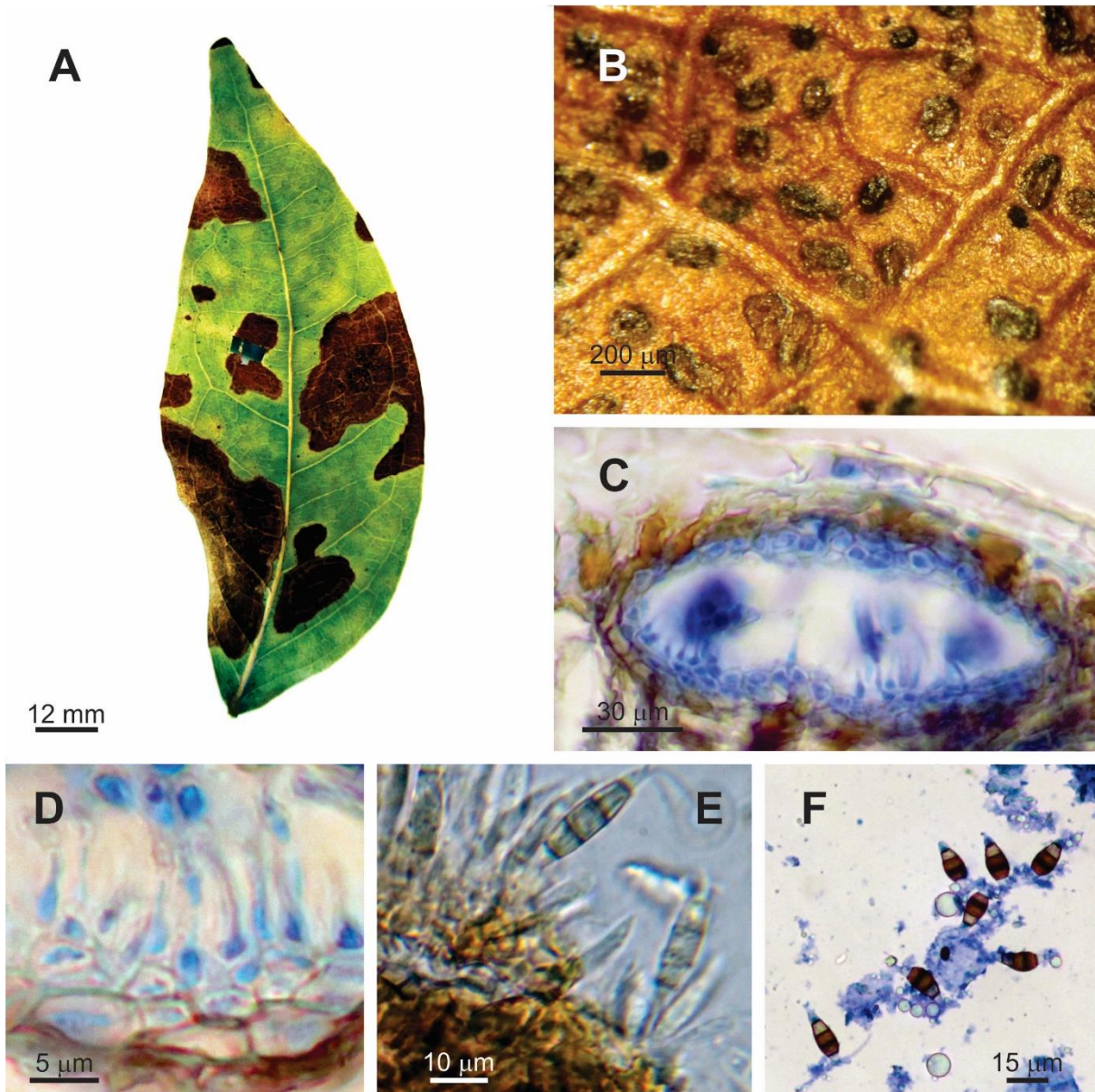
<i>N. samarangensis</i>	Acervular 80-150 × 100 -350	Discreta	18-21 × 6,5-7,5 4 septos	3,5-4,8 comp.	12,8-13,8 comp.	4,3-5,3 comp.	3,7-5 comp.	4,5-5,3	2,5-4,6 comp. 3 taa	12-18 comp.	3,5-5,2 comp.
<i>N. ellipospora</i>			19-25 × 5-6,5 4 septos	4-5 comp.	13-15 comp.	4-5	4-5	4-5	3-4 comp. 1-3 taa	5-12 comp.	3-4 comp.
<i>N. natalensis</i>	50-150 diâm. Picnidial	4-10 × 3-9	23-29 × 8-10 4 septos	4-7 comp.	16-19 comp.	5,5-8 comp.	5,5-8 comp.	5-7 comp.	4-6,5 comp. 3-5 taa	18-32 comp.	2-8 comp.
<i>Espécime encontrado</i>	Acervular 96-288 µm diâm. no hosp. Em corte 24-85 × 65-193 µm	5-8 × 1-2 [3]	20-23 6-9 4 septos	3-5 comp.	12-14 × 5-9	4-6 × 5-7 comp.	4-7 × 6-9 comp.	4-6 × 48 comp.	4-5 comp. 2-4 taa	10-24 comp.	3-6 comp.

Maharachchikumbura *et al.* (2014b).

**Tabela 8.** Comparação entre espécies de *Neopestalotiopsis* e o espécime encontrado baseado nos resultados das análises filogenéticas.

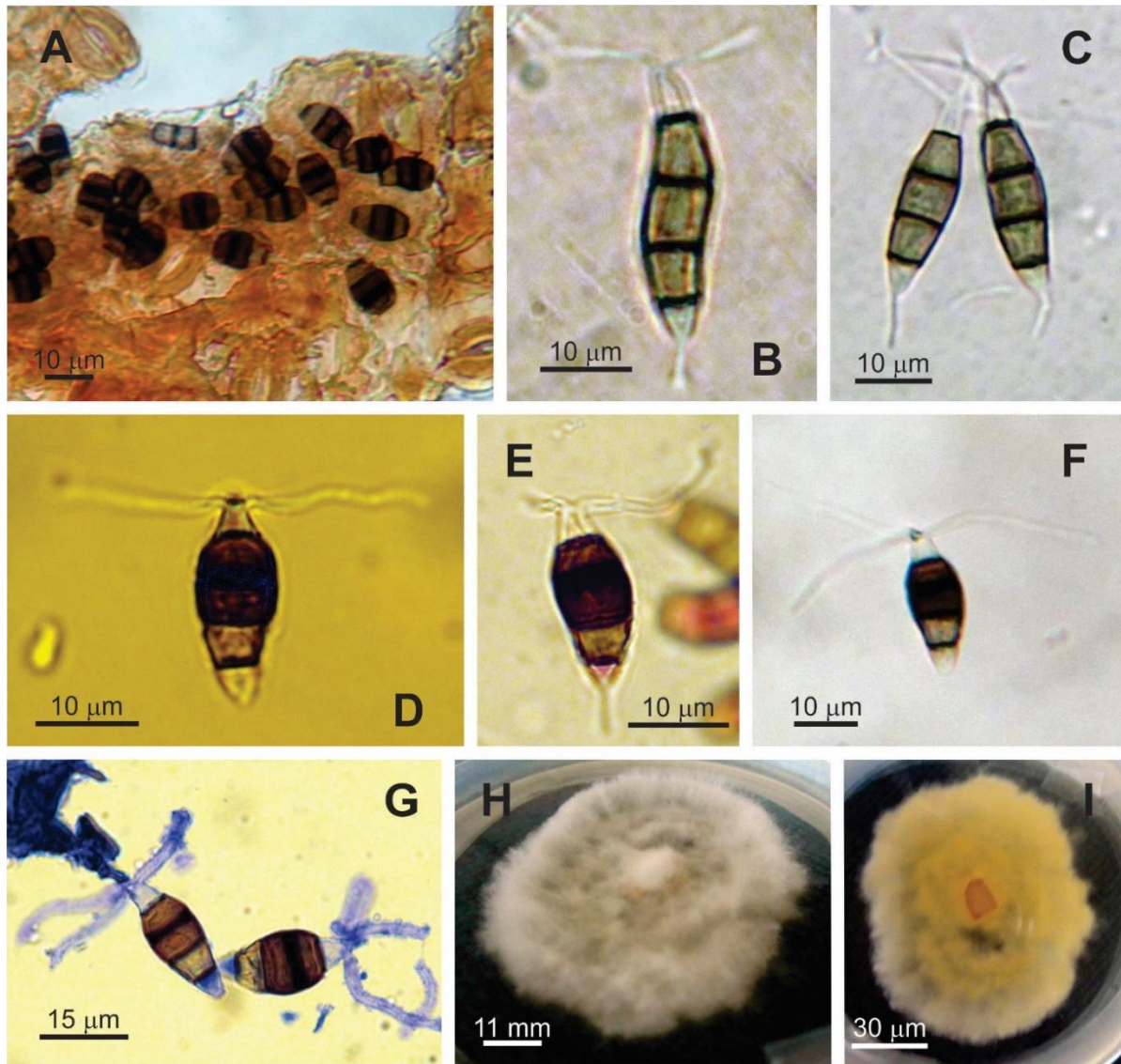
ESPÉCIES DE <i>Neopestalotiopsis</i>	CÉLULAS CONIDIOGÊNICAS	CONÍDIO	CÉLULA BASAL	CÉLULAS MEDIANAS	SEGUNDA CÉLULA	TERCEIRA CÉLULA	QUARTA CÉLULA	CÉLULA APICAL	APICAL APÊNDICES	BASAL APÊNDICES
<i>N. cubana</i> <sup>1</sup>	5-12 × 2-4 µm ou 3-8 × 1-4 ampulliforme p/ lageniforme	[19] 20-25 [27] × [7.5] 8-9.5 [10] µm	3-5 µm comp.	[13.5] 14-16.5 [17.5] µm comp.	4.5-6 µm comp.	4.5-6.5 µm comp.	4-5.5 µm comp.	4-5 µm comp. 2-4 taa;	[19] 21-27 [28] µm comp.	4-7 µm comp.
<i>N. clavispora</i> <sup>2</sup> ( <i>epitype</i> )	4-10 µm long.	20-24 × 6-8 µm	3-5 µm comp.	13-15 µm comp.	4-5 µm	4-5 µm	4-5 µm	3-5 µm comp. 2-3 taa;	22-32 µm comp.	3-5.5 µm
<i>N. clavispora</i> <sup>2</sup> ( <i>holotype</i> )		18-26 × 6.5-8.5 µm	4-5 µm comp.	13.7-15.3 µm comp.	4.3-5.3 µm	5.5-6.4 µm	4.5-5.8 µm	3.3-4.2 µm comp. 2-3 taa;	19-30 µm comp.	Presente
<i>N. saprophytica</i> <sup>2</sup> ( <i>saprophyta</i> )	Discreta ou integrada; lageniforme	22-30 × 5-6 µm	4-7 µm comp.	14-20 µm comp.	4.5-7 µm	4-5 µm	4-6 µm comp.	4-5 µm comp. 2-4 taa;	23-35 µm comp.	4-7 µm comp.
<b>Espécime encontrado</b>	<b>4.8-7.7 × 1-1.9 [2.9] µm</b>	<b>[19] 20-23 × [5] 6-8 µm</b>	<b>3-5 µm comp.</b>	<b>[1.5] 12-14 × 5-9 µm</b>	<b>4-6 × [4] 5-7 µm</b>	<b>4-7 × [5] 6-9 µm</b>	<b>4-6 [7] × 4-8 µm</b>	<b>4-5 µm comp. 2-4 taa;</b>	<b>10-24 µm comp.</b>	<b>3-6 µm comp.</b>

<sup>1</sup>Maharachchikumbura *et al.* (2014b); <sup>2</sup>Maharachchikumbura *et al.* (2012b).

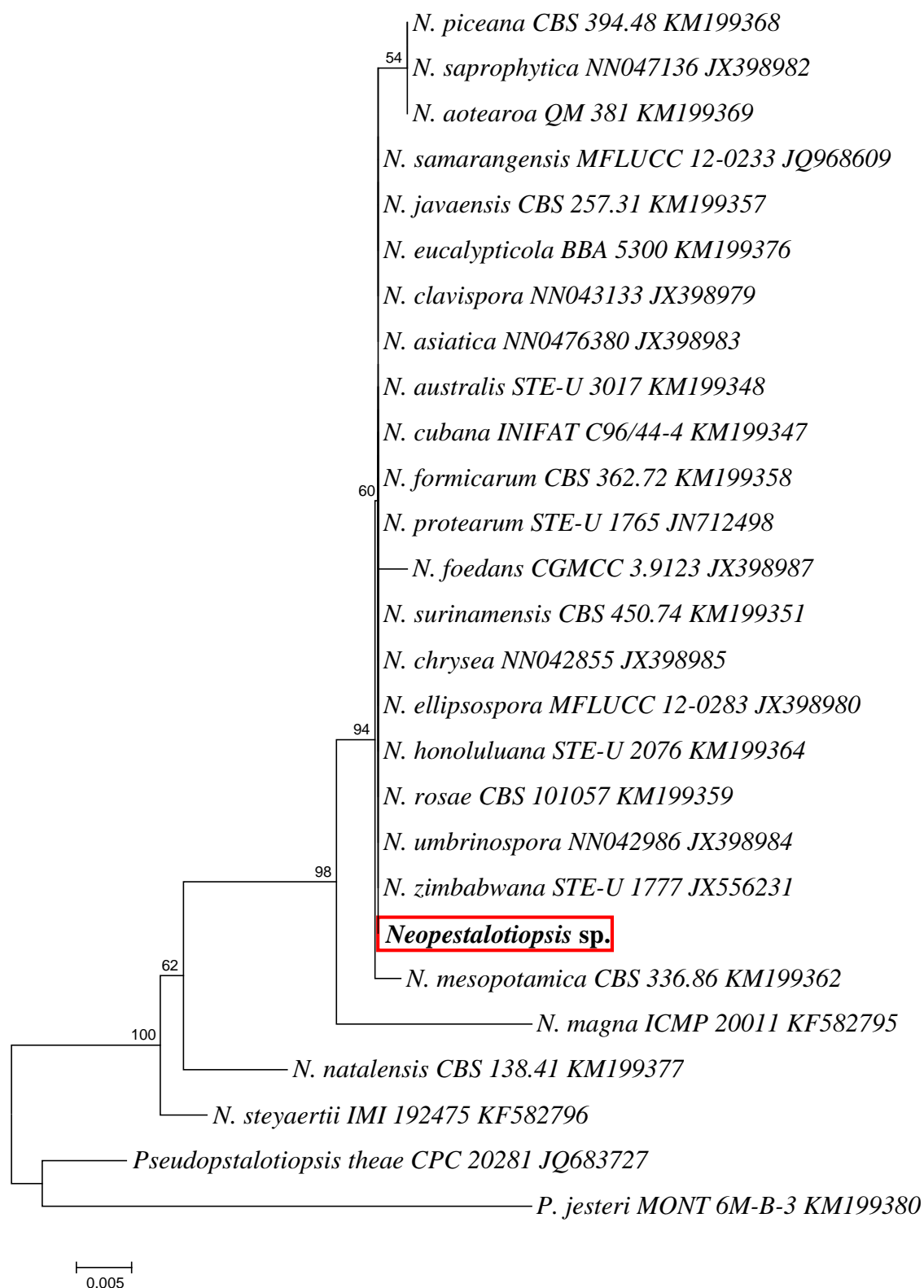


**Figura 7:** A-F. *Neopestalotiopsis* (provável espécie nova n°5) em folhas de *Inga laurina*. **A.** Lesões em folha de *I. laurina*. **B.** Colônias anfígenas. **C.** Conidioma acervular em corete transversal vertical. **D.** Células conidiogênicas em corte transversal vertical. **E.** Células conidiogênicas em maceração dando origem a conídios. **F.** Conídios.

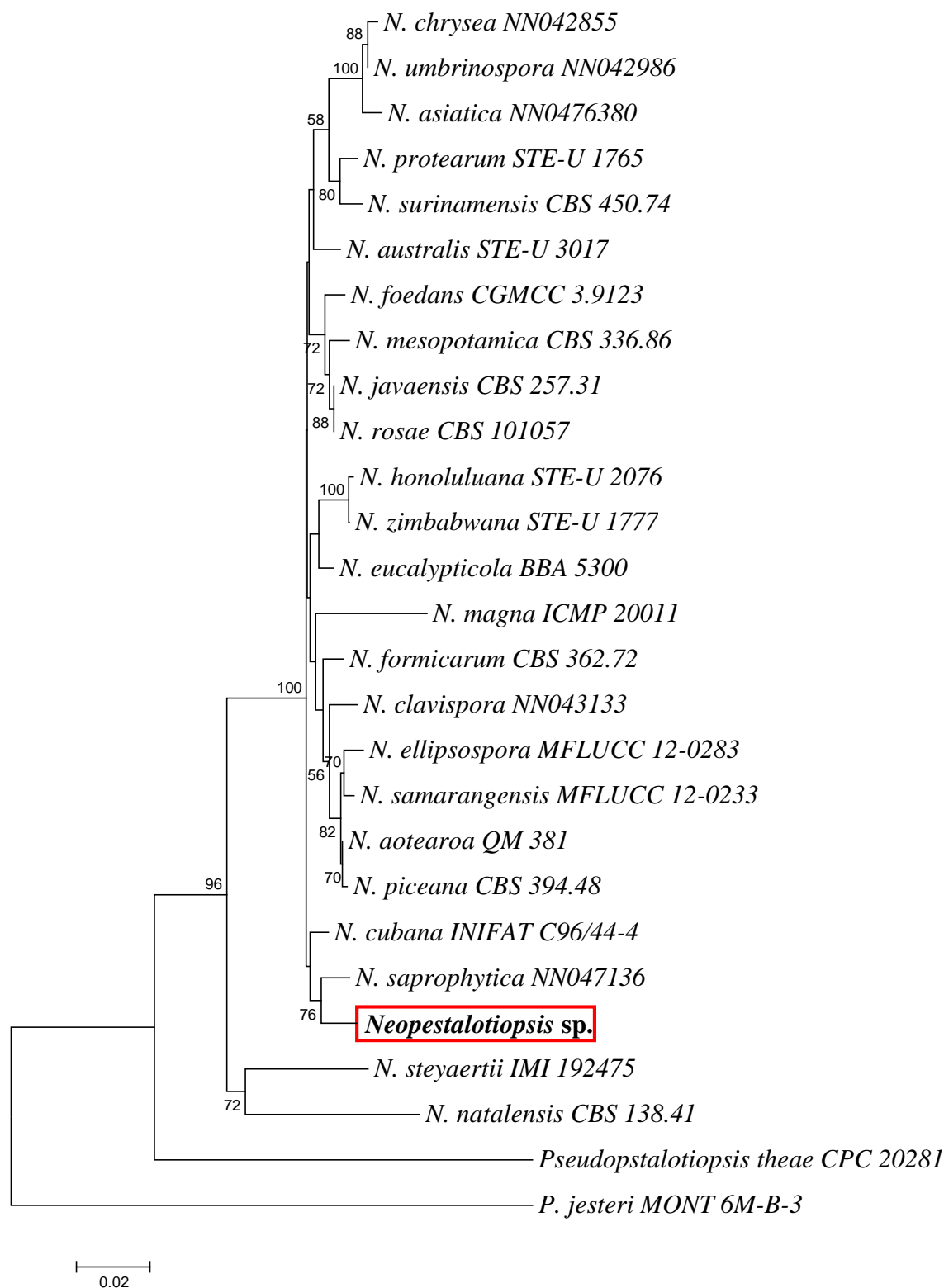




**Figura 8:** A-G. Conídios versicorados. H-I. Colônia de *Neopestalotiopsis* sp. em BDA. H. Vista de cima. I. Vista de baixo.



**Figura 9:** Árvore filogenética baseada na região ITS do rDNA do isolado *Pestalotiopsis* através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 0,5 substituição a cada 100 nucleotídeos.



**Figura 10:** Árvore filogenética baseada na região ITS,  $\beta$ -tubulina e *TEF* do rDNA do isolado *Pestalotiopsis* através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 2 substituições a cada 100 nucleotídeos.

## 8. CAPÍTULO III

### ASCOMICETOS ASSOCIADOS A VEGETAÇÃO ARBÓREA DO PARQUE NATURAL MUNICIPAL CURIÓ DE PARACAMBI, RJ

Os ascomicetos descritos, discutidos e ilustrados neste capítulo pertencem a um gênero novo (provável *Diatrypaceae*), algumas espécies do gênero *Apiospora*, *Meliola*, *Perisporiopsis*, *Asterinella*, *Scolecobonaria*, *Myriangium*.

#### Gênero novo (provável *Diatrypaceae*)

A família *Diatrypaceae* Nischke, pertence a subclasse *Xylariomycetidae*, ordem *Xylariales* dentro do Filo (ou Divisão) *Ascomycota* (Kirk et al., 2008; Hibbet et al., 2007). Nesta família, estão contidos 13 gêneros (+ 20 sin.) distribuídos em 229 espécies. Os principais representantes são *Cryptosphaeria* (Ces. & de Not), *Cryptovalsa* (Ces. & de Not.), *Diatrype* Fr., *Diatrypella* (Ces. & De Not) De Not.; *Eutypa* Tul & C. Tull.; *Eutypella* (Nitschke) Sacc.; *Quartenaria*.

Morfologicamente, membros da família *Diatrypaceae* são caracterizados por formarem ascomas periteciais, imersos em um pseudo ou euestroma, frequentemente com pescoço longo, com ostíolos sulcados, perfisados, aparecendo às vezes como pontuações na superfície do estroma. Tecido interascal composto por paráfises cilíndricas. Ascos com pedicelos longos, ápice mais ou menos truncado, e frequentemente corando-se de azul com adição de iodo J+. Ascósporos marrom-claros, alantóides (GLAWE & ROGERS 1984). Fungos conhecidos por também formarem ascósporos alantóides estão inseridos na família *Nitschkiaceae* como observado na (Tabela 6) (SACCARDO 1944).

Baseado nos dados da literatura, os gêneros inseridos na família *Diatrypaceae* são conhecidos por formarem seus estromas na superfície de ramos, galhos, hastes e troncos mortos (VIÉGAS, 1944; SACCARDO, 1944a). Algumas espécies têm sido associadas a podridões da haste da videira (TROUILLAS et al., 2010; ALFONSO et al., 2015). De acordo com Chacón et al. (2013), *Eutypella semicircularis* foi isolado a partir da superfície de galhos mortos de *Alnus acuminata* com cerca de 50 ou mais de 100 peritécios por estroma e apresenta ascósporos alantóides para semicirculares, quase circulares, marrons avermelhados, assim como a espécie *Eutypella cryptovalsoidea* isolada a partir de cascas da madeira de *Ficus carica* com peritécios em grandes grupos e ascósporos alantóides para sub-alantóides, amarelados (TROUILLAS et al., 2011).

***Apiospora* Sacc., Atti Soc. Veneto-Trent. Aci. Nat., Padova, Sér. 4 4: 85 (1875).**

**Espécie-tipo:** *Apiospora montagnei* Sacc., in: *Nuovo Giorn. Bot. Ital.* 7: 306 (1875).

**Anamorfo:** *Arthrimum* Kunze, in Kunze & Schmidt, *Mycologische Hefte* (Leipzig) 1: 9 (1817).

**Anamorfo:** *Cordella* Spig., *Anal. Soc. cient. argent.* 22 (4): 210 (1886)

Estromas imersos na epiderme em colmos de gramíneas, formando manchas acinzentadas na superfície o qual se abrem longitudinalmente, contendo peritécios abaixo. Ascos cilíndrico-clavados, curto pedicelados; ascósporos elipsoidais, hialinos com um septo perto da porção terminal.

**Asterinella Theiss., *Annls mycol.* 10 (2): 160 (1912).**

**Espécie-tipo:** *Asterinella puiggarii* (Speg.) Theiss., *Brotéria, sér. bot.* 10 (2): 116 (1912).

**Anamorfo:** *Asterostomula* Theiss., *Annls mycol.* 14(3/4): 270 (1916).

*O gênero Asterinella se caracteriza por englobar fungos foliícolas, de ampla ocorrência nos trópicos, formando ascomas escutelares superficiais, com um poro lisígeno arredondado; formando micélio superficial sem apressório (anteriormente hifopódio ver: Mibey & Hawksworth, 1995); ascos geralmente clavados, bitunicados; ascósporos em sua maioria marrons, elipsoides.*

**Meliola Fr., *Syst. orb. veg. (Lundae)* 1: 111 (1825)**

**Espécie-tipo:** *Meliola nidulans* (Schwein.) Cooke, *Grevillea* 11(no. 57): 37 (1882)

**Anamorfo:** desconhecido

*São fungos foliícolas, superficiais, formando micélio com setas e apressoriado; apressório geralmente 2 tipos, 1 captado e outro mucronado ou fialídico; ascomas globosos superficiais, forma ascos evanescentes, unitunicados, contendo ascósporos com vários septos (4-5), marrons.*

**Myriangium Mont. & Berk., in: *Berkeley, London J. Bot.* 4: 72 (1845)**

**Espécie-tipo:** *Myriangium duriaei* Mont. & Berk., in: *Berkeley, London J. Bot.* 4: 73 (1845)

*Fungos saprofíticos ou parasíticos, frequentemente associados à cochonilhas. Ascomas pulvinados ou esféricos, contendo ascos em cavidades monoascas em 2 ou mais fileiras. Ascos amplamente clavados ou arredondados, bitunicados, aparafisados, contendo ascósporos hialinos, dictioseptados.*

**Perisporiopsis Henn., *Hedwigia* 43: 83 (1904)**

**Espécie-tipo:** *Perisporiopsis struthanthi* Henn., *Hedwigia* 43: 83 (1904)

**Anamorfo:** *Septoidium* G. Arnaud, *Annls Épiphyt.* 7: 106 (1921)

*Fungos superficiais, foliícolas, formando ascomas arredondados, marrons, sobre micélio superficial com estomatopódio; ascos clavados ou amplamente clavados, parafisados, bitunicados; ascósporos 1-3-septados, frequentemente fusiformes ou elipsoidais.*

**Scolecobonaria Bat., in: *Batista & Ciferri, Beih. Sydowia* 3: 97 (1962)**

**Espécie-tipo:** *Scolecobonaria filiformis* (W. Yamam.) Bat., in: *Batista & Ciferri, Beih. Sydowia* 3: 97 (1962)

*Micélio superficial, com hifas ramificadas. Ascomas cobertos por um manto hifálico, não setoso; ascos clavados, pedicelados, bitunicados; ascósporos fragmoseptados, hialinos, alongados-fusiformes.*

## 8.1 Provável gênero novo no. 1 (e possível espécie nova no. 6)

### Descrição:

*Colônias* 0,2-0,4 mm de diâmetro, crustosas, escuras, hipófilas, a parte superior apresenta determinadas fissuras dispostas verticalmente e crescimento estromático irregular, localizada sobre as nervuras das folhas (Fig. 12. B e C; Fig. 10. C e D). *Ascomas* 168-576 × 240-648 (672) µm, escuro, abrindo-se na porção superior por fissuras lisígenas (Fig. 11. F e G). *Células da parede* 8-16 µm de diâmetro, grossa, escura, com *textura angularis* (Fig. 11. H). *Ascos* 14-23 × 4-5 µm, numerosíssimos, clavados, octospóricos, pedicelo não muito longo, parede muito fina apresentando dificuldade de visualização sob microscópio, quando em massa apresentam coloração de tonalidade marrom-pálido a marrom escuro-amarelado (Fig. 11. I e J). *Ascósporos* 5-6 × 1-2 µm, alantóides, lisos, hialinos, envolto em mucilagem, escuros quando em massa dentro dos ascos (Fig. 11. K).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi, PNMCP, 19 Dez. 2013. Em folhas de *Justicia wasshauseniana* (*Acanthaceae*). Leg. P.S. Medeiros. 19; (UFRRJ 298).

### Discussão:

Baseado em dados de sequenciamento da região ITS, uma árvore filogenética foi construída (Fig. 13) e o espécime em estudo ficou próximo do clado o qual está incluído as espécies *Eutypella cryptovalsoidea* e *Eutypella semicircularis* ambos pertencem a família *Diatrypaceae*.

O espécime em estudo diferencia-se dos demais gêneros que apresentam ascósporos alantóides, por caracterizar-se em formar seus estromas estritamente na região inferior do limbo foliar e localizados sobre as nervuras das folhas e não em cascas, ramos ou galhos em decomposição.

Outra característica do espécime em estudo é que um grande número de ascos são observados em lâminas microscópicas e conforme ilustrado na (Tabela 9), diferencia-se morfometricamente em certas estruturas, onde, *E. semicircularis* e *E. cryptovalsoidea* apresentam ascos mais compridos e mais largos [20 - 30 (35) × 10 - 15 µm] e (60 - 120 × 15 - 20 µm) respectivamente em comparação com o espécime estudado que possui dimensões menores [14 - 23 × 4 - 5 µm], os ascósporos são ligeiramente mais curtos [ 5 - 6 × 1 - 2 µm] quando comparado a *E. semicircularis* [4.5 - 7 (11) × 1.5 - 2 (2.5) µm] e bem mais curto quando comparado com *E. cryptovalsoidea* que apresenta [8 - 12 (13.5) × 2 - 3 µm].

A partir da comparação com sequências depositadas no banco de dados do Centro Nacional de Informações Biotecnológicas (*NCBI*), foi possível observar que a família *Diatrypaceae* comparada a outras está muito longe de estar resolvida baseada em técnicas moleculares e características morfológicas são usadas para esclarecer relações filogenéticas dentro do gênero (ACERO *et al.*, 2004; CARMARÁN *et al.*, 2006; TROUILLAS *et al.*, 2011) e muitas espécies tipo não estão depositadas o que dificulta uma análise mais apurada. Entretanto, com base na análise filogenética e nos resultados morfológicos observados foi possível constatar que o fungo encontrado, trata-se de um gênero distinto de outros membros de *Ascomycota* com ascósporos alantóides (ex. *Diatrypaceae*; *Nitschkiaceae*) (Fig. 13; Tabela 9).

Nota-se pela tabela que, os fungos mais próximos ora comparados foram:

*Diatrypella* (Ces. & De Not.) De Not. e *Eutypella* (Nitschke) Sacc., formam ascomas imersos em estromas bem desenvolvidos e ascos contendo ascósporos alantóides, similar ao fungo aqui estudado. Porém, ambos ocorrem em cascas de material lenhoso morto, diferindo do fungo encontrado em *J. wasshauseniana*; cabe salientar que *Diatrypella* forma ascos com um número superior de ascósporos ou seja polispóricos (Müller & Arx, 1973) e *Eutypella* com ascos longo-pedicelados.

*Fracchiaca* Sacc., também forma ascos numerosos e com ascósporos alantóides, também numerosos, porém difere por formar ascomas somente crustosos, que apesar de lembrar o fungo aqui em estudo, possuem poros atípicos na parede do ascoma, denominados de “Munk Pores”, característica típica de membros de *Nitschkiaceae* Nannf., diferindo também por apresentar hábito saprofítico e alguns liquenícolas e não foliícola como o fungo encontrado na Mata Atlântica.

Coletas de amostras de *J. wasshauseniana* ocorreram ao longo de dois anos e não foram observadas lesões ou sinais de danos a planta, o que sugere uma provável interação benéfica entre fungo-hospedeiro, dois testes de patogenicidade foram realizados, uma vez que o fungo pode ser um possível endófito. Entretanto não foi observado o crescimento do mesmo nas folhas. Estudos adicionais visando comprovar esta hipótese serão efetuados no futuro. Porém, baseado nos dados obtidos neste trabalho o fungo encontrado, trata-se seguramente de um novo gênero que terá sua publicação efetiva de acordo com as regras do CIN. Conclui-se que o espécime encontrado na mata Atlântica se trata de um provável gênero novo associado a folhas de *J. wasshaseniana*, sendo possivelmente da família *Diatrypaceae*.

**Tabela 9.** Comparação entre membros de *Ascomycota* que apresentam ascósporos alantóides e o espécime estudado.

FUNGOS	PLANTA HOSPEDEIRA	HABITAT	ASCOMA ( $\mu\text{m}$ )	ASCO ( $\mu\text{m}$ )	ASCÓSPORO ( $\mu\text{m}$ )
<i>Diatrypella exigua</i> <sup>1</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Salix</i> sp. ( <i>Salicaceae</i> )	Ramos	350 - 400 diâm. Carbonáceos, agrupados	80 - 85 $\times$ 10 - 11 Clavados, longos, pedicelados, multispóricos	6 - 8 $\times$ 1,5 - 2 Alantóides, pardos
<i>Quaternaria carpinicola</i> <sup>2</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Fagus</i> sp. ( <i>Fagaceae</i> )	Troncos mortos	430 - 630 diâm. Escuros	37 - 50 $\times$ 3,5 - 6 Cilíndricos ou clavados	7,5[6,5] - 10 [12,5] - 2 - 2,5 Alantóides, acastanhado
<i>Dothideovalsa tucumanensis</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Beloperone</i> sp. <i>Justicia</i> sp. ( <i>Acanthaceae</i> )	Hastes vivas/Hastes	Carbonáceos, globosos, glabrosos	18 - 20 $\times$ 3 - 4 Longos, pedicelados, 8 esporos	4 - 6 $\times$ 1 Botuliformes, hialinos/ coloridos, lisos
<i>Eutypella prunastris</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Crataegi oxyacanthae</i> ( <i>Rosaceae</i> )	Ramos	-	30 - 40 $\times$ 5 - 7	10 - 12 $\times$ 2,5 - 3
<i>Eutypella gleditschiae</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Gleditschiae triacanthy</i> ( <i>Fabaceae</i> )	Ramos	Globoso, ovóide	35 - 40 $\times$ 6 - 8 Clavados	10 - 12 $\times$ 2 Alantóides, amarelo- esverdeado pálido
<i>Eutypella stenocalicys</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	" <i>Stenocalicys brasiliensis</i> "*	Ramos	Subgloboso	20 - 30 $\times$ 4 - 6 Fusóides	6 - 8 $\times$ 2 Alantóides, obtusos, fusóides
<i>Eutypella chilensis</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Eugenia multiflorae</i> ( <i>Myrtaceae</i> )	Ramos	120 - 150 diâm. Subgloboso	40 $\times$ 7 - 8 Clavados, aparafisados	10 - 12 $\times$ 2,25 - 2,50 Cilindrico, curvado, obtuso em ambos os lados
<b>Provável Gênero novo</b>	<i>Justicia wasshauseniana</i>	Nervura das folhas	<b>240 - 648 [672] diâm. Carbonáceos, alongados, solitários</b>	<b>14 - 23 <math>\times</math> 4 - 5 Não muito longos, pedicelados, 8 esporos</b>	<b>5 - 6 <math>\times</math> 1 - 2 Alantóides, hialinos, lisos</b>



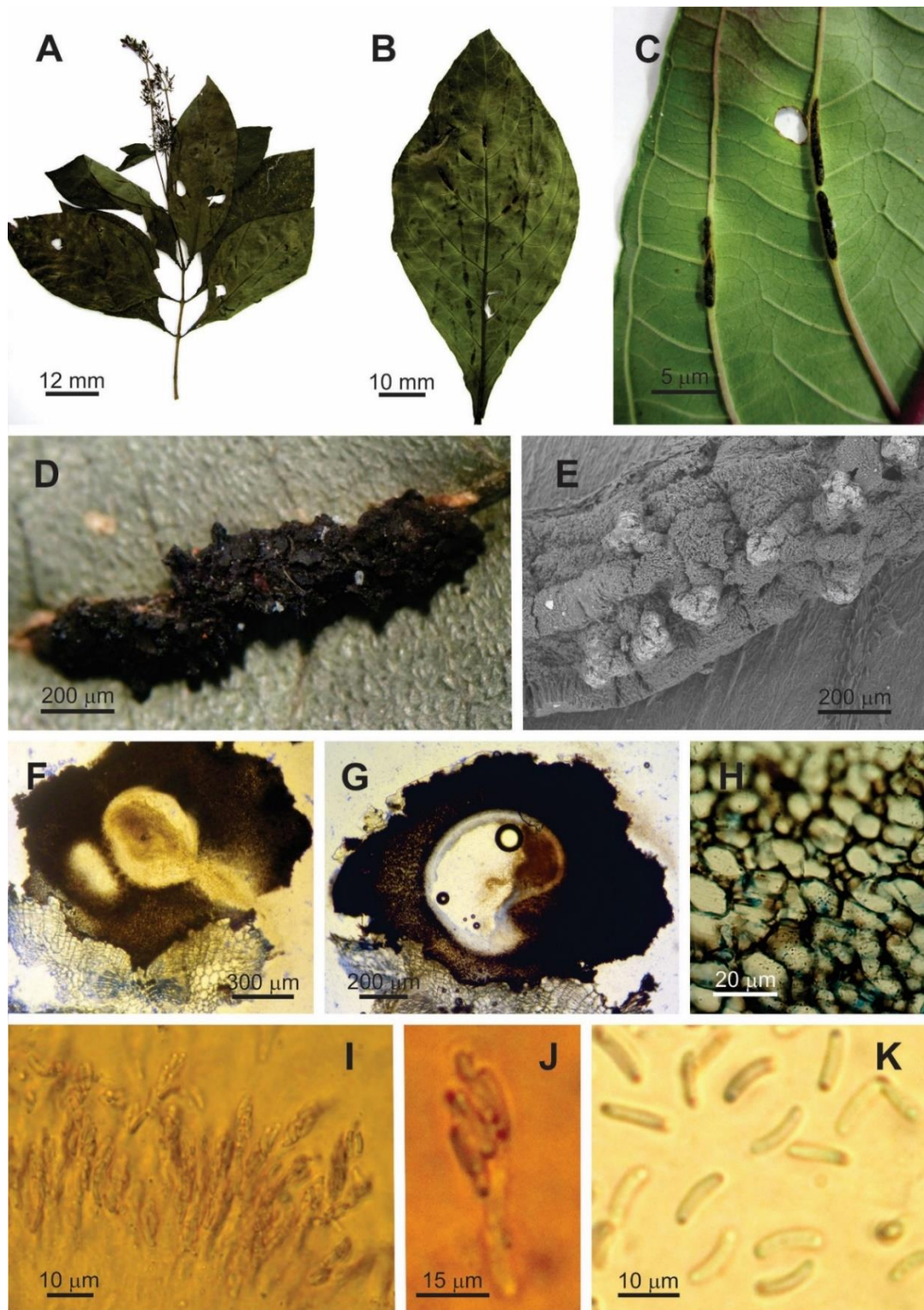
**Tabela 9.** Continuação

FUNGOS	PLANTA HOSPEDEIRA	HABITAT	ASCOMA ( $\mu\text{m}$ )	ASCO ( $\mu\text{m}$ )	ASCÓSPORO ( $\mu\text{m}$ )
<i>Eutypella citricola</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Citri aurantii</i> ( <i>Rutaceae</i> )	Ramos	-	30 - 35 $\times$ 4 - 5 Fusóides, octospóricos	6 - 8 $\times$ 2 Alantóides, obtuso em ambos os lados
<i>Eutypella murrayae</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Murrayae exoticae</i> ( <i>Rutaceae</i> )	Ramos	Subgloboso, pequeno	20 - 30 $\times$ 5 - 6 Fusóides, octospóricos	5 - 7 $\times$ 2 Alantóides, obtuso, uniseriado
<i>Eutypella cordiae</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Cordiae umbraculiferae</i> ( <i>Cordiaceae</i> = <i>Boraginaceae</i> )	Ramos	Ovalado-globoso	30 - 35 $\times$ 4 - 6 Fusóides, octospóricos	6 - 8 $\times$ 2 - 2 1/2 Alantóides, obtuso em ambos os lados
<i>Eutypella cocos</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Cocos nuciferae</i> ( <i>Palmae</i> )	Superfície da casca do coco	200 - 300 diâm. Oblongo, sub-globoso ou ligeiramente achatados	18 - 24 $\times$ 3,5 - 4,5 Geralmente clavados, J- 25 - 6	4 - 5 $\times$ 1 Alantóides, hialinos
<i>Eutypella longiana</i> <sup>3</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	-	Ramos	-	Fusififormes, longe stípatis, octospóricos	8 - 10 $\times$ 2 - 2,5 Alantóides, curvados
<i>Eutypella semicircularis</i> <sup>5</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Alnus acuminata</i> ( <i>Betulaceae</i> )	Galhos mortos	<b>600 - 900 [1100] <math>\times</math> 380 - 550</b> <b>Globoso, forma de frasco</b> <b>Pescoço 500 - 800 [1000]</b> <b>comp.</b>	<b>20 - 30 [35] <math>\times</math> 10 - 15</b> <b>Claviformes, octospóricos</b>	<b>4.5 - 7 [11] <math>\times</math> 1.5 - 2 [2.5]</b> <b>Alantóides para semicirculares, quase circular,</b> <b>marrom-avermelhados</b>
<i>Eutypella cryptovalsoidea</i> <sup>4</sup> ( <i>Diatrypaceae</i> )	<i>Ficus carica</i> ( <i>Moraceae</i> )	Casca da madeira	-	<b>65 - 120 <math>\times</math> 15 - 20</b> <b>Clavados a forma de fuso,</b> <b>pedicelo longo, polispóricos</b>	<b>8 - 12 [13.5] <math>\times</math> 2 - 3</b> <b>Alantóides a sub-alantóides, amarelados</b>
<b>Provável Gênero novo</b>	<i>Justicia wasshauseniana</i> ( <i>Acanthaceae</i> )	Nervura das folhas	<b>240 - 648 [672] diâm.</b> <b>Carbonáceos, alongados,</b> <b>solitários</b>	<b>14 - 23 <math>\times</math> 4 - 5</b> <b>Não muito longos,</b> <b>pedicelados, 8 esporos</b>	<b>5 - 6 <math>\times</math> 1 - 2</b> <b>Alantóides, hialinos, lisos</b>

**Tabela 9.** Continuação

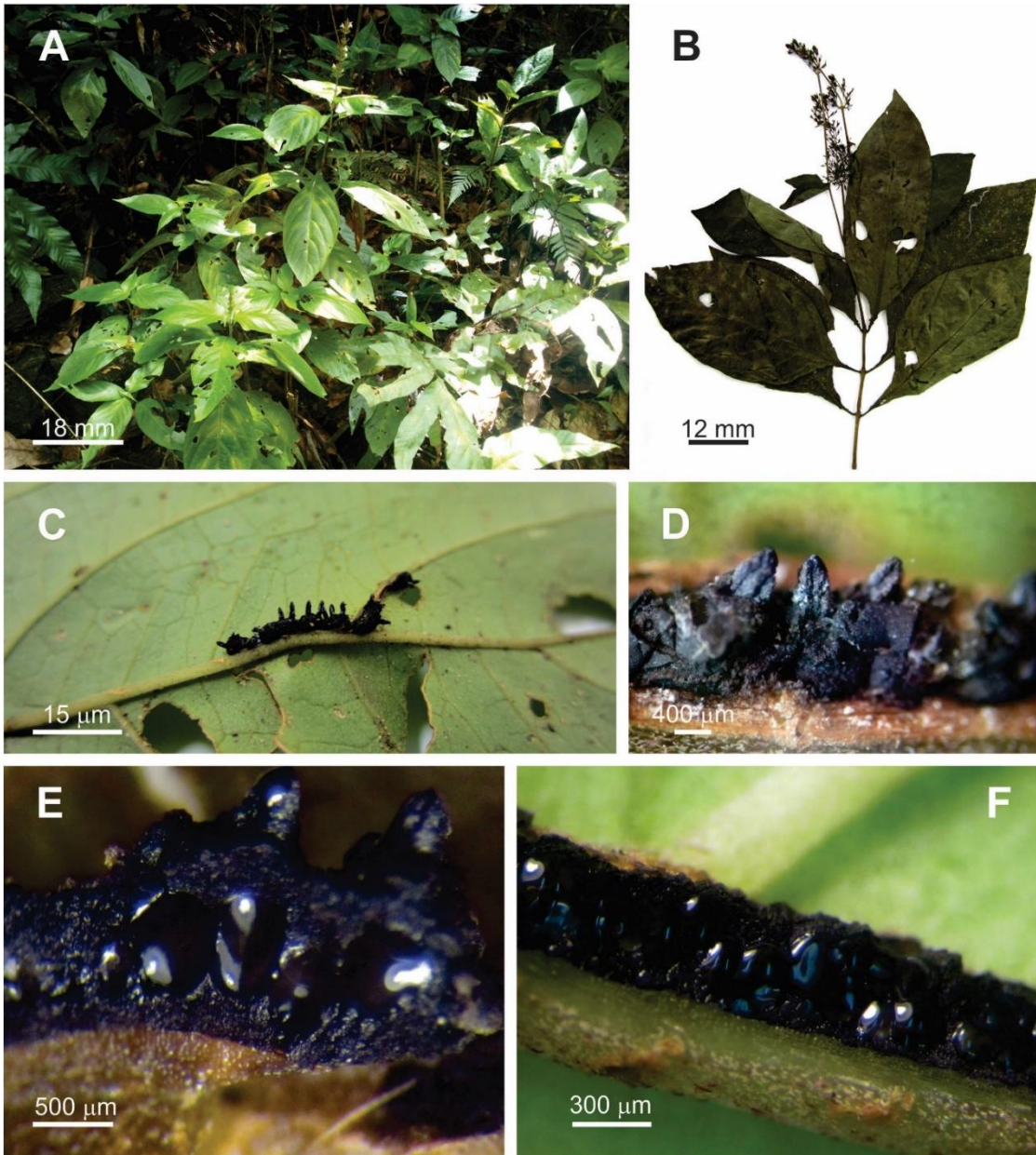
FUNGOS	PLANTA HOSPEDEIRA	HABITAT	ASCOMA (µm)	ASCO (µm)	ASCÓSPORO (µm)
<i>Fracchiaea affinis</i> <sup>3</sup> ( <i>Nitschkiaceae</i> )	<i>Kisantu</i>	Casca	200 - 350 diâm. Globoso	20 - 32 × 9 - 11 Pedicelados, myriospóricos, aparafisados, clavados	5 - 8 × 1-5-2 Cilíndricos, retos, hialinos
<i>Fracchiaea coniferarum</i> <sup>3</sup> ( <i>Nitschkiaceae</i> )	<i>Pinorum</i>	Casca	350 - 500 diâm.	100 - 110 × 10 - 16 Pseudoparafises, polispóricos	6 - 8 × 1 - 5 Alantóides, retos, hialinos
<i>Fracchiaea romeliana</i> <sup>3</sup> ( <i>Nitschkiaceae</i> )	<i>Rosae</i>	Casca	-	80 - 90 × 15 - 18 Clavados, sésseis, polispóricos	7 - 8 × 2 Alantóides, hialinos, numerosos
<i>Fracchiaea heterogena</i> <sup>1</sup> ( <i>Nitschkiaceae</i> )	<i>Schizolobium</i> sp. ( <i>Fabaceae</i> ) <i>Persea americana</i> ( <i>Lauraceae</i> )	Superfície do tronco da madeira	300 - 600 diâm. Carbonáceos, globosos, cespitosos	50 - 90 × 14 - 25 Clavados, longos, pedicelados, multispóricos	7 - 11 × 1,5 - 2 Alantóides, hialinos
<b>Provável Gênero novo</b>	<i>Justicia</i> <i>wasshauseniana</i> ( <i>Acanthaceae</i> )	Nervura das folhas	<b>240 - 648 [672] diâm.</b> <b>Carbonáceos,</b> <b>alongados,</b> <b>solitários</b>	<b>14 - 23 × 4 - 5</b> <b>Não muito longos,</b> <b>pedicelados, 8 esporos</b>	<b>5 - 6 × 1 - 2</b> <b>Alantóides, hialinos, lisos</b>

<sup>1</sup>Viegas (1944); <sup>2</sup>Vasilyeva (2011); <sup>3</sup>Saccardo (1944a); <sup>4</sup>Trouillas *et al.* (2011); <sup>5</sup>Chacón *et al.* (2013); \*Hospedeiro não encontrado

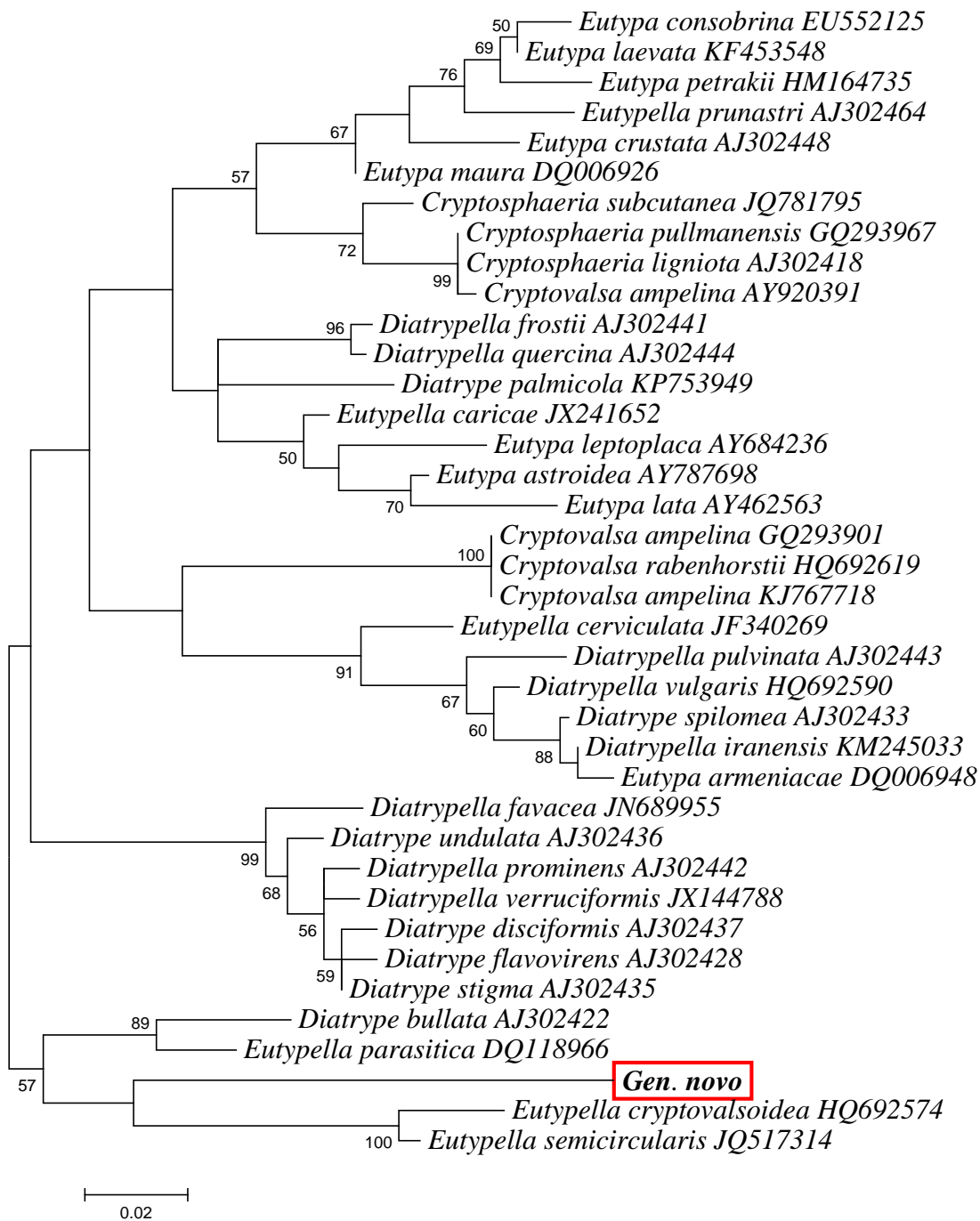


**Figura 11: A-K.** (Provável gênero novo no. 1 e provável espécie nova no. 6) associado a folhas de *Justicia wasshaseniana*. **A.** Florescência de *J. wasshaseniana*. **B.** Colônias na parte adaxial da folha. **C.** Detalhe do corpo de frutificação sobre a nervura da folha. **D.** Ascoma. **E.** Ascoma visto em (MEV). **F-G.** Ascoma em corte transversal vertical. **H.** Células da parede. **I.** Ascós. **J.** Asco em detalhe. **K.** Ascósporos.





**Fig 12: A-F.** (Provável gênero novo no.1 e provável espécie nova no. 6) associado a folhas de *J. wasshauseniana*. **A.** Folhas de *J. wasshauseniana* no PNMCP. **B.** Florescência de *J. wasshauseniana*. **C-D.** Corpo de frutificação sobre nervura da folha. **E.** Frutificação em corte vertical. **F.** Frutificação em corte horizontal.



**Figura 13:** Árvore filogenética do espécime em estudo baseada na região ITS do rDNA através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 2 substituições a cada 100 nucleotídeos.

## 8.2 *Apiospora* sp. provável espécie nova no. 7

### Descrição:

*Estromas* 893-940 µm de comprimento, oblongos, fusiformes, arranjados de forma unisseriada ou irregularmente, às vezes confluentes, escuros, associado à manchas escuras e abrindo-s por fissura longitudinal dispostos na superfície da haste (Fig. 14. A e B). *Ascomas* 72-188 × 77-193 µm, subcuticulares, globosos, pireformes, as vezes achatados na base, 5-13 lóculos, parede fina, ostíolo parafisado (Fig. 14. C e D). *Células da parede, textura angularis*, marrons (Fig. 14. E). *Fiálides* 2-3 µm de diâmetro, hialinas, filiformes, retas ou flexuosas, septadas (Fig. 14. F). *Ascós* 58-108 × 14-24 µm, clavados, cilíndricos para cilíndrico-clavados, unitunicados, 8 esporos (Fig. 14. G). *Ascósporos* 24-41 × 7-10 µm, obovóides, elipsóides, hialinos, obtuso no ápice, ligeiramente curvado próximo a base, 1-septo próximo a curvatura da base, dispostos de forma unisseriada ou bisseriada (Fig. 14. H).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi, PNMCP. 06 Mar. 2014. Em espécie de *Pennisetum purpureum* (*Poaceae*). Leg. P.S. Medeiros. 9; (UFRRJ 298).

### Discussão:

O fungo estudado pertence à família *Apiosporaceae* cujos membros formam ascomas agregados, lineares, imersos no substrato, enegrecidos, ostíolos parafisados. Ascós clavados, não físsitunicados, sem nenhuma estrutura apical distinta, com 8 ascósporos de coloração hialina e apresentando 1 septo próximo a base (CANNON & KIRK 2007. Este fungo, é bastante comum na família *Poaceae* e tem sido reportado em várias partes do mundo, conforme observado na (Tabela 10), nota-se que a espécie tipo *A. montagnei* Sacc. é a mais distribuída ocorrendo em uma grande variedade de plantas hospedeiras ultrapassando mais de 40 espécies distribuídas em 23 países, seguida das espécies *A. camptospora* Penz. & Sacc. e *A. shiraiana* (P. Syd.) Hara, ambas ocorrendo em 11 espécies de hospedeiras, sendo a primeira distribuída em 12 países diferentes e a segunda em 1, e uma espécie desconhecida de *Apiospora* sp. Sacc. ocorrendo em 10 espécies de hospedeiras distintas distribuídas em 10 países (FARR & ROSSMAN 2015).

Na América do Sul destaca-se as espécies *A. camptospora* Penz & Sacc. em plantas hospedeiras *Cynodon nlemfuensis* Vanderyst, *C. plectostachyus* (K. Schum.) Pilg., *Paspalum virgatum* L. e *Saccharum officinarum* L. todos na Venezuela. *A. chilensis* Speg. ocorrendo em *Chusquea cumingii* Nees. no Chile. *A. montagnei* Sacc. ocorrendo em *Bambusa vulgaris* Schrad. na Venezuela e *Chusquea* sp. Kunth. na Colômbia. *A. phomatopsis* Speg. em hospedeira *Zea mays* L. na Argentina. *A. platensis* Speg. em *Pennisetum tristachyum* (Kunth.) Spreng. na Argentina e *Apiospora* sp. ocorrendo em hospedeiras *Oriza latifolia* Desv., *Pennisetum setaceum* (Forssk.) Chiov. (= *Paspalum rupellii* Stendel) e *Sporobolus indicus* (L.) R. Br., todas provenientes da Venezuela (FARR & ROSSMAN 2015).

Conforme ilustrado na (Tabela 13), atualmente, existem dois relatos de *Apiospora* ocorrendo em *P. purpureum*: *A. camptospora* Penz & Sacc. proveniente do Quênia e *A. montagnei* Sacc. proveniente de Hong Kong, Argélia, Estados Unidos e Índia (SACCARDO 1875; NATTRASS 1961; FARR & ROSSMAN 2015).

No Brasil, foram reportadas somente 2 espécies: *A. pachyspora* Rehm. (1901) em folhas de *Mikania* sp. e *Apiospora paullinae* Rehm (Rehm, 1901) = *Anisomyces nectrioides* (Rehm) Petr. (Petrak, 1947), reportada por Batista, Peres & Poroca (1966) em folhas de *Machaerium* sp. Pers. (*Fabaceae*) (MENDES *et al.*, 2015), tal que observando a ilustração original, verifica-se

que última trata-se claramente de outro fungo. *A. pachyspora* Rehm. (1901) foi reportada em folhas de *Mikania* sp. (*Asteraceae*) ou seja de família distinta e forma ascomas (250-300 µm de diâmetro) maiores, enquanto os ascos (60 - 70 × 15 µm) e ascósporos (15 - 17 × 7 µm) são mais curtos e menos largos e fiálides (2 µm) mais estreitas. Cabe mencionar que *A. montagnei* por sua vez forma ascos (70 - 90 µm) e ascósporos (25 µm) mais curtos. *A. camptospora* também foi reportada em outros hospedeiros em países como Venezuela, Java, Paquistão, Cuba, Quênia, Nova Guiné, Filipinas, Malásia, Nova Caledônia, Myanmar, República Dominicana e Brunei em vários hospedeiros (Tabela 11) e difere da espécie encontrada, por formar ascos menores (ver Tabela 10). Mediante o exposto acima, fica claro se tratar provavelmente de uma nova espécie no gênero *Apiospora*, sendo o primeiro relato do gênero neste hospedeiro no Brasil.

**Tabela 10.** Espécies de *Apiospora* comparadas com espécie encontrada na Mata Atlântica.

ESPÉCIES DE <i>Apiospora</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ASCOMA ( $\mu\text{m}$ )	ASCO ( $\mu\text{m}$ )	ASCÓSPORO ( $\mu\text{m}$ )	FIÁLIDES ( $\mu\text{m}$ )
<i>A. camptospora</i> <sup>1</sup>	<i>Saccharum officinarum</i> ( <i>Poaceae</i> )	Java	180-200	75-80 $\times$ 15-17	35-38 $\times$ 9	-
<i>A. montagnei</i> <sup>2</sup>	<i>Arundina mauritania</i> ( <i>Orquidaceae</i> )	Hong Kong, EUA, Argélia, Índia	-	70 - 90 $\times$ 20	25 $\times$ 10	-
<i>A. pachyspora</i> <sup>3</sup>	<i>Mikania</i> sp. ( <i>Asteraceae</i> )	Brasil	250 - 300	60 - 70 $\times$ 15 8 esporos	15 - 17 $\times$ 7	2
<i>A. paullinae</i> <sup>3</sup> (= <i>Anysomyces</i> )	<i>Michaerium</i> sp. ( <i>Fabaceae</i> )	Brasil	210 - 370 $\times$ 190 - 510	50 - 60 $\times$ 7 - 11 8 esporos	8 - 11 $\times$ 4 - 5	1 - 1.5
<b><i>Apiospora</i> sp.</b>	<b><i>Pennisetum purpureum</i></b> ( <i>Poaceae</i> )	<b>Brasil</b>	<b>72 - 188 <math>\times</math> 77 - 193</b>	<b>58 - 108 <math>\times</math> 14 - 24</b> <b>8 esporos</b>	<b>24 - 41 <math>\times</math> 7 - 10</b>	<b>2 - 3</b>

<sup>1</sup>Saccardo (1944c); <sup>2</sup>Saccardo (1944b); <sup>3</sup>Rehm (1901); <sup>3</sup>Batista, Peres & Poroca, (1966)



**Tabela 11.** Espécies de *Apiospora* em *Poaceae* no mundo.

ESPÉCIES DE <i>Apiospora</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	PAÍS
<i>A. aberrans</i>	<i>Bambusa spinosa</i>	Filipinas
<i>A. apiospora</i>	<i>Bambusa vulgaris</i>	Filipinas
<i>A. apiospora</i> var. <i>minor</i>	<i>Bambusa spinosa</i>	Filipinas
<i>A. bambusae</i>	<i>Arundinaria</i> sp. <i>Bambusa mitis</i> <i>Bambusa simonii</i> <i>Bambusa</i> sp. <i>Phyllostachys</i> sp.	Inglaterra, Reino Unido Portugal Portugal França Reino Unido, USSR
<i>A. camptospora</i>	<i>Arundo donax</i> <i>Bambusa vulgaris</i> <i>Cymbopogon citratus</i> <i>Cynodon nlemfuensis</i> <i>Cynodon plectostachyus</i> <i>Panicum maximum</i> <i>Paspalum virgatum</i> <i>Pennisetum purpureum</i> <i>Saccharum officinarum</i> <i>Papua</i> <i>Zea mays</i>	Paquistão Hong Kong, Nova Caledônia Malásia Venezuela Venezuela Cuba Venezuela Quênia República Dominicana, Myanmar Nova Guiné, Filipinas, Venezuela Brunei Darussalam
<i>A. carbonácea</i>	<i>Schizostachyum</i> sp.	Filipinas
<i>A. chilensis</i>	<i>Chusquea cumingii</i>	Chile
<i>A. curvisporica</i>	<i>Cymbopogon nardus</i> <i>Phyllostachys</i> sp. <i>Saccharum officinarum</i> <i>Saccharum spontaneum</i>	Nova Caledônia França Porto Rico, Ilhas Virgens Paquistão
<i>A. indica</i>	<i>Bambusa</i> sp.	Índia
<i>A. luzonensis</i>	<i>Bambusa</i> sp.	Filipinas
<i>A. montagnei</i>	<i>Andropogon glomeratus</i> <i>Andropogon scoparius</i> <i>Andropogon</i> sp. (em colmos) <i>Andropogon virginicus</i> (em colmos) <i>Aristida lanosa</i> <i>Aristida purpurascens</i> <i>Arundinaria gigantea</i> (em colmos) <i>Arundinaria</i> sp. <i>Arundinaria tecta</i> (em colmos) <i>Arundo donax</i> <i>Bambusa</i> sp. <i>Bambusa vulgaris</i>  <i>Chusquea</i> sp. <i>Cinna arundinacea</i> <i>Cortaderia argentea</i> <i>Cortaderia selloana</i> (em folhas mortas) <i>Cynodon dactylon</i> (em folhas mortas) <i>Elymus australis</i> <i>Elymus virginicus</i> (em folhas mortas)	Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Florida, Georgia (EUA) Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Alabama, Louisiana, Mississippi Geórgia (EUA), Índia, Reino Unido Alabama, Geórgia, Louisiana Geórgia (EUA), Itália, Sicília, Portugal Hong kong, Índia, Myanmar Brunei Darussalam, Cuba Venezuela Colômbia, Panamá Geórgia (EUA) Hawaii Hawaii, Carolina do Sul  Geórgia (EUA)  Geórgia (EUA) Geórgia (EUA)

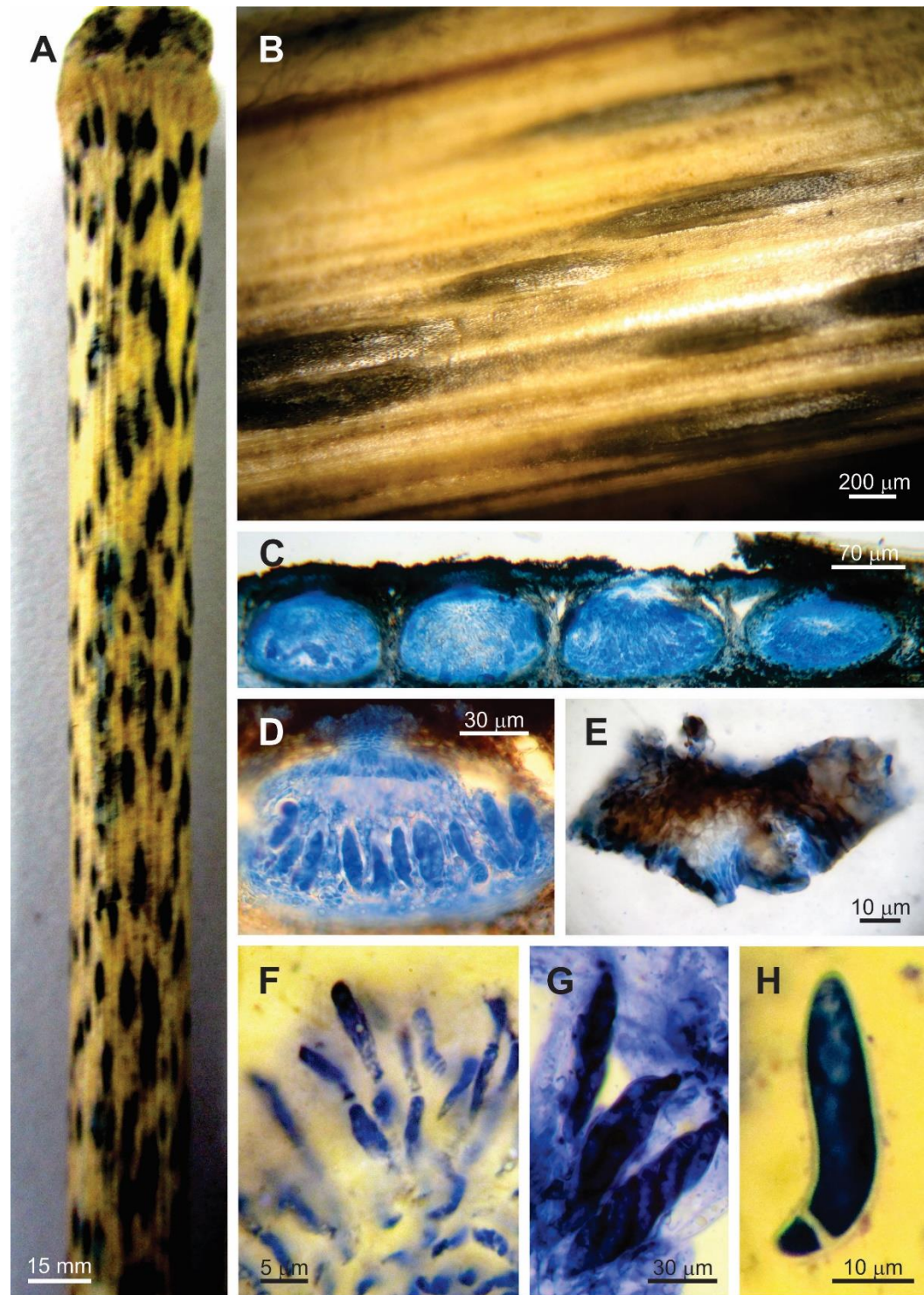
Tabela 11. Continuação.

ESPÉCIES DE <i>Apiospora</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	PAÍS
<i>A. montagnei</i>	<i>Erianthus alopecuroides</i> <i>Erianthus brevibarbis</i> <i>Gymnopogon ambiguus</i> <i>Holcus halepensis</i> <i>Leptoloma cognatum</i> <i>Miscanthus floridulus</i> <i>Miscanthus</i> sp. <i>Nastus borbonicus</i> <i>Ochlandra travancorica</i> <i>Oxytenanthera</i> sp. <i>Panicum aciculare</i> <i>Panicum clandestinum</i> <i>Paspalum giganteum</i> <i>Pennisetum purpureum</i> <i>Pennisetum</i> sp. <i>Phragmites australis</i>  <i>Phragmites karka</i> <i>Phyllostachys</i> sp. <i>Sasa senanensis</i> <i>Sorghastrum nutans</i> <i>Sporobolus clandestinus</i> <i>Stipa gigantea</i> <i>Themeda anathera</i> <i>Thysanolaena maxima</i> <i>Tridens flavus</i> <i>Tripsacum dactyloides</i> <i>Uniola latifolia</i> <i>Uniola laxa</i>	Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Hong Kong Hong Kong Itália, Sicília Índia Índia Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Hong Kong Hong Kong Hong Kong, Itália, Sicília Paquistão Nova Zelândia USSR Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Portugal Paquistão Myanmar Geórgia (EUA) Geórgia (EUA) Geórgia, Oklahoma Geórgia (EUA)
<i>A. muroiana</i>	<i>Phyllostachys bambusoides</i>	Japão
<i>A. parallela</i>	<i>Arctagrostis latifolia</i> <i>Calamagrostis</i> sp.	Alaska Suécia
<i>A. phomatopsis</i>	<i>Zea mays</i>	Argentina
<i>A. phyllostachidicola</i>	<i>Phyllostachys bambusoides</i> <i>Phyllostachys makinoi</i>	Japão Japão
<i>A. platensis</i>	<i>Pennisetum tristachyum</i>	Argentina
<i>A. punctum</i>	<i>Gynerium argenteum</i> <i>Molinia caerulea</i>	Portugal Itália

**Tabela 11.** Continuação.

<b>ESPÉCIES DE <i>Apiospora</i></b>	<b>PLANTA HOSPEDEIRA</b>	<b>PAÍS</b>
<i>A. setosa</i>	<i>Bambusa</i> sp.	Nova Zelândia
<i>A. shiraiana</i>	<i>Bambusa</i> sp. <i>Dendrocalamus latiflorus</i> <i>Phyllostachys aurea</i> <i>Phyllostachys bambusoides</i> <i>Phyllostachys heterocyclus</i> f. <i>pubescens</i> <i>Phyllostachys makinoi</i> <i>Phyllostachys nigra</i> f. <i>punctata</i> <i>Phyllostachys</i> sp. <i>Pleioblastus simoni</i> <i>Semiarundinaria okuboi</i> <i>Sinobambusa tootsik</i>	Japão Japão Japão Japão Japão Japão Japão Japão Japão Japão Japão
<i>Apiospora</i> sp.	<i>Bambusa</i> sp. (em colmos mortos) <i>Bambuseae</i> (em colmos mortos) <i>Guadua latifolia</i> <i>Oryza latifolia</i> <i>Panicum maximum</i> <i>Paspalum rupellii</i> <i>Phragmites australis</i> <i>Phragmites</i> sp. <i>Phyllostachys bambusoides</i> (colmos mortos) <i>Sporobolus indicus</i>	Flórida, Geórgia, Hong Kong, Malásia Flórida, Geórgia Venezuela Venezuela Austrália Venezuela Hong Kong Hong Kong Flórida, Geórgia Venezuela
<i>A. spinulosa</i>	<i>Panicum</i> sp.	Havai
<i>A. striola</i>	<i>Arundo donax</i>	Portugal
<i>A. tintinnabula</i>	<i>Bambusa</i> sp.	Nova Zelândia

Farr & Rossman (2015)



**Figura 14: A-H.** *Apiospora* (provável sp. nov. no. 7) em hastes de *Pennisetum purpureum*. **A.** Sintoma geral com corpos de frutificação na superfície da haste. **B.** Ascoma em maior detalhe. **C.** Ascoma em corte transversal vertical. **D.** Corte transversal do ascoma em maior detalhe. **E.** Células da parede. **F.** Paráfises. **G.** Ascósporos. **H.** Ascósporo.

### 8.3 *Asterinella* provável espécie nova no. 8

#### Descrição:

*Colônias* até 10 mm de diâmetro, epífilas, circulares escuras (Fig. 15. A). *Micélio* escuro, emaranhado, não setoso, não hifopodiado (Fig. 15. B). *Corpos de frutificação* 141-282 µm de diâmetro, localizados na parte adaxial da folha, escuros, superficiais, dispersos ou em grupos, interligados por micélio superficial marrom claro a marrom escuro (Fig. 15. B). *Hifas* 4-5 µm de diâmetro, marrons, sem apressório, septadas, flexuosas (Fig. 15. D). *Ascomas* 14-48 × 133-268 µm em corte transverso vertical, marrom-escuros para escuros, escudado-dimidiados, ostiolado, *textura radiata* (Fig. 15. C e E). *Paráfises* 1-2 µm de diâmetro, de coloração hialina, septadas, ramificadas (Fig. 15. F). *Ascosporos* 20-31 × 9-12 µm, inicialmente de coloração hialina tornando-se marrom-claro para marrom com a maturidade, célula superior subglobosa e célula inferior conóide, oblongo, 1-septo (Fig. 15. H e I).

**Espécime examinada:** Brasil: Rio de Janeiro, FLONA. 29 Jul. 2013. Em folhas de *Eugenia florida* (*Myrtaceae*). Leg. E.S. Barbosa. 10; (UFRRJ 285).

#### Discussão:

Os membros de *Asterinaceae*, bem como *Parmulariaceae* são fungos biotróficos e aparentemente possuem a mesma origem evolucionária (CANNON & KIRK, 2007; INÁCIO & CANNON, 2008), a morfologia somente, ainda é a forma confiável para o estudo destes fungos. Análises complementares, como o uso da Biologia Molecular, certamente auxiliam na elucidação de grande parte das dúvidas taxonômicas existentes no grupo, porém ainda é muito incipiente devido principalmente à algumas dificuldades tais como: por se tratarem de fungos biotróficos, ou seja, de difícil cultivo em meio de cultura axênico ou muitas vezes à escassez de material fresco ou material de herbário abundante, dificultam a extração de ácidos nucleicos o que facilitaria certamente a implementação destas análises. Cabe salientar que, por se tratarem de organismos biotróficos, um dos argumentos utilizados para comparação é a especificidade de hospedeiro (HOUSAGOUDAR & CHANDRAPRABHA 2009; SIVANESAN & SHIVAS 2002; INÁCIO & CANNON 2008) a qual, foi utilizado, para comparação das espécies estudadas neste trabalho.

Conforme ilustrado na (Tabela 11), a espécie *A. caaguaensis* possui ascomas (150 - 350 µm de diâmetro) maiores, ascos (76 - 90 µm) mais longos e ascósporos (28 - 35 µm), pouco mais compridos quando comparadas com a espécie da Mata Atlântica. Já a espécie *A. cylindrotheca* (= *Prillieuxina*) forma ascomas (135 - 200 µm diâm.) menores, ascos (19 - 21 µm) mais estreitos e ascósporos (17.5 - 19 × 7.5 - 9 µm) menores.

A espécie tipo do gênero, *A. puiggarii* (Speg.) Theiss, foi muito bem ilustrada por Batista & Peres (1961): apresentando ascomas aplanados, isolados ou confluentes e parede superior formada por células radialmente dispostas, ascos clavados parafisados e ascósporos marrons-claros, oblongos, características estas observadas no fungo encontrado em folhas de *Eugenia florida*, confirmando a identidade do espécime. Contudo, o espécime em estudo não se trata de *A. puiggarii*, uma vez que esta espécie forma ascos com 4 ascósporos e o fungo em estudo forma ascos com 8 ascósporos, além de que, a espécie tipo possui ascomas maiores com até (350 µm) de diâmetro, ascos bem mais compridos (105 - 116 µm) e ascósporos maiores (27 - 45 × 11 - 16 µm), quando em comparação com a espécie em estudo que forma ascomas (com

até 268 µm diâm.) menores, ascos mais curtos (56 - 80 µm), porém mais largos (24 - 34 µm) e ascósporos menores (20 - 31 × 9 - 12 µm).

Espécies do gênero *Asterinella* estão associados a uma variedade de famílias de plantas e são biotrófico em folhas, embora haja poucos estudos relacionados a nutrição, o fungo raramente causa danos na planta hospedeira (CANNON & KIRK 2007). Espécies foram reportadas em outras famílias de plantas hospedeiras no Brasil, como *A. leptotheca* (Speg.) Theiss. em *Nectandra* sp. Routtb. (*Lauraceae*), *A. protiicola* Bat. em *Protium heptaphyllum* March. (*Burseraceae*), *Asterinella* sp. em *Salacia crassifolia* Pittier (*Celastraceae*). Assim como, espécies reportadas em outros países da América do Sul, como por exemplo, as espécies *A. antioquensis* Toro em *Miconia ciliata* (Rich.) DC. (*Melastomataceae*) na Colombia, *A. phoradendri* Henn. em *Phoradendron* sp. Nutt. (*Santalaceae*) na Venezuela e *A. drymidis* (Lév.) Speg. em *Drimydis winteri* J.R. Forst & G. Forst (*Winteraceae*) no Chile (FARR & ROSSMAN, 2015).

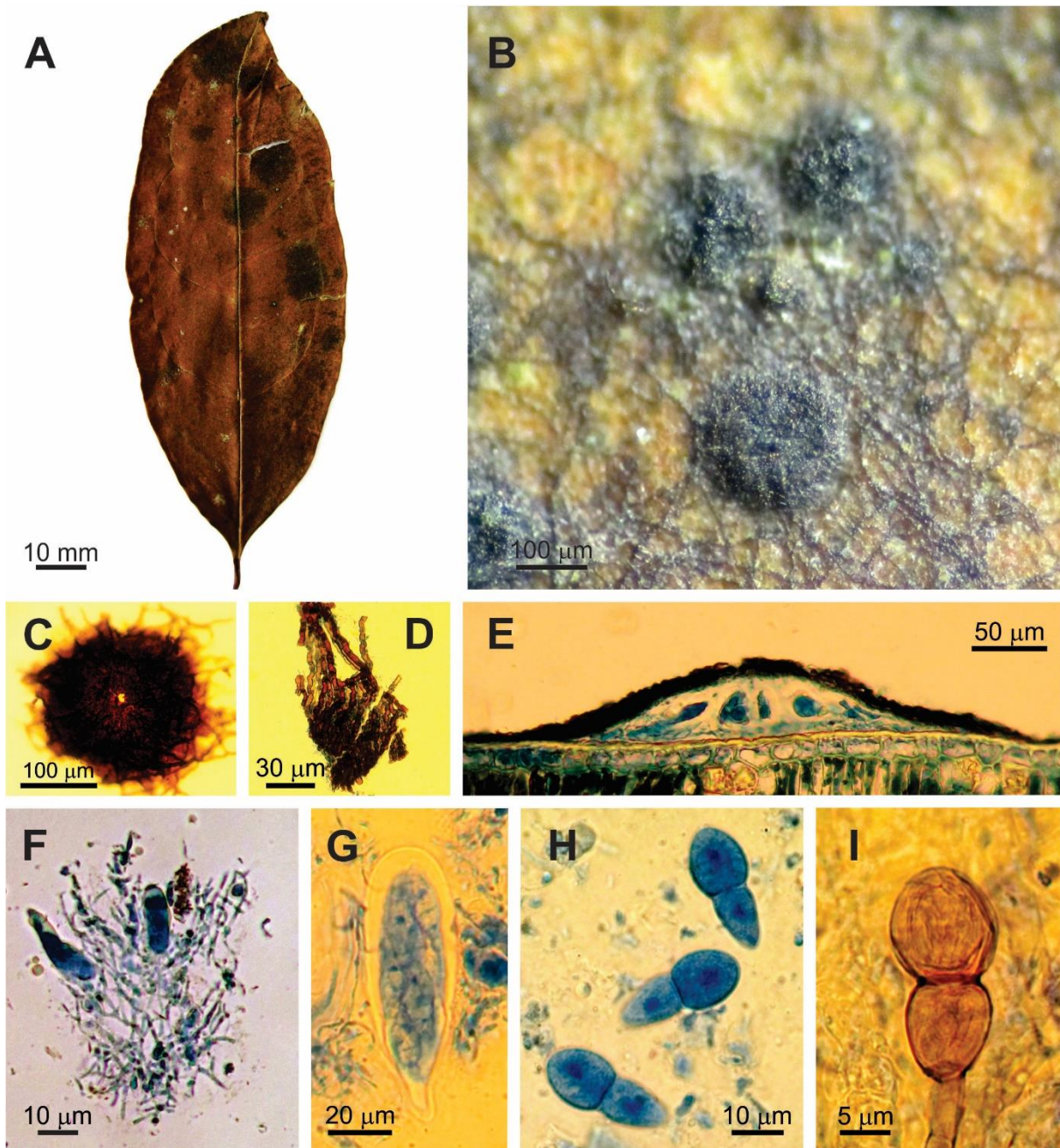
A espécie *Asterinella sublibera* (Berk.) Theiss. encontrada sobre folhas de *Eugenia bimarginata* DC. no Brasil (MENDES & URBEN, 2015) cujo nome atualmente válido é *Asterina sublibera* Berk. (KIRK, 2015) apesar de gênero distinto, forma ascomas e ascos com dimensões semelhantes, porém seus ascósporos são mais curtos (20 - 29 µm) (PEREIRA-CARVALHO 2004); Batista & Peres (1961) reportaram a mesma espécie em *Calyptranthes* SW. na Jamaica que difere do espécime em estudo por formar ascomas (até 348 µm de diâmetro) mais largos, ascos (67 - 95 µm) mais longos porém, mais estreitos (17 - 23 µm) e ascósporos (25 - 27 µm) um pouco mais curtos quando comparados com o espécime em estudo (Tabela 11). Esta espécie foi reportada pela primeira vez neste hospedeiro (ERNANDES *et al.*, 2014) ou seja *E. florida* e baseado nas diferenças aqui apresentadas, conclui-se que o espécime encontrado se trata-se provavelmente de uma nova espécie.

**Tabela 12.** Comparação entre as espécies de *Asterinella* encontradas em *Myrtaceae* em diferentes países.

ESPÉCIES DE <i>Asterinella</i>	LOCAL	PLANTA HOSPEDEIRA	ASCOMA (µm)	ASCO (µm)	ASCÓSPORO (µm)	PARÁFISES (µm)
<i>A. caaguaensis</i> <sup>1</sup>	Brasil	<i>Myrtaceae</i>	150 - 350	76 - 90 × 23 - 34 8 esporos	28 - 35 × 9 - 15	1
<i>A. cylindrotheca</i> (= <i>Prillieuxina</i> ) <sup>1</sup>	Chile	<i>Eugenia apiculata</i> ( <i>Myrtaceae</i> )	135 - 200	50 - 80 × 19 - 21 8 esporos	17.5 - 19 × 7.5 - 9	1.5 - 2.5
<i>A. puiggarii</i> <sup>1</sup>	Zurich	Não determinado	250 - 350	105 - 116 × 19 - 24 4 esporos	27 - 45 × 11 - 16	1.5 - 2.5
<i>A. sublibera</i> (= <i>Asterina</i> ) <sup>1</sup>	Jamaica	<i>Calyptranthes</i> sp. ( <i>Myrtaceae</i> )	240 - 348	67 - 95 × 17 - 23 4 esporos	25 - 27 × 9 - 10	1 - 1.5
<i>A. sublibera</i> (= <i>Asterina</i> ) <sup>3</sup>	<b>Brasil</b>	<i>Eugenia bimarginata</i> ( <i>Myrtaceae</i> )	<b>184 - 270 (196) × 32 - 59 (42)</b>	<b>47 - 74 (58) × 17 - 27 (22)</b>	<b>20 - 29 (25) × 5 - 12 (7)</b>	<b>1 - 2 (2)</b>
<i>A. puiggarii</i> <sup>2</sup>	Venezuela	<i>Eugenia punicaefolia</i> ( <i>Myrtaceae</i> ) e outra <i>Myrtaceae</i>	-	-	27 - 35 × 9 - 16	-
<i>A. puiggarii</i> var. <i>minor</i> <sup>1</sup>	Brasil	<i>Myrtaceae</i>	190 - 285	50 - 70 × 9 - 15 8 esporos	11 - 14 × 2.5 - 4.5	-
<i>Asterinella</i> sp.	<b>Brasil</b>	<i>Eugenia florida</i> ( <i>Myrtaceae</i> )	<b>133 - 268</b>	<b>56 - 80 × 24 - 34</b>	<b>20 - 31 × 9 - 12</b>	<b>1 - 2</b>

<sup>1</sup>Batista & Peres (1961); <sup>2</sup>Dennis (1970); <sup>3</sup>Carvalho (2004)





**Figura 15: A-I.** *Asterinella* (provável sp. nov. no. 8) em folhas de *Eugenia florida*. **A.** Colônias na parte adaxial da folha. **B.** Corpos de frutificação. **C.** Tritotécio. **D.** Hifas. **E.** Ascoma em corte transversal vertical. **F.** Paráfitas. **G.** Asco bitunicado. **H.** Ascósporos imaturos. **I.** Ascósporos.



#### 8.4 *Meliola manaosellae* provável variedade nova no. 1

##### Descrição:

Colônias até 10 mm de diâmetro, escura, variável, irregular para circular, na parte adaxial das folhas, primeiro isoladas e dispersas, tornando-se as vezes confluentes (Fig. 16. A). *Ascomas* 94-141 µm de diâmetro, epifilos, escuro, globosos, apresentando uma certa concavidade, agrupados, as vezes isolados (Fig. 16. B e C). *Células da parede* 9-12 µm de diâmetro, *textura angularis* (Fig. 16. D). *Micélio* livre, setoso, escuro (Fig. 16. E). *Hifas* 5-7 µm de diâmetro, marrons, septadas, de ramificações irregulares ou opostas (Fig. 16. E). *Apressório* 14-20 × 9-12 µm, capitado, alternos e unilaterais, nunca opostos (Fig. 16. F). *Apressório* 12-18 × 6-9 µm, mucronado, opostos e unilaterais (Fig. 11. G). *Setas* 72-289 × 5-10 µm, estreito, as vezes ligeiramente curvado, septadas, truncada no ápice (Fig. 16. H). *Ascosporos* bisporos, evanescentes (Fig. 16. I). *Ascósporos* 30-38 × 10-18 µm, marrons, oblongos, oblongo-cilíndricos, lisos, 4 septos (Fig. 16. J).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, FLONA, 29 Jul. 2013. Em folhas de *Handroanthus ochraceus* (Bignoniaceae). Leg. E.S. Barbosa. 10; (UFRRJ 290 ).

**Preâmbulo:** “O gênero *Meliola* formam um grupo de ascomicetos que pertence à família *Meliolaceae*, a qual pertence a ordem *Meliolales*, a família possui 22 gêneros (+ 12 sinônimos) e 1980 espécies (KIRK et al., 2008), distinguidas essencialmente pela planta hospedeira e suas características morfológicas (AINSWORTH et al., 1973). A ordem está inserida dentro da classe *Pyrenomycetes* a qual é usada em vários sentidos ou sentidos, mas a maioria para fungos com *ascomas* peritecióides com ontogenia ascohimenial e *ascos* unitunicados, frequentemente com um ânulo apical, o termo “*pyrenomycete*” pode ser usado de maneira informal para designar grupos de ascomicetos que apresentam *ascomas* na forma tipo vaso ou moringa (KIRK et al., 2008). O gênero compreende numerosíssimas espécies de hábitos quase exclusivamente tropical, são fungos que, via de regra, exigem para seu completo desenvolvimento temperatura elevada, alta percentagem de radiação solar, água e umidade, no geral sua ocorrência é frequente em arbustos e árvores de parques abertos, limitando sua incidência, nas densas florestas tropicais, às folhas das copas mais elevadas (BATISTA et al., 1960; AINSWORTH et al., 1973). Quanto ao modo de vida, a ordem *Meliolales* é considerada um grande grupo de fungos folículos e fitoparasitas ocorrendo em fragmento de Mata Atlântica (PINHO et al., 2013), alguns fortes outros de poucos efeitos apreciáveis, atacando geralmente as folhas, mas podendo estender sua ação parasitária ao pecíolo foliar e ramos verdes (BATISTA et al., 1960). Segundo Ainsworth et al. (1973), o gênero apresenta como principais características um micélio enegrecido, o qual forma um manto de paredes espessas, regularmente ramificado, hifas septadas com presença de hifopódios ou apressórios, originando-se a partir de uma célula curta lateral, seus *ascomas* se dispõem de forma superficial sobre o micélio, suportados como um ramo lateral ou inchaço, esféricos ou achatados, com um perídio escuro composto por parede espessa, são astomatosos ou frequentemente, com um ostíolo rudimentar, os quais são glabros ou setosos. Os *ascos* possuem uma fina membrana evanescente, apresentando de dois a quatro ou muito raramente oito *ascósporos* na maturidade. Os *ascósporos* são marrons escuros de parede espessa, lisos, maioria são cinco células, paráfises são frequentemente presentes. ”

### *Discussão:*

O material em estudo pertence claramente ao gênero *Meliola* Fr. (*Meliolaceae*), por ser um parasita das células epidérmicas de folhas, formando uma manta micelial setosa de coloração enegrecida, característica dos chamados míldios pretos, seu micélio superficial forma dois tipos de hifopódios e possuem peritécio globoso, ascos evanescentes e ascósporos com cinco células, marrons, o micélio quando visualizados em lâminas sob microscopia óptica em lâminas confeccionadas o micélio apresenta coloração marrom a marrom escuro.

Comparando-se o material encontrado com outras espécies de hospedeiras pertencentes à família *Bignoniaceae* de diversos países, inclusive Brasil (Tabela 13), nota-se que o espécime em estudo se mostrou próximo à algumas espécies: *M. arrabidae* var. *irregulares*, *M. manaosellae* e o espécime em estudo apresenta ascósporos maiores e mais largos ( $30 - 38 \times 10 - 18 \mu\text{m}$ ) quando comparado com a espécie *M. arrabidae* var. *irregulares* ( $27 - 33 \times 8 - 9,5 \mu\text{m}$ ). Apesar de formar ascomas ( $94-141 \mu\text{m}$ ), apressório captado ( $14 - 20 \times 9 - 12 \mu$ ) e mucronado ( $12 - 18 \times 6 - 9\mu$ ) de tamanho próximo à *M. crescentia*, difere por formar ascósporos ( $30-38 \times 10-18 \mu\text{m}$ ) pouco maiores e setas mais longas ( $72-289 \mu\text{m}$ ). A espécie de *M. manaosellae* reportada em folhas de *Manaosellae platydactylae* proveniente do Brasil (HANSFORD, 1956), também se mostrou muito próxima da espécie encontrada em Mata Atlântica, porém difere por formar apressórios capitados pouco mais longos ( $14 - 20 \mu\text{m}$ ) e foi reportada em hospedeiro distinto.

Neste estudo a espécie encontrada em Mata Atlântica, será tratada como uma nova variedade ***M. manaosellae* var. nov.**

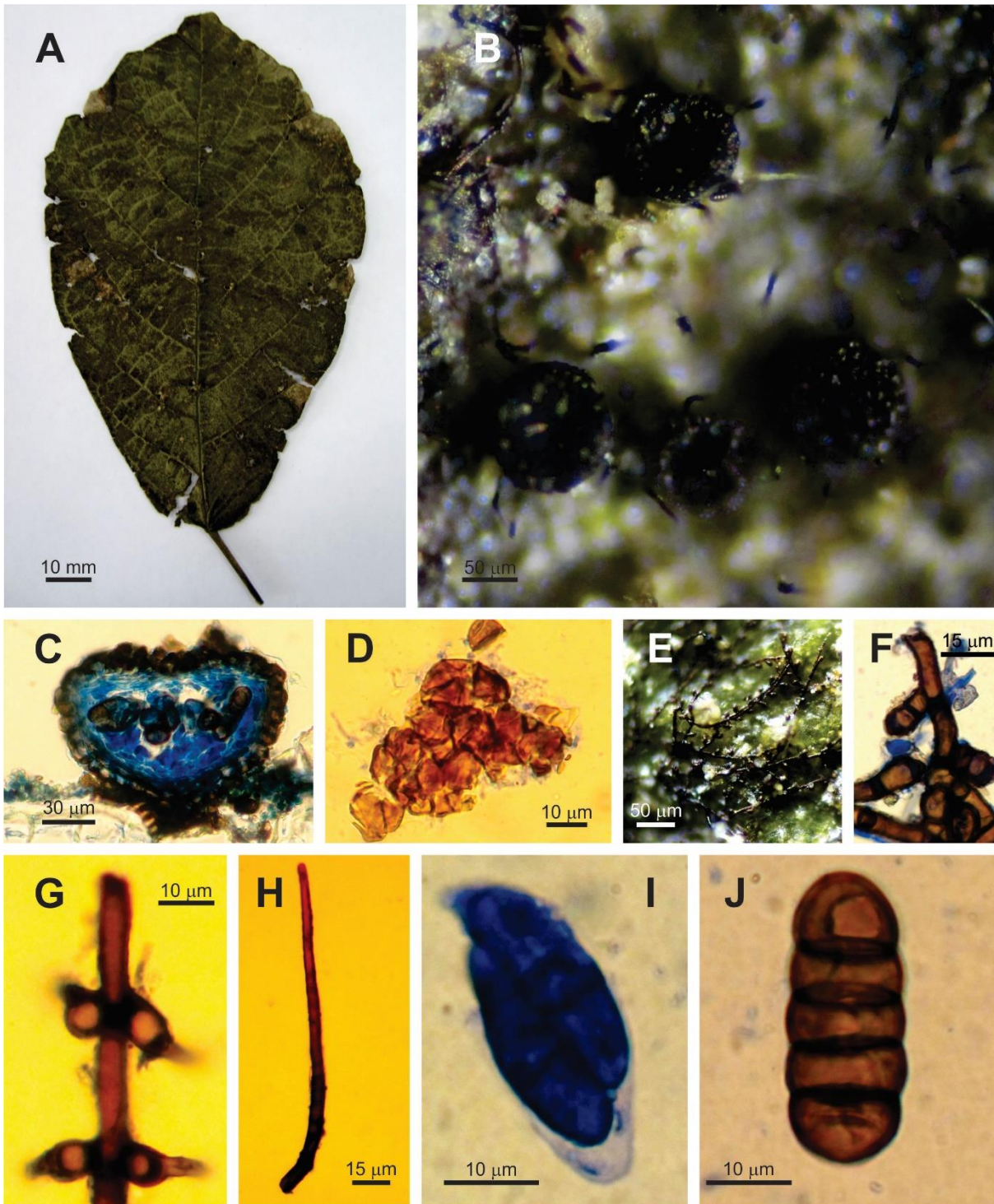
**Tabela 13.** Comparação entre espécies de *Meliola* encontradas em *Bignoniaceae* oriundas do Brasil e diferentes países.

ESPÉCIES DE <i>Meliola</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ASCOMA (µm)	ASCÓSPORO (µm)	SETA (µm)	APRESSÓRIO CAPITADO (µm)	APRESSÓRIO MUCRONADO (µm)
<i>M. bignoniacearum</i> var. <i>weigeltii</i> <sup>1</sup>	<i>Spathodeae bracteosae</i> ( <i>Bignoniaceae</i> )	Suriname	Até 180	40 - 48 × 18 - 23	350 × 7 - 9	17 - 24 × 6 - 8	13 - 18 × 6 - 8
<i>M. asperipoda</i> <sup>2</sup>	<i>Bignoniaceae</i>	Brasil	Até 250	40 - 46 × 15 - 17	250 × 6 - 8	23 - 40 × 12 - 22 (lobado)	20 - 25 × 6 - 8
<i>M. arrabidae</i> var. <i>irregulares</i> <sup>3</sup>	<i>Bignoniaceae</i>	Panama	Até 145	27 - 33 × 8 - 9.5	240 × 7 - 8	10 - 14 × 5 - 8	10 - 15 × 6 - 7
<i>M. peruviana</i> var. <i>irregularia</i> <sup>4</sup>	<i>Bignoniaceae</i>	Panama	107 - 125	22 - 25 × 7 - 8	85 - 200	36 × 7	ampuliforme
<i>M. bidentada</i> var. <i>minor</i> <sup>2</sup>	<i>Bignoniaceae</i>	Paraguay	Até 170	34 - 39 × 9 - 10	480 × 7 - 9 (2-4 Ápice dentado)	18 - 26 × 8 - 10	13 - 22 × 6 - 8
<i>M. bidentada</i> var. <i>elongata</i> <sup>5</sup>	Indeterminada	Brasil	97 - 195	35 - 38 × 14 - 16	1000 - 1700 × 7 - 8	13.5 - 16.5 × 8 - 9.5	13.5 - 16 × 5.5 - 7
<i>Meliola</i> sp.	<i>H. ochraceus</i> ( <i>Bignoniaceae</i> )	Brasil	94 - 141	30 - 38 × 10 - 18	72 - 289 × 5 - 10	14 - 20 × 9 - 12	12 - 18 × 6 - 9

**Tabela 13.** Continuação

ESPÉCIES DE <i>Meliola</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ASCOMA ( $\mu\text{m}$ )	ASCÓSPORO ( $\mu\text{m}$ )	SETA ( $\mu\text{m}$ )	APRESSÓRIO CAPITADO ( $\mu\text{m}$ )	APRESSÓRIO MUCRONADO ( $\mu\text{m}$ )
<i>M. manaosellae</i> <sup>1</sup>	<i>Manaosella platyductyla</i> ( <i>Bignoniaceae</i> )	Brasil	150	33 - 38 $\times$ 13 - 15	290 $\times$ 6 - 8	10 - 14 $\times$ 8 - 11	14 - 19 $\times$ 7 - 9
<i>M. tecomae</i> <sup>6</sup>	<i>Tabebuia pentaphylla</i> ( <i>Bignoniaceae</i> )	Porto Rico	Até 170	17 $\times$ 44	170 $\times$ 10	13 - 35	16 - 18 $\times$ 6
<i>M. herteri</i> <sup>7</sup>	<i>Macfadyena unguis-cati</i> ( <i>Bignoniaceae</i> )	Brasil	112 - 155	44 - 50.5 $\times$ 13 - 19	-	14 - 19 $\times$ 9.5 - 14	14 - 25.5 $\times$ 5.5 - 9
<i>M. crecentia</i> <sup>1,3</sup>	<i>Crescentia</i> sp.; <i>Crescentia cujete</i> ; <i>Tabebuia petaphylla</i> ; <i>Hetereophra</i> <i>gma roxburgii</i> ; Indeterminada ( <i>Bignoniaceae</i> )	Trinidad; Brasil; Hondura; India; Malasia;	Até 140	27 - 32 $\times$ 10 - 13	200 $\times$ 7 - 8	12 - 18 $\times$ 7 - 11	11 - 16 $\times$ 6 - 8
<i>Meliola</i> sp.	<i>H. ochraceus</i> ( <i>Bignoniaceae</i> )	Brasil	94 - 141	30 - 38 $\times$ 10 - 18	72 - 289 $\times$ 5 - 10	14 - 20 $\times$ 9 - 12	12 - 18 $\times$ 6 - 9

<sup>1</sup>Hansford (1956); <sup>2</sup>Hansford (1955); <sup>3</sup>Hansford (1961); <sup>4</sup>Stevens (1928); <sup>5</sup>Bat. & Maia (1960); <sup>6</sup>Stevens (1916); <sup>7</sup>Silva *et al.* (2012)



**Figura 16:** A-J. *Meliola* (provável variedade nova no.1) em folhas de *Handroanthus ochraceus*. A. Colônias epifilas. B. Detalhe do peritécio. C. Ascoma em corte transverso vertical. D. Células da parede. E. Micélio. F. Apessório capitado. G. Apessório mucronado. H. Seta. I. Asco imaturo. J. Ascósporo.

## 8.5 *Meliola* provável espécie nova no. 9

### Descrição:

*Colônias* até 8 mm de diâmetro, escuras, localizadas na parte adaxial e abaxial das folhas, maioria adaxial, circulares tornando-se irregulares, primeiro isoladas e dispersas, tornando-se as vezes confluentes (Fig. 17. A). *Ascomas* 141-197  $\mu\text{m}$  de diâmetro, anfígenos, escuros, esféricos, isolados, as vezes agregados (Fig. 17. B, C e D). *Células da parede* 8-12  $\mu\text{m}$  de diâmetro, *textura angularis* (Fig. 12. E). Micélio livre e setoso, membranoso (Fig. 17. F). *Hifas* 7-10  $\mu\text{m}$  de diâmetro, marrons, septadas, de ramificações irregulares ou opostas (Fig. 17. F). *Apressório capitado* 11-25  $\times$  8-14  $\mu\text{m}$ , alternos e unilaterais, nunca opostos (Fig. 17. G). *Apressório mucronado* 12-24  $\times$  7-12  $\mu\text{m}$ , alternos e unilaterais, nunca opostos (Fig. 17. G). *Setas* 169-407  $\times$  10-12  $\mu\text{m}$ , marrons, retas, as vezes ligeiramente curvadas, septadas, atenuada no ápice (Fig. 17. H). *Ascosporos* bisporos, evanescentes (Fig. 17. I). *Ascósporos* 16-38  $\times$  11-24  $\mu\text{m}$ , marrons, oblongos, oblongo-cilíndricos, lisos, 4 septos (Fig. 17. J).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi. PNMCP, 19 Dez. 2031. Em folhas de *Olyra* sp. (*Poaceae*). Leg. P.S. Medeiros. 19; (UFRRJ 289 ).

### Discussão:

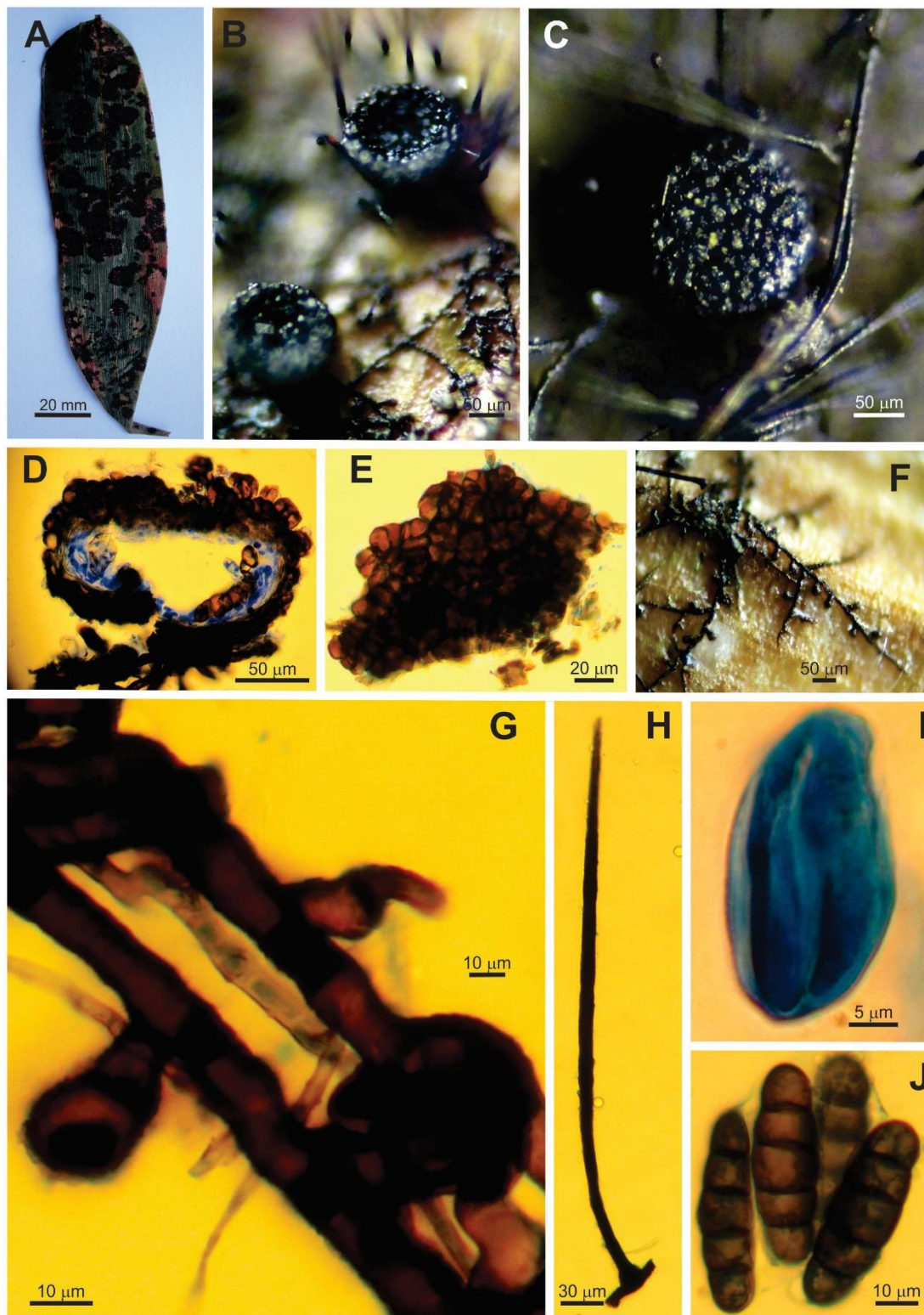
Espécies de *Meliola* associadas à folhas de diferentes membros da família *Poaceae* são listadas na Tabela 8. Após uma análise comparativa baseada nas características dimensionais, o espécime em estudo apresentou-se próximo das espécies *M. panici* var. *olyrae* e *M. panici* var. *aristidae*, porém, algumas diferenças foram observadas (Tabela 14): onde o espécime em estudo apresenta ascomas menores (141 - 197  $\mu\text{m}$  diâm.) e as espécies próximas 170  $\mu\text{m}$  e 205  $\mu\text{m}$  diâm., respectivamente; os ascósporos do espécime em estudo são menores e mais largos (16 - 38  $\times$  11 - 24  $\mu\text{m}$ ) quando comparados com *M. panici* var. *olyra* (36 - 41  $\times$  14 - 16  $\mu\text{m}$ ) e *M. panici* var. *aristidae* (34 - 41  $\times$  13 - 15  $\mu\text{m}$ ); as setas são idênticas; o apressório capitado (11 - 25  $\mu\text{m}$ ) mais curto que *M. panici* var. *olyrae* (20 - 35  $\mu\text{m}$ ) e *M. panici* var. *aristidae* (18-28  $\mu\text{m}$ ) (Tabela 14). Uma outra espécie próxima à encontrada em Mata Atlântica é *M. panici*, formando ascomas (150-200  $\mu\text{m}$ ) e ascósporos (40  $\times$  8-12  $\mu\text{m}$ ) idênticos, porém diferindo nos apressórios captados (16-20  $\times$  6-8  $\mu\text{m}$ ) e mucronados (12  $\mu\text{m}$  comp.) menores. Baseado nas diferenças apresentadas, conclui-se neste trabalho que a espécie encontrada em Mata Atlântica, trata-se provavelmente de uma espécie nova a ser em breve publicada de acordo o CIN.

**Tabela 14.** Comparação entre espécies de *Meliola* em diferentes hospedeiras da família *Poaceae* o espécime encontrado em *Olyra* sp.

ESPÉCIES DE <i>Meliola</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ASCOMA (µm)	ASCÓSPORO (µm)	SETA (µm)	APRESSÓRIO CAPTADO (µm)	APRESSÓRIO MUCRONADO (µm)
<i>M. panici</i> <sup>1</sup>	<i>Panici latifolii</i> <i>Poaceae</i>	Porto Rico	150 - 200	40 × 8 -12	400 - 600 × 8 - 10	16 - 20 × 6 -8	12 comp.
<i>M. panici</i> var. <i>olyrae</i> <sup>2</sup>	<i>Olyra latifolia</i> <i>Poaceae</i>	Porto Rico	Até 170	36 - 41 × 14 - 16	420 × 8 - 10	20 - 35 × 8 - 15	Oposto para alternado, ampuliforme
<i>M. panici</i> var. <i>vertiveriae</i> <sup>2</sup>	<i>Vertiveria zizanoidis</i> <i>Poaceae</i>	Sierra Leone	Até 150	36 - 44 × 14 - 17	300 - 600 × 9 - 11	20 - 38 × 10 - 51	Oposto para alternado, ampuliforme
<i>M. panici</i> var. <i>macropodia</i> <sup>3</sup>	<i>Cyrtococcum longipes</i> <i>Poaceae</i>	Índia	Até 145	33 - 41 × 10 - 12	Até 600 comp.	21 - 30 × 9 - 17	14 - 17 × 7 - 8
<i>M. panici</i> var. <i>uniolae</i> <sup>4</sup>	<i>Uniola virgata</i> <i>Poaceae</i>	São Domingo	Até 210	40 - 48 × 18 - 21	500 × 9 - 10	20 - 32 × 11 - 17	15 - 20 × 7 - 9
<i>M. panici</i> var. <i>major</i> <sup>4</sup>	<i>Panicum</i> sp. <i>Poaceae</i>	Brasil	Até 19	46 - 52 × 16 - 18	420 × 9 - 11	20 - 30 × 11 - 18	15 - 20 × 8 -10
<i>M. panicolola</i> <sup>5</sup>	<i>Panici palmaefolii</i>	Camarões	110 - 150	30 - 35 × 11 - 13	400 - 550 × 9 - 12	17 - 22 × 10 - 13	Raro, oposto
<i>M. panici</i> var. <i>panicolola</i> <sup>6</sup>	<i>Panicum. Palmaefolium</i> <i>Poaceae</i>	Filipinas	Até 160	34 - 39 × 11 - 13	1100 × 9 - 11	13 - 22 × 8 - 14	12 - 15 × 6 - 8
<i>M. panici</i> var. <i>aristidae</i> <sup>6</sup>	<i>Aristida marginalis</i> <i>Poaceae</i>	Brasil	Até 205	34 - 41 × 13 - 15 [10-12]	400 × 7 - 9	18 - 28 × 10 - 14	15 - 20 × 6 - 8
<i>M. Panici</i> var. <i>vetivericola</i> <sup>7</sup>	<i>Vetiveria zizanoides</i> <i>Poaceae</i>	Índia	Até 149	38 - 45 × 15 -18	300 comp.	17 - 24 × 12 - 15.5	18 - 20 × 7 - 10
<b><i>Meliola</i> sp.</b>	<b><i>Olyra</i> sp. <i>Poaceae</i></b>	<b>Brasil</b>	<b>141 - 197</b>	<b>16 - 38 × 11 - 24</b>	<b>169 - 407 × 10 - 12</b>	<b>11 - 25 × 8 - 14</b>	<b>12 - 24 × 7 - 12</b>

<sup>1</sup>Saccardo (1905); <sup>2</sup>Hansford (1956); <sup>3</sup>Housagoudar (1998); <sup>4</sup>Hansford (1955); <sup>5</sup>Sydow & Sydow (1914); <sup>6</sup>Hansford (1961); <sup>7</sup>Gawande *et al.* (2004).





**Figura 17:** A-J. *Meliola* (provável espécie nova no. 9) em folhas de *Olyra* sp. A. Colônias anfígenas. B-C. Peritécio em maior detalhe. D. Ascoma em corte transversal vertical. E. Células da parede. F. Micélio. G. Apressório capitado e apressório mucronado. H. Seta. I. Asco imaturo. J. Ascósporo.



## 8.6 *Meliola sorindeiae*

### *Descrição:*

*Colônias* 8 mm de diâmetro, circulares para irregular, epifilas, isoladas e dispersas, as vezes tornando-se confluentes (Fig. 18. A). *Ascomas* 113-141 µm de diâmetro, escuros, esférico, maioria isolados (Fig. 18. B, C, D e E). *Células da parede* 9-12 µm de diâmetro, *textura angularis* (Fig. 18. F). *Micélio* livre, setoso, membranoso (Fig. 18. G). *Hifas* 7-8 µm de diâmetro, marrons, septadas, retas, de ramificações irregulares ou opostas (Fig. 13. G). *Apressório* 12-24 × 7-10 µm, mucronados, opostos e unilaterais (Fig. 18. H). *Apressório* 11.5-21 × (7) 9-12 µm, capitados, alternos e unilaterais, nunca opostos (Fig. 18. I). *Setas* 145-241 × 7-12 µm marrons, erectas, algumas ligeiramente curvadas, septadas, bifurcadas no ápice (Fig. 18. J e K). *Ascós* bisporos, evanescentes (Fig. 18. L). *Ascósporos* 35-45 × 12-16 (17) µm, marrons, oblongos, oblongo-cilíndricos, lisos, 4 septos (Fig. 18. M).

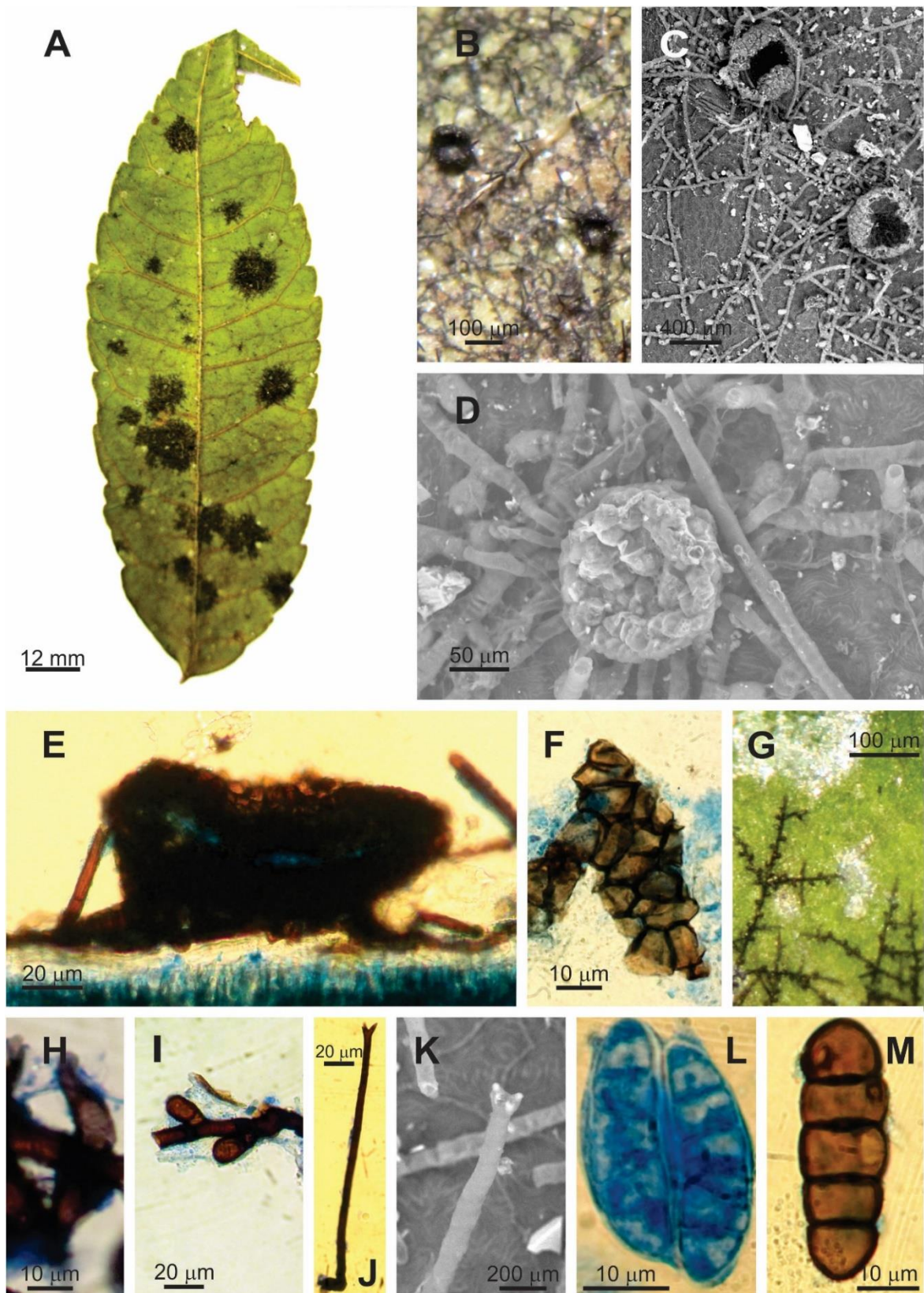
**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro. Paracambi, PNMCP, 7 Dez. 2013. Em espécie de *Astronium graveolens* (*Anacardiaceae*). Leg. P.S. Medeiros. 14; (UFRRJ 288).

Das espécies reportadas em *Anacardiaceae* (Tabela 15), *M. sorindeiae* Hansf. & Deighton (Hansford & Deighton, 1948) encontrada em folhas de *Sorindeia juglandifolia* mostrou-se muito próxima da espécie encontrada na Mata Atlântica, cujos ascos, ascomas, ascósporos são idênticos e cabe mencionar que as setas são divididas dicotomicamente no ápice como a espécie em questão. Logo o nome aceito para abrigar a espécie encontrada na Mata Atlântica é *M. sorindeiae* e este é o primeiro relato desta espécie para este hospedeiro no Brasil e no mundo.

**Table 15.** Comparação entre espécies de *Meliola* relatadas em *Anacardiaceae* e o espécime em estudo encontrado no Brasil.

ESPÉCIES DE <i>Meliola</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ASCOMA (µm)	ASCÓSPORO (µm)	SETA (µm)	APRESSÓRIO CAPTADO (µm)	APRESSÓRIO MUCRONADO (µm)
<i>M. brachyodonta</i> <sup>1</sup>	<i>Croton curranii</i> <i>Euphorbiaceae</i>	Venezuela	140 - 190	32 - 36 × 12 - 14	160 - 300 × 6.5 - 7.5	13 - 19 × 7 - 8	20 × 7
<i>M. geniculata</i> var. <i>minor</i> <sup>2</sup>	Unknown <i>Anacardiaceae</i>	Peru	Até 150	29 - 35 × 12 - 14	280 × 7 - 9	12 - 16 × 8 - 10	12 - 17 × 7 - 9
<i>M. weigeltii</i> <sup>3</sup>	<i>Astronium</i> sp. <i>Anacardiaceae</i>	Paraguai	Até 150	37 - 42 × 13 - 16	-	-	-
<i>M. weigeltii</i> var. <i>fraxinifolia</i> <sup>4</sup>	<i>Astronium fraxinifolium</i> <i>Anacardiaceae</i>	Brasil	135 - 175	32.5 - 37.5 × 12.5 - 16.5	160 - 220 × 5 - 7.5	12.5 - 17 × 6 - 10	13.5 - 17.5 × 7.5 - 10
<i>Meliola sorindeiae</i> <sup>5</sup>	<i>Sorindeia juglandifolia</i> <i>Anacardiaceae</i>	Serra Leoa	Até 200	<b>38 - 47 × 15 - 16</b>	<b>220 × 7 - 8</b>	<b>17 - 24 × 8 - 10</b>	<b>20 - 24 × 6 - 7</b>
<i>Meliola</i> sp.	<i>Astronium graveolens</i> ( <i>Anacardiaceae</i> )	Brasil	<b>103 - 150</b>	<b>35 - 45 × 12 - 17</b>	<b>145 - 241 × 7 - 12</b>	<b>12 - 23 × 7 - 12</b>	<b>12 - 24 × 7 - 10</b>

<sup>1</sup>Sydow (1930); <sup>2</sup>Hansford (1955); <sup>3</sup>Saccardo (1895); <sup>4</sup>Batista *et al.* (1966); <sup>5</sup>Hansford & Deighton (1948)



**Figura 18:** A-M. *Meliola sorindeiae* em folhas de *Astronium glaucolens*. A. Colônias epifilas. B-C. Detalhe do peritécio. D. Peritécio e seta bifurcada vista em (MEV). E. Ascoma em corte transverso vertical. F. Células da parede. G. Micélio. H. Apressório mucronado. I. Apressório capitado. J. Seta bifurcada. K. Seta bifurcada vista em (MEV). L. Asco imaturo. M. Ascósporo.

## 8.7 *Myriangium* provável espécie nova no. 10

### Descrição:

*Corpos de frutificação* 188-564 × 141-329 µm, estromáticos, anfígenos, superficiais, maioria epífilos, raramente hipófilos, escuros (Fig. 19. A e B). *Estroma* 120-288 × 154-624 µm (Fig. 19. C e E). *Lóculos* 32-56 × 16-29 µm (Fig. 19. E). *Células da parede* 5-10 µm diâmetro, *textura angularis*, marrons a marrom escuras (Fig. 19. D). *Ascospores* 29-46 (48) × 21-36 µm, globosos, subglobosos, obovoides, bitunicados, 8 esporos, ocorrendo em lóculos individuais, espalhados ou agrupados, tecido hamatecial ausente (Fig. 19. F e G). Mecanismo jach-in-the-box (Fig. 19. H). *Ascósporos* 14-24 × 7-10 µm, dictiospóricos, oblongos, hialinos (Fig. 19. I).

**Espécime examinada:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi, PNMCP. 7 Dez. 2013. Em espécie de *Ctenanthe sefora* (*Marantaceae*). Leg. P.S. Medeiros. 13; (UFRRJ 284).

### Discussão:

O gênero *Myriangium* contém cerca de 50 espécies reconhecidas atualmente, ocorrendo em várias hospedeiras dentre elas as famílias: *Oleaceae* Hoffmannseg & Link, *Sapindaceae* Juss., *Cornaceae* Jussieu, *Rutaceae* Juss., *Caricaceae* Dumort., *Rosaceae* L., *Ericaceae* Juss., *Aquifoliaceae* Bartl., *Cyrillaceae* Endl., *Fabaceae* Lindl., *Violaceae* Batsch., *Casuarinaceae* R. Br., *Poaceae* (R. Br.) Bamh. (Tabela 16). O espécime em estudo é um membro da família *Myriangiaceae* Nyl. (1854) e forma ascostromas superficiais, com um único asco em cada lóculo ascomatal, ascos globosos, fissitunicados e ascósporos muriformes, hialinos.

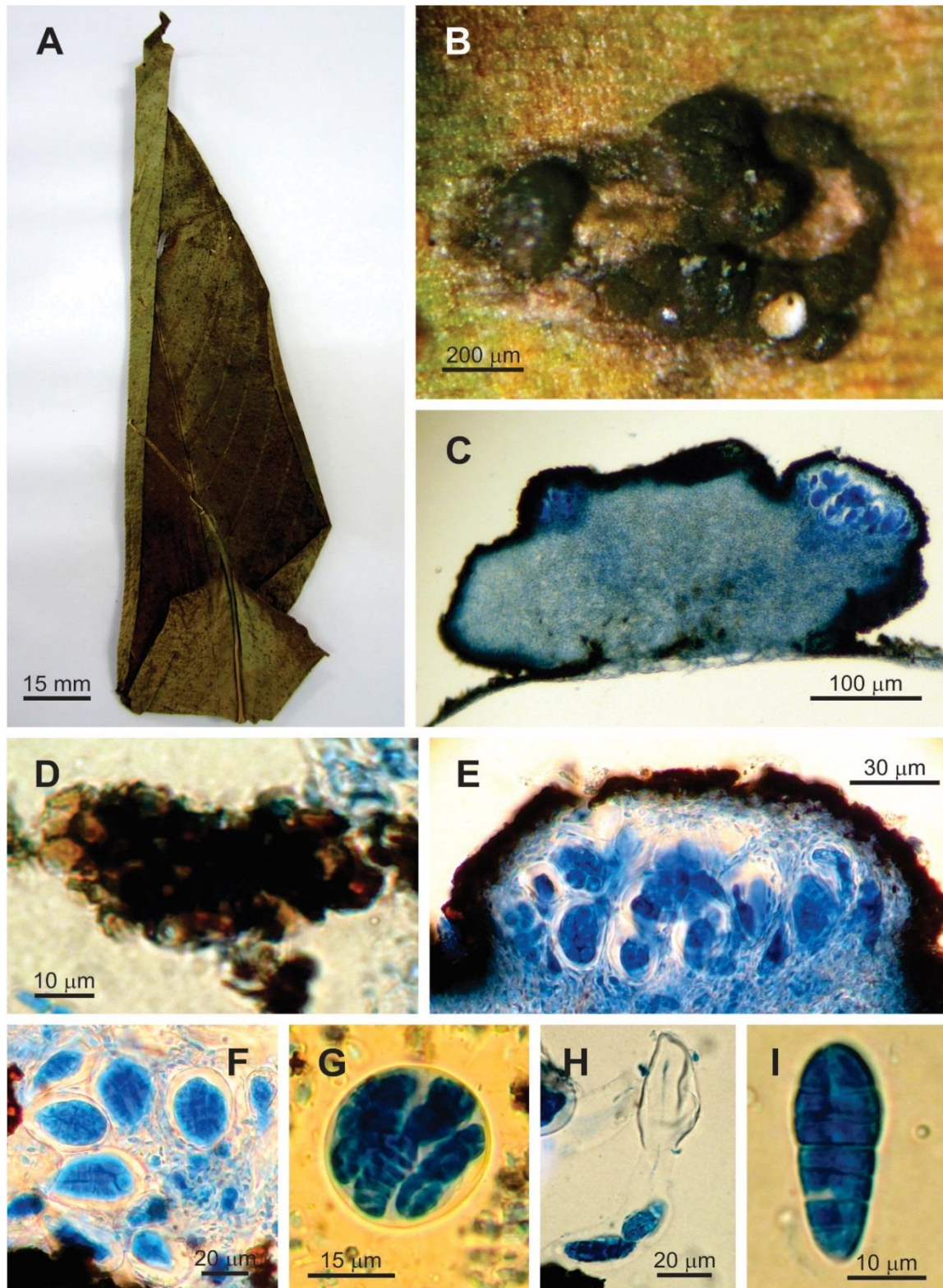
Este é o primeiro relato deste fungo nesta família hospedeira, ou seja *Maranthaceae*, e quando comparado com algumas espécies já reportadas em outras famílias de diferentes locais (ver Tabela 16), o fungo mostrou-se próximo de algumas espécies tais como: *M. citri*, *M. montagnei* e *M. guaraniticum*. Onde *M. citri*, apesar de formar estromas pouco mais estreitos (200-600 µm) e ascos de comprimento idêntico (32-50 µm), formam ascósporos (22-32 µm) mais longos e parasitam hospedeiros distintos, ou seja, *Gleditsia* (*Fabaceae*) e *Cytrus*, (*Rutaceae*). *M. montagnei* forma ascósporos pouco mais longos (18-36 µm) e parasitam hospedeiros distintos, ou seja, *Acacia* (*Fabaceae*); *Hymenanchera* (*Violaceae*) e *Casuarina* (*Casuarinaceae*). Já, *M. guaraniticum* talvez seja a espécie mais próxima da encontrada, porém difere destas e das demais listadas na Tabela 16, por formar ascomas, abrindo-se por fissuras lobuladas, diferindo das outras que se abrem por deliquescência das células da camada superior do ascoma (Von Arx, 1963). Conclui-se que o espécime encontrado na Mata Atlântica se trata de uma provável espécie nova.

**Tabela 16.** Comparação entre espécies de *Myriangium* em diferentes famílias a partir de diferentes países e o espécime estudado.

ESPÉCIE DE <i>Myriangium</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	PARTES DA PLANTA	LOCAL	ESTROMA (µm)	ASCO (µm)	ASCÓSPORO (µm)
<i>M. duriaei</i> <sup>1</sup>	<i>Fraxinus; Acer; Nyssa; Citrus. Carica</i> ( <i>Oleaceae, Sapindaceae, Cornaceae, Rutaceae Caricaceae</i> )	Ramos	-	180 - 320 × 200 - 800	37 - 50 diâm.	18 - 36 × 9 - 15
<i>M. asterinosporum</i> <sup>1</sup>	<i>Crataegus; Vaccinium; Ilex; Acer; Cyrilla</i> ( <i>Rosaceae, Ericaceae, Aquifoliaceae, Cyrillaceae</i> )	Ramos	América do Norte	200 - 700 larg.	-	25 - 34 × 9 - 14
<i>M. citri</i> <sup>1</sup>	<i>Cytrus; Gleditsia</i> ( <i>Rutaceae, Fabaceae</i> )	-	Europa, África, América	200 - 600 larg.	32 - 50 diâm.	22 - 32 × 9 - 12
<i>M. montagnei</i> <sup>1</sup>	<i>Acacia; Hymenanchera; Casuarina</i> ( <i>Fabaceae, Violaceae, Casuarinaceae</i> )	Ramos	Austrália, Nova Zelândia	-	-	18 - 36 × 7 - 12
<i>M. guaraniticum</i> <sup>1</sup>	Árvore indeterminada	-	Brasil	-	38 - 45 diâm.	23 - 28 × 9 - 12
<i>M. haraeantum</i> <sup>1</sup>	<i>Phyllostachis puberula</i> ( <i>Poaceae</i> )	-	Asia	-	35 - 52 × 34 - 48	32 - 44 × 14 - 17
<b><i>Myriangium sp.</i></b>	<b><i>Ctenanthe sefora</i></b> ( <b><i>Marantaceae</i></b> )	<b>Folhas</b>	<b>Brasil</b>	<b>120 - 288 × 154 - 624</b>	<b>29 - 46 [48] × 21 - 36</b>	<b>14 - 24 × 7 - 10</b>

<sup>1</sup>Von Arx (1963)





**Figura 19: A-I.** *Myriangium* (provável espécie nova no. 10) em folhas de *Ctenanthe sefora*. **A.** Folha com estromas. **B.** Corpo de frutificação estromático em detalhe. **C.** Ascoma estromático em corte transverso vertical. **D.** Células da parede. **E.** Ascoma em maior detalhe mostrando ascos em lóculos individuais. **F.** Ascus bitunicados. **G.** Asco. **H.** Mecanismo jack-in-the box. **I.** Ascósporo.

## 8.8 *Perisporiopsis* provável espécie nova no. 11

### *Descrição:*

*Colônias* até 20 mm de diâmetro, escuras, circular, elípticas, irregular, confluentes, hipofilas (Fig. 20. A e B). *Micélio* marrom para escuro, superficial, hipófilo. *Ascomas* 133-181 × 154-222 µm, globoso, marrom-alaranjados para escuros, hipófilos, agrupados na superfície da planta hospedeira, abrindo-se pela deliquescência das células superiores da parede (Fig. 20. C e D). *Células da parede* 6-7 µm, marrons, *textura globosa* para *textura angularis* (Fig. 20. E). *Paráfises* 2-3 µm, coloração pálida, septadas, ramificadas (Fig. 20. F). *Ascos* 67-100 (107) × 25-35 µm, cilíndrico-clavados para clavados, as vezes principalmente clavados (Fig. 20. G). *Ascósporos* 41-50 × 10-13 µm, hialinos para marrons, elipsóides, 1-septo (Fig. 20. H e I).

**Espécime examinado:** Brasil: Rio de Janeiro, FLONA, 29 Jul. 2013. Em folhas de *Erythroxylum pulchrum* (*Erythroxylaceae*). Leg. E.S. Barbosa. 10; (UFRRJ 287).

### *Discussão:*

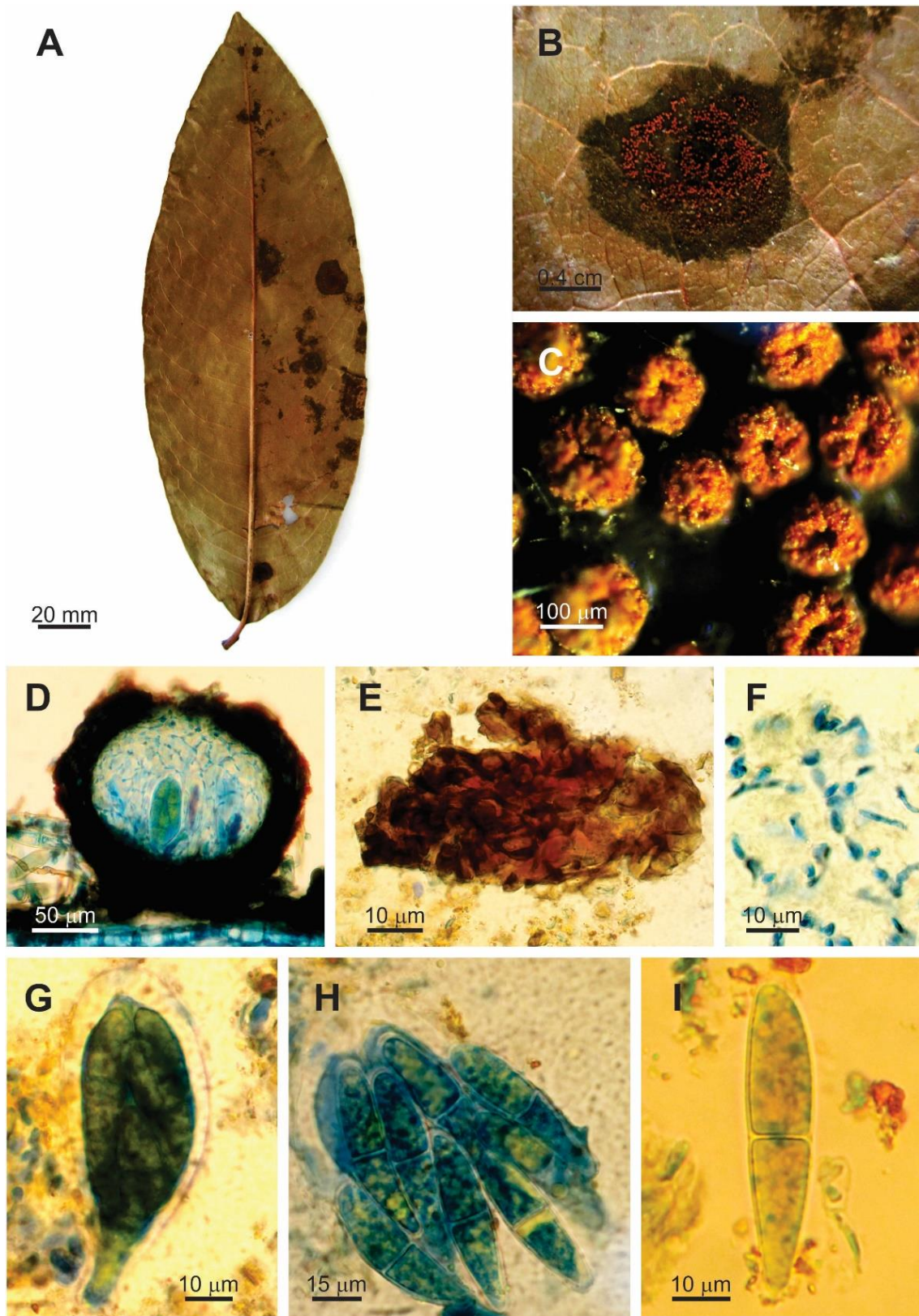
No Brasil, foram reportadas algumas espécies de *Perisporiopsis* em hospedeiros distintos (ver Tabela 17) sendo que *P. lantanae*, forma ascósporos com mais de 1 septo, bem como o anamorfo descrito tem conidioma picnidial, tratando-se de um fungo distinto do fungo aqui tratado, que tem como anamorfo o hifomiceto *Septoidium* (SIVANESAN 1984; KIRK *et al.*, 2008; BARRETO *et al.*, 1995) e somente 1 septo no ascósporo; a outra espécie, *P. struthanthi* que forma ascósporos com mais de 3 septos e maiores 60-65 × 12-15 µm, ascos maiores 80-140 × 25-40 µm; já *P. fusispora* dentre outros, ascósporos mais longos 50-90 µm. *P. torrendii* e *P. brasiliensis* formam estruturas também distintas ao do espécime encontrado na Mata Atlântica. Cabe mencionar que o gênero não teve um tratamento adequado nos últimos anos, sendo necessária a revisão do mesmo, pois as estas espécies, estavam previamente acomodadas em *Parodiopsis* Maubl. (BAKER 1955). Uma outra espécie já foi reportada no cerrado brasileiro (AMORIM & INÁCIO 2005) no mesmo hospedeiro, ou seja, em *Erythroxylum* sp., diferindo por formar ascósporos menores 24-33 (35) × 7-10 µm e outras características idênticas, tratando-se provavelmente de mesma espécie. Contudo, o espécime encontrado em *E. pulchrum*, trata-se provavelmente de uma nova espécie a ser publicada de acordo com o CIN.

**Tabela 17.** Comparação entre espécies de *Perisporiopsis* em diferentes hospedeiros oriundos do Brasil.

ESPÉCIES DE <i>Perisporiopsis</i>	PLANTA HOSPEDEIRA	LOCAL	ASCOMA (µm)	ASCO (µm)	ASCÓSPORO (µm)
<i>P. lantanae</i> <sup>1</sup>	<i>Lantana camara</i> (Verbenaceae)	Brazil	122 - 190 × 95 - 163	66 - 98 × 17 - 22 8 esporos	35 - 49 × 8 - 10 2 - 3 septos
<i>P. struthanthi</i> <sup>2</sup>	<i>Struthanthus sp.</i> (Loranthaceae)	Brazil	250 - 300 × 200 - 250	80 - 140 × 25 - 40 8 esporos	60 - 65 × 12 - 15 7 septos
<i>P. fuispora</i> <sup>3</sup>	<i>Inga Indulis</i> (Fabaceae)	Brasil	130 - 210	70 - 110 × 30 - 40	50 - 90 × 8 - 14 1 - 3 septos
<i>P. torrendii</i> <sup>4</sup>	<i>Buddleja sp.</i> (Buddlejaceae)	Brasil	205 - 250 × 195 - 245	110 - 146 × 24 - 27	40 - 45 × 10 - 13,5 1 septo
<i>P. brasiliensis</i> <sup>4</sup>	<i>Tapirira guyanensis</i> (Anacardiaceae)	Brasil	Até 225	87 - 113 × 47 - 62	27 - 38 × 12 - 15 1 septo
<i>Perisporiopsis sp.</i> <sup>5</sup>	<i>Erythroxyllum sp.</i> (Erythroxyllaceae)	Brasil	127.2-180 × 108-168 (180)	60-89 (105) × 21-35	24-33 (35) × 7-10
<i>Perisporiopsis sp.</i>	<i>Erythroxyllum pulchrum</i> (Erythroxyllaceae)	Brazil	154 - 222 diam.	67 - 100 [107] × 25 - 36 4 - 8 esporos	41 - 50 × 10 - 13 1 septo

<sup>1</sup>Barreto *et al.* (1995); <sup>2</sup>Hennings (1904); <sup>3</sup>Von Arx & Müller (1962); <sup>4</sup>Sivanesan (1984), <sup>4</sup>Batista & Nascimento (1956), <sup>4</sup>Batista, Maia & Vital (1957); <sup>5</sup>Amorim & Inácio (2005)





**Figura 20:** A-I. *Perisporiopsis* (provável espécie nova no. 11) em folha de *Erytroxylum pulchrum*. A-B. Colônias dispostas na parte abaxial da folha. C. Corpos de frutificação em maior detalhe. D. Ascoma em corte transverso vertical. E. Células da parede. F. Paráfitises. G. Asco bitunicado. H. Ascósporos imaturos. I. Ascósporo.

## 8.9 *Scolecobonaria* provável espécie nova no. 12

### Descrição:

*Corpos de frutificação* 94-169 µm de diâmetro, epifilos, isolados, globosos, achatados formando uma ligeira concavidade, escuros, não setosos (Fig. 21. A, B e C). *Células da parede* 5-12 µm de diâmetro, *textura angularis*, marrom-olivácea (Fig. 21. D). *Ascospóros* 35-67 × 7-17 µm, clavados, bitunicados, subcilíndricos, obovoides, as vezes ligeiramente obtuso no ápice, 6 - 8 esporos, aparafisados (Fig. 21. E e F). *Ascospóros* 29-62 × 3-4 µm, filiformes, hialinos, 6-13 septos transversais, retos, maioria curvados (Fig. 21. G).

**Espécime examinada:** Brasil: Rio de Janeiro, Paracambi, PNMCP. 7 Dez. 2013. Em espécie de *Chromolaena maximilliani* (Asteraceae). Leg. P.S. Medeiros. 13; (UFRRJ 294).

### Discussão:

O gênero *Scolecobonaria* Bat. *n. gen.* foi descrito por Batista & Cifferi (1962), o qual apresenta um *micélio* pelucoso (como uma crosta fina), *hifas* oliváceas ou marrons, não setosas, não hifopodiadas, *peritécios* globosos ou globosos depressivos, *ascos* com 6 - 8 esporos, aparafisados e *ascospóros*, cilindro-alongados multiseptados, hialinos. Os autores ilustram muito bem a espécie *S. lithocarpi* (Miller & Bonar) Bat. *n. comb.* considerada espécie tipo do gênero.

Os autores no mesmo trabalho consideram a espécie *Limacinia filiformis* W. Yamam (1956) como sinônimo da espécie *Scolecobonaria filiformis* (W. Yamam) Bat. (1962), que é considerada atualmente a espécie tipo do gênero. Von Arx & Müller (1975), em uma reavaliação dos ascomicetes bitunicados, fornece chaves de identificação para varias famílias e gêneros, e ressalta o gênero *Limacinia* Neger, considerando como sinônimos do mesmo os gêneros: *Xystozukalia* Theiss. (1916), *Ceramothyrium* Batista & Maia (p. 115) (1956), *Globoa* Batista & Maia (1962), *Euceramia* Batista & Cifferi (1962), *Scolecobonaria* Batista (1962), *Uloseia* Batista (1963).

Yamamoto, (1957) fornece uma chave de identificação do gênero *Limacinia*, considerando como característica principal de diferenciação entre as espécies os ascósporos e sua morfologia, assim como o número de septos, descrevendo *L. filiformis* a qual forma ascósporos filiformes com 5 - 13 septos, como descrito por Batista & Cifferi (1962), assim como formam peritécios globosos depressivos a subglobosos, ascos ovalados ou clavados, aparafisados e esporos hialo-fragmos, semelhante ao espécime estudado (Tabela 18).

Atualmente, existem duas espécies de *Scolecobonaria* validadas que foram descritas por Batista & Cifferi (1962), ambas ocorrendo em hospedeiros distintos, *S. filiformis* (W. Yamam.) Bat. em *Citrus maxima* (Burm.) Merr. e *S. lithocarpi* ocorrendo em folhas vivas de *Lithacarpus densiflorus* (Hook & Am.) Rehder. Cabe mencionar que, a família, a ordem e a classe ao qual pertence o gênero *Scolecobonaria* encontra-se em posição taxônômica incerta e que *L. filiformis* é tratada como nome atual *S. filiformis*.

O espécime estudado apresenta dimensões morfométricas distintas das demais espécies, formando ascomas menores com até (169 µm) de diâmetro, comparado com a espécie *S. filiformis* que forma ascomas com até (272 µm) de diâmetro e a espécie *S. lithocarpi* que forma ascomas com até (220 µm) de diâmetro. O espécime em estudo também forma ascos (35 - 67 × 7 - 17 µm) e ascósporos (29 - 62 × 3 - 4 µm) mais curtos e mais estreitos, quando comparados com as demais espécies (Tabela 18). Conclui-se que, o espécime encontrado trata-se de uma espécie pertencente ao gênero *Scolecobonaria* em função de suas semelhanças gerais, sendo

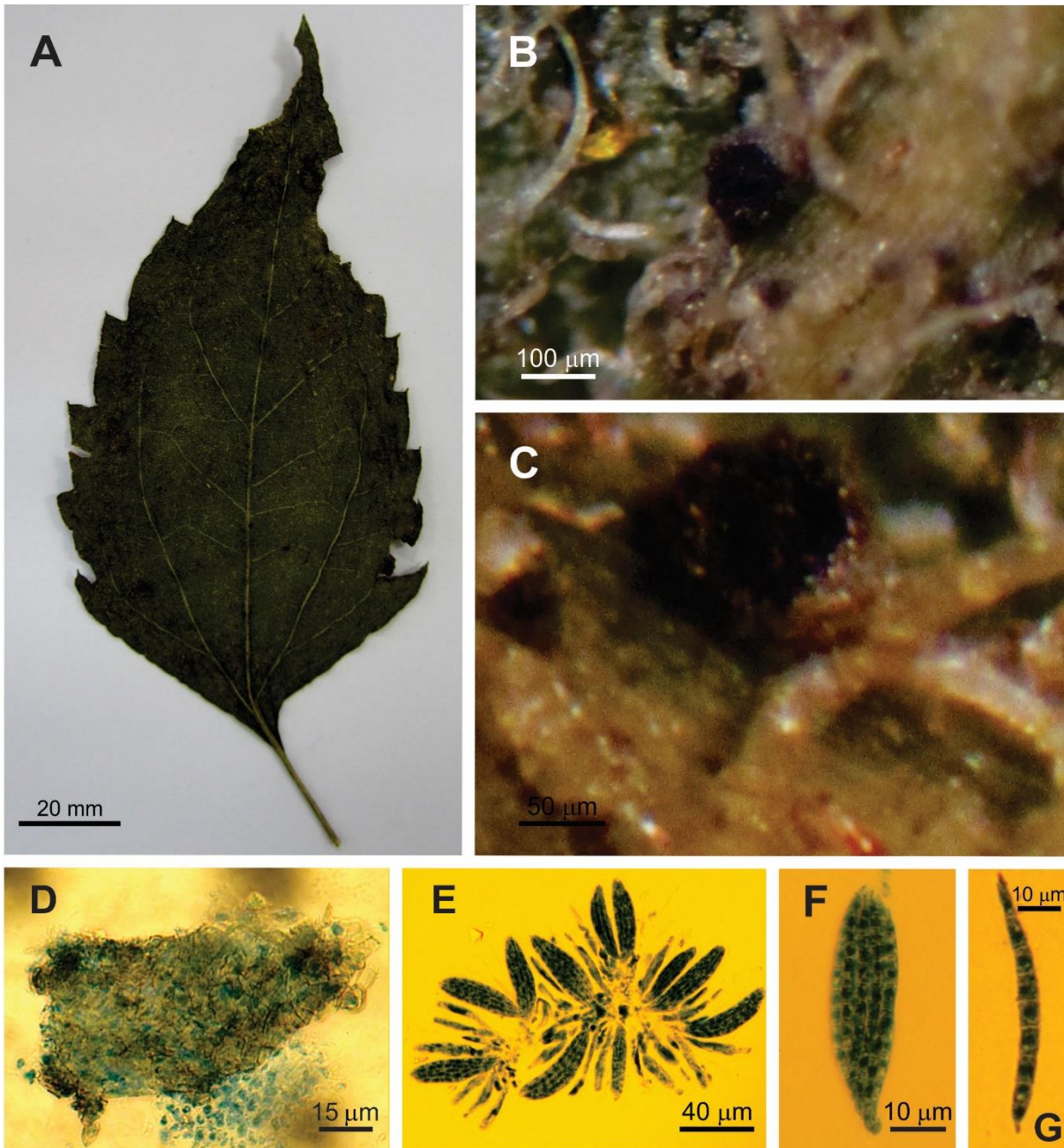
considerada uma provável espécie nova em função de suas diferenças morfométricas em relação às demais espécies validadas atualmente, como também é considerado nesse estudo o primeiro relato do gênero *Scolecobonaria* ocorrendo na família *Asteraceae* sobre folhas de *C. maximilliani* no Brasil.

**Tabela 18.** Comparação entre espécies de *Scolecobonaria* válidas atualmente e o espécime encontrado em *Asteraceae*.

FUNGOS	PLANTA HOSPEDEIRA	ASCOMA ( $\mu\text{m}$ )	CÉLULAS DA PAREDE ( $\mu\text{m}$ )	ASCO ( $\mu\text{m}$ )	ASCÓSPORO ( $\mu\text{m}$ )
<i>Scolecobonaria filiformis</i> <sup>1</sup>	<i>Citrus máxima</i> ( <i>Rutaceae</i> )	187 - 272 diâm.	-	58 - 85 $\times$ 18 - 23 8 espóros, clavados, pedicelo curto, aparafisados	46 - 76 $\times$ 4 - 6 5 - 13 septos, cilíndricos alongados, retos a curvados, hialinos
<i>Scolecobonaria lithocarpi</i> <sup>1</sup>	<i>Lithocarpus densiflorus</i> ( <i>Fagaceae</i> )	175 - 220 diâm.	3.5 - 10 $\times$ 2.5 - 8	55 - 87 $\times$ 12 - 20 6 - 8 espóros, subcilíndricos a elipsóides, séssil, aparafisados	40 - 66 $\times$ 3 - 6 6 - 12 septos, cilíndricos alongados, retos a curvados, hialinos
<b>Espécime encontrado</b>	<i>Chromolaena maximilliani</i> ( <i>Asteraceae</i> )	94 - 169 diâm.	5 - 12 diâm.	35 - 67 $\times$ 7 - 17 6 - 8 espóros, clavados, subcilíndricos, obovoides, aparafisados	29 - 62 $\times$ 3 - 4 6 - 13 septos, filiformes, retos a curvados, hialinos

<sup>1</sup>Batista & Ciferri (1962)





**Figura 21:** A-G. *Scolecobonaria* (provável espécie nova no. 12) em folhas de *Chromolaena maximilliani*. A. Folhas com frutificações. B-C. Ascomas. D. Células da parede. E. Ascus. F. Asco em detalhe. G. Ascósporos.

## 9. CAPITULO IV

### CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DARK SEPTATE

#### FEDS - AM 101

Após incubação em meio BDA, AM, EAM e EA (bloco), EAM, EFM e EFM fitotron, verificou-se o crescimento de colônias fúngicas em todas as placas tendo o crescimento iniciado a partir de um fragmento de micélio do fungo isolado na forma de disco com 7 mm de diâmetro (Fig. 22). Todas as colônias fúngicas foram analisadas quanto à textura, coloração e diâmetro (Tabela 19). Lâminas foram preparadas e analisadas para verificação de estruturas típicas de reprodução como células conidiogênicas, conidióforos e esporos (Fig. 23 a 29).

#### 9.1 Isolado AM 101 provável espécie nova no. 13

##### *Descrição:*

De acordo com as análises das características morfológicas a partir de lâminas observadas sob microscopia óptica com base em todos os tratamentos, o isolado apresentou características de esporulação, apresentando: *Hifas* lisas, marrons, septadas, ramificadas (Fig. 23. A “seta vermelha”), em determinado momento ocorre a formação de laços ou enovelamentos (Fig. 23. B; Fig. 28. B “seta vermelha”), como também de feixes de hifas tipo (rizomorfa) (Fig. 26. A “seta vermelha”). *Células conidiogênicas* indistintas. Conidiogênese holoblástica. *Conídios* fusiformes, elipsoides, as vezes subglobosos, não septados, truncados na base, marrons escuros, 1-12 conídios, catenulados (Fig. 25. F “seta vermelha”), as vezes ocorrendo formação de cadeias laterais (Fig. 24. D e Fig. 26. D “seta vermelha”) ou solitários a partir da hifa (Fig. 24. C; Fig. 26. C “seta vermelha”). As vezes a hifa apresenta estruturas tipo apressório capitado (Fig. 28. C, D “seta vermelha”). *Clamidósporos* intercalares ou terminais (Fig. 28. E “seta vermelha”).

**Nota:** Dados morfométricos do micélio dos isolados sob todos os tratamentos, mostram-se similares, com poucas diferenças. O maior diâmetro de hifa, foi observado no tratamento com EFM [3-5  $\mu\text{m}$ ] e o menor diâmetro em meio BDA (2-4  $\mu\text{m}$ ). Os conídios apresentaram similaridades nas medições sendo os mais largos observados a partir do meio AM [7-11  $\mu\text{m}$ ] e o maior comprimento a partir do EAM (bloco) (10-17  $\mu\text{m}$ ). A partir do tratamento com EFM não foram observados conídios. O menor diâmetro formado pelos “laços” ou “loops”, foi observado no tratamento com EFM (fitotron) (15-20  $\mu\text{m}$ ) e o maior em EAM com (21-62  $\mu\text{m}$ ). Foram observadas estruturas, embora poucas, tipo apressório no tratamento com EFM (9-13  $\times$  3-5  $\mu\text{m}$ ). No tratamento com EA (bloco) foram observados feixes de hifas tipo Rizomorfas apresentando diâmetro de (12-29  $\mu\text{m}$ ).

**Espécime examinada:** Brasil: Roraima, Município de Caracarái, Set. 2009/ Mar. 2010. Em raízes de *Oryza glumaepatula* Steund. Leg. J. E. Zilli; (COFMEA).

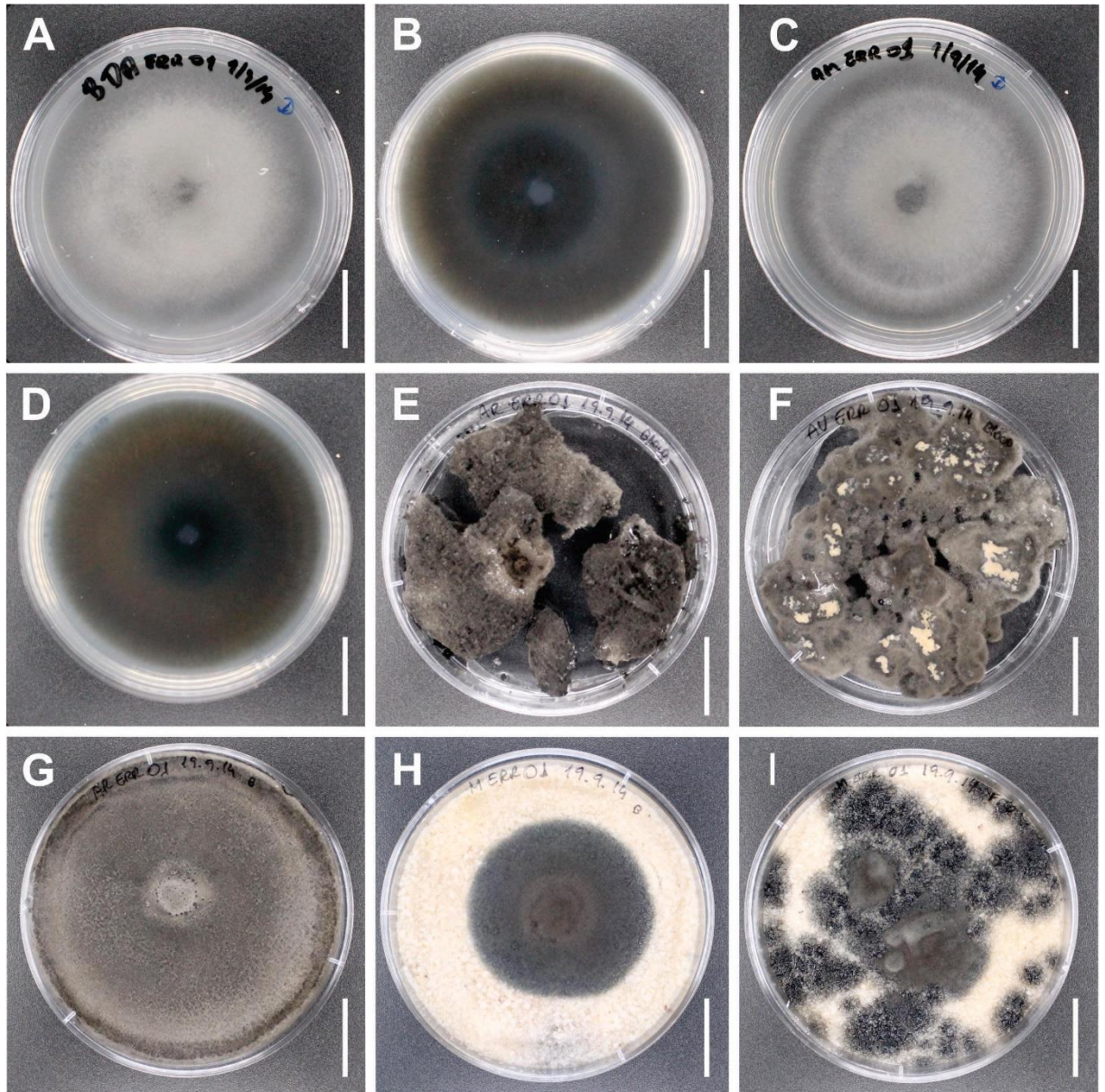
O fungo encontrado, apresenta algumas similaridades com o gênero *Mammaria* Ces. (DOMSCH, GAMS & ANDERSON 1980), porém, com base na literatura, este não forma conídios em cadeia como o fungo em estudo. Cabe mencionar que, o gênero *Wardomyces*

Brooks & Hansf. também mostrou-se similar, porém difere por formar células conidiogênicas aparentemente peniciladas e poliblasticas ou em alguns casos aneladas, formando conídios às vezes em cadeia mas, nota-se que o fungo difere ao encontrado em *Oryza*. A análise molecular não foi efetuada para o isolado em questão, mas, estudos anteriores (RIBEIRO 2011) indicam tratar-se seguramente de uma nova espécie, sendo necessário estudos adicionais visando a caracterização efetiva da mesma.



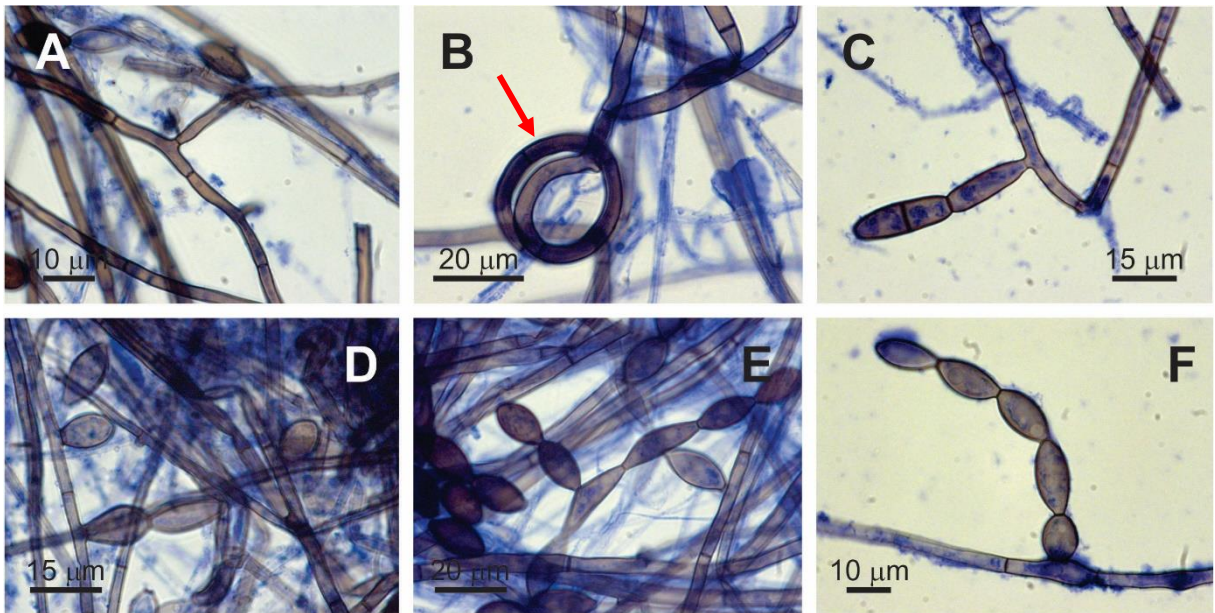
**Tabela 19:** Característica do isolado AM 101 quanto a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.

<b>CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS – FEDS AM 101</b>					
<b>MEIOS DE CULTURA E EXTRATOS</b>	<b>COLORAÇÃO</b>	<b>TEXTURA DA COLÔNIA</b>	<b>TEXTURA DA MARGEM</b>	<b>REVERSO</b>	<b>DIÂMETRO</b>
<b>BDA</b>	Esbranquiçado com tonalidades acinzentadas nas margens	Cotonosa	Fibrosa	Centro cinza escuro, graduando-se em faixas concêntricas de tonalidade cinza-claro até à margem olivácea-clara	80.01 mm
<b>AM</b>	Centro cinza escuro com faixa concêntrica de tonalidade marrom claro tornando-se em faixa mais escurecida, formando uma faixa cinza proeminente tornando-se olivácea na margem	Cotonosa	Fibrosa	Centro cinza escuro graduando-se em faixas concêntricas de tonalidades cinza escuro tornando-se marrom escuro em faixa larga até a margem olivácea escura	81.12 mm
<b>EAM (bloco)</b>	Cinza escuro	Algodonosa/ Aveludada	-	-	77.87 mm
<b>EA (bloco)</b>	Cinza escuro	Algodonosa/ Aveludada	-	-	79.55 mm
<b>EAM</b>	Cinza escuro com tons de oliváceo	Cotonosa	Suave	-	56.69 mm
<b>EFM</b>	Marrom oliváceo enegrecida	Aveludada	Ligeiramente fibrosa	-	17.79 mm
<b>EFM (fitotron)</b>	Cinza enegrecido com tons de marrom oliváceo	Cotonoso	Indistinto	-	20.28 mm

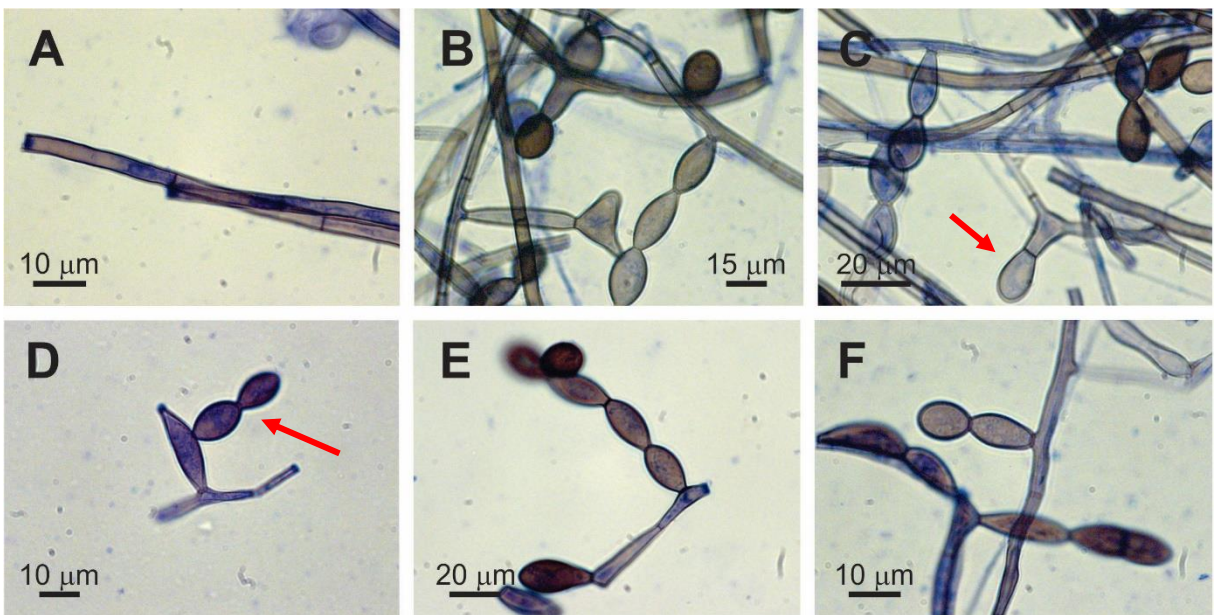


**Figura 22:** Colônias do isolado AM 101 (provável espécie nova no. 13) **A-B.** em BDA após 12 dias a 30 °C, (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **C-D.** em AM após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **E.** em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **F.** em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **G.** em EAM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **H.** em EFM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **I.** em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron (visão de frente da placa).



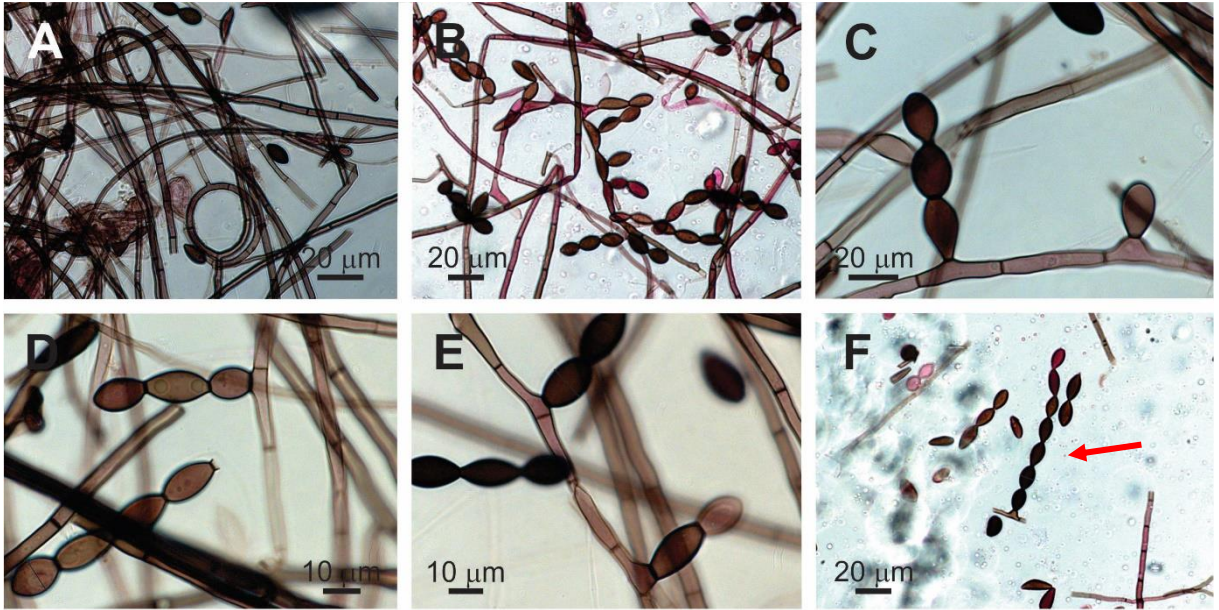


**Figura 23.** A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em meio BDA.

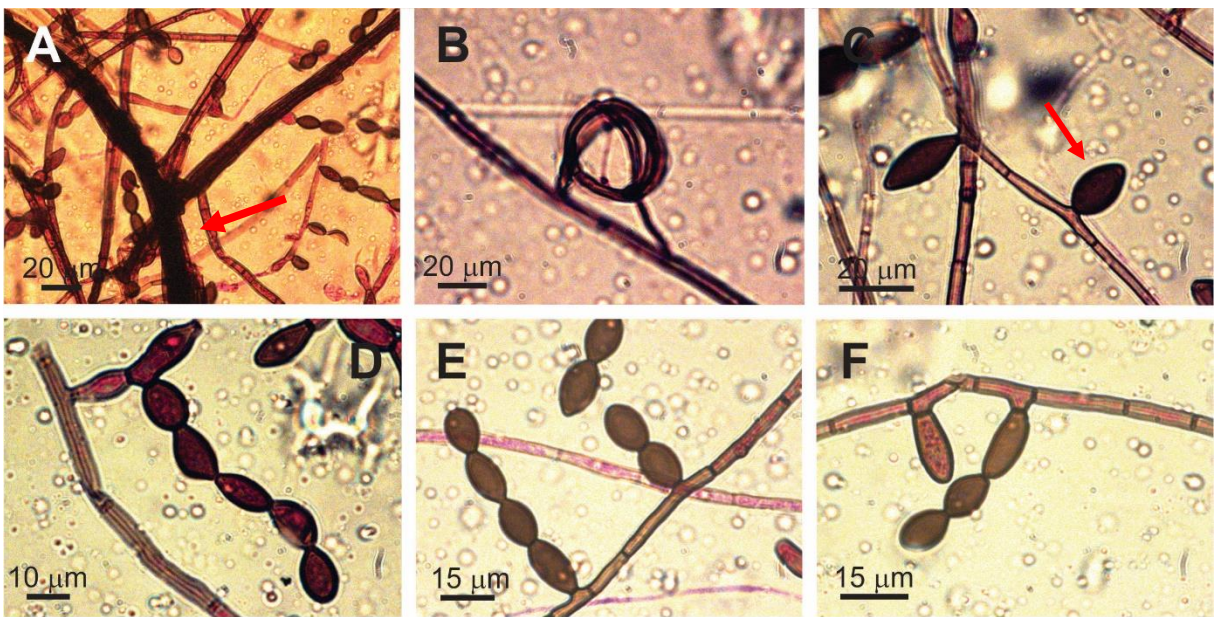


**Figura 24.** A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em meio AM.



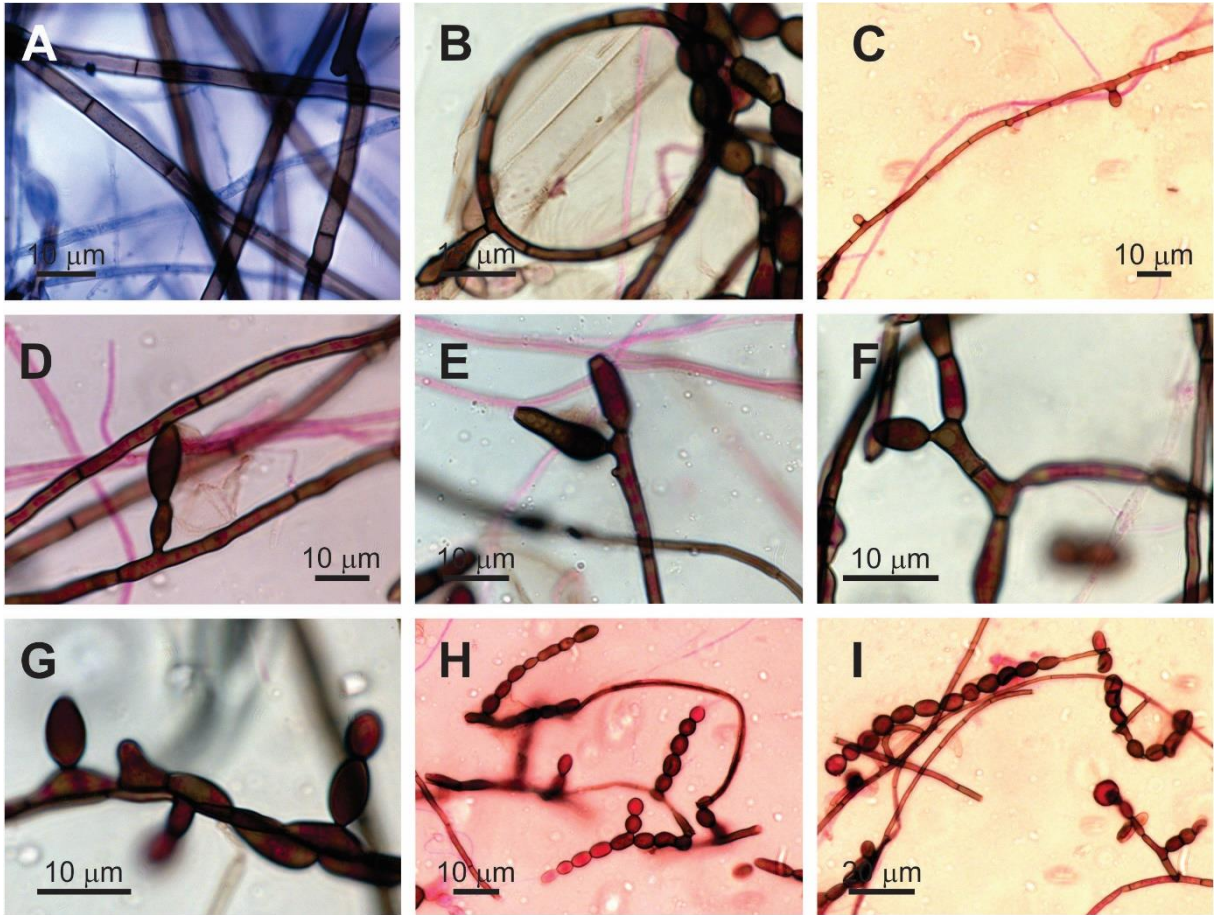


**Figura 25.** A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).

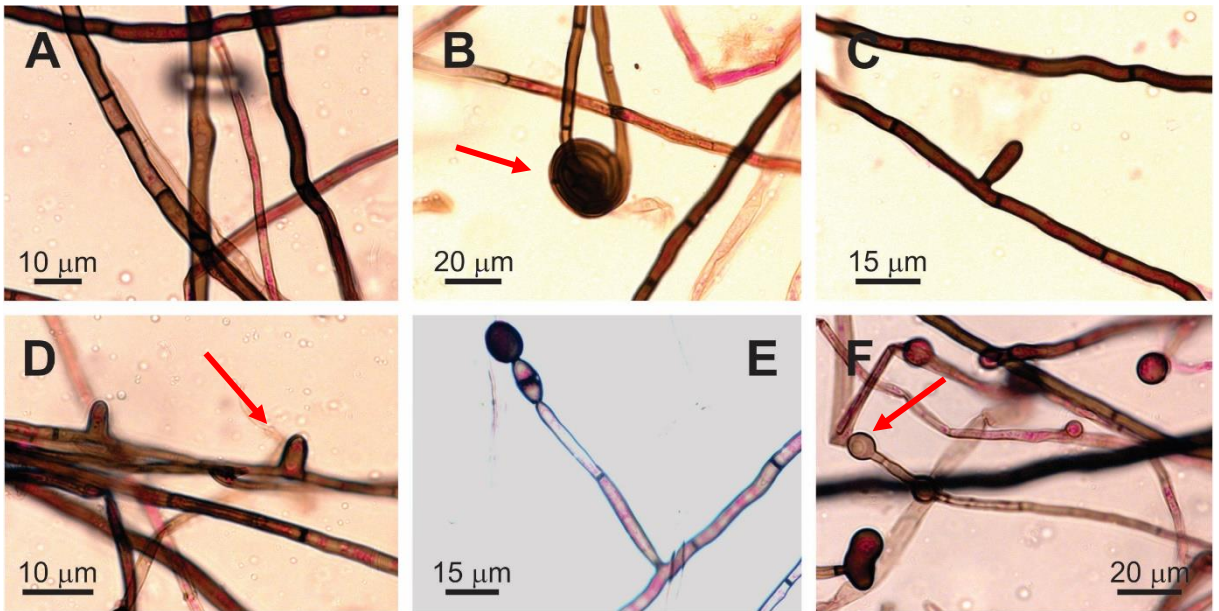


**Figura 26.** A-F: Lâminas do Isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EA (bloco).

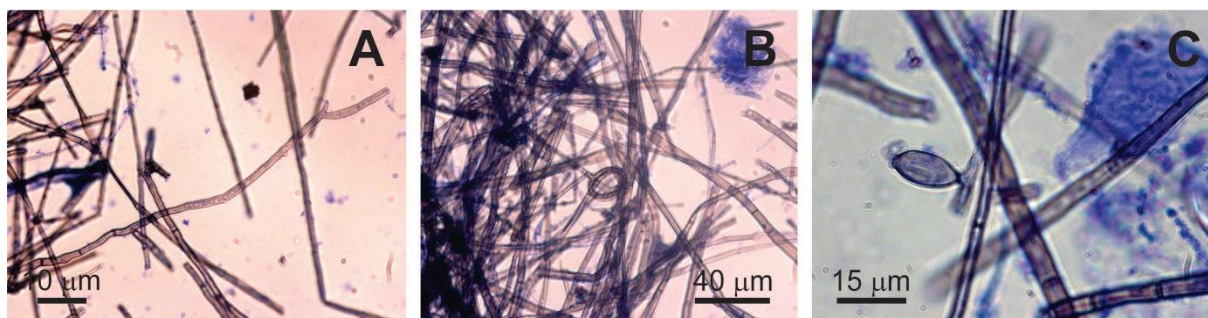




**Figura 27.** A-I: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EAM.



**Figura 28.** A-F: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EFM.



**Figura 29.** A-C: Lâminas do isolado AM 101 a partir do micélio crescido em EFM (fitotron).

## FEDS - AM 102

Após incubação em meio BDA, AM, EAM e EA (bloco), EAM, EFM e EFM fitotron, verificou-se o crescimento de colônias fúngicas em todas as placas tendo o crescimento iniciado a partir de um fragmento de micélio do fungo isolado na forma de disco com 7 mm de diâmetro (Fig. 30). Todas as colônias fúngicas foram analisadas quanto à textura, coloração e diâmetro (Tabela 20). Lâminas foram preparadas e analisadas para verificação de estruturas típicas de reprodução como células conidiogênicas, conidióforos e esporos (Fig. 31).

### 9.2 Isolado *Cladosporium* sp. provável espécie nova no. 14

**Preâmbulo:** “O fungo *Cladosporium* Link: Fr. (1816), é um dos maiores e mais heterogêneos gêneros de Hiphomycetos, sendo considerado um dos que mais dispersam esporos no ar, embora em climas quentes e secos podem ser excedidos por *Alternaria* e em climas úmidos por *Curvularia* ou *Drechslera* (KIRK et al., 2008). Não muito recentemente, todos os tipos de fungos Hiphomycetos dematiaceos não relatados apresentando características conidiais amero e phragmospóros formados em cadeias acrópetas eram considerados como *Cladosporium* (BENSCH et al., 2012). Segundo David (1997); Ogórek et al. (2012), a espécie *C. herbarum* (Pers: Fr.) Link (lectotype, Clements & Shear, 1931: 395) é a espécie tipo do gênero cujas principais características morfológicas do grupo são: Conidióforo caespitoso, macronematoso, septado, ereto, proliferação simpodial ou raramente monopodial. Célula conidiogênica determinada ou indeterminada, com cicatrizes presente no loco conidiogênico e no conídio, unilocos ou multilocos. Loco conidiogênico apical e lateral aparecendo sucessivamente no arranjo simpodial. Ontogenia conidial, blástica, hologeneas. Conídio solitário ou catenulado, cadeias são hologeneas, acrópeta, simpodial, conídio delimitado por um único septo basal e separando-se esquizoliticamente, conídio aseptado ou com poucos septos transversais. Cicatrizes conidiogênicas, protuberantes, grossas e melanizadas, caracteristicamente “coronada”, derivada do desenvolvimento de uma forma tipo rim no ponto da abscisão e um montículo central no último ponto de conexão. A espécie *C. tenuissimum* Cooke, 1878, a qual foi originariamente isolado a partir da bainha de planta (*Zea mays*), foi caracterizada por possuir longos e finos tufo flexuosos e pequenos, mas abundantes esporos (SACCARDO 1886), também isolado a partir de mais de 40 espécies de plantas diferentes e vários substratos como o ar, o pão, o solo, a água, folhas mortas, galhos e ramos, é considerada uma espécie cosmopolita, mas ocorrendo especialmente em países de clima tropical (ELLIS 1976; BENSCH et al., 2012; OGÓREK et al., 2012). Filogeneticamente, foi a espécie que mais próxima ficou ao espécime em estudo. Segundo Ellis (1976), baseado no

isolamento de diferentes hospedeiros e fontes, *C. tenuissimum* forma colônias efusas ou seja, espalhadas, densamente feltrosas, em cultura como em meio Ágar malte são comumente pálidas e acinzentadas como igualmente observado em nossos estudos, seus conidióforos são muitos longos, as vezes até 800 µm ou mais, estreitos para ligeiramente curvados, meio marrom escuro, liso, 3-6 µm de espessura, ligeiramente inchado ou não inchado, unilateralmente inchado no ápice e sem nodos inchados característica da espécie proximamente relacionada *C. oxysporum*. Seus conídios se apresentam de forma catenulada, cilíndricos, elipsoidais, limoniformes ou sub-esféricos, muito variável em tamanho como na forma, pálido ou marrom oliváceo muito pálido, lisos ou ocasionalmente verrucoso, 3-25 × 3-6 µm. De acordo com análise filogenética baseada nos dados de sequenciamento da região ITS comparada com outras sequências depositadas no banco de dados do Centro Nacional de Informações Biotecnológicas (NCBI) através do programa de Ferramenta Básica de Procura de Alinhamento Local (BLAST), observou-se que o isolado ERR 04 se posiciona apenas a nível de gênero, apresentando similaridade com 36 espécies de *Cladosporium* (Figura 32). Entretanto, na análise das sequências concatenadas da região ITS e da região alfa1-TEF, foi possível observar que o isolado ERR 04 ficou muito próxima da espécie *C. tenuissimum*, uma vez que apresentaram similaridade próxima a 99% (Figura 33). Em alguns gêneros de fungos, estruturas morfológicas distintas são formadas e carecem de terminologia diferenciada para um melhor entendimento no momento de classificar determinada espécie (CROUS et al., 2007). Schubert et al. (2007), a partir das análises de sequenciamento multilocos e características morfológicas a partir de culturas de espécies pertencentes ao complexo *Cladosporium herbarum*, que por sua vez é representado por cinco espécies, reportam que os conidióforos variam em comprimento e largura e eles próprios podem se ramificar. Uma outra importante característica é a localização onde os conídios se formam. Segundo Schubert et al. (2007), diferentes tipos de conídios são formados por espécies de *Cladosporium* (Figura 31) e diferentes termos são adotados como ilustrado na (Fig. 34) (BENSCH et al., 2012): Ramoconídio são conídios que frequentemente apresentam 2-3 hilos em sua extremidade apical ou mais de uma cicatriz, células conidiogênicas com mais de um loco conidiogênico são formados na região apical do conidióforo, tais regiões do conidióforo são denominadas ramoconídios e eles se destacam do conidióforo a partir de um septo e funcionam como conídio (KIRK et al., 2008). Os ramoconídios são caracterizados por serem truncados, apresentar uma base indiferenciada, assim existe uma ausência de hilo coroado conidial formado no mesmo contexto da célula conidiogênica, e podem ser muito longos, asseptados a multi-septados (CROUS et al., 2007). Embora inicialmente formados como parte do conidióforo, eles atuam como propágulos (SCHUBERT et al., 2007). O ramoconídio secundário também tem mais de um hilo distal, mas sempre é derivado de um loco conidiogênico ou uma célula anteriormente formada a qual pode ser uma célula conidiogênica ou um ramoconídio, são as vezes mais curtos, porém mais largos que os ramoconídios, são muitas vezes septados e com uma base estreita com um hilo coroado (SCHUBERT et al., 2007). Os conídios do gênero *Cladosporium* apresentam um hilo basal coroado (CROUS et al., 2007) e quando formados em partes não ramificadas da cadeia apresentando um único hilo são chamados de unidades intercalares e quando são formados nas pontas da cadeia sem nenhum hilo distal de conídios terminais pequenos (SCHUBERT et al., 2007). Os conídios intercalares são maiores e mais pigmentados e tem uma ornamentação na superfície diferenciada do que os conídios terminais pequenos, esses últimos variam na forma podendo ser subglobosos, ovóides, elipsoides, fusiforme, limoniforme a subcilíndrico ou cilíndrico (SCHUBERT et al., 2007; BENSCH et al., 2012). Os conídios formados por espécies do gênero *Cladosporium* são formados em cadeias acropetálicas, sendo que o ramoconídio basal ou o ramoconídio secundário possuem nutrientes e metabólitos necessários para produzir um número de ramoconídio secundário



adicionais que por sua vez produzem uma cadeia de conídios intercalares e finalmente dando origem a uma cadeia de conídios terminais (Fig. 34) (BENSCH et al., 2012) ”.

#### Descrição:

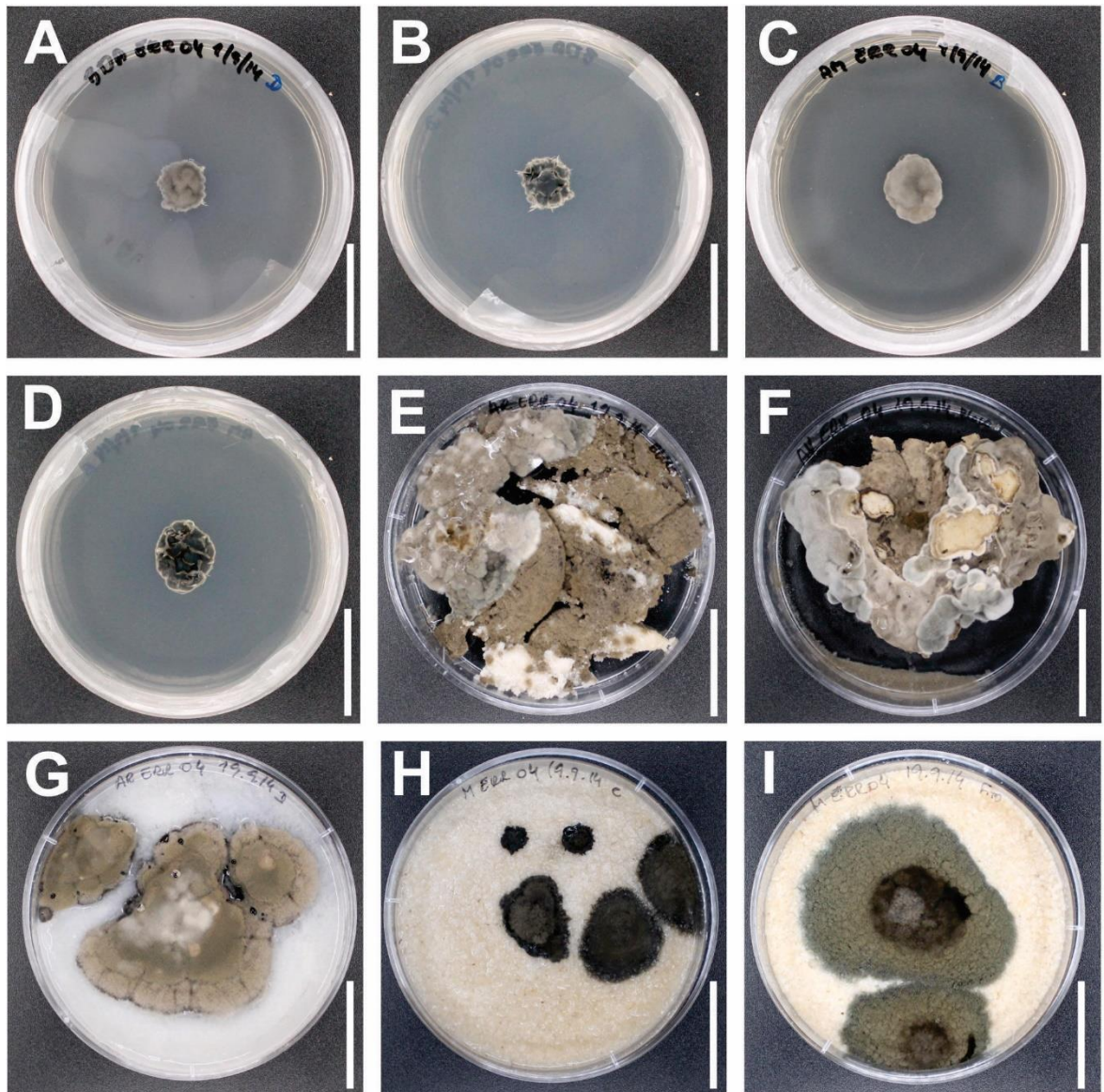
De acordo com as características morfológicas observadas sob microscopia óptica com base em todos os tratamentos, o isolado apresentou estruturas morfológicas típicas do gênero *Cladosporium*, apresentando: *Micélio* superficial contendo hifas 2-5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, septadas, ramificadas, hialinas, marrom-pálidas a marrom escuras, parede não espessa, mas as vezes ligeiramente espessa de coloração escura, lisa. *Conidióforos* 38-269  $\times$  3-4  $\mu\text{m}$ , macronematosos, micronematosos, solitários, surgindo terminalmente ou lateralmente a partir da hifa, eretos, retos, mas às vezes flexuosos, as vezes geniculados em direção ao ápice, ápice com desenvolvimento simpodial apresentando cicatrizes laterais ou retos, cilíndrico- oblongos, hialinos para marrom pálido ou marrons, não ramificados ou ramificados, ramificações curtas para um pouco longas, ocorrendo normalmente abaixo de um septo, parede não muito espessa, lisas, as vezes escuras (Fig. 31. A-E), conidióforos micronematosos 3-4  $\mu\text{m}$  diâmetro (Fig. 31. H-I). *Células conidiogênicas* 8-26  $\times$  3-4  $\mu\text{m}$ , integradas, terminais e intercalares, cilíndrica-oblongas, as vezes ligeiramente geniculadas no ápice, hialinas para marrom-pálidas, loco situado em inchaços, mas não se restringindo a ele. *Ramoconídio* (8) 12-60 (67)  $\times$  3-4  $\mu\text{m}$ , 0-1 (2) septo, cilíndrico-oblongo, base truncada, 2-3  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Fig. 31. F e G). *Conídios* 4-9  $\times$  2-4  $\mu\text{m}$ , catenulados, em cadeias ramificadas, 1-4 (5) conídios na parte terminal da cadeia não ramificada, ramificações em todas as direções, conídio terminal pequeno, subgloboso, obovoide, limoniforme, globoso, asseptado (Fig. 31. L). *Conídios intercalares* 6-14  $\times$  2-4  $\mu\text{m}$ , 0-1 septo, subcilíndrico, elipsoidal, com dois hilos distais (Fig. 31. K). *Ramoconídio secundário* 10-20  $\times$  2-4  $\mu\text{m}$ , 0-1 septo, elipsoidal, fusiforme, subgloboso, 2-3 hilas distais, marrom pálido, parede não espessa, as vezes atenuado em direção a base (Fig. 31. J).

**Espécime examinada:** Brasil: Roraima, Município de Caracaraí, Set. 2009/ Mar. 2010. Em raízes de *Oryza glomaepatula* Steund. Leg. J. E. Zilli; (COFMEA).

O fungo em estudo pode ser considerado como uma espécie do gênero *Cladosporium* (SCHUBERT et al., 2012), e de acordo com os resultados a partir das análises filogenéticas estando muito próximo da espécie *C. tenuissimum* (BENSCH et al., 2012), mas baseado em nossas observações dimensionais morfológicas, o espécime em estudo ERR 04 difere da espécie de *C. tenuissimum* por apresentar conidióforos (38 - 269  $\times$  3 - 4  $\mu\text{m}$ ) e células conidiogênicas [8 - 26  $\times$  3 - 4  $\mu\text{m}$ ] mais curtas, ramoconídio [(8) 12 - 60 (67)  $\times$  3 - 4  $\mu\text{m}$ ] mais longos, conídios terminais (4 - 9  $\times$  2 - 4  $\mu\text{m}$ ) e intercalares (6 - 14  $\times$  2 - 4  $\mu\text{m}$ ) um pouco mais longos e ramoconídio secundário (10 - 20  $\times$  2 - 4  $\mu\text{m}$ ) mais curtos (Tabela 21), conforme essas observações podemos inferir que o espécime em estudo trata-se de uma provável espécie nova pertencente ao gênero *Cladosporium* inserida no grupo dos FEDS.

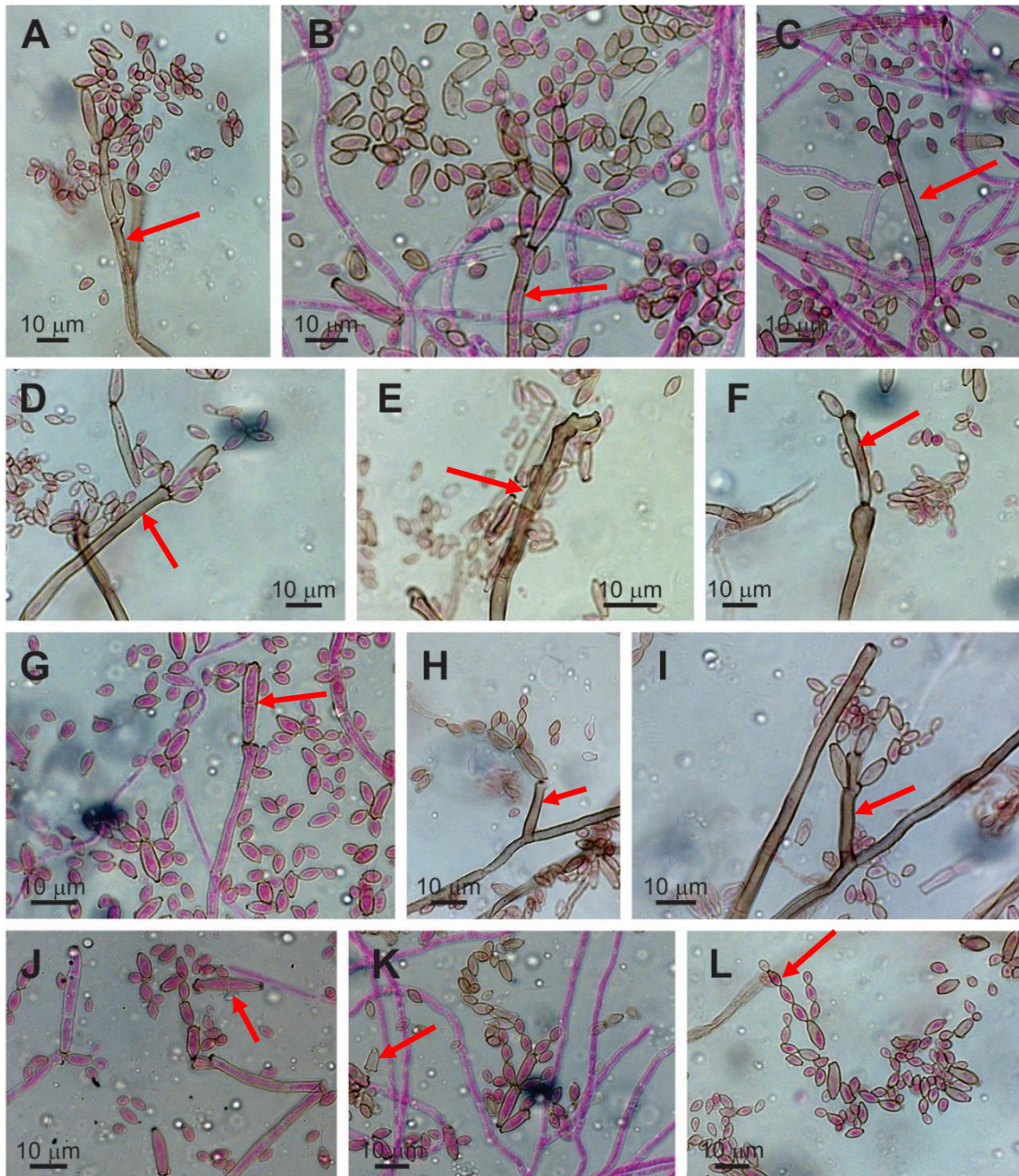
**Tabela 20:** Características do isolado AM 102 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.

<b>CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS - FEDS AM 102</b>					
<b>MEIOS DE CULTURA E EXTRATOS</b>	<b>COLORAÇÃO</b>	<b>TEXTURA DA COLÔNIA</b>	<b>TEXTURA DA MARGEM</b>	<b>REVERSO</b>	<b>DIÂMETRO</b>
<b>BDA</b>	Cinza amarronzado-claro com margens claro-acinzentadas	Avelulada	Suave	Cinza escuro com margem claro-acinzentada	15.93 mm
<b>AM</b>	Cinza amarronzado-claro com margens claro-acinzentadas	Avelulada	Aveludada	Cinza escuro com margem claro-acinzentada	18.31 mm
<b>EAM (bloco)</b>	Cinza esverdeada	Avelulada		-	84.60 mm
<b>EA (bloco)</b>	Cinza, olivacea	Avelulada		-	83.80 mm
<b>EAM</b>	Cinza com tons mesclados em cinza claro e cinza escuro por toda colônia	Cotonoso	Suave	-	40.31 mm
<b>EFM</b>	Centro cinza oliváceo tornando-se enegrecida até a margem	Cotonosa,	Fibrosa	-	22.13 mm
<b>EFM (fitotron)</b>	Cinza escuro com tons de marrom oliváceo	Cotonosa levemente irregular	Suave	-	20.68 mm

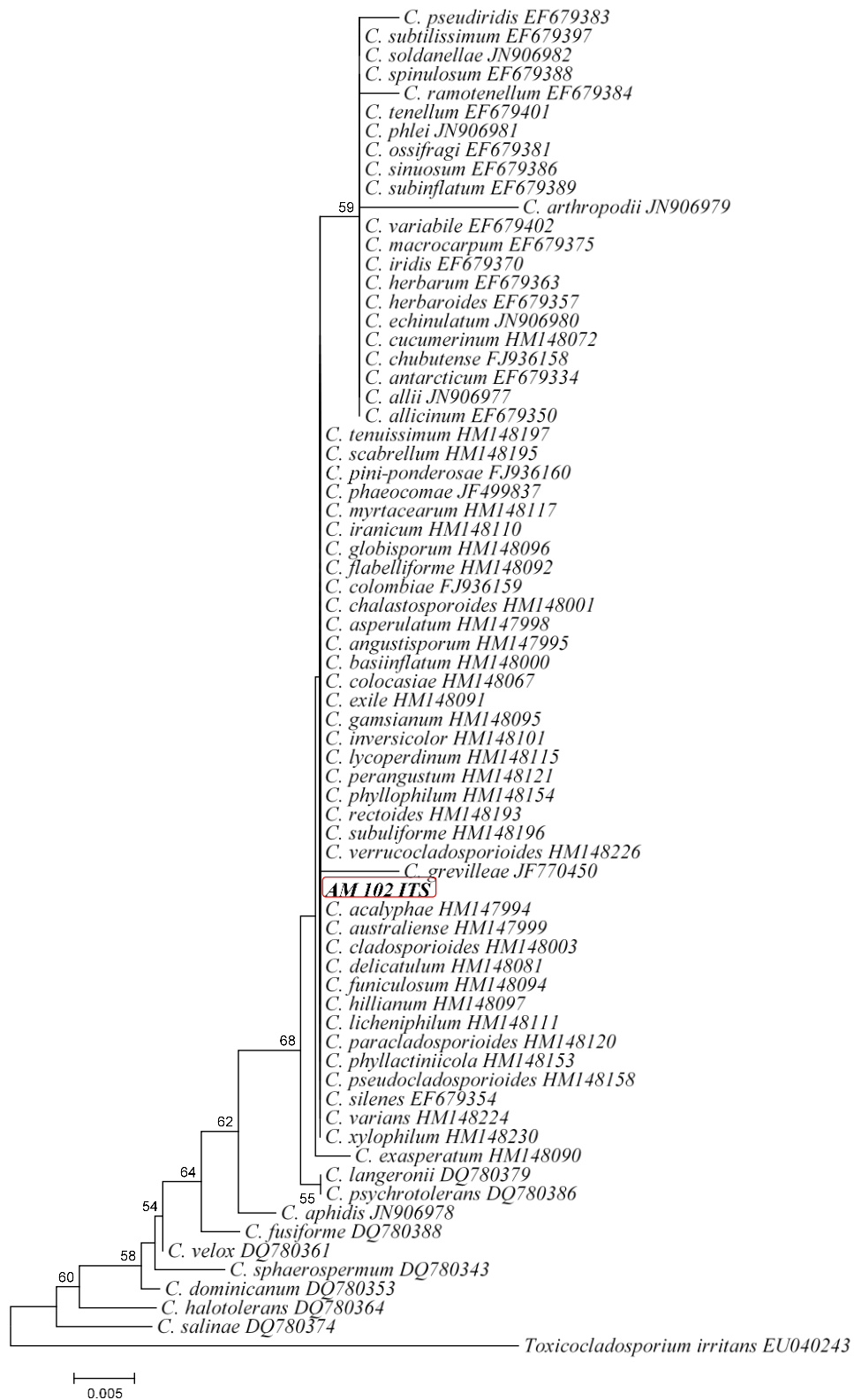


**Figura 30:** Colônias do isolado AM 102 (provável espécie nova no. 14) **A-B.** em BDA após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **C-D.** em AM após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **E.** em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da paca). **F.** em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da paca). **G.** em EAM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da paca). **H.** em EFM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da paca). **I.** em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron (visão de frente da paca).

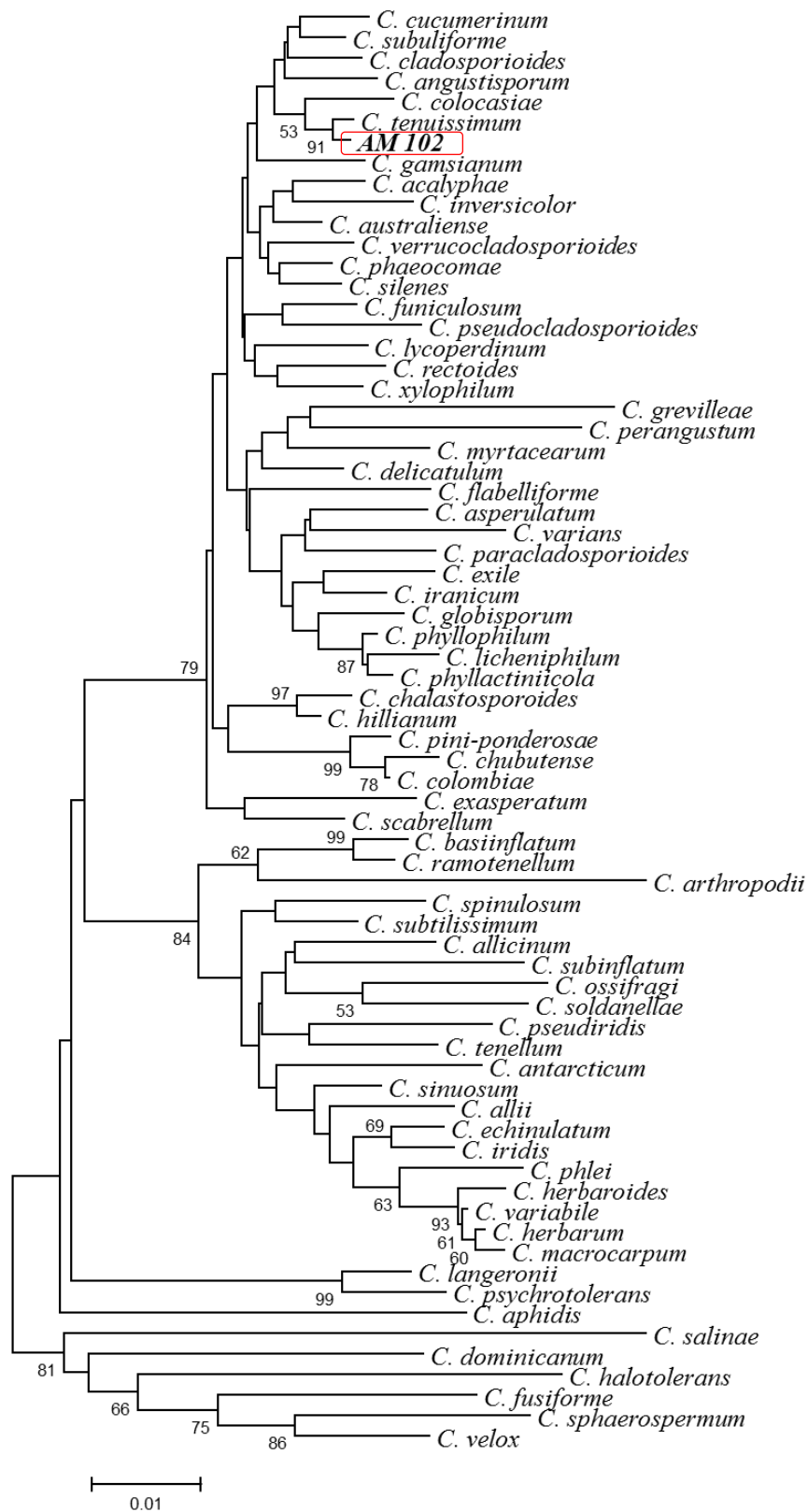




**Figura 31:** A-L. *Cladosporium* sp. A-E. Conidióforo macronematoso. F-G. Ramoconídio. H-I. Conidióforo micronematoso. J. Ramoconídio secundário. K. Conídio intercalar. L. Conídios.



**Figura 32:** Árvore filogenética baseada na região ITS do rDNA do isolado AM 102 através do método “Neighbor-joining” com cálculo de distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de Bootstrap com 1000 repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 0,5 substituições a cada 100 nucleotídeos.



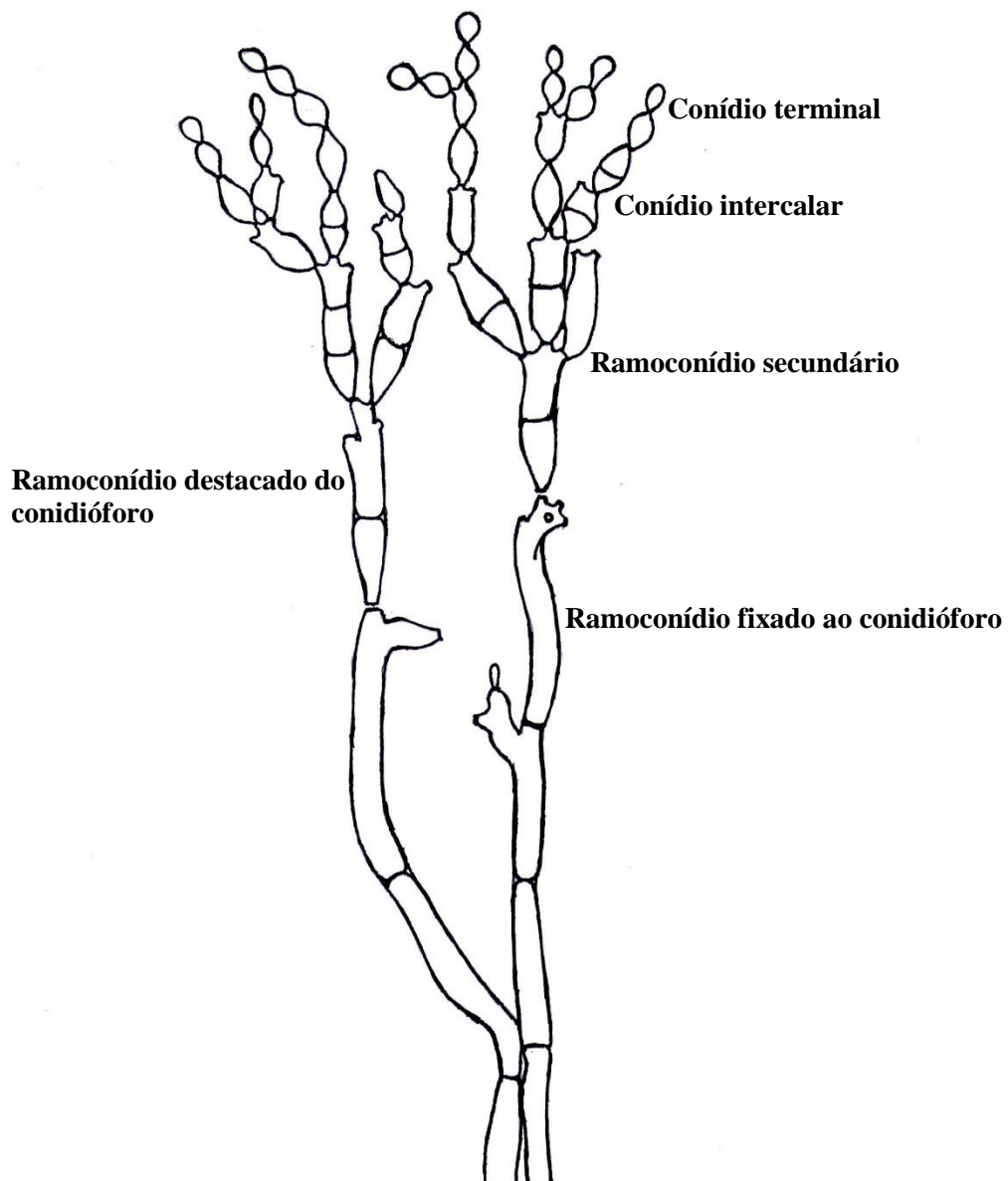
**Figura 33:** Árvore filogenética concatenada baseada na região ITS e  $\alpha 1$ -TEF do rDNA do isolado AM 102 através do método “Neighbor-joining” com cálculo da distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de “bootstrap” com mil repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 1 substituições a cada 100 nucleotídeos.

**Tabela 21.** Comparação entre espécies de *Cladosporium* e o isolado AM 102 baseado no resultado filogenético.

ESPÉCIES DE <i>CLADOSPORIUM</i>	CONIDIÓFORO	PAREDE DO CONIDIÓFORO	CONIDIÓFORO MICRONEMATOSO	CÉLULA CONIDIÓGENICA	RAMOCONÍDIO	Nº DE CONÍDIOS NA PARTE TERMINAL NÃO RAMIFICADA DA CADEIA	CONÍDIO PEQUENO TERMINAL	CONÍDIO INTERCALAR	RAMOCONÍDIO SECUNDÁRIO
<i>C. cucumerinum</i> <sup>1</sup>	Acima de 350 µm comp. e 3-5 [5.5] µm larg.	Acima de 0.5 µm diâm.	1-2 µm diâm.	Acima de 47 µm larg. Loco 1-2 (3) 1.2-5 µm diâm.	24-43 × 3-3.5 µm; 0-2 septos; base 2.5-3 µm larg.	Acima de 10 (14)	4-8 [10] × [1] 1.5-3 [3.5] µm; asseptado; hila 0.5-0.8 [1] µm diâm.	7-15 [17] × [2] 2.5-4 [5]; 0 (1) septo; hila 0.8-1.2 [1.5] µm	[9.5] 14-30 [40] × [2.5] 3-5 [5.5] µm; 0-2 (3) septos; hila 1.5-2.2 [2.5] µm
<i>C. subuliforme</i> <sup>1</sup>	Acima de 20 µm, 9-330 × [1.5] 2-3 [3.5] µm; basal cell 8 [10] µm;	0.5 µm larg.		9-40 µm comp. Acima de 5 loco [0.8] 1-1.5 [1.8] µm diâm.	[14] 17-35 × [1.5] 2-3 µm; 0 (1) septo; base 2-2.5 µm larg.	Acima de 5-6	2.5-4.5 [5.5] × 2-2.5 µm; asseptado	5.5-12 [13] × 2-3 [3.5] µm; acima de 4 hilas distais	[6] 8-25 [28] × 2-3 [3.5] µm; 0-1 septo; hila distal (2)3-4(5); hila [0.2] 0.5-1.5 [1.8] µm
<i>C. cladosporioides</i> <sup>1</sup>	40-300 [350] × [2.5] 3-4 [5.5] µm	Acima de 7 µm diâm.	9-150 × [1] 1.5-2 [2.5] µm diâm.	[7] 16-38 µm comp.	15-50 × [2.5] 3-5 µm	Acima de 10	3-6 [7] × [1.5] 2-2.5 [3] µm	5-12 [14.5] × [2] 2.5-3 [4] µm; 3 (4) hilas distais	[7] 10-33 [38] × [2] 2.5-4 [6] µm; 0(1) septo; hila 0.5-2 [2.5] µm diâm.
<i>C. angustisporum</i> <sup>1</sup>	22-280 [1.5] 2-4 µm	-	-	10-27 µm comp.	18-42 [55] µm comp. 0-1 septo; base 2.5-3 µm diâm.	1-5	3-6.5 × 1.5-2 µm	[4] 5.5-11.5 [13] × [1.5] 2-2.5 [3] µm; 0-2 septos; 1-3 hilas distais	[6] 7.5-26 × 2-3 µm; 0-1 septo; 2-4 (5) hilas distais; hila 0.5-2 µm diâm.
<i>C. colocasiae</i> <sup>1</sup>	Acima de 1.350 µm e 3-4 [5] µm diâm.	0.5 µm diâm.	-	15-70 µm comp.	Ocasionalmente formado	-	9-16 × 5-7 [8] µm; 0-1 septo	-	10.5-23 [30] × 5-8 [9] µm; 0-1 (2) septos; hila 1-1.8 [2] µm diâm.
<i>C. tenuissimum</i> <sup>1</sup>	30-310 [460] × 2.5-4 µm (em agar aveia acima de 900 µm)	-	-	[4] 10-44 µm comp.	22-41 × 3-4 [5] µm; 0 (1) septo; base 2-3.5 µm diâm.	1-4 (6)	[2] 2.5-5 [6] × [1.5] 2-3 µm; asseptado	4-12 [17] × [1] 2-3 [4.5] µm; 3 raramente 1 septo; acima de 5 (7) hilas distais	[6] 7-25 [31] × [2] 2.5-4 [5] µm; 0-1 (2) septos; (1) 2-6 (7) hilas distais; hila 0.5-1.8 [2] µm diâm.
<i>C. gamsianum</i> <sup>1</sup>	10-146 × 3-5 µm	1 µm diâm.	-	9-18 µm comp.	-	-	3-6 × 1-1.5 [2] µm; asseptado	4.5-12 × 1.5-2.5 µm; asseptado; 1-3 (5) hilas distais	[6] 7-14.5 × [1.2] 1.5-3 [3.5] µm; 0 (1) septo; 1-5 hilas distais; 0.5-1.5 [1.8] µm diâm.
<b>ERR 04</b>	<b>38-269 × 3-4 µm</b>	-	-	<b>8-26 × 3-4 µm</b>	<b>[8] 12-60 [67] × 3-4 µm; 0-1 (2) septo; base 2-3 µm diâm.</b>	<b>1-4 (5)</b>	<b>4-9 × 2-4 µm; asseptado</b>	<b>6-14 × 2-4 µm; 0-1 septo; 2 hilas distais</b>	<b>10-20 × 2-4 µm; 0-1 septo; 2-3 hilas distais</b>

<sup>1</sup>Bensch, K. (2012).





**Figura 34:** Visão geral dos diferentes tipos de conídios cladosporiídeos. Conidióforo com ramocónidio ainda preso ao conidióforo a direita e a esquerda já destacado, ramocónidio secundário, conídio intercalar e conídio terminal pequeno, (segundo Bensch *et al.* 2012).

## FEDS – AM 103

Após incubação em meio BDA, AM, EAM e EA (bloco), EAM, EFM e EFM fitotron, verificou-se o crescimento de colônias fúngicas em todas as placas tendo o crescimento iniciado a partir de um fragmento de micélio do fungo isolado na forma de disco com 7 mm de diâmetro (Fig. 35). Todas as colônias fúngicas foram analisadas quanto à textura, coloração e diâmetro (Tabela 22). Lâminas foram confeccionadas e analisadas para verificação de estruturas típicas de reprodução como células conidiogênicas, conidióforos e esporos (Fig. 36 a 42).

### 9.3 Isolado AM 103, provável gênero novo. no. 2

#### *Descrição:*

De acordo com as análises das características morfológicas a partir de lâminas observadas sob microscopia óptica com base em todos os tratamentos, o isolado não apresentou características de esporulação, porém apresentou: *Hifas* lisas, granuladas, marrons, septadas, ramificadas (Fig. 36. B; Fig. 40. B; Fig. 41. B “seta vermelha”), formação de feixes de hifas tipo (rizomorfa) (Fig. 42. B e E “seta vermelha”), sem formação de laços ou enovelamentos, presença de vesículas na parte externa da parede da hifa (Fig. 40. C; Fig. 41. C e F “seta vermelha”). Estruturas tipo apressório (Fig. 36. A “seta vermelha”). Clamidósporos intercalares (Fig. 36. C; Fig. 42. F “seta vermelha”).

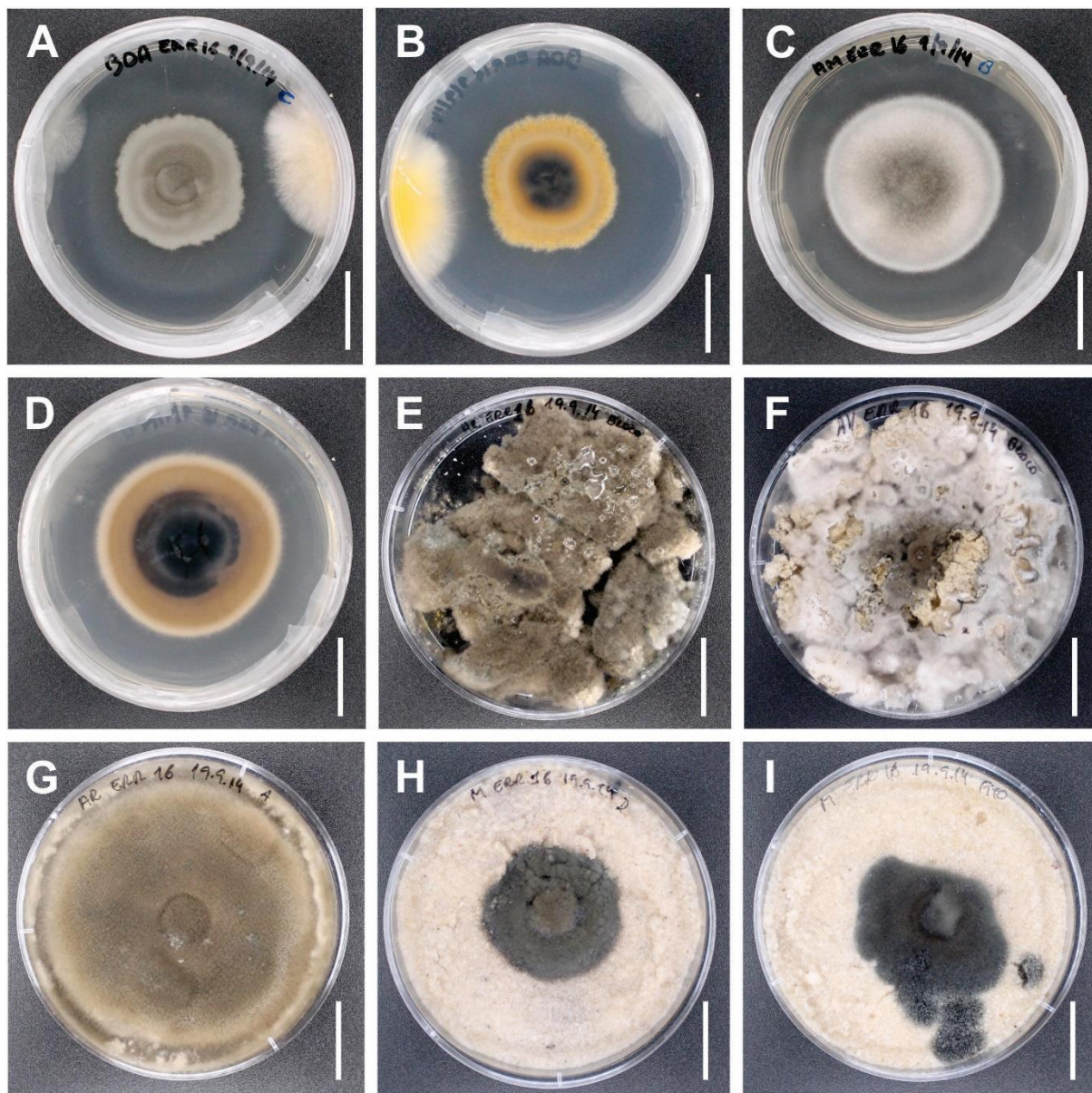
**Nota:** Com base nos dados das medições a partir das lâminas confeccionadas com micélio dos isolados provenientes de todos os tratamentos, de modo geral observou-se proximidade entre os mesmos, porém pôde-se notar pequenas incongruências. Referente as hifas, os tratamentos em BDA e EFM (fitotron) apresentaram maior diâmetro (2-5  $\mu\text{m}$ ) os demais tratamentos (2-4  $\mu\text{m}$ ) de diâmetro. Feixes de hifas no tratamento com EA (bloco) apresentou maior diâmetro (8-22  $\mu\text{m}$ ), seguido por (9-14) e (6-16) dos tratamentos com AM e EFM (fitotron) respectivamente. A presença de clamidósporos nos tratamentos BDA, EAM (bloco) e EFM (fitotron) apresentaram diâmetros de (4-10  $\mu\text{m}$ ), (6-8  $\mu\text{m}$ ) e (6-10  $\mu\text{m}$ ) respectivamente. Estruturas tipo apressórios foram observadas a partir dos tratamentos com BDA e EFM apresentaram medidas de comprimento (5-12  $\times$  2-3  $\mu\text{m}$ ) e largura (5-13  $\times$  2-3  $\mu\text{m}$ ) idênticas, respectivamente.

Espécime examinada: Brasil, Roraima, Município de Caracaraí, Set. 2009/ Mar. 2010. Em raízes de *Oryza glumaepatula* Steund. Leg. J. E. Zilli.; (COFMEA).

Baseado na análise molecular verifica-se que o fungo em estudo, pertence à família *Lentitheciace* (*Ascomycota*), porém baseado em características culturais, não se pôde verificar a esporulação do fungo cuja ausência, impediu uma caracterização morfológica efetiva. Cabe ressaltar que o fungo provavelmente trata-se um novo gênero, baseado nas características moleculares (ver figs. 59 e 60), sendo necessário estudos adicionais visando obtenção de esporos do mesmo, caso possível.

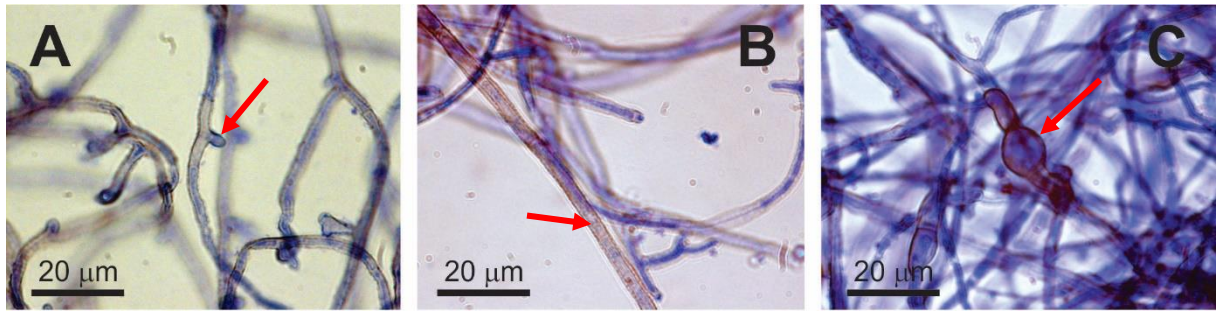
**Tabela 22:** Característica do isolado AM 103 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.

<b>CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS – FEDS AM 103</b>					
<b>MEIOS DE CULTURA E EXTRATOS</b>	<b>COLORAÇÃO</b>	<b>TEXTURA DA COLÔNIA</b>	<b>TEXTURA DA MARGEM</b>	<b>REVERSO</b>	<b>DIÂMETRO</b>
<b>BDA</b>	Cinza amarronzado-claro com faixas concêntricas de tonalidade cinza-claro e cinza-escuro e tornando-se claro-acinzentadas nas margens	Centro aveludado com faixa concêntrica cotonosa tornando-se aveludado nas margens	Aveludada	Centro acinzentado escuro rodeado com faixas concêntricas de colocação marrom à amarelo-alaranjado, róseo, marrom-alaranjado e com margem em uma faixa estreita de coloração rósea de aspecto fibroso	40.43 mm
<b>AM</b>	Centro cinza com faixa concêntrica de tonalidade cinza escuro graduando-se em faixa larga cinza esbranquiçado, tornando-se cinza escuro e margem esbranquiçada	Centro cotonoso com faixa concêntrica aveludada	Fibrosa	Centro cinza escuro rodeado com faixas concêntricas de coloração cinza claro, cinza escuro tornando-se marrom em faixa larga e margem em faixa estreita de coloração bege claro com aspecto fibroso	54.75 mm
<b>EAM (bloco)</b>	Cinza	Algodonosa/ Aveludado	-	-	75.78 mm
<b>EA (bloco)</b>	Cinza escura c/ borda esbranquiçada	Algodonosa/ Aveludado	-	-	76.18 mm
<b>EAM</b>	Centro marrom acinzentado claro, acinzentado escuro, com marrom claro em faixa estreita tornando-se escuro na margem	Aveludada	Suave	-	53.79 mm
<b>EFM</b>	Centro cinza claro com faixa concêntrica larga cinza escura até a margem	Cotonosa	Suave	-	19.95 mm
<b>EFM (fitotron)</b>	Cinza escuro com tons marrom oliváceo a cinza claro	Cotonoso	Suave	-	22.35 mm

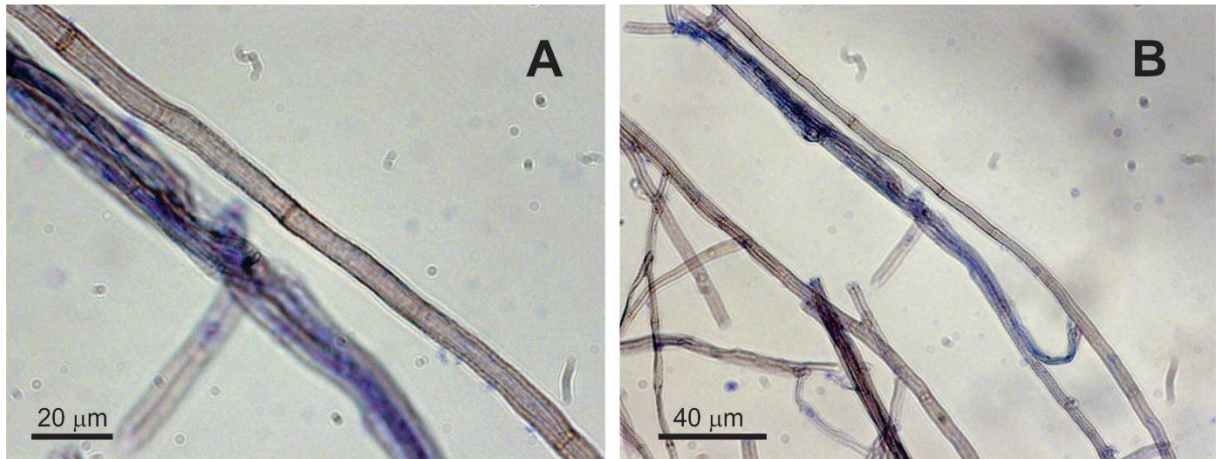


**Figura 35:** Colônias do isolado AM 103 (provável gênero novo no. 2). **A-B.** em BDA após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **C-D.** em AM após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **E.** em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **F.** em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **G.** em EAM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **H.** em EFM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **I.** em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron (visão de frente da placa).

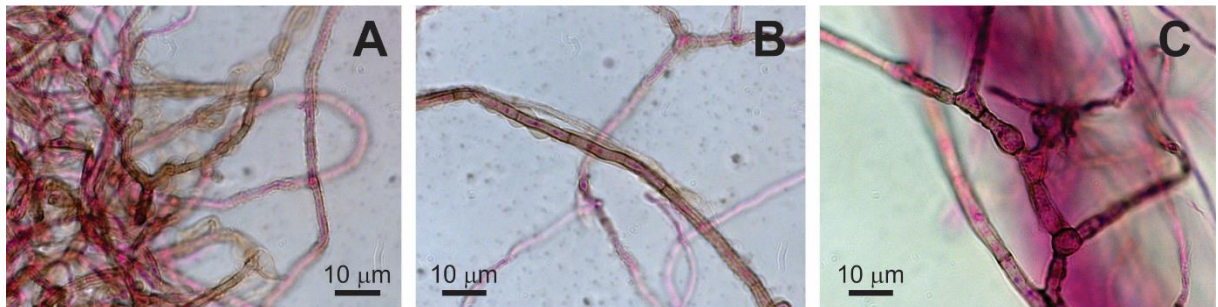




**Figura 36.** A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em meio BDA.

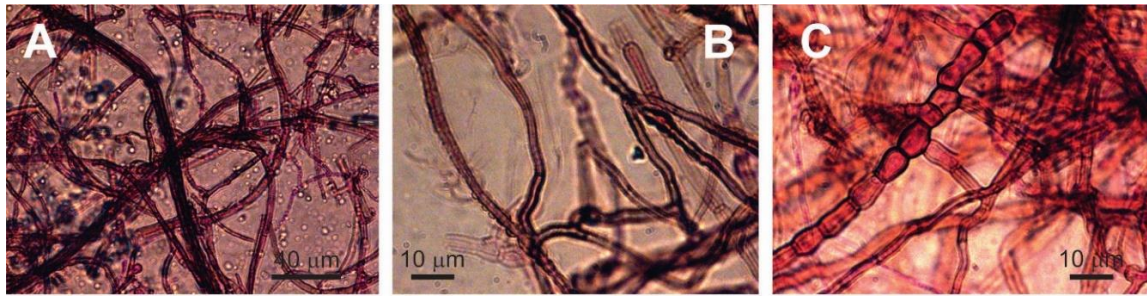


**Figura 37.** A-B: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em meio AM.

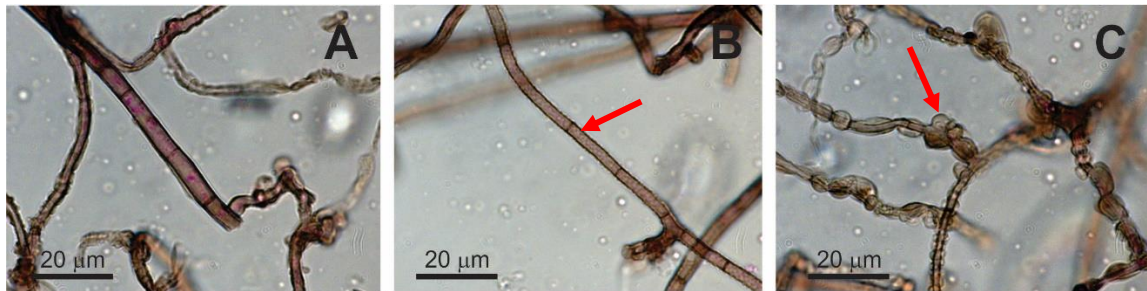


**Figura 38.** A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).

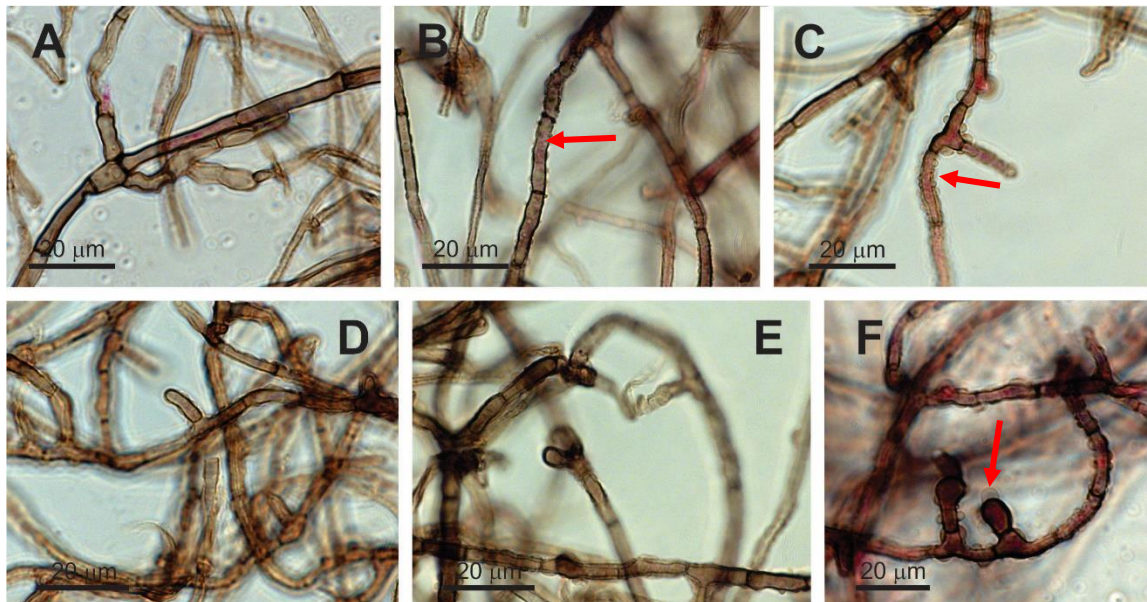




**Figura 39.** A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EA (bloco).

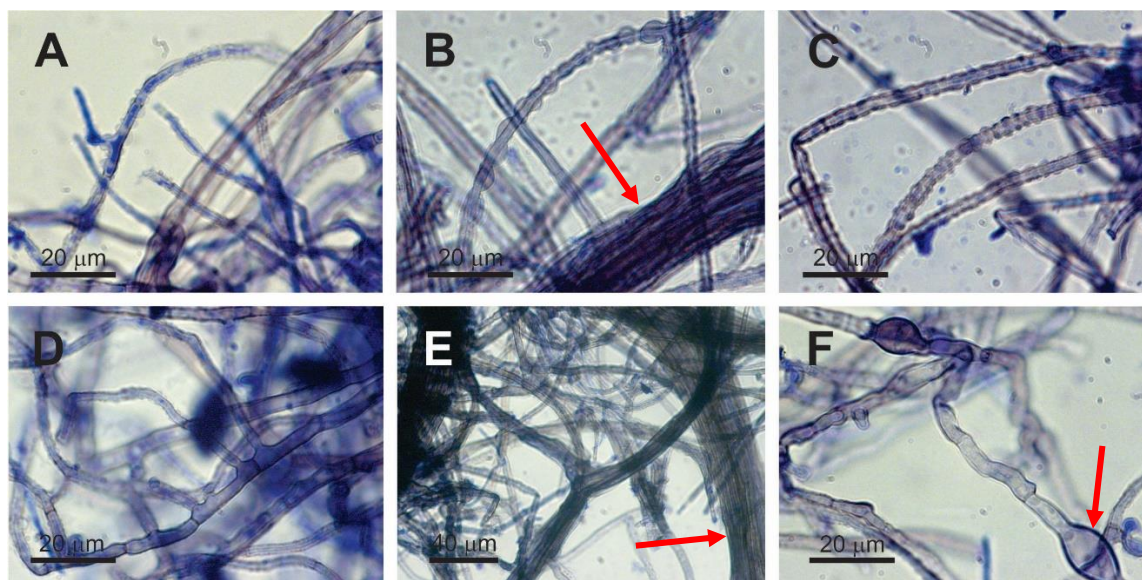


**Figura 40.** A-C: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EAM.



**Figura 41.** A-F: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EFM.





**Figura 42.** A-F: Lâminas do isolado AM 103 a partir do micélio crescido em EFM (fitotron).

## FEDS – AM 104

Após incubação em meio BDA, AM, EAM e EA (bloco), EAM, EFM e EFM fitotron, verificou-se o crescimento de colônias fúngicas em todas as placas tendo o crescimento iniciado a partir de um fragmento de micélio do fungo isolado na forma de disco com 7 mm de diâmetro (Fig. 43). Todas as colônias fúngicas foram analisadas quanto à textura, coloração e diâmetro (Tabela 23). Lâminas foram confeccionadas e analisadas para verificação de estruturas típicas de reprodução como células conidiogênicas, conidióforos e esporos (Fig. 44 a 50).

### 9.4 Isolado AM 104, provável gênero novo no. 3

#### *Descrição:*

De acordo com as análises das características morfológicas a partir de lâminas observadas sob microscopia óptica com base em todos os tratamentos, o isolado não apresentou características de esporulação, porém apresentou: *Hifas* 3.0 µm de diâmetro, lisas, granuladas, marrons, septadas, ramificadas (Fig. 44. A Fig. 48. A e G; Fig. 49. B “seta vermelha”), formação de feixes de hifas tipo (rizomorfa) (Fig. 45. A; Fig. 49. E “seta vermelha”), formação de laços ou enovelamentos (Fig. 48. H; Fig. 49. F; Fig. 50. B “seta vermelha”), presença de vesículas na parte externa da parede da hifa de tamanho pequeno a grande (Fig. 48. E e F; Fig. 49. C; Fig. 50. F “seta vermelha”). Estruturas tipo apressório (Fig. 50 A “seta vermelha”). Clamidósporos intercalares (Fig. 47. D “seta vermelha”).

**Nota:** Medições do micélio dos isolados de todos os tratamentos, de modo geral mostram-se idênticos, porém com algumas pequenas diferenças. Os tratamentos com EFM e EFM (fitotron) apresentaram diâmetro ligeiramente maior das hifas com (2-5 µm), sendo que os demais tratamentos apresentaram diâmetro de (2-4 µm). Feixes de hifas com maior diâmetro foi observado no tratamento com EFM (fitotron) com (9-29 µm) em comparação com o menor diâmetro (7-13 µm), observado no tratamento com meio AM, não foi observado feixes nos tratamentos com BDA e EAM, os demais tratamentos apresentaram (7-21 µm) de diâmetro em

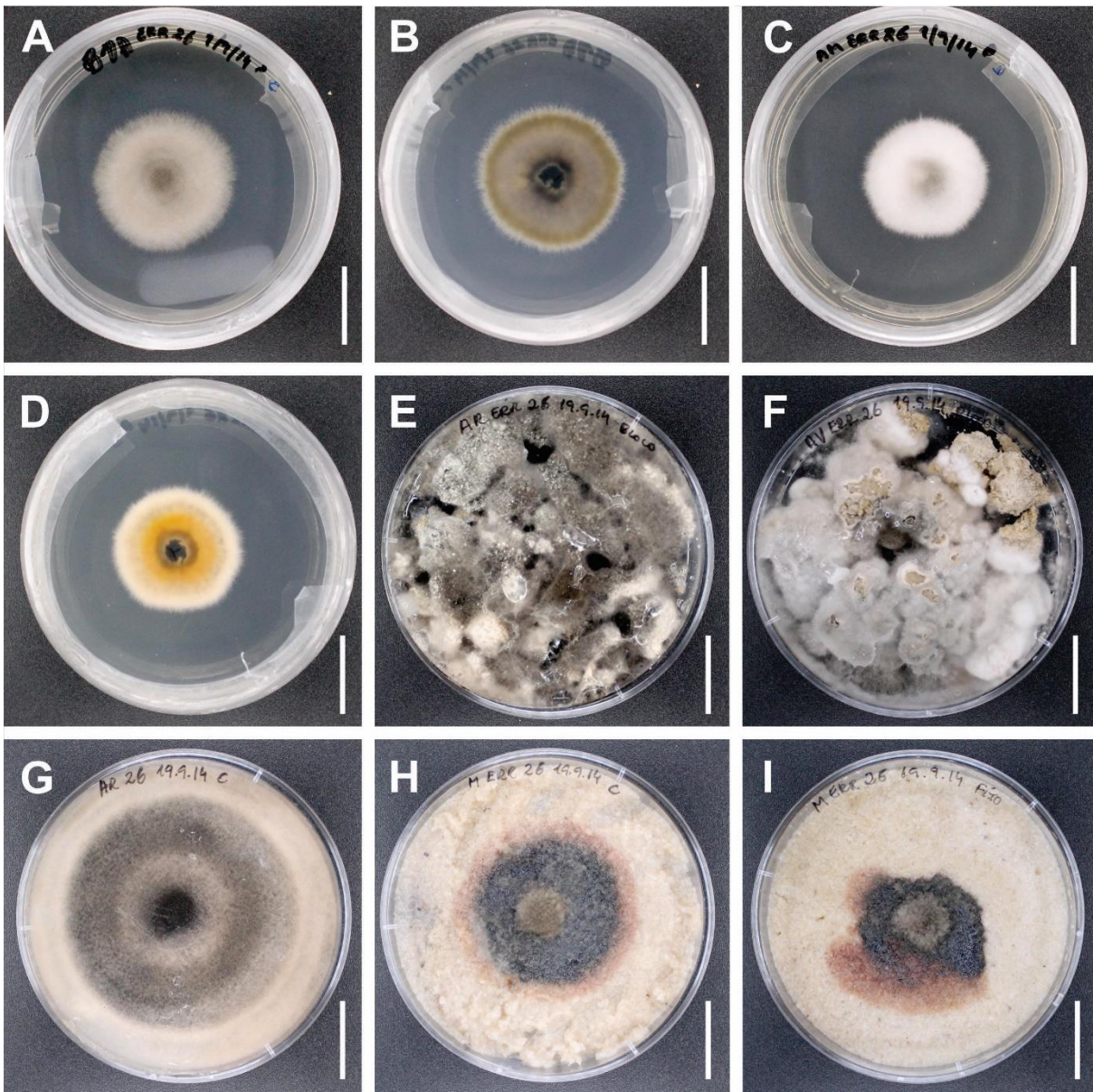
EAM (bloco), (8-24  $\mu\text{m}$ ) de diâmetro em EA (bloco) e (10-24  $\mu\text{m}$ ) de diâmetro em EFM. “Laços” ou “loops” foram observado nos tratamentos com EAM (24-57  $\mu\text{m}$ ) de diâmetro e EFM (fitotron) (29-53  $\mu\text{m}$ ) de diâmetro. O maior comprimento de apressório foi observado no tratamento com EFM apresentando (8-14  $\times$  2-5  $\mu\text{m}$ ) e maior largura no tratamento com EFM (fitotron) apresentando (8-13  $\times$  3-7  $\mu\text{m}$ ). Clamidósporos com diâmetro ligeiramente menor foi observado no tratamento com BDA apresentando (6-10  $\mu\text{m}$ ), nos tratamentos com EAM (bloco) e EA (bloco) apresentaram mesmo diâmetro (6-12  $\mu\text{m}$ ), nos demais tratamentos AM, EAM, EFM e EFM (fitotron) não foi observado clamidósporos.

**Espécime examinada:** Brasil, Roraima, Município de Caracaraí, Set. 2009/ Mar. 2010. Em raízes de *Oryza glomaepatula* Steund. Leg. J. E. Zilli; (COFMEA).

Baseado na análise molecular verifica-se que o fungo em estudo, pertence à família *Lentitheciace* (*Ascomycota*), porém baseado em características culturais, não se pôde verificar a esporulação do fungo cuja ausência, impediu uma caracterização morfológica efetiva, Cabe ressaltar que o fungo provavelmente trata-se uma nova espécie, baseado nas características moleculares (ver fig. 59 e 60), sendo necessário estudos adicionais visando obtenção de esporos do mesmo, caso possível.

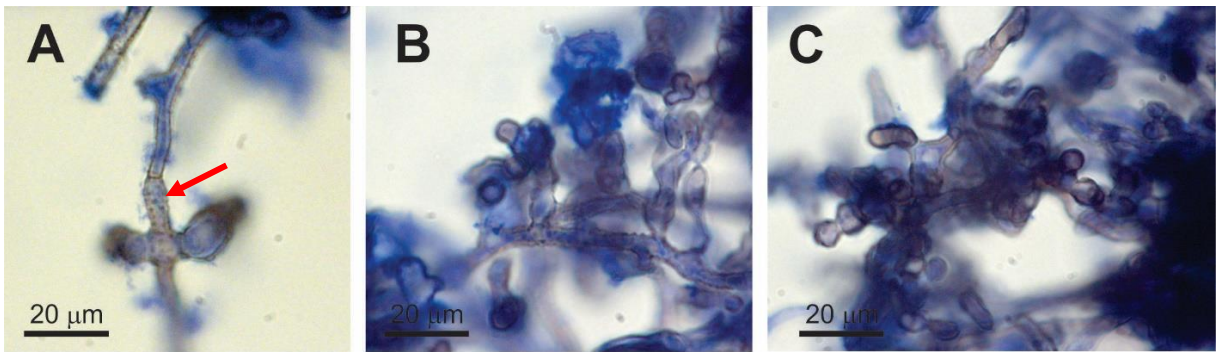
**Tabela 23:** Característica do isolado AM 104 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.

<b>CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS – FEDS AM 104</b>					
<b>MEIOS DE CULTURA E EXTRATOS</b>	<b>COLORAÇÃO</b>	<b>TEXTURA DA COLÔNIA</b>	<b>TEXTURA DA MARGEM</b>	<b>REVERSO</b>	<b>DIÂMETRO</b>
<b>BDA</b>	Centro cinza-oliváceo, com faixa estreita de coloração marrom claro tornando-se róseo-claro em faixa larga nas margens	Centro flocoso-cotonoso	Fibrosa	Centro cinza-escuro, graduando-se em faixas concêntricas de coloração cinza-esbranquiçado, cinza-oliváceo, cinza-claro com manchas róseas, marrom-oliváceo e com margens esbranquiçadas de aspecto fibroso	37.81 mm
<b>AM</b>	Centro cinza escuro com faixa larga esbranquiçada até a margem	Algodonosa	Fibrosa	Centro cinza escuro graduando-se em faixas concêntricas de coloração bege claro, marrom, amarelo-alaranjado em faixa mais larga, tornando-se rósea em faixa estreita e margem bege claro com aspecto fibroso	37.36 mm
<b>EAM (bloco)</b>	Cinza escura	Algodonosa	-	-	44.02 mm
<b>EA (bloco)</b>	Cinza escura	Algodonosa	-	-	34.97 mm
<b>EAM</b>	Centro escurecido com faixa concêntrica de coloração marrom claro tornando-se marrom escuro e faixa mais larga de tonalidade marrom-acinzentada até a margem	Cotonosa	Suave	-	46.94 mm
<b>EFM</b>	Marrom acinzentado claro tornando-se cinza escuro até a margem de tonalidade escura e halo marrom avermelhada em torno da colônia	Cotonosa	Ligeiramente fibrosa	-	14.21 mm
<b>EFM (fitotron)</b>	Centro cinza claro com faixa concêntrica enegrecida até a margem e halo de coloração avermelhada em torno da colônia	Centro cotonoso	Suave, Enegrecida	-	16.48 mm

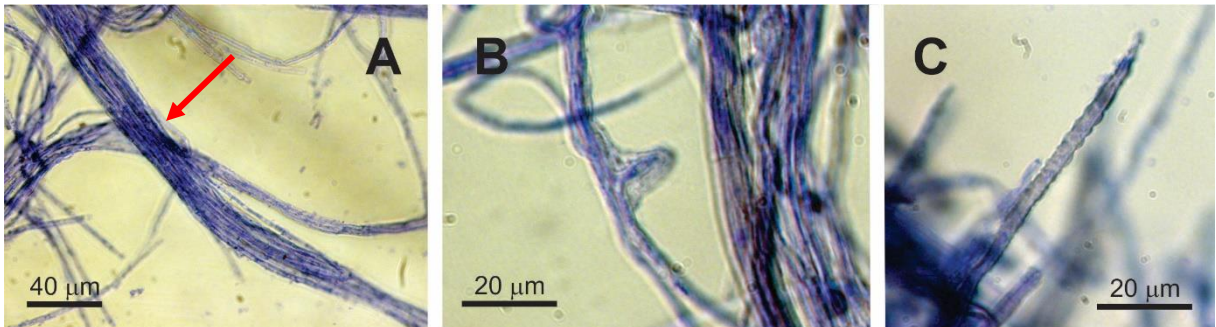


**Figura 43:** Colônias do isolado AM 104 (provável gênero novo no. 3). **A-B.** em BDA após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **C-D.** em AM após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **E.** em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **F.** em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **G.** em EAM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **H.** em EFM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **I.** em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron (visão de frente da placa).

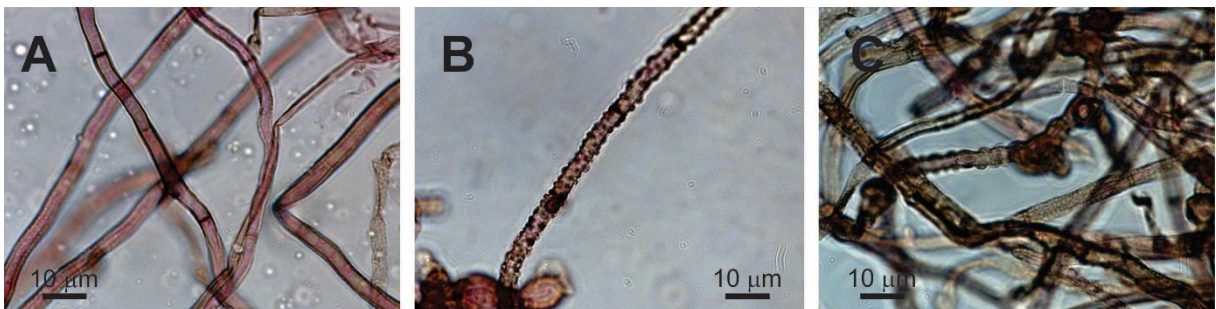




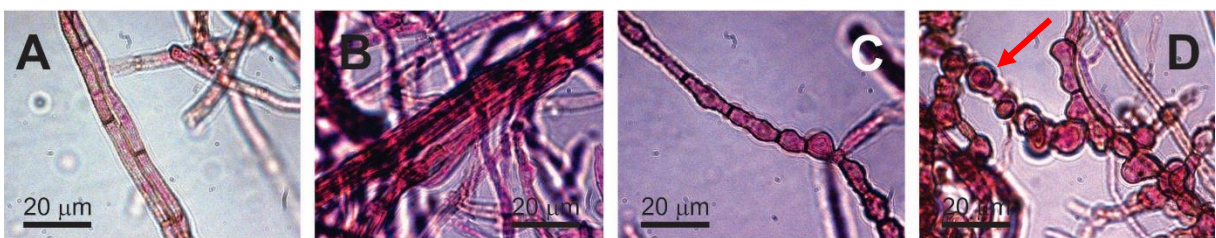
**Figura 44.** A-C: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em meio BDA.



**Figura 45.** A-C: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em meio AM.

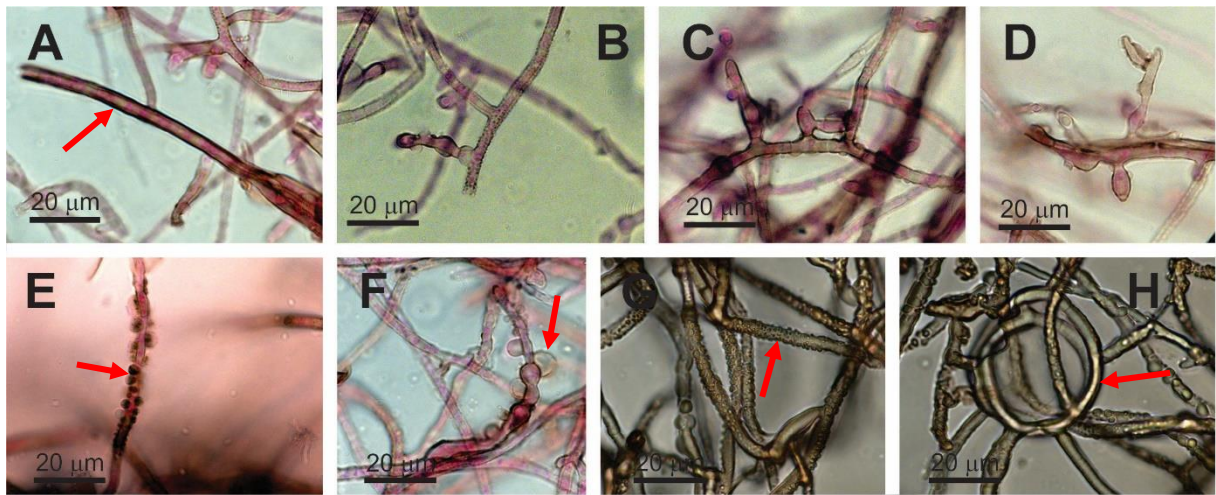


**Figura 46.** A-C: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).

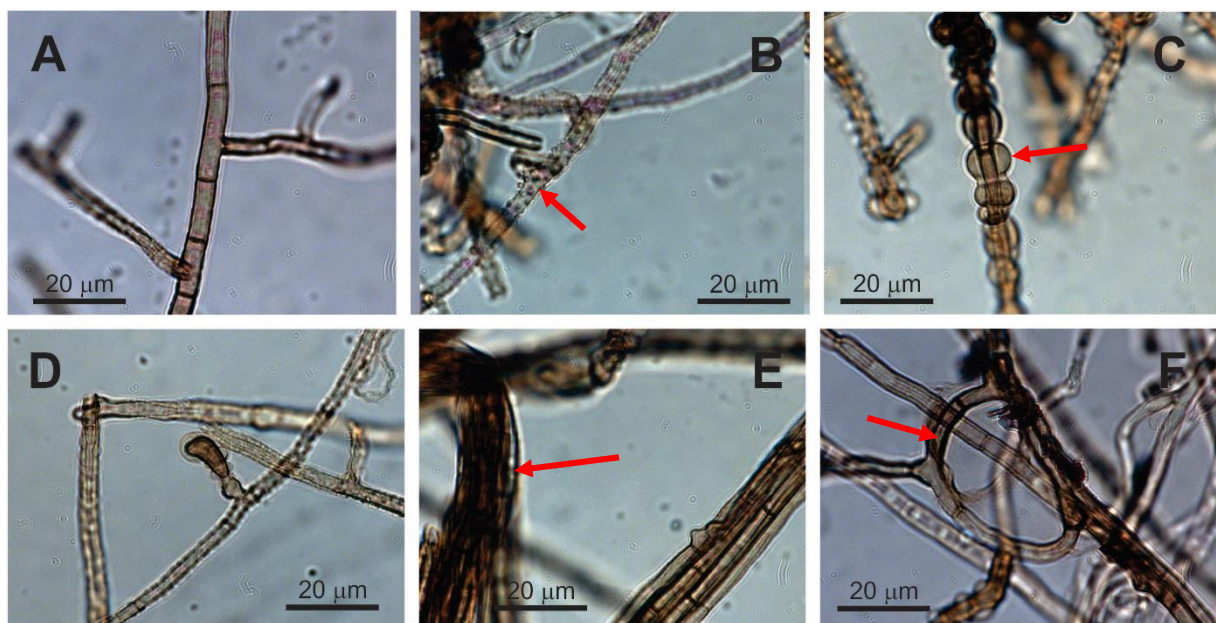


**Figura 47.** A-D: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EA (bloco).



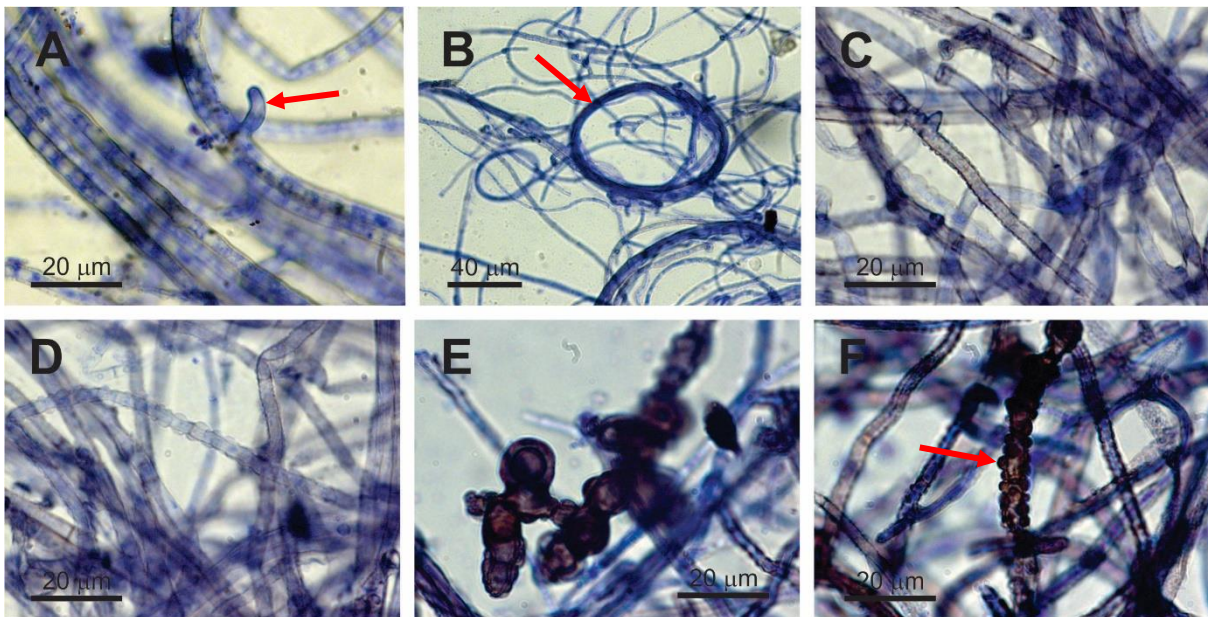


**Figura 48.** A-H: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EAM.



**Figura 49.** A-F: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EFM.





**Figura 50.** A-F: Lâminas do isolado AM 104 a partir do micélio crescido em EFM (fitotron).

## FEDS – AM 105

Após incubação em meio BDA, AM, EAM e EA (bloco), EAM, EFM e EFM fitotron, verificou-se o crescimento de colônias fúngicas em todas as placas tendo o crescimento iniciado a partir de um fragmento de micélio do fungo isolado na forma de disco com 7 mm de diâmetro (Fig. 51). Todas as colônias fúngicas foram analisadas quanto à textura, coloração e diâmetro (Tabela 24). Lâminas foram confeccionadas e analisadas para verificação de estruturas típicas de reprodução como células conidiogênicas, conidióforos e esporos (Fig. 52 a 58).

### 9.5 Isolado AM 105, provável gênero novo no. 4

#### *Descrição:*

De acordo com as análises das características morfológicas a partir de lâminas observadas sob microscopia óptica com base em todos os tratamentos, o isolado não apresentou esporulação, porém foi observado: *Hifas* lisas, granuladas, marrons, septadas, ramificadas (Fig. 53. A; Fig. 54. C; Fig. 56. A “seta vermelha”), formação de feixes de hifas tipo (rizomorfa) (Fig. 54. B; Fig. 55. B “seta vermelha”), formação de laços ou enovelamentos (Fig. 53. B; Fig. 56. B “seta vermelha”), presença de vesículas na parte externa da parede da hifa (Fig. 57. A a C; Fig. 58. C “seta vermelha”). Clamidósporos intercalares ou terminais (Fig. 52. C; Fig. 54. D e F “seta vermelha”).

**Nota:** Poucas diferenças foram observadas, nas medições de micélio dos isolados provenientes de todos os tratamentos. No tratamento com BDA foi observado o diâmetro das hifas ligeiramente maior com (2-5 µm) em relação aos demais tratamentos que apresentaram diâmetro de (2-4 µm). Feixes de hifas com menor diâmetro foi observado no tratamento com EAM apresentando (8-14 µm), os demais tratamentos apresentaram (6-19 µm) EAM (bloco), (9-14 µm) EA (bloco), (9-19 µm) AM, (8-19 µm) EFM (fitotron). Os tratamentos com BDA e EFM não apresentaram hifas em feixes. Estruturas formando laços com diâmetro de (19-38 µm) foram observadas no tratamento com EAM, os demais tratamentos não foram observados laços.

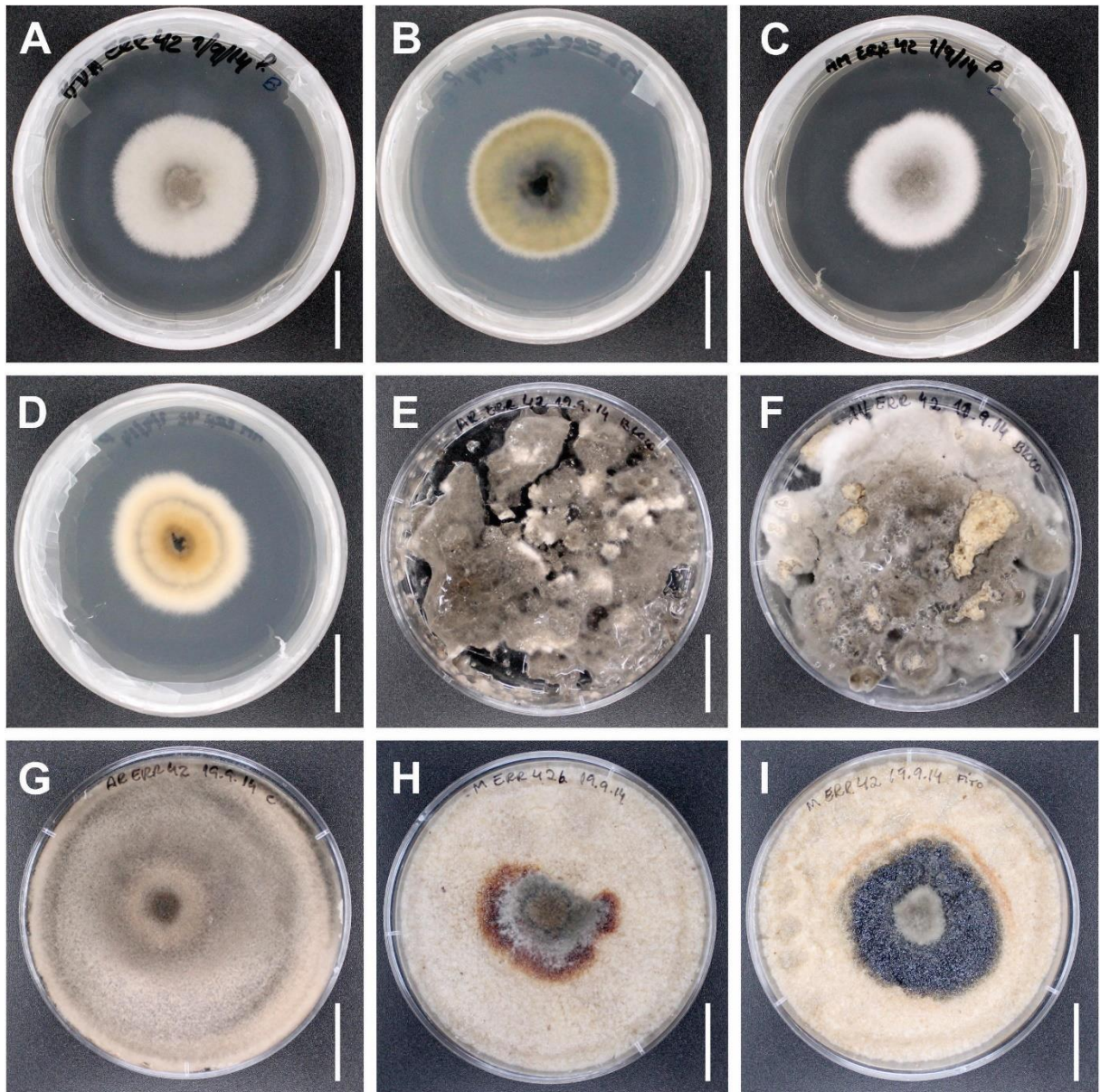
**Espécime examinada:** Brasil, Roraima, Município de Caracaraí, Set. 2009/ Mar. 2010. Em raízes de *Oryza glomaepatula* Steund. Leg. J. E. Zilli; (COFMEA).

Baseado na análise molecular verifica-se que o fungo em estudo, pertence à família *Lentitheciace* (*Ascomycota*), porém baseado em características culturais, não se pôde verificar a esporulação do fungo cuja ausência, impediu uma caracterização morfológica efetiva, Cabe ressaltar que o fungo provavelmente trata-se de uma espécie nova, baseado nas características moleculares (ver figs. 59 e 60), sendo necessário estudos adicionais visando obtenção de esporos do mesmo, caso possível.

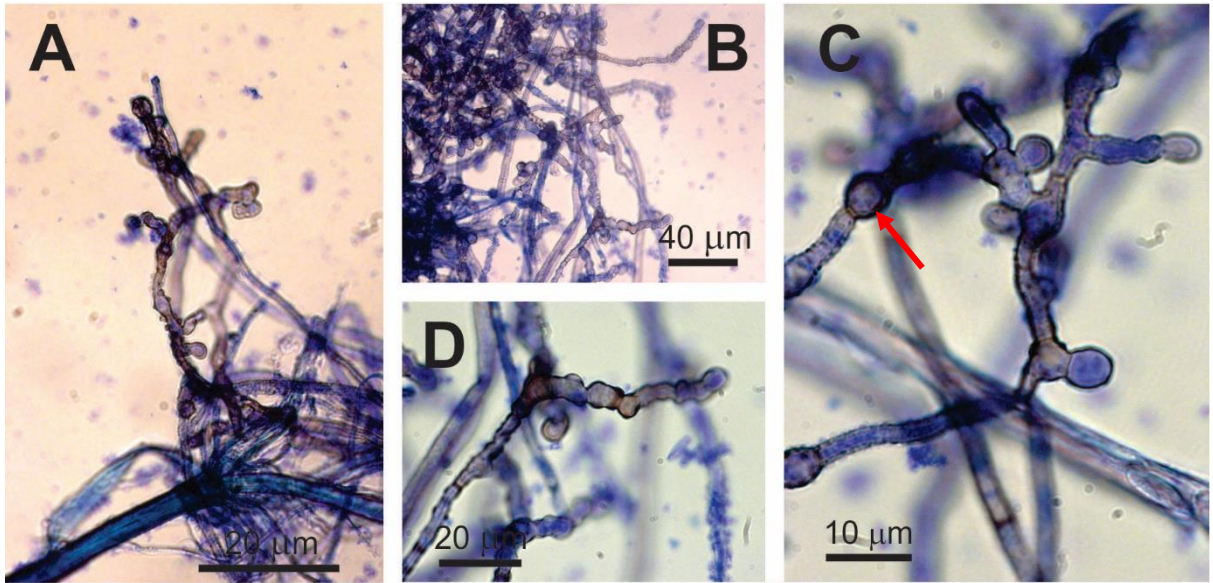
**Tabela 24:** Característica do isolado AM 105 em relação a coloração, textura, margem, reverso e diâmetro das colônias após de 12 dias em diferentes meios de cultura e extratos.

CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS – FEDS AM 105					
MEIOS DE CULTURA E EXTRATOS	COLORAÇÃO	TEXTURA DA COLÔNIA	TEXTURA DA MARGEM	REVERSO	DIÂMETRO
<b>BDA</b>	Centro cinza-oliváceo, graduando-se em faixas concêntricas de coloração marrom claro e com faixa estreita marrom-acinzentada, tornando-se gradualmente mais claro na faixa larga até a margem	Cotonosa	Fibrosa	Centro cinza-escuro, graduando-se em faixas concêntricas de coloração cinza-esbranquiçado, cinza-oliváceo, cinza-claro, marrom-claro a marrom-oliváceo e com margens esbranquiçadas de aspecto fibroso	39.71 mm
<b>AM</b>	Centro cinza escuro com faixa concêntrica de coloração cinza claro tornando-se esbranquiçada até a margem	Cotonoso	Fibrosa	Centro cinza escuro graduando-se em faixas concêntricas de coloração marrom claro, marrom escuro, amarelo-alaranjado, bege claro em faixa mais larga, faixa estreita com tonalidade rósea tornando-se em faixa mais larga bege claro até a margem de aspecto fibroso	43.98 mm
<b>EAM (bloco)</b>	Centro cinza escuro c/ borda cinza claro	Aveludada	-	-	33.37 mm
<b>EA (bloco)</b>	Cinza escuro c/ borda branca	Aveludada	-	-	37.16 mm
<b>EAM</b>	Centro escurecido com faixas concêntricas de coloração marrom claro, marrom escuro, marrom claro em faixa mais larga tornando-se escura e com margem marrom claro	Cotonosa	Suave	-	48.42 mm
<b>EFM</b>	Centro escuro	Algodonosa/ Flocosa	Enegrecida c/ halo avermelhado	-	16.52 mm
<b>EFM (fitotron)</b>	Centro cinza claro com faixa concêntrica enegrecida até a margem e faixa estreita marrom avermelhada em torno da colônia	Centro cotonoso	Suave, Enegrecida	-	15.58 mm

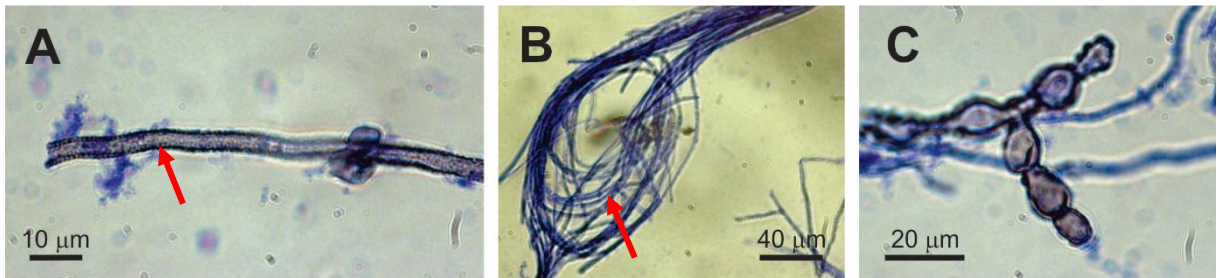




**Figura 51:** Colônias do isolado AM 105 (provável gênero novo no. 4). **A-B.** em BDA após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **C-D.** em AM após 12 dias a 30 °C (visão de frente/reverso da placa, respectivamente). **E.** em EAM (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **F.** em EA (bloco) após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **G.** em EAM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **H.** em EFM após 12 dias a 28 °C (visão de frente da placa). **I.** em EFM após 12 dias a 29 °C (dia) / 24 °C (noite) em fitotron (visão de frente da placa).

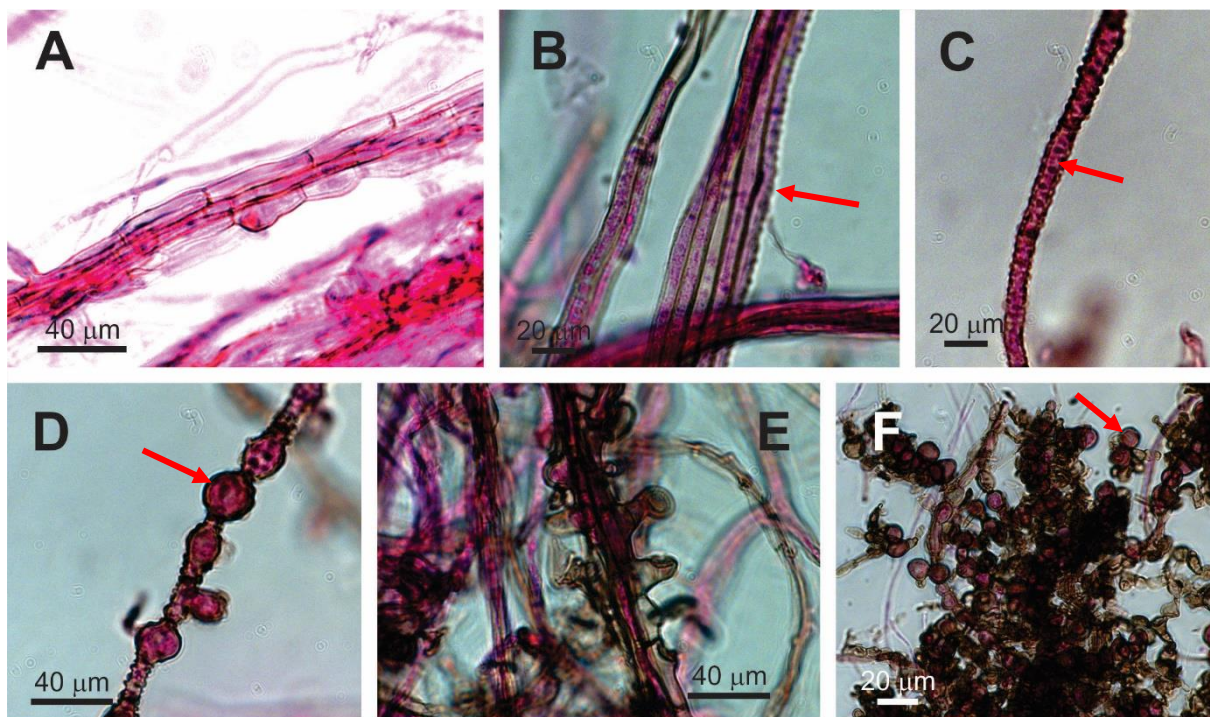


**Figura 52.** A-D: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em meio BDA.

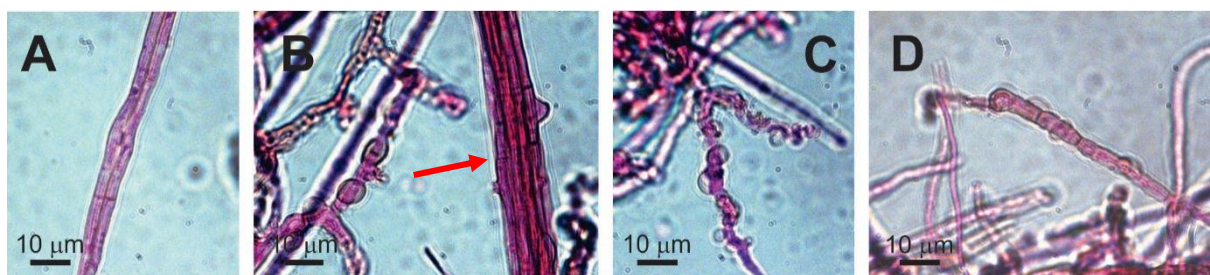


**Figura 53.** A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em meio AM.

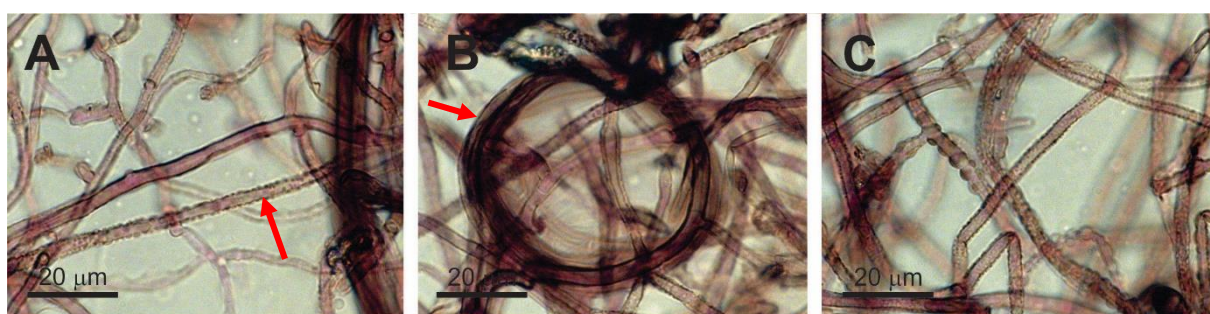




**Figura 54.** A-F: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EAM (bloco).

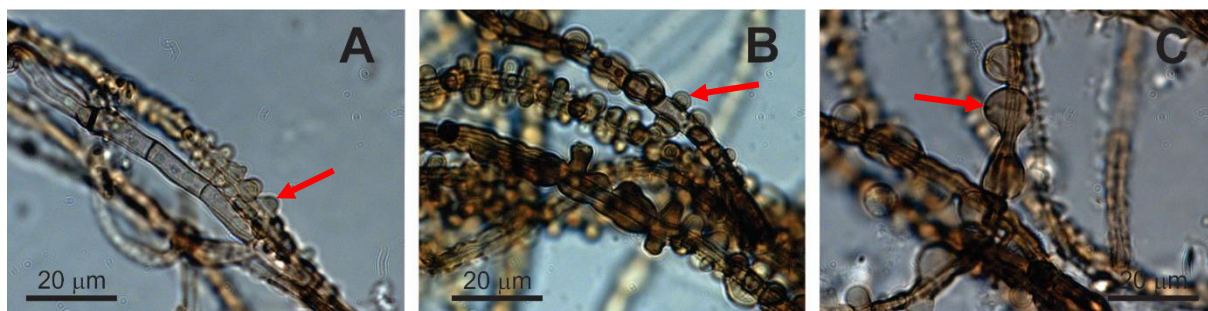


**Figura 55.** A-D: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EA (bloco).

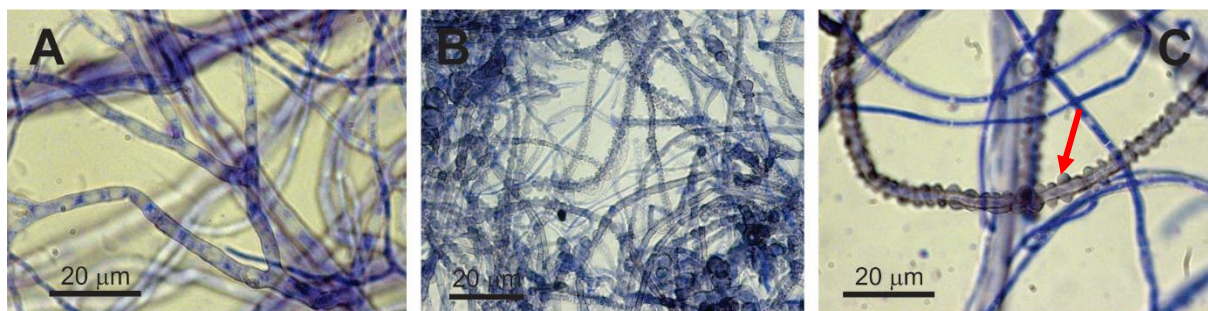


**Figura 56.** A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EAM.





**Figura 57.** A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EFM.



**Figura 58.** A-C: Lâminas do isolado AM 105 a partir do micélio crescido em EFM (fitotron).

### 9.6. Avaliação dos resultados da análise filogenética e fenotípica dos isolados AM 103, AM 104 e AM 105.

Os fungos endofíticos dark septate são um grupo de fungos filogeneticamente diversos pertencentes ao filo *Ascomycota* e inseridos em diferentes ordens (KNAPP *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2009), sua caracterização baseia-se nas características fenotípicas comuns, como a presença de hifas melanizadas septadas e micro-esclerócios localizados no córtex das raízes das plantas (JUMPPONEN & TRAPPE 1998; PORRAS-ALFARO *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2011). Não existem ainda descrições morfológicas de sua fase sexual, e até mesmo a conidiogênese é incomum, as extirpes conhecidas somente foram descritas pela indução do processo conidiogênico através de tratamentos específicos com modificações de temperatura e umidade (WANG & WILCOX 1985; JUMPPONEN & TRAPPE 1998; GRÜNIG *et al.*, 2008).

De acordo com os resultados morfológicos observados, em lâminas confeccionadas com micélio oriundo a partir de diferentes tratamentos em cultura, não foi observado estruturas típicas de reprodução que fossem possíveis caracterizar o processo conidiogênico, porém, os isolados formaram estruturas semelhantes em todos os tratamentos como hifas hialinas quando em estágio de crescimento imaturo, hifas melanizadas quando em estágio de maturidade adiantado, hifas lisas a granuladas, presença de clamidósporos intercalares ou terminais, presença de feixes de hifas (rizomorfa), hifas formando uma espécie de laço ou enovelamento e estruturas tipo apressório.

Em todos os tratamentos, foram observadas algumas irregularidades na parede externa das hifas destes fungos semelhantes a dilatações ou engrossamentos intercalares cuja composição química não foi investigada, sugerindo serem depósitos de ácidos graxos provenientes de alguma exudação da própria parede do fungo e estudos utilizando de microscopia eletrônica foram frustrados devido a total destruição do material quando submetido a vácuo. Somente no isolado AM 103 inoculado em meio BDA e AM apresentou tais estruturas em menor quantidade. Wang & Wilcox (1985), induziram a esporulação de hifas escuras

isoladas de raízes de *Pinus resinosa*, e introduziram novas espécies de FEDS, até então denominados de MRA, após longo tratamento, foi observado hifas granuladas e bastante ásperas, assim como formação de laços semelhantes aos isolados neste estudo.

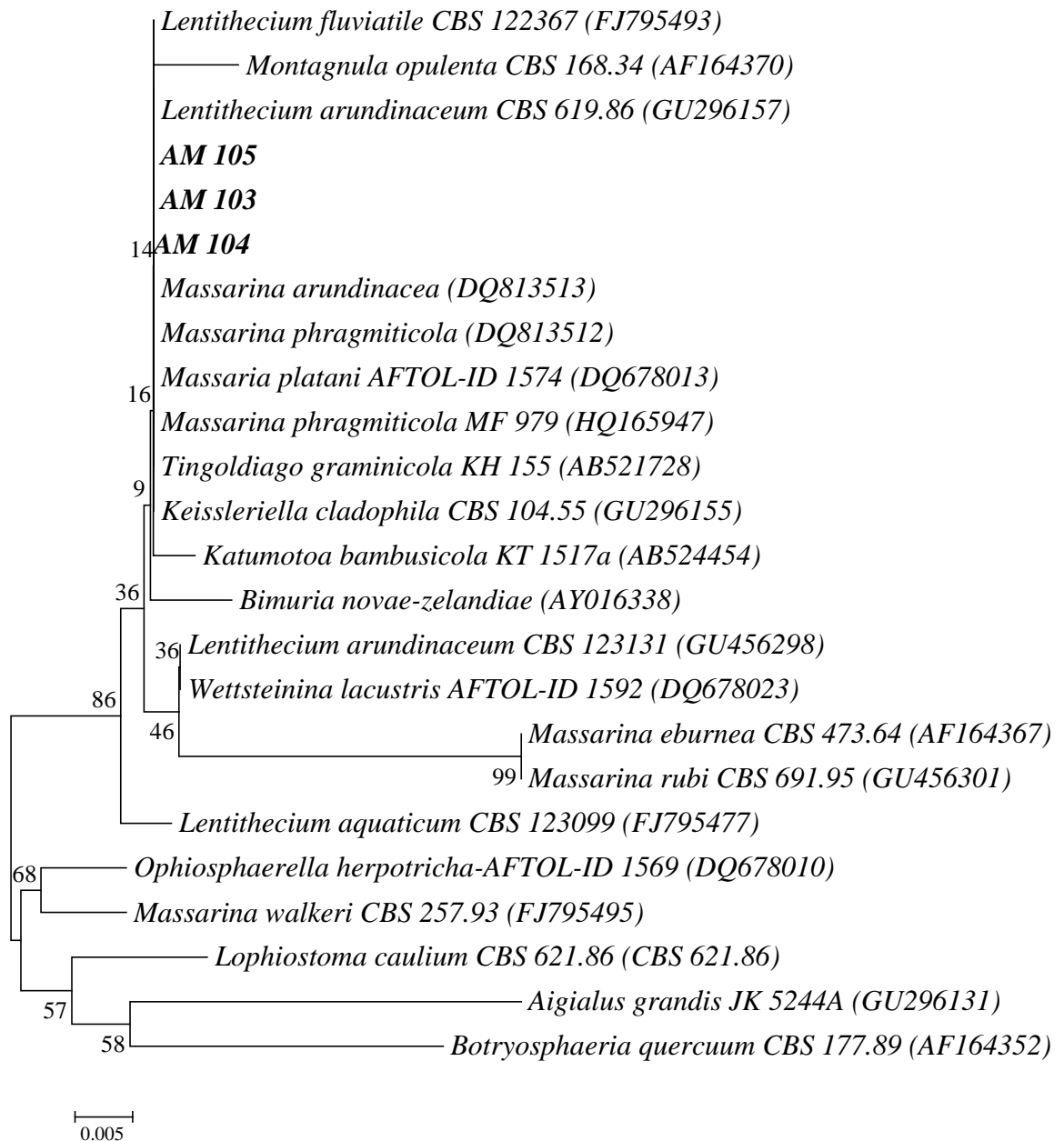
Os meios de cultura BDA, AM e AO são utilizados no isolamento e na tentativa de induzir a esporulação de fungos DSE (RIBEIRO *et al.*, 2011; KNAPP *et al.*, 2015). No entanto, nossos resultados mostram que os tratamentos utilizados com os meios BDA, AM, EAM, e EFM, em temperatura ambiente, com redução para 15 °C, modificação de luz clara para luz negra, não foi eficaz na indução da esporulação desses isolados.

A partir de uma análise filogenética da região 18S do rDNA comparando com sequências depositadas no NCBI (ZHANG *et al.*, 2009, 2012), observou-se que os isolados fúngicos em estudo apresentaram alta similaridade com representantes de três famílias: *Lentitheciaceae*, *Massarinaceae* e *Montagnulaceae* (Fig. 59), significando que a região 18S não se mostrou um adequado marcador taxonômico por ser muito conservado.

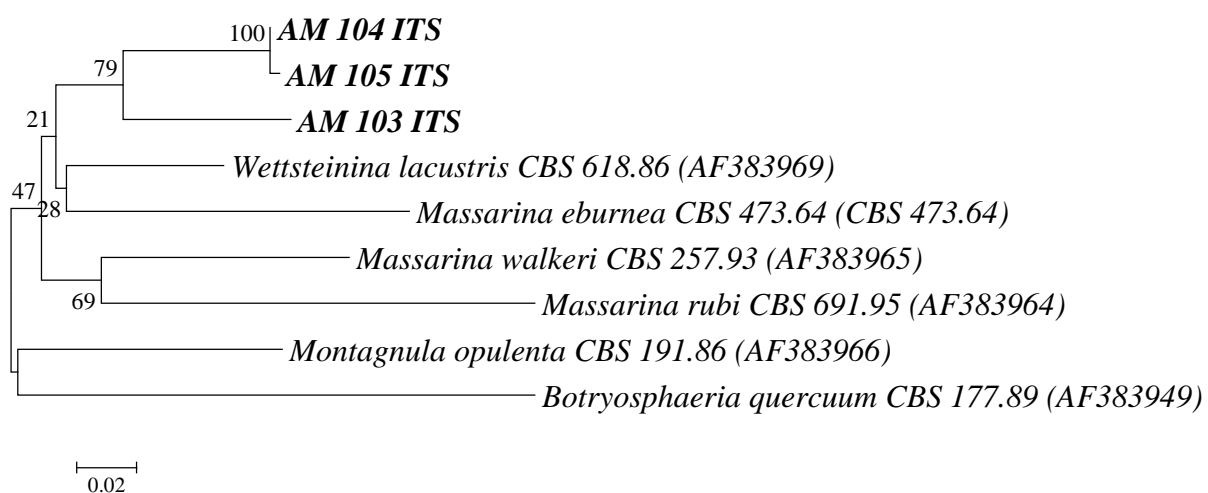
Representantes das famílias incluídas dentro da ordem *Pleosporales* possuem diferentes características ecológicas, apresentam hábito saprofítico, colonizando folhas mortas ou em caules, em ambientes terrestres ou aquáticos, algumas espécies da família *Montagnulaceae* atuam como fitopatógenos ou micoparasitas, podendo ser isolados do solo e espécies da família *Lentitheciaceae* isoladas de água doce (ZHANG *et al.*, 2009), podem ser endófitos ou epífitos (HUANG *et al.*, 2008; MARQUEZ *et al.*, 2008).

A partir de uma análise comparativa com banco de dados, as sequências da região ITS se mostraram variáveis permitindo observar que os isolados ficaram próximos da espécie *Wettsteinina lacustres* (Fig. 60), cuja similaridade com os isolados ficou em cerca de 85%, que é muito baixa, suportando perfeitamente a ideia de que entre os isolados ao menos um tratasse de novo gênero.

Assim, com base nos resultados das análises filogenéticas da região ITS, fica claro que os isolados AM 103, AM 104 e aM 105 estão dentro da família *Lentitheciaceae* (a qual também *Wettsteinina* pertence) e que o gênero mais próximo é o *Wettsteinina*. O fato, é que, existem poucas sequências de ITS de representantes das três famílias em especial *Lentitheciaceae*, não permitindo posicionar os isolados a nível de gênero e espécie apenas com os dados moleculares. Contudo, neste trabalho, estes espécimens serão tratados como prováveis gêneros novos a terem seu tratamento adequado visando uma efetiva taxonomia.



**Figura 59:** Árvore filogenética baseada na região 18S dos isolados AM 103, 104 e 105 através do método “Neighbor-joining” com cálculo da distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de “bootstrap” com mil repetições usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 0,5 substituições a cada 100 nucleotídeos.



**Figura 60:** Árvore filogenética baseada na região ITS do rDNA dos isolados AM 103, 104 e 105 através do método “Neighbor-joining” com cálculo da distância pelo modelo “Kimura’s 2-parameter” com análise de “bootstrap” com mil repetições, usando o programa MEGA 6.0. A barra representa 2 substituições a cada 100 nucleotídeos.

## 10. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram encontrados em um fragmento de Mata Atlântica em especial no PNMC de Paracambi-R.J, bem como no Flona e em um viveiro florestal situado na UFRRJ novos táxons de fungos: dentre os anamórficos, uma provável nova espécie de *Arthrinium*, uma provável nova espécie de *Cercospora* e uma provável nova espécie de *Pseudocercospora* como hifomicetos e nos celomicetos destacam-se uma provável nova espécie de *Colletotrichum* e uma provável nova espécie de *Neopestalotiopsis*; entre os teleomórficos, destacam-se um provável gênero novo possivelmente da família *Diatrypaceae*, uma provável nova espécie de *Apiospora*, uma provável nova espécie de *Asterinella*; entre os melioláceos: uma provável variedade nova de *Meliola*, *M. manaosellae* var. nov., uma provável nova espécie de *Meliola*, uma espécie conhecida, *Meliola sorindeiae*; uma provável nova espécie de *Myriangium*, uma provável nova espécie de *Perisporiopsis* e uma provável nova espécie de *Scolecobonaria*.

A partir deste estudo, verifica-se que há uma grande diversidade fúngica nos trópicos, em especial no bioma Mata Atlântica, onde há uma necessidade premente de expansão destes estudos para outros biomas costeiros como o Mangue e Restinga no Estado do Rio de Janeiro.

Verifica-se também a importância de se caracterizar fungos com enorme potencial de uso na agricultura como fungos promotores de crescimento de plantas de interesse, que são os FEDS “dark septate” que baseado neste trabalho, verifica-se que ainda há grande necessidade de expansão destes estudos, mas pode-se verificar o potencial de diversidade dos mesmos pelo número de prováveis novas espécies e novo gênero aqui encontrados: o isolado AM 101 como provável nova espécie, o isolado AM 102 como uma provável nova espécie de *Cladosporium*, os isolados AM 103, AM 104 e AM 105 como três prováveis novos gêneros.



## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACERO, F. J. *et al.* Molecular phylogenetic studies on the Diatrypaceae based on rDNA-ITS sequences. **Mycologia**. v. 96, n. 2, p. 249–259, 2004.
- AINSWORTH, G. C.; SPARROW, F. K. & SUSSMAN, A. S. The Fungi. An advanced treatise. In: MÜLLER, E & VON ARX, J. A. **Pyrenomycetes: Meliolales, Coronophorales, Sphaeriales**. Londres. (Ed.). Academic press. p. 87-132. 1973.
- ALLESCHER, A. Mykologische Mitteilungen aus Südbayern. **Hedwigia**. v.34, p. 256- 281, 1895.
- ALFONSO, M. P.; GOMES, C. S. & MARTINEZ, R. H. Occurrence of *Eutypella microtheca* in grapevine cankers in Mexico. **Phytopathologia Mediterranea**. v.54, n. 1, p. 86–93, 2015.
- AMORIM, F. M., INÁCIO, C. A. A new ascomycete found on leaves of *Erythroxylon* from Goiás State. **Anais do V Congresso Latino-Americano de Micologia**. Brasília-DF: Sociedade Latino-Americana de Micologia. Brasília – DF, 269 – 269. 2005.
- AMORIN, T. A. **Árvores e lianas em um fragmento florestal Sul-Fluminense: Relação entre variáveis ambientais e estrutura dos dois componentes lenhosos**. 2012. 84p. Dissertação (Mestre em Ciências Ambientais e Florestais), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- ANGELINI, G. A. R. *et al.* Mycorrhizal colonization, spore density and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Cerrado soil under no-till and conventional tillage systems. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 33, n. 1, p. 115-130, 2012.
- ASSOCIAÇÃO PRÓ-GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL – AGEVAP. Comitê de Bacia Hidrográfica. **Relatório da situação da região hidrográfica do Guandu, 2012/2013**. Disponível em: <http://www.comiteguandu.org.br/conteudo/relsituacao2012-2013.pdf>. Acesso em: 15 de Fevereiro de 2015.
- ASSOCIAÇÃO PRÓ-GESTÃO DAS ÁGUAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL – AGEVAP. Revista temática: Guandu Conhecimento – Guandu Verde. **Unidades de Conservação**. Ano I, nº01, p.51, 2013. Disponível em: <http://www.comiteguandu.org.br/boletim.php> . Acesso em 15 de Fevereiro de 2015.
- BARBOSA, E. S. A *Asterinella* species on leaves of *Eugenia florida* (Myrtaceae) from Rio de Janeiro. **Anais do 47º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**. Londrina, Agosto. 2014.
- BAKER, R. E. D. Species of the genus *Parodiopsis* Maubl. Found in Trinidad. **Mycological Papers**. n. 58, p. 1-16. 1955.
- BAKER, R.E.D., & DALE, W.T. Fungi of Trinidad & Tobago. **Mycological Papers**. v. 14, n. 33, p. 1-123 (105). 1951.

- BARNETT, H. L. & HUNTER, B. B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. 4 ed. 1998, 218p.
- BATISTA, A. C. & PERES, G. E. P. *Asterinella* Theiss. Revisão de Algumas Espécies. **Brotéria**. v. 30, n. 1-2, p. 9-22, 1961.
- BATISTA, A. C. & CIFERRI, R. The Chaetothyriales. **Sydowia Beihefte**. v. 3, n. 158, p. 1-129, 1962.
- BATISTA, A. C. & NASCIMENTO, M. L. Três novos Ascomycetes. **Anais da Sociedade Biológica de Pernambuco**. v.14, n. 1-2, p. 119-126, 1956.
- BATISTA, A. C.; MAIA, H. S. & VITAL, A. F. Estudos pernambucanos sobre *Parodiospsidaceae*. **Anais da Sociedade Biológica de Pernambuco**. v. 15, n. 2, p. 429-443 437, 1957.
- BATISTA, A. C.; PERES, G. E. P. & POROCA, D. J. M. *Sphaerodothis diplothemifolii* n.sp. e outros Ascomycetes endofíticos do planalto central brasileiro. **Atas do Instituto de Micologia**. Universidade Federal de Pernambuco, Recife. v. 3, n. 483, p. 190-201, 1966.
- BATISTA, A. C.; MAIA, H. S. & BEZERRA, J. L. *Meliola* spp. de Centro e Sul América. **Atas do Instituto de Micologia**. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. v. 3, p. 238-236, 1966.
- BATISTA, A.C.; NASCIMENTO, M.L.; MAIA, H.S. Iconografia e estudo descritivo de espécies de *Meliolaceae*. **Atas do Instituto de Micologia**. Universidade de Pernambuco. Recife. v. 1, p. 13-51, 1960.
- BARRETO, R.W.: EVANS, H. C. & ELLISON, C. A. The mycobiota of the weed *Lantana camara* in Brazil, with particular reference to biological control. **Mycological Research**. v. 99, n. 7, p. 769-782, 1995.
- BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A. & FONSECA, H. M. A. C. III – Fungos micorrízicos arbusculares: Muito além da nutrição. **Nutrição Mineral de Plantas**. p. 54-79, 2006.
- BENSCH, K. *et al.*, The genus *Cladosporium*. **Studies in Mycology**. n.72, p. 1-401, 2012.
- MUELLER, G. M.; BILLS, G. F.; FOSTER, M. S. Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. In: BILLS, G. F. *et al.* **Saprobic soil fungi**. Amsterdam: Editora. Elsevier, p. 271-302, 2004.
- BRASIL - MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Biomass**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomass/mata-atlantica>. Acesso em: 20/05/2015.
- BRAUN, U & CROUS. P. W. The diversity of cercosporoid hyphomycetes – new species, combinations, names and nomenclatural clarifications. **Fungal Diversity**. v. 26, p. 55-72, 2007.

- BRAUN, U.; NAKASHIMA, C & CROUS, P.W. Cercosporoid fungi (*Mycosphaerellaceae*) 1. Species on other fungi, *Pteridophyta* and *Gymnospermae*. **Internationa Mycological Asociation Fungus**. v. 4, n. 2, p. 265-345, 2013.
- BUCKLEY, M. **The fungal kingdom. Diverse and essential roles in earth's ecosystem**. Whashington: American Academy of Microbiology. 44p. 2008.
- CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, W. B.; CONNERS, J. L. & SIGLER'S. L. **Genera of Hyphomycetes**. Canada: The University of Alberta Press. 386p. 1980.
- CANNON, P. F. & KIRK, P. M. **Fungal families of the world**. CABI International, UK Centre (Egham), 456p. 2007.
- CANNON, P. F. *et al.* *Colletotrichum* – current status and future directions. **Studies in Mycology**. v. 71, p. 181-213, 2012.
- CARMARÁN, C. C. *et al.* An approach towards a new phylogenetic classification in Diatrypaceae. **Fungal Diversity**. v 23: 67-87. 2006.
- CARVALHO, R. C. P. **Micobiota foliícola associada a espécies de *Myrtaceae* dos géneros *Blepharocalyx*, *Eugenia*, *Gomidesia*, e *Psidium* no cerrado**. 2004. 186p. Dissertação. (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade de Brasília. Brasília. DF.
- CHACÓN, S. *et al.* A new species and a new record of Diatrypaceae from Panama. **Mycologia**. v. 105, n. 3 p. 681–688, 2013.
- CHUPP, C. **Monograph of the Fungus Genus *Cercospora***. New York: Ithaca. 667 pp. 1953.
- COOKE, M.C. Exotic Fung - New Guinea. **Grevillea**. v.15, n. 73, p. 18, 1886.
- CROUS, P. W. *et al.* Delimiting *Cladosporium* from morphologically similar genera. **Studies in Mycology**. n. 58, p. 33–56, 2007.
- CROUS, P.W.; & BRAUN, U. *Cercospora* species and similar fungi of South Africa. **Mycological Research**. v. 99, n. 1, p. 31-36, 1995.
- CROUS, P.W.; & BRAUN, U. A *Mycosphaerella* and its anamorphs: 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 571 pages. 2003.
- CROUS, P. W. *et al.* The genus *Mycosphaerella* and its anamorphs. **Studies in Mycology**. n. 45, p. 107-121, 2000.
- CROUS, P. W. *et al.* Phylogenetic lineages in *Pseudocercospora*. **Studies in Mycology**. V. 75, p. 37-114, 2013.
- CROUS, P. W. & GROENEWALD. J. Z. A phylogenetic re-evaluation of *Arthrinium*. **IMA Fungus**. v. 4, n. 1, p. 133–154, 2013.

- DAGNEW, A *et al.* Citrus Production, Constraints and Management Practices in Ethiopia: The Case of *Pseudocercospora* Leaf and Fruit Spot Disease. **Science, Technology and Arts Research Journal**. v. 3, n. 2, p. 04-18, 2014.
- DEIGHTON, F.C. Studies on *Cercospora* and allied genera. VI. *Pseudocercospora* Speg., *Pantospora* Cif., and *Cercoseptoria* Petr. **Mycological Papers**. v. 140, p. 1-168, 1976.
- DANN, U. *et al.* The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in mycology**. v. 73, p. 37-113, 2012.
- DAVID, J. C. A contribution to the systematics of *Cladosporium*. CAB International. **Mycological papers**, n. 172, 1997.
- DENNIS, R.W.G. Kew Bulletin Additional Series III. **Fungus Flora of Venezuela and Adjacent Countries**. London: Verlag von J. Cramer, 531 p. 1970.
- DENNIS, R. W. G. **British Ascomycetes**. Germany: J. Cramer. 585p. 1981.
- DEWDNEY, M & TIMMER, L. W. *Citrus* productions and diseases in Ghana. **Citrus Industry**. 2009.
- DIAS, P. P. *et al.* Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* por biopreparados de isolados de *Trichoderma spp.* **Summa Phytopathologica**, v.39, n.4, p.258-262, 2013.
- DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. **Compendium of soil fungi**. Vol. 1. London: Academic Press. Academic London. 860 p. 1980.
- EL GHOLL, N. E.; SCHUBERT, T, S & ALFIERI Jr. S, A. *Pseudocercospora* leaf spot of feijoa. **Plant Pathology**. Circular n. 358, 1993.
- ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew, Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute. Commonwealth Agricultural Bureaux. 608p. 1971.
- ELLIS, M. B. **More Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew, Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute. Commonwealth Agricultural Bureaux. 507p. 1976.
- ELLIS, M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. VI. **Mycological Papers**. v. 103, p. 1-46. 1965.
- ERIKSSON, O. The families of bitunicate ascomycetes. **Opera Botanica**. v.60, p. 1-209, Umea, Sweden. 1981.
- ERPER, I & CELIK, H. First report of *Pestalotiopsis guelpinii* on *Vaccinium corymbosum* in turkey. **Journal of Plant Pathology**. v.93, (4, Supplement), S4.63-S4.89, 2011.
- FARR, D. F. *et al.* Species of *Colletotrichum* on *Agavaceae*. **Mycological Research**. v. 110, n. 12, p. 1395-1408, 2006.

FARR, D.F., & ROSSMAN, A.Y. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved September 14, 2015, disponível em: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. Acesso em 10/09/2015.

FREIRE, F. C. O. *et al.* Diseases of cashew nut plants (*Anacardium occidentale* L.) in Brazil. **Crop Protection**. v. 21, p. 489–494, 2002.

FREITAS, R. *et al.* First report of *Colletotricum boninense* causing anthracnose on Coffee trees in Brazil. **Plant Disease**. v. 97, n. 9, p. 1255, 2013.

GAWANDE, S. J. *et al.* Some new foliicolous ascomycetes from northern India. **Indian Phytopathology**. v. 57, n. 3, p. 287-295, 2004.

GENG, K. *et al.* A new species of *Pestalotiopsis* from leaf spots of *Licuala grandis* from Hainan, China. **Phytotaxa**. v. 88, n. 3, p. 49–54, 2013.

GLAWE, D. A. & ROGERS, J. D. Diatrypaceae in the Pacific Northwest. **Mycotaxon**. v. 20, n. 2, p. 401-460, 1984.

GROENEWALD, J. Z. *et al.* Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. **Studies in Mycology**. v. 75, p. 115–170. 2013.

GUO, Y. L. *et al.* A new species of *Cercospora*. **Mycosistema**. v. 16, n. 1, p. 1-3, 1997.

GRÜNIG, C. R & SIEBER, T. N. Molecular and phenotypic description of the widespread root symbiont *Acephala applanata* gen. et sp. nov., formerly known as dark-septate endophyte Type 1. **Mycologia**. 97(3), pp. 628–640, 2005.

GRÜNIG, C. R. *et al.*, Dark septate endophytes (DSE) of the *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata* species complex in tree roots: classification, population biology, and ecology. **Botany**. v. 86, p. 1355–1369, 2008.

GRÜNIG, C. R. *et al.* **Structure of diversity in Dark Septate endophytes: from species to genes**. In: PIRTTILÄ, A. M & FRANK, A. C. (eds) *Endophytes of Forest trees. Biology and Applications*. London, New York. vol. 80. pp 3-313. 2011.

GUBA, E. F. Monograph of *Pestalotia* and *Monochaetia*. Harvard University Press, Cambridge, 1961.

GUERREIRO, R, T. & SILVEIRA, R. M. B. **Glossário Ilustrado de Fungos: Termos e Conceitos Aplicados à Micologia**. 2.ed. Porto alegre. Ed. Universidade Federal do Rio Grande do Sul/UFRGS, 102 p 2003.

HAWKSWORTH, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. **Mycological Research**. v. 95, n. 6, p. 641-655, 1991.



HAWKSWORTH, D. L. & ROSSMAN, A. Y. Where Are All the Undescribed Fungi? **Phytopathology**. v. 87, n. 9, p. 888-891, 1997.

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity : the 1±5 million species estimate revisited. **Mycological Research**. 105 (12) : 1422-1432, 2001.

HAWKSWORTH, D. L. Global species numbers of fungi: are tropical studies and molecular approaches contributing to a more robust estimate? **Biodivers Conservation**. v. 21, p. 2425–2433, 2012.

HANSFORD, C.G.; DEIGHTON, F.C. West African Meliolineae II. Meliolineae collected by F.C. Deighton. **Mycological Papers**. v. 23, p. 1-79, 1948.

HANSFORD, C.G. (1955). Tropical fungi - V. New species and revisions. **Sydowia**. v. 9, n. 1-6, p. 45, 1955.

HANSFORD, C.G. The *Meliolineae*. A monograph. **Beih Sydowia**. v. 2, p. 748, 1961.

HANSFORD, C.G. Tropical fungi - VI. New species and revisions. **Sydowia**. v. 10, n. 1-6, p. 82, 1956.

HARUTA, S. *et al.* Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis. **International Journal of Food Microbiology**. v. 109, p. 79-87, 2006.

HASAN, S & GUPTA, G. Fungal Biodiversity: Evolution & Distribution- A Review. **International Journal of Applied Research & Studies**. vol. 1, n. 3, p. 247, 2012.

HAWKSWORTH, D. L. *et al.* The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. **International Mycological Association Fungus**. v. 2, n. 1, p. 105–112, 2011.

HENNINGS, P. Fungi fluminenses a. cl. E. Ule collecti. **Hedwigia**. v.43, n. 2, p. 83, 1904.

HOSAGOUDAR, V. B.; CHANDRAPRABHA, A. New *Asterinaceae* members from Kerala, India. **Indian Journal of Science and Technology**. v. 2, n. 6, p. 15-16, 2009.

HENNINGS, P. Fungi S. Paulenses II. A cl. Puttemans collecti. **Hedwigia**. v. 41, n.6, p. 310, 1902.

HOSAGOUDAR, V.B.; ABRAHAM, T.K.; GOOS, R.D. *Meliolaceae* of Kerala, India - II. **Mycotaxon**. v. 66, p. 106, 1998.

HU, H. *et al.* Phylogenetic diversity of endophytic *Pestalotiopsis* species in *Pinus armandii* and *Ribes* spp.: evidence from rDNA and  $\beta$ -tubulin gene phylogenies. **Fungal Diversity**. v. 24, p. 1-22, 2007.

HUANG, W. Y. *et al.* Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants. **Fungal Diversity**. 33, p. 61-75, 2008.

HYDE, K. D. *et al.* *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. **Fungal Diversity**. v. 39, p. 1-17, 2009.

IBGE. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira**. Rio de Janeiro. Coordenação de Recursos naturais e estudos ambientais, 2 ed, 2012.

INÁCIO, C. A, CANNON, P.F. The genera of the Parmulariaceae. CBS Biodiversity Series vol. 8. Utrecht, the Netherlands: **Centraalbureau Voor Schimmelcultures Fungal Biodiversity Centre**. 196 pp. 2008.

INSTITUTO TERRA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL – (ITPA). 2010. **Climas, biodiversidade e águas. Unidades de Conservação**. Disponível em: <http://www.itpa.org.br/> acesso em: 10/12/2014.

JEEWON, R; LIEW, E. C. Y. & HIDE, K. D. Molecular systematics of the Amphisphaeriaceae based on cladistic analyses of partial LSU rDNA gene sequences. **Mycological Research**. v.107, n. 12, p. 1392–1402, 2003a.

JEEWON, R. *et al.* Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *Pestalotiopsis* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 27, p. 372–383, 2003b.

JUMPPONEN, A & TRAPPE, J. M. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. **New Phytologist**. v. 140, p. 295-310, 1998.

KEITH, L. M; VELASQUEZ, M. E. & ZEE, F. T. Identification and Characterization of *Pestalotiopsis* spp. causing scab disease of guava, *Psidium guajava*, in Hawaii. **Plant Disease**. v. 90, n. 1, 2005.

KIRK, P. M., CANNON, P. F; DAVID, J.C. & STALPERS, J. A., eds. **Dictionary of the Fungi**, 9th edn. Wallingford, UK: CABI Publishing, 771p. 2001.

KIRK, *et al.*, 2015. Index *Fungorum*. Disponível em: ([www.indexfungorum.org/names/Names.asp](http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp) - acessado em 28/08/2015). Acessado em: 01/09/2015.

KNAPP, D. G. *et al.* Dark septate endophytic pleosporalean genera from semiarid áreas. **Persoonia**. n. 35, p. 87–100, 2015.

KNAPP, D. G. *et al.* The Dark Side Is Not Fastidious – Dark Septate Endophytic Fungi of Native and Invasive Plants of Semiarid Sandy Areas. **Plos One**. v. 7, n. 2, p. 1-8, 2012.

LINGFEI, L. *et al.*, Seasonality of arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes in a grassland site in southwest China. **Microbiology Ecology**. v. 54, p. 367–373, 2005.

LIU, A. R. *et al.* Cultural studies coupled with DNA based sequence analyses and its implication on pigmentation as a phylogenetic marker in *Pestalotiopsis* taxonomy. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 57, p. 528–535, 2010.

- LIU, J. K. *et al.* Fungal diversity notes 1–110: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal species. **Fungal Diversity**. v. 72, n. 1, p. 1-197, 2015.
- LUZ, W. C. & INÁCIO, C. A. **Micologia avançada**. Vol. *IIA*. Taxonomia de *Ascomycetos*. Passo Fundo, RS. ed. RAPP, 400p. 2009.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. *et al.* A destructive new disease of *Syzygium samarangense* in Thailand caused by the new species *Pestalotiopsis samarangensis*. **Tropical Plant Pathology**. v. 38, n. 3, p. 227-235, 2012a.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. *et al.* A multi-locus backbone tree for *Pestalotiopsis*, with a polyphasic characterization of 14 new species. **Fungal Diversity**. v. 56, p. 95–129, 2012b.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. *et al.* Improving the backbone tree for the genus *Pestalotiopsis*; addition of *P. steyaertii* and *P. magna* sp. nov. **Mycological Progress** v. 13, p. 617–624, 2014a.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. *et al.* *Pestalotiopsis* morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. **Fungal Diversity**. v. 50, p. 167–187, 2011.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. *et al.* *Pestalotiopsis* revisited. **Studies in Mycology**. p. 1-66, 2014b.
- MINTER, D. W.; KIRK, P. M. & SUTTON, B. C. Holoblastic phialides. **Transactions of the British Mycological Society**. v. 79, n. 1, p. 75-93, 1982.
- MINTER, D. W.; SUTTON, B. C. & BRADY, B. L. What are phialides anyway? **Transactions of the British Mycological Society**. v. 81, n. 1, p. 109-120, 1983.
- MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F.; **Fungos relatados em plantas no Brasil, Laboratório de Quarentena Vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Disponível em: <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michtml/fgbanco01.asp>. Acesso em: 14/9/2015.
- MIBEY, R. K.; HAWKSWORTH, D. L. *Diporotheceae*, a new family of ascomycetes, and the term “hyphopodium”. **Systema Ascomycetum**. v. 14, n. 1, p. 25-31, 1995.
- MUMMEY, D. L. *et al.* Spatial analysis reveals differences in soil microbial community interactions between adjacent coniferous forest and clearcut ecosystems. **Soil biology & Biochemistry**. v. 42, p. 1138-1147, 2010.
- MUELLER, G. M & SCHMIT, J. P. Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? **Biodivers Conserv**. v. 16, p. 1–5, 2007.
- NATTRASS, R. M. Host lists of Kenya fungi and bacteria. **Mycological Papers**. v. 81, p. 1-46, 1961.

- O'BRIEN, H. E. *et al.* Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples. **Applied and Environmental Microbiology**. vol. 71, n. 9, p. 5544–5550, 2005.
- O'DELL, T. E. *et al.* Root colonization of *Lupinus latifolius* Agardh. and *Pinus contorta* Dougl. By *Phialocephala fortinii* Wang & Wilcox. **New Phytologist**. v. 124, p. 93-100, 1993.
- O' DONNELL, K & CIGELNIC, E. Two divergent intragenomic ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are Nonorthologous. **Molecular Phylogenetics And Evolution**. v.7, n.1, p. 103-116, 1997.
- OGÓREK, R. *et al.* Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. **Mikologia Lekarska**. v. 19, n. 2. p. 80-85, 2012.
- PASCAL, L. Z.; DUÓ, A. & GRÜNIG, C. R. Characterization of the mating type (MAT) locus in the *Phialocephala fortinii* s.l. – *Acephala applanata* species complex. **Fungal Genetics and Biology**. v. 47, p. 761–772, 2010.
- PEAY, K. G.; KENNEDY, P. G. & BRUNS, T. D. Fungal community ecology: A hybrid beast with molecular master. **Bioscience**. v. 58, n. 9, 2008.
- PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L. & MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology Earth System Sciences**. v. 11, p. 1633–1644, 2007.
- PEREIRA, G. M. D. *et al.* Ocorrência de fungos endofíticos "dark septate" em raízes de *Oryza glumaepatula* na Amazônia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.46, n.3, p.331-334, 2011.
- PEREIRA, O. L. & BARRETO, R. W. *Pseudocercospora palicoureae* sp. nov. associated with the toxic rubiaceae weed *Palicourea marcgravii* in Brazil, with observations on its mycobiota. **Fungal Diversity**. p. 243-253, 2006.
- PETRAK, F. Über die Gattungen *Phaeoapiozpora* Sacc. et Syd. Und *Anisomyces* Theiss. et Syd. **Sydowia**. v. 1, n. 1-3, p. 35-40, 1947.
- PHENGSIKHAM, P. *et al.* Monograph of Cercosporoid fungi from Thailand. **Plant Pathology & Quarantine**. v. 3, p. 67-138, 2013.
- PIEPENBRING, M. *et al.* Diversity patterns of neotropical plant parasitic microfungi. **Ecotropica**. v. 17, p. 27–40, 2011.
- PINHO, D. B. *et al.* New Meliolaceae from the Brazilian Atlantic forest 1. Species on hosts in the families Asteraceae, Burseraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae and Sapindaceae. **Mycologia**. v. 104, n. 1, p. 121–137, 2012.
- PINHO, D. B. *et al.* New Meliolaceae from the Brazilian Atlantic Forest 2: species on host families Annonaceae, Cecropiaceae, Meliaceae, Piperaceae, Rubiaceae, Rutaceae and Tiliaceae. **Mycologia**. v.105, n. 3, p. 697–711, 2013.

PIRTTILÄ, A. M. & FRANK, A. C. **Endophytes of forest trees: biology and applications**. London. Springer Science Business Media. 313p. 2011.

PORRAS-ALFARO, A. *et al.* Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 74, n. 9, p. 2805–2813, 2008.

PORTAL DA PREFEITURA MUNICIPAL DE PARACAMBI. 2014. Disponível em: [www.paracambi.rj.gov.br/legislacao.html](http://www.paracambi.rj.gov.br/legislacao.html) Acesso em: 15 de Fevereiro de 2015.

PREFEITURA MUNICIPAL DE PARACAMBI. **Parque Natural Municipal do Curió** 2012. Disponível em: [www.curio.paracambi.rj.gov.br/?pagina=projetos](http://www.curio.paracambi.rj.gov.br/?pagina=projetos) Acesso em: 15 de Fevereiro de 2015.

PREFEITURA MUNICIPAL DE PARACAMBI. **Relatório da Secretaria do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável**, 2002. Disponível em: <http://www.paracambi.rj.gov.br/> . Acesso em: 10 de Fevereiro de 2015.

RAMPERSAD, S. N. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of papaya in Trinidad. **Plant disease**. v. 95, n. 10, p. 1244-1254, 2011.

READ, D. J. & HASALWANDTER, K. Observations on the mycorrhizal status of some alpine plant communities. **New Phytologist**. v. 88, p. 341-35, 1981.

REHM, H. Beiträge zur Pilzflora von Südamerika. XII. Sphaeriales. Gesammelt von Herrn E. Ule in Brasilien. **Hedwigia**. v. 40, n. 1, p. 100-124, 1901.

REHNER, S. A. **Primers for elongation factor 1-alpha (EF1 – alpha)**. 2001. Disponível em: [https://www.google.com.br/?gws\\_rd=ssl#q=Rehner+2001](https://www.google.com.br/?gws_rd=ssl#q=Rehner+2001). Acessado em 29 de Junho de 2015.

RIBEIRO, K. G. *et al.* Isolamento, armazenamento e determinação da colonização por fungos “dark septate” a partir de plantas de arroz. Revista **Agro@mbiente** On-line, v. 5, n. 2, p.97-105, 2011.

RIBEIRO, K. G. **Fungos endofíticos dark septate em arroz silvestre *Oryza glumaepatula* Steund**. 2011. 71f. Dissertação. (Mestre em Recursos Naturais. Bioprospecção de recursos genéticos). Universidade Federal de Roraima, RR.

ROGRIGUEZ, R. J. *et al.* Fungal endophytes: diversity and functional roles. **New Phytologist**. p. 8-13, 2008.

SACCARDO, P. A. Ascomycetae. **Sylloge fungorum**. v. XXII: part. IX, sect. I, p. 1-822 (356-358), 1944a.

SACCARDO, P. A. Pyrenomycetum. **Silloge fungorum**. vol. I. p. 539, 1944b.

SACCARDO, P. A. Supplementum Universale. **Silloge fungorum**. v. XIV. p. 534, 1944c.

SACCARDO, P. A. & TROTTER, A. Deuteromycetae. v. XXII. part. IX, sect. II, p. 823, 1944d.



SACCARDO, P. A. Fungi Veneti novi vel critici. Series II. **Nuovo Giornale Botanico Italiano**. v. 7, p.299 -326, 1875.

SACCARDO, P.A. Pyrenomycetae, Perisporiaceae, Schenckiella. *Sylloge fungorum* v. 11, p. 268, 1895.

SACCARDO, P. A. Supplementum universale. *Sylloge fungorum*. v. 27, p. 550. 1905.

SANCHES, M. S.; BILLS, G. F. & ZABALGOGEAZCOA, I. Diversity and structure of the fungal endophytic assemblages from two sympatric coastal grasses. **Fungal diversity**. v. 33, p. 87-100, 2008.

SCHOCH, C. L. *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SCHOCH, C. L. *et al.* The *Ascomycota* Tree of Life: A Phylum-wide Phylogeny Clarifies the Origin and Evolution of Fundamental Reproductive and Ecological Traits. **Systematic Biology**. v. 58, n. 2, p. 224–239, 2009.

SCHULZ, B. J. E & BOYLE, C. J. C. What are endophytes? In: SCHULZ, Barbara J. E; BOYLE, Christine J. C; SIEBER, Thomas N. **Microbial Root Endophytes**. Springer, 367p. 2006.

SCHUBERT, K. *et al.* Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. **Studies in Mycology**. n. 58,p. 105–156, 2007.

SECRETARIA MUNICIPAL DE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DE PARACAMBI E INSTITUTO TERRA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL. **Plano de Manejo do Parque Natural Municipal Curió de Paracambi. Prefeitura Municipal de Paracambi**, 2010. Disponível em: [http://www.itpa.org.br/?page\\_id=474](http://www.itpa.org.br/?page_id=474) Acesso em: 20 de Fevereiro de 2015.

SEIFERT, K.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W & KENDRICK, B. **The genera of Hyphomicetes**. CBS. Biodiversity, série 9. 997p. 2011.

SELIM, K. A. *et al.* Biodiversity and antimicrobial activity of endophytes associated with Egyptian medicinal plants. **Mycosphere**. v. 2, n. 6, p. 669-678, 2011.

SERRA, I. M. R. S. & SILVA, G. S. Caracterização biológica e fisiológica de isolados de *Sclerotium rolfsii* obtidos de pimentão no Estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira** v. 30, p. 61-66, 2005.

SIEBER, T. N. Fungal roots endophytes. In: WAISEL, Yoav; ESHEL, Amram e KAFKAFI, Uzi. **Plant Roots**. The Hidden Half. 3ed. New York. Marcel Dekker, 2002.

- SIEBER, T. N. & GRÜNIG, C. R. Biodiversity of fungal root-endophyte communities and populations in particular of the dark septate endophyte *Phialocephala fortinii*. In: Schulz B, Boyle C, Sieber TN (eds) **Microbial root endophytes**. Soil biology series. v.9, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 107–132, 2006.
- SILVA, M.; BARRETO, R. W. & PEREIRA, O. L. Fungal pathogens of ‘cat’s claws’ from Brazil for biocontrol of *Macfadyena unguis-cati*. *Mycotaxon*. v. 119, p. 181–195, 2012.
- SILVEIRA, V. D. **Micologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Âmbito cultural, 336 p. 1995.
- SINGH, P. N. *et al.* New species of *Pseudocercospora* causing leaf spots of forest plants of Nepal. **Mycologyci. Research**. v. 100, n. 9, p. 1129-1132, 1996.
- SIVANESAN, A. **The bitunicate Ascomycetes and their anamorphs**. Germany. J. Cramer. In der A. R. Gantner Verlag Kommanditgesellschaft. 701p. 1984.
- SIVANESAN, A. & SHIVAS, R.G. New species of *Lembosia* and *Lembosina* from Australia. **Fungal Diversity**. v. 11, p. 159-168, 2002.
- SONG, Y. *et al.* Two new species of *Pestalotiopsis* from Southern China. **Phytotaxa**. v. 126, n.1, p. 22–30, 2013.
- STEVENS, F. L. The genus *Meliola* in Porto Rico. **Illinois Biological Monographs**. v. 2, n. 4, p. 521, 1916.
- STEVENS, F.L. The *Meliolineae* II. **Annales Mycologici**. v. 26, n. ¾, p. 256, 1928.
- STEWART, E. L. *et al.* Phylogenetic relationships among some cercosporoid anamorphs of *Mycosphaerella* based on rDNA sequence analysis. **Mycological Research**. v. 103, p. 1491–1499, 1999.
- STEYAERT, R. L. Contributions à l’étude monographique de *Pestalotia* de Not. et *Monochaetia* Sacc. (*Truncatella* gen. nov. et *Pestalotiopsis* gen. nov.). **Bulletin du Jardin Botanique**. Bruxelles v.19, p. 285–354, 1949.
- SU, H. J. *et al.* *Pestalotiopsis maculans*: A Dominant Parasymbiont in North American Lichens. **Symbiosis**. v. 33, p. 215-226, 2002.
- SUTTON, B. C. **The Coelomycetes. Fungi imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata**. England: Commonwealth Mycological Institute. 696p. 1980.
- SYDOW, H.; SYDOW, P. Novae fungorum species - IX. **Annales Mycologici**. v. 11, n. 1, p. 54-65, 1913.
- SYDOW, H.; SYDOW, P. Diagnosen neuer Philippinischer Pilze. **Annales Mycologici**. v. 12, n. 6, p. 552, 1914.
- SYDOW, H. Fungi Venezuelani. **Annales Mycologici**. v. 28 n. 1-2, p. 29-224, 1930.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, 2011. Disponível em: <<http://mbe.oxfordjournals.org/content/early/2011/05/04/molbev.msr121.abstract>>. Acesso em 30 de Abril, 2015.

TAMURA, K. *et al.*, Mega 6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**. v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.

TAYLOR, J. W. One Fungus = One Name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR. **International Mycological Association Fungus**. v. 2, n. 2, p. 113–120, 2011.

TOZZE, H. J. *et al.* First report of *Colletotricum boninense* causing anthracnose on Pepper in Brazil. **Plant Disease**. v. 93, n. 1, p. 106, 2009.

TRAVERSO, J.B. Diagnoses micromycetum novorum Italicorum. **Annales Mycologici**. v. 1, n.3, p. 228-231, 1903.

TROUILLAS, F. P. *et al.* Diversity of diatrypaceous fungi associated with grapevine canker diseases in California. **Mycologia**. v. 102, n. 2, p. 319–336, 2010.

TROUILLAS, F. P. *et al.* Taxonomy and DNA phylogeny of Diatrypaceae associated with *Vitis vinifera* and other woody plants in Australia. **Fungal Diversity**. n. 49, p. 203–223, 2011.

TURKKAN, M. *et al.* Phytotoxins produced by *Pestalotiopsis guepinii*, the causal agent of hazelnut twig blight. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 50, p.154–158, 2011.

URBANISMO, MEIO AMBIENTE, HABITAÇÃO. Relatório de Impacto Ambiental – RIMA. **Relatório de impacto ambiental da duplicação da rodovia Presidente Dutra BR – 116 Trechos da Serra das Araras**, 2006. Disponível em: [http://www.firjan.org.br/site/anexos/Decisaorio/2012-2014/RIMA\\_-\\_Duplicacao\\_da\\_Serra\\_das\\_Araras.pdf](http://www.firjan.org.br/site/anexos/Decisaorio/2012-2014/RIMA_-_Duplicacao_da_Serra_das_Araras.pdf). Acesso em: 15 de fevereiro de 2015.

URTIAGA, R. Índice de enfermedades en plantas de Venezuela y Cuba, 2 Ed. Unknown journal or publisher : 301p. 2004.

URTIAGA, R. Índice de enfermedades en plantas de Venezuela y Cuba. Impresos en Impresos Nuevo Siglo. S.R.L., Barquisimeto, Venezuela, 202 p.1986.

USIKI, F. & NARISAWA, K. A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospira*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. **Mycologia**. v. 99, n. 2, p. 175–184, 2007.

VASILYEVA, L. M. *Quaternaria carpinicola*, a comb. nov. (Diatrypaceae). **Mycosphere**. v. 2, n. 4, p. 515–517, 2011.

VELOSO, H. P.; HANGEL-FILHO, A. R. L & LIMA, J. C. A. 1991. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro, IBGE, Departamento de recursos naturais e estudos ambientais, 124p. 1991.

- VIEGAS, A. P. Alguns fungos do Brasil II. Ascomycetos. **Bragantia**, v.4, n.1-6. p.126, 1944.
- VON ARX, J.A. Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. **Phytopathologische Zeitschrift**. v. 29, n. 4, p. 413-468, 1957.
- VON ARX, J. A & MÜLLER, E. A re-evaluation of the bitunicate ascomycetes with keys to families and genera. **Studies in Mycology**. n. 9, 1975.
- VON ARX, J. A. & MÜLLER, E. **Die gattungen der didmosporen Pyrenomyceten**. Beiträge zur kryptogamenflora der schweiz. Wabern – Bern. 922p. 1962.
- VON ARX, J. A. Die gattungen der *Myriangiiales*. **Persoonia**. v. 2, n. 4, p. 421-475, 1963.
- WANG, C.J.K.; WILCOX, H.E. New species of ectendomycorhyzal and pseudomycorhyzal fungi: *Phialophora finlandia*, *Chloridium paucisporum* and *Phylocephala fortinii*. **Mycologia**. v. 77, n. 6, p. 951-958, 1985.
- WATANABE, K; MOTOHASHI, K & ONO, Y. Description of *Pestalotiopsis pallidotheae*: a new species from Japan. **Mycoscience**. v. 51, p. 182–188, 2010.
- WEBSTER, J & WEBER, R. W. S. **Introduction to Fungi**. 3. Ed. Cambridge University Press, New York, 841p. 2007.
- WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S. & Taylor, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Capítulo 38. Pag. 315-322. In: **PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications** (M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky and T. White, eds.). Academic Press, Orlando, Florida. 1990.
- WUYTS, J. *et al.* The European database on small subunit ribosomal RNA. **Nucleic Acids Research**. v. 30, n. 1, p. 183-185, 2002.
- XU, J; EBADA, S. S. & PROKSCH, P. *Pestalotiopsis* a highly creative genus: chemistry and bioactivity of secondary metabolites. **Fungal Diversity**. v. 44, p. 15–31, 2010.
- YAMAMOTO, W. Formosan *Capnodiaceae*. Science Reports of the Hyogo University of Agriculture. **Agriculture Biological**. v. 3, n. 1, 1957.
- YANG, X. L; ZHANG, J. Z. & LUO, D. Q. The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. **Natural Product Reports**. v. 29, p. 622–64, 2012.
- YUAN, Z, L. *et al.* A new species of *Harpophora* (Magnaporthaceae) recovered from healthy wild rice (*Oryza granulata*) roots, representing a novel member of a beneficial dark septate endophyte. **Federation of European Microbiological Societies**. v. 307, p. 94–101, 2010.
- ZHANG, Y. *et al.* Multi-locus phylogeny of *Pleosporales*: a taxonomic, ecological and evolutionary re-evaluation. **Studies in Mycology**. n.64, p. 85–102, 2009.
- ZHANG, Y. *et al.* Pleosporales. **Fungal Diversity**. n. 53, p. 1-221, 2012.

## 12. GLOSSÁRIO

**Acérvulo** – Conidioma incorporado no tecido da planta hospedeira (subcuticulares ou subepidémicos), onde um himenium de células conidiogênicas se desenvolve no fundo de uma cavidade a partir de um estroma pseudoparênquimatoso inicialmente fechado, mas que se torna irrompente na maturidade. As vezes incorporam células do tecido da planta em seu pseudoparênquima basal e podendo ou não formar longos filamento negros denominados *setas*.

**Acrópeta** – Conídios produzidos em cadeias sucessivas em direção ao ápice, isto é, quando cada conídio produzido dá origem a outro mais jovem. O conídio mais novo está presente no ápice e o mais velho na base do conidióforo.

**Adaxial** – Parte superior da folha da planta.

**Amerospórico** – conídio unicelular, sem septos.

**Anastomosa** – Fusão de hifas para formar uma rede.

**Anelídica** – Quando a secessão do conídio ocorre sucessivamente após o alongamento da célula conidiogênica a partir de sua parede interna deixando uma marca anelar abaixo do ponto de secessão de cada novo conídio.

**Anfígenas** – Dispostas em ambos os lados da folha da planta hospedeira.

**Alantóide** – Esporo um pouco curvado.

**Aparafisados** – Ausência de paráfises.

**Apêndices** – Estreitas extensões celulares ou não celulares do conídio.

**Apículo** – Uma curta projeção.

**Apressório** – Expansão lateral ou intercalar de hifas superficiais, podendo ser de forma variada, o qual tem a função de fixação do fungo na superfície do hospedeiro. A partir dos quais partem tubos de penetração.

**Asseptado** – Sem septo.

**Ascósporo** – Esporo de origem sexual, formado dentro do asco, em número de oito (às vezes quatro ou múltiplos de oito). Próprio dos Ascomycetes.

**Ascoma** – Todo tipo de corpo de frutificação que contém ascos, próprio dos Ascomycetes.

**Asco** – Estrutura unicelular em forma de saco, globosa a cilíndrica, em cujo interior ocorre a cariogamia e a meiose para formar os ascósporos. Podem ser livres ou contidos em corpos de frutificação.

**Atenuado** – Estreito.

**Blástica** – Refere-se a um único conídio liberado a partir de um loco conidiogênico; refere-se a conidiogênese por brotamento.

**Basáuxico** – (conidióforo) alongamento por um ponto basal de crescimento do próprio conidióforo; Hifa fértil emergindo de uma célula mãe basal e um filamento extensível proveniente de dentro dela que pode ser conidiogênico. Com



conídio mais novo localizado na região basal e o conídio mais velho localizado na região apical do conidióforo.

**Bisporos** – Dois ascósporos por asco.

**Bitunicados** – Ascospores com duas camadas de parede.

**Capitado** – Com cabeça arredondada.

**Cariogamia** – Fusão de dois núcleos.

**Catenulado** – Dispostos em cadeia.

**Célula conidiogênica** – Célula a partir da qual os conídios são produzidos.

**Cespitosas** – Em grupo ou tufo que saem de uma mesma base.

**Clamidósporo** – Estrutura de parede grossa, que se origina nas hifas em posição terminal ou intercalar. Comporta-se como esporo de resistência.

**Colônias** – Conjunto de frutificações.

**Conidioma** – Corpo de frutificação.

**Conidióforo** – Hifa simples ou ramificada (uma hifa fértil) tendo ou sendo constituída por células conidiogênicas a partir das quais são produzidos os conídios.

**Conidiogênese ou Ontogenia conidial** – Processo de formação do conídio.

**Conídio** – É a unidade propagativa do fungo (esporo).

**Cirro conidial** – Massa de esporos, mucilaginosa que sai pelo ostíolo da frutificação madura.

**Clavados** – Forma de porrete. Mais largo em direção ao ápice do que para a base.

**Conspícuo** – Evidente; a amostra, de fácil visualização.

**Dictioseptados** – Esporos com septos transversais e longitudinais.

**Elipsóide** – Com forma elíptica. Estrutura tri-dimensional com um eixo mais longo e um mais curto. É como uma esfera um pouco alongada.

**Epífila** – Sobre a superfície superior de uma folha.

**Escutelares** – Como uma placa redonda ou escudo.

**Esporodóquio** – Massa de conídios suportados por curtos conidióforos agrupados que surgem a partir de uma massa basal de hifas estromáticas. Geralmente, esporodóquios são superficiais no tecido da planta hospedeira.

**Estroma** – Massa ou estrutura fungica compacta formada por hifas, dentro ou a partir da qual frutificações são formadas.

**Enteroblástica** – Quando somente a parede interna da célula conidiogênica participa na formação do esporo.

**Enteroblástica fialídica** – Quando nenhuma das paredes da célula conidiogênica participa na formação do esporo.

**Estomatopódio** – Um ramo de hifa.

**Evanescentes** – Com curta existência; efêmero.

**Falcado** – Curvado como uma lâmina de uma foice.

**Fenda germinativa equatorial** – Área linear fina na parede do esporo, geralmente disposta em todo o comprimento do esporo.

**Fascículos** – Pequeno feixe ou tufo formado por um grupo de hifas ou conidióforos.

**Filiforme** – Como um fio; filamento.

**Flexuosa** – Como onda.

**Fragmoseptado** – Esporo com dois ou mais septos transversais.

**Fusiforme** – (Tipo haste), estreitando-se nas extremidades.

**Geniculada** – Dobrada como um joelho.

**Globoso** – Forma esférica, com diâmetro iguais em todas as direções.

**Granulada** – Coberto com muitas pequenas partículas.

**Hamatécio** – Todo os tipos de hifas mais outros tecidos presente entre os ascos ou projetando dentro do lóculo ou ostíolo no ascoma.

**Hialino** – Incolor; transparente.

**Hifa** – É a unidade estrutural dos fungos, e que contém todas as organelas características das células eucarióticas. O conjunto de hifas forma o micélio

**Himênio** – Camada fértil de conidióforos ou células conidiogênicas, frequentemente paralelas, em uma camada paliçada.

**Hipófilas** – Disposta no lado inferior da folha da planta hospedeira.

**Holoblástica** – (conidiogênese), quando as duas paredes da célula conidiogênica participa na formação do conídio.

**Integradas** – (célula conidiogênica) incorporada no eixo principal ou ramificação do conidióforo.

**Inconspícuo** – Não evidente, de difícil visualização.

**Irrompente** – Saindo através da superfície do substrato.

**Lageniformes** – Em forma de frasco ou garrafa.

**Lenticular** – Em forma de lente biconvexa.

**Lóculo** – Pequena cavidade. Em determinados Ascomycetes, delimitam-se dentro de um estroma para dar lugar a formação dos ascos.

**Macronematoso** – Conidióforos os quais são morfologicamente diferentes da hifa vegetativa.

**Meiose** – Divisão reducional dos núcleos diploides. Nesse processo ocorre duas divisões consecutivas, uma das quais é redutora. Como resultado da meiose são produzidos quatro núcleos haploides.

**Micronematoso** – Conidióforos os quais são semelhantes a hifa vegetativa.

**Mononematoso** – Quando são solitários ou em grupos.

**Monoascais** – Apenas um asco por lóculo.

**Monoblásticas** – Células conidiogênicas com apenas um loco conidiogênico.

**Mucilagem** – Substância semifluida que apresenta o aspecto de geleia mais ou menos viscosa.

**Mucronado** – Pontagudo; terminando em uma ponta fina.

**Obclavado** – Mais largo na base.

**Oblongo** – Mais comprido do que largo e com as duas extremidades arredondadas.

**Octospórico** – 8 esporos.

**Paráfise** – Hifa originária a partir da base da cavidade do corpo de frutificação, geralmente não ramificada e não anastomosa.

**Parede celular** – Envoltório da célula. Nos fungos está constituída principalmente por quitina, mas pode apresentar outras substâncias como: celulose e glucana.

**Pedicelo** – Pequeno pedúnculo filiforme. Termo empregado também para designar a extremidade inferior de uma estrutura.

**Peritécio** – Tipo de frutificação delimitada por uma parede e geralmente em forma de pequena garrafa, com um poro apical, que contém os ascos. Os peritécios podem estar livres ou imersos em um estroma. Próprio dos Ascomycetes.

**Perífises** – Hifas curtas, como pelos, em forma de franjas, que cobrem o interior da porção terminal do peritécio.

**Picnidio** – Conidioma de celomycetes, os quais as células conidiogênicas e conídios são fechados por paredes de tecido do fungo. Picnidio pode ser irrompente, imerso ou superficial no tecido hospedeiro.

**Poliblasticas** – Células conidiogênicas com mais de um loco conidiogênico.

**Poro** – Qualquer pequena abertura.

**Pulvinado** – Que tem a forma de almofada.

**Ramoconidio** – Ramo apical de um conidióforo que se separa e funciona como conídio.

**Reprodução assexuada** – Processo de formação de novos indivíduos sem a intervenção de gametas ou núcleos compatíveis.

**Reprodução sexuada** – Processo de formação de novos indivíduos através da plasmogamia, cariogamia e meiose, possibilitando assim a variabilidade genética da espécie.

**Rizomorfa** – Cordão constituído de hifas vegetativas, que perderam sua individualidade, e que se comporta como uma unidade orgânica.

**Plasmogamia** – Fusão de dois protoplastos. Evento obrigatório que precede a cariogamia na reprodução sexuada.

**Radiata** – (textura da parede) crescimento a partir de um centro.

**Secessão** – Separação do conídio da hifa.

**Seta** – Formação pilosa estéril; um cabelo duro, geralmente, com parede grossa e coloração escura.

**Septado** – Com paredes transversais ou longitudinais. Termo usado para esporos, basídios e micélios divididos em compartimentos.

**Septo** – Parede transversal ou longitudinal.

**Simpodial** - Conídios formados por gemulação da extremidade de conidióforos simples ou ramificados os quais produzem novo ponto de crescimento no qual novo conídio é produzido, ao lado do conídio anterior.

**Terminal** – Formada no final da hifa ou outra estrutura.

**Truncada** – Com a base ou ápice achatado, plano.

**Unitunicados** – Ascospores com somente uma parede.

**Verrucoloso** – Tendo pequenas processos arredondados ou verrugas em torno.