

UFRRJ

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

DISSERTAÇÃO

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE
FUNGOS CERCOSPORÓIDES E OUTROS *ASCOMYCOTA*
TROPICAIS**

Hemylson Porto de Souza

2025



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

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE
FUNGOS CERCOSPORÓIDES E OUTROS *ASCOMYCOTA*
TROPICAIS**

HEMYLSON PORTO DE SOUZA

*Sob a Orientação do Professor
Ph.D. Carlos Antonio Inácio*

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 Fitossanidade Aplicada.

Seropédica, RJ
Janeiro de 2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S719c

Souza, Hemylson Porto de, 1986-
Caracterização morfológica e molecular de fungos
cercosporóides e outros Ascomycota tropicais /
Hemylson Porto de Souza. - Rio de Janeiro, 2025.
168 f.: il.

Orientador: Carlos Antonio Inácio.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em
Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, 2025.

1. Micologia. 2. Fitopatologia. 3. Fungos
fitopatogênicos. 4. Filogenia. 5. Análise cladística.
I. Inácio, Carlos Antonio , 1966-, orient. II Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa 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

HEMYLSON PORTO DE SOUZA

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 em Fitossanidade.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/01/2025

Documento assinado digitalmente
 CARLOS ANTONIO INACIO
Data: 27/01/2025 20:33:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Carlos Antonio Inácio (Ph.D.) UFRRJ
(Orientador)

Documento assinado digitalmente
 JERRI EDSON ZILLI
Data: 28/01/2025 10:11:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jerri Édson Zilli (Dr.) Embrapa Agrobiologia

Documento assinado digitalmente
 IRENE DA SILVA COELHO
Data: 27/01/2025 20:22:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Irene Da Silva Coelho (Dr^a.) UFRRJ

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família, especialmente à minha mãe, ao meu pai, à minha vó e ao meu irmão, pelo suporte e pelas boas energias que sempre recebi ao longo da minha trajetória.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e ao Programa Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada pela oportunidade de evolução acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001.

Ao meu orientador Prof. Carlos Antonio Inácio, pela orientação, pelos ensinamentos, e sobretudo por oferecer condições materiais para a realização deste trabalho.

Ao pesquisador Jerri Édson Zilli, da Embrapa Agrobiologia. Primeiramente, por permitir que as análises moleculares fossem realizadas na Embrapa. Agradeço também por ter aceitado fazer parte da banca examinadora da defesa de dissertação, contribuindo muito para o aprimoramento deste trabalho.

À professora Irene Da Silva Coelho, do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária (IV/UFRRJ), por ter aceitado o convite para fazer parte da banca examinadora da defesa de dissertação. Agradeço especialmente pelas recomendações, que certamente enriqueceram muito as análises e discussões deste trabalho.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, especialmente ao professor Paulo Sergio Torres Briosi e ao secretário Roberto Tadeu, pelo imprescindível apoio.

Ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS/UFRRJ) e ao Departamento de Entomologia e Fitopatologia (DEnF), por terem me concedido permissão para a realização do mestrado.

Agradeço especialmente aos professores da área de Fitopatologia (DEnF/ICBS/UFRRJ), Helena Guglielmi Montano, João Pedro Pimentel e Aurivan Soares De Freitas, por sempre me apoiarem ao longo desta empreitada. Aos professores da área de Entomologia do DEnF, pelo apoio de sempre, especialmente à professora Elen de Lima Aguiar Menezes.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, pelos valiosos ensinamentos e orientações, que certamente contribuíram muito para a minha evolução acadêmica.

A todos os funcionários e bolsistas da Embrapa Agrobiologia que me ajudaram nas análises moleculares, especialmente: Fernanda Dourado, Alice Donato, Peter Medeiros, Karinne Motta e Michele Ricalde.

A todos os colegas mestrandos do programa, pela troca de experiências. A todos os estagiários e funcionários do DEnF/ICBS, pelo apoio, especialmente à funcionária Ivanete.

BIOGRAFIA

Hemylson Porto de Souza, filho de José Geraldo de Souza e Valéria Alves Porto de Souza, nasceu em 1986, na cidade do Rio de Janeiro. Em 2004 concluiu o ensino médio na antiga Escola Técnica Federal de Química (atual IFRJ – Unidade Maracanã). Em 2005, concluiu o curso técnico em Biotecnologia, na mesma instituição de ensino. É servidor público federal (técnico de laboratório), desde 2010, na área de Fitopatologia, no Departamento de Entomologia e Fitopatologia (DEnF/ICBS), da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Na mesma instituição formou-se em Agronomia em 2011 e em Direito em 2019. Concluindo o curso de Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada na UFRRJ (2022-2024) na área de concentração Fitossanidade Aplicada.

RESUMO GERAL

SOUZA, Hemylson Porto. **Caracterização morfológica e molecular de fungos cercosporóides e outros *Ascomycota* tropicais.** 2025. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2025.

O Reino *Fungi* é um dos mais biodiversos do planeta contendo organismos com uma ampla distribuição. Estima-se atualmente, a existência de até 13,2 milhões de espécies fúngicas, das quais, apenas 155.869 espécies foram validamente descritas. Os diferentes hábitos exibidos pelos fungos, como o parasitismo, o mutualismo e o saprofítico, representam funções essenciais para a manutenção dos ecossistemas, especialmente no que se refere à ciclagem de nutrientes nos solos, ao controle populacional de espécies parasitadas por fungos, e à interdependência manifestada em relações simbióticas com diversos outros tipos de organismos. Quando se trata de doenças de plantas, os fungos são os patógenos mais importantes, pois causam a maioria das efermidades vegetais. Tendo em vista a vasta biodiversidade ainda desconhecida, faz-se necessário a realização de trabalhos que busquem descrever novos táxons, inclusive no Reino *Fungi*. Deste modo, o presente trabalho encontra-se dividido em dois capítulos. No primeiro, buscou-se a caracterização morfológica e molecular (regiões ITS, LSU e *actA*) de oito isolados fúngicos do grupo dos cercosporóides (família *Mycosphaerellaceae* Lindau, classe *Dothideomycetes* O.E. Erikss. & Winka, filo *Ascomycota*) coletados em Seropédica-RJ, dos quais: sete foram identificados como *Pseudocercospora* Speg. (das quais cinco espécies são provavelmente novas); e um agrupado junto com *Nothopassalora* U. Braun, C. Nakash., Videira & Crous (provável espécie nova deste gênero). No segundo capítulo do trabalho, o objetivo foi a caracterização morfológica e identificação de espécies do gênero *Phyllachora* Nitschke ex Fuckel (família *Phyllachoraceae* Theiss. & P. Syd., classe *Sordariomycetes* O.E. Erikss. & Winka, filo *Ascomycota*) depositados no Herbário Fitopatológico “Verlande Duarte Silveira”, na UFRRJ, campus Seropédica. Dos dez espécimes estudados, cinco foram identificados como prováveis novas espécies, sendo os outros cinco caracterizados morfológicamente como espécies já descritas. Sendo assim, no presente trabalho foi possível a caracterização de 11 espécies provavelmente novas, todas do filo *Ascomycota*, enquadradas em duas diferentes classes: *Dothideomycetes* e *Sordariomycetes*.

Palavras-chave: *Ascomycota*; fungos tropicais; fungos cercosporóides; *tar spot*; *discomycetes*.

GENERAL ABSTRACT

SOUZA, Hemylson Porto. **Morphological and molecular characterization of cercosporoid fungi and other tropical Ascomycota**. 2025. Dissertation (MSc in Phytosanitary and Applied Biotechnology). Institute of Biological Sciences and Health. Department of Entomology and Plant Pathology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2025.

The *Fungi* Kingdom is one of the most biodiverse on the planet, containing organisms with a wide distribution. It is currently estimated that there are up to 13.2 million fungal species, of which only 155,869 species have been validly described. The different habits exhibited by fungi, such as parasitism, mutualism and the saprophytic, represent essential functions for the maintenance of ecosystems, especially with regard to nutrient cycling in soils, population control of species parasitized by fungi, and the interdependence manifested in symbiotic relationships with several other types of organisms. When it comes to plant diseases, fungi are the most important pathogens, as they cause the majority of plant diseases. Given the vast biodiversity that is still unknown, it is necessary to carry out studies that seek to describe new taxa, including in the kingdom *Fungi*. Thus, this work is divided into two chapters. In the first, we sought the morphological and molecular characterization (ITS, LSU and *actA* regions) of eight fungal isolates of the cercosporoid group (family *Mycosphaerellaceae* Lindau, class *Dothideomycetes* O.E. Erikss. & Winka, phylum *Ascomycota*) collected in Seropédica-RJ, of which: seven were identified as *Pseudocercospora* Speg. (of which five species are probably new); and one grouped together with *Nothopassalora* U. Braun, C. Nakash., Videira & Crous (probable new species of this genus). In the second chapter of the work, the objective was the morphological characterization and identification of species of the genus *Phyllachora* Nitschke ex Fuckel (family *Phyllachoraceae* Theiss. & P. Syd., class *Sordariomycetes* O.E. Erikss. & Winka, phylum *Ascomycota*) deposited in the Phytopathological Herbarium “Verlande Duarte Silveira”, at UFRRJ, Seropédica *campus*. Of the ten specimens studied, five were identified as probable new species, with the other five morphologically characterized as species already described. Therefore, in the present work it was possible to characterize 11 probable new species, all of the phylum *Ascomycota*, classified in two different classes: *Dothideomycetes* and *Sordariomycetes*.

Keywords: *Ascomycota*; tropical fungi; cercosporoid fungi; *tar spot*; discomycetes.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Listas dos fungos cercosporóides associados a diferentes hospedeiros, cujos espécimes e isolados foram catalogados no HFVDS-UFRJ e no Laboratório de Micologia/DEnF/ICBS/UFRRJ.....	11
TABELA 2. Lista de primers utilizados para a análise filogenética das regiões <i>actA</i> , ITS e LSU.....	15
TABELA 3. Identificação dos isolados a nível de gênero, com base na filogenia concatenada (regiões <i>actA</i> , ITS e LSU).....	18
TABELA 4. Características de <i>Cercospora</i> e <i>Pseudocercospora</i> em folhas de <i>Vitaceae</i> comparadas com a espécie encontrada em <i>Cissus verticillata</i>	28
TABELA 5. Características de <i>Pseudocercospora</i> em folhas de <i>Psidium</i> sp. comparadas com espécies já descritas neste gênero e em outros da família <i>Myrtaceae</i> , e outras famílias.....	37
TABELA 6. Comparação de parâmetros morfológicos com os níveis de divergência para a região <i>actA</i>	40
TABELA 7. Características de <i>Pseudocercospora</i> em folhas de <i>Erythroxylum pulchrum</i> comparadas com espécies já descritas neste gênero e em outros da família <i>Erythroxylaceae</i>	47
TABELA 8. Graus de divergência das espécies próximas ao fungo DENFC331, verificadas na árvore baseada na região LSU (Figura 16).....	53
TABELA 9. Graus de divergência das espécies próximas ao fungo DENFC331, verificadas na árvore baseada na região <i>actA</i>	57
TABELA 10. Características de fungos cercosporóides em folhas de <i>Mimosa caesalpiniæfolia</i> comparadas com espécies de gêneros evolutivamente próximos associados a plantas da família <i>Fabaceae</i> , e outras famílias.....	59
TABELA 11. Graus de divergência das espécies próximas ao fungo DENFC316, verificadas na árvore baseada na região <i>actA</i> (Figura 21).....	64
TABELA 12. Características de cercosporóide em folhas de <i>Abelmoschus esculentus</i> comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família <i>Malvaceae</i>	67
TABELA 13. Características de cercosporóide em folhas de <i>Bixa orellana</i> comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família <i>Bixaceae</i>	75
TABELA 14. Graus de divergência das espécies próximas ao fungo DENFC335, verificadas na árvore baseada na região <i>actA</i> (Figura 27).....	79
TABELA 15. Características de cercosporóide em folhas de <i>Handroanthus impetiginosus</i> comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família <i>Bignoniaceae</i>	83
TABELA 16. Características de cercosporóide em folhas de <i>Gliricidia sepium</i> comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família <i>Fabaceae</i> (subfamília <i>Faboideae</i>).....	91
TABELA 17. Listas dos diferentes hospedeiros associados a <i>Phyllachora</i> sp., catalogados no HFVDS - UFRJ.....	108
TABELA 18. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Eugenia punicifolia</i> comparadas com espécies já descritas e associadas ao gênero <i>Eugenia</i> (<i>Myrtaceae</i>).....	114
TABELA 19. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Croton cf. compressus</i> comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família <i>Euphorbiaceae</i>	117
TABELA 20. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Paullinia rubiginosa</i> comparadas a espécies já descritas na literatura, associadas a hospedeiros da família	

<i>Sapindaceae</i>	121
TABELA 21. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Eugenia florida</i> comparadas a espécies já descritas neste gênero e na família <i>Myrtaceae</i>	125
TABELA 22. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Cedrella fissilis</i> comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família <i>Meliaceae</i>	128
TABELA 23. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Machaerium villosum</i> comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família <i>Fabaceae</i>	131
TABELA 24. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Chloris</i> sp. comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família <i>Poaceae</i>	135
TABELA 25. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Chloris</i> sp. comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família <i>Poaceae</i>	139
TABELA 26. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Vernonia</i> sp. comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família <i>Asteraceae</i>	143
TABELA 27. Características de <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Myrtaceae</i> (gênero indefinido). comparadas a espécies já descritas e associadas a diferentes hospedeiros da família <i>Myrtaceae</i>	147
TABELA 28. Conclusões referentes a identificação de cada espécie de <i>Phyllachora</i> sp. caracterizada neste estudo.....	150

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Distribuição de filos e classes dentro do Reino Fungi, com o número de espécies descritas em cada classe. Fonte: *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024).....1
- FIGURA 2.** Distribuição de ordens e famílias dentro da classe *Dothideomycetes*, com o número de espécies em cada família. Fonte: *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024).....8
- FIGURA 3.** Localização do campus da UFRRJ (abaixo) e da Flona Mário Xavier (acima). FONTE: GOOGLE EARTH, 2024.....13
- FIGURA 4.** Mapa do clima do estado do Rio de Janeiro. FONTE: IBGE, 2002.....13
- FIGURA 5.** Árvore filogenética concatenada baseada na comparação das sequências referentes às regiões *actA*, ITS e LSU, considerando diferentes gêneros da família *Mycosphaerellaceae*, principalmente. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Colletotrichum theobromicola* Delacr. (CBS124945) e *Cylindromonium alloxyli* Crous (CPC38159) foram utilizados como grupo externo.....21
- FIGURA 6.** Árvore filogenética concatenada baseada na comparação das sequências referentes às regiões *actA*, ITS e LSU, considerando diferentes espécies do gênero *Pseudocercospora*. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. Utilizou-se espécies do gênero *Pallidocercospora* Crous como grupo externo.....22
- FIGURA 7.** Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora acaciigena* (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.....27
- FIGURA 8.** A-H. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Cissus verticillata*, coletado no *campus* da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas na região adaxial. C. Grupo de esporodóquios. D. Micrografia da frutificação com conídios. E. Detalhe de dois estromas e conidióforos. F. Hifa e conídios do fungo cultivado em meio de cultivo BDA. G-J. Variação na morfologia dos conídios obtidos do fungo no hospedeiro.....31
- FIGURA 9.** A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm. Placas de Petri de 60×15 mm.....32
- FIGURA 10.** Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora acaciigena* (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.....36
- FIGURA 11.** A-H. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Psidium* sp. (araçá), coletadas em vasos, na casa de vegetação do DEnF/ICBS, no *campus* da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Micrografia mostrando conidióforos agrupados. E. Detalhe do estroma, com

conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. F. Detalhe da hifa superficial, contendo conidióforos isolados. G-H. Detalhe dos conídios.....	41
FIGURA 12. A-B. <i>Pseudocercospora</i> sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.....	42
FIGURA 13. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região actina (<i>actA</i>). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou <i>vouchers</i> estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Pallidocercospora acaciigena</i> (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.....	46
FIGURA 14. A-H. <i>Pseudocercospora</i> sp. Em folhas de <i>Erythroxylum pulchrum</i> , coletadas na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Micrografia mostrando o conidióforo e alguns conídios. E. Detalhe do estroma e conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. F. Detalhe da hifa superficial, contendo conidióforos isolados. G-H. Detalhe dos conídios.....	48
FIGURA 15. A-B. <i>Pseudocercospora</i> sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.....	49
FIGURA 16. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região LSU. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou <i>vouchers</i> estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Ramularia nyssicola</i> (Cooke) Videira & Crous (CBS 127665) foi utilizada como grupo externo.....	52
FIGURA 17. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região actina (<i>actA</i>). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou <i>vouchers</i> estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Devonomyces endophyticus</i> (Crous & Hendr. Sm.) Videira & Crous (CBS 114662) foi utilizada como grupo externo.....	56
FIGURA 18. Árvore filogenética concatenada baseada na comparação das sequências referentes às regiões actina (<i>actA</i>) e LSU. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou <i>vouchers</i> estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Devonomyces endophyticus</i> (CBS 114662) foi utilizada como grupo externo.....	58
FIGURA 19. A-H. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Mimosa caesalpiniæfolia</i> (sabiá), coletadas no <i>campus</i> da UFRRJ, em Seropédica-RJ. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Micrografia mostrando conidióforo em detalhe. E. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. F-G. Espessamento das cicatrizes verificadas nos <i>loci</i> conidiogênicos (setas). H. Detalhe da hifa secundária superficial, contendo conidióforos isolados. I-J. Detalhe dos conídios.....	61
FIGURA 20. A-B. <i>Pseudocercospora</i> sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.....	62
FIGURA 21. Árvore filogenética baseada na comparação das sequências referentes às regiões actina (<i>actA</i>). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o	

programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou vouchers estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Pallidocercospora heimioides</i> (CBS 111190) foi utilizada como grupo externo.....	65
FIGURA 22. A-H. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Abelmoschus esculentus</i> (Malvaceae), coletadas no <i>campus</i> da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região abaxial (A) e adaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Grupo de estromas e conidióforos, em corte vertical-transversal. E. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados. F. Grupo de conídios. G. Detalhe de conídio.....	69
FIGURA 23. A-B. <i>Pseudocercospora</i> sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.....	70
FIGURA 24. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região actina (<i>actA</i>). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou vouchers estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Pallidocercospora heimioides</i> (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 111190) foi utilizada como grupo externo.....	74
FIGURA 25. A-H. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Bixa orellana</i> (Bixaceae), coletadas no <i>campus</i> da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando esporodóquios agrupados sobre o tecido vegetal. D-E. Micrografias mostrando conidióforo em detalhe. F. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. G-H. Grupos de conídios. I. Detalhe de um conídio.....	76
FIGURA 26. A-B. <i>Pseudocercospora</i> sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.....	77
FIGURA 27. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região actina (<i>actA</i>). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou vouchers estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Pallidocercospora acaciigena</i> (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.....	80
FIGURA 28. A-J. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Handroanthus impetiginosus</i> (Bignoniaceae), coletadas no <i>campus</i> da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A-C. Folhas do hospedeiro, com detalhes de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (B) e abaxial (C) das folhas. D. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. E-F. Micrografias (MEV) mostrando conidióforos em detalhe. G. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. H. Grupo de conídios. I-J. Conídios em detalhe.....	85
FIGURA 29. A-B. <i>Pseudocercospora</i> sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.....	86
FIGURA 30. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região LSU. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou vouchers estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Pallidocercospora heimioides</i> (CBS_111190) foi utilizada como grupo externo.....	88
FIGURA 31. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências	

referentes à região ITS. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de <i>bootstrap</i> de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou <i>vouchers</i> estão descritos ao lado do nome de cada espécie. <i>Pallidocercospora heimioides</i> (CBS_111190) foi utilizada como grupo externo.....	89
FIGURA 32. A-I. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Gliricidia sepium</i> , coletadas no <i>campus</i> da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C-D. Fotografias obtidas em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. E. Detalhe dos estromas em corte vertical-transversal do tecido foliar, ilustrando a ocorrência nas duas faces das folhas. F. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. G-I. Detalhe dos conídios, ilustrando a variação no comprimento e no número de septos.....	92
FIGURA 33. A-B. <i>Pseudocercospora</i> sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.....	93
FIGURA 34. Distribuição das classes e ordens dentro do filo <i>Ascomycota</i> ., além do número de espécies em cada ordem. Fonte: <i>Catalogue of Life</i> (BÁNKI et. al., 2024).....	105
FIGURA 35. Distribuição de famílias e gêneros dentro da ordem <i>Phyllachorales</i> , além do número de espécies em cada gênero. Fonte: <i>Catalogue of Life</i> (BÁNKI et. al., 2024).....	107
FIGURA 36. Localização da Restinga da Marambaia (área de estudo/coletas). FONTE: GOOGLE MAPS, 2024.....	109
FIGURA 37. Mapa do clima do estado do Rio de Janeiro. FONTE: IBGE, 2002.....	110
FIGURA 38. Localização Flona Mário Xavier (área de estudo/coletas). FONTE: GOOGLE MAPS, 2024.....	110
FIGURA 39. A-G. <i>Phyllachora</i> em folhas de <i>Eugenia punicifolia</i> coletado na Reserva da Resinga de Marambaia-R.J. A. Sintomas na região adaxial (seta). B. Sintomas na região abaxial. C. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras. D. Ascomas visto em corte vertical-transversal. E. Grupo de ascos e paráfises. F. Grupo de ascos. G. Asco maduro e imaturos. H. Grupo de ascósporos. I. Ascósporo em detalhe.....	115
FIGURA 40. A-H. <i>Phyllachora</i> em folhas de <i>Croton cf. compressus</i> coletado na Reserva Restinga de Marambaia-R.J. A. Sintomas na região adaxial (seta). B. Sintomas na região abaxial (seta). C. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras. D. Ascoma visto em corte vertical-transversal. E. Grupo de ascos e paráfises (setas), vistos em corte vertical-transversal. F. Ascósporos. G. Detalhe do asco. H. Grupo de ascósporos. I. Detalhe do ascósporo.....	118
FIGURA 41. A-I. <i>Phyllachora</i> em folhas de <i>Paullinia rubiginosa</i> , coletadas na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ. A e B. Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C e D. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras (C), podendo ocorrer em halo necrótico (D). E. Ascoma visto em corte vertical-transversal. F-H. Ascósporos isolados, ocorrendo com diferentes números de ascósporos. I. Grupo de ascósporos.....	122
FIGURA 42. A-H. <i>Phyllachora</i> em folhas de <i>Eugenia florida</i> , coletadas na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ. A e B. Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras ocorrendo em halo necrótico. D. Ascomas periteciais, agrupados, vistos em corte vertical-transversal. E. Detalhe de um ascoma. F e G. Ascósporos agrupados (F) ou isolado (G), ocorrendo com diferentes modos de disposição dos ascósporos, uni (F) ou bisseriados (G). I. Grupo de ascósporos.....	126
FIGURA 43. A-I. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Cedrela fissilis</i> (Meliaceae). A, B-Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo estroma. D.Corte transversal vertical mostrando a cavidade do ascoma. E. Detalhe das paráfises (seta) entre alguns ascos. F. Grupo de asco. G.	

Detalhe de um asco. H. Grupo de ascósporos. I. Detalhe de um ascósporo.....	129
FIGURA 44. A-H. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Machaerium villosum</i> (Fabaceae). A. Sintomas na região adaxial (esquerda) e abaxial (direita). B. Detalhe de dois estromas. C. Corte transversal vertical mostrando a cavidade do ascoma. D. Detalhe das paráfises (seta) entre alguns ascos. E. Grupo de ascos. F. Detalhe de um asco. G. Grupo de ascósporos. H. Detalhe de um ascósporo.....	133
FIGURA 45. A-I. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Chloris</i> sp. (Poaceae). A e B-Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo de estromas. D. Corte transversal vertical mostrando as cavidades de dois ascomas. E. Grupo de ascos e paráfises (setas) ainda aderidos à camada fértil do ascoma. F. Grupo de ascos e paráfises (setas) totalmente expostos. G. Detalhe de um asco. H. Grupo de ascósporos. I. Dois ascósporos em detalhe.....	137
FIGURA 46. A-I. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas do hospedeiro da família Poaceae. A e B-Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo de estromas. D. Corte transversal vertical mostrando as cavidades de três ascomas. E. Grupo de ascos e paráfises (setas) ainda aderidos. F. Grupo de ascos. G. Detalhe de um asco. H. Grupo de ascósporos. I. Três ascósporos em detalhe.....	141
FIGURA 47. A-I. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Vernonia</i> sp. (Asteraceae). A e B-Estromas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo de estromas em detalhe. D. Corte transversal vertical mostrando a cavidade de um ascoma. E. Frutificação e espermácia do anamorfo. F. Grupo de ascos. G. e H. Asco em detalhe. I. Grupo de ascósporos.....	145
FIGURA 48. A-J. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de Myrtaceae (gênero indefinido). A e B. Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Estroma em detalhe. D. Corte transversal vertical mostrando as cavidades de três ascomas. Detalhe das cavidades dos ascomas em corte transversal. F. Grupo de ascos. G. Detalhe de um asco maduro (direita) e outro imaturo (esquerda). H. Detalhe de um asco maduro. I. Grupo de ascósporos. J. Detalhe de um ascósporo.....	149

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO I. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE FUNGOS CERCOSPORÓIDES COLETADOS NO MUNICÍPIO DE SEROPÉDICA-RJ.....	4
RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
1.1. Classe <i>Dothideomycetes</i>	7
1.2. Família <i>Mycosphaerellaceae</i>	8
1.3. Gênero <i>Cercospora</i>	9
1.4. Gênero <i>Pseudocercospora</i>	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
2.1. Locais de coleta de amostras: Campus UFRRJ e Flona Mário Xavier.....	12
2.2. Coleta e processamento inicial das amostras.....	14
2.3. Caracterização morfológica.....	14
2.4. Análises moleculares.....	15
2.4.1. Cultivo dos isolados e extração de DNA.....	15
2.4.2. PCR.....	15
2.4.3. Sequenciamento.....	16
2.4.4. Análise filogenética.....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
3.1. Análise filogenética geral.....	18
3.2. Taxonomia.....	23
3.2.1. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Cissus verticillata</i> (Vitaceae).....	23
3.2.2. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Psidium</i> sp. (Myrtaceae).....	33
3.2.3. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Erythroxylum pulchrum</i> (Erythroxylaceae).....	43
3.2.4. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> (Fabaceae–Mimosoideae).....	50

3.2.5. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Abelmoschus esculentus</i> (Malvaceae).....	63
3.2.6. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Bixa orellana</i> (Bixaceae).....	71
3.2.7. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Handroanthus impetiginosus</i> (Bignoniaceae).....	78
3.2.8. <i>Pseudocercospora</i> sp. em folhas de <i>Gliricidia sepium</i> (Fabaceae-Faboideae).....	87
4. REFERÊNCIAS	94
CAPÍTULO II. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE ESPÉCIES DE <i>Phyllachora</i> EM MATA ATLÂNTICA	102
RESUMO	103
ABSTRACT	104
1. REVISÃO DE LITERATURA	105
1.1. Classe <i>Sordariomycetes</i>	105
1.2. Ordem <i>Phyllachorales</i>	106
2. MATERIAIS E MÉTODOS	108
2.1. Restinga da Marambaia e Floresta Nacional Mario Xavier.....	109
2.2. Coleta e processamento das amostras.....	111
2.3. Espécimes antigos do Herbário Fitopatológico "Verlande Duarte Silveira" (HFVDS-UFRJ).....	111
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	113
3.1. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Eugenia punicifolia</i> (Myrtaceae).....	113
3.2. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Croton cf. compressus</i> (Euphorbiaceae).....	116
3.3. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Paullinia rubiginosa</i> (Sapindaceae).....	119
3.4. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Eugenia florida</i> (Myrtaceae).....	123
3.5. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Cedrella fissilis</i> (Meliaceae).....	127
3.6. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Machaerium villosum</i> (Fabaceae).....	130
3.7. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Chloris</i> sp. (Poaceae).....	134
3.8. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Poaceae</i> (gênero indefinido).....	138
3.9. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Vernonia</i> sp. (Asteraceae).....	142
3.10. <i>Phyllachora</i> sp. em folhas de <i>Myrtaceae</i> (gênero indefinido).....	146
4. CONCLUSÃO	150
5. REFERÊNCIAS	151

INTRODUÇÃO

O Reino *Fungi* é composto por organismos que figuram entre os mais biodiversos do planeta. As estimativas acerca do total de espécies fúngicas atualmente existentes variam bastante. As mais conservadoras apontam para valores em torno de 2,2 a 3,8 milhões de espécies (HAWKSWORTH & LÜCKING, 2017). Por outro lado, baseando-se em métodos de sequenciamento de alta performance (*High-throughput DNA sequencing*), com o uso de eDNA (*Environmental DNA*), há estimativas que alcançam valores ainda mais expressivos, entre 11,7 e 13,2 milhões de espécies (WU *et. al.*, 2019; PHUKHAMSAKDA *et. al.*, 2022). Independetemente do tipo de estimativa a ser considerado, fato é que o número total de espécies validamente descritas pela ciência até o momento (155.869¹) equivale a uma parcela mínima. Atualmente, de acordo com o site *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024), o Reino *Fungi* é composto por: 12 filos, 61 classes, 274 ordens, 1.086 famílias, 12.778 gêneros e 155.869 espécies. Embora a ciência tenha avançado nos últimos séculos no que diz respeito ao conhecimento da biodiversidade dos fungos, em termos percentuais, poucas espécies foram validamente descritas em face da totalidade existente, ainda que se adote as estimativas mais conservadoras (cerca de 7% validamente descritas, considerando-se um total de 2,2 milhões de espécies existentes na biosfera).

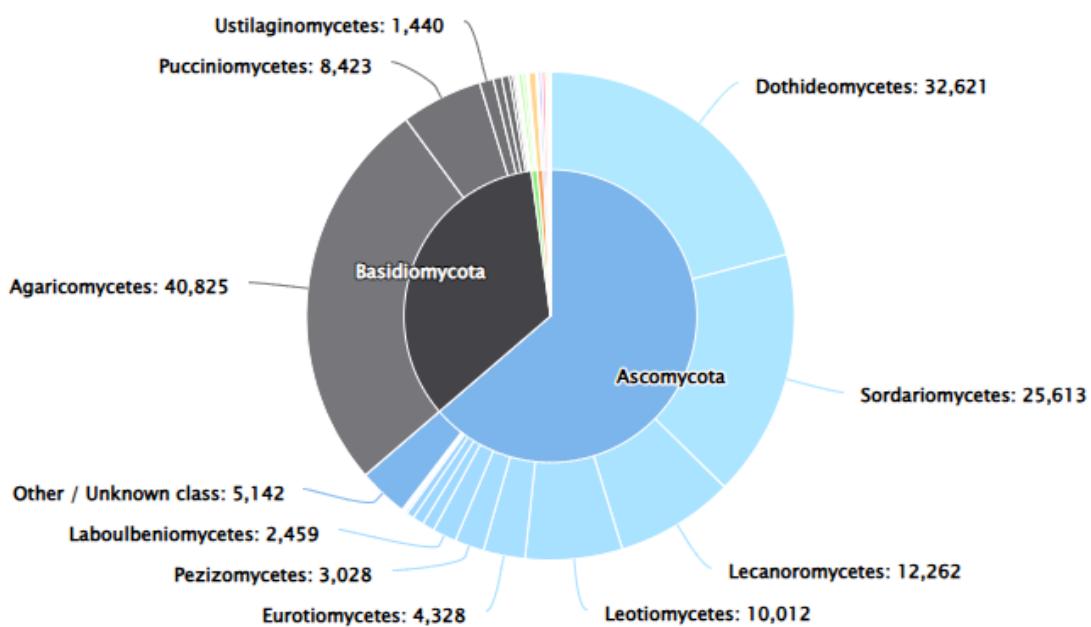


Figura 1. Distribuição de filos e classes dentro do Reino *Fungi*, com o número de espécies descritas em cada classe. Fonte: *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024).

¹ Valores verificados no site *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024); acesso em janeiro de 2025.

Os diferentes modos de vida apresentados pelos fungos, como o parasitismo, o mutualismo e o hábito saprofítico, representam funções essenciais para a manutenção dos ecossistemas, especialmente no que se refere à ciclagem de nutrientes nos solos, ao controle populacional de espécies parasitadas, e à interdependência observada em relações simbióticas com diversos outros tipos de organismos (MUELLER *et. al.*, 2004)². Além disso, os fungos impactam diariamente, de forma positiva, nas atividades humanas, a exemplo da utilização de leveduras na indústria de alimentos (produção de álcool, bebidas, pães, etc., mediante o processo de fermentação); produção de trufas e cogumelos comestíveis; síntese de antibióticos, a exemplo da penicilina; controle biológico de insetos, nematóides, e ervas daninhas, na agricultura; utilização de micorrizas em programas de reflorestamento e silvicultura. Por outro lado, os fungos também influenciam de forma negativa no cotidiano do ser humano, por exemplo: causando doenças em plantas cultivadas em sistemas agrícolas e florestal; produzindo micotoxinas em alimentos (e.g., aflatoxinas e fumonisinas), que são substâncias carcinogênicas; ou causando outras efermidades no ser humano e em animais, a exemplo das micoses e de algumas doenças respiratórias (ALEXOPOULOS *et. al.*, 1996)³.

De todas as espécies fúngicas validamente descritas (155.869), mais de 20.000 são comprovadamente fitopatogênicas (WANG *et. al.*, 2023). Quando se trata de doenças de plantas, os fungos são os patógenos mais importantes, pois causam a maioria das efermidades vegetais (OLIVER, 2024), havendo autores que estimem entre 70 e 80% das fitomoléstias sendo causadas por fungos. Tendo em vista o vasto número estimado de espécies ocorrendo na biosfera (2,2 a 13,2 milhões), fica claro que há muito trabalho a ser feito para o conhecimento desta micodiversidade. Neste sentido, o bioma Mata Atlântica é ideal para a realização deste tipo de estudo, por apresentar posição de destaque no que se biodiversidade do planeta. Ainda que o desmatamento tenha aumentado nas últimas décadas, o conjunto de fisionomias que formam este bioma permitiu uma grande diversificação ambiental, gerando condições adequadas para a evolução de um complexo biológico altamente rico (CAMPANILI & SCHAFFER, 2010). Conforme será descrito nas seções que tratam da metodologia, o presente trabalho foi realizado em áreas remanescentes de Mata Atlântica, ou em áreas próximas, todas no estado do Rio de Janeiro.

Do ponto de vista fitossanitário, é fundamental o conhecimento detalhado de aspectos ecológicos, morfológicos, fisiológicos, bioquímicos e genéticos, acerca dos fungos, visando potenciais aplicações na agricultura. Muitos fitopatógenos de importância agrícola pertencem ao mesmo grupo de fungos estudados em ecossistemas naturais. Assim, estes estudos podem trazer informações de interesse para o manejo de doenças. Além disso, os fungos estudados também podem apresentar-se como potenciais agentes de controle biológico de plantas daninhas.

Outro ponto importante é o papel essencial dos fungos para a manutenção dos ecossistemas naturais. Neste sentido, torna-se desejável a descrição de novos táxons, bem como estudos sobre a distribuição e a abundância destes organismos. Estas informações podem ser utilizadas como bons indicadores de alterações ecológicas naturais ou causadas pela ação antrópica (aquecimento global; poluição do ar, da água e do solo; fragmentação das florestas; etc.). Isto se explica já que estas mudanças implicam na alteração da distribuição e abundância

² p. 1.

³ p. 3-22.

de várias espécies de fungos em várias regiões do mundo. Por esta razão, tais estudos podem ser aplicados em programas de monitoramento ambiental (MUELLER *et. al.*, 2004)⁴.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização de fungos fitopatogênicos encontrados em áreas remanescentes de Mata Atlântica e em locais próximos. Neste sentido, o **Capítulo 1** corresponde ao trabalho de caracterização morfológica e molecular de fungos cercosporóides (família *Mycosphaerellaceae*; classe *Dothideomycetes*; filo *Ascomycota*), encontrados no *campus* da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e na Floresta Nacional Mário Xavier, ambos localizados em Seropédica-RJ. O **Capítulo 2**, por sua vez, trata da caracterização morfológica de espécies de *Phyllachora* (família *Phyllachoraceae*, classe *Sordariomycetes*; filo *Ascomycota*), coletadas em várias áreas de Mata Atlântica.

⁴ Página 2.

CAPÍTULO I

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE FUNGOS
CERCOSPORÓIDES COLETADOS NO MUNICÍPIO DE SEROPÉDICA -
RJ**

RESUMO

SOUZA, Hemylson Porto. **Caracterização morfológica e molecular de fungos cercosporóides coletados no município de Seropédica-RJ.** 2025. 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, 2025.

Fungos do grupo dos cercosporóides são amplamente distribuídos em diferentes biomas do planeta, sendo geralmente associados a manchas foliares em uma grande diversidade de hospedeiros. Compreende, dentre outros, os gêneros *Cercospora* Fresen. ex Fuckel e *Pseudocercospora* Speg. Atualmente, este grupo de fungos é classificado na família *Mycosphaerellaceae* Lindau, classe *Dothideomycetes* O.E. Erikss. & Winka, filo *Ascomycota*. A família *Mycosphaerellaceae* possui membros com diferentes hábitos, desde fungos parasitas, endofíticos, epífitos e fungícolas. Algumas das fitomoléstias mais relevantes são causadas por espécies desta família: Sigatoka Amarela, por exemplo, causada por *Pseudocercospora musae* (Zimm.) Deighton; e a Sigatoka Negra, causada por *P. fijiensis* (M. Morelet) Deighton. O presente trabalho teve como objetivo a caracterização morfológica e molecular (regiões ITS, LSU e *actA*) de oito isolados de fungos cercosporóides, associados a diferentes hospedeiros vegetais, coletados em Seropédica-RJ. Amostras de folhas sintomáticas foram levadas para o Laboratório de Micologia/DEnF/ICBS/UFRRJ. Com o auxílio de um micrótomo, foram efetuados cortes transversais dos tecidos foliares para posterior análise em microscopia óptica, onde dados morfométricos das estruturas fúngicas foram obtidos. Os fungos foram isolados e cultivados em BDA, obtendo-se biomassa para extração de DNA. Posteriormente, realizou-se a amplificação (mediante PCR) das regiões ITS, LSU e *actA*, e sequenciamento dos *amplicons* gerados. As sequências obtidas foram comparadas a outras registradas no *Genbank/NCBI*, e, a partir desse ponto, foram gerados cladogramas no programa IQ-TREE v. 2.1.3, pelo método da Máxima verossimilhança (*Maximum-likelihood* - ML). Após a realização das análises morfológica e de filogenia molecular, sete isolados foram identificados como *Pseudocercospora* Speg. (cinco espécies possivelmente novas); e um isolado foi identificado como *Nothopassalora* U. Braun, C. Nakash., Videira & Crous (provável espécie nova).

Palavras-chave: *Pseudocercospora*; *Cercospora*; fungos neotropicais; fungos cercosporoides.

ABSTRACT

SOUZA, Hemylson Porto. **Morphological and molecular characterization of cercosporoid fungi collected in the municipality of Seropédica-RJ.** 2025. Dissertation (MSc in Phytosanitary and Applied Biotechnology). Institute of Biological Sciences and Health. Department of Entomology and Plant Pathology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2025.

Fungi from the cercosporoid group are widely distributed in different biomes on the planet, being generally associated with leaf spots in a wide range of hosts. It comprises, among others, the genera *Cercospora* Fresen. ex Fuckel and *Pseudocercospora* Speg. Currently, this group of fungi is classified in the *Mycosphaerellaceae* Lindau family, *Dothideomycetes* O.E. Erikss. & Winka, phylum *Ascomycota*. The *Mycosphaerellaceae* family has members with different habits, from parasitic, endophytic, epiphytic and mycoparasitic fungi. Some of the most relevant plant diseases are caused by species in this family: Yellow Sigatoka, for example, caused by *Pseudocercospora musae* (Zimm.) Deighton; and Black Sigatoka, caused by *P. fijiensis* (M. Morelet) Deighton. The present work aimed to characterize the morphological and molecular (ITS, LSU and *actA* regions) of eight isolates of cercosporoid fungi, associated with different plant hosts, collected in Seropédica-RJ. Samples of symptomatic leaves were taken to the Mycology Laboratory/DEnF/ICBS/UFRRJ. With the aid of a microtome, cross-sections of the leaf tissues were made for subsequent analysis using optical microscopy, where morphometric data of the fungal structures were obtained. The fungi were isolated and cultivated in PDA, obtaining biomass for DNA extraction. Subsequently, amplification (through PCR) of the ITS, LSU and *actA* regions was carried out, and sequencing of the amplicons generated. The sequences obtained were compared to others registered in Genbank/NCBI, and, from that point on, cladograms were generated in the IQ-TREE v. program. 2.1.3, using the Maximum-likelihood (ML) method. After carrying out morphological and molecular phylogeny analyses, seven isolates were identified as *Pseudocercospora* Speg. (five possibly new species); and one isolate was identified as *Nothopassalora* U. Braun, C. Nakash., Videira & Crous (probable new species).

Keywords: *Pseudocercospora*; *Cercospora*; neotropical fungi; cercosporoid fungi.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Classe *Dothideomycetes*

Atualmente o filo *Ascomycota* é dividido em três subfilos (ou subdivisões): *Taphrinomycotina* (antigos “*Archiasmomycetes*”); *Saccharomycotina* (antigos “*Hemiascomycetes*”); e *Pezizomycotina* (antigos “*Euascomycetes*”) (MOORE *et. al.*, 2011). A classe *Dothideomycetes*, a qual pertence os fungos tratados neste capítulo, é enquadrada dentro do subfilo *Pezizomycotina*⁵, que é caracterizado por fungos que formam ascos dentro de ascocarpos (peritécio, ascostroma, pseudotécio, apotécio, cleistotécio). Tradicionalmente, os ascomicetos que produzem ascostroma ou pseudotécio (e ascos bitunicados) eram tratados como a antiga classe “*Loculoascomycetes*”. Atualmente, porém, este grupo corresponde à classe *Dothideomycetes*, sendo o nome “*loculoascomycetes*” tratado apenas de modo informal (MOORE *et. al.*, 2011).

Fungos da classe *Dothideomycetes* são globalmente distribuídos, tanto no ambiente marinho quanto terrestre. Atualmente, estão incluídas nesta classe: 46 ordens, 231 famílias, 2.346 gêneros e 32.621 espécies (Catalogue of Life - BÁNKI *et. al.*, 2024). As ordens com maior número de espécies são: *Pleosporales*, com 11.263 espécies; *Mycosphaerellales*, com 6.798 espécies; e *Botryosphaeriales*, com 4.162 espécies (Figura 2).

Na ordem *Mycosphaerellales*, está incluída a família *Mycosphaerellaceae* (6.531 espécies), família dos fungos cercosporóides. Morfologicamente, os *Dothideomycetes* possuem as seguintes características: ascoma do tipo ascostroma ou pseudotécio, formando lóculos lisígenos em estroma pré-formado; himênio às vezes gelatinoso, não sendo corado em azul com o uso de iodo; tecido interascal geralmente presente, sendo composto por pseudoparáfises e parafisóides, principalmente; ascos clavados ou cilíndricos, com paredes espessas, geralmente fissitunicados, raramente contendo estruturas apicais; ascósporos quase sempre septados, longitudinalmente assimétrico, às vezes muriformes, hialinos ou marrons, às vezes ornamentados; podem ser saprófitas, parasitas ou, raramente, liquenícolas (MOORE *et. al.*, 2011; INDEX FUNGORUM PARTNERSHIP, 2008).

⁵ O subfilo *Pezizomycotina* contém cerca de 90% dos ascomycetos (MOORE *et. al.*, 2011; p. 59).

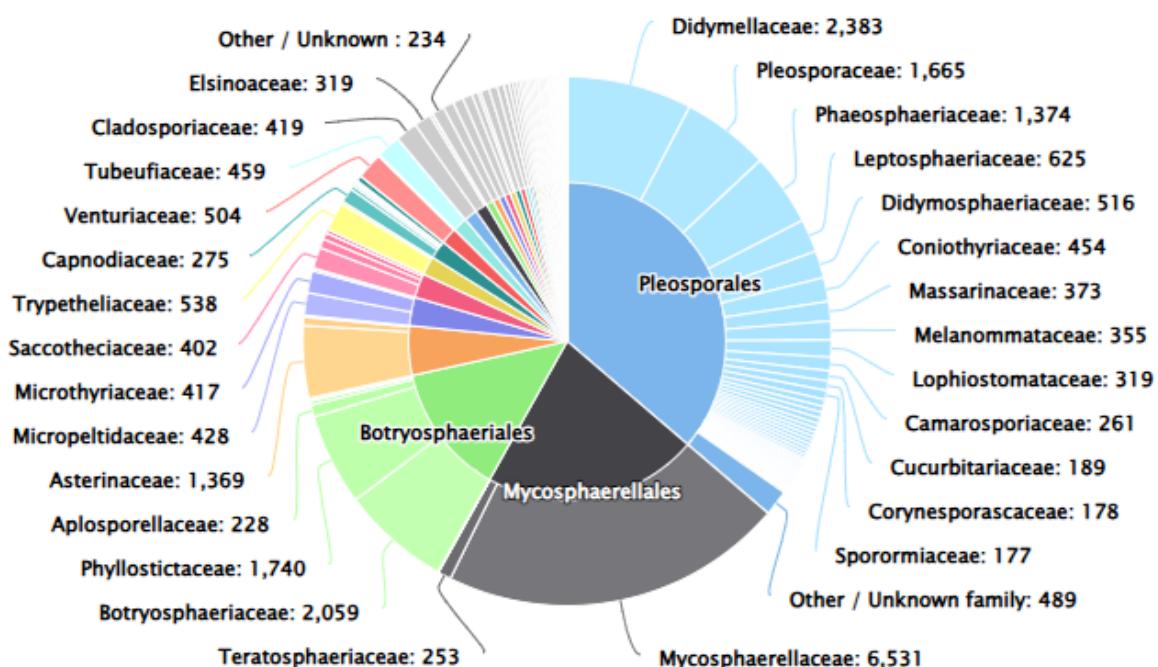


Figura 2. Distribuição de ordens e famílias dentro da classe *Dothideomycetes*, com o número de espécies em cada família. Fonte: *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024).

1.2. Família *Mycosphaerellaceae*

A família *Mycosphaerellaceae* Lindau possui membros com diferentes hábitos, desde fungos parasitas, endofíticos, epífitos e fungícolas. Algumas das fitomoléstias mais importantes são causadas por patógenos desta família: Sigatoka Amarela⁶, causada por *Pseudocercospora musae* (Zimm.) Deighton; Sigatoka negra⁷, causada por *P. fijiensis* (M. Morelet) Deighton; mancha foliar em beterraba⁸, *Cercospora beticola* Sacc.; mancha foliar do morangueiro⁹, causada por *Ramularia grevilleana* (Tul. & C. Tul. ex Oudem.) Jørst. Inclusive, *P. fijiensis* é definida pela legislação brasileira como praga¹⁰ quarentenária presente (BRASIL, 2018).

Atualmente, a família pertence à ordem *Mycosphaerellales* (CHEN *et. al.*, 2022), mas já foi considerada como sendo da ordem *Capnodiales* (VIDEIRA *et. al.*, 2017), tendo sido também agrupada em *Dothideales*¹¹ (ALEXOPOULOS *et. al.*, 1996). A fase teleomórfica tem as seguintes características marcantes: ascosas pseudoteciais pequenos, imersos no tecido vegetal (geralmente folhas e ramos secos); *centrum* tipo *dothidea*, sem tecidos interascais; ascósporos hialinos ou levemente pigmentados, geralmente dictiospóricos (ALEXOPOULOS

⁶ KIMATI *et. al.*, 1997; p. 121.

⁷ *Ibidem*, p. 125.

⁸ OLIVER, 2024; p. 371.

⁹ AMORIM *et. al.*, 2018; p. 126.

¹⁰ A legislação brasileira usa o termo “praga” em sentido amplo, incluindo tanto pragas *stricto sensu* quanto patógenos.

¹¹ Neste caso, a família era *Dothideaceae*.

et. al., 1996; VIDEIRA *et. al.*, 2017). As espécies da família *Mycosphaerellaceae*, em grande parte dos casos, assumem características de cercosporóides na fase anamórfica: hifomicetos dematiáceos com conidióforos formados isoladamente, ou fasciculados, organizados em sinêmios ou esporodóquios; conidiogênese holoblástica; conídios multisepados, cilíndricos a escolecospóricos, hialinos ou pigmentados (ALEXOPOULOS *et. al.*, 1996; VIDEIRA *et. al.*, 2017).

1.3. Gênero *Cercospora*

O gênero *Cercospora* Fresenius ex Fuckel foi descrito em *Apium graveolens* L. (salsão), no ano de 1863¹² (espécie-tipo: *Cercospora apii* Fresen.). Não obstante, durante muito tempo as descrições realizadas por Chupp (1954) foram consideradas como uma das principais referências para os estudiosos dos fungos cercosporóides. Neste sentido o autor considerava as seguintes características: ocorrência ou não de *manchas foliares*; ocorrência de *frutificações* principalmente na face inferior da folha, podendo também ocorrer em ramos jovens, frutos e em pecíolos; *estromas* podem ou não ocorrer, variando em tamanho, e com coloração de hialino a marrom ou negra; *conidióforos* 5–1000 × 1,5–10 µm oliváceos a marrons, unicelulares ou septados, isolados ou fasciculados, apresentando alta variação no comprimento e baixa na largura. O autor considerava os conídios como principal estrutura a ser considerada para separar *Cercospora* de outros gêneros, e, também, para separar espécies dentro do gênero. Dessa forma, sobre os conídios o autor fez as seguintes considerações: dimensões 30–600 × 1–10 µm; geralmente com mais de 3 septos transversais; hialinos ou pálido, podendo, em alguns casos, apresentar pigmentação escura, oliváceo ou marrom; aciculares, cilíndricos ou obclavados (CHUPP, 1954).

Videira *et. al* (2017)¹³ traz uma descrição mais recente sobre o gênero *Cercospora*. Para evitar repetição excessiva, serão destacados alguns pontos. Neste sentido, esta descrição: cita a possibilidade, ainda que rara, da ocorrência de *micélio externo*; há também menção a características dos *estromas*, podendo ser substomáticos, intra-epidérmicos, ou imersos; *conidióforos* podendo ser mono e macronemáticos; *células conidiogênicas* integradas, terminais ou intercalares, geralmente poliblásticas, mas às vezes monoblásticas, com proliferação simpodial (raramente percorrente); cicatrizes conspícuas, com espessamento e escurecimento; *conídios* na maioria das vezes escolecospóricos, também podendo ser obclavados, cilíndricos, aciculares, filiformes; multisepados, raramente amerospóricos, com espessamento e escurecimento do hilo; secessão esquizolítica. Este trabalho também mostra que o gênero *Cercospora* forma um grupo monofilético dentro da família *Mycosphaerellaceae*, com base em estudos de filogenia molecular, considerando-se três genes diferentes: subunidade maior do RNA ribossomal 28S nrRNA (LSU); *internal transcribed spacer* 5.8S nrRNA (ITS); e *RNA polimerase II second largest subunit* (*rpb2*).

¹² FUCKEL, 1863.

¹³ Adaptada a partir da descrição de Braun *et. al.* (2013).

1.4. Gênero *Pseudocercospora*

Pseudocercospora Speg. gênero foi descrito por Spegazzini em 1910¹⁴, tendo sido epítificado por Clements & Shear (1931), que designaram a espécie *Pseudocercospora vitis* (Lév.) Speg. como epítipo. Não obstante, por muito tempo a obra de Deighton (1976) foi muito bem aceita pelos estudiosos do gênero. Por ser considerado como pertencente ao grupo dos cercosporóides, *Pseudocercospora* apresenta muitas similaridades com o gênero *Cercospora*. Segundo Deighton, a principal diferença está nas células conidiogênicas: os *loci* conidiogênicos em *Cercospora* apresentam espessamento e escurecimento, ao passo que em *Pseudocercospora* isto não ocorre. Esta diferença também acontece com os conídios de ambos, em relação ao hilo. Neste mesmo trabalho, o autor estabeleceu 171 combinações novas, transferindo várias espécies de diferentes gêneros próximos, sobretudo *Cercospora*, para o gênero *Pseudocercospora*, baseando no espessamento ou não dos *loci* conidiogênicos.

O trabalho de Videira *et. al.* (2017)¹⁵ trouxe uma descrição mais atual sobre o gênero, além de reforçar o caráter monofilético do grupo, baseando-se em filogenia molecular sobre três genes (LSU, ITS e *rpb2*). Mais recentemente, Groenewald *et. al.* (2024)¹⁶ revisaram amplamente o gênero, trazendo descrições morfológicas de várias espécies, além de analisar filogeneticamente os fungos com base em quatro genes diferentes (ITS, *actA*, *tef1* e *rpb2*). Segundo os autores, a alta especificidade de espécies de *Pseudocercospora* em relação aos hospedeiros parece ser a hipótese mais provável. Entretanto, eles alertam para a falta de trabalhos testando a patogenicidade para diferentes hospedeiros (experimentos de patogenicidade cruzada), o que impede a confirmação da hipótese.

¹⁴ SPEGAZZINI, 1910; p. 437.

¹⁵ VIDEIRA *et. al.*, 2017; p. 87.

¹⁶ Página 87.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em duas etapas: (1) caracterização morfológica de fungos cercosporóides associados a 8 diferentes hospedeiros vegetais; e (2) análise filogenética molecular destes fungos.

Todos os espécimes encontram-se depositados no Herbário Fitopatológico "Verlande Duarte Silveira" (HFVDS-UFRJ), situado no *campus* da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em Seropédica-RJ. As culturas isoladas a partir destas amostras estão preservadas no Laboratório de Micologia/Departamento de Entomologia e Fitopatologia, no mesmo local (UFRRJ, *Campus* Seropédica). Apenas uma amostra foi coletada na Floresta Nacional Mário Xavier (Seropédica, RJ). Todas as outras foram coletadas no *Campus* da UFRRJ.

A Tabela 1 contém os dados referentes aos espécimes e às culturas utilizados neste trabalho. Mais detalhes acerca das amostras serão tratados nas seções a seguir.

Tabela 1. Listas dos fungos cercosporóides associados a diferentes hospedeiros, cujos espécimes e isolados foram catalogados no HFVDS-UFRJ e no Laboratório de Micologia/DEnF/ICBS/UFRRJ.

Fungo/Gênero	Hospedeiro/Família	Número de registro	Local de coleta	Código da cultura
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (<i>Vitaceae</i>)	UFRJ 1144 UFRJ 1157 UFRJ 1160 UFRJ 1180 UFRJ 1386	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	DENFC296
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Psidium</i> L. sp. (<i>Myrtaceae</i>)	UFRJ 1208 UFRJ 1212 UFRJ 1220 UFRJ 1249	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	DENFC333
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Erythroxylum pulchrum</i> A.St.-Hil. (<i>Erythroxylaceae</i>)	UFRJ 1237 UFRJ 1268	FLONA Mario Xavier, Seropédica	DENFC314
Possível <i>Nothopassalora</i> sp.	<i>Mimosa caesalpiniifolia</i> Benth. (<i>Fabaceae</i>)	UFRJ 1284 UFRJ 1308 UFRJ 1357 UFRJ 1441	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	DENFC331
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench (<i>Malvaceae</i>)	UFRJ 1061 UFRJ 1345	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	DENFC316
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Bixa orellana</i> L. (<i>Bixaceae</i>)	UFRJ 1027 UFRJ 1383	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	DENFC334

Tabela 1. Continuação.

Fungo/Gênero	Hospedeiro/Família	Número de registro	Local de coleta	Código da cultura
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex A.DC.) Mattos (<i>Bignoniaceae</i>)	UFRJ 1402	UFRRJ, Campus Seropédica	DENFC335
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Gliricidia sepium</i> (Jacq) Kunth ex Walp (<i>Fabaceae</i>)	UFRJ 1309 UFRJ 1361 UFRJ 1452	UFRRJ, Campus Seropédica	DENFC298

2.1. Locais de coleta de amostras: *Campus UFRRJ* e *Flona Mário Xavier*

Quase todas as amostras foram coletadas no campus da UFRRJ, em Seropédica–RJ (latitude 22°45'50.4"S e longitude 43°41'18.6"W), cuja extensão territorial atinge cerca de 3.024 hectares (UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, 2023). Apenas as amostras de *Erythroxylum pulchrum* foram coletadas na Floresta Nacional Mário Xavier, que fica localizada no mesmo município (coordenadas da flona: latitude 22° 42' a 22° 45' S e longitude 43° 41' a 43° 44' W). Conforme se observa na Figura 14, os locais de coleta não são distantes (cerca de 5 km).

O paisagismo do *campus* universitário é composto principalmente por espécies nativas, embora também ocorram espécies exóticas. Já a Flona Mário Xavier é constituída por vegetação de mata atlântica (ecossistema: floresta ombrófila densa das terras baixas) mas, incluindo, dentre outras, espécies exóticas como eucalipto (*Eucalyptus* spp., *Myrtaceae*) e jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam., *Moraceae*), sendo administrada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). A flona possui uma área de 493,68 hectares (ICMBio, 2022).

O município de Seropédica fica localizado em uma região situada entre importantes formações vegetais de mata atlântica do estado do Rio de Janeiro, como a Serra das Araras e a Reserva Biológica de Tinguá. O clima nos locais de coleta é tropical, quente e super úmido (IBGE, 2002).



Figura 3. Localização do *campus* da UFRRJ (abaixo) e da Flona Mário Xavier (acima). FONTE: GOOGLE EARTH, 2024.



Figura 4. Mapa do clima do estado do Rio de Janeiro. FONTE: IBGE, 2002.

2.2. Coleta e processamento inicial das amostras

As coletas foram realizadas de modo aleatório nos locais já descritos, sempre que constatados sintomas foliares característicos de fungos cercosporóides (manchas necróticas/cloróticas). As amostras foram levadas para o Laboratório de Micologia (DEnF/ICBS/UFRRJ), onde foram submetidas a análises iniciais com auxílio de um microscópio estereoscópico. Nesta etapa, foram observados esporodóquios típicos de fungos cercosporóides em folhas de diferentes espécies vegetais (Tabela 1). Em seguida, os fungos foram isolados em meio Batata-dextrose-ágar (BDA), mediante a transferência de conídios ao meio, utilizando-se, para isso, a ponta de agulha previamente esterilizada em chama de lamparina.

As amostras foram herborizadas mediante prensagem e desidratação em estufa a $\pm 60^{\circ}\text{C}$, por 48-72h. Logo após, foram depositadas no Herbário Fitopatológico "Verlande Duarte Silveira" (HFVDS-UFRJ), registradas e catalogadas em banco de dados.

2.3. Caracterização morfológica

Em amostras frescas e/ou herborizadas, foram realizados cortes histológicos transversais à mão-livre utilizando-se de lâmina de barbear ou em micrótomo criostático (Leica CM1950), no setor de Fisiologia Animal do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCFis), localizado no Pavilhão de Química (PQ-IQ), com o objetivo de analisar a relação patógeno-hospedeiro no tecido foliar. Em seguida, foram preparadas lâminas utilizando-se os corantes floxina B e azul de algodão, para observação e fotodocumentação em microscópio óptico. As lâminas foram observadas em microscópio óptico Biofocus - Blue 1000 e as estruturas fúngicas foram morfometricamente analisadas com régua micrométrica presente na lente ocular do microscópio, com 50 repetições no aumento de 40-100 \times . As medidas foram comparadas com descrições de espécies já estabelecidas na literatura. Toda fotodocumentação foi realizada com câmera Cannon - Power Shot Elph 100 HS.

Os fungos foram identificados mediante a utilização de chaves especializadas e informações da literatura referente à ordem *Mycosphaerellales* tais como: Chupp (1954); Deighton (1976); Hsieh & Goh (1990); Guo & Hsieh (1995); Crous & Braun (2003); Braun (2002); Crous *et. al.* (2013); Silva *et. al.* (2016); Videira *et. al.* (2017); Groenewald *et. al.* (2024). A verificação de nomes científicos, nomes de autores, validade e sinônimas foram feitas em portais online como: o Index Fungorum (www.indexfungorum.org) do CABI Bioscience Database, administrado 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.arsgrin.gov/fungaldatabases/fungushost/fungushost.cfm>) sob a responsabilidade de David Farr e Ammy Rossman, e o banco de dados da coleção micológica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (<http://pragawall.cernagen.embrapa.br/aiqweb/michhtml/fgbanco01.asp>).

2.4. Análises moleculares¹⁷

2.4.1. Cultivo dos isolados e extração de DNA

Os fungos foram cultivados em meio batata ágar dextrose (BDA), em placas de petri, e incubados em BOD, a 25°C, durante 7 dias, para extração de DNA. As colônias foram retiradas das placas e a extração de DNA total foi realizada mediante o método comercial EXTRACTA® 16 (Loccus). Os resultados de cada extração foram verificados mediante a utilização da técnica de eletroforese em gel de agarose 1%, em 100 mL de tampão TAE 1x (Tris-Aacetato EDTA); e corante brometo de etídio. Condições de corrida: 90 V, durante 70 minutos. Em seguida, descoloração do gel em água destilada, durante 30 minutos, e visualização em transluminador de luz UV.

2.4.2. PCR

Foram utilizados 3 pares de oligonucleotídeos para amplificação de 3 regiões distintas do DNA genômico: actina A (*actA*), *Internal Transcribed Spacer* (ITS1-5.8-ITS2), *Large Subunit 28S nrDNA* (LSU) (Tabela 2).

Tabela 2. Lista de *primers* utilizados para a análise filogenética das regiões *actA*, ITS e LSU.

Primer	Sequência (5'-3')	Orientação	T _{anél} (°C)	Comprimento do amplicon (bp)	Referência
ACT-512F	ATG TGC AAG GCC GGT TTC GC	Forward	55		Carbone & Kohn (1999)
ACT-783R	TAC GAG TCC TTC TGG CCC AT	Reverse	55	220-230 (<i>actA</i>)	Carbone & Kohn (1999)
ITS1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	Forward	52		White et al. (1989)
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	Reverse	52	460-560 (ITS1/4)	White et al. (1989)
LROR	GTA CCC GCT GAA CTT AAG C	Forward	52		Rehner & Samuels (1994)
LR5	TCC TGA GGG AAA CTT CG	Reverse	52	890-920 (LSU)	Vilgalys & Hester (1990)

O mix de PCR consistiu em 1 µL de DNA genômico, 16,95 µL de H₂O purificada, 5 µL de tampão de reação (10x), 0,88 µL de MgCl₂ (25 mM), 0,63 µL dNTP (10 mM), 0,2 µL de cada primer (10 µM) e 0,15 µL de Taq DNA polimerase (5U/µL) a um volume total de reação de 25 µL. As condições gerais da PCR foram: desnaturação inicial (95 °C, 7 min); 35 ciclos de

¹⁷ As etapas de extração de DNA, eletroforese, PCR, quantificação de DNA e sequenciamento, foram realizadas na **Embrapa Agrobiologia**, em Seropédica-RJ.

amplificação [desnaturação 94°C, 1min; temperatura de anelamento de acordo com o par de primer específico (Tabela 2), 1 min; extensão 72 °C, 1min] e extensão final (72 °C, 10 min). Os resultados de cada PCR foram verificados mediante a utilização da técnica de eletroforese em gel de agarose 2%, em 100 mL de tampão TAE 1x (Tris-Aacetato EDTA); e corante brometo de etídio. Condições de corrida: 90 V, durante 70 minutos. Em seguida, descoloração do gel em água destilada, durante 30 minutos, e visualização em transluminador de luz UV. Após avaliação da eletroforese, os produtos de PCR foram quantificados mediante o uso do equipamento *Qubit™ 4 Fluorometer*, da Invitrogen™.

2.4.3. Sequenciamento

Inicialmente, as amostras foram submetidas ao tratamento enzimático para purificação dos produtos de PCR (enzimas EXO I/FAST AP). A reação de sequenciamento dos fragmentos amplificados foi realizada a partir de 10 µL de DNA, pelo método de Sanger (SANGER & COULSON, 1975) no equipamento ABI3500, da Applied Biosystems®.

2.4.4. Análise filogenética

As sequências obtidas para cada uma das três regiões do DNA (ITS, *actA* e LSU), relativas a cada fungo estudado neste trabalho, foram comparadas com sequências disponíveis no banco de dados *GenBank* do NCBI (ZHANG *et. al.*, 2000). Para isso, utilizou-se o recurso *Basic Local Alignment Search Tool (Blast)*¹⁸, disponível no mesmo site¹⁹. Para a construção das árvores filogenéticas, foram utilizadas as sequências mais próximas, obtidas mediante o *Blast*, além de sequências mais distantes, verificadas em revisões recentes sobre a família *Mycosphaerellaceae* (por exemplo: GROENEWALD *et. al.*, 2024) e obtidas no *GenBank* do NCBI. Estas sequências foram adicionadas para melhor elucidação do posicionamento filogenético dos fungos deste estudo dentro da família *Mycosphaerellaceae*.

Os alinhamentos foram gerados por *locus* usando a versão online do *MAFFT* v. 7 (KATOH *et al.* 2019)²⁰ com configurações padrão. Em seguida, foi realizado o alinhamento manual com o uso do software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA 11)²¹, removendo-se *gaps* e ajustando-se o tamanho das sequências. Feito isso, os arquivos referentes aos alinhamentos foram convertidos, do tipo Fasta (extensão.fas) para tipo PHY (extensão phy) ou Nexus, e concatenados usando o programa *SequenceMatrix* v. 1.9 (VAIDYA *et al.*, 2011). As árvores filogenéticas foram construídas usando o software *IQ-TREE* v. 2.1.3 (NGUYEN *et al.*, 2015), pelo método da Máxima verossimilhança (*Maximum-likelihood* - ML). Os valores de suporte dos ramos foram calculados com 1000 replicações de *bootstrap* não paramétricas, e

¹⁸ (ZHANG, 2000).

¹⁹Disponível em

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome.

²⁰ <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/index.html>.

²¹ (TAMURA *et. al.*, 2021).

para a localização de modelo ideal, utilizou-se a opção TESTNEW do *ModelFinder* (KALYAANAMOORTHY *et al.*, 2017) conforme implementado no IQ-TREE RAxML (STAMATAKIS, 2014). As árvores foram editadas no programa *FIGTREE* 1.4.4 (*default version*) BioWeb e no site *Interactive Tree of Life - iTol* (LETUNIC & BORK, 2024).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise filogenética geral

Antes de analisar especificamente cada um dos fungos abordados no presente trabalho, buscou-se inicialmente verificar o posicionamento de todos os isolados em uma árvore filogenética mais ampla, contendo diferentes grupos dentro da família *Mycosphaerellaceae*. Dessa forma, além de apontar o provável gênero de cada fungo, este método permite ter uma ideia a respeito das distâncias evolutivas entre os isolados. Sendo assim, a Figura 5 ilustra uma árvore filogenética concatenada, com base nas regiões *actA*, *ITS* e *LSU*. Como grupo externo à classe *Dothideomycetes*, foram utilizados *Colletotrichum theobromicola* Delacr. (CBS124945) e *Cylindromonium aloxyli* Crous (CPC38159), ambos da classe *Sordariomycetes*. Como grupo externo à ordem *Mycosphaerellales*, optou-se por utilizar espécies de *Cladosporium* Link (ordem *Cladosporiales*)

Sendo assim, nota-se no filograma que sete isolados deste trabalho foram agrupados no clado monofilético composto pelo gênero *Pseudocercospora* (99,7% de suporte; destaque em vermelho na figura). Apenas um isolado foi enquadrado fora deste gênero, sendo agrupado junto com a espécie *Nothopassalora personata* (Berk. & M.A. Curtis) U. Braun, C. Nakash., Videira & Crous - IRAN3479C (clado destacado em azul, com 94,9 % de suporte; próximo ao clado de *Ramularia* Unger. Na Tabela 3, estão apresentados estes resultados.

Tabela 3. Identificação dos isolados a nível de gênero, com base na filogenia concatenada (regiões *actA*, *ITS* e *LSU*).

Código da cultura	Hospedeiro/Família	Local de coleta	Gênero com base na filogenia
DENFC296	<i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (<i>Vitaceae</i>)	UFRRJ, Campus Seropédica	<i>Pseudocercospora</i>
DENFC333	<i>Psidium</i> sp. L. (<i>Myrtaceae</i>)	UFRRJ, Campus Seropédica	<i>Pseudocercospora</i>
DENFC314	<i>Erythroxylum pulchrum</i> A.St.-Hil. (<i>Erythroxylaceae</i>)	FLONA Mario Xavier, Seropédica	<i>Pseudocercospora</i>
DENFC331	<i>Mimosa caesalpiniæfolia</i> Benth. (<i>Fabaceae</i>)	UFRRJ, Campus Seropédica	Possível <i>Nothopassalora</i> sp. ²²
DENFC316	<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench (<i>Malvaceae</i>)	UFRRJ, Campus Seropédica	<i>Pseudocercospora</i>

²² Ver seção que trata especificamente deste isolado (Seção 3.2.4 deste capítulo; p. 49)

Tabela 3. Continuação.

DENFC334	<i>Bixa orellana</i> L. (<i>Bixaceae</i>)	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	<i>Pseudocercospora</i>
DENFC335	<i>Handroanthus</i> <i>impetiginosus</i> (Mart. ex A.DC.) Mattos (<i>Bignoniaceae</i>)	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	<i>Pseudocercospora</i>
DENFC298	<i>Gliricidia sepium</i> (Jacq) Kunth ex Walp (<i>Fabaceae</i>)	UFRRJ, <i>Campus</i> Seropédica	<i>Pseudocercospora</i>

Com o intuito de melhorar a visualização dos clados dentro do gênero *Pseudocercospora*, optou-se por construir uma árvore adicional focada apenas no grupo monofilético correspondente a este gênero, com base nas mesmas regiões do DNA (*actA*, *ITS* e *LSU*). Neste segundo filograma (Figura 6), utilizou-se espécies do gênero *Pallidocercospora* Crous como grupo externo.

Importante destacar que cada um dos isolados deste trabalho será tratado separadamente, nas seções a seguir. Neste momento, porém, é preciso pontuar que alguns fungos identificados como *Pseudocercospora* foram posicionados em clados próximos. Neste sentido, observa-se na Figura 6 que os isolados DENFC298, DENFC335 e DENFC334, foram agrupados em um clado com 99,9% de suporte (destaque em azul; fig. 6). Conforme se observa na tabela acima, cada um destes isolados foram coletados em hospedeiros de diferentes famílias botânicas.

Já os isolados DENFC314, DENFC296 e DENFC316, foram agrupados em um clado com 75,8% de suporte (destaque em verde; fig. 6), sendo posicionado mais distante do primeiro. Do mesmo modo que no primeiro clado, os três fungos do segundo clado foram encontrados em plantas de famílias distintas (tabela 3).

Por último, o isolado DENFC333 (associado a *Psidium* sp.) ficou posicionado em uma linhagem distante das duas primeiras, em um clado com 78,8% de suporte (destacado em vermelho, fig. 6). Importante destacar que o filograma em questão foi construído utilizando-se espécies de linhagens representativas, considerando-se clados de diferentes posições dentro do gênero *Pseudocercospora*, com base na revisão de GROENEWALD *et. al.* (2024). Sendo assim, esta árvore representa bem o posicionamento evolutivo de cada um dos isolados deste trabalho dentro do gênero *Pseudocercospora*.

Por fim, o fungo que não foi enquadrado em *Pseudocercospora* (DENFC331) foi agrupado próximo de *Nothopassalora personata* (Figura 5; destaque em azul). Neste sentido, para a identificação do gênero deste isolado, foi necessário elaborar árvores mais específicas,

com espécies de gêneros pertencentes a este clado. Por essa razão, a discussão a respeito deste fungo será feita na seção pertinente a ele (**Seção 3.2.4** deste capítulo; p. 49).

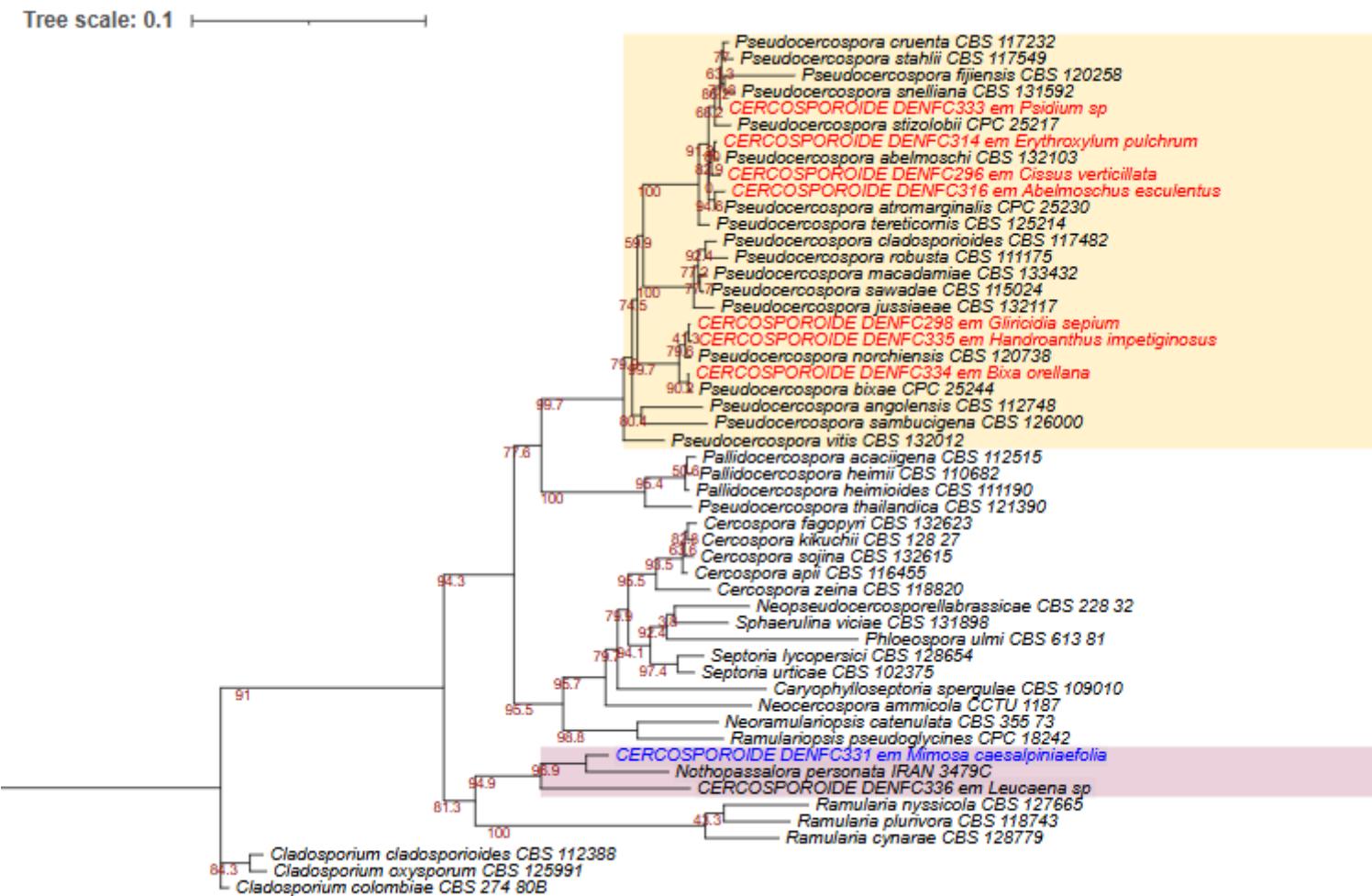


Figura 5. Árvore filogenética concatenada baseada na comparação das sequências referentes às regiões *actA*, ITS e LSU, considerando diferentes gêneros da família *Mycosphaerellaceae*, principalmente. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de bootstrap de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. Três espécies de *Cladosporium* foram utilizados como grupo externo.

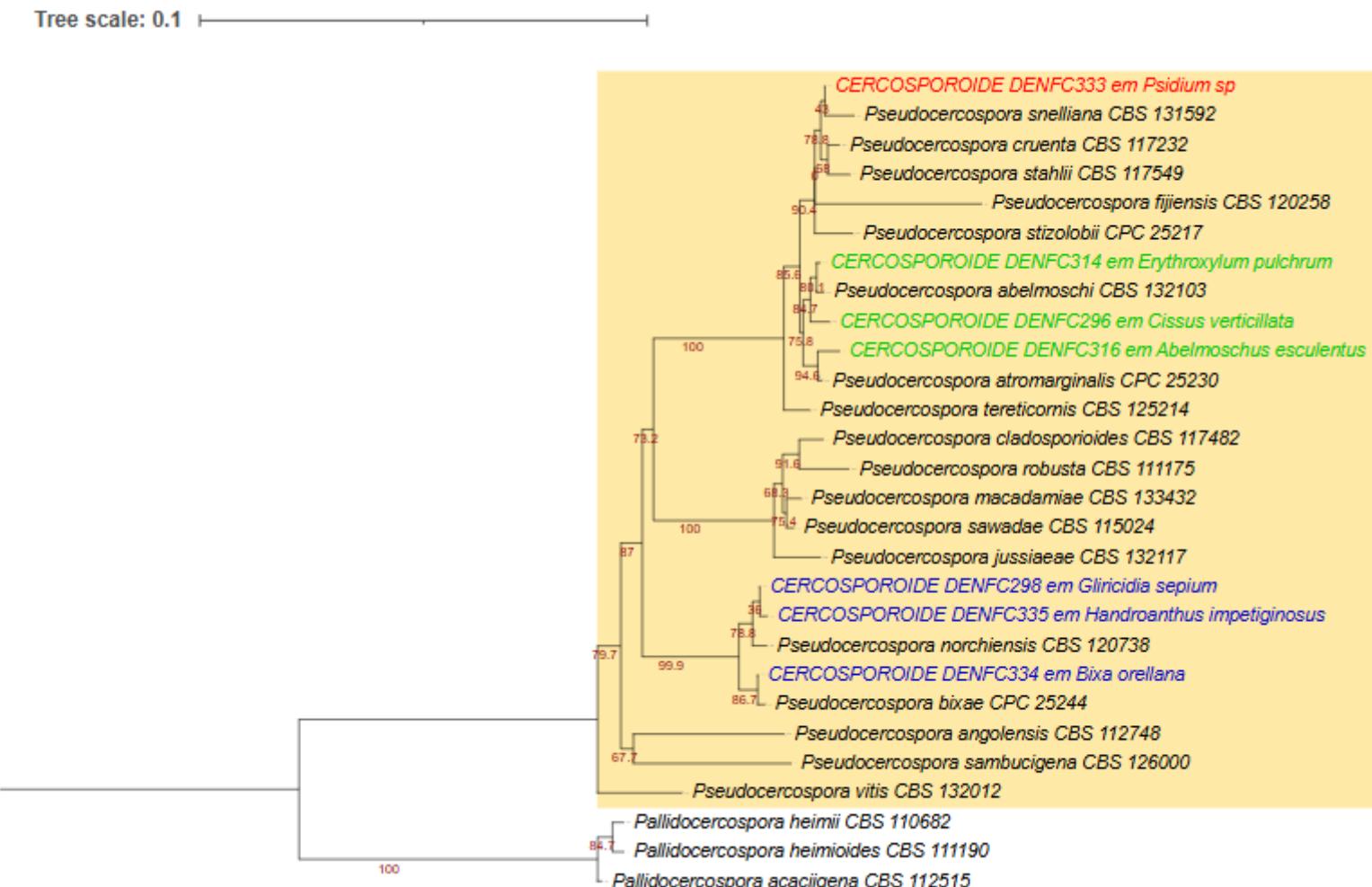


Figura 6. Árvore filogenética concatenada baseada na comparação das sequências referentes às regiões *actA*, ITS e LSU, considerando diferentes espécies do gênero *Pseudocercospora*. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de bootstrap de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. Utilizou-se espécies do gênero *Pallidocercospora* Crous como grupo externo.

3.2. Taxonomia

3.2.1. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Cissus verticillata* (Vitaceae) (Figs. 7-9; Tab. 4) – Provável sp. nov. nº 1

Descrição. *Manchas* marrom-escuras, irregulares, envoltas por halo amarelado, cobrindo a maioria do limbo foliar, e contendo grupos de frutificações anfígenas, conspícuas. *Estromas* 25,5-53,5 × 23,5-66 µm, anfígenos, localizados na superfície do tecido foliar, em grupos, e nas regiões necrosadas das manchas. *Células do estroma* 3-7,5 µm diâm., marrons, irregulares, normalmente subglobosas. *Conidióforos* 20,5-50 × 2,5-4,5, marrons, 0-3 -septos; lisos ou levemente rugosos, hialinos a marrom-claros, não ramificados, retos a suavemente sinuosos, às vezes geniculados. *Conídios* 35,5-66 × 3,5-5,5 µm, (1)-3-8 septados, lisos ou levemente rugosos, hialinos a oliváceos, cilíndricos ou escolecospóricos, atenuados no ápice ou na base, levemente truncados na base, com cicatrizes inconspícuas. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando baixo crescimento, com coloração verde a cinza escura, e aspecto pulverulento (Figura 9).

Espécimes examinados: Brasil. Rio de Janeiro, Seropédica, *Campus UFRRJ*. Em folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (Vitaceae) “Insulina-vegetal”. 04/04/2022, Col. Hemylson Porto de Souza nº 04 (UFRJ 1144). 02/05/2022, Col. Hemylson Porto de Souza nº 09 (UFRJ 1157). 10/05/2022, Col. Hemylson Porto de Souza nº 12 (UFRJ 1160). 04/07/2022, Col. Hemylson Porto de Souza nº 16 (UFRJ 1180). 17/08/2023, Col. Hemylson Porto de Souza nº 55 (UFRJ 1386). Coleção micológica nº DENFC296 (21/04/2022).

Discussão. As análises morfológica e filogenética molecular trouxeram evidências significativas de que o fungo estudado (DENFC296) possa ser caracterizado como uma espécie nova. No que se refere à filogenia molecular, a região da actina (*actA*) foi a que possibilitou separações a nível de espécie dentro do gênero *Pseudocercospora*.

As regiões ITS e LSU foram preponderantes nos estudos iniciais de posicionamento evolutivo dentro da classe *Dothideomycetes*, sendo imprescindíveis na determinação do gênero. Entretanto, na tentativa de enquadrar o fungo a nível de espécie, estas regiões apresentaram baixíssimo poder de resolução.

Nesse sentido, utilizando-se a ferramenta *Nucleotide Blast NCBI*²³, a sequência LSU do fungo DENFC296 apresentou 100 % de similaridade com as sequências de diversas espécies *Pseudocercospora* (*P. rhamnella* G.C. Hunter, H.D. Shin, U. Braun & Crous, *P. fuligena* (Roldan) Deighton, *P. atromarginalis* (G.F. Atk.) Deighton, *P. chiangmaiensis* Cheew., K.D.

²³ Registre-se que, em todo o trabalho, a ferramenta *Nucleotide Blast NCBI* (ZHANG, 2000) sempre foi utilizada antes da realização do alinhamento manual no programa MEGA 11 (este alinhamento costuma diminuir o comprimento dos fragmentos de DNA considerados para a construção dos cladogramas).

Hyde & Crous, *P. dovyalidis* (Chupp & Doidge) Deighton, *P. indonesiana* Arzanlou & Crous, *P. ranjita* (S. Chowdhury) Deighton, *P. oenotherae* (Ellis & Everh.) Y.L. Guo & X.J. Liu, por exemplo).

A mesma dificuldade ocorreu com o uso da região ITS, com várias espécies de *Pseudocercospora* apresentando similaridade acima de 99,78 % com o fungo estudado [por exemplo, *P. atromarginalis*, *P. hakeae* (U. Braun & Crous) U. Braun & Crous, *P. acaciicola* Crous, R.G. Shivas & Yuan Yuan Chen, *P. fuligena*, e *P. chengtuensis* (F.L. Tai) Deighton].

A região *actA*, por outro lado, apresentou um bom poder de resolução, como mostra a Figura 7. Utilizando-se a ferramenta *Nucleotide Blast* NCBI, para este gene, apenas uma espécie apresentou mais de 98% de similaridade com o fungo deste estudo: *P. eucleae* Crous & B. Sutton, que apresentou 98,10 % de similaridade (ambos agrupados em um clado com 87,4% de suporte; fig. 7, destaque em azul)²⁴.

Trata-se de uma espécie descrita originalmente descrita em *Euclea undulata* Thunb., na África do Sul (CROUS & SUTTON, 1997)²⁵. *E. undulata* é uma planta pertencente à família *Ebenaceae*²⁶ (ordem *Ericales*), que é filogeneticamente distante da família do hospedeiro do fungo em estudo: *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis, *Vitaceae* (ZUNTINI *et. al.*, 2024). Além disso, morfologicamente *P. eucleae* apresenta diferenças significativas em relação ao fungo analisado, sobretudo no comprimento dos conídios, que atingem valores muito superiores aos do fungo em questão (Tabela 4). Desse modo, considerando-se três parâmetros distintos (morfologia, divergência na região *actA*, e distância filogenética entre os hospedeiros vegetais), é bem provável que os dois fungos não pertençam à mesma espécie.

Em relação às espécies de *Pseudocercospora* associadas a plantas da família *Vitaceae* (Tabela 4 – primeira parte), a maioria delas não possuem sequências da região *actA* (ou de qualquer outra região) depositadas no *GenBank*. É o caso de *C. brachypus* Ellis & Everh.²⁷ (ELLIS & EVERHART, 1902), *Cercospora rhoicissi* Syd. & P. Syd.²⁸ (SYDOW & SYDOW, 1912), e *P. cissi* Bagyan., U. Braun & Jagad. (BAGYANARAYANA *et. al.*, 1992), sendo esta última originalmente descrita em *Cissus verticillata*, hospedeiro do fungo analisado. De qualquer modo, sob o aspecto morfológico, estas espécies diferem muito do fungo DENFC296.

Neste sentido, *P. rhoicissi* e *P. cissi* formam conídios de comprimento muito maiores do que os formados pelo fungo em questão, podendo chegar a 150 µm em *P. cissi*, e 120 µm em *P. rhoicissi*. Já no caso do fungo em estudo, este valor alcança o máximo de 66 µm. Além desta importante distinção na morfologia, outro aspecto importante é a distribuição geográfica. Até o momento, só há registros de ocorrência de *P. cissi* na Ásia, e de *P. rhoicissi* na África (FARR & ROSSMAN, 2024)²⁹, o que evidencia um provável isolamento geográfico destas espécies

²⁴ Após alinhamento manual, a divergência de *actA* entre os isolados do filograma foi calculada no programa MEGA 11, e esse valor foi de 2,9% entre *P. eucleae* e o fungo estudado.

²⁵ As sequências de *P. eucleae* depositadas no *GeneBank* NCBI se referem ao epítipo (GROENEWALD *et. al.*, 2024), e não ao holótipo, designado por CROUS & SUTTON (1997).

²⁶ Mesma família do caqui, *Diospyros kaki* (XIE *et. al.*, 2015).

²⁷ Nome atual: *Pseudocercospora brachypus* (Ellis & Everh.) Y.L. Guo & X.J. Liu (GUO & LIU, 1992).

²⁸ Nome atual: *Pseudocercospora rhoicissi* (Syd. & P. Syd.) Deighton (DEIGHTON, 1976).

²⁹ Disponível em <https://fungi.ars.usda.gov/>. Observação: com o intuito de evitar a mesma citação de maneira excessiva, registre-se que todas as pesquisas sobre relatos da ocorrência de determinado fungo em determinada planta hospedeira foram realizadas principalmente com base nos bancos de dados do USDA FUNGAL

em relação ao fungo estudado, que foi coletado no Rio de Janeiro. Desse modo, ainda que não haja sequências disponíveis referentes a *P. cissi* e *P. rhoicissi* no *GenBank* para uma análise filogenética, existem evidências morfológicas e geográficas de que o fungo em questão não se enquadra nestas espécies.

Situação similar ocorre no caso de *C. brachypus* = *Pseudocercospora brachypus* (ELLIS & EVERHART, 1902; GUO & LIU, 1992)³⁰, que também não possui sequências registradas no *GenBank*. Do mesmo modo que as espécies comentadas, há uma diferença morfológica importante. De acordo com as características da espécie tipo (ELLIS & EVERHART, 1902), bem como a descrição de Chupp (1954), a largura dos conídios é significativamente menor do que as constatadas no fungo DENFC296 (2-3,5 µm em *P. brachypus* e 3,5-5,5 µm no fungo em análise). Trata-se de uma característica que, em geral, apresenta baixa amplitude de variação em cada espécie de fungo cercosporóide, diferentemente do que ocorre com o comprimento dos conídios. As dimensões dos conidióforos também são maiores no fungo DENFC296. Deste modo, as diferenças na largura dos conídios e nas dimensões dos conidióforos dos dois fungos é um bom indicativo de que não sejam enquadrados em uma mesma espécie. O aspecto geográfico aponta para mesma direção, pois, até o momento, só há relatos de *P. brachypus* (incluindo os sinônimos) ocorrendo na Ásia e na América do Norte.

Outra espécie originalmente descrita ocorrendo em hospedeiro da família *Vitaceae* é a *Pseudocercospora riachueli* (Speg.) Deighton (DEIGHTON, 1976)³¹, em *Cissus palmata* Poir. De acordo com o banco de dados *Index Fungorum* (INDX FUNGORUM PARTNERSHIP, 2024)³², *P. riachueli* (Speg.) Deighton é sinônimo (e nome válido atual) da espécie *Pseudocercospora riachueli* var. *horiana* (Togashi & Katsuki) U. Braun & Crous (BRAUN & CROUS, 2003)³³. Ocorre que, das duas, apenas esta última possui sequências depositadas no *GenBank*. Como ambas são atualmente consideradas sinônimos, serão tratadas no presente trabalho como uma única espécie. Portanto, as sequências de *Pseudocercospora riachueli* var. *horiana*³⁴ foram utilizadas para a análise filogenética.

Neste sentido, como se observa na árvore filogenética baseada na região *actA* (Figura 7), o fungo analisado neste trabalho não se enquadrou no mesmo clado que *P. riachueli*, ocorrendo 10,47 % de divergência³⁵, para um total de 175 nucleotídeos analisados. Este fato é um forte indicativo de que o fungo DENFC296 não seja uma *P. riachueli*. Morfologicamente não há diferenças claras, o que pode ser uma decorrência de evolução convergente no que se refere aos parâmetros morfológicos aqui considerados.

Considerando-se todas as espécies sinônimas de *P. riachueli*, a distribuição geográfica é ampla, havendo relatos na Ásia, Américas, e África, ocorrendo inclusive em diferentes espécies de *Cissus*. Entretanto, a forte divergência filogenética molecular na região da *actA* parece indicar que o fungo estudado não se enquadre *P. riachueli*. Situação análoga ocorre com a espécie *C. roesleri* (Catt.) Sacc. (SACCARDO, 1880), descrita em *Vitis vinifera*, na França. Há diferenças

DATABASES) e da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (EMBRAPA, 2024 – disponível em <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michtml/micbanco01a.asp>).

³⁰ No presente trabalho, utilizou-se a descrição de Chupp (1954).

³¹ Basionym: *Cercospora riachueli* (SPEGAZZINI, 1880).

³² Disponível em: <https://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=462239>.

³³ Basionym: *Cercospora horiana* (TOGASHI & KATSUKI, 1952).

³⁴ Código da cultura no *GeneBank* NCBI: MUCC 2141.

³⁵ Divergência calculada no programa MEGA 11, após realizado o alinhamento manual.

evidentes: os conidióforos são mais longos (até 55 μm) que os formados pelo fungo estudado (até 44 μm). Os conídios também são mais largos (até 7 μm diâm.); no fungo estudado este valor máximo é de 5,5 μm .

Por fim, cabe analisar as outras espécies listadas na Tabela 4, cujos hospedeiros não se enquadram na família *Vitaceae*. São espécies que apresentaram mais de 99% de similaridade com o fungo em análise, para as regiões ITS e LSU. Conforme já mencionado, estas regiões apresentaram baixíssimo poder de resolução, pois agrupa com mais de 99% várias espécies diferentes.

Sendo assim, essas espécies foram analisadas e comparadas com o fungo DENFC296 utilizando-se a região *actA*, que apresentou bom poder de resolução para separar as espécies. O resultado está ilustrado na Figura 7. Como pode ser observado, apenas a espécie *P. eucleae*, já tratada inicialmente, foi agrupada com o fungo estudado. Outras espécies em clados próximos (por exemplo: *Pseudocercospora fuligena*, *P. oenotherae*, *P. chiangmaiensis*, *P. rhamnella*e, e *P. atromarginalis*) apresentam certa similaridade morfológica com o fungo estudado (Tabela 4). Porém, além de todos apresentarem divergências maiores com o fungo estudado (acima de 3%), estes fungos são associados a hospedeiros de famílias não próximas a *Vitaceae* (*Solanaceae*, *Onagraceae*, *Myrtaceae* e *Rhamnaceae*).

Deste modo, após a análise de possível enquadramento do fungo DENFC296 nas espécies elencadas na Tabela 4 e Figura 7, verifica-se que há grande probabilidade de que o fungo estudado (associado a *Cissus verticilada*) seja enquadrado em uma nova espécie de *Pseudocercospora* sp.

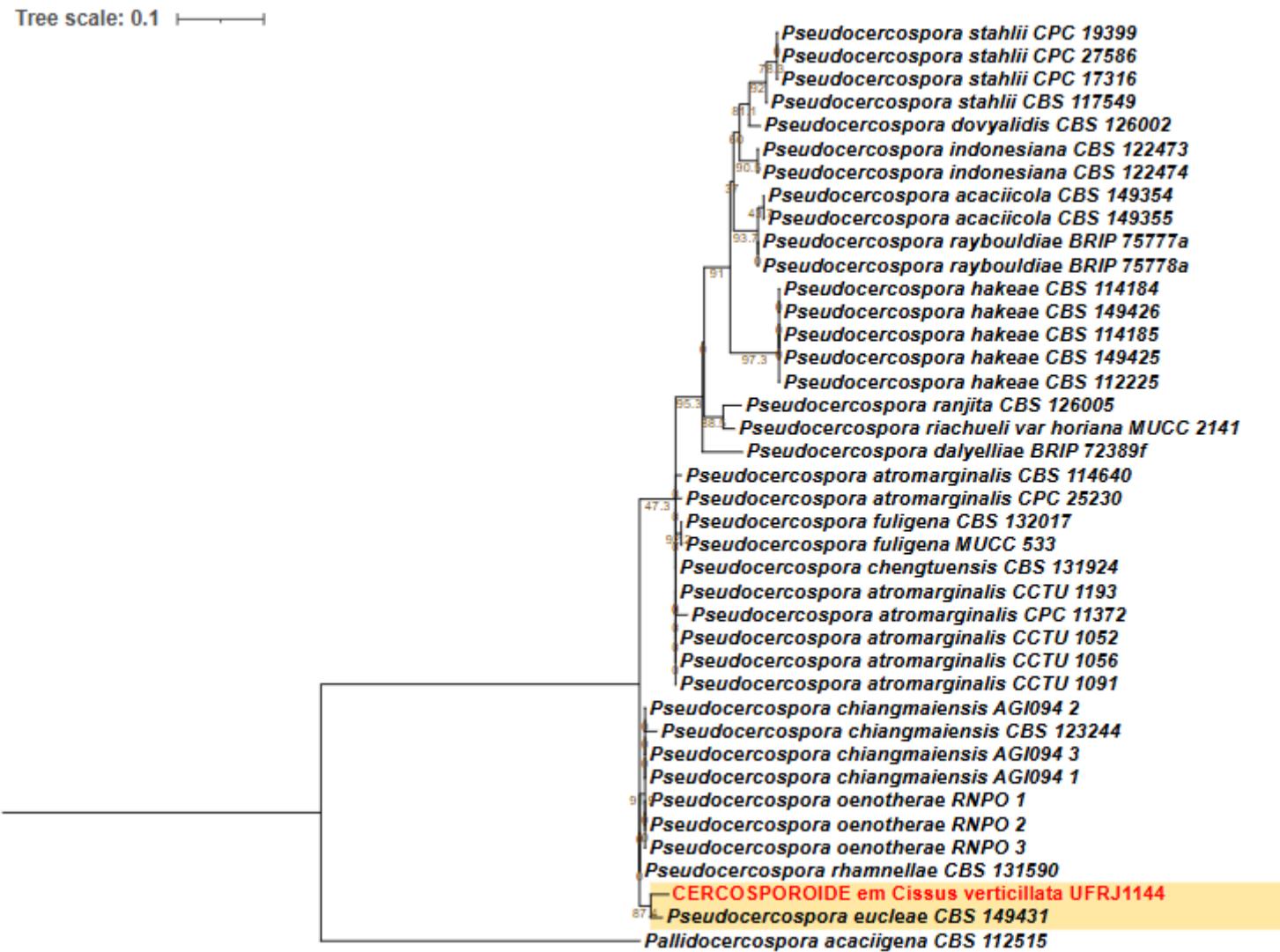


Figura 7. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de bootstrap de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora acaciigena* (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.

Tabela 4. Características de *Cercospora* e *Pseudocercospora* em folhas de *Vitaceae* comparadas com a espécie encontrada em *Cissus verticillata*.

Espécies de <i>Cercospora</i> e <i>Pseudocercospora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro µm)	Conidióforo (µm)	Conídios (µm)	Referência
<i>C. arboriae</i>	<i>Amelopsis arborea</i> (<i>Vitaceae</i>)	Texas, EUA	0,5-3	anfígeno	20-60 × 4,5	35-85 × 3-6 3-7-septos	Tharp (1917)
<i>Cercospora atromarginalis</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora atromarginalis</i>)	<i>Solanum nigrum</i> (<i>Solanaceae</i>)	EUA	4-6 anfígenas	----	10-30 × 4-4,5 asseptado	10-70 × 4-5 1-10-septos	Atkinson (1892)
<i>C. brachypus</i>	<i>Vitis rotundifolia</i> (<i>Vitaceae</i>)	EUA	2-8	Epífilo; tamanho médio	10-35 × 2-3,5 Sem septos visíveis	35-70 × 2-3,5 3-9-septos	Chupp (1954)
<i>C. brachypus</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora brachypus</i>)	<i>Vitis rotundifolia</i> (<i>Vitaceae</i>)	Alabama, EUA	----	----	----	50-70 × 2,5-3	Ellis & Everhart (1902)
<i>Cercospora oenotherae</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora oenotherae</i>)	<i>Oenothera biennis</i> (<i>Onagraceae</i>)	EUA	3-5 × 2-3 anfígeno	----	15-20 × 3 1-2-septos 0-1-septos	25-80 × 2-2,5 3-5(>5)-septos	Ellis & Everhart (1894)
<i>C. rhoicissi</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora rhoicissi</i>)	<i>Rhoicissus erythrodies</i> (<i>Vitaceae</i>)	África do Sul	1-3	10-35	10-55 × 3-5	35-120 × 3,5-6 3-9-septos	Sydow & Sydow (1912)
<i>C. roesleri</i>	<i>Vitis vinifera</i> (<i>Vitaceae</i>)	França	----	----	45-55 × 5	50-60 × 7 3-5-septos	Saccardo (1880)

Tabela 4. Continuação.

<i>P. cissi</i>	<i>Cissus</i> sp. (<i>Vitaceae</i>)	Índia	1-2	10-45	5-40 × 3-6 1-2-septos	15-120(150) × 3-6 1-8-septos	Bagyanarayana, Braun & Jagadeeswar (1992)
<i>P. chiangmaiensis</i>	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> (<i>Myrtaceae</i>)	Tailândia	2-11 anfígenas	25-70 × 30-70 (altura × largura) anfígeno	(13)20-25(60) × 3-4(4,5) 1-3(6)-septos	(40)50-60(100) × (2)2,5-3(3,5) (2)3-5(10)-septos	Cheewangkoon (2008)
<i>P. eucleae</i> ³⁶	<i>Euclea undulata</i> (<i>Ebenaceae</i>)	África do Sul	Até 7 anfígenas	30-90 anfígeno	15-45 × 3-6 1-13-septos	35-90 × 3-4 1-6-septos	Crous & Sutton (1997)
<i>P. eucleae</i> ³⁷	<i>Euclea</i> sp. (<i>Ebenaceae</i>)	África do Sul	2-8 anfígenas	hipófilo	20-40 × 5-7 1-4-septos	(50)60-85(120) × 3,5(4) (1)5-7(9)-septos	Groenewald <i>et. al.</i> (2024)
<i>P. fuligena</i>	<i>Lycopersicon Esculentum</i> (<i>Solanaceae</i>)	Tailândia	irregular geralmente epífila	15-25 Geralmente hipófilo	8-31 × 4-5 0-2-septos anfígeno	21-76 × 2,5-4 1-6-septos anfígeno	Phengsintham <i>et. al.</i> (2012)
<i>P. rhamnella</i>	<i>Rhamnella Franguloides</i> (<i>Rhamnaceae</i>)	Coreia do Sul	2-11 anfígenas	30-85 anfígeno	(10)13-19(23) × (2)3-4(5) 0-1-septos	(17)33-57(80) × (2)3(4) 1-12-septos	Hunter <i>et. al.</i> (2012)

³⁶ Holótipo **PREM 39020**.

³⁷ Espécime epitificado (epítipo: CBS H-25064, MBT 10018178; cultura *ex-type*: CPC 32792 = CBS 149431).

Tabela 4. Continuação.

<i>Pseudocercospora riachueli</i>	<i>Cissus palmata</i> (Vitaceae)	Argentina	5 Anfígeno	15×30	25-30 × 2,5-5,5 2-7-septos	22-60 × 3,5-5 (0)	Deighton (1976)
<i>Pseudocercospora riachueli</i> var. <i>horiana</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora</i> <i>riachueli</i>)	<i>Vitis vinifera</i> (Vitaceae)	Tailândia	1-5	20-50 anfígeno	10-17 × 2-4 0-1-septos	21-67 × 1,5-3 3-9-septos	Braun & Crous (2003)
<i>Pseudocercospora</i> sp. DENFC296	<i>Cissus verticillata</i>	Seropédica, RJ	Tamanho irregular, anfígeno	25,5-53,5 × 23,5-66	22,5-44 × 3-4,5 1-2-septos	35,5-66 × 3,5-5,5 (1)3-8-septos	Este trabalho

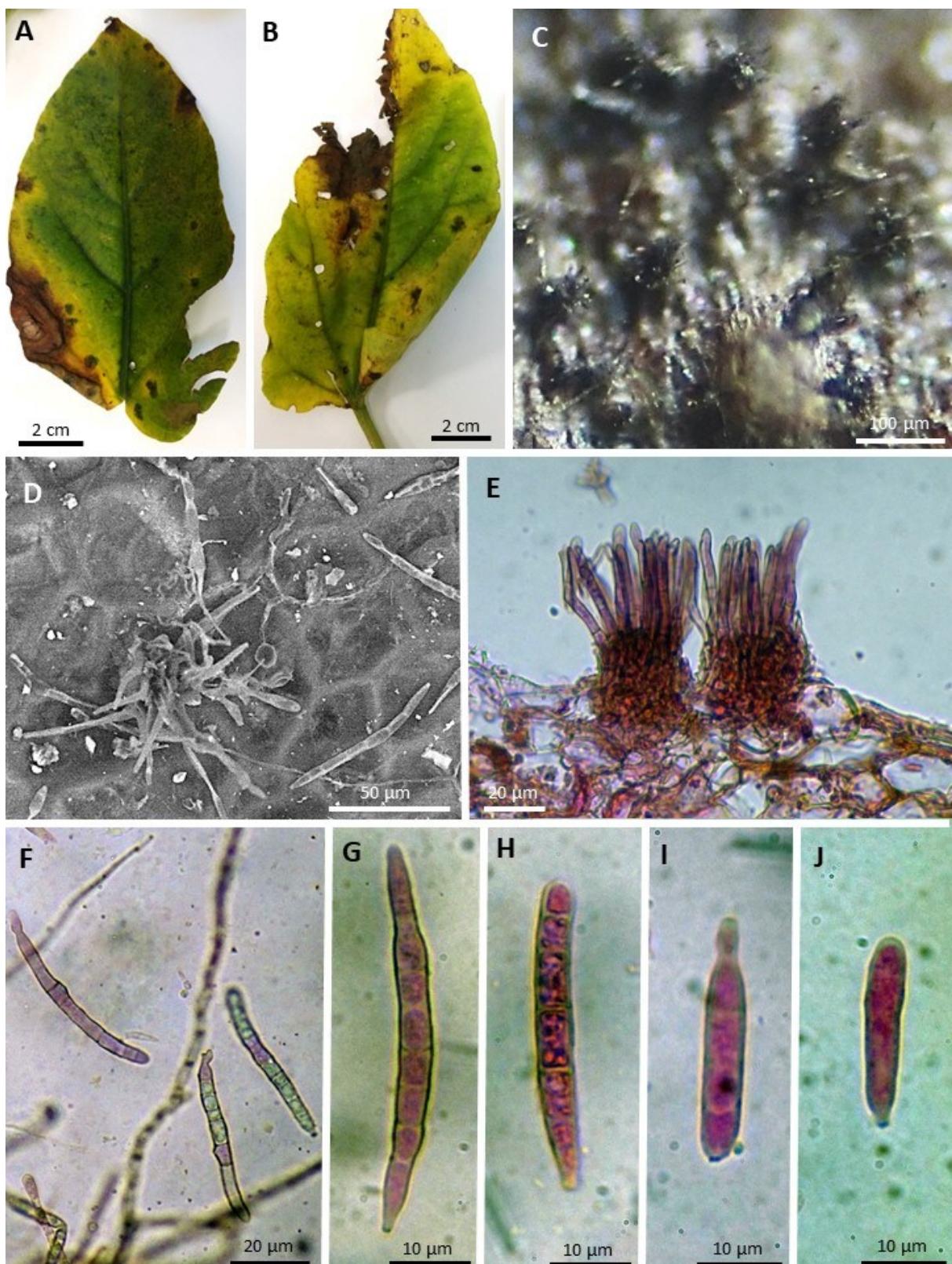


Figura 8. A-H. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Cissus verticillata*, coletado no campus da UFRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas na região adaxial. C. Grupo de esporodóquios. D. Micrografia da frutificação com conídios. E. Detalhe de dois estromas e conidióforos. F. Hifa e conídios do fungo cultivado em meio de cultivo BDA. G-J. Variação na morfologia dos conídios obtidos do fungo no hospedeiro.

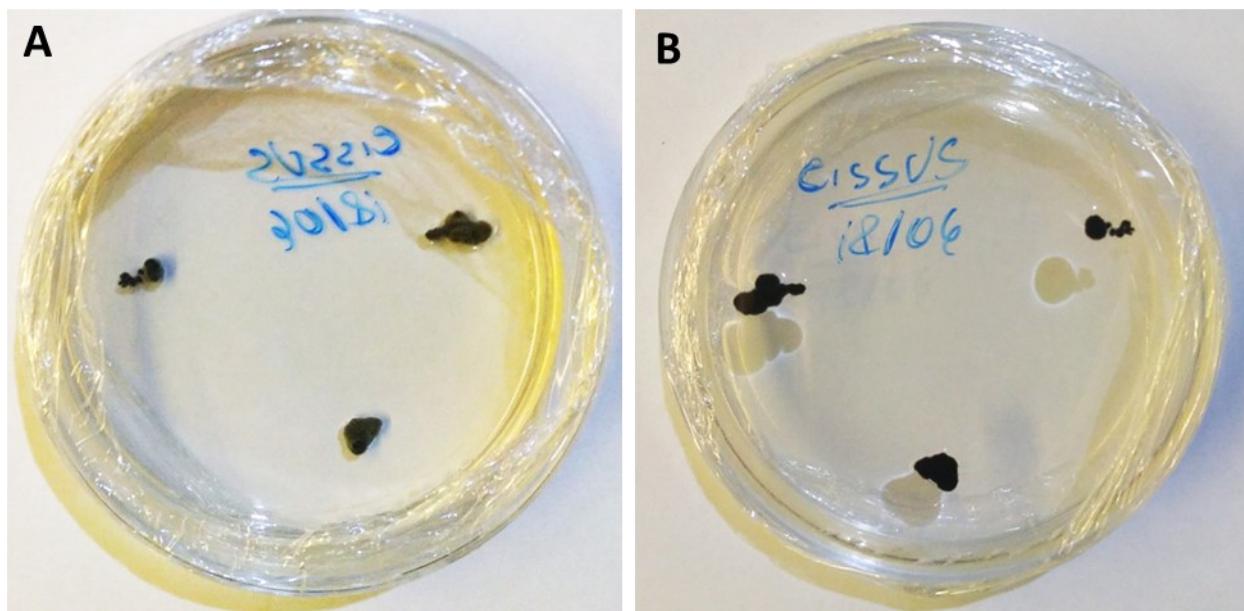


Figura 9. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm. Placas de Petri de 60×15 mm.

3.2.2. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Psidium* sp. (Myrtaceae) (Figs. 10-12; Tab. 5 e 6)

Descrição: *Manchas* marrom-avermelhadas a marrons, irregulares e, ocorrendo nas margens da folha; anfígenas, contendo grupos de frutificações do fungo, geralmente na face abaxial. *Hifa secundária superficial* com 2-3 μm de espessura, não ramificada, septada, lisa, sub-hialina. *Estromas* 56-140 \times 65-140 (186,5) μm , irrompentes, ocorrendo nas duas faces das folhas, mais frequentemente na face inferior. *Células do estroma* com coloração marrom, isométricas, medindo 3,5-7,5 μm de diâmetro. *Conidióforos* 17-37,5 \times 3-4,5 μm ; de 0-2 -septos, hialinos a oliváceos, lisos ou levemente rugosos, não ramificados, retos a sinuosos, com cicatrizes inconsíprias. *Conídios* 20-57 \times 2-3 μm , alongados, escolecospóricos, com septos 0-6, hialinos, lisos, com ápices e bases agudas, e ocorrendo cicatrizes inconsíprias. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando baixo crescimento, com coloração verde a cinza escura, e aspecto pulverulento (Figura 12).

Espécimes examinados: Brasil. Rio de Janeiro, Seropédica, *Campus UFRRJ*. Em folhas de *Psidium* L. sp. (Myrtaceae) “Araça”. 08/09/2022, Col. Carlos Antonio Inácio nº 275 (UFRJ 1208). 19/09/2022, Col. Carlos Antonio Inácio nº 277 (UFRJ 1212). 11/10/2022, Col. Hemylson Porto de Souza nº 23 (UFRJ 1220). 04/11/2022, Col. Carlos Antonio Inácio nº 298 (UFRJ 1249). Coleção micológica nº DENFC333 (11/10/2022).

Discussão. Na análise filogenética, foi observado que as regiões ITS e LSU apresentaram baixíssimo poder de resolução para separação de espécies próximas do fungo estudado (DENFC333)³⁸. Utilizando-se a ferramenta *Nucleotide Blast*, constatou-se o seguinte: (1) para a região ITS, 24 espécies apresentaram mais de 99,5% de similaridade com o fungo em análise (fragmento de 545 bp); (2) para a região LSU, mais de 40 espécies distintas apresentaram mais 99,5% de similaridade com o fungo DENFC333 (fragmento de 864 bp).

Em relação à *actA*, para vários fungos do presente trabalho esta região apresentou de razoável a bom poder de resolução. Entretanto, para o fungo desta seção (associado a *Psidium* sp.), este *locus*, assim como ITS e LSU, não se mostrou útil para separação de espécies. Ao que parece, as espécies pertencentes a estes clados dentro do gênero *Pseudocercospora* apresentam menor variação na sequência desta região do DNA, quando comparados com outros clados dentro do gênero³⁹.

Sendo assim, para a *actA*, a pesquisa realizada mediante o recurso *Blast*, apresentou 13 espécies distintas com mais de 99,5% de similaridade com o fungo estudado (fragmento de 223 bp). Considerando-se a similaridade acima de 99%, o número de espécies próximas sobe para 20. Deste modo, havendo tantas espécies distintas apresentando alto grau de similaridade com o fungo

³⁸ As árvores LSU e ITS para este fungo (DENFC333) não foram apresentadas devido ao baixíssimo poder de resolução, sendo, por essa razão, pouco informativas, diferente da árvore relativa à região *actA* (fig. 10).

³⁹ A título de exemplo, os clados próximos da espécie de *Pseudocercospora* da seção anterior (associado a *Cissus verticillata*) apresentaram maior variação na sequência de *actA*, o que permitiu um melhor delineamento da árvore filogenética, apresentada na Figura 7.

DENFC333, a árvore filogenética construída para a região *actA* apresentou muitas politomias, como mostra a Figura 10, deixando obscura a relação entre as espécies mais próximas do fungo estudado.

De todo modo, foram selecionadas espécies agrupadas neste filograma (figura 10) para compor a tabela de análise morfológica (Tabela 5): *Pseudocercospora eucalyptorum* Crous, M.J. Wingf. & Marasas (CROUS *et. al.*, 1989), *P. cercidis-chinensis* H.D. Shin & U. Braun (SHIN & BRAUN, 2000), *P. amelanchieris* C. Nakash., Tak. Kobay. & Crous (NAKASHIMA *et. al.*, 2016), *P. puderi* B.H. Davis ex Deighton (DEIGHTON, 1976), *P. abeliae* (Katsuki) Nishij., C. Nakash. & Tak. Kobay. (NISHIJIMA, NAKASHIMA & KOBAYASHI, 1999), *P. sennae-multijugae* Meir. Silva, R.W. Barreto & Crous (SILVA *et. al.*, 2016), *P. mori* (Hara) Deighton (GRICE, BEILHARZ & SHIVAS, 2006), *P. snelliiana* (Reichert) U. Braun, H.D. Shin, C. Nakash. & Crous (CROUS *et. al.*, 2013), *P. acericola* (Woron.) Y.L. Guo & X.J. Liu (CHUPP, 1954).

Além destas, foram também selecionadas para a análise morfológica outras espécies de *Pseudocercospora*, associadas a plantas da mesma família do hospedeiro do fungo em análise⁴⁰: *Pseudocercospora psidii* (Rangel) R.F. Castañeda & U. Braun (CASTAÑEDA & BRAUN, 1989), *Cercospora uestriana* Speg.⁴¹ (SPEGAZZINI, 1908), *P. sphaerellae-eugeniae* (Rangel ex Sacc.) Crous, Alfenas & R.W. Barreto (CROUS, ALFENAS & BARRETO, 1997), *P. myrtacearum* (A.N. Rai, B. Rai & Kamal) U. Braun (RAI, RAI & KAMAL, 1993), *P. syzygiicola* B. Sutton & Crous (SUTTON & CROUS, 1997), *P. sawadae* (W. Yamam.) Goh & W.H. Hsieh (GOH & HSIEH, 1987), *P. punctata* (Wakef.) B. Sutton (DIANESE, SUTTON & TESSMAN, 1993) e *P. eucalyptorum*. Destas espécies, apenas as três últimas dispõem de sequências *actA* depositadas no GenBank NCBI, sendo, portanto, as únicas com hospedeiros da família *Myrtaceae* que foram utilizadas na análise filogenética (Figura 10).

Pode-se notar que, na Figura 10, estas três espécies (*P. eucalyptorum*, *P. punctata*, e *P. sawadae*) são justamente as mais distantes do fungo estudado, com base na região *actA*. Desse modo, *P. eucalyptorum* apresenta 19,75% de divergência⁴² do fungo DENFC333, enquanto que, *P. punctata* mostra 21,91%. Morfologicamente⁴³, ambas espécies também apresentaram diferenças claras, com *P. punctata* formando conídios (22-31 × 4,5-5,5 µm) e conidióforos (6-7,5 × 5-7 µm) muito mais curtos e espessos do que os observados no fungo em análise (conídios 20-57 × 2-3 µm; conidióforos 17-37,5 × 3-4,5 µm).

Por outro lado, em *P. eucalyptorum* constata-se conídios mais longos, podendo alcançar 110 µm, ao passo que no fungo estudado este valor atinge o máximo de 57 µm. *P. sawadae*, por sua vez, apresenta divergência com o fungo estudado em um grau muito menor (2,22%), quando comparada com as duas últimas espécies discutidas (*P. eucalyptorum* e *P. punctata*). De qualquer modo, ainda assim, é um valor muito maior do que os referentes às espécies que estão agrupadas no mesmo clado do fungo DENFC333 (destacado em vermelho, fig. 10), conforme será discutido mais adiante. Morfologicamente, *P. sawadae* também diverge do fungo em foco, pois forma conídios mais alongados (até 90 µm).

⁴⁰ Família *Myrtaceae* (ver Tabela 5).

⁴¹ Nome atual: *Pseudocercospora uestriana* (Speg.) U. Braun (U. Braun, 1996). Para efeito prático, *C. uestriana* será referida neste trabalho pelo nome atual.

⁴² As divergências foram calculadas após o alinhamento manual, ambos realizados no programa MEGA 11. Método *Pairwise Distance* para verificação das divergências entre espécies, considerando-se 49 sequências de até 183 pb, relativas aos isolados utilizados para construção da árvore genealógica.

⁴³ Ver Tabela 5.

Em relação às espécies com hospedeiros da família *Myrtaceae*, mas que não possuem sequências depositadas no *GenBank* (*Pseudocercospora psidii*, *P. myrtacearum*, *P. syzygiicola*, *P. sphaerellae-eugeniae*, e *P. uesteriana*), todas elas apresentam diferenças morfológicas em relação ao fungo estudado. Desse modo, *P. sphaerellae-eugeniae* e *P. uesteriana* são as que mais divergem, pois formam conídios e conidióforos claramente mais longos e mais largos que os constatados no fungo em análise (Tabela 5). *P. psidii*, por sua vez, tem conidióforos (5-15 × 2-4 µm) e estromas (30-35 µm diâm.) muito menores que o fungo aqui estudado (conidióforos 17-37,5 × 3-4,5 µm; estromas 65-140 µm).

Por outro lado, as espécies *P. myrtacearum* e *P. syzygiicola* apresentam diferenças morfológicas significativas em um parâmetro, cada uma delas. A primeira apresenta conidióforos mais curtos (máximo de 22 µm), ao passo que a segunda difere no diâmetro dos estromas, que são menores que os do fungo em análise (máximo de 40 µm). Portanto, pôde-se verificar que todas as espécies associadas à família *Myrtaceae* (sendo várias delas relatadas em *Psidium*) mostraram-se morfologicamente distintas do fungo aqui estudado.

Por fim, cabe analisar morfologicamente as espécies que foram agrupadas no mesmo clado que o fungo DENFC333, mas que não possuem hospedeiros da família *Myrtaceae*. Estas espécies próximas apresentaram os seguintes níveis de divergência (região *actA*) com o fungo estudado: *P. cercidis-chinensis* 0%; *P. amelanchieris* 0%; *P. puderi* 0%; *P. abeliae* 0%; *P. sennae-multijugae* 1,10%; *P. mori* 2,78%; *P. snelliiana* 1,65%; e *P. acericola* 0,55%.

A Tabela 6 combina estes dados de divergência filogenética com os dados morfológicos, considerando-se apenas estas espécies e o fungo em estudo. Interessante notar que as espécies com maior divergência filogenética molecular apresentaram também maior distinção morfológica em relação ao fungo DENFC333. Isto vale, sobretudo, ao se considerar as dimensões de conidióforos e conídios, pois com relação aos estromas, todos diferiram claramente.

Desse modo, *P. mori* e *P. snelliiana* apresentam conidióforos mais longos (máximo de 67 µm e 100 µm comprimento, respectivamente) que o fungo em estudo DENFC333 (máximo de 37,5 µm). *P. sennae-multijugae*, por sua vez, possui conidióforos mais curtos, ou seja, com o valor máximo de 14 µm de comprimento. Por outro lado, *P. acericola* difere por formar conídios mais longos (até 120 µm) que o fungo aqui estudado (até 57 µm).

Conforme mencionado, as quatro espécies que apresentaram 0,00% de divergência (*P. cercidis-chinensis*, *P. amelanchieris*, *P. puderi*, e *P. abeliae*) foram aquelas que apresentaram menor distinção morfológica em relação ao fungo DENFC333, mesmo considerando-se todas as espécies analisadas nesta seção. Ainda assim, conforme se observa na Tabela 6, *P. amelanchieris* e *P. abeliae* são os que apresentam maior proximidade com o fungo estudado, tanto em relação aos conídios quanto aos conidióforos, diferindo em um detalhe: a espessura dos conidióforos (1,8-2 µm em *P. amelanchieris* e 2,5 µm em *P. abeliae*); já em relação ao fungo DENFC333, os valores são maiores: 3-4,5 µm. Os estromas de todas estas espécies, conforme já mencionado, são muito menores do que os do fungo deste trabalho, que atinge o máximo de 140 µm de diâmetro (podendo chegar a 186,5 µm). Esta distinção provavelmente se deve às características histológicas dos hospedeiros, que pertencem a diferentes famílias, conforme se observa na tabela 5.

Diante do exposto, há grande probabilidade do fungo DENFC333 ser enquadrado em *P. abeliae* ou em *P. amelanchieris*. Portanto, a análise de outras regiões do DNA (*rpb2*, *tef1*, por exemplo) deverá ser realizada para elucidar a questão.



Figura 10. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região *actina* (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora acaciigena* (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.

Tabela 5. Características de *Pseudocercospora* em folhas de *Psidium* sp. comparadas com espécies já descritas neste gênero e em outros da família *Myrtaceae*, e outras famílias.

Fungo	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (μm)	Conidióforo (μm)	Conídios (μm)	Referência
<i>C. acericola</i> (Nome atual: <i>Pseudocercospora acericola</i>)	<i>Acer campestre</i> ; <i>A. opolifolium</i> ; <i>A. pseudoplanatus</i> (Sapindaceae)	Russia, Itália	2-3	hipófilo asseptado	15-45 × 4-6 3-9-septos	30-120 × 3-5,5	Chupp (1954)
<i>Cercospora usheriana</i> (Nome atual: <i>Pseudocercospora usheriana</i>)	<i>Myrtaceae</i>	São Paulo (Brasil)	anfígenas	hipófilos 1-3-septos	40-80 × 4-5 3-5-septos	30-100 × 5-6	Spegazzini (1908)
<i>P. abeliae</i>	<i>Abelia glandiflora</i> (Linnaeace)	Japão	2-5	20-50 anfígeno	10-35 × 2,5 Multisseptado	25-65 × 2-3,8	Nishijima, Nakashima & Kobayashi (1999)
<i>P. amelanchieris</i>	<i>Amelanchier canadensis</i> (Rosaceae)	Japão	2-20	Até 48 anfígeno	1,5-38 × 1,8-2 0-3-septos	20-67 × 2-4 1-5-septos	Nakashima <i>et. al.</i> (2016)
<i>P. cercidis-chinensis</i>	<i>Cercis chinensis</i> (Fabaceae)	Coreia do Sul	2-10 anfígeno	20-50 anfígeno	10-40 × 3-5,5 0-1-septos	40-85 × 2,5-4 3-7-septos	Shin & Braun (2000)
<i>P. eucalyptorum</i>	<i>Eucalyptus nitens</i> (Myrtaceae)	África do Sul	marrom	----	10-50 × 3-6 0-2-septos	23-110 × 2,5-4 1-6-septos	Crous <i>et. al.</i> (1989)

Tabela 5. Continuação.

<i>P. mori</i>	<i>Morus alba</i> (<i>Moraceae</i>)	Australia	Até 7 Epífilo	18-25	30-67 × 3-4,5 1-4(7)-septos	18-61 × 3-4 1-5(7)-septos	Grice, Beilharz & Shivas (2006)
<i>Pseudocercospora</i> <i>myrtacearum</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora</i> <i>myrtacearum</i>)	<i>Syzygium</i> <i>heyneanum</i> (<i>Myrtaceae</i>)	India	Irregular Anfigena	22-71,5 (diâmetro) Anfigena	7,7-22 × 3,6-4,7 1-2-septos	17,5-66 × 2-3 1-6-septos	Rai, Rai & Kamal (1993)
<i>Pseudocercospora psidii</i>	<i>Psidium</i> <i>guajava</i> (<i>Myrtaceae</i>)	Cuba	---	30-35 (diâmetro)	5-15 × 2-4 asseptado	15-60 × 2-3,5 1-6-septos	Castañeda & Braun (1989)
<i>P. puderi</i>	<i>Rosa</i> sp. (<i>Rosaceae</i>)	EUA	2-3(5)	12-25(45) anfigeno	< 30 × 2,5-4 Em geral asseptado	20-75 × 2-3,5 1-7-septos	Deighton (1976)
<i>P. punctata</i>	<i>Eugenia</i> <i>cordata</i> (<i>Myrtaceae</i>)	África do Sul	5-18(30) Anfigena	65 × 110 hipógeno	6-7,5 × 5-7 1-2-septos	22-31 × 4,5-5,5 1-3-septos	Dianese, Sutton & Tessman (1993)
<i>P. sawadae</i>	<i>Psidium</i> <i>guajava</i>	Brasil, Índia, Taiwan	Descoloração avermelhada	----	10-60 × 2-4 1-5-septos	25-90 × 3-4 3-6(-10)-septos	Crous (1999)
<i>P. sennae-multijugae</i>	<i>Senna</i> <i>multijuga</i> (<i>Fabaceae</i>)	Brasil	2-18 anfigeno	25-67	8-14 × 2-4,5 0-2-septos	11-81 × 3-4 2-7-septos	Silva <i>et al.</i> , (2016)
<i>P. snelliana</i>	<i>M. alba</i> <i>M. bombycis</i> (<i>Moraceae</i>)	Egito e Coreia do Sul	Até 8 Anfigeno	----	15-100 × 3-6 1-12-septos	(15)30-70(80) × (3)4-6(7) 1-10-septos	Braun <i>et. al.</i> (2012) ⁴⁴

⁴⁴ In Crous *et. al.* (2012)

Tabela 5. Continuação.

<i>P. sphaerellae-eugeniae</i>	<i>Eugenia uniflora</i> (Myrtaceae)	Rio de Janeiro (Brasil)	2-5	---	30-70 x 4-7 0-2-septos	30-90 x 2-5 1-3-septos	Crous, Alfenas & Barreto (1997)
<i>P. syzygiicola</i>	<i>Syzygium cordatum</i> (Myrtaceae)	África do Sul	Irregular Anfigena	20-40 (diâmetro) Hipógeno	15-30 x 3-5 0-1-septos	40-80 x 2-3 1-11-septos	Sutton & Crous (1997)
<i>Pseudocercospora</i> sp. DENFC333	<i>Psidium</i> sp.	Campus da UFRRJ, Seropédica	Tamanho irregular	56-140 x 65-140 (186,5)	17-37,5 x 3-4,.5 0-2-septos	20-57 x 2-3 0-6-septos	Este trabalho

Tabela 6. Comparação de parâmetros morfológicos com os níveis de divergência para a região *actA*.

Fungo	Hospedeiro	Local	Estroma (μm)	Conidióforo (μm)	Conídios (μm)	Divergência com o fungo DENFC333 para região <i>actA</i> (%)
<i>P. puderi</i>	<i>Rosa</i> sp. (Rosaceae)	EUA	12-25(45) anfígeno	< 30 × 2,5-4 Em geral asseptado	20-75 × 2-3,5 1-7-septos	0,00
<i>P. abeliae</i>	<i>Abelia glandiflora</i> (Linnaeace)	Japão	20-50 anfígeno	10-35 × 2,5	25-65 × 2-3,8 Multisseptado	0,00
<i>P. amelanchieris</i>	<i>Amelanchier canadensis</i> (Rosaceae)	Japão	Até 48 anfígeno	1,5-38 × 1,8-2 0-3-septos	20-67 × 2-4 1-5-septos	0,00
<i>P. cercidis-chinensis</i>	<i>Cercis chinensis</i> (Fabaceae)	Coreia do Sul	20-50 anfígeno	10-40 × 3-5,5 0-1-septos	40-85 × 2,5-4 3-7-septos	0,00
<i>P. acericola</i>	<i>Acer campestre</i> ; <i>A. opolifolium</i> ; <i>A. pseudoplanatus</i> (Sapindaceae)	Russia, Itália	hipófilo	15-45 × 4-6 asseptado	30-120 × 3-5,5 3-9-septos	0,55
<i>P. sennae-multijugae</i>	<i>Senna multijuga</i> (Fabaceae)	Brasil	25-67	8-14 × 2-4,5 0-2-septos	11-81 × 3-4 2-7-septos	1,10
<i>P. snelliana</i>	<i>M. alba</i> <i>M. bombycina</i> (Moraceae)	Egito e Coreia do Sul	----	15-100 × 3-6 1-12-septos	(15)30-70(80) × (3)4-6(7) 1-10-septos	1,65
<i>P. mori</i>	<i>Morus alba</i> (Moraceae)	Australia	18-25	30-67 × 3-4,5 1-4(7)-septos	18-61 × 3-4 1-5(7)-septos	2,78
<i>Pseudocercospora</i> sp DENFC333	<i>Psidium</i> sp.	Seropédica RJ	56-140 × 65-140 (186,5)	17-37,5 × 3-4,5 0-2-septos	20-57 × 2-3 0-6-septos	Não se aplica

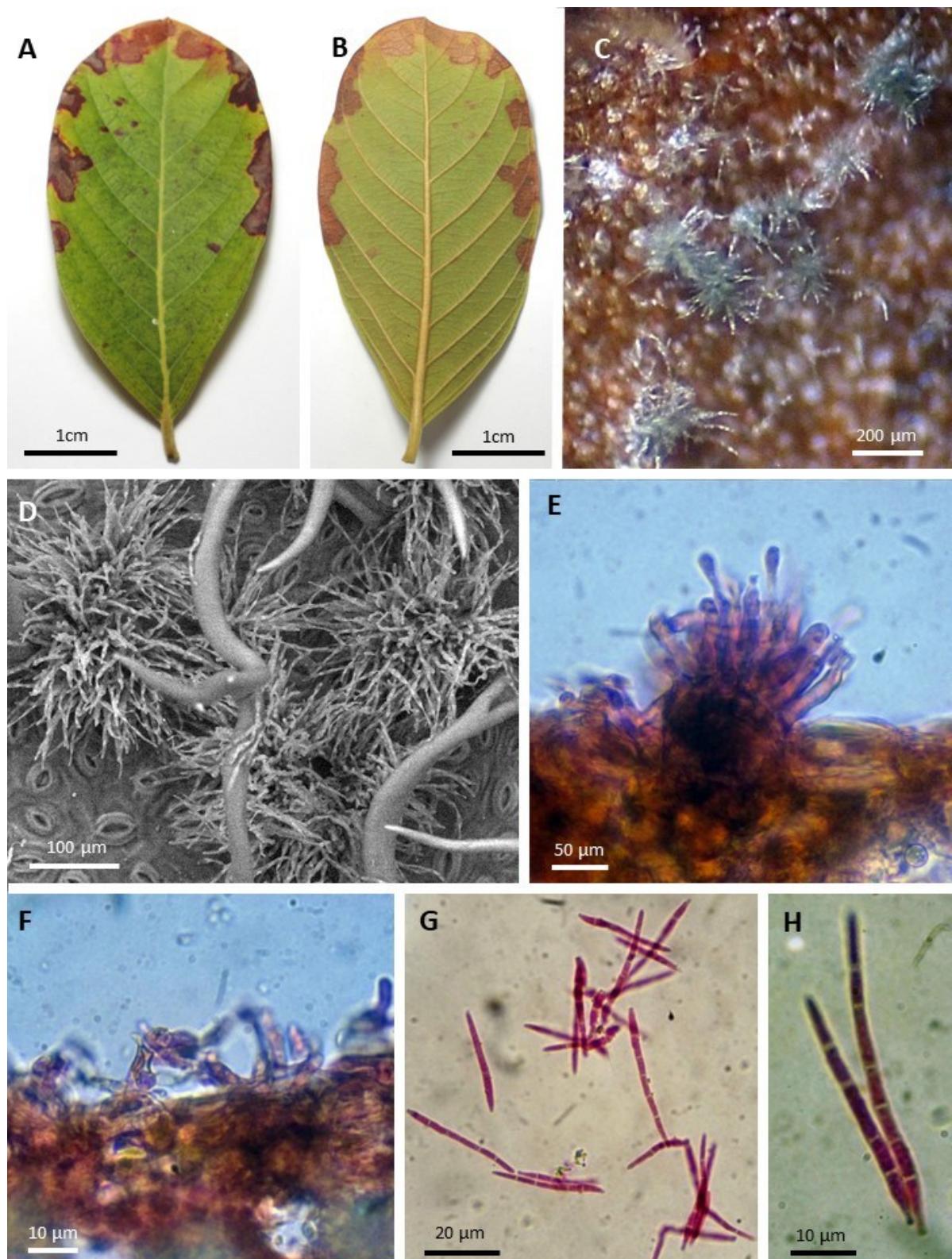


Figura 11. A-H. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Psidium* sp. (araçá), coletadas em vasos, na casa de vegetação do DEnF/ICBS, no campus da UFRRJ, em Seropédica–R.J.
 A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Micrografia mostrando conidióforos agrupados. E. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. F. Detalhe da hifa superficial, contendo conidióforos isolados. G-H. Detalhe dos conídios.

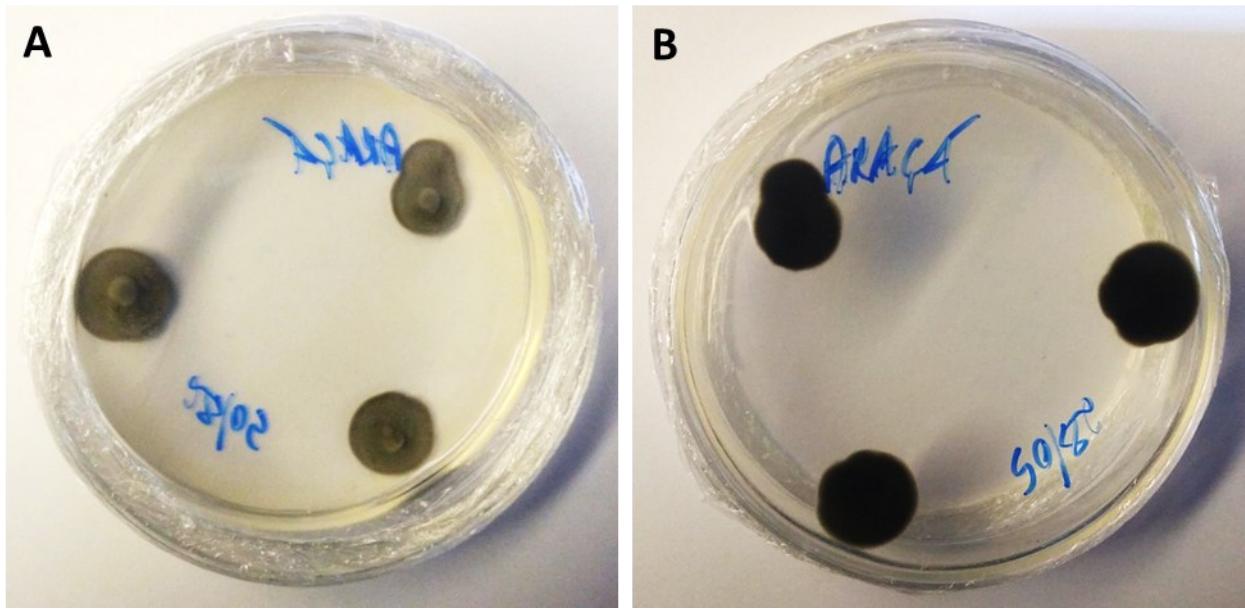


Figura 12. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.

3.2.3. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Erythroxylum pulchrum* (Erythroxylaceae) (Figs. 13-15; Tab. 7) - Provável sp. nov. nº 2

Descrição. *Manchas* marrons, irregulares e conspícuas, muitas vezes coalescentes, contendo grupos de frutificações na face abaxial. *Hifas secundárias superficiais* 3-3,5 µm de espessura, lisas, subhialinas a marrons, não ramificadas, septadas, ocorrendo ocasionalmente. *Hifas internas* não vistas. *Estromas* 14-34 × 19-38,5 µm, localizados na superfície do tecido foliar, em grupos, e nas regiões necrosadas das manchas. *Células do estroma* 3,5-6,5 µm de diâmetro, marrons, subglobulares. *Conidióforos* 10-30 × 3-4,5 µm, fasciculados, 0-2 septados; estomáticos (Figura 14, D), lisos ou levemente rugosos, não ramificados, retos a sinuosos, de hialinos a oliváceos; cicatrizes inconstantes. *Conidióforos secundários* não vistos. Com certa frequência, os conidióforos também ocorrem de forma isolada em hifa superficial. *Conídios* 20-56,5 × 2-3,5 µm, cilíndricos a escolecospóricos, 2-7-septados, hialinos, rugosos, com ápices e bases agudas e cicatrizes inconstantes na base. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando baixo crescimento, com coloração olivácea a cinza clara, e aspecto pulverulento (Figura 15).

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, Floresta Nacional Mário Xavier. Em folhas de *Erythroxylum pulchrum* A.St.-Hil (Erythroxylaceae) “Arco-de-pipa”. 28/10/2022. Col. Hemylson Porto de Souza nº 29 (UFRJ 1237). 03/02/2023. Col. Carlos Antonio Inácio nº 307 (UFRJ 1268). Coleção micológica nº DENFC314 (28/10/2022).

Discussão. A análise filogenética do fungo em questão (DENFC314) foi dificultada devido ao baixo poder de resolução das regiões ITS e LSU, e até mesmo a região *actA*, para separação de espécies. Neste sentido, utilizando-se a ferramenta *Nucleotide Blast* para a região ITS, foram constatadas pelo menos 32 espécies diferentes com mais de 99,0% de similaridade em relação ao fungo DENFC314 (fragmento de 518 pb), ao passo que, para LSU (fragmento de 916 pb), foram verificadas mais de 40 espécies.

A região *actA*, por sua vez, apresentou um poder de resolução mais baixo para o fungo desta seção, quando comparado com os verificados em análises de outros fungos do presente trabalho. Desse modo, foram constatadas mais de 20 espécies com mais de 99,5% de similaridade com o fungo DENFC314 (fragmento de 224 pb), e 11 espécies distintas com 100% de similaridade.

Por essa razão, fica claro que é relativamente baixa a variação da sequência do locus *actA* entre as espécies situadas em clados próximos da linhagem a qual pertence o fungo em análise, o que dificulta a separação destas espécies de *Pseudocercospora* sp. Este baixo poder de resolução pode ser notado facilmente na árvore filogenética ilustrada na Figura 13, onde observa-se o fungo DENFC314 situado em um clado com baixo suporte (63,1%) e com várias politomias. Devido a esta imprecisão, a análise filogenética não gerou resultados que permitissem a seleção de espécies próximas ao fungo estudado, para que pudessem ser incluídas na análise morfológica.

Para a análise morfológica, foram selecionadas espécies de *Pseudocercospora* sp. associadas a plantas da família Erythroxylaceae. Nenhuma destas espécies tratadas a seguir possuem sequências disponíveis, sendo, por essa razão, analisadas apenas sob parâmetros morfológicos. Ocorre que esta

família (*Erythroxylaceae*) contém apenas quatro gêneros: *Aneulophus* Benth., *Erythroxylum* P. Browne, *Nectaropetalum* Engl. e *Pinacopodium* Exell & Mendonça (LOIOLA *et. al.*, 2007), sendo que apenas há relatos de *Pseudocercospora* (ou *Cercospora*) em *Erythroxylum* [*P. erythroxylcola* U. Braun & Urtiaga e *P. erythroxili* (Govindu & Thirum.) U. Braun, Bagyan. & Jagad, conforme se observa na Tabela 7].

Por essa razão, buscou-se encontrar na literatura descrições destes fungos associados a hospedeiros de famílias filogeneticamente próximas de *Erythroxylaceae*, dentro da ordem *Malpighiales*. Com isso, foram constatadas duas espécies de cercosporóides descritas em *Rhizophora* L. (família *Rhizophoraceae*, ordem *Malpighiales*). Adicionalmente, foi incluída a descrição de Andrade (2016), que não identificou o fungo a nível de espécie (*Pseudocercospora* sp.), considerando-o como provável espécie nova, associada a *Erythroxylum pulchrum* A.St.-Hil, mesmo hospedeiro do fungo deste trabalho (DENFC314). Estes espécimes (Andrade, 2016) foram coletados no município de Paracambi, cidade próxima a Seropédica, ambos no estado do Rio de Janeiro (Tabela 7).

Neste sentido, comparando-se a espécie aqui estudada com a descrita por Andrade (2016), foi possível verificar diferenças significativas entre ambas, sobretudo nas dimensões de conídios e conidióforos dos fungos. Na espécie descrita por Andrade (2016), os valores observados foram: conídios até 85 µm e conidióforos até 55 µm de comprimento; ao passo que para o fungo DENFC314: conídios com até 56,5 µm e conidióforos com até 30 µm, ou seja, ambos mais curtos. Estas estruturas também possuem maior largura (até 7 µm diâm.) quando comparados com o fungo deste estudo (Tabela 7).

Em relação aos fungos descritos em *Rhizophora* L., *Cercospora mucronata* Purkay. & A.K. Pal (PURKAYASTHA & PAL, 1996)⁴⁵ e *Cercospora rhizophorae* Creager (CREAGER, 1963)⁴⁶, há também diferenças nas dimensões de conídios e conidióforos. Em *P. mucronata*, as larguras destas estruturas atingem o máximo de 9 µm e 8 µm, respectivamente. São valores claramente maiores do que os observados no fungo DENFC314. Os comprimentos destas estruturas também são substancialmente maiores. O mesmo ocorre com *C. rhizophorae*, com conídios atingindo o comprimento de 120 µm (fungo DENFC314: máximo de 56,5 µm).

Por fim, falta analisar as espécies descritas em *Erythroxylum*: *P. erythroxylcola* U. Braun & Urtiaga (BRAUN & URTIAGA, 2013) e *P. erythroxili* (Govindu & Thirum.) U. Braun, Bagyan. & Jagad (GOVINDU & THIRUMMAICHA, 1955). Desse modo, em *P. erythroxylcola* verifica-se conídios mais longos (até 80 µm), e estromas atingindo o dobro da largura (até 80 µm), quando comparados com o fungo deste estudo. Embora as outras dimensões sejam próximas, estas diferenças indicam que provavelmente o fungo DENFC314 não se enquadre em *P. erythroxylcola*.

Já em relação à *P. erythroxili*, pequenas diferenças nas dimensões das estruturas foram verificadas em relação ao fungo em análise, como a largura dos conídios (máximo de 5,7 µm em *P. erythroxili*, e 3,5 µm no fungo DENFC314); e o comprimento dos conídios (máximo de 30 µm em *P. erythroxili*, e 56,5 µm no fungo DENFC314). Além disso, outra distinção entre os fungos é a

⁴⁵ Nome atual: *Pseudocercospora mucronata* (Purkay. & A.K. Pal bis) Kamal (Purkay. & A.K. Pal) Kamal (KAMAL, 2007). Será tratada pelo nome atual neste trabalho.

⁴⁶ *Cercospora rhizophorae* é atualmente considerada como gênero *Cercospora*, diferente do que ocorre com *C. mucronata*. Porém, como *C. rhizophorae* não possui sequências publicadas no GenBank, e considerando a possibilidade de mudanças quando houver sequenciamento, optou-se por manter esta espécie na análise do presente trabalho.

ocorrência de hifa secundária superficial e conidióforos secundários isolados apenas no fungo deste estudo.

Diante de todo o exposto, sobretudo conforme a análise morfológica, é possível que o fungo DENFC314 pertença a uma espécie nova. Tal hipótese deverá ser confirmada mediante o sequenciamento de outros locus (*rpb2*, *tef1*, por exemplo), com o intuito de elucidar se o fungo estudado se enquadra em algumas das várias espécies que se mostraram próximas, mas que não puderam ser delimitadas ao se utilizar as regiões ITS, LSU e *actA*.

Tree scale: 0.1

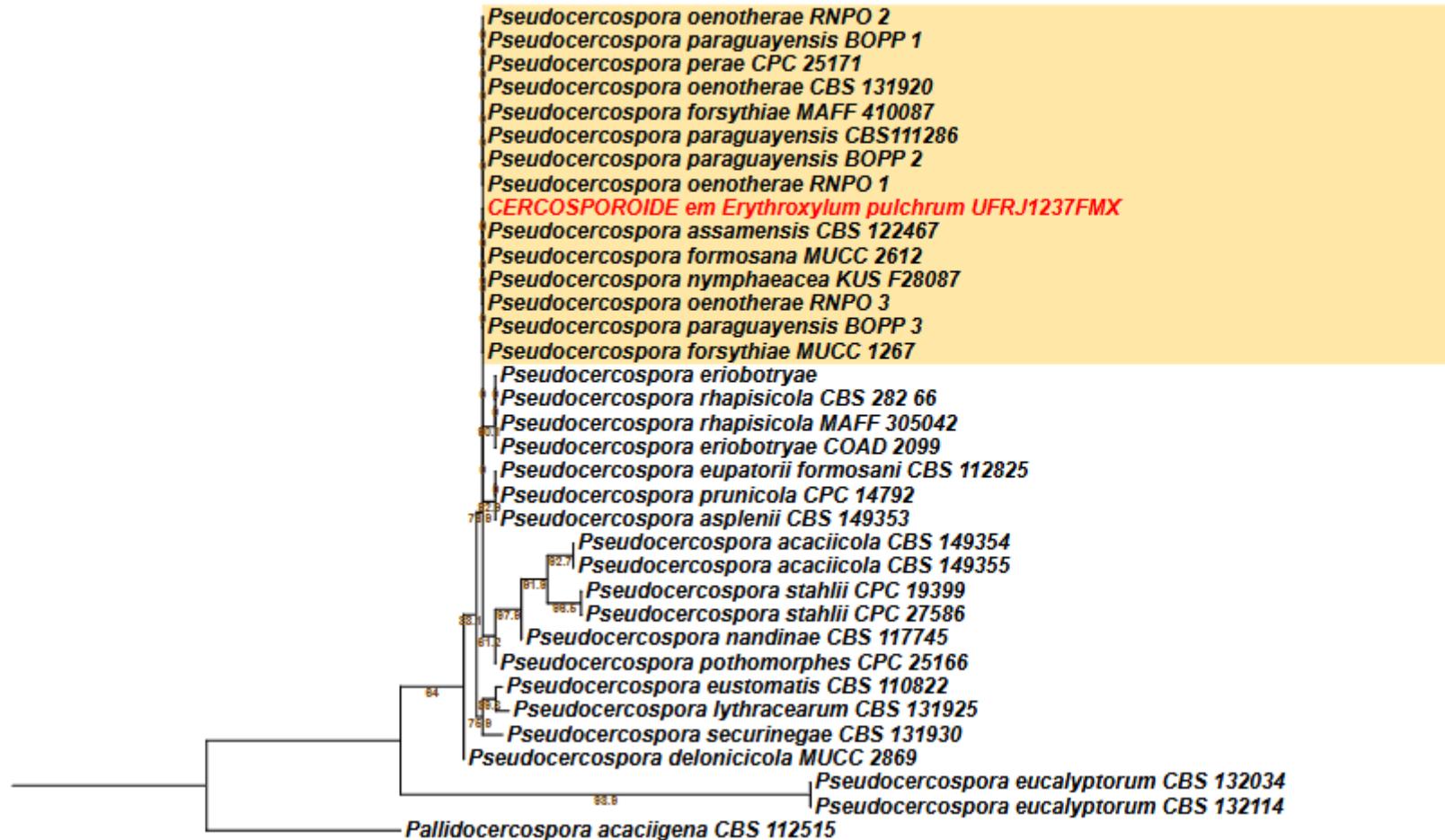


Figura 13. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de bootstrap de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora acaciigena* (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.

Tabela 7. Características de *Pseudocercospora* em folhas de *Erythroxylum pulchrum* comparadas com espécies já descritas neste gênero e em outros da família *Erythroxylaceae*.

Fungo	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (μm)	Conidióforo (μm)	Conídios (μm)	Referência
<i>Cercospora mucronata</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora mucronata</i>)	<i>Rhizophora mucronatae</i> (Rhizophoraceae)	Índia	1,5-10 Anfígena	Hipógeno	45-80 × 4,5-8 septado	35,1-89 × 6-9 septado	Purkayastha & Pal (1996)
<i>C. rhizophorae</i>	<i>Rhizophora mangle</i> (Rhizophoraceae)	Florida (EUA)	5-25 Anfígena	Hipógeno	30-50 × 3-5 1-vários-septos	25-120 × 3-5,6 1-11-septos	Creager (1963)
<i>Pseudocercospora</i> sp.	<i>Erythroxylum pulchrum</i>	Paracambi-RJ (Brasil)	Até 15	24-60 × 19-38	24-55 × 3-7 2-4-septos	29-85 × 2-7 2-7-septos	Andrade (2016)
<i>P. erythroxili</i>	<i>E. monogynum</i> (Erythroxylaceae)	Índia	2-4	15-40 (largura)	26-30 × 2,8-4,2	8-30 × 2,8-5,7 1-5-septos	Govindu & Thirummaicha (1955)
<i>P. erythroxylicola</i>	<i>Erythroxylum</i> sp. (Erythroxylaceae)	Venezuela	1-15	30-80 (largura)	5-20 × 2-4	(15)30-70 (80) × 2-3,5 (1)3-7(8)-septos	Braun & Urtiaga (2013)
<i>Pseudocercospora</i> sp. DENFC314	<i>Erythroxylum pulchrum</i>	Seropédica-RJ	Tamanho irregular	14-34 × 19-38,5	10-30 × 3-4,5 0-2-septos	20-56,5 × 2-3,5 2-7-septos	Este trabalho

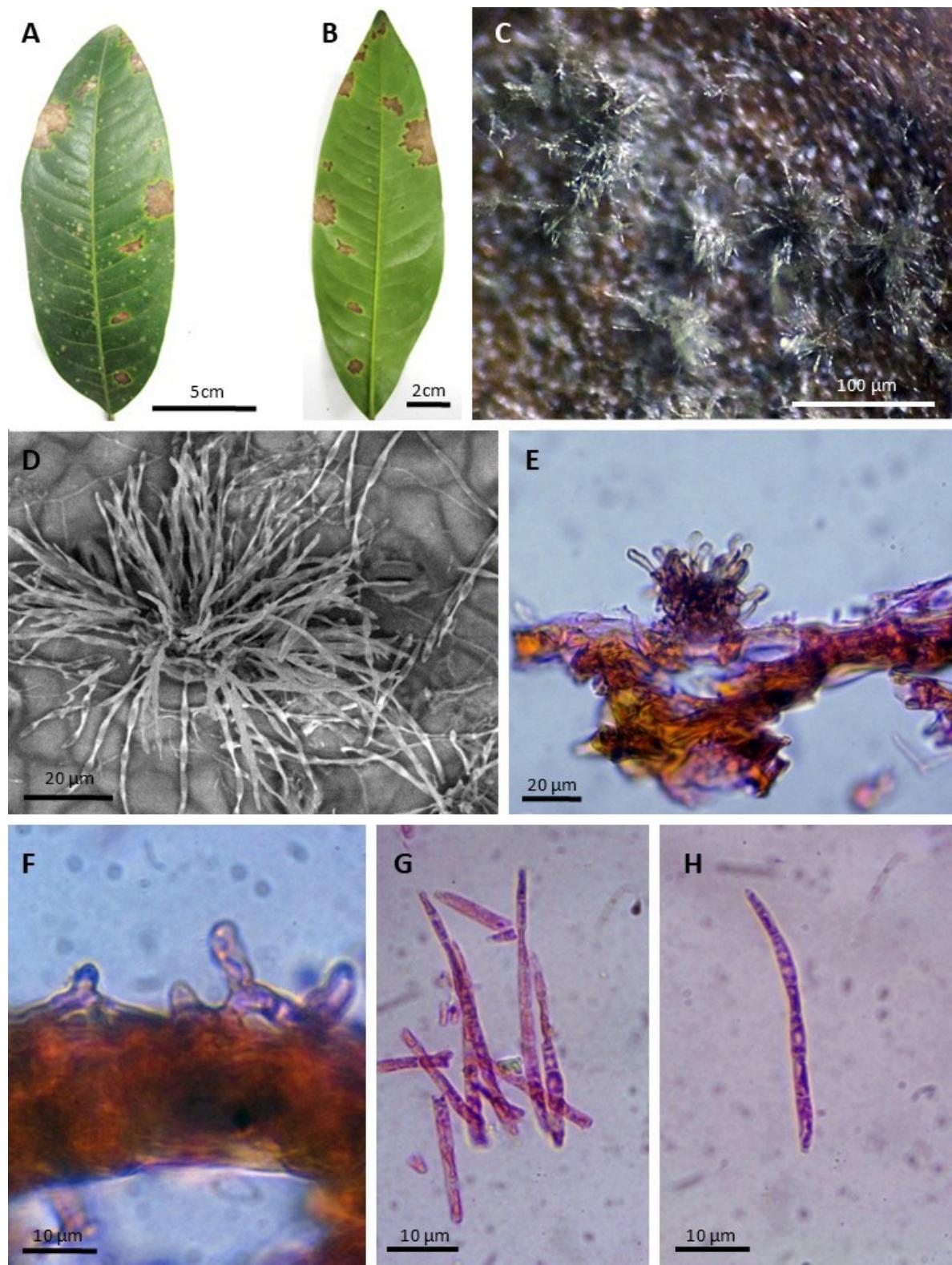


Figura 14. A-H. *Pseudocercospora* sp. Em folhas de *Erythroxylum pulchrum*, coletadas na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Micrografia mostrando o conidióforo e alguns conídios. E. Detalhe do estroma e conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. F. Detalhe da hifa superficial, contendo conidióforos isolados. G-H. Detalhe dos conídios.

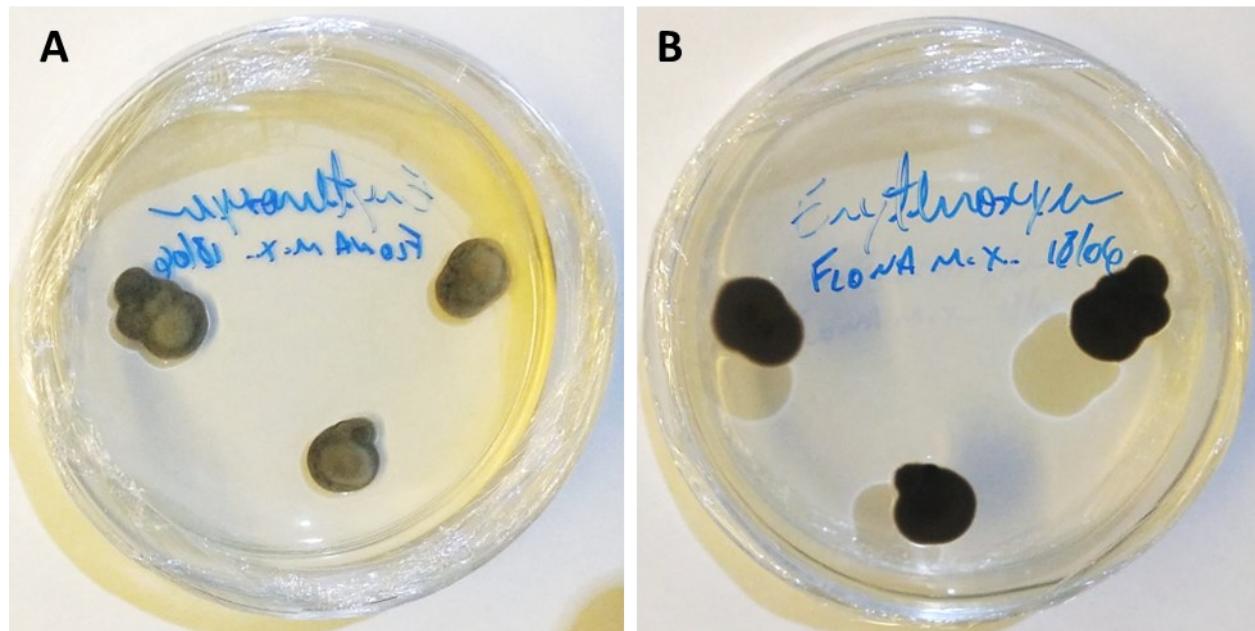


Figura 15. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.

3.2.4. Provável *Nothopassalora* sp. em folhas de *Mimosa caesalpiniaeefolia* (Fabaceae–Mimosoideae) (Figs. 16-20; Tabs. 8-10) - Provável sp. nov. nº 3

Descrição. *Manchas* marrons, irregulares e conspícuas, muitas vezes associadas a sintomas de amarelecimento das folhas, frequentemente coalescendo, e contendo grupos de frutificações na face abaxial. *Hifa superficial* secundária ocorrendo com muita frequência, tendo 1-2 μm de espessura, lisa, septada, aparentemente não ramificada, coloração sub-hialina a marrom. *Hifa interna* não vista. *Estromas* 11-34(45) \times 15-43 μm , localizados na superfície do tecido foliar, em grupos, e nas regiões necrosadas das manchas. *Células do estroma* de 4-8,5 μm de diâmetro, marrons, subglobulares. *Conidióforos* 14-37,5 \times 3-5 μm fasciculados; 0-1 septados, hialinos a oliváceos, e não ramificados, retos ou levemente sinuosos, lisos, com cicatrizes conspícuas; conidiogênese poliblástica (Figura 19, F-G). Com frequência, os conidióforos também ocorrem de forma isolada em hifa superficial secundária. *Conídios* 14-65 \times 2-4 μm , 0-6 septados; lisos ou levemente rugosos, hialinos a oliváceos, elipsóides, cilíndricos ou escolecospóricos, com variação de ápices e bases agudas ou obtusas; ocorrência de cicatrizes inconspícuas. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando baixo crescimento, com coloração verde a cinza escura nas bordas e branca no meio, e aspecto pulverulento a cotonoso (Figura 20).

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, *Campus UFRRJ*. Em folhas de *Mimosa caesalpiniaeefolia* Benth. (Fabaceae) “Sabiá”. Col. Carlos Antonio Inácio nº 312 (UFRJ 1284). 28/02/2023. Col. Hemylson Porto de Souza nº 38 (UFRJ 1308). 14/07/2023. Col. Hemylson Porto de Souza nº 44 (UFRJ 1357). 11/04/2024. Col. Hemylson Porto de Souza nº 65 (UFRJ 1441). Coleção micológica nº DENFC331 (11/04/2024).

Discussão. O fungo desta seção do trabalho (Isolado DENFC331) foi o único que, após a análise filogenética, não foi enquadrado no gênero *Pseudocercospora* sp. Na seção que trata da análise filogenética inicial⁴⁷, foi verificado que o fungo em análise foi agrupado em um clado próximo de *Nothopassalora personata* (Berk. & M.A. Curtis) U. Braun, C. Nakash., Videira & Crous (IRAN3479C). Estas linhagens estão mais próximas evolutivamente de gêneros como *Asperisporium* Maubl. do que dos gêneros *Pseudocercospora* ou *Cercospora* (VIDEIRA et. al., 2017)⁴⁸.

A região *actA*, por apresentar melhor resolução, foi utilizada para elucidar a relação evolutiva do fungo estudado com gêneros mais próximos. Neste sentido, foram construídas quatro árvores filogenéticas para análise do fungo DENFC331. A primeira corresponde ao filograma mais geral (com base em LSU, ITS e *actA* concatenadas), construído inicialmente para identificação dos gêneros de todos os fungos estudados no presente trabalho, confirmando, com isso, o enquadramento de todos na família *Mycosphaerellaceae* (Figura 5)⁴⁹. Este filograma contém gêneros de diferentes clados da família, verificados na literatura (VIDEIRA et. al., 2017), e mostra

⁴⁷ Seção “3.2. Análise filogenética geral”, página 18 deste trabalho.

⁴⁸ Páginas 284 e 288.

⁴⁹ Figura 5, página 20 deste trabalho (Seção 3.2. “Análise filogenética geral”).

o fungo desta seção agrupado junto com *Nothopassalora personata*. Na segunda árvore, com base no *locus* LSU, buscou-se incluir diversos gêneros pertencentes a linhagens próximas de *Nothopassalora personata* (Figura 16, destaque em vermelho). No terceiro filograma (Figura 17), por sua vez, buscou-se elucidar as relações entre os gêneros ainda mais próximos do fungo DENFC331, utilizando-se para isso, a região *actA*, que possui um maior poder de resolução para este nível de análise. Por fim, foi construída uma quarta árvore concatenada (sequências *actA* e LSU), com o intuito de melhorar a separação dos isolados considerados (FIGURA 18). Combinada com o estudo morfológico, a análise filogenética foi realizada com o intuito de identificar o gênero do fungo abordado.

Com isso, analisando-se o segundo cladograma, verificou-se um baixo poder de resolução em separar gêneros das linhagens próximas ao fungo DENFC331, conforme se observa na Figura 16. Dessa forma, o clado destacado em vermelho (com suporte de 79,8%) contém vários gêneros diferentes, com pouca resolução na separação destes grupos. Na Tabela 8, estão listados os gêneros mais próximos do fungo estudado, com os respectivos graus de divergências⁵⁰ em relação a este. Nota-se que a variação na região LSU é muito baixa nestas linhagens, não chegando a 2% de divergência entre gêneros diferentes. Por esta razão, o clado destacado em vermelho (FIGURA 16) não apresenta resolução nas relações evolutivas entre os gêneros. A Tabela 8 também informa se há sequências da região *actA* para cada um dos isolados considerados, aspecto este que será considerado mais adiante.

Na análise da região *actA*, verificou-se maiores níveis de divergência (Tabela 9), o que possibilitou um melhor poder de resolução na árvore filogenética (Figura 17). Com 81,5% de suporte, o clado destacado em vermelho agrupou o fungo DENFC331 junto com *Paracercospora egenula* (Syd.) Deighton (10,48% de divergência) e *Nothopassalora personata* (7,9% de divergência). A Tabela 9 mostra *Mycosphaerella aurantia* A. Maxwell⁵¹ (CBS110500) com o menor grau de divergência (6,8%) com o fungo estudado, mas não foi enquadrado no clado de fungos mais próximos a este. Além disso, só há, na literatura, descrição morfológica do teleomorfo de *M. aurantia*, o que impossibilitou sua inclusão na análise morfológica, tratada mais adiante.

Paracercospora egenula e *Nothopassalora personata*, por outro lado, foram consideradas nesta análise. A Tabela 9 também mostra os níveis de divergência entre *Nothopassalora personata* e os outros fungos representados na árvore *actA*. Neste caso, nota-se que todas estas divergências são maiores que 10%. Ou seja, os níveis de divergência entre *N. personata* e outros gêneros próximos são maiores que a divergência entre este e o fungo estudado (7,9%). Desta forma, é muito provável que 7,9% seja um nível de divergência baixo o suficiente para que o fungo DENFC331 seja enquadrado no gênero *Nothopassalora*, sendo, porém, uma espécie nova. Como *N. personata* é a única espécie descrita no gênero, não é possível verificar os níveis típicos de divergência para a região *actA* dentro do gênero.

⁵⁰ Calculada utilizando-se o programa MEGA 11. (TAMURA *et. al.*, 2021).

⁵¹ Nome atual: *Amycosphaerella africana* (Crous & M.J. Wingf.) Quaedvl. & Crous (QUAEDVLIEG *et. al.*, 2014).

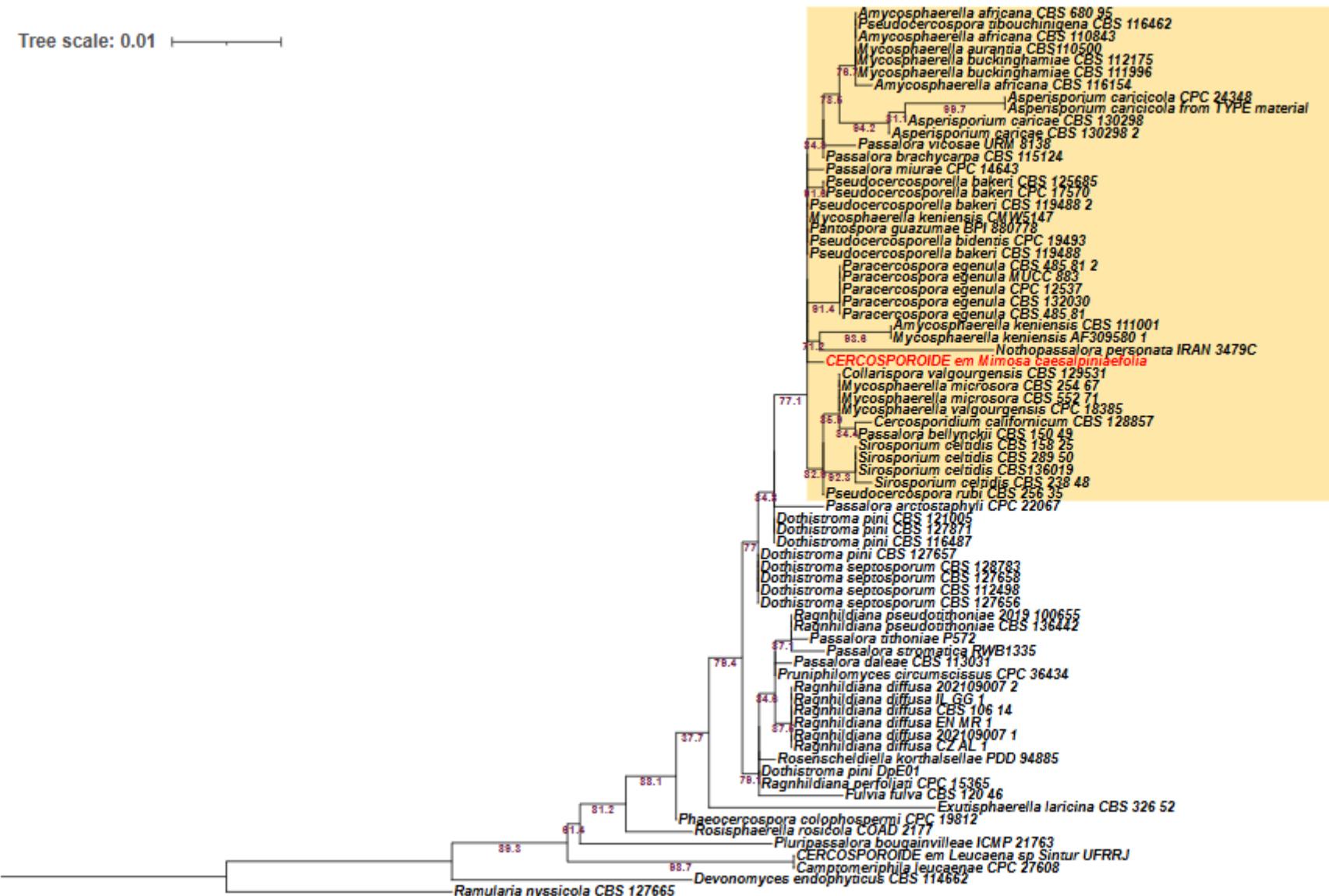


Figura 16. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes a região LSU. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de bootstrap de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou vouchers estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Ramularia nyssicola* (Cooke) Videira & Crous (CBS 127665) foi utilizada como grupo externo.

Tabela 8. Graus de divergência das espécies próximas ao fungo DENFC331, verificadas na árvore baseada na região LSU (Figura 16).⁵²

Isolados considerados no cladograma	Há sequência <i>actA</i> no <i>GeneBank</i> ?	Grau de divergência com o fungo DENFC331 (%)
<i>Pseudocercospora bidentis</i> CPC19493	Não	0,14
<i>Pantospora guazumae</i> BPI880778	Sim	0,28
<i>Pseudocercospora bakeri</i> CBS125685	Sim	0,28
<i>Collarispora valgourgensis</i> CBS129531	Não	0,41
<i>Paracercospora egenula</i> CBS132030	Sim	0,41
<i>Pseudocercospora tibouchinigena</i> CBS116462	Não	0,55
<i>Sirosporium celtidis</i> CBS289.50	Sim	0,55
<i>Amycosphaerella africana</i> CBS110843	Sim	0,55
<i>Cercosporidium californicum</i> CBS128857	Não	0,69
<i>Asperisporium caricae</i> CBS130298	Não	0,97
<i>Asperisporium caricicola</i> CPC24348	Não	1,53
<i>Nothopassalora personata</i> IRAN3479C	Sim	1,54

Visando melhorar o poder de resolução, foi construída uma árvore filogenética concatenada, considerando-se as regiões LSU e *actA* (Figura 18). Um problema encontrado foi que algumas espécies que se mostraram próximas ao DENFC331 (considerando-se a região LSU) não possuem sequências *actA* depositadas no *GeneBank* (Tabela 8). Por essa razão, não foram incluídas na árvore concatenada. Além disso, evidentemente, essas espécies não apareceram na pesquisa inicial, mediante o uso do *Blast*, e, pela mesma razão, não entraram no filograma da região *actA*.

O exemplo mais claro foi o isolado *Pseudocercospora bidentis* Guatim. & R.W. Barreto CPC19493, que apresentou o menor grau de divergência com o fungo abordado nesta seção (0,14%), para a região LSU. Porém, um fungo do mesmo gênero [*Pseudocercospora bakeri* (Syd. & P. Syd.) Deighton CBS125685], e que possui sequência *actA*, também apresentou baixa divergência em LSU (0,28%), mas teve um agrupamento mais distante do fungo estudado, tanto na árvore baseada em *actA*, quanto na árvore concatenada.

⁵² Utilizou-se o programa MEGA 11 para calcular as divergências (método: máxima verossimilhança; pairwise distance; 725 pb).

Por fim, antes de discutir a respeito da análise morfológica, cabe ressaltar que a árvore concatenada (Figura 18) confirmou o agrupamento do fungo DENFC331 junto com *Nothopassalora personata* e *Paracercospora egenula*, num clado com 72,6% de suporte.

Em relação à análise morfológica, é importante iniciar deixando claro que as espécies de fungos cercosporóides selecionadas na literatura para o estudo morfológico (Tabela 10) não contam com sequências depositadas no *GeneBank* (nenhum *locus*). São espécies descritas originalmente ou relatadas infectando plantas do gênero *Mimosa* (*Fabaceae/Mimosoideae*). Neste caso, para estes fungos, não foi possível combinar as análises filogenética e morfológica.

Sendo assim, considerando-se primeiramente estas espécies de cercosporóides (associadas a hospedeiros da família *Fabaceae/Mimosoideae*), nenhuma delas apresentou similaridade morfológica com o fungo DENFC331. Uma característica que poucas espécies compartilham com o fungo em questão é a formação de hifas superficiais secundárias. De todas as espécies consideradas, apenas *Pseudocercospora mimosigena* U. Braun & F.O. Freire (BRAUN & FREIRE, 2002) e *C. peltophori* J.M. Yen⁵³ (YEN, 1964) apresentam esta característica. Porém, a primeira forma cicatrizes inconsípicas nos *loci* conidiogênicos, diferentemente do fungo DENFC331. Além disso, seus conídios são muito mais largos (até 8 µm) que os do fungo em estudo (até 4 µm); enquanto seus conidióforos são mais curtos e mais largos (5-20 × 3-8 µm; contra 14-37,5 × 3-5 µm do fungo desta seção). Já *P. peltophori* (J.M. Yen) J.M. Yen, por sua vez, difere por não formar estromas; as cicatrizes nos *loci* conidiogênicos são inconsípicas; e as hifas externas são mais espessas (2,4-3,6 µm).

As espécies *Cercosporina sensitivae* Speg. (SPEGAZZINI, 1910), *Cercospora mimosae-sensitivae* A. Hern.-Gut. & Dianese (HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ & DIANESE, 2009), *P. hypsophila* (Syd.) U. Braun & F.O. Freire (BRAUN & FREIRE, 2002), *Cercospora pudicae* J.M. Yen (YEN, 1964), *P. mimosae* (Pat.) U. Braun (BRAUN, 1993), e *C. apii* (Fuckel) Fresen. (FRESENIUS, 1863), além de nenhuma delas formar hifas externas, elas também apresentam diferenças nas dimensões dos conídios, conidióforos, e/ou estromas, em relação ao fungo estudado (Tabela 10). De todas estas espécies, a que mais se aproxima é *P. mimosae*, mas, além de não formar hifas externas, nem espessamento nos *loci* conidiogênicos, seus conídios são levemente mais alongados (até 80 µm; no fungo DENFC331 este valor atinge no máximo 65 µm).

Finalmente, analisando as duas espécies que foram agrupadas nos cladogramas juntas com o fungo em questão, *Paracercospora egenula* (DEIGHTON, 1979) e *Nothopassalora personata* (VIDEIRA *et. al.*, 2017), a primeira diferença morfológica importante, mais uma vez, é o fato destes gêneros não formarem hifas externas, por definição⁵⁴. Por outro lado, quanto ao espessamento das cicatrizes nos *loci* conidiogênicos, os dois gêneros apresentam esta característica, embora *N. personata* apresente maior espessamento que *P. egenula*. Mesmo assim, é fato que, neste ponto, ambos se aproximam do fungo DENFC331. Ainda que nos filogramas *N. personata* tenha tido uma posição mais próxima do isolado em estudo, morfologicamente, *P. egenula* apresenta maior similaridade. No caso, *N. personata* difere muito do fungo DENFC331 nas dimensões de conídios, conidióforos e estromas (Tabela 10).

Em relação à *P. egenula*, por outro lado, não há grandes diferenças nestas estruturas. Ocorre que a variação destas dimensões são parâmetros considerados para diferenciar espécies dentro de um

⁵³Nome atual: *P. peltophori* (J.M. Yen) J.M. Yen (1980).

⁵⁴Nas descrições originais de ambos os gêneros (DEIGHTON 1979; e VIDEIRA *et. al.*; respectivamente).

determinado gênero. Sendo assim, considerando-se as dimensões destas estruturas, não há enquadramento morfológico do fungo em questão em nenhuma das duas espécies (*Paracercospora egenula* ou *Nothopassalora personata*), mas possivelmente deve se tratar de uma espécie nova do gênero *Nothopassalora*, pois não há nenhuma incompatibilidade na descrição do fungo em estudo com as delimitações da descrição do gênero *Nothopassalora*, proposta por Braun *et. al.* (VIDEIRA *et. al.*, 2017).

O gênero *Nothopassalora* possui, até o momento, apenas uma espécie descrita (*Nothopassalora personata*)⁵⁵, o que dificulta a comparação com o fungo estudado, tanto em termos morfológicos (não se sabe o nível de variação morfológica dentro do gênero *Nothopassalora*); quanto em termos de filogenia molecular. Neste caso, isso se justifica por não se saber se o fungo DENFC331 foi agrupado junto com *N. personata*: (1) por pertencer ao gênero *Nothopassalora* (sendo uma espécie nova); (2) ou se é o caso de um gênero novo próximo à *Nothopassalora*. Tendo em vista o baixo nível de divergência, é mais provável que seja uma nova espécie deste gênero. Por fim, cabe destacar que *N. personata* foi descrita em *Arachis hypogaea*, planta que pertence à mesma família do hospedeiro do fungo em estudo (*Fabaceae*).

Diante de todo o exposto, é mais provável que o fungo DENFC331 seja uma espécie nova dentro do gênero *Nothopassalora*, ainda que não se deva descartar de pronto a hipótese deste fungo caracterizar um novo gênero, evolutivamente próximo de *Nothopassalora*. O sequenciamento de outras regiões do DNA (*rpb2* e *tef1*) do fungo em questão poderá trazer mais informações para esclarecer a questão.

⁵⁵ Index Fungorum (2024). Disponível em (<https://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>).

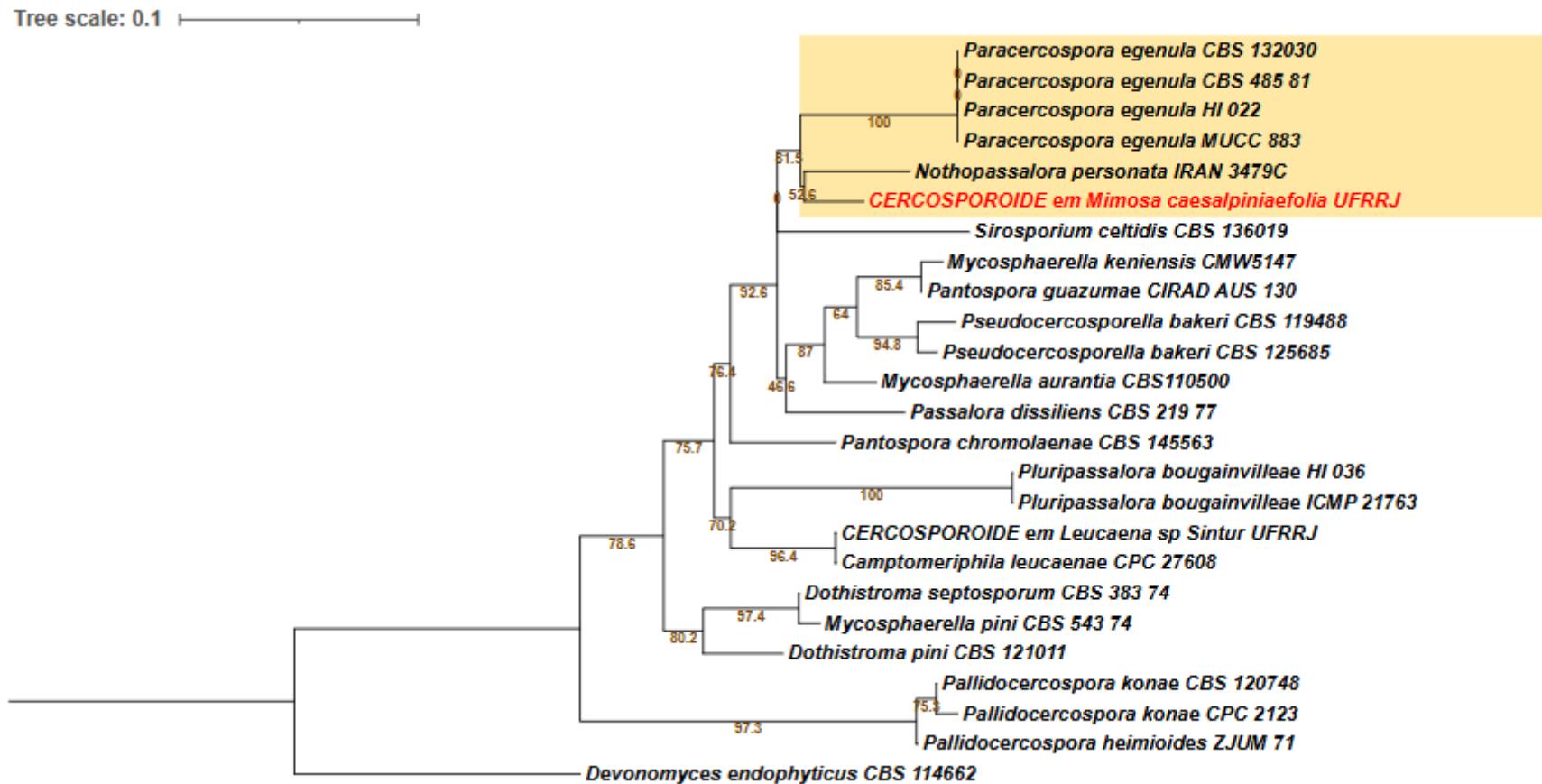


Figura 17. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Devonomycetes endophyticus* (Crous & Hendr. Sm.) Videira & Crous (CBS 114662) foi utilizada como grupo externo.

Tabela 9. Graus de divergência das espécies próximas ao fungo DENFC331, verificadas na árvore baseada na região *actA*.

Isolados considerados no cladograma	Grau de divergência com o fungo DENFC331 (%)	Grau de divergência com <i>Nothopassalora personata</i> IRAN 3479C (%)
<i>Mycosphaerella aurantia</i> CBS110500 ⁵⁶	6,80	11,06
<i>Nothopassalora personata</i> IRAN 3479C	7,90	Não se aplica
<i>Mycosphaerella keniensis</i> CMW5147	10,31	12,21
<i>Pseudocercospora bakeri</i> CBS 119488	10,37	14,78
<i>Pantospora chromolaenae</i> CBS:145563	10,45	14,31
<i>Paracercospora egenula</i> CBS:132030	10,48	12,99
<i>Paracercospora egenula</i> HI-022	10,48	12,99
<i>Paracercospora egenula</i> CBS:485.81	10,54	13,07
<i>Paracercospora egenula</i> MUCC 883	10,73	13,30
<i>Pseudocercospora bakeri</i> CBS 125685	10,96	14,88
<i>Passalora dissiliens</i> CBS 219.77	11,02	12,29
CERCOSPOROIDÉ em <i>Leucaena</i> sp. UFRRJ	11,03	16,82
<i>Pantospora guazumae</i> CIRAD-AUS 130	11,56	13,50
<i>Camptomeriphila leucaenae</i> CPC 27608	12,16	16,82
<i>Dothistroma pini</i> CBS 121011	13,06	16,43
<i>Dothistroma septosporum</i> CBS 383.74	13,44	16,77
<i>Mycosphaerella pini</i> CBS 543.74	13,44	16,77
<i>Sirosporium celtidis</i> CBS 136019	13,57	14,77
<i>Pluripassalora bougainvilleae</i> HI-036	17,16	20,62
<i>Pluripassalora bougainvilleae</i> ICMP 21763	17,16	20,62
<i>Pallidocercospora heimioides</i> ZJUM 71	21,87	25,68
<i>Pallidocercospora konae</i> CBS:120748	21,96	25,79
<i>Pallidocercospora konae</i> CPC 2123	23,47	27,40
<i>Devonomyces endophyticus</i> CBS 114662	35,11	37,72

⁵⁶ Nome atual: *Amycosphaerella africana* (Crous & M.J. Wingf.) Quaedvl. & Crous (QUAEDVLIEG & CROUS, 2014).

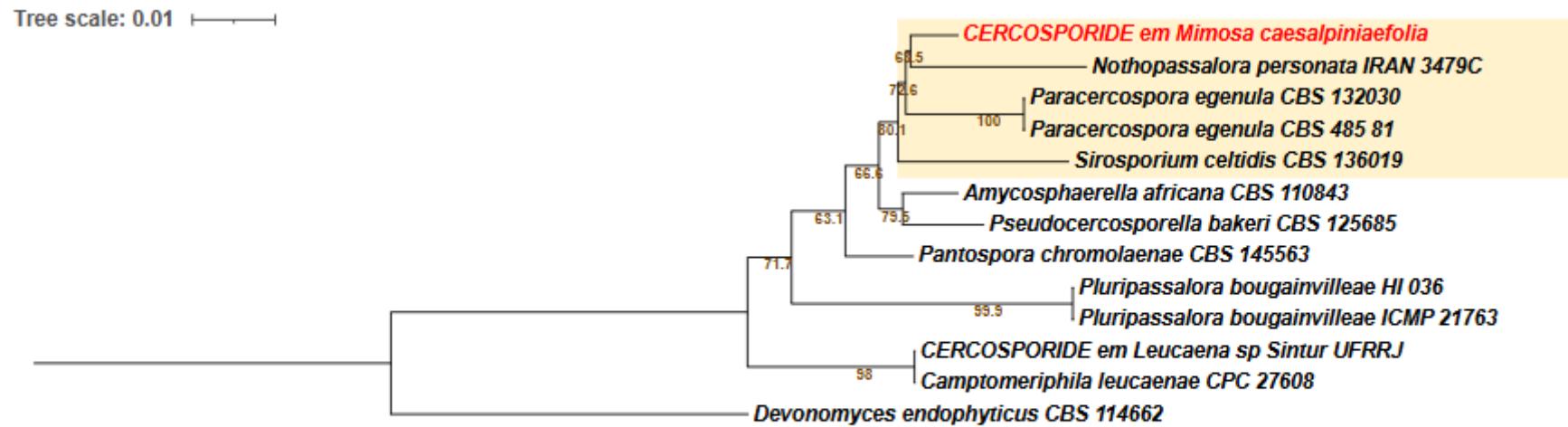


Figura 18. Árvore filogenética concatenada baseada na comparação das sequências referentes às regiões actina (*act4*) e LSU. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Devonomycetes endophyticus* (CBS 114662) foi utilizada como grupo externo.

Tabela 10. Características de fungos cercosporóides em folhas de *Mimosa caesalpiniaefolia* comparadas com espécies de gêneros evolutivamente próximos associados a plantas da família *Fabaceae*, e outras famílias.

Espécies de <i>Cercospora</i> e <i>Pseudocercospora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Hifa superficial (espessura µm)	Estroma (diâmetro µm)	Conidióforo (µm)	Conídios (µm)	Referência
<i>Cercospora apii</i>	<i>Gerbera jamesonii</i> (Asteraceae)	Ceará	marroms	----	----	50-62,5 (comprimento) 0-1-septos	33-166 (comprimento) 0-3-septos	Fresenius (1863)
<i>C. mimosae-sensitivae</i>	<i>Mimosa sensitivae</i> (Fabaceae)	Maranhão	0,5-4 anfígenas	Não ocorre	13-75	49-131 × 4-7 1-6-septos	32-225 × 3-5 2-20-septos	Hernández-Gutiérrez & Dianese (2009)
<i>C. peltophori</i> (Nome atual: <i>P. peltophori</i>)	<i>Peltophorum pterocarpum</i> (Fabaceae)	Singapura	ausentes	2,4-3,6	ausentes	24-36 × 3,5-5 0-4-septos	31,2-72 × 2,5-3,6 3-6-septos	Yen (1964)
<i>C. pudicae</i>	<i>M. pudica</i> (Fabaceae)	Singapura	Irregulares anfígenas	Não ocorre	ausente	20,4-36 × 4,8-6 0-1-septos	31,2-46,8 × 3-4,5 1-3(4)-septos	Yen (1964)
<i>Cercosporina sensitivae</i>	<i>Mimosa sensitivae</i> (Fabaceae)	Argentina	2-5 anfígenas	Não ocorre	40-60	14-18 × 6 1-septo	30-75 × 2-2,5	Spegazzini (1910)
<i>Nothopassalora personata</i>	<i>Arachis hypogaea</i> (Fabaceae)	EUA; Australia	5-12 anfígenas	Não ocorre	42-165 anfígeno	28-63 × 5-7,5 0-1-septos	38-85 × 5-8 2-7-septos	Braun <i>et. al.</i> (2017)
<i>Paracercospora egenula</i>	<i>Solanum campylacanthum</i> (Solanaceae)	África do Sul	Até 5; hipófilas	Não ocorre	10-25 × 20-50 (altura×largura)	8-12(>28) × 4-4,5 asseptados	23-85 × 3-5,5 1-8-septos	Deighton (1979)

Tabela 10. Continuação.

<i>Pseudocercospora</i> <i>hypsofila</i>	<i>M. floribunda</i> (<i>Fabaceae</i>)	Equador	2-15 anfígenas	Não ocorre	30-80	5-30 × 2-4 0-1-septos	30-90 × 2,5-5,5 3-8-septos	Braun & Freire (2002)
<i>P. mimosae</i>	<i>M. floribunda</i> (<i>Fabaceae</i>)	Equador	1-2 anfígenas	Não ocorre	Bem desenvolvido	(5)10-40 × 3-4 Raramente septada	30-80 × 2,5-5 Multiseptado	Braun (1993)
<i>P. mimosigena</i>	<i>Mimosa</i> sp. (<i>Fabaceae</i>)	Ceará, Brasil	0,5-3 (quando presentes)	1-4	10-50	5-20 × 3-8 0-1-septos	40-80 × (3)4-8 3-6-septos	Braun & Freire (2002)
Cercosporóide DENFC331	<i>Mimosa</i> <i>caesalpiniaeefolia</i>	<i>Campus da</i> <i>UFRRJ,</i> <i>Seropédica</i>	Tamanho irregular	Abundantes 1-2	11-34(45) × 15-43	14-37,5 × 3-5 0-2-septos	14-65 × 2-4 0-6-septos	Este trabalho

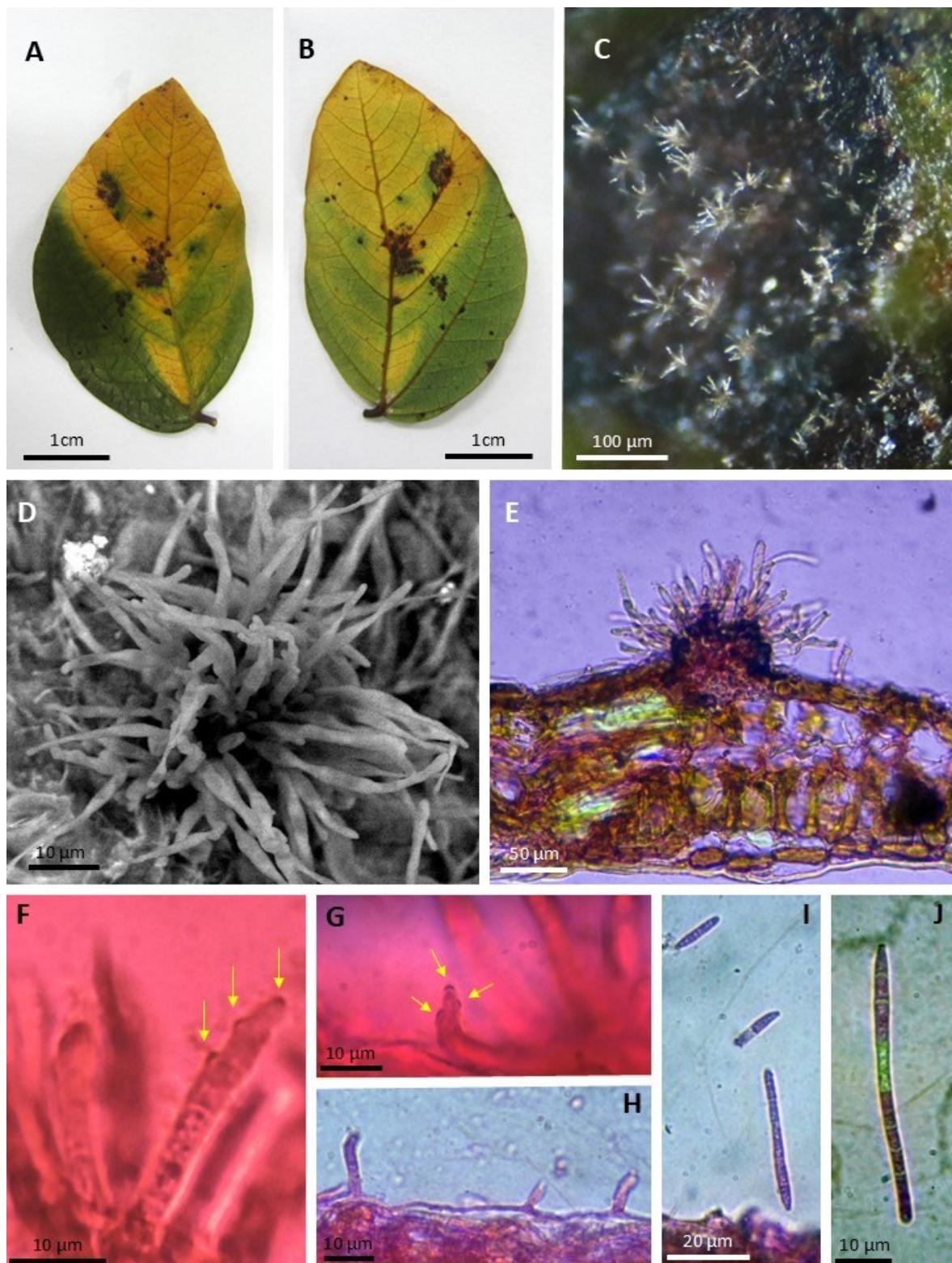


Figura 19. A-H. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Mimosa caesalpiniæfolia* (sabiá), coletadas no campus da UFRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Micrografia mostrando conidióforo em detalhe. E. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. F-G. Espessamento das cicatrizes verificadas nos loci conidiogênicos (setas). H. Detalhe da hifa secundária superficial, contendo conidióforos isolados. I-J. Detalhe dos conídios.

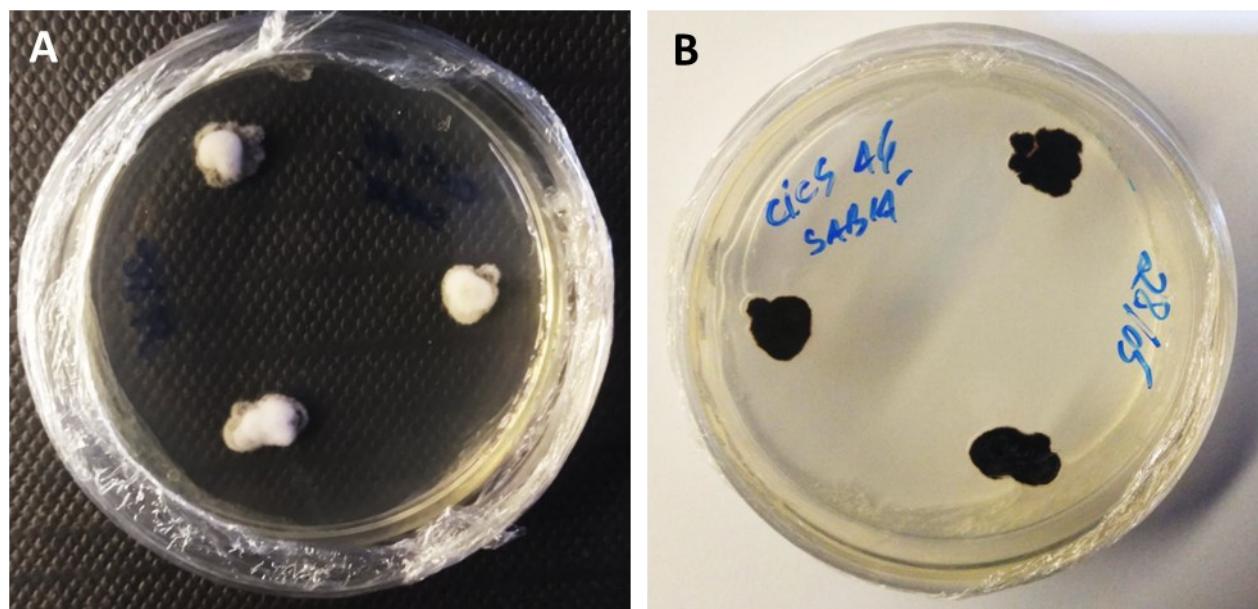


Figura 20. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.

3.2.5. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Abelmoschus esculentus* (Malvaceae) (Figs. 21-23; Tabs. 11-12) - Provável sp. nov. nº. 4

Descrição. *Manchas* foliares marrons, irregulares, coalescentes, contendo grupos de frutificações com maior frequência na face inferior. *Estromas* 18-47 × 18-39,5 µm, localizados na superfície do tecido foliar, em grupos, e nas regiões necrosadas das manchas. *Células do estroma* 4-9,5 µm, isométricas, marrons. *Conidióforos* 53-131,5 × 4,5-6,5 µm, fasciculados; de 1-7-septos; lisos, oliváceos a marrons, não ramificados, suavemente sinuosos, com cicatrizes inconstantes; às vezes ocorrendo uma pequena protuberância na região onde ocorre a cicatriz (papilados). *Conídios* 25,5-46 × 5,5-8,5 µm, com 1-3(4)-septos, lisos, hialinos, cilíndricos a subclavados, lisos, obtusos no ápice, e frequentemente papilados na região basal (Figura 22, F e G); com cicatrizes inconstantes. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando crescimento muito baixo, com coloração verde a cinza escura, e aspecto pulverulento (Figura 23).

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, *Campus UFRRJ*. Em folhas de *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (Malvaceae) “Quiabo”. 17/07/2019. Col. Ari Santiago nº 02 (UFRJ 1061). 20/06/2023. Col. Ari Santiago nº 07 (UFRJ 1345). Coleção micológica nº DENFC316 (21/06/2023).

Discussão. A análise filogenética para o fungo desta seção (DENFC316) foi realizada com base nas regiões ITS e *actA*, pois inicialmente não foi possível o sequenciamento da região LSU. De todo modo, a região ITS apresentou baixíssimo poder de resolução, devido à baixa variação da sequência em linhagens de *Pseudocercospora* próximas ao fungo DENFC316. Desse modo, utilizando-se o recurso *Nucleotide Blast*, foram constatadas 26 espécies distintas com mais de 99% de similaridade com o fungo DENFC316 (fragmento de 521 pb), o que impossibilitou a construção de uma árvore filogenética com poder de resolução suficiente para separar as espécies com base na região ITS.

A região *actA*, embora tenha mostrado uma variação maior do que a ITS, também não permitiu construir uma árvore filogenética com bom poder de resolução para separar as espécies mais próximas. Dessa forma, a Figura 21 ilustra a árvore construída com base na região *actA*, onde estão consideradas as espécies mais próximas do fungo DENFC316, verificadas mediante o uso do *Blast*. Nota-se muitas politomias neste filograma, o que é uma decorrência do baixo grau de divergência no *locus actA* entre estas espécies. De qualquer forma, observa-se que o fungo DENFC316 está posicionado em um clado com 76,8% de suporte (destacado em vermelho), apresentando politomias. Isto se deu em razão da baixa variação na sequência *actA* entre isolados de cinco espécies diferentes (Tabela 11).

Desse modo, assim como ocorreu com o fungo DENFC314 (associado a *Erythroxylum pulchrum*)⁵⁷ esta imprecisão no posicionamento evolutivo das espécies próximas ao fungo em questão (DENFC316) impossibilitou a seleção de espécies para serem consideradas na análise

⁵⁷ Tratado na “seção 3.2.3” deste capítulo.

morfológica. Interessante registrar que *Pseudocercospora abelmoschi* (Ellis & Everh.) Deighton (CBS132103), espécie descrita em *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, não teve um agrupamento tão próximo ao fungo desta seção (5,721% de divergência). Por essa razão, a análise filogenética da região *actA* possibilitou ao menos constatar que é pouco provável o enquadramento do fungo DENFC316 na espécie *Pseudocercospora abelmoschi*.

Tabela 11. Graus de divergência⁵⁸ das espécies próximas ao fungo DENFC316, verificadas na árvore baseada na região *actA* (Figura 21).

Isolados do clado ao qual está posicionado o fungo DENFC335	Grau de divergência com o fungo DENFC335 (%)
<i>Pseudocercospora_atromarginalis_CCTU_1052</i>	1,101
<i>Pseudocercospora_chengtuensis_CBS:131924</i>	1,101
<i>Pseudocercospora_pittospori_HI-018</i>	1,101
<i>Pseudocercospora_tabernaemontanae_CPC_19198</i>	1,101
<i>Pseudocercospora_atromarginalis_CBS:114640</i>	1,655
<i>Pseudocercospora_atromarginalis_CPC_11372</i>	1,655
<i>Pseudocercospora_atromarginalis_CPC_25230</i>	1,661
<i>Pseudocercospora_fuligena_CBS:132017</i>	1,661
<i>Pseudocercospora_atromarginalis_CPC:14649</i>	2,219
<i>Pseudocercospora_bruceae_MUCC_2875</i>	2,219
<i>Pseudocercospora_fuligena_CBS:109729</i>	2,219
<i>Pseudocercospora_delonicicola_MUCC_2869</i>	4,524
<i>Pseudocercospora_eriobotryae_COAD:2099</i>	5,118
<i>Pseudocercospora_eriobotryae_MUCC:1007</i>	5,118
<i>Pseudocercospora_paraguayensis_CBS:111317</i>	5,698
<i>Pseudocercospora_abelmoschi_CBS:132103</i>	5,721
<i>Pseudocercospora_pini-densiflorae_MUCC_534</i>	6,305
<i>Pseudocercospora_aleuritis_MAFF_237174</i>	6,336
<i>Pseudocercospora_securinegae_CBS:131930</i>	6,862
<i>Pseudocercospora_nandinae_CBS:117745</i>	6,895
<i>Pseudocercospora_eustomatis_CBS:110822</i>	6,920
<i>Pseudocercospora_cotoneastri_MUCC:1416</i>	6,951
<i>Pseudocercospora_amelanchieris_MUCC:885</i>	7,518
<i>Pallidocercospora_heimioides_CBS_111190</i>	31,933

⁵⁸ Utilizou-se o programa MEGA 11 para calcular as divergências (método: máxima verossimilhança; *pairwise distance*; 177 pb).

Tree scale: 0.1

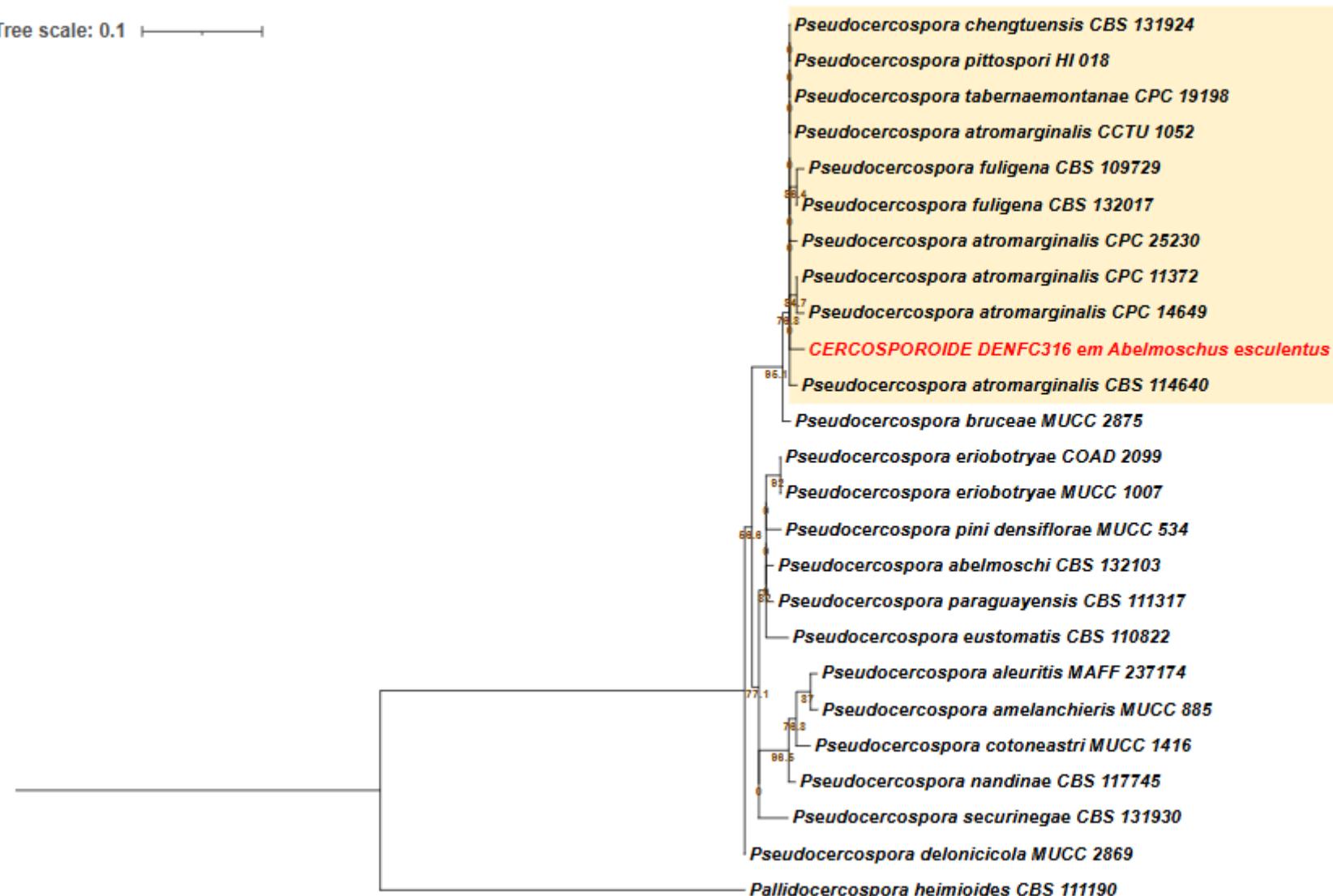


Figura 21. Árvore filogenética baseada na comparação das sequências referentes às regiões actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora heimioides* (CBS 111190) foi utilizada como grupo externo.

Sendo assim, para esta seção do trabalho, a análise morfológica assume maior peso na caracterização do fungo DENFC316. Na Tabela 12, foram listadas espécies de *Cercospora* e *Pseudocercospora* descritas em plantas da família *Malvaceae*. A primeira espécie, *Cercospora abelmoschi* Ellis & Everh.⁵⁹ (ELLIS & EVERHART, 1893), apresenta distinções morfológicas claras em relação ao fungo DENFC316, formando conídios mais estreitos (4 µm de largura; sendo até 8,5 µm de largura no fungo estudado); e conidióforos mais curtos (até 50 µm; sendo até 131,5 µm no fungo analisado). Estes dados morfológicos corroboram com as conclusões discutidas há pouco na análise filogenética molecular, quando se defendeu que é pouco provável que o fungo DENFC316 seja uma *P. abelmoschi*.

As outras espécies, em sua maioria, diferem claramente do fungo em análise. Por exemplo, *Pseudocercospora stahlii* (F. Stevens) Deighton (DEIGHTON, 1976) e *Cercospora hibiscina* Ellis & Everh. (ELLIS & EVERHART, 1895) formam conidióforos com comprimentos muito maiores que os formados pelo fungo DENFC316 (comprimento maior que 300 µm na primeira espécie; máximo de 400 µm na segunda; e 131,5 µm no fungo em estudo). Além dos conidióforos, *C. malayensis* F. Stevens & Solheim (SOLHEIM & STEVENS, 1931) também forma conídios mais longos (conidióforos: até 260 µm; conídios: até 270 µm). *C. kellermanii* Bubák (BUBÁK, 1903), por sua vez, possui apenas conídios mais longos (até 150 µm). Por outro lado, *C. brachypoda* Speg. (SPEGAZZINI, 1882) apresenta conidióforos muito mais curtos que os formados pelo fungo DENFC316, atingindo valores máximos de apenas 10 µm.

Portanto, fica claro que não há convergência morfológica do fungo DENFC316 com nenhuma das espécies que ocorrem em plantas da família *Malvaceae*. Deste modo, é provável que o fungo estudado seja enquadrado em alguma das várias espécies posicionadas próximas, no filograma discutido nesta seção (Figura 21). Para elucidar a questão, é necessário dar seguimento à análise filogenética molecular mediante o sequenciamento de outras regiões DNA (*rpb2* e *tef1*) do fungo DENFC316. Caso não haja enquadramento filogenético nestas espécies, será provável que o fungo estudado seja de uma nova espécie.

⁵⁹ Nome atual: *Pseudocercospora abelmoschi* (DEIGHTON, 1976).

Tabela 12. Características de cercosporóide em folhas de *Abelmoschus esculentus* comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família *Malvaceae*.

Espécies de cercosporóides	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro μm)	conidióforos (μm)	conídios (μm)	Referência
<i>Cercospora abelmoschi</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora abelmoschi</i>)	<i>Hibiscus esculentus</i> (Malvaceae)	Jamaica	hipófilas	—	40-50 \times 4 “moderadamente septatos”	30-45 \times 4 1-5-septos	Ellis & Everhart (1893)
<i>C. althaeina</i>	<i>Althaea rosea</i> (Malvaceae)	Itália	Anfigena	—	(100) 4 \times 5 “poucos septos”	40-50 \times 5 2-4-septos	Saccardo (1878)
<i>C. brachypoda</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora brachypoda</i>)	<i>Hibiscus</i> sp. (Malvaceae)	Argentina	2-10 Anfigena	hipófilos	5-10 \times 3 sem septos	30-50 \times 2-2,5 2-4-septos	Spegazzini (1882)
<i>C. hibiscina</i> (nome atual: <i>Pseudocercospora hibiscina</i>)	<i>Hibiscus tiliaceus</i> (Malvaceae)	México	2-4 hipófilas	—	300-400 \times 3,5-4 “septado”	30-50 \times 3,5-4,5 3-septos	Ellis & Everhart (1895)
<i>C. kellermanii</i>	<i>Althaea rosea</i> (Malvaceae)	EUA	Até 1cm Anfigena	Anfigena	150 \times 4-5 3-5-septos	50-150 \times 4-5 5-15-septos	Bubák (1903)
<i>C. malayensis</i>	<i>Hibiscus esculentus</i> (Malvaceae)	Filipinas	irregulares	>11	25-260 \times 3-5 1-8-septos	50-270 \times 2,5-4 4-40-septos	Stevens & Solheim (1931)

Tabela 12. Continuação.

<i>Pseudocercospora</i> <i>stahlii</i>	<i>Passiflora</i> <i>foetida</i> (<i>Passifloraceae</i>)	Porto Rico	5 (largura) Anfigena	20-40	>300 × 4-7 “septado”	20-64 × 4-7 1-7-septos	Deighton (1976)
<i>Pseudocercospora</i> sp. DENFC316	<i>Abelmoschus</i> <i>esculentus</i>	Campus da UFRRJ, Seropédica	Tamanho irregular	18-47 × 18-39,5	53-131,5 × 4,5-6,5 1-7- septos	25,5-46 × 5,5-8,5 1-3(4)-septos	Este trabalho

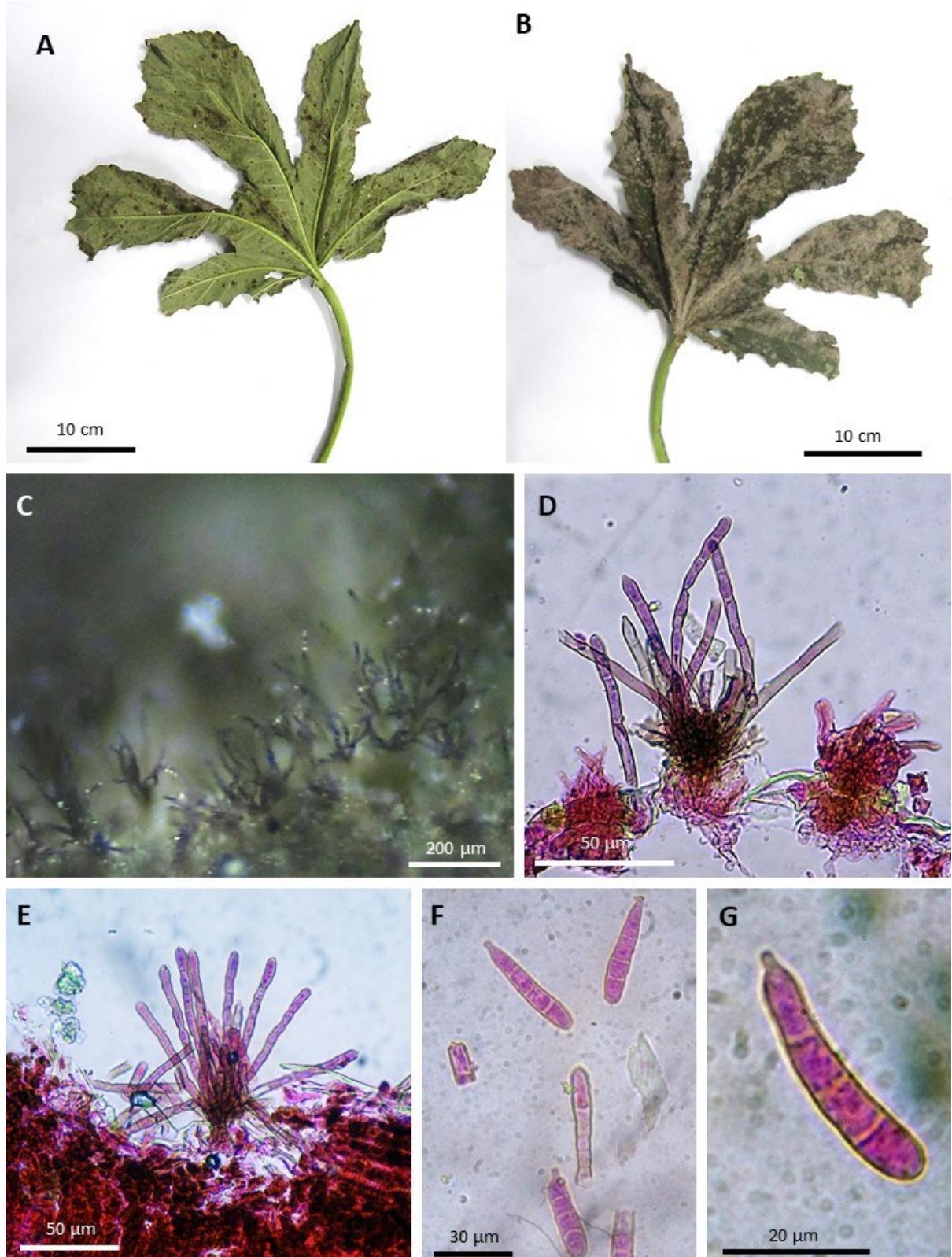


Figura 22. A-H. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Abelmoschus esculentus* (Malvaceae), coletadas no campus da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região abaxial (A) e adaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. D. Grupo de estromas e conidióforos, em corte vertical-transversal. E. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados. F. Grupo de conídios. G. Detalhe de conídio.

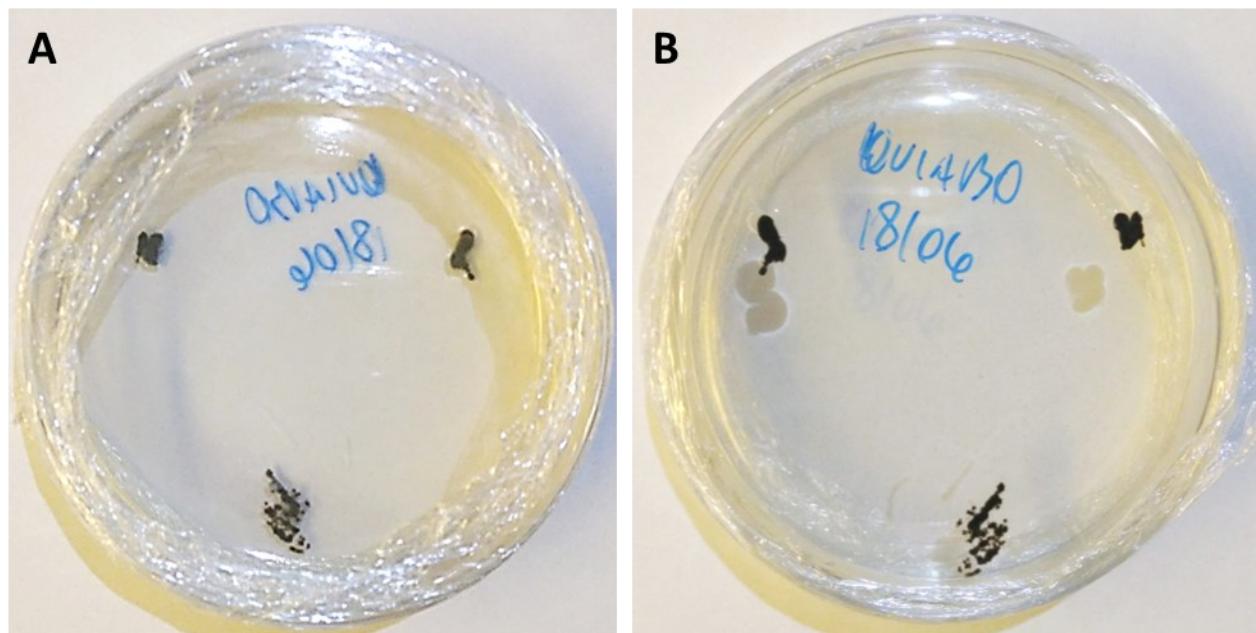


Figura 23. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.

3.2.6. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Bixa orellana* (Bixaceae) (Figs. 24-26; Tab. 13) - *Pseudocercospora* cf. *bixae* (Allesch. & F. Noack) Crous, Alfenas & R.W. Barreto

Descrição. *Manchas* foliares marrons, de irregulares a circulares, coalescentes, muitas vezes com um halo de amarelecimento, contendo grupos de frutificações em ambas as faces, com maior frequência na face inferior. *Estroma* 23,5–47 × 23,5–55,5 µm, localizados na superfície do tecido foliar, em grupos, e nas regiões necrosadas das manchas. *Células do estroma* 4,5–8,5 × 4,5–5,5 µm, marrons, subretangulares. *Conidióforos* 19–47 × 3–4,5 µm, fasciculados; 0–2–septados, lisos a levemente rugosos, com coloração marrom e crescimento simpodial, sinuosos, não ramificados, com cicatrizes inconsíprias. *Conídios* 24,5–219 × 3–6,5 µm, 0–10–septados, hialinos a olivaceos, escolecospóricos, lisos, agudos na base e no ápice, com cicatrizes inconsíprias. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando coloração verde a cinza escura, e aspecto pulverulento (Figura 25).

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, *Campus* UFRJ. Em folhas de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) “Urucum”. 18/07/2019. Col. Wattson Quinelato Barreto de Araújo nº 26 (UFRJ 1027). 17/08/2023. Col. Hemylson Porto de Souza nº 52 (UFRJ 1383). Coleção micológica nº DENFC334 (17/08/2023).

Discussão. Assim como ocorreu com a maioria dos fungos estudados neste trabalho, as regiões ITS e LSU apresentaram baixíssimo poder de resolução para separação de espécies próximas do fungo desta seção (DENFC334). Para a região ITS, utilizando-se a ferramenta *Nucleotide Blast*, verificou-se 13 espécies com mais de 99% de similaridade com o fungo em análise (fragmento de 517 pb). Já para a região LSU, 28 espécies distintas apresentaram mais 99% de similaridade com o fungo DENFC333 (fragmento de 888 pb). Esta situação reflete a baixa variação nas sequências de ITS e LSU das espécies de *Pseudocercospora* posicionadas em clados próximos, o que impossibilita a construção de filogramas com poder de resolução suficiente para separar as espécies.

Por outro lado, a região *actA* mostrou um grau de variação suficiente para separar espécies pertencentes a linhagens próximas do fungo DENFC333, o que possibilitou a construção de um cladograma satisfatório para análise (Figura 24). Neste sentido, nota-se na árvore filogenética que o fungo em questão foi agrupado junto com *Pseudocercospora bixae* (Allesch. & F. Noack) Crous, Alfenas & R.W. Barreto (1,284% de divergência⁶⁰) e *P. sordida* (Sacc.) Deighton (4,611% de divergência), sendo a primeira delas a provável espécie a qual pertence o fungo DENFC333.

Cabe indagar se 1,28% é um nível de divergência suficiente para excluir o fungo estudado da espécie *P. bixae*. Ao analisar as distâncias entre alguns isolados presentes no filograma, chega-

⁶⁰ Divergências relativas à região *actA*, calculadas com o uso do programa MEGA 11 (método: máxima verossimilhança; *pairwise distance*; 158 pb), considerando-se os 28 isolados presentes no filograma, após o alinhamento manual.

se à conclusão que fungos das linhagens ilustradas no filograma com 1,284% pertençam à mesma espécie. Por exemplo, o nível de divergência entre *P. norchiensis* Crous CBS120738 e qualquer um dos isolados de *P. norchiensis* CCTU (CCTU1009, CCTU1032 ou CCTU1019) é de 1,278%, ou seja, praticamente a mesma distância entre o fungo DENFC333 e *P. bixae* CPC25244 (1,284%). Do mesmo modo, outro exemplo é o que ocorre com a espécie *P. lutzardii* Furlan. & Dianese, que apresenta um grau de divergência de 1,284% entre os isolados CPC25196 e CPC2556. As outras espécies que apresentam mais de um isolado no filograma divergem em níveis menores que 1,284% (divergência entre os isolados da mesma espécie). Portanto, em termos filogenéticos, e com base na região *actA*, é mais provável que o fungo DENFC333 pertença à espécie *Pseudocercospora bixae*. Cabe agora analisar esta hipótese em termos morfológicos.

Na Tabela 13, foram consideradas três descrições de *P. bixae*: a descrição original (CROUS, ALFENAS & BARRETO, 1997), que na verdade foi uma combinação nova, proposta para *Cercospora bixae* Allesch. & F. Noack (SACCARDO & SYDOW, 1902⁶¹); a segunda foi a descrição realizada por Silva *et. al.* (2016); a terceira é a descrição de Chupp (1954) de *C. bixae*. Nenhuma das três descrições apresentou grande proximidade com o fungo DENFC333, que mostrou conídios com dimensões muito maiores (comprimento até 219 µm; largura até 6,5 µm). Importante registrar que *P. bixae* descrita por Silva *et. al.* (2016) corresponde ao isolado CPC25244, que foi agrupado junto com o fungo DENFC333 no cladograma da Figura 24. Morfologicamente, esta foi a descrição que mais divergiu do fungo DENFC333, principalmente nas dimensões dos conídios (comprimento até 99 µm; largura até 4 µm). Porém, não houve distinções claras em relação às outras estruturas dos dois fungos.

Por outro lado, *P. bixae* descrita por Crous, Alfenas & Barreto (1997) apresentou conídios mais longos (até 130 µm), mas, ainda assim, claramente mais curtos que os referentes ao fungo DENFC333 (até 219 µm); mas com conidióforos atingindo quase o dobro (até 80 µm) do comprimento do fungo desta seção (até 47 µm). *Cercospora bixae* (CHUPP, 1954), por sua vez, só apresentou diferenças claras em relação aos conídios (até 130 µm de comprimento; e até 4 µm de largura). Considerando que o grau de divergência na região *actA* entre o fungo DENFC333 e a espécie *P. bixae* CPC25244 (SILVA *et. al.*, 2016) foi de 1,284%, supõe-se que haja uma correlação entre as variações morfológicas verificadas e este nível de divergência na região *actA*, que é relativamente alto para uma variação intraespecífica⁶², embora não seja alto suficiente para separação de duas espécies, conforme já discutido acima. Sendo assim, conclui-se que as diferenças morfológicas destacadas sejam decorrentes de variabilidade genética intraespecífica, mantendo-se, dessa forma, o entendimento de que o fungo DENFC333 pertença à espécie *Pseudocercospora bixae*.

Cabe ainda registrar que *P. bixicola* Goh & W.H. Hsieh (GOH & HSIEH, 1990) é outra espécie descrita em *Bixa orellana* L., mas que não conta com sequências de DNA depositadas no *GeneBank*. De qualquer forma, não há convergência morfológica deste fungo com o isolado DENFC333 (Tabela 13). Por fim, também não há convergência com *P. sordida* (TAHERIYAN

⁶¹ Página 1066, no *Sylloge Fungorum*. v. 16 (SACCARDO & SYDOW, 1902).

⁶² Isolados da mesma espécie apresentados no cladograma da Figura 24 apresentaram divergência de 0,00%, ou valores próximos a este (exemplos: *Pseudocercospora nogalesii* CBS115022 e CBS122501, com 0,63% de divergência; *P. eucalyptorum* CBS132034 e CBS132114, com 0,00%; *P. pistacina* CPC32978 e CPC32985, com 0,00%).

et. al., 2014), espécie que, na análise filogenética da região *actA*, apresentou divergência de 4,61% com o fungo DENFC333, conforme já discutido.

Tendo em vista todo o exposto, é mais provável que o fungo analisado nesta seção (isolado DENFC333) pertença à espécie *Pseudocercospora bixae* (Allesch. & F. Noack) Crous.

Tree scale: 0.1

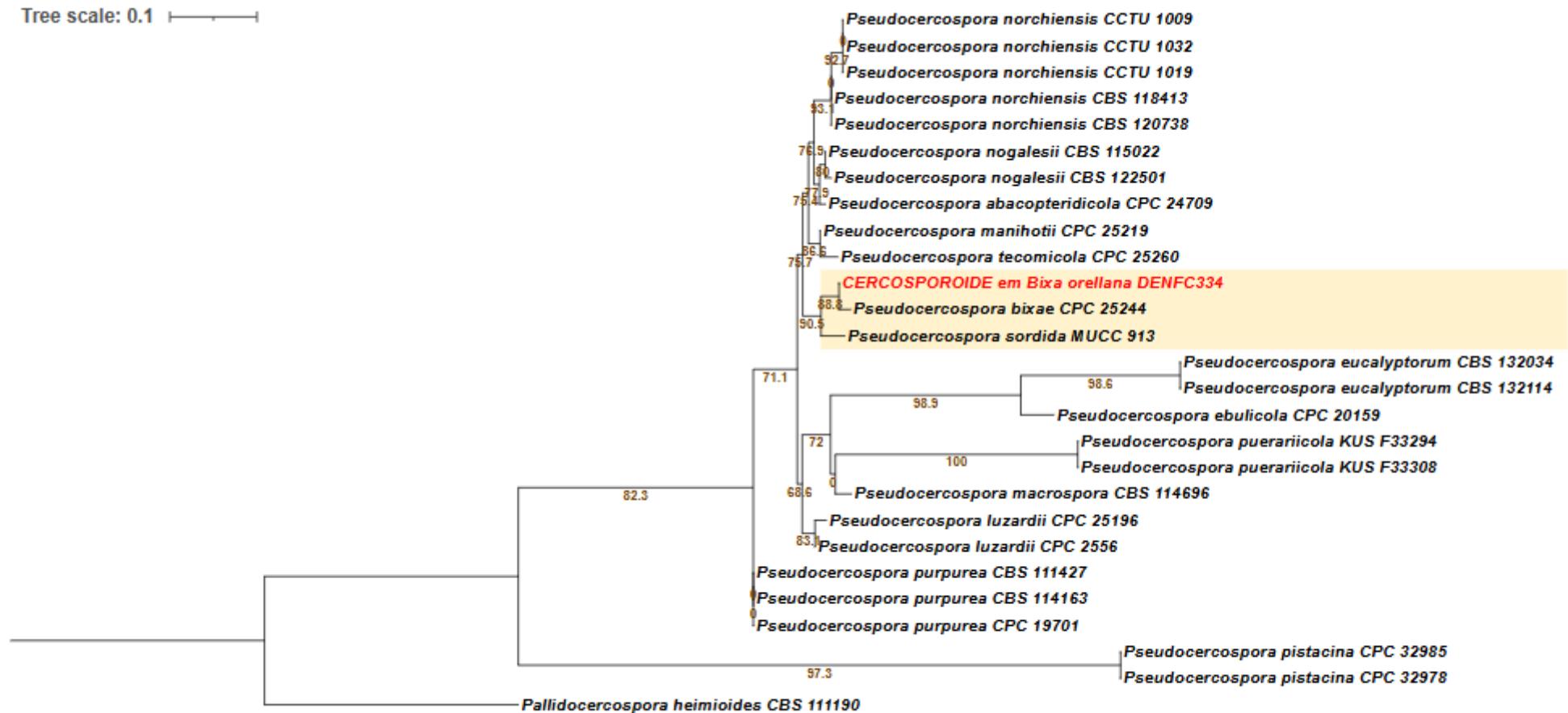


Figura 24. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora heimioides* (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 111190) foi utilizada como grupo externo.

Tabela 13. Características de cercosporóide em folhas de *Bixa orellana* comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família *Bixaceae*.

Espécies de cercosporóides	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro µm)	conidióforos (µm)	conídios (µm)	Referência
<i>Cercospora bixae</i>	<i>B. orellana</i> (Bixaceae)	São Paulo	3-15	20-40 Anfígenos	15-60 × 2,5-3,5 asseptados	25-130 × 2-4 asseptados	Chupp (1954)
<i>C. bixicola</i>	<i>B. orellana</i> (Bixaceae)	Índia	0,5-11 anfígenos	15-23,6	56,2-102 × 3,1-4 2-5-septos	26,2-135,8 × 2,2-3,7 2-11-septos	Narayan, Kharwar & Singh (1997)
<i>C. sordida</i>	<i>Tecoma radicans</i> (Bignoniaceae)	EUA	---	Ausente ou rudimentar	20-120 × 3-5 septados	20-200 × 3-5 multisseptado	Chupp (1954)
<i>Pseudocercospora bixae</i>	<i>B. orellana</i> (Bixaceae)	São Paulo	3-15 anfígenos	60 × 25	30-80 × 3-4 1-3-septos	30-130 × (2)3-4 3-10-septos	Crous, Alfenas & Barreto (1997)
<i>P. bixae</i>	<i>B. orellana</i> (Bixaceae)	São Paulo; Minas Gerais	4-12 anfígenos	12-32 × 22-50 (altura × largura)	12-50 × 2,5-4 0-3-septos	34-99 × 3-4 2-7-septos	Silva, et. al. (2016)
<i>P. bixicola</i>	<i>Bixa orellana</i> (Bixaceae)	Taiwan	3-15 anfígenos	20-60; Geralmente hipófilos	15-40 × 2,5-4 0-3-septos	30-60 × 2-3 3-6-septos	Goh & Hsieh (1990)
<i>P. sordida</i>	<i>Campsis</i> sp. (Bignoniaceae)	Iran	2-6	Ausente ou rudimentar	25-65 × 4-7 1-9-septos	20-165 × 3-5 2-15-septos	Taheriyan et. al. (2014)
<i>Pseudocercospora</i> sp. DENFC334	<i>Bixa orellana</i>	Campus da UFRRJ, Seropédica	irregular	23,5-47 × 23,5-55,5	19-47 × 3-4,5 0-2-Septos	24,5-219 × 3-6,5 0-10-Septos	Este trabalho

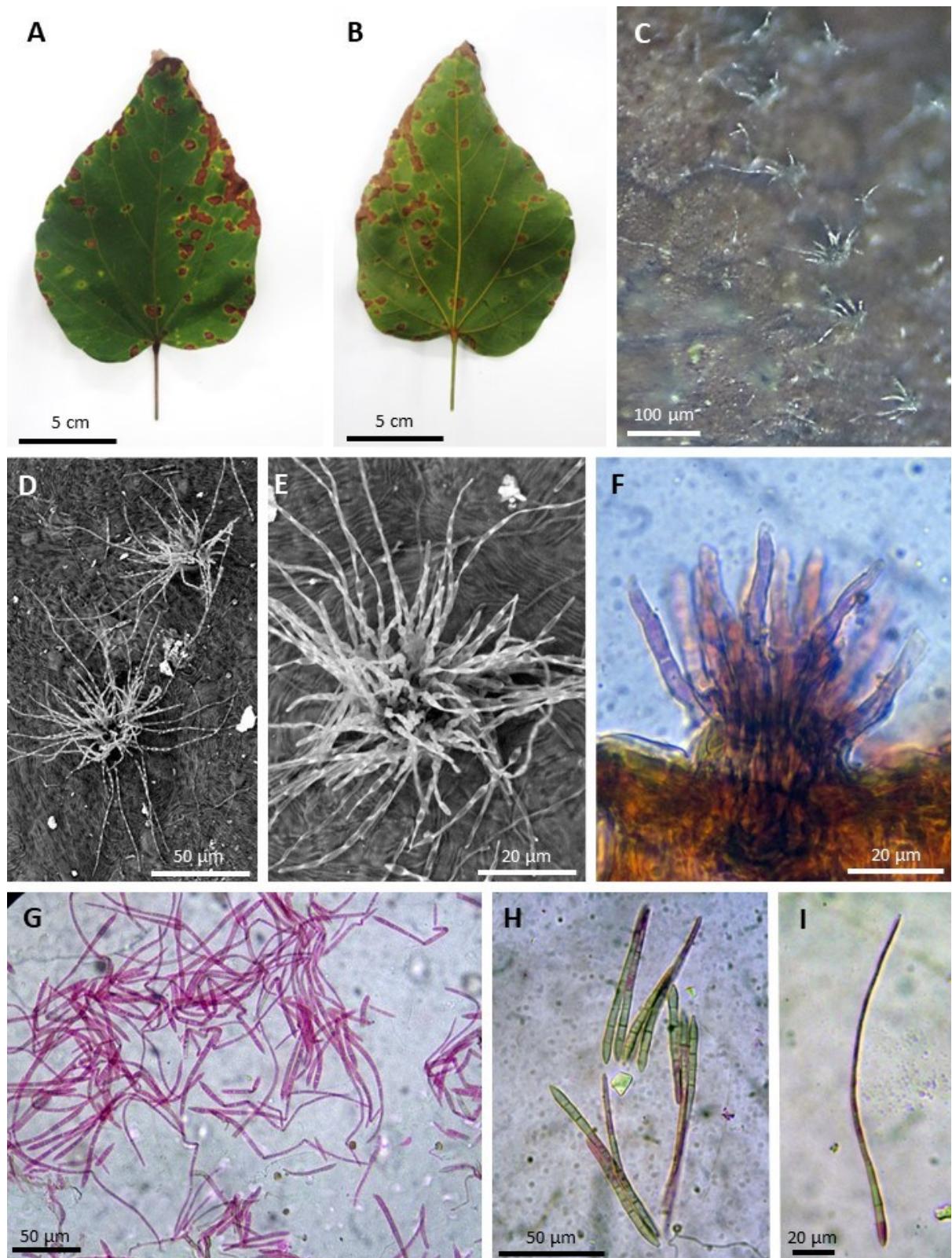


Figura 25. A-H. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Bixa orellana* (Bixaceae), coletadas no campus da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando esporodóquios agrupados sobre o tecido vegetal. D-E. Micrografias mostrando conidióforo em detalhe. F. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. G-H. Grupos de conídios. I. Detalhe de um conídio.

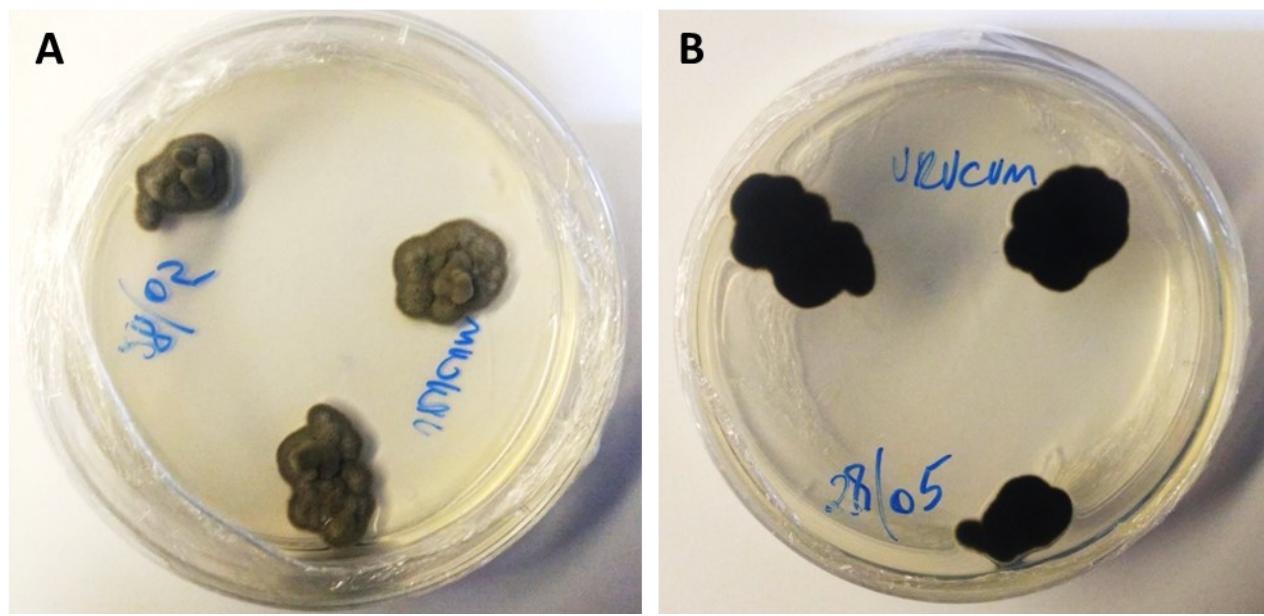


Figura 26. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.

3.2.7. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae) (Figs. 27-29; Tabs. 14-15) - Provável sp. nov. nº. 5

Descrição. *Manchas* foliares marrons, irregulares, às vezes coalescentes, geralmente circundadas por halos de amarelecimento, contendo grupos de frutificações em ambas as faces, mas com maior frequência na face inferior. *Hifas externas* 1,5–2,7, ramificadas e subhialinas (Figura 28, E). *Estromas* 22,5–54,5 × (21,5)28–58,5 µm, em grupos, e localizados nas regiões necrosadas das manchas; irrompentes, com uma parte imersa no mesófilo. *Células do estroma* 4,5–6,5 µm de diâmetro, marrons e isométricas. *Conidióforos* fasciculados 20,5–42,5 × 3–5,5 µm; de 0–3 septos; às vezes ramificados, hialinos a oliváceos, lisos a levemente rugosos, crescimento simpodial, algumas vezes geniculados ou sinuosos, com cicatrizes inconspicuas; conidiogênese holoblastica. *Conídios* 23,5–94 × 3–4,5 µm, com 0–9 septos, hialinos, levemente rugosos, cilíndricos a escolecospóricos, lisos, com ápices variando de agudos a obtusos, e bases geralmente obtusas; cicatriz inconspicua. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando coloração verde a cinza clara, e aspecto pulverulento (Figura 29).

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, Campus UFRRJ. Em folhas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex A.DC.) Mattos (Bignoniaceae) “Ipê-roxo”. 06/09/2023. Col. Hemylson Porto de Souza nº 58 (UFRJ 1402). Coleção micológica nº DENFC335 (06/09/2023).

Discussão. A análise filogenética para o fungo desta seção (DENFC335) foi realizada com base nas regiões LSU e *actA*, pois inicialmente não foi possível o sequenciamento da região ITS. De qualquer forma, a região LSU apresentou baixíssimo poder de resolução, devido à baixa variação da sequência em linhagens de *Pseudocercospora* próximas ao fungo DENFC335. Neste sentido, utilizando-se o recurso *Nucleotide Blast*, foram constatadas 35 espécies distintas com mais de 99% de similaridade com o fungo DENFC335 (fragmento de 899 pb), o que impossibilitou a construção de filograma com poder de resolução suficiente para separar as espécies com base na região LSU.

A região *actA*, por outro lado, mostrou um grau de variação suficiente para separar espécies pertencentes a linhagens próximas do fungo DENFC335, o que permitiu a construção de uma árvore filogenética satisfatória para análise (Figura 27). Neste sentido, nota-se na árvore filogenética que o fungo analisado foi agrupado junto com *Pseudocercospora tecomicola* (J.M. Yen) U. Braun & Bagyan. CPC25260, em um clado com 92,9% de suporte (destaque em vermelho). O grau de divergência entre ambos foi de 1,145%.

A Tabela 14 lista os percentuais de divergência de cada um dos isolados em face do fungo DENFC335, quase todos agrupados em um clado mais amplo, destacado em vermelho na Figura 27 (85,5% de suporte), exceto os isolados *Pseudocercospora sordida* (Sacc.) Deighton MUCC913, *P. bixae* (Allesch. & F. Noack) Crous, Alfenas & R.W. Barreto CPC25244 e

CERCOSPORÓIDE DENFC334⁶³, que foram agrupados em um clado “irmão”, com maiores divergências. Nota-se na Tabela 14 que o isolado *P. brackenicola* Guatim., R.W. Barreto & Crous CPC24695 apresentou o mesmo nível de divergência que *P. tecomicola* (1,145%), mas seu posicionamento no clado destacado em vermelho é incerto. Ocorre que a região *actA* não foi suficiente para posicionar corretamente a espécie *P. brackenicola*, pois no trabalho realizado por Groenewald *et. al.* (2024)⁶⁴, que utiliza outras regiões do DNA (*rpb2* e *tef1*, especialmente), esta espécie foi agrupada em outro clado, junto com *P. xylopiae* Meir. Silva, R.W. Barreto & Crous e *P. purpurea* (Cooke) Deighton. O posicionamento destas duas espécies está ilustrado no cladograma da Figura 27, onde percebe-se que são clados distintos do clado destacado em vermelho, onde foi agrupado o fungo desta seção (DENFC335) e *P. tecomicola*.

As outras espécies posicionadas neste clado (destacado em vermelho) estão agrupadas com *P. tecomicola* no trabalho de Groenewald *et. al.* Portanto, ainda que *P. brackenicola* tenha apresentado baixa divergência na região *actA* em relação ao fungo DENFC335, a árvore construída neste trabalho não pôde posicionar esta espécie (e somente ela⁶⁵) de forma clara. Somando-se a isso, a informação obtida na literatura corrobora a hipótese de que o fungo DENFC335 muito provavelmente não está posicionado evolutivamente tão próximo a *P. brackenicola*.

Tabela 14. Graus de divergência⁶⁶ das espécies próximas ao fungo DENFC335, verificadas na árvore baseada na região *actA* (Figura 27).

Isolados do clado ao qual está posicionado o fungo DENFC335	Código do isolado	Grau de divergência com o fungo DENFC335 (%)
<i>Pseudocercospora_tecomicola</i>	CPC_25260	1,145
<i>Pseudocercospora_brackenicola</i>	CPC_24695	1,145
<i>Pseudocercospora_musigena</i>	CBS_149357	1,721
<i>Pseudocercospora_norchiensis</i>	CCTU_1009	2,301
<i>Pseudocercospora_norchiensis</i>	CCTU_1032	2,301
<i>Pseudocercospora_norchiensis</i>	CCTU_1019	2,301
<i>Pseudocercospora_nogalesii</i>	CBS_115022	2,315
<i>Pseudocercospora_wulffiae</i>	CPC_25232	2,321
<i>Pseudocercospora_norchiensis</i>	CBS_120738	2,884
<i>Pseudocercospora_abacopteridicola</i>	CPC_24709	2,893
<i>Pseudocercospora_nogalesii</i>	CBS_122501	2,901
<i>Pseudocercospora_manihotii</i>	CPC_25219	2,908
<i>Pseudocercospora_norchiensis</i>	CBS_118413	2,917
CERCOSPORÓIDE em <i>Bixa orellana</i>	DENFC334	5,912
<i>Pseudocercospora_sordida</i>	MUCC_913	6,547
<i>Pseudocercospora_bixae</i>	CPC_25244	7,194

⁶³ O isolado DENFC334 é um dos fungos deste trabalho, associado a *Bixa orellana* e tratado na seção anterior, onde foi proposto o seu enquadramento na espécie *Pseudocercospora bixae*.

⁶⁴ Página 32.

⁶⁵ As outras espécies agrupadas no clado destacado em vermelho foram posicionadas com um melhor poder de resolução, em linhagens com alto grau de suporte (Figura 27).

⁶⁶ Utilizou-se o programa MEGA 11 para calcular as divergências (método: máxima verossimilhança; pairwise distance; 177 pb).

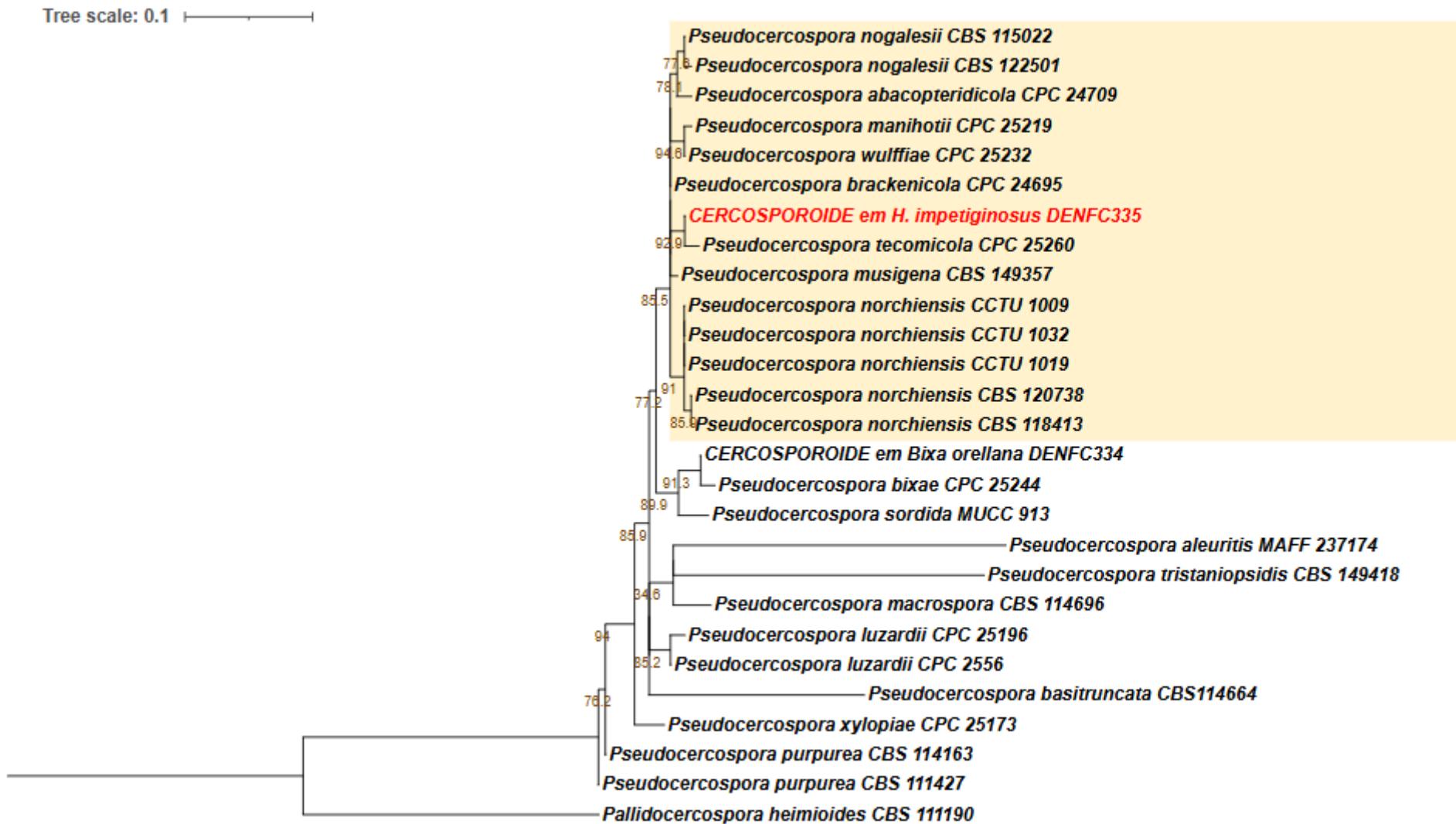


Figura 27. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região actina (*actA*). O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de *bootstrap* de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora acaciigena* (Crous & M.J. Wingf.) Crous & M.J. Wingf. (CBS 112515) foi utilizada como grupo externo.

Contudo, cabe agora analisar morfologicamente a proximidade entre o fungo analisado e *P. tecomicola*, bem como a comparação com espécies descritas em hospedeiros da mesma família do *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex A.DC.) Mattos (*Bignoniaceae*), mas que não tenham sequências *actA* disponíveis no *GeneBank* para análise filogenética.

Dessa forma, na Tabela 15 estão listadas estas espécies de *Pseudocercospora*, além de algumas descrições de espécies de *Cercospora* que posteriormente foram realocadas no gênero *Pseudocercospora*⁶⁷. De todas estas espécies descritas na tabela, apenas *P. tecomicola* conta com sequência da região *actA* depositada no *GeneBank*. Além desta, apenas *P. jahnii* (Syd.) U. Braun & Crous conta com sequências disponíveis, mas de outras regiões (LSU, ITS e *tef1*). As outras espécies não tiveram nenhuma sequência depositadas no *GeneBank*. Esta situação deve ser pontuada, pois a indisponibilidade de sequências impossibilita, por exemplo, que quaisquer dessas espécies possam ser detectadas como próximas do fungo estudado ao utilizar-se o recurso *Nucleotide Blast*. Por essa razão, a análise morfológica acaba tendo um peso maior na comparação destas espécies com o fungo em questão.

As duas espécies que ocorrem em plantas do gênero *Handroanthus*, *Cercospora tabebuiae-impetiginosae* Inácio & Dianese e *Pseudocercospora tabebuiae-roseoalbae* Inácio & Dianese (ambos em INÁCIO & DIANESE, 1998), apresentam algumas diferenças em relação ao fungo DENFC335. Em relação à primeira (*C. tabebuiae-impetiginosae*), o comprimento dos conídios é maior (até 135 µm; no fungo estudado este valor alcança até 94 µm). Além disso, os seus conidióforos são multisepdados (até 8 septos; no fungo analisado ocorrem no máximo 3 septos). Outra diferença importante é que o fungo DENFC335 forma hifa externa (Figura 28, E), diferentemente de *C. tabebuiae-impetiginosae*. Por fim, cabe pontuar que as descrições de ambos indicam que as células conidiogênicas nos dois casos formam cicatrizes inconstípicas (sob microscopia óptica), característica mais comum no gênero *Pseudocercospora* do que em *Cercospora*.

No caso de *Pseudocercospora tabebuiae-roseoalbae*, uma diferença muito clara em relação ao fungo DENFC335 é o comprimento dos conídios, que é muito menor (até 57 µm; ao passo que este valor atinge até 94 µm no fungo desta seção). Outra diferença clara é a formação de hifa externa apenas pelo fungo DENFC335.

Quanto às outras espécies que ocorrem em plantas de outros gêneros da família *Bignoniaceae*, a maioria apresenta diferenças claras em relação ao fungo estudado, como se pode observar na Tabela 15. Por exemplo, *C. zeyheriae* Henn. (HENNINGS, 1908) e *P. radermachericola* Phengs., McKenzie, K.D. Hyde & U. Braun (PHENGSHINTHAM *et. al.*, 2010) apresentam conídios e/ou conidióforos muito menores (comprimento de conídios: até 60 µm na primeira e até 38 µm na segunda; já o fungo DENFC335: até 94 µm).

A espécie *Pseudocercospora tecomicola* (J.M. Yen) U. Braun & Bagyan. também se enquadra nesta situação, mas será tratada no final desta seção, em razão de ter sido a única a ser considerada na análise filogenética. Continuando, *P. stereospermi* Y.L. Guo (GUO, 2017) difere do fungo em estudo por formar conídios mais longos (até 120 µm). Por outro lado, as espécies *C. jahnii* (SYDOW, 1930), *Pseudocercospora zeyheriae* (DIANESE *et. al.*, 1999), e *P. radermacheriae* (BRAUN, 2001), apresentam diferenças quanto ao comprimento dos

⁶⁷ Espécies de *Cercospora* que não foram realocadas para *Pseudocercospora* e que não tenham regiões do DNA sequenciadas no *GeneBank* (exemplo: *Cercospora tabebuiae-impetiginosae*) foram consideradas para a análise morfológica. Isto se justifica devido à possibilidade de mudanças no futuro, quando houver sequenciamento.

conidióforos: na primeira, estes são menores (até 22 μm); nas duas últimas espécies, os valores são maiores (até 76 μm em *P. zeyheriae*; e até 80 μm em *P. radermacherae*).

Por último, as espécies *Cercospora dolichandrones* Chupp e *C. hansfordii* Chupp (CHUPP, 1954) diferiram do fungo DENFC335 por formarem estromas pouco desenvolvidos, além de diferenças nos conidióforos, sendo estes menores na primeira espécie (até 30 μm); e muito maiores na segunda (até 300 μm).

Para finalizar, cabe agora analisar a espécie *Pseudocercospora tecomicola* (BAGYANARAYANA & BRAUN, 1999)⁶⁸. Embora o fungo DENFC335 tenha sido agrupado junto com esta espécie no filograma desta seção, no que tange ao aspecto morfológico, nota-se distinções claras. Neste sentido, as dimensões de estromas, conidióforos e conídios, formados por *P. tecomicola* são muito menores do que as apresentadas pelo fungo em questão (Tabela 15). Além disso, apenas o fungo DENFC335 forma micélio externo. Diante desta situação, seria necessário que houvesse sequenciamento de regiões do DNA das outras espécies listadas na tabela, sobretudo para *Cercospora tabebuiae-impetiginosae* e *Pseudocercospora tabebuiae-roseoalbae*, que foram descritas em plantas do mesmo gênero do hospedeiro do fungo DENFC335 (*C. tabebuiae-impetiginosae*⁶⁹ em hospedeiro da mesma espécie). Desse modo, seria possível analisar as relações evolutivas de todas estas espécies.

Dito isto, não seria prudente sugerir o enquadramento do fungo DENFC335 na espécie *P. tecomicola*, pois o grau de divergência para região *actA* (1,145%) não foi tão baixo a ponto de sustentar esta hipótese. Ademais, não houve convergência morfológica entre os dois fungos. Ocorre que também não houve similaridade morfológica com as outras espécies listadas na Tabela 15. Ainda assim, para confirmar o não enquadramento em nenhuma destas espécies, seria necessário haver sequenciamento de regiões do DNA destes fungos. Somente desta forma, caso não haja este enquadramento, é que será possível sugerir o fungo DENFC335 como uma nova espécie.

⁶⁸ No presente trabalho, foi utilizada a descrição de Silva *et. al.* (2016).

⁶⁹ O sequenciamento seria desejável inclusive para a confirmação do gênero da espécie *Cercospora tabebuiae-impetiginosae*, tendo em vista que muitas *Cercospora* são realocadas para *Pseudocercospora* após sequenciamento e análise filogenética.

Tabela 15. Características de cercosporóide em folhas de *Handroanthus impetiginosus* comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família *Bignoniaceae*.

Espécies de cercosporóides	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro μm)	conidióforos (μm)	conídios (μm)	Referência
<i>Cercospora dolichandrones</i> (Nome atual: <i>Pseudocercospora dolichandrones</i>)	<i>Dolichandrone platycalyx</i> (<i>Bignoniaceae</i>)	Uganda	3-10	Pouco desenvolvido epífilo	10-30 \times 2-3,5	40-100 \times 1,5-3 multisseptado	Chupp (1954)
<i>C. hansfordii</i> (Nome atual: <i>Pseudocercospora hansfordii</i>)	<i>D. platycalyx</i> (<i>Bignoniaceae</i>)	Uganda	0,5-2	Pouco desenvolvido hipófilo	60-300 \times 5-6,5 multisseptado	30-80 \times 4-5,5 3-5-septos	Chupp (1954)
<i>C. jahni</i> (Nome atual: <i>Pseudocercospora jahni</i>)	<i>Tabebuia rosea</i> (<i>Bignoniaceae</i>)	Venezuela	5-10 irregulares	35-50 hipófilo	12-22 \times 3-4 Geralmente asseptados	40-110 \times 3,5-4 2-10-septos	Sydow (1930)
<i>C. tabebuiae-impetiginosae</i>	<i>Handroanthus impetiginosus</i>	Distrito Federal (Brasil)	3-30 anfígenos	24-107 anfígenos	24-58 \times 2-4 1-8-septos	25-135 \times 2-4 1-10-septos	Inácio & Dianese (1998)
<i>C. zeyheriae</i> (Nome atual: <i>Pseudocercospora zeyheriae</i>)	<i>Zeyheria montana</i> (<i>Bignoniaceae</i>)	Brasil (São Paulo)	—	hipófilo	3-4 de espessura	40-60 \times 3,5-4 3-7-septos	Henning (1908)
<i>P. radermacherae</i>	<i>Radermachera glandulosa</i> (<i>Bignoniaceae</i>)	Indonésia	1-7 Anfígena	> 50 anfígena	25-80 \times 2-4 plurisseptados	30-70 \times 2-4 3-6-septos	Braun (2001)
<i>P. radermachericola</i>	<i>R. ignea</i> (<i>Bignoniaceae</i>)	Tailândia	1-6 Anfígena	8-44 anfígena	9-26 \times 3-5 0-2-septos	29-38 \times 2-3 0-3-septos	Phengsinham et. al. (2010)

Tabela 15. Continuação.

<i>Pseudocercospora tabebuiae-roseoalbae</i>	<i>Handroanthus roseoalbus</i>	Distrito Federal (Brasil)	Até 13 anfígenos	23-77 × 26-65	18-58 × 2-5 1-5-septos	12-57 × 2-5 1-8-septos	Inácio & Dianese (1998)
<i>Pseudocercospora tecomicola</i>	<i>Tecoma stans</i> (Bignoniaceae)	Minas Gerais (Brasil)	2-10 anfígenos	2-10 anfígenos	8-20 × 2-3,5 0-1-septos	21,5-63 × 2-4 0-7-septos	Silva <i>et. al.</i> (2016)
<i>P. stereospermi</i>	<i>Stereospermum tetragonum</i> (Bignoniaceae)	China	1-7 anfígena	10-75 geralmente hipófilo	8-40 × 3-4,5 0-3-septos	30-120 × 3-5,8 3-18-septos	Guo (2017)
<i>Pseudocercospora zeyheriae</i>	<i>Zeyheria digitalis</i> (Bignoniaceae)	Brasil (São Paulo)	2-12 anfígena	60-240 epífilo	58-76 × 4-5 2-6 -septos	41-101 × 3-5 3-13-septos	Dianese <i>et. al.</i> (1999)
<i>Pseudocercospora</i> sp. DENFC335	<i>Handroanthus impetiginosus</i>	Campus da UFRRJ, Seropédica	Irregulares anfígenas	22,5-54,5 × (21,5)28-58,5	20,5-42,5 × 3-5,5 0-3-septos	23,5-94 × 3-4,5 0-9-septos	Este trabalho

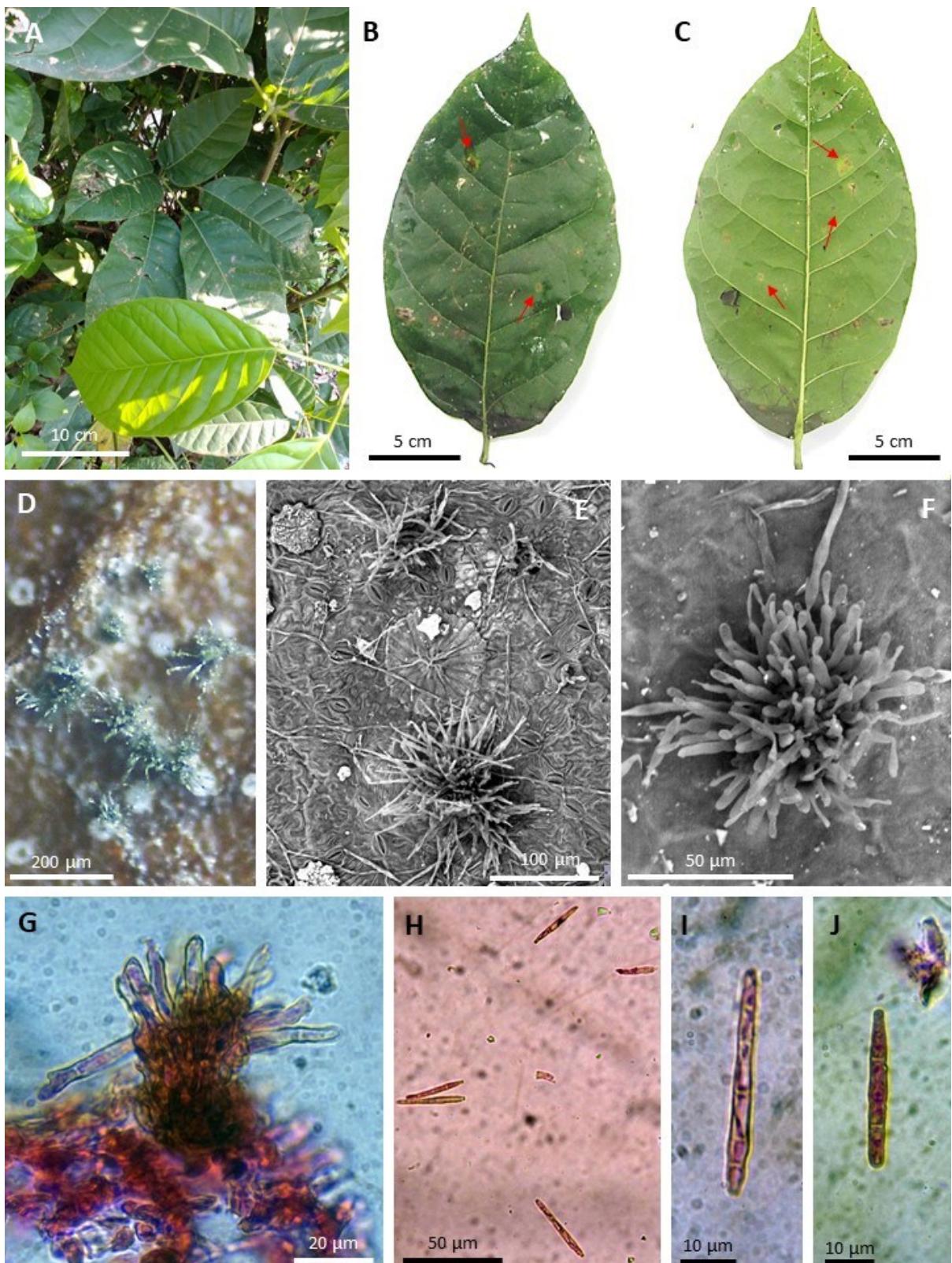


Figura 28. A-J. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae), coletadas no campus da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A-C. Folhas do hospedeiro, com detalhes de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (B) e abaxial (C) das folhas. D. Fotografia obtida em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. E-F. Micrografias (MEV) mostrando conidióforos em detalhe. G. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. H. Grupo de conídios. I-J. Conídios em detalhe.

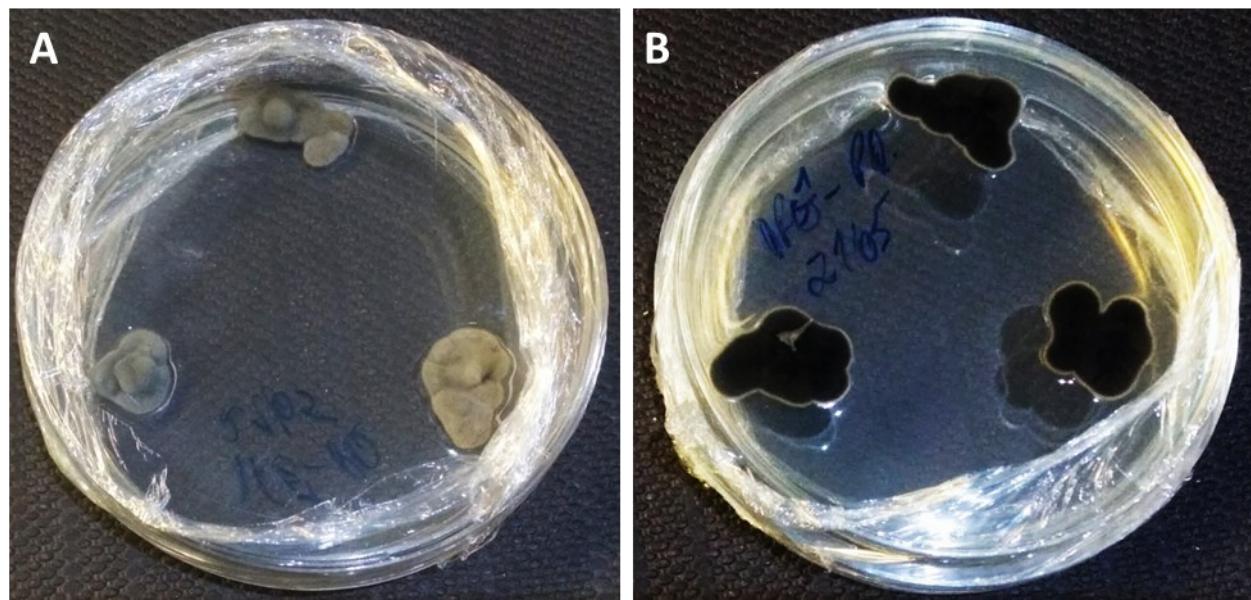


Figura 29. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.

3.2.8. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Gliricidia sepium* (Fabaceae - Faboideae) (Figs. 30-33; Tabs. 16) - Provável sp. nov. nº. 6

Descrição. *Manchas* foliares marrons, irregulares, coalescentes, muitas vezes com um halo de amarelecimento, contendo grupos de frutificações em ambas as faces, com maior frequência na face inferior. *Estromas* 14–54,5 × 15–94 µm, localizados na superfície do tecido foliar, em grupos, e nas regiões necrosadas das manchas. *Células do estroma* 3–6,5 µm de diâmetro, marrons e isométricas. *Conidióforos* 19–64(92) × 3–4,5 µm, com 1–6 septos; fasciculados, hialinos a oliváceos, lisos a suavemente rugosos, não ramificados, e com cicatrizes inconstantes. *Conídios* 13–157 × 3–5,5 µm, com 0–12 septos, hialinos, cilíndricos a escolecospóricos, lisos, obtusos na base e no ápice, com cicatrizes conspícuas. *Colônias* em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias, apresentando coloração verde a cinza claro, e aspecto pulverulento (Figura 29).

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, Campus UFRRJ. Em folhas de *Gliricidia sepium* (Jacq) Kunth ex Walp (Fabaceae - Faboideae) “Gliricidia”. 28/02/2023. Col. Hemylson Porto de Souza nº 39 (UFRJ 1309). 14/07/2023. Col. Hemylson Porto de Souza nº 46 (UFRJ 1361). 23/06/2024. Col. Hemylson Porto de Souza nº 70 (UFRJ 1452). Coleção micológica nº DENFC298 (27/04/2022).

Discussão. A análise filogenética para o fungo desta seção (DENFC298) foi bastante limitada, pois infelizmente só foi possível sequenciar as regiões ITS e LSU, justamente as regiões do DNA que têm mostrado pouquíssima variação nas espécies de *Pseudocercospora*. Isto implica em baixo poder de resolução para separação destas espécies em uma árvore filogenética. De qualquer forma, foram construídas duas árvores filogenéticas, uma para ITS e outra para LSU.

Utilizando-se o recurso *Nucleotide Blast*, foram constatadas 14 espécies distintas com mais de 99% de similaridade com o fungo DENFC298 (ITS; fragmento de 510 pb). Por outro lado, para a região LSU foram encontradas 36 espécies com mais de 99% de similaridade (fragmento de 893 pb). Com essa quantidade de espécies divergindo em menos de 1% em relação ao fungo desta seção, as árvores filogenéticas construídas com base nas duas regiões (LSU e ITS) apresentaram muitas politomias, sendo pouco informativas (Figuras 30 e 31, respectivamente).

Devido a esta imprecisão, não foi possível selecionar espécies filogeneticamente próximas para serem consideradas na análise morfológica. Para isso, outras regiões do DNA do fungo DENFC298 deverão ser sequenciadas para um melhor entendimento sobre o posicionamento evolutivo deste fungo dentro do gênero *Pseudocercospora*.

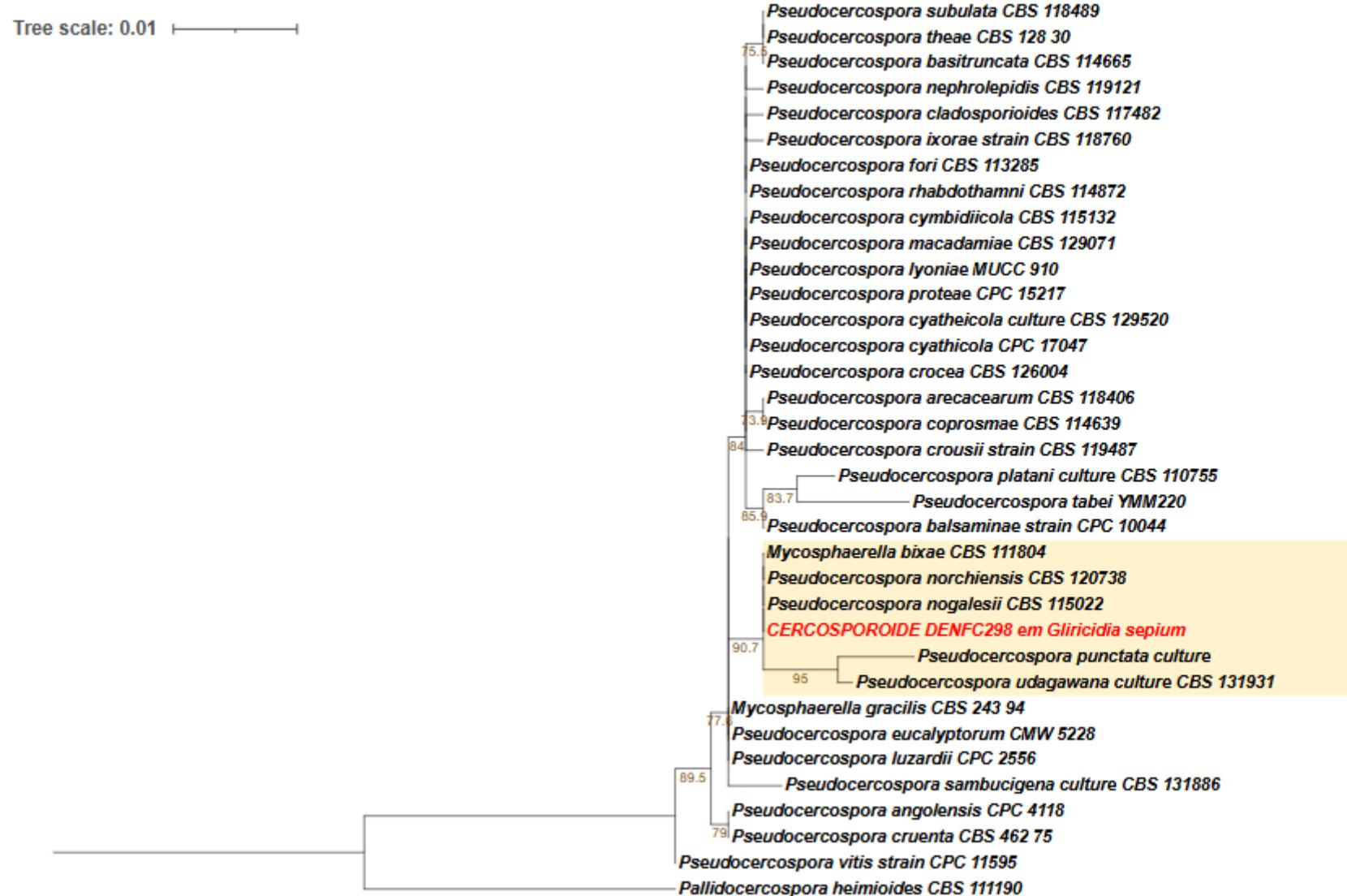


Figura 30. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região LSU. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de bootstrap de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora heimioides* (CBS_111190) foi utilizada como grupo externo.

Tree scale: 0.01

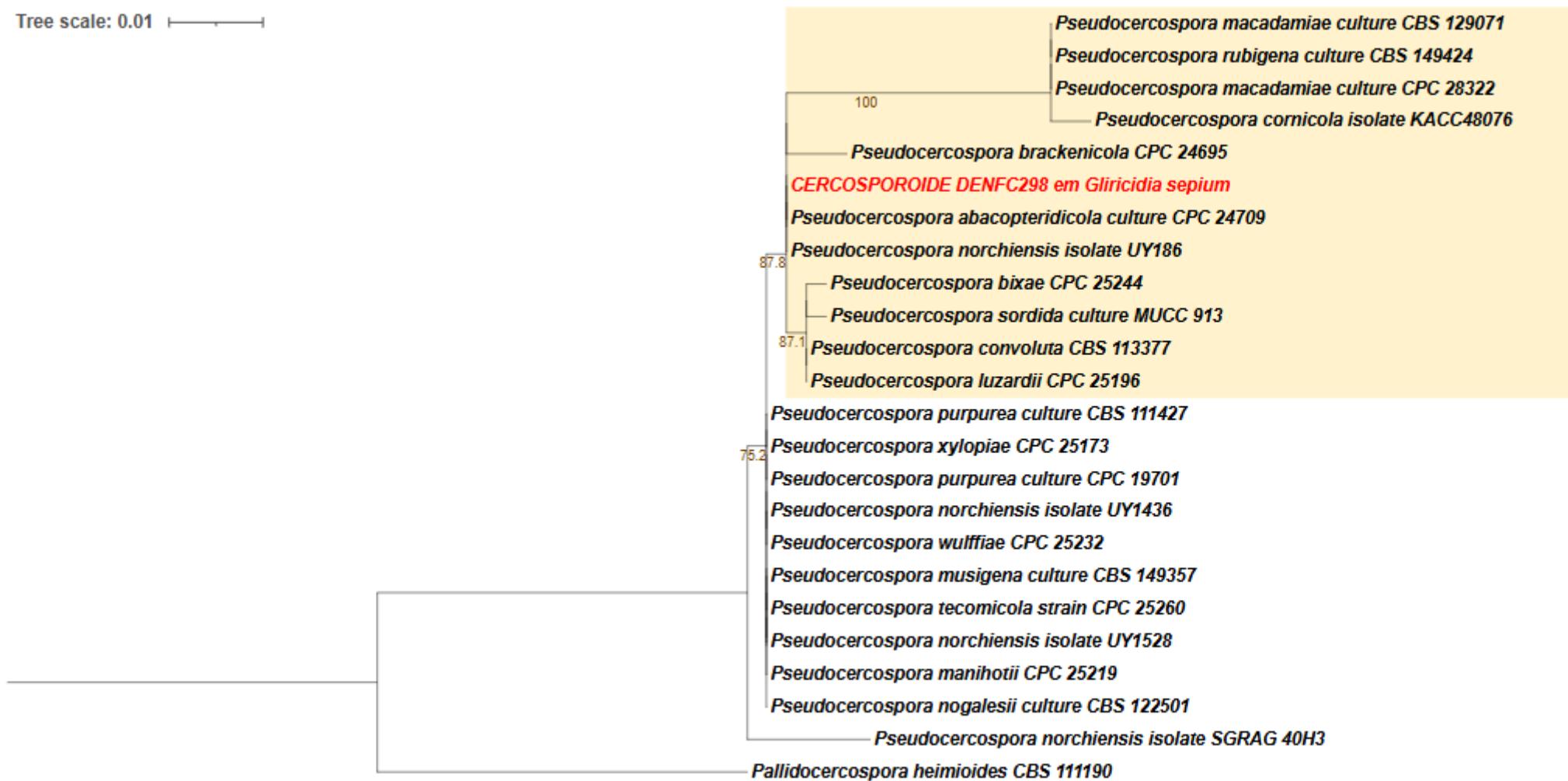


Figura 31. Árvore filogenética de consenso baseada na comparação das sequências referentes à região ITS. O filograma foi obtido a partir da análise de máxima verossimilhança com o programa IQ-TREE v. 2.1.3. Valores percentuais de suporte de bootstrap de 1.000 repetições são mostrados nos nós. Os números referentes aos isolados ou *vouchers* estão descritos ao lado do nome de cada espécie. *Pallidocercospora heimioides* (CBS_111190) foi utilizada como grupo externo.

Na Tabela 16, estão relacionadas as espécies de fungos cercosporóides descritos em plantas do gênero *Gliricidia* Jacq. Não foi encontrada nenhuma *Pseudocercospora* associada a hospedeiros deste gênero. As descrições de algumas espécies de *Cercospora* listadas na tabela mostra que não há convergência morfológica em relação ao fungo DENFC298, principalmente porque o comprimento dos conídios do fungo (até 157 µm) desta seção alcança valores muito maiores que os destas espécies. Ademais, nenhuma dessas espécies de *Cercospora* foi realocada para o gênero *Pseudocercospora*, sendo que duas delas foram realocadas para o gênero *Passalora* Fr.: *Cercospora gliricidiae* Syd. & P. Syd. (SYDOW & SYDOW, 1913) e *C. gliricidiasis* Gonz. Frag. & Cif. (GONZALES, FRAGOSO & CIFERRI, 1925). *C. canescens* Ellis & G. Martin (ELLIS & MARTIN, 1882), por sua vez, continua como gênero *Cercospora*, com confirmação filogenética molecular.

Desta forma, tendo em vista não haver descrições de *Pseudocercospora* ocorrendo em *Gliricidia*, é muito provável que o fungo DENFC298 seja uma nova espécie.

Tabela 16. Características de cercosporóide em folhas de *Gliricidia sepium* comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família Fabaceae (subfamília Faboideae).

Espécies de cercosporóides	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro μm)	conidióforos (μm)	conídios (μm)	Referência
<i>Cercospora canescens</i>	<i>Phaseolus</i>	EUA	irregulares	—	110 \times 6	117 \times 6 5-8-septos	Ellis & Martin (1882)
<i>C. gliricidiae</i> (nome atual: <i>Passalora gliricidiae</i>)	<i>Gliricidia sepium</i>	Filipinas	Irregulares; hipófilas	50-80	20-35 \times 3-3,5 2-septos	40-75 \times 4-5,5 5-12-septos	Sydow & Sydow (1913)
<i>C. gliricidiasis</i> (nome atual: <i>Passalora gliricidiasis</i>)	<i>Gliricidia sepium</i>	República Dominicana	Circulares; anfígenas	—	30-50 \times 3,5-4,5 “septos em alguns”	20-35 \times 3,5-4 “septos em alguns”	Gonzales, Fragoso & Ciferri (1925)
<i>Oreophylla angelae-mariae</i>	<i>Gliricidia sepium</i>	Cuba	Anfígenas	4-7	30-75 \times 6-8 2-6-septos	22-45 \times 6-8 1-3-septos	Ciferri (1954)
<i>Pseudocercospora</i> sp. DENFC298	<i>Gliricidia sepium</i>	Campus da UFRRJ, Seropédica	Irregulares; anfígenas	14-54,5 \times 15-94	19-64(92) \times 3-4,5 1-6-septos	13-157 \times 3-5,5 0-12-septos	Este trabalho

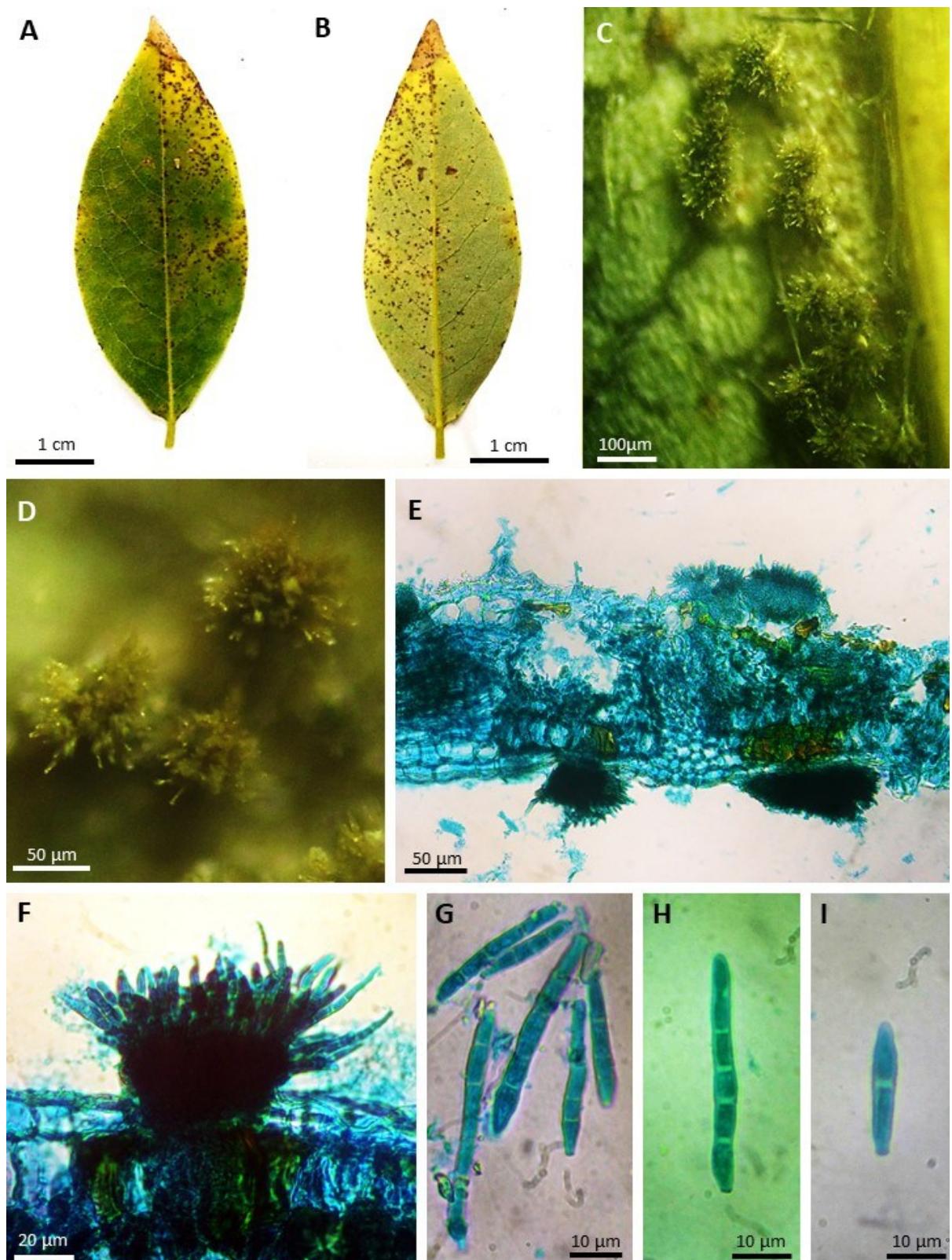


Figura 32. A-I. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Gliricidia sepium*, coletadas no campus da UFRRJ, em Seropédica-R.J. A e B. Sintomas de manchas necróticas, ocorrendo na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C-D. Fotografias obtidas em microscópio óptico, mostrando frutificações agrupadas sobre o tecido vegetal. E. Detalhe dos estromas em corte vertical-transversal do tecido foliar, ilustrando a ocorrência nas duas faces das folhas. F. Detalhe do estroma, com conidióforos fasciculados, em corte vertical-transversal. G-I. Detalhe dos conídios, ilustrando a variação no comprimento e no número de septos.

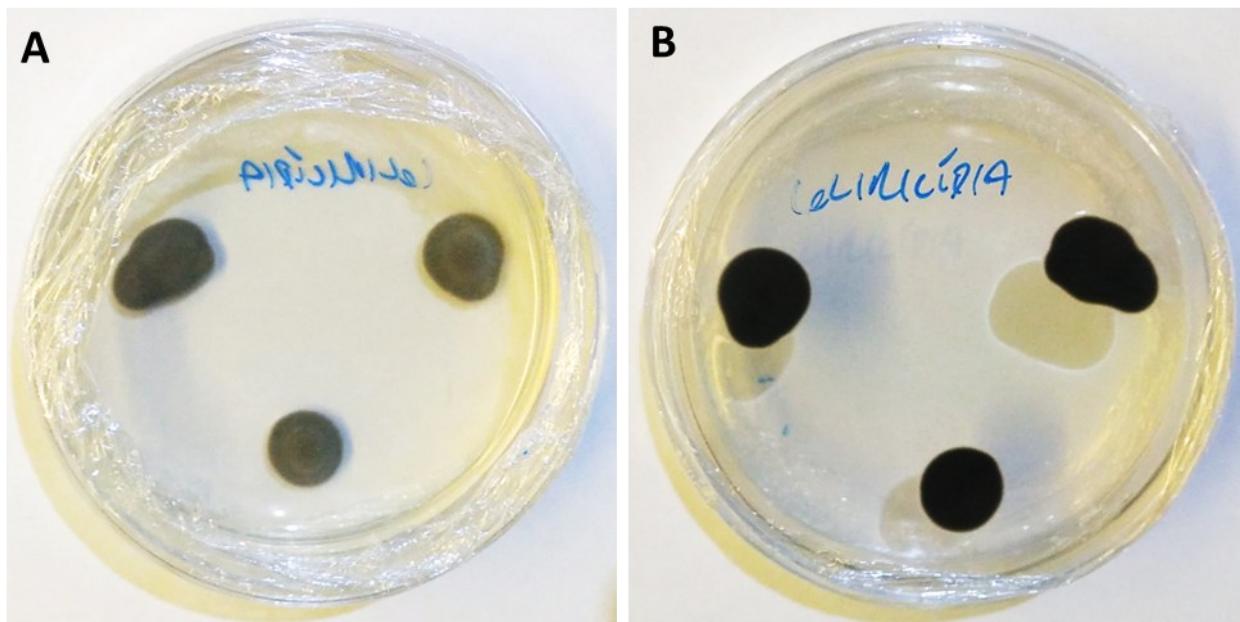


Figura 33. A-B. *Pseudocercospora* sp. em meio de cultura BDA a 25°C/ 7 dias. Placas de Petri de 60×15 mm.

4. REFERÊNCIAS

- ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W. & BLACKWELL, M. *Introductory Micology*. 4 ed. New York, John Wiley, 1996.
- AMORIM, L., REZENDE, J. A. M., BERGAMIN FILHO, A. *Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos*. 5. ed., v. 1. São Paulo: Editora Ceres, 2018.
- ANDRADE, K. M. *Caracterização de fungos cercosporóides associados à vegetação de Mata Atlântica e cercanias no estado do Rio de Janeiro*. Dissertação de Mestrado. Seropédica-RJ. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 136p., 2016.
- ATKINSON, G.F. Some *Cercosporae* from Alabama. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society*, v. 8 (2): 33-67, 1892.
- BAGYANARAYANA, G.; BRAUN, U.; JAGADEESWAR, P. Three new phytoparasitic fungi from India. *Mycotaxon*, v. 45: 105-108, 1992.
- BÁNKI, O., ROSKOV, Y., DÖRING, M., OWER, G., HERNÁNDEZ-ROBLES, D. R., PLATA CORREDOR, C. A., STJERNEGAARD JEPPESEN, T., ÖRN, A., PAPE, T., HOBERN, D., GARNETT, S., LITTLE, H., DEWALT, R. E., MA, K., MILLER, J., ORRELL, T., AALBU, R., ABBOTT, J., AEDO, C., *et al.* (2024). *Catalogue of Life* (Version 2024-12-19). Catalogue of Life, Amsterdam, Netherlands. <https://doi.org/10.48580/dglq4>.
- BESSEY, E.A. Notes on the genus *Camptomeris*, fungi imperfecti. *Mycologia*, v. 45 (3), p. 364-390, 1953.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas. *Pragas Quarentenárias Presentes – PQP*. Tabela anexa à Instrução Normativa nº 38, de 1 de outubro de 2018 D.O.U nº 190, Seção 1, pg. 14, 2/10/2018.
- BRAUN, U. A Monograph of *Cercosporella*, *Ramularia* and Allied Genera (Phytopathogenic Hyphomycetes) v. 1: 333 pp. Eching; IHW-Verlag, 1995.
- BRAUN, U. Annotated list of *Cercospora* spp. described by C. Spegazzini. *Schlechtendalia*, v. 5, p. 57-79, 2000.
- BRAUN U. Revision of *Cercospora* species described by K.B. Boedijn. *Nova Hedwigia*, v. 73, 3-4, p. 419 – 436, 2001.
- BRAUN, U. Taxonomic notes on some species of the *Cercospora* complex (II). *Cryptogamic Botany*, v. 3 (2-3), 235-244, 1993.
- BRAUN U, FREIRE FCO. Some cercosporoid hyphomycetes from Brazil – II. *Cryptogamie Mycologie*, v. 23(4), 295–328, 2002.

BRAUN U., NAKASHIMA C., CROUS P.W. Cercosporoid fungi (*Mycosphaerellaceae*). 1. Species on other fungi, *Pteridophyta* and *Gymnospermae*. *IMA Fungus*, v. 4 (2), p. 265–345, 2013. [doi: 10.5598/imafungus.2013.04.02.12](https://doi.org/10.5598/imafungus.2013.04.02.12).

BRAUN U, URTIAGA R. New species and new records of cercosporoid hyphomycetes from Cuba and Venezuela (Part 3). *Mycosphere* v. 4(3), 591–614, 2013. [doi: 10.5943/mycosphere/4/3/12](https://doi.org/10.5943/mycosphere/4/3/12).

BUBÁK, F. Zwei neue Pilze aus Ohio. *Journal of Mycology*, v. 9., p. 1-3, 1903.

CAMPANILI, M.; SCHAFFER, W. B. orgs. *Mata Atlântica: patrimônio nacional dos brasileiros*. 2 ed. Brasília, DF: MMA. 408p., 2010.

CARBONE, I. & KOHN, L.M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous Ascomycetes. *Mycologia*, v. 91, n. 3: p. 553-556, 1999.

CASTAÑEDA Ruíz, R.F.; BRAUN, U. *Cercospora* and allied genera of Cuba (1). *Cryptogamic Botany*, v. 1 (1): 42-55, 1989.

CHEEWANGKOON R., P.W. CROUS, K.D. HYDE, J.Z. GROENEWALD, C. TO-ANAN. Species of *Mycosphaerella* and related anamorphs on *Eucalyptus* leaves from Thailand *Persoonia*, v. 21, 77– 91, 2008. [doi: 10.3767/003158508X370857](https://doi.org/10.3767/003158508X370857).

CHEN Q., BAKHSHI M., BALCI Y., et al. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 4. *Studies in Mycology* v. 101, p. 417–564, 2022. [doi:10.3114/sim.2022.101.06](https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.06).

CHUPP, C. *A Monograph of the Fungus Genus Cercospora*. 1-667. Ithaca, NY, 1954.

CIFERRI, R. Mycoflora Domingensis exsiccata (Cent. II, nos 101-200). *Annales Mycologici*, v. 31 (3), p. 144-167, 1933.

CIFERRI, R. Schedae mycologicae. XII-XXXIV. *Sydowia*, v. 8 (1-6), p. 245-279, 1954.

CLEMENTS, F.E.; SHEAR, C.L. *Genera of Fungi*. edn 2. i-vii, p. 1-496. USA, New York; H.W. Wilson Company, 1931.

CREAGER, D.B. New *Cercospora* on *Rhizophora mangle*. *Mycologia*, v. 54 (5), 536-539, 2 figs., 1963.

CROUS, P. W., ALFENAS, A. C., & BARRETO, R. W. Cercosporoid fungi from Brazil. 1. *Mycotaxon*, v. 64, 405-430, 1997.

CROUS PW, BRAUN U. Mycosphaerella and its anamorphs: 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. *CBS Biodiversity Series* v. 1: 1– 571. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 2003.

CROUS P.W.; U. BRAUN, G.C. HUNTER, M.J. WINGFIELD, G.J.M. VERKLEY, H.-D. SHIN, C. NAKASHIMA, J.Z. GROENEWALD. Phylogenetic lineages in *Pseudocercospora*. *Studies in Mycology*, v. 75, p.37–114, 2013. doi:10.3114/sim0005.

CROUS, P.W., et. al. Fungal Planet description sheets: 469–557. *Persoonia*, v. 37, p. 218 – 403, 2016.

CROUS P.W., SUTTON B.C. New cercosporoid fungi from southern Africa. *South African Journal of Botany*, v. 63: 280–285, 1997.

CROUS, P.W.; WINGFIELD, M.J.; MARASAS, W.F.O. *Pseudocercospora eucalyptorum* sp. nov. pathogenic to *Eucalyptus* leaves. *Phytophylactica*, v. 21 (1): 101, 1989.

DEIGHTON, F.C. Studies on *Cercospora* and allied genera. VI. *Pseudocercospora* Speg, *Pantospora* Cif. and *Cercoseptoria* Petr. *Mycological Papers*, v. 140: 1-168, 87 figs, 6 plates, 1976.

DEIGHTON, F.C. Studies on *Cercospora* and allied genera. VII. New species and redispositions. *Mycological Papers*, v. 144, 1-56, 1979.

DIANESE, J.C.; SUTTON, B.C.; TESSMAN, D.J. Two deuteromycetes, *Phloeosporella flavio-moralis* sp.nov. and *Pseudocercospora punctata* comb. nov., causing leaf lesions on *Eugenia* spp. *Mycological Research*, v. 97 (1): 123-126, 1993.

DIANESE, J.C.; FURLANETTO, C.; SANTOS, L.T.P. *Pseudocercospora zeyheriae*, a new combination for *Cercospora zeyrae*. *Mycological Research*, v. 103 (1), p.40-42, 1999.

ELLIS, J.B.; MARTIN, G. New species of North American fungi. *American Midland Naturalist*, v.16 (12), p. 1001-1003, 1882.

ELLIS, J.B.; EVERHART, B.M. Descriptions of new fungi. *Journal of the Institute of Jamaica*, v. 1, 247-248, 1893.

ELLIS, J.B.; Everhart, B.M. New species of fungi from various localities. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, v. 46: 322-386, 1894.

ELLIS, J.B.; EVERHART, B.M. New species of fungi from various localities. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* v. 47, 413-441, 1895.

ELLIS, J.B.; EVERHART, B.M. New Alabama fungi. *Journal of Mycology*, v. 8 (2): 62-73, 1902.

EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 2024. Banco de Dados - Fungos Relatados em Plantas no Brasil. Disponível em <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michhtml/micbanco01a.asp>. Acessado em: 23/10/2024.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Disponível em: <https://fungi.ars.usda.gov/>. Acessado em: 23/10/2024.

FRESENIUS, G. *Beiträge zur Mykologie*. Frankfurt am Main; Bei Heinrich Ludwig Brönner, v. 3, 1-111, 1863.

FUCKEL, K.W.G.L. Fungi Rhenani exsiccati a L. Fuckel collecti. *Hedwigia*, v. 2, p. 132-136, 1863.

GOH, T. K.; Hsieh, W. H. Studies on *Cercospora* and allied genera of Taiwan (IV): new combinations of *Cercospora* species. *Transactions of the Mycological Society of the Republic of China*, v. 2 (2): 113-123, 1987.

GONZALES-FRAGOSO, R.; CIFERRI, R. Hongos parásitos y saprófitos de la República Dominicana, 3 Serie. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, v. 25, p. 508-516, 1925.

GOVINDU, H.C.; THIRUMALACHAR, M.J. Notes on some Indian cercosporae. VI. *Sydowia*, v. 9 (1-6), 221-228, 1955.

GRICE K. R. E., V. BEILHARZ and R. G. SHIVAS. First record of *Pseudocercospora mori* causing grey leaf spot on mulberry in Australia. *Australasian Plant Disease Notes*, v. 1, 9-10, 2006.

GROENEWALD JZ, CHEN YY, ZHANG Y, ROUX J, SHIN H-D, SHIVAS RG, SUMMERELL BA, BRAUN U, ALFENAS AC, UJAT AH, NAKASHIMA C, CROUS PW. Species diversity in *Pseudocercospora*. *Fungal Systematics and Evolution*, v. 13: 29-89, 2024. [doi: 10.3114/fuse.2024.13.03](https://doi.org/10.3114/fuse.2024.13.03).

GUO Y.L., LIU XJ. Studies on the genus *Pseudocercospora* in China I. *Mycosistema* v. 2, 225-240, 1989.

GUO, Y.L.; LIU, X. Studies on the genus *Pseudocercospora* in China II. *Acta Mycologica Sinica*, v. 11 (2): 125-133, 1992.

GUO, Y. L.; HSIEH, W. H. The genus *Pseudocercospora* in China. *Mycosistema Monographicum Series 2*, 1 ed. Beijing, International Academic Publishers. 388 p. 1995.

GUO Y. L. *Pseudocercospora stereospermi* sp. nov. on *Stereospermum tetragonum* from China. *Mycosistema*, v.36 (3), p. 275-277, 2017.

HANSFORD, C.G. Contribution towards the fungus flora of Uganda. V. Fungi Imperfecti. *Proceedings of the Linnean Society of London*, v. 155, p. 34-67, 1943.

HAWKSWORTH, D.L.; LÜCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiol Spectrum*, v. 5(4), p. 1-17, 2017. [doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016).

HENNINGS, P.C. Fungi S. Paulenses IV. a cl. Puttemans collecti. *Hedwigia*, v. 48, p. 1-20, 1908.

HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A., DIANESE J. C. New cercosporoid fungi from the Brazilian Cerrado 2. Species on hosts of the subfamilies *Caesalpinoideae*, *Faboideae* and *Mimosoideae* (*Leguminosae* s. lat.). *Mycotaxon*, 107, p. 1-24, 2009.

HSIEH, W.-h.; GOH, T.-k. *Cercospora and Similar Fungi from Taiwan*. Taipei, Taiwan; Maw Chang Book Company, 376 pp., 1990.

INÁCIO, C.A.; DIANESE, J.C. Some foliicolous fungi on *Tabebuia* species. *Mycological Research*, v. 102 (6), p. 695-708, 1998.

KALYAANAMOORTHY, S., MINH, B., WONG, T. *et al.* ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, v. 14, pp. 587–589, 2017. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>

KAMAL. *Cercosporoid fungi of India*. Bishen Singh Mahendra Pal Singh Publication, Dehradun (Uttarakhand), India. 351 p., 2010.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. Vol. 2., Ceres: São Paulo, 774 p., 1997.

INDEX FUNGORUM PARTNERSHIP, 2024. *Index Fungorum*. Disponível em: <https://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=462239>. Acessado em: 15/10/2024.

KIRK, P.M.; CANNON, P.F.; MINTER, D.W. & STALPERS, J.A. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 10 ed. CABI Europe, U.K. – Egham, CBS, Utrecht, 758 p., 2008.

LETUNIC, I. & BORK, P. Interactive tree of life (itol) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic Acids Research*, v. 52 (W1), p. 78–82, 2024.

LOIOLA Maria Iracema Bezerra, Maria de Fátima AGRA, George Sidney BARACHO e Rubens Teixeira de QUEIROZ. Flora da Paraíba, Brasil: Erythroxylaceae Kunth. *Acta bot. bras.* v. 21(2): 473-487, 2007.

MORGULIS A., COULOURIS G., RAYTSELIS Y., L. MADDEN T., AGARWALA R., SCHÄFFER A. A. "Database Indexing for Production MegaBLAST Searches". *Bioinformatics* v.24, p.1757-1764, 2008.

MOORE D., ROBSON G., TRINCI T. *21st Century guidebook to fungi*. Cambridge: Cambridge University Press, 627 p., 2011.

MUELLER, G.M., BILLS, G.F. & FOSTER, M.S. *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. New York, Eds. Academic Press, 2004.

NAKASHIMA C., MOTOHASHI K., CHEN C-Y., *et. al.* Species diversity of *Pseudocercospora* from Far East Asia. *Mycological Progress*, v. 15: 1093–1117, 2016.

NAKASHIMA C., NISHIJIMA T., KOBAYASHI T. Addition and reexamination of Japanese species belonging to the genus *Cercospora* and allied genera II. Species described by Japanese mycologists (1). *Mycoscience*, v. 40(3): 269-276, 1999.

NARAYAN, S.; KHARWAR, R.N.; SINGH, R.K. Some novel taxa of hyphomycete genus *Cercospora* causing foliar spots in India. *Indian Phytopathology*, v.54 (3): 351-357, 2001.

NGUYEN, L-T.; SCHMIDT, H.A.; von HAESELER, A.; MIN, B.Q. IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies, *Molecular Biology and Evolution*, v. 32 (1), pp. 268–274, 2015. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>

OLIVER, R.P. *Agrios' Plant Pathology*. 6 ed. Londres: Academic Press, Elsevier, 2024.

PHENGSSINTHAM P., CHUKEATIROTE E., MCKENZIE E.H.C., MOSLEM M.A., HYDE K.D., BRAUN U. Two new species and a new record of cercosporoids from Thailand. *Mycosphere* 1(3), p. 205–212, 2010. doi.org/10.1007/s13225-022-00502-3.

PHENGSSINTHAM P., CHUKEATIROTE E., MCKENZIE EHC, HYDE KD, BRAUN U. Tropical phytopathogens 2: *Pseudocercospora fuligena*. *Plant Pathology & Quarantine*, v.2(1), 57–62, 2012. [doi 10.5943/ppq/2/1/8](https://doi.org/10.5943/ppq/2/1/8).

PHUKHAMSAKDA, C. *et. al.* The numbers of fungi: contributions from traditional taxonomic studies and challenges of metabarcoding. *Fungal Diversity*, v. 114, p. 327–386, 2022.

PURKAYASTHA, R.P.; PAL, A.K. New foliicolous fungi from Indian mangroves (Sunderbans). *Indian Phytopathology*, v. 49 (1), 9-21, 1996.

QUAEDVLIEG, W.; BINDER, M.; GROENEWALD, J.Z.; SUMMERELL, B.A.; CARNEGIE, A.J.; BURGESS, T.I.; CROUS, P.W. Introducing the Consolidated Species Concept to resolve species in the *Teratosphaeriaceae*. *Persoonia*, v. 33: pp. 1-40, 2014. [doi: 10.3767/003158514X681981](https://doi.org/10.3767/003158514X681981). Epub 2014 May 15. PMID: 25737591; PMCID: PMC4312929.

RAI, A.N.; RAI, B.; KAMAL. Five new species of *Pseudocercospora* from India. *Mycological Research*, v. 97 (1): 28-34, 1993.

REHNER, S.A. & SAMUELS, G.J. Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analysed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycological Research*, v. 98: pp. 625 – 634, 1994.

REMBINSKI, J. *Caracterização de fungos cercosporóides no estado do Rio de Janeiro e inibição de crescimento micelial in vitro de Fusarium solani com bactérias promotoras de crescimento*. Dissertação de Mestrado. Seropédica-RJ. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 168 p., 2018.

SACCARDO, P.A. Fungi Gallici lecti a cl. viris P. Brunaud, Abb. Letendre, A. Malbranche, J. Therry vel editi in *Mycotheca Gallica* C. Roumegueri. Series II. *Michelia*, v.2 (6): 39-135, 1880.

SACCARDO, P.A. Fungi Veneti novi vel critici vel mycologiae Venetae addendi. Series VIII. *Michelia*, v. 1 (2), 239-275, 1878.

SACCARDO, P.A. & SYDOW, P. *Sylloge Fungorum*. V. 16: (i-viii), pp. 1-1291. Italy, Patavii; P.A. Saccardo, 1902.

SANGER, F. & COULSON, A.R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*, v. 94, p. 441-448, 1975. [doi.org/10.1016/0022-2836\(75\)90213-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(75)90213-2).

SHIN, H.D. & BRAUN, U. Notes on Korean *Cercosporae* and allied genera (III). *Mycotaxon* v. 74: 105–118, 2000.

SILVA M, R.W. BARRETO, O.L. PEREIRA, N.M. FREITAS, J.Z. GROENEWALD, P.W. Exploring fungal mega-diversity: *Pseudocercospora* from Brazil. *Persoonia* v. 37, 142–172, 2016.

SOLHEIM, W.G.; STEVENS, F.L. *Cercospora* studies II. Some tropical Cercosporae. *Mycologia*, v. 23 (5), 365-405, 1931.

SPEGAZZINI, C.L. Fungi Argentini. Pugillus Quartus [cont.]. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, v. 13 (1), 11-35, 1882.

SPEGAZZINI, C.L. Fungi aliquot Paulistani. *Revista del Museo de La Plata*, v. 15 (2): 7-48 [nos 1-154], 1908.

SPEGAZZINI, C.L. Mycetes Argentinenses. Series V. *Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Buenos Aires*, Ser. 3, v. 20 (13), p. 329-467, 1910.

STAMATAKIS, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, v. 30 (9), pp. 1312–1313, 2014. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>

SUBRAMANIAN, C.V. Fungi Imperfecti from Madras. II. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Section B*, v. 36, p. 160-168, 1952.

SUTTON B. C. & P.W. CROUS. *Lecanostictopsis* gen. nov., and related leaf-spotting fungi on *Syzygium* species. *Mycological Research*, v. 101 (2): 215-225, 1997.

SYDOW, H.; SYDOW, P. Beschreibungen neuer Südafrikanischer Pilze – II. *Annales Mycologici*, v. 10 (5): 437-444, 2 figs., 1912.

SYDOW, H.; SYDOW, P. Enumeration of Philippine fungi, with notes and descriptions of new species. Part I. Micromycetes. *Philippine Journal of Science, Section C, Botany*, v.8 (4), p. 265-285, 1913.

SYDOW, H. Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora des südlichen Ostindiens – II. *Annales Mycologici*, v. 12 (5), p. 484-490, 1914.

SYDOW, H. Fungi in itinere Costaricensi collecti. Pars tertia. *Annales Mycologici*, v.25 (1-2), p. 1-160, 1927.

SYDOW, H. Fungi Venezuelani. *Annales Mycologici*, v. 28, (1-2), p. 29-224, 1930.

TAMURA K., STECHER G., e KUMAR S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, v. 38, p. 3022-3027, 2021.

TAHERIYAN V, KHODAPARAST SA, HASHEMI SA. New records for anamorphic fungi of Guilan province, Iran. *Mycologia Iranica*, v. 1 (1); p. 7–11, 2014.

THARP, B.C. Texas parasitic fungi. New species and amended descriptions. *Mycologia*, v. 9 (2): 105-124, 1917.

TOGASHI, K.; KATSUKI, S. New or noteworthy parasitic fungi in Japan. *Sci. Rep. Yokohama Nat. Univ. Sect. 2*, v. 1: 1-7, 4 figs., 1952.

VAIDYA, G.; LOHMAN, D.J.; MEIER, R. SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, v. 27(2): pp.171–180, 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO. Portal UFRRJ. SNCT: Proext divulga mapas do câmpus Seropédica e de atividades no P1, 2023. Extensão. Disponível em: <<https://portal.ufrj.br/snct-proext-divulga-mapas-do-campus-seropedica-e-de-atividades-no-p1/>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2024.

VIDEIRA, S.I.R., J.Z GROENEWALD, C. NAKASHIMA, U. BRAUN, R.W BARRETO, P.J.G.M. de WIT, e P.W CROUS. *Mycosphaerellaceae – Chaos or Clarity? Studies in mycology*, v. 88 (s1), pp. 37-135, 2017. doi.org/10.1016/j.simyco.2017.09.003.

VILGALYS, R. & HESTER M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*, v. 172(8): pp. 4238-46, 1990. [doi: 10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990](https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990). PMID: 2376561; PMCID: [PMC213247](https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990).

XIE C., Zhisheng XIE, Xinjun XU, Depo YANG. Persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves: A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 163, 229–240, 2015. doi.org/10.1016/j.jep.2015.01.007.

WANG, B.; ABUBAKAR, Y.S.; WANG, Z. Special Issue “Genomics of Fungal Plant Pathogens”. *Journal of Fungi*, v. 9: 713, p. 1-4, 2023. <https://doi.org/10.3390/jof9070713>.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.D.; LEE, S.B.; TAYLOR, J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press: 1989, pp. 315-322.

WU, B.; HUSSAIN, M.; ZHANG, W; STADLER, M.; LIU, X.; XIANG, M. Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. *Mycology*, v. 10, p.127–140, 2019. doi.org/10.1080/21501203.2019.1614106.

YEN, W. Étude sur les champignons parasites du sud-est Asiatique. I. Première note sur quelques nouvelles espèces de *Cercospora* de Singapour. *Revue de Mycologie Paris, N.S.* v. 29 (3): 209-240, 1964.

ZHANG Z., Scott SCHWARTZ, Lukas WAGNER, and Webb MILLER. "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", *J Comput Biol*;V. 7(1-2):203-14, 2000.

ZUNTINI, A.R.; CARRUTHERS, T.; MAURIN, O.; *et al.* Phylogenomics and the rise of the angiosperms. *Nature*, v. 629, 843–850, 2024.

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE ESPÉCIES DE *Phyllachora* EM MATA ATLÂNTICA

RESUMO

SOUZA, Hemylson Porto. **Caracterização morfológica de espécies de *Phyllachora* em mata atlântica.** 2025. 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, 2025.

O gênero *Phyllachora* Nitschke ex Fuckel (*Phylachoraceae*, *Phyllachorales*, *Sordariomycetes*, *Ascomycota*) é composto por fungos folícolas, que formam peritécios situados em estromas melanizados (“*tar spots*”), geralmente formando clípeo. Possuem ascos oblongos a cilíndricos e ascósporos globosos, ovais ou elipsoidais. Fungos deste grupo são biotróficos, e apresentam, em geral, alta especificidade quanto ao hospedeiro, sendo tradicionalmente associados a eudicotiledôneas e monocotiledôneas, especialmente gramíneas. A formação de estromas no tecido foliar implica em redução da área de fotossíntese, causando danos na planta. Tendo em vista as profundas mudanças que vêm ocorrendo na taxonomia da ordem *Phyllachorales*, especialmente a partir de análises de sistemática filogenética, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização morfológica de espécies de *Phyllachora* depositadas no Herbário Fitopatológico "Verlande Duarte Silveira" (HFVDS)-UFRJ, situado no *campus* da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em Seropédica-RJ. Foram caracterizadas 10 espécies de *Phyllachora*, sendo: 4 coletadas recentemente em reservas de mata atlântica (Restinga da Marambaia, no município do Rio de Janeiro, e na Floresta Nacional Mário Xavier, em Seropédica); 4 espécies da coleção de Arsène Puttemans; e 2 espécies da coleção do antigo Instituto Biológico de Defesa Agrícola - Serviço de Vigilância Sanitária Vegetal. Ambas as coleções citadas estão depositadas no HFVDS-UFRJ. Os espécimes foram analisados no Laboratório de Micologia/DEnF/ICBS/UFRRJ. Cortes transversais foram obtidos com o auxílio de um criomicrótomo, e, em seguida, observados sob microscópia óptica. Foram realizadas medições de diferentes estruturas, sendo posteriormente comparadas com descrições de espécies já estabelecidas na literatura. Das 10 espécies analisadas, 5 delas não se enquadram em nenhuma espécie já registrada, sendo provavelmente espécies novas. Além disso, destas 5 espécies, uma delas apresentou ascósporos piriformes, o que é incomum em *Phyllachorales*, o que sugere inclusive a possibilidade de se tratar de um novo gênero.

Palavras-chave: *Ascomycota*; *Phyllachorales*; *Phyllachora*; mata atlântica; *tar spots*.

ABSTRACT

SOUZA, Hemylson Porto. **Morphological characterization of *Phyllachora* species in the Atlantic forest.** 2025. Dissertation (MSc in Phytosanitary and Applied Biotechnology). Institute of Biological Sciences and Health. Department of Entomology and Plant Pathology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, 2025.

The genus *Phyllachora* Nitschke ex Fuckel (*Phylachoraceae*, *Phyllachorales*, *Sordariomycetes*, *Ascomycota*) are foliicolous fungi that forms perithecia located in melanized stroma ("tar spots"), generally forming clypeus. They have oblong to cylindrical ascii and globose, oval or ellipsoidal ascospores. Fungi from this group are biotrophic, and generally have high host specificity, being traditionally associated with eudicots and monocotyledons, especially grasses. The formation of stroma in the leaf tissue results in a reduction in the photosynthesis area, causing damage to the plant. In view of the profound changes that have been occurring in the taxonomy of the order *Phyllachorales*, especially due to phylogenetic systematic analyses, the present work aimed the morphological characterization of *Phyllachora* species deposited in the "Verlande Duarte Silveira" Phytopathological Herbarium (HFVDS)-UFRJ, located on the campus of the Federal Rural University of Rio de Janeiro, in Seropédica-RJ. Ten species of *Phyllachora* were characterized, of which: four were recently collected in Atlantic forest reserves (Restinga da Marambaia, in the municipality of Rio de Janeiro, and in the Mário Xavier National Forest, in Seropédica); 4 species from the Arsène Puttemans collection; and 2 species from the collection of the former Instituto Biológico de Defesa Agrícola - Serviços de Vigilância Sanitária Vegetal. Both collections mentioned are deposited at HFVDS-UFRJ. The specimens were analyzed at the Mycology Laboratory/DEnF/ICBS/UFRRJ. Transverse sections were obtained using a cryomicrotome, and then observed under optical microscopy. Measurements of different structures were carried out and subsequently compared with descriptions of *Phyllachora* species already established in the literature. Of the 10 species analyzed, 5 of them did not fit into any previously recorded species, and are probably new species. Furthermore, of these 5 species, one of them had pyriform ascospores, which is unusual in *Phyllachorales*, which even suggests the possibility of it being a new genus.

Key words: *Ascomycota*; *Phyllachorales*; *Phyllachora*; atlantic forest; tar spots.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Classe *Sordariomycetes*

A classe *Sordariomycetes* é a segunda maior dentro do filo *Ascomycota*, em termos de número de espécies descritas. Atualmente, a classe é composta por: 49 ordens, 194 famílias, 2.227 gêneros, 25.613 espécies (*Catalogue of Life* - BÁNKI *et. al.*, 2024). Este grupo de fungos corresponde, em grande parte, à antiga classe “pyrenomycetes”, tratada atualmente apenas de modo informal. Trata-se de fungos que formam ascomas do tipo peritecióide, com ascos unitunicados (MOORE *et. al.*, 2011)⁷⁰. Conforme se observa na Figura 34, na classe *Sordariomycetes* existem várias ordens com grande número de espécies, notavelmente: *Diaporthales*, com 3.835 espécies; *Xylariales*, com 3.417; *Meliolales*, com 2.499; *Amphisphaerales*, com 1.403; e *Sordariales*, com 1.378 espécies (*Catalogue of Life* - BÁNKI *et. al.*, 2024). Há também muitos fungos causadores de importantes fitomoléstias: *Pyricularia oryzae* Cavara (*Magnaporthales*), que provoca a brusone do arroz, considerada principal doença da cultura (KIMATI *et. al.*, 1997; OLIVER, 2024⁷¹); *Colletotrichum* Corda spp. (*Glomerellales*), causador das doenças chamadas de antracnose, atacando uma diversa gama de hospedeiros; *Verticillium alboatrum* Reinke & Berthold e *V. dahliae* Kleb. (*Glomerellales*), agente etiológico da murcha-de-Verticillium, que afeta diversas culturas, principalmente oleráceas; o gênero *Fusarium* Link (*Hypocreales*), que causa doenças como murcha e podridão de colo e raiz em uma ampla gama de hospedeiros (OLIVER, 2024).

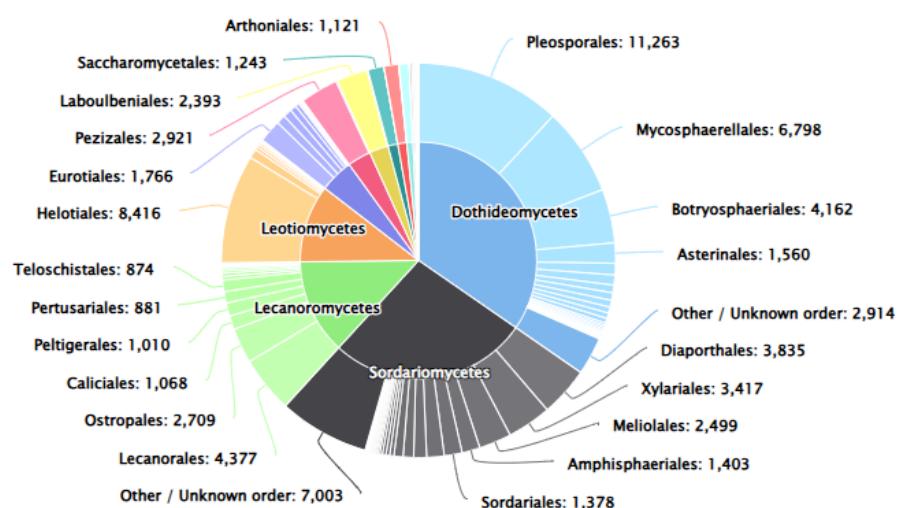


Figura 34. Distribuição das classes e ordens dentro do filo *Ascomycota*, além do número de espécies em cada ordem. Fonte: *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024).

⁷⁰ Página 60.

⁷¹ Página 391.

1.2. Ordem *Phyllachorales*

A ordem *Phyllachorales* M.E. Barr está entre as 7 maiores da classe *Sordariomycetes*, em número de espécies descritas, sendo composta atualmente por: 4 famílias, 92 gêneros e 1.339 espécies. Conforme se observa na figura 35, mais de 64% das espécies da ordem estão enquadradas no gênero *Phyllachora* Nitschke ex Fuckel. A ordem *Phyllachorales* foi proposta pela primeira vez pela ilustre Margaret Barr⁷², em 1983, ainda que o gênero *Phyllachora* tenha sido sugerido no final do século XIX, e a família *Phyllachoraceae* tenha sido proposta em 1915 (a família e o gênero serão tratados em mais detalhes a seguir). Daí é possível notar que o gênero *Phyllachora* foi inserido em diferentes ordens até que ordem *Phyllachorales* fosse sugerida por Barr e aceita pela comunidade científica.

O gênero *Phyllachora* foi inicialmente introduzido por uma etiqueta de herbário de exsicatas de Fuckel *Fungi Rehnani* (Fuckel 1867) com uma única espécie *P. agrostis* Fuckel [Hoje: *Scirrhia agrostidis* (Fuckel) G. Winter] e 3 anos depois o gênero foi expandido para incluir 18 espécies (Fuckel, 1870). Até a década de 1920, o gênero foi enquadrado na ordem *Dothideales* sem que houvesse contestações significativas. Mesmo em 1915, com a proposição da família *Phyllachoraceae* por Theissen & Sydow⁷³, os autores mantiveram a família dentro da ordem *Dothideales*. Apenas na década de 1920, autores como Orton (1924) e Petrak (1924), sobretudo o último, questionaram fortemente o enquadramento de gêneros que formam “peritécios verdadeiros” (contendo parede e ostíolo “verdadeiros”) na ordem *Dothideales*. Sendo assim, *Phyllachora*, que se inclui neste caso, não deveria ser inserida nesta ordem, que é composta por fungos que formam ascomas estromáticos, sem parede e ostíolos verdadeiros. De fato, mais tarde seria demonstrado por autores como Nannfeldt (1932) que o processo ontogênico de formação dos ascomas é distinto nos fungos *Dothideales*, que formam ascostromas, e em fungos como *Phyllachora*, que forma peritécios verdadeiros⁷⁴ (CANNON, 1991).

Após a notoriedade deste entendimento para a comunidade, o gênero *Phyllachora* passou a ser reenquadrado em outras ordens, situadas na antiga classe *pyrenomycetes* (fungos que formam peritécios, com ascos unitunicados). Neste sentido, houve enquadramento em ordens como *Sphaeriales* (ARX & MÜLLER, 1954) e *Xylariales* (LUTTRELL, 1951), até a proposição da ordem *Phyllachorales*, em 1983. Na descrição da ordem, sugerida por Barr, a autora sugere as seguintes características típicas: hábito parasitário, hemibiotrófico, saprofítico ou simbótico; ascomas globosos, imersos diretamente no substrato ou em um estroma; paráfises estreitas ou largas; ascósporos hialinos ou levemente pigmentados, contínuos ou septados (BARR, 1983)⁷⁵.

Estudos de filogenia molecular realizados nos últimos dez anos têm demonstrado a monofilia da ordem *Phyllachorales* (MARDONES *et al.*, 2017). Como pode ser observado na Figura 35, quase todas as espécies da ordem estão inseridas na família *Phyllachoraceae* (1.269

⁷² BARR, 1983.

⁷³ THEISSEN & SYDOW, 1915.

⁷⁴ Nannfeldt dividiu estes grupos de fungos em: Ascoloculares (formam ascostroma, como os atuais *Dothideomycetes*) e Ascohymeniales (formam outros tipos de ascomas, como os peritécios, como é o caso da *Phyllachora*, e da maioria dos atuais *Sordariomycetes*).

⁷⁵ Página 11.

em face de 1.339 espécies na ordem, ou seja, mais de 94%). Além disso, só no gênero *Phyllachora* são 862 espécies (mais de 64%). As espécies restantes da ordem estão distribuídas entre as outras três famílias: *Neopolystigmataceae*, *Phaeochoraceae* e *Telimenaceae*.

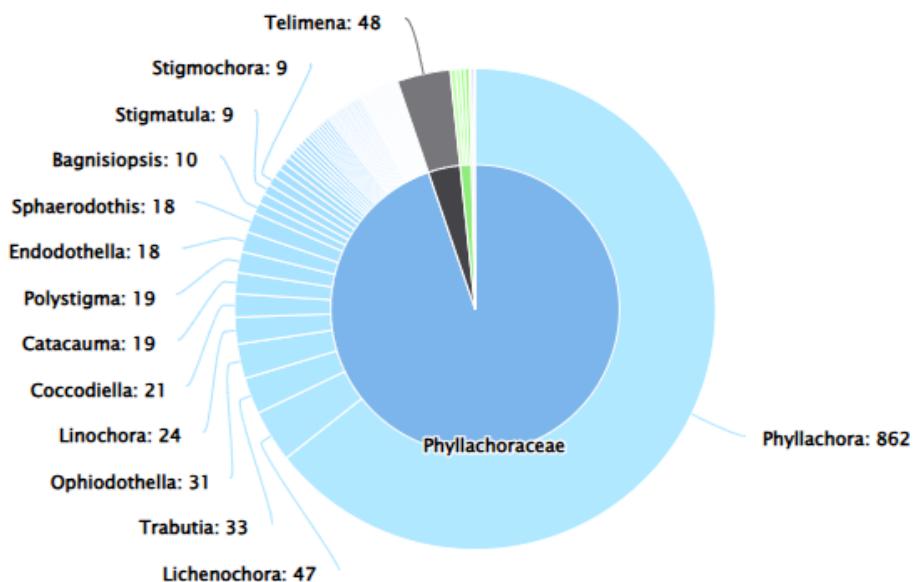


Figura 35. Distribuição de famílias e gêneros dentro da ordem *Phyllachorales*, além do número de espécies em cada gênero. Fonte: *Catalogue of Life* (BÁNKI *et. al.*, 2024).

Como comentado o gênero *Phyllachora* Nitschke ex Fuckel foi introduzido por Fuckel em 1870 (Fuckel, 1870), tendo sido lectotipificado por Clements e Shear (1931), que designaram *Phyllachora graminis* (Pers.) Fuckel como lectotipo. Atualmente, o gênero é definido pelas seguintes características morfológicas: *manchas* de contorno variável, geralmente arredondada, preta e brilhante; *clípeo* principalmente intraepidérmico, *estroma* ausente ou esparsa; *peritécios* imersos no tecido hospedeiro, *perifises* presentes; *paráfises* filiformes, septadas, hialinas, muitas vezes deliquescentes; *ascos* cilíndricos a clavados, com ou sem anel apical, não sendo corados em azul no iodo, geralmente com 8 esporos; *ascósporos* geralmente hialinos, asseptados, lisos, em sua maioria sem bainhas gelatinosas; *espermagônios* acervulares ou picnidiais, de formato variável, frequentemente associadas ao ascoma; *espermácias* filiformes, curvas, hialinas (MARDONES, 2017)⁷⁶.

⁷⁶ Página 83.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho, foram realizados estudos sobre dez amostras de diferentes espécies vegetais infectadas por *Phyllachora*. Todos os espécimes estão depositados no Herbário Fitopatológico "Verlande Duarte Silveira" (HFVDS-UFRJ), situado no *campus* da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em Seropédica-RJ. Destas amostras, quatro foram coletadas recentemente em reservas de mata atlântica (Restinga da Marambaia, no município do Rio de Janeiro, e na Floresta Nacional Mário Xavier, em Seropédica). As outras seis são provenientes de coletas antigas depositadas no HFVDS - UFRJ: quatro delas pertencem à coleção de Arsène Puttemans; e as outras duas pertencem à coleção do antigo Instituto Biológico de Defesa Agrícola - Serviço de Vigilância Sanitária Vegetal.

A Tabela 17 contém os dados dos hospedeiros e dos fungos estudados neste trabalho. Mais detalhes acerca das amostras serão tratados nas seções a seguir.

Tabela 17. Listas dos diferentes hospedeiros associados a *Phyllachora* sp., catalogados no HFVDS/UFRJ.

Hospedeiro/Família	Fungo/Gênero	Número de registro	Local de coleta	Data de coleta
<i>Eugenia punicifolia</i> (Myrtaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 1189	Restinga da Marambaia	25/07/2022
<i>Croton cf. compressus</i> (Euphorbiaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 1198	Restinga da Marambaia	25/07/2022
<i>Paullinia rubiginosa</i> (Sapindaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 1243	Flona Mário Xavier	28/10/2022
<i>Eugenia florida</i> (Myrtaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 1236	Flona Mário Xavier	28/10/2022
<i>Cedrella fissilis</i> (Meliaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 452B-SDSV-MA	Gávea, Rio de Janeiro - RJ	desconhecido
<i>Machaerium villosum</i> (Fabaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 266-SDSV-MA	Gávea, Rio de Janeiro - RJ	1944
<i>Chloris</i> sp. (Poaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 322B-Puttemans	Rio de Janeiro - RJ	desconhecido
gênero indefinido (Poaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 475B-Puttemans	desconhecido	desconhecido
<i>Vernonia</i> sp. (Asteraceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 185B-Puttemans	Horto Botânico, São Paulo - SP	Abri de 1900
gênero indefinido (Poaceae)	<i>Phyllachora</i> sp.	UFRJ 283B-Puttemans	Belo Horizonte - MG	desconhecido

2.1. Restinga da Marambaia e Floresta Nacional Mario Xavier

Conforme já mencionado, das dez amostras analisadas, quatro foram coletadas pela equipe que realizou o presente trabalho. As duas primeiras foram coletadas na Restinga da Marambaia (latitude 23°04'59.7"S e longitude 43°58'52.0"W - Figura 36), uma área que possui uma extensão de aproximadamente 42 km, situada entre a baía de Sepetiba e o oceano atlântico (faz parte do território de três municípios fluminenses: Rio de Janeiro, Itaguaí e Mangaratiba.). O Pico da Marambaia é o ponto mais alto, atingindo 647 metros. Trata-se de uma reserva de acesso restrito, controlada pelas Forças Armadas, sendo uma das últimas reservas de Mata Atlântica da região sudeste, constituídas por áreas de restingas e manguezais (IBGE, 2024), com clima tropical, quente e super úmido (IBGE, 2002), conforme se observa na Figura 37.

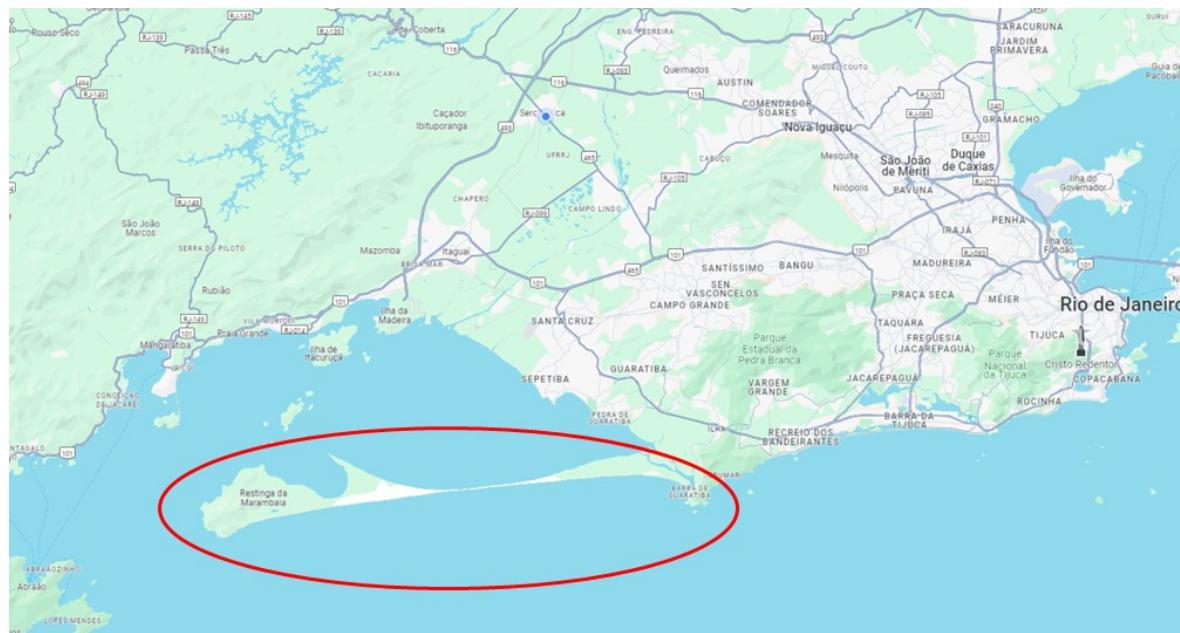


Figura 36. Localização da Restinga da Marambaia (área de estudo/coletas). FONTE: GOOGLE MAPS, 2024.



Figura 37. Mapa do clima do estado do Rio de Janeiro. FONTE: IBGE, 2002.

Outra reserva na qual foram realizadas coletas foi a Floresta Nacional Mário Xavier, localizada no município de Seropédica-RJ (coordenadas da flona: latitude 22° 42' a 22° 45' S Longitude 43° 41' a 43° 44' W - Figura 38). A reserva é constituída por vegetação de mata atlântica (ecossistema: floresta ombrófila densa das terras baixas), sendo administrada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). A flona possui uma área de 493,68 hectares (ICMBio, 2022). Conforme se observa na Figura 2, o clima da Flona Mário Xavier é tropical, quente e super úmido (IBGE, 2002 - Figura 37).

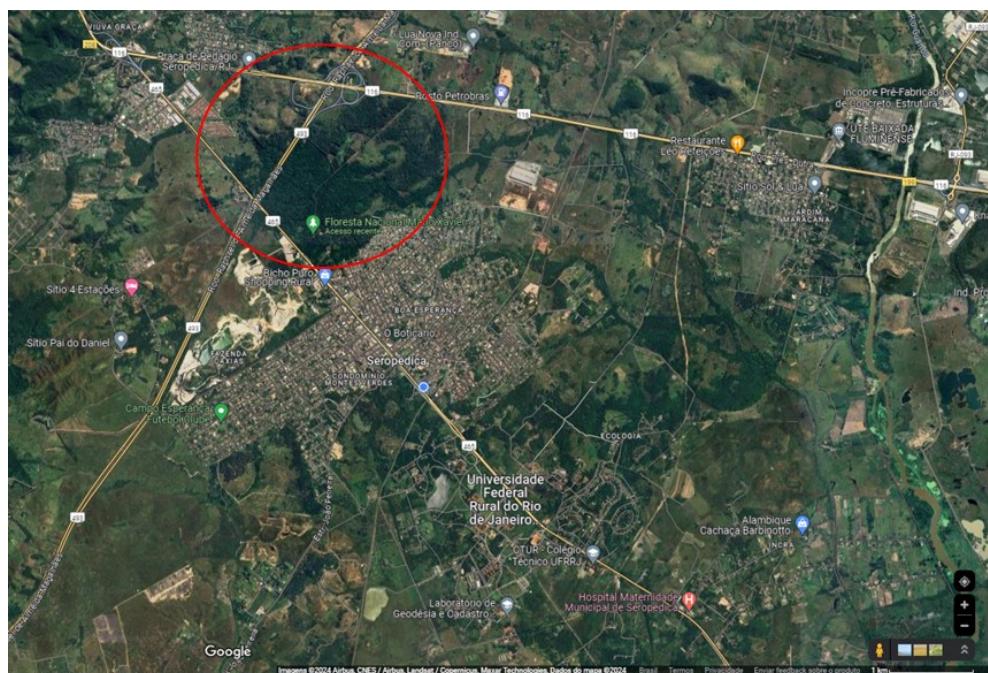


Figura 38. Localização Flona Mário Xavier (área de estudo/coleitas). FONTE: GOOGLE MAPS, 2024.

2.2. Coleta e processamento das amostras

Amostras foliares de plantas sintomáticas foram coletadas e levadas para o Laboratório de Micologia/DEnF/ICBS/UFRJ, onde foram submetidas a uma análise inicial com auxílio de um microscópio estereoscópico. Nesta etapa, foram observados estromas típicos de *Phyllachorales* em folhas de diferentes espécies vegetais (Tabela 17). Foram realizados cortes histológicos transversais à mão-livre e em micrótomo criostático (Leica CM1950), no setor de Fisiologia Animal do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCFis), localizado no Pavilhão de Química (PQ-IQ/UFRJ), com o objetivo de analisar a relação patógeno-hospedeiro no tecido foliar. Em seguida, foram preparadas lâminas utilizando-se os corantes floxina B/KOH glicerol e azul de algodão/lactoglicerol, para observação e fotodocumentação em microscópio óptico. As lâminas foram observadas em microscópio óptico Biofocus BLUE 1000 e as estruturas fúngicas foram medidas morfometricamente com ocular micrométrica acoplada a domicroscópio, 50 repetições no aumento de 40-100×. As medidas foram comparadas com descrições de espécies já reportadas na literatura. Toda fotodocumentação foi realizada com câmera Cannon - Power Shot Elph 100 HS.

Os procedimentos relatados foram realizados predominantemente sobre amostras frescas. Não obstante, o material coletado foi herborizado e incorporado ao Herbário Fitopatológico “Verlande Duarte Silveira” (HFVDS-UFRJ), após a secagem em estufa de lâmpadas incandescentes a 60°C/4 dias. A após a secagem, as amostras foram depositadas e catalogadas no herbário.

Os fungos foram identificados através do uso de chaves especializadas e em literatura referente à ordem *Phyllachorales*, bem como: ORTON (1944), PARBERY (1967), AINSWORTH, SPARROW and SUSSMAN (1973), CANNON (1991), MARDONES *et. al.* (2017, 2018). A verificação de nomes científicos, nomes de autores, validade e sinônimias foram feitas em portais online como: o *Index Fungorum* (www.indexfungorum.org) do CABI Bioscience Database, administrado 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.arsgrin.gov/fungaldatabases/fungushost/fungushost.cfm>), administrado por David Farr e Ammy Rossman.

2.3. Espécimes antigos do Herbário Fitopatológico "Verlande Duarte Silveira" (HFVDS-UFRJ)

Além das amostras coletadas na Restinga da Marambaia (amostras UFRJ1189 e UFRJ1198) e na Flona Mário Xavier (UFRJ1243 e UFRJ1236), conforme já mencionado, também foram analisadas amostras antigas depositadas no HFVDS-UFRJ (Tabela 17). Neste caso, as amostras UFRJ185B-Puttemans, UFRJ283B-Puttemans, UFRJ322B-Puttemans e UFRJ475B-Puttemans pertencem à Coleção de Arsène Puttemans, enquanto que as amostras UFRJ266-SDSV-MA e UFRJ452B-SDSV-MA pertencem à coleção do antigo Instituto Biológico de Defesa Agrícola - Serviço de Vigilância Sanitária Vegetal/ Serviço de Defesa Sanitária Vegetal” (SDSV) que pertencia ao Ministério da Agricultura. No caso de amostras secas do herbário o procedimento consistiu em se efetuar a reidratação das estruturas fúngicas

presentes no material herborizado para retirada de frutificações com auxílio de estilete (agulha) e /ou fragmentos para obtenção de seções finas em criomicrótomo e de posse das amostras (cortes ou estruturas fúngicas) efetuada a montagem das lâminas em corantes (Floxina/KOH glicerol ou azul-de-algodão/Lactoglicerol) para posterior observação em microscópio óptico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. *Phyllachora* sp. em folhas de *Eugenia punicifolia* (Myrtaceae) (Fig. 39; Tab. 18)

Provável sp. nov. nº 7

Descrição *Estromas* 1,5-3 mm de diâmetro, formando crostas pretas circulares, conspícuas e anfígenas, geralmente isoladas, às vezes confluentes, contendo vários peritécios (Figura 39 A, B, C). *Peritécios* 85-324 × 106-290 µm, com cavidade 41,5-241,5 × 62-264,5 µm, e *perídio* 15-32,5 µm, imersos no tecido, anfígenos. *Clípeo* 49-80 µm de profundidade. *Paráfises* 1,4-3 µm, hialinas, septadas, não ramificadas. *Ascos* 52-105 × 8-14 µm, cilíndricos a cilíndrico-clavados, contendo 8 ascósporos, geralmente uni-seriados, podendo ser bi ou irregularmente distribuídos. *Ascósporos* 13-19 × 3-5 µm, hialinos, asseptados, elipsóides a cilíndrico-ovais, lisos, frequentemente contendo gútulas.

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Restinga da Marambaia. Em folhas de *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. (Myrtaceae) “Cereja-do-cerrado”. 25/07/2022. Col. Carlos Antonio Inácio nº 262 (UFRJ 1189).

Discussão. A maioria das espécies de *Phyllachora* descritas em hospederos do gênero *Eugenia* possui ascósporos com larguras significativamente maiores, quando comparadas à espécie analisada no presente estudo (Tabela 18). É o que ocorre com *P. tachirensis* Chardón (CHARDON, 1934), *P. emarginata* Petr. (PETRAK, 1948), *P. mulleri* Chardón (CHARDON *et. al.*, 1940), *P. brenesii* Syd. (SYDOW & PETRAK, 1929) e *P. angustispora* Speg. (SPEGAZZINI, 1919). Nos casos de *P. tachirensis* e *P. brenesii*, embora os comprimentos dos ascósporos sejam próximos dos que ocorrem com a espécie estudada, as larguras são bem diferentes. Por outro lado, *P. eugeniae* Chardón (CHARDON, 1927) apresenta larguras dos ascósporos dentro da faixa de variação do fungo analisado, mas o comprimento é significativamente maior.

Desse modo, a Tabela 18 indica que as espécies *P. whetzelii* Chardón (CHARDON, 1921) e *P. biareolata* Speg. (SPEGAZZINI, 1888) são as que mais se aproximam da espécie estudada, pois possuem ascos e ascósporos com dimensões mais semelhantes. Ainda assim, os comprimentos dos ascósporos são menores nas duas espécies citadas, sobretudo em *P. biareolata*. Portanto, a caracterização morfológica do fungo estudado não se enquadra em nenhuma das espécies descritas na literatura, o que indica a possibilidade de se tratar de uma espécie nova.

Tabela 18. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Eugenia punicifolia* comparadas com espécies já descritas e associadas ao gênero *Eugenia* (Myrtaceae).

Espécies de <i>Phyllachora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro mm)	Cavidade do Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Paráfises (μm)	Ascos (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>P. tachirensis</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Venezuela	1-2	2-4 Anfígeno	100-160 (diâmetro)	30-40	Ocorre	109-166 × 9,5-12	13-17 × 7-8	Chardon (1934)
<i>P. emarginata</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Equador	Sem manchas	0,5-1,5 Geralmente epífilo	---	70-150	Ocorre 2-3	80-130 × 18-28	16-20 × 10-12	Petrak (1948)
<i>P. mulleri</i>	<i>E. dodonaeifolia</i>	Minas Gerais	Sem manchas	1,5-3 Anfígeno	285-360 × 218-260	---	Ocorre	95-120 × 13-15	28-32 × 6-7	Chardon et. al. (1940)
<i>P. biareolata</i>	<i>E. guabiju</i>	Paraguai	Sem manchas	2-3 Anfígeno	200-250 × 100-150	---	Ocorre	90-95 × 6-9	12 × 5	Spegazzini (1888)
<i>P. brenesii</i>	<i>E. guayaquilensis</i> var. <i>glabrior</i>	Costa Rica	Sem manchas	1-3 Geralmente epífilo	800 (diâmetro)	3-5	Ocorre	70-80 × 10-15	12-17 × 8-10	Sydow & Petrak (1929)
<i>P. whetzelii</i>	<i>E. monticola</i>	Porto Rico	Ocorrência de manchas	1-1,5 anfígena	150-250 (profundidade)	---	Ocorre	87-109 × 8-10,5	11,5-13 × 3-4	Chardon (1921)
<i>P. eugeniae</i>	<i>E. rhombea</i>	Porto Rico	Ocorrência de manchas	1-2,5 anfígena	110-150 × 80-130	---	Ocorre	60-75 × 7-9	8-10 × 4-4,5	Chardon (1927)
<i>P. angustispora</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Paraguai	1-3	0,5-2 Geralmente Hipófilos	120-150 diâmetro	---	Sem paráfises	80-90 × 12-14	30 × 8-9	Spegazzini (1919)
<i>P. verrucosa</i>	<i>Eugenia buxifolia</i>	Haiti e Porto Rico	---	1-2 Anfígeno	250-320 (diâmetro)	---	Ocorrem	85-100 × 12-15	10-13 × 7-9	Chardon (1932)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Eugenia punicifolia</i>	Restinga da Marambaia-RJ	Pequeno halo irregular	1,5-3 anfígeno	41,5-241,5 × 62-264,5	49-80	1,4-3	52-105 × 8-14	13-19 × 3-5	Este trabalho

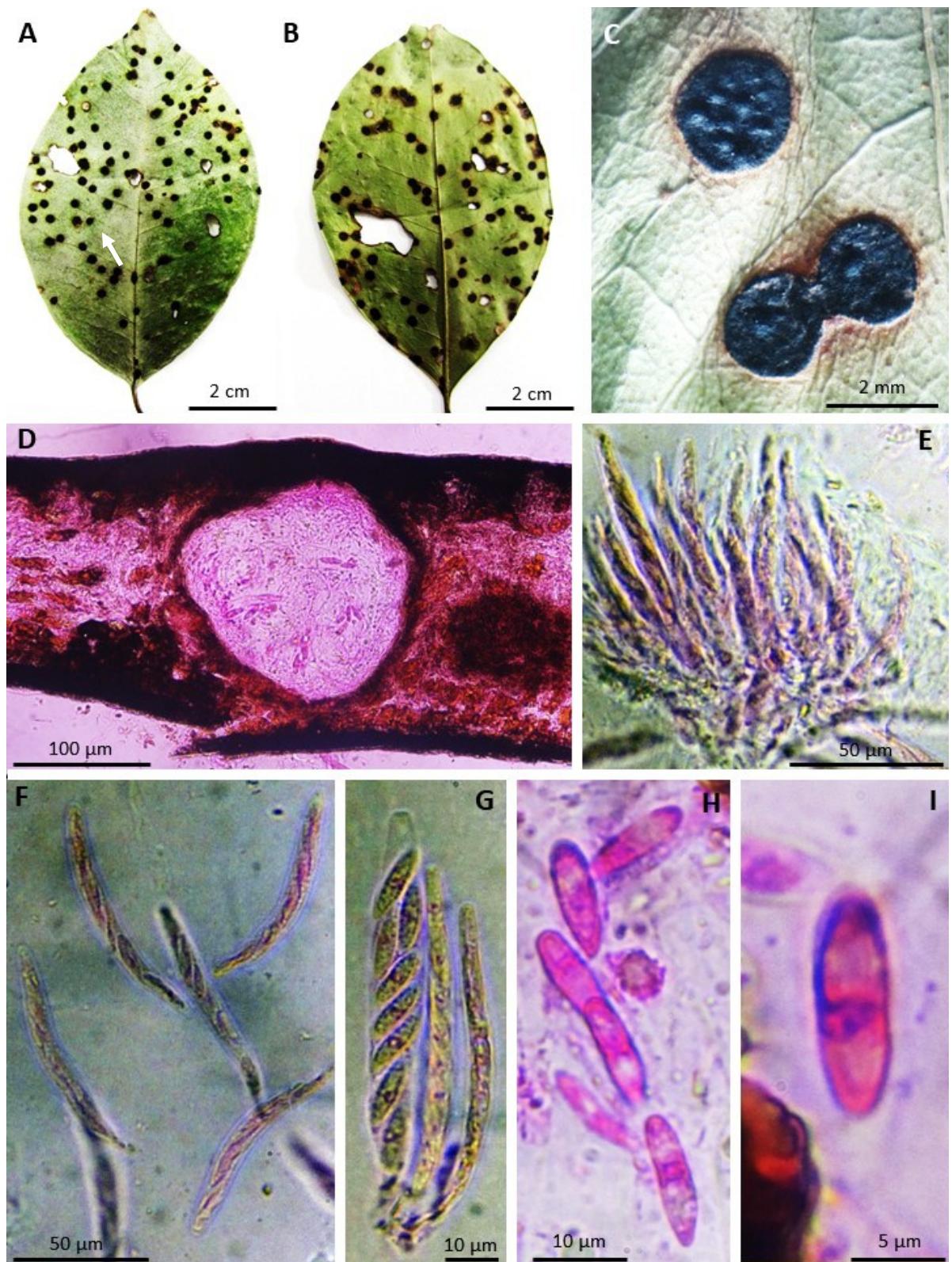


Figura 39. A-G. *Phyllachora* em folhas de *Eugenia punicifolia* coletado na Reserva da Resinga de Marombaia-R.J. A. Sintomas na região adaxial (seta). B. Sintomas na região abaxial. C. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras. D. Ascosas visto em corte vertical-transversal. E. Grupo de ascos e paráfises. F. Grupo de ascos. G. Asco maduro e imaturos. H. Grupo de ascósporos. I. Ascósporo em detalhe.

3.2. *Phyllachora* sp. em folhas de *Croton compressus* (Euphorbiaceae) (Fig. 40; Tab. 19)

Provável sp. nov. nº 8

Descrição: *Manchas* inicialmente cloróticas (Figura 40 - A, B), evoluindo para áreas necrosadas na porção central, marrons a marron-aczentadas. Há sempre um halo clorótico ou em torno do estroma (sem mancha necrótica) ou em torno de mancha necrótica marron onde os estromas estão situados, medindo de 1-16 mm de diâmetro, às vezes coalescentes. *Estromas* negros globosos, isolados ou em grupos, com 209-674,5 μm de diâmetro (Fig. 40 - A, B, C). *Ascomas* 103-540,5 \times 225,4-586,5 μm , periteciais, intramesofílicos. *Clípeos* 51,5-94 μm , negros. *Paráfises* 3-5 μm , hialinas, septadas, não ramificadas. *Ascos* 66-97 \times 12-21 μm , cilíndricos a cilíndrico-clavados, geralmente uni-seriados, ou irregularmente distribuídos. *Ascósporos* 9-17 \times 6,5-9 μm , hialinos, gutulados, asseptados, ovais a cilíndrico-ovais, lisos.

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Restinga da Marambaia. Em folhas de *Croton compressus* Lam. LC (Euphorbiaceae) “Cróton”. 25/07/2022. Col. Carlos Antonio Inácio nº 267 (UFRJ 1198).

Discussão. As características morfológicas da espécie estudada não se enquadram nas descrições de espécies de *Phyllachora*, que ocorrem em Euphorbiaceae. Conforme pode ser constatado na Tabela 19, existem espécies com descrições limitadas na literatura, como por exemplo ocorre com *P. tragiae* (Schwein.) Sacc. (SCHWEINITZ, 1883), em que apenas o comprimento dos ascósporos foi descrito. Ainda que esta dimensão esteja dentro da faixa de variação do fungo estudado, a falta de outras medições dificultou a comparação entre as duas espécies.

A mesma situação ocorre com *P. crotonis* (Cooke) Sacc. (SACCARDO, 1883⁷⁷). Já no caso de *P. globispora* Speg. (SPEGAZZINI, 1909), há também poucas medições. Embora as dimensões de ascósporos se enquadrem na faixa de variação da espécie analisada, os ascos de *P. globispora* são significativamente mais largos. A espécie *P. lunulata* Chardón (CHARDÓN, 1934) também possui dimensões de ascósporos maiores (comprimento e largura).

Por outro lado, *P. crotonicola* Pat. (PATOUILLARD & LAGERHEIM, 1893), *P. crotonis* (ROMERO, 2008) e *P. huberi* Henn. (HENNINGS, 1900), apesar de apresentarem dimensões de ascósporos próximas às encontradas no fungo estudado, ambas diferem muito nas dimensões dos ascos. No caso, *P. huberi* tem ascos significativamente menores, enquanto, que, *P. crotonicola* e *P. crotonis* (ROMERO, 2008) possui ascos maiores. Por fim, *P. henningsii* Sacc. & P. Syd. (HENNINGS, 1937) possui maior similaridade com a espécie analisada, mas, ainda assim, há diferenças notáveis, como os ascósporos alcançando menor comprimento em *P. henningsii*, além dos seus ascos alcançarem menor largura. Desse modo, as peculiaridades apresentadas pelo fungo estudado indicam a possibilidade de se tratar de uma nova espécie de *Phyllachora*.

⁷⁷ Página 599.

Tabela 19. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Croton compressus* comparadas a espécies já descritas neste gênero e em outros da família Euphorbiaceae.

Espécies de <i>Phyllachora</i>	Hospedeiro	Local	Estroma (diâmetro mm)	Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Paráfises (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>P. crotonis</i>	<i>Croton sylvaticum</i>	Índia	----	200 diâmetro	----	----	15 × 10	Saccardo (1883)
<i>P. crotonis</i> var. <i>crotonis</i>	<i>Croton goyazensis</i>	Brasília	----	300-725 × 350-750	65-115	2-3 (diâmetro)	101-125 × 11-15	Romero (2008)
<i>P. crotonicola</i>	<i>Croton</i> sp.	Equador	0,5-1	----	----	Presente	100-120 × 13-15	Patouillard & Lagerheim (1893)
<i>P. lunulata</i>	<i>Croton</i> sp.	Venezuela	3-5	250-340 diâmetro	50-70	Presente	65-75 × 19-25	Chardón (1934)
<i>P. tragiae</i>	<i>Tragia</i> sp.	Suriname	anfígeno	----	----	----	10 (comprimento)	Saccardo (1883)
<i>P. globispora</i>	<i>Crotonibus</i>	Argentina	450-750	200-250 diâmetro	----	----	75-100 × 10-12	Spegazzini (1909)
<i>P. huberi</i>	<i>Hevea brasiliensis</i>	Pará	3-11	----	----	----	50-65 × 16-20	Hennings (1900)
<i>P. henningsii</i>	<i>Croton</i> sp.	Brasília	0,3 (diâmetro) anfígeno	----	----	----	80-100 × 12-14	Saccardo & Sydow (1899)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Croton</i> cf. <i>compressus</i>	Restinga da Marambaia-RJ	0,2-0,7 anfígeno	103-540,5 × 225,4-586,5	51,5-94	3-5	66-97 × 12-21	Este trabalho

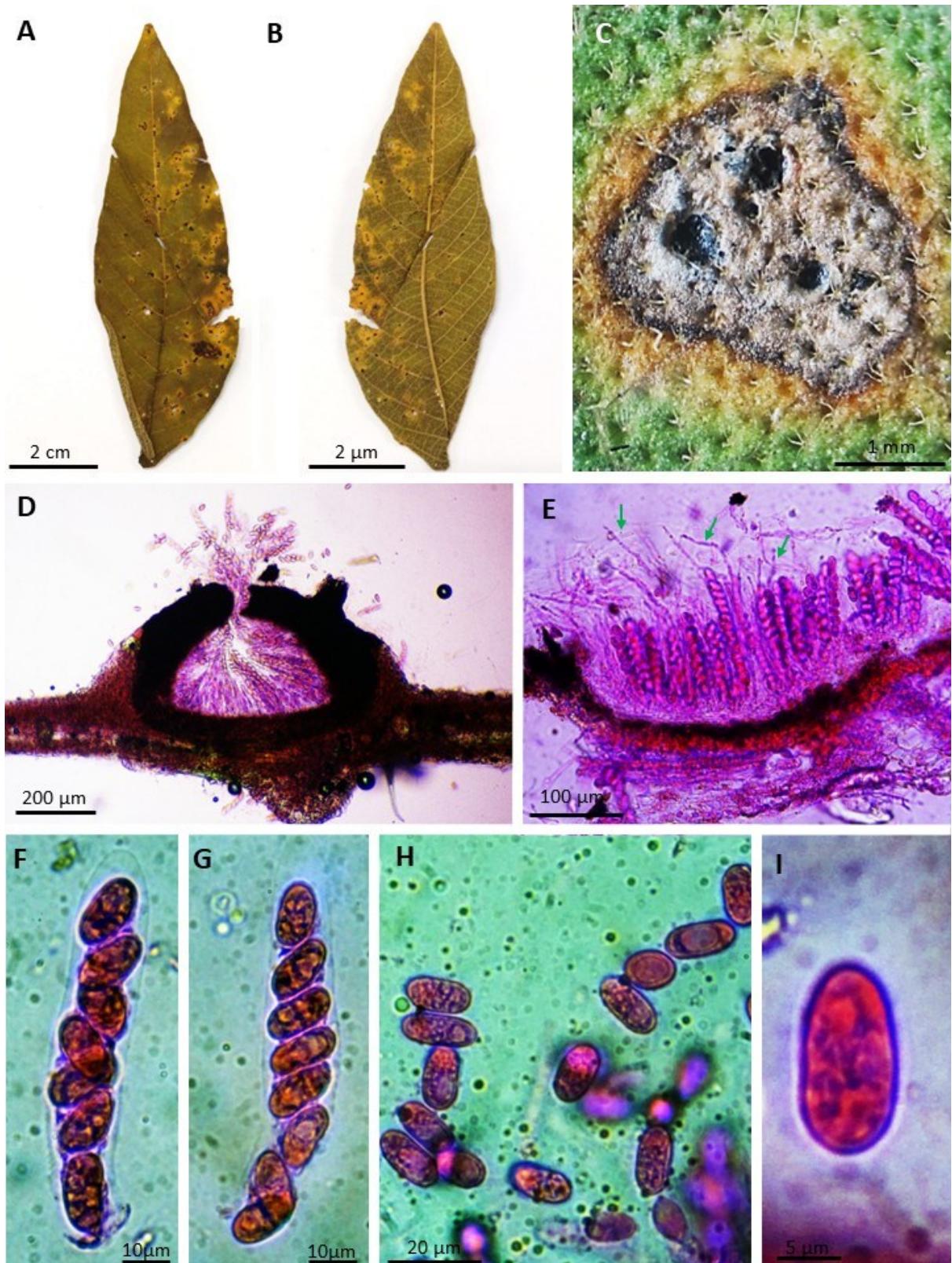


Figura 40. A-H. *Phyllachora* em folhas de *Croton cf. compressus* coletado na Reserva Restinga de Marambaia-R.J. A. Sintomas na região adaxial (seta). B. Sintomas na região abaxial (seta). C. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras. D. Ascoma visto em corte vertical-transversal. E. Grupo de ascos e paráfises (setas), vistos em corte vertical-transversal. F. Ascósporos. G. Detalhe do asco. H. Grupo de ascósporos. I. Detalhe do ascósporo.

3.3. *Phyllachora* sp. em folhas de *Paullinia rubiginosa* (Sapindaceae) (Figs. 41; Tab. 20)

Phyllachora cf. *alamoi* Chardón

Descrição. *Crosta*s negras 1,5-2,5mm, brilhantes, circulares e conspícuas, associadas ou não a um halo necrótico de coloração parda, anfígenos (Figura 41. A, B, C e D). *Clípeos* com 28-51,5 μ m de espessura, negros. *Ascomas* 126-292 \times 154-317,5 μ m, periteciais, totalmente imersos no tecido hospedeiro, anfígenos. *Paráfises* 0,9-2,5 μ m, hialinas, septadas, não ramificadas. *Ascos* 44-63 \times 7,5-11 μ m, cilíndricos a cilíndrico-clavados, geralmente uni-serializados, podendo ser bi ou irregularmente distribuídos. *Ascósporos* 6,5-11 \times 3,5-5,5 μ m, hialinos, asseptados, ovais a cilíndrico-ovais, lisos.

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, Floresta Nacional Mário Xavier. Em folhas de *Paullinia rubiginosa* Cambess. (Sapindaceae) “Guaranaí”. 28/10/2022. Col. Hemylson Porto de Souza nº 33 (UFRJ 1243).

Discussão. As características do fungo em estudo não se enquadram nas descrições das espécies verificadas na literatura (Tabela 20), ainda que, sob certos aspectos, possa haver alguma proximidade com algumas delas. De início, nota-se uma distância considerável em relação à *Phyllachora duplex* Rehm (REHM, 1909), à *P. serjaniae* Speg. (SPEGAZZINI, 1912), e à *P. scutiformis* Speg. (SPEGAZZINI, 1912)⁷⁸. As duas primeiras possuem ascos e ascósporos consideravelmente maiores em relação à espécie estudada, enquanto, que, a terceira (*P. scutiformis*) possui ascos mais longos (não há medições de ascósporos na descrição desta espécie).

Além destas, outras três espécies possuem ascos e/ou ascóporos levemente maiores em relação ao fungo analisado. A primeira delas é *P. sapindacearum* F. Stevens (STEVENS, 1927), que possui ascos um pouco mais longos e ascósporos um pouco mais largos. A segunda é *P. serjaniicola* Chardón (CHARDON, 1921)⁷⁹ cujos ascósporos são levemente maiores, e os ascos consideravelmente mais largos e levemente mais longos. A terceira, *P. insueta* Syd. (SYDOW, 1925)⁸⁰, por sua vez, possui ascos mais longos, e ascósporos levemente maiores.

Por fim, há duas espécies descritas na literatura que se aproximam mais da espécie estudada. Uma delas é *P. intermedia* var. *intermedia* Speg. (SPEGAZZINI, 1885), cujos ascos possuem dimensões que se enquadram dentro da faixa de variação do fungo analisado. Os ascósporos, porém, possuem comprimento levemente superior, ainda que a largura esteja em conformidade com a espécie estudada. Outra diferença é que *P. intermedia* var. *intermedia* não provoca manchas nas folhas dos hospedeiros, enquanto, que, a espécie estudada pode formar estromas circundados por manchas necróticas (Figura 41: A, B e D).

⁷⁸ Nome atual: *Telimena scutiformis* (Speg.) Mardones, Trampe & M. Piepenbr. (MARDONES et. al., 2018).

⁷⁹ Nome atual: *Telimena serjaniicola* (Chardón) Mardones, Trampe & M. Piepenbr. (MARDONES et. al., 2018).

⁸⁰ Nome atual: *Telimena insueta* (Syd.) Mardones, Trampe & M. Piepenbr. (MARDONES et. al., 2018).

A última espécie a ser considerada é a que possui maior similaridade com o fungo analisado: *P. alamoi* Chardón (CHARDON, 1934). Esta espécie foi descrita ocorrendo em *Serjania atrolineata*, na Venezuela, e suas dimensões de ascos e ascósporos se aproximam muito daquelas verificadas no fungo analisado, ainda que possam superar em 1-2 μm . Além disso, ambas as espécies provocam manchas foliares. Os estromas, porém, atingem maiores dimensões em *P. alamoi*, o que pode ser atribuído a diferenças na anatomia dos dois hospedeiros (*Serjania atrolineata* e *Paullinia rubiginosa*). Sendo assim, é provável que o fungo estudado pertença à espécie *P. alamoi*, o que poderá ser confirmado mediante análises moleculares.

Tabela 20. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Paullinia rubiginosa* comparadas a espécies já descritas na literatura, associadas a hospedeiros da família *Sapindaceae*.

Espécies de <i>Phyllachora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro mm)	Cavidade do Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Paráfises (μm)	Ascos (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>Phyllachora duplex</i>	<i>Serjania</i> sp.	Rio Grande do Sul	irregulares	Epífilos: 8-10 Hipófilos: 3-5	12-15	---	---	120 × 15	18 × 10	Rehm (1909)
<i>P. intermedia</i> var. <i>intermedia</i>	<i>Sapindaceae</i>	Paraguai	Sem manchas	1-6 Anfígeno	---	---	---	50 × 10 (Pedicelo: 20)	12 × 5	Spegazzini (1885)
<i>P. sapindacearum</i>	<i>Serjania mexicana</i>	Panama	5	1 anfígeno	60-140 × 120-340	30-45	Numerosas; filiformes	70 × 11	11 × 7	Stevens (1927)
<i>P. scutiformis</i> (<i>Telimena scutiformis</i>)	<i>Paullinia pinnata</i>	Paraguai	---	2-10 anfígeno	250-400 (diâmetro)	---	Sem paráfises	80-100 × 10	---	Spegazzini (1922)
<i>P. serjaniae</i>	<i>Serjania caracasana</i>	Argentina	5-15	1-3 epífilo	180-220 (diâmetro)	---	filiformes	80-100 × 15-20	15-20 × 10-12	Spegazzini (1912)
<i>P. serjaniicola</i> (<i>Telimena serjaniicola</i>)	<i>Serjania polyphylla</i>	Porto Rico	Halo irregular	1-4 anfígeno	180-300 (diâmetro)	---	Ocorrem	63-75 × 12-18	10-13 × 6-8	Chardon (1921)
<i>P. alamoi</i>	<i>Serjania atrolineata</i>	Venezuela	10	1-4 × 0,5-1,0 anfígeno; linear	190-410 × 90-285	---	filiformes	60-65 × 9-10,5	9-12 × 5-6	Chardon (1934)
<i>P. insueta</i> (<i>Telimena insueta</i>)	<i>Serjania caracasana</i>	Costa Rica	circulares	1,5-5	200-350 (diâmetro)	---	2-3	75-85 × 8-10	13-17 × 5-7,5	Sydow (1925)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Paullinia rubiginosa</i>	Seropédica	Podem ou não ocorrer	1,5-2,5 anfígeno	126-292 × 154-317,5	28-51,5	0,9-2,5	44-63 × 7,5-11	6,5-11 × 3,5-5,5	Este trabalho

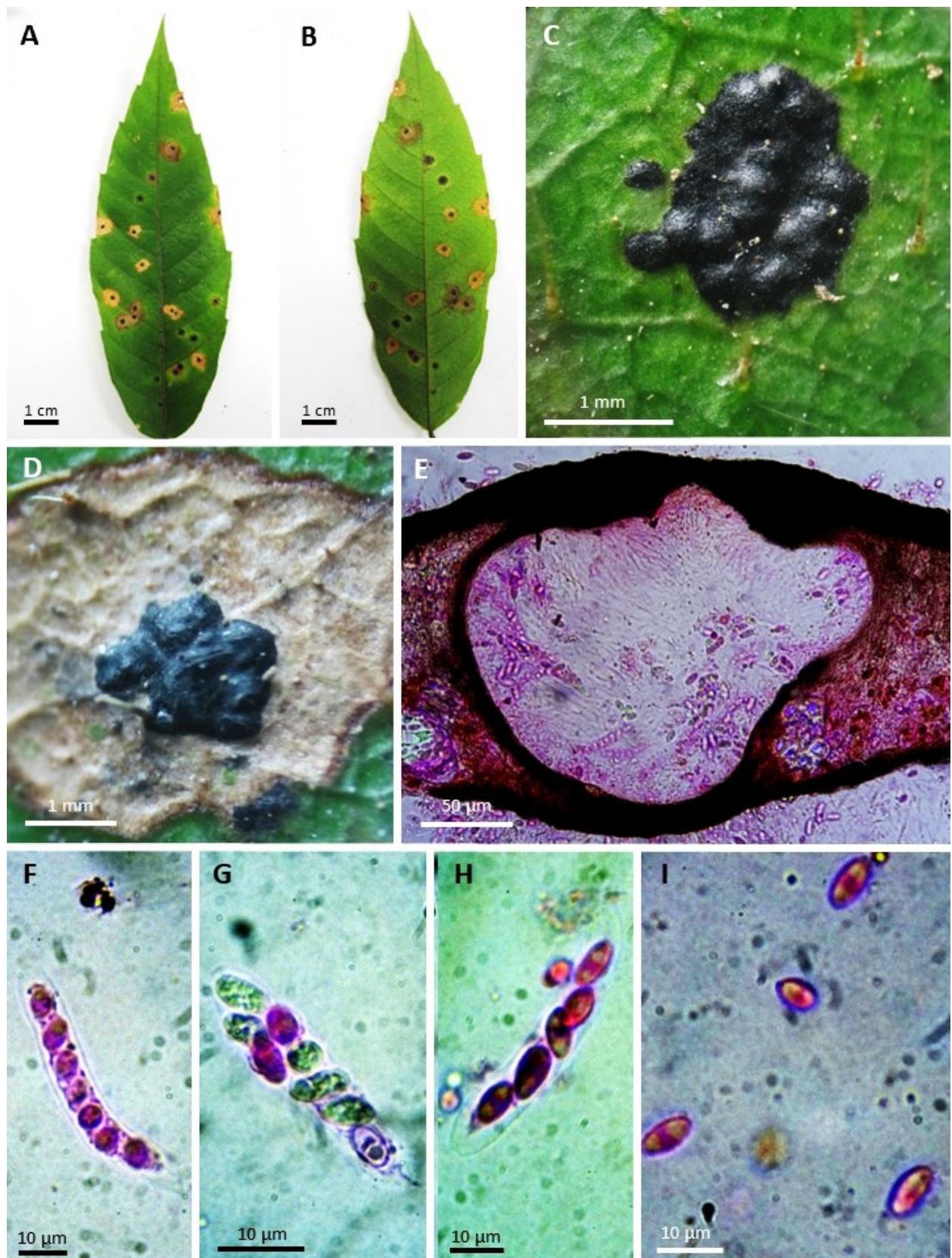


Figura 41. A-I. *Phyllachora* em folhas de *Paullinia rubiginosa*, coletadas na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ. A e B. Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C e D. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras (C), podendo ocorrer em halo necrótico (D). E. Ascoma visto em corte vertical-transversal. F-H. Ascósporos isolados, ocorrendo com diferentes números de ascósporos. I. Grupo de ascósporos.

3.4. *Phyllachora* sp. em folhas de *Eugenia florida* (Myrtaceae) (Figs. 42; Tab. 21) – *Phyllachora* cf. *mulleri* Chardón

Descrição. *Manchas* irregulares de coloração marrom-claras em torno dos estromas. *Estromas* 1,5-4 mm largura, negros, anfígenos, geralmente agrupados, às vezes coalescentes, imersos, uni ou biloculares medindo de, contendo crostas isoladas e anfígenas (Figura 42: A, B e C). Cavidade dos *ascomas* 126,5-276(-322) × 177-506 µm, periteciais, imersos no tecido hospedeiro, cobrindo parcialmente o perfil do tecido, anfígenos. *Clípeos* (49-)73,5-101,5(-141) µm, negros. *Paráfises* 2-4 µm, hialinas, septadas, não ramificadas. *Ascos* 63-100,5 × 9,5-16 µm, cilíndricos a cilíndrico-clavados, geralmente uni-seriados, podendo ser bi ou irregularmente distribuídos. *Ascósporos* 18,8-30 × 4-6,5 µm, hialinos, asseptados, ovais a cilíndrico-ovais.

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Seropédica, Floresta Nacional Mário Xavier. Em folhas de *Eugenia florida* DC. (Myrtaceae) “Guamirim”. 28/10/2022. Col. Hemylson Porto de Souza nº 28 (UFRJ 1236).

Discussão. A maioria das espécies de *Phyllachora* descritas na literatura diferem consideravelmente do fungo estudado, principalmente por possuirem ascósporos muito menores em comprimento. É o que ocorre com *Phyllachora tachirensis* Chardón (CHARDON, 1934), *P. verrucosa* Chardón (CHARDON, 1932), *P. biareolata* Speg. (SPEGAZZINI, 1888), *P. whetzelii* Chardón (CHARDON, 1921), *P. eugeniae* Chardón (CHARDON, 1927), e *Phyllachora* sp. (Este trabalho, Figura 39). O último é um dos fungos estudados no presente trabalho, associado a folhas de *Eugenia punicifolia* (já discutido neste capítulo). Mas, assim como as outras espécies citadas, seus ascósporos são muito menores que os do fungo analisado, embora as dimensões dos ascos sejam próximas.

Além dessas espécies, há outras que possuem ascósporos um pouco menores em comprimento, e consideravelmente mais largos: *P. emarginata* Petr. (PETRAK, 1948) e *P. brenesii* Syd. (SYDOW & PETRAK, 1929). Por outro lado, *P. angustispora* Speg. (SPEGAZZINI, 1919) possui ascos com comprimento e largura com dimensões que se enquadram dentro da faixa de variação do fungo analisado, e ascóporos com comprimento similar. Entretanto, além da largura de seus ascósporos ser maior, *P. angustispora* não forma paráfises, característica que destoa da maioria das espécies *Phyllachora*. Por fim, a espécie que apresentou maior similaridade com o fungo estudado foi *P. mulleri* Chardón (CHARDON *et. al.*, 1940). Seus ascósporos (28-32 × 6-7 µm) possuem medidas muito próximas aos da espécie analisada (18,8-30 × 4-6,5 µm), enquanto, que, seus ascos (95-120 × 13-15 µm) são levemente mais longos que a espécie estudada (63-100,5 × 9,5-16 µm). As dimensões dos estromas também são próximas (1,5-3 mm), enquanto, que, as cavidades dos ascomas de *P. mulleri* são mais profundas (285-360 µm) e mais estreitas (218-260 µm) que a espécie estudada 126,5-276(-322) µm e 177-506 µm diâm., respectivamente, indicando tratar-se de espécies distintas.

Sendo assim, estas diferenças aliadas à diferença de hospedeiro, indicam a possibilidade de que o fungo estudado seja enquadrado em uma nova espécie. Análises moleculares poderão confirmar esta hipótese.

Tabela 21. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Eugenia florida* comparadas a espécies já descritas neste gênero e na família Myrtaceae.

Espécies de <i>Phyllachora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro mm)	Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Paráfises (μm)	Ascósporos (μm)	Referência	
<i>Phyllachora tachirensis</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Venezuela	1-2 anfigena	2-4 Anfigeno	100-160 (diâmetro)	30-40		109-166 × 9,5-12	13-17 × 7-8	Chardon (1934)
<i>P. emarginata</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Equador	Não ocorrem	0,5-1,5 epífilo	---	70-150	Ocorrem 2-3	80-130 × 18-28	16-20 × 10-12	Petrak (1948)
<i>P. verrucosa</i>	<i>Eugenia buxifolia</i>	Haiti e Porto Rico	---	1-2 Anfigeno	250-320 (diâmetro)	---	Ocorrem	85-100 × 12-15	10-13 × 7-9	Chardon (1932)
<i>P. mulleri</i>	<i>E. dodonaeifolia</i>	Minas Gerais	Não ocorrem	1,5-3 Anfigeno	285-360 × 218-260	---	Ocorrem	95-120 × 13-15	28-32 × 6-7	Chardon et. al. (1940)
<i>P. biareolata</i>	<i>E. guabiju</i>	Paraguai	Não ocorrem	2-3 Anfigeno	200-250 × 100-150	---	Ocorrem	90-95 × 6-9	12 × 5	Spegazzini (1888)
<i>P. brenesii</i>	<i>E. guayaquilensis</i> var. <i>glabrior</i>	Costa Rica	Não ocorrem	1-3 epífilo	800 (diâmetro)	3-5	Ocorrem	70-80 × 10-15	12-17 × 8-10	Sydow & Petrk (1929)
<i>P. whetzelii</i>	<i>E. monticola</i>	Porto Rico	ocorrem	1-1,5 anfigena	150-250 (profundidade)	---	Ocorrem	87-109 × 8-10,5	11,5-13 × 3-4	Chardon (1921)
<i>P. eugeniae</i>	<i>E. rhombea</i>	Porto Rico	ocorrem	1-2,5 anfigena	110-150 × 80-130	---	Ocorrem	60-75 × 7-9	8-10 × 4-4,5	Chardon (1927)
<i>P. angustispora</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Paraguai	1-3	0,5-2 Geralmente Hipófilos	120-150 diâmetro	---	Sem paráfises	80-90 × 12-14	30 × 8-9	Spegazzini (1919)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Eugenia punicifolia</i>	Restinga da Marambaia-RJ	Pequeno halo irregular	1,5-3 anfigeno	41,5-241,5 × 62-264,5	49-80	1,4-3	52-105 × 8-14	13-19 × 3-5	Este trabalho (figura 39)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Eugenia florida</i>	Seropédica-RJ		1,5-4 anfigeno	126,5-276(322) × 177-506	(49)73,5-1 01,5(141)	2-4	63-100,5 × 9,5-16	18,8-30 × 4-6,5	Este trabalho

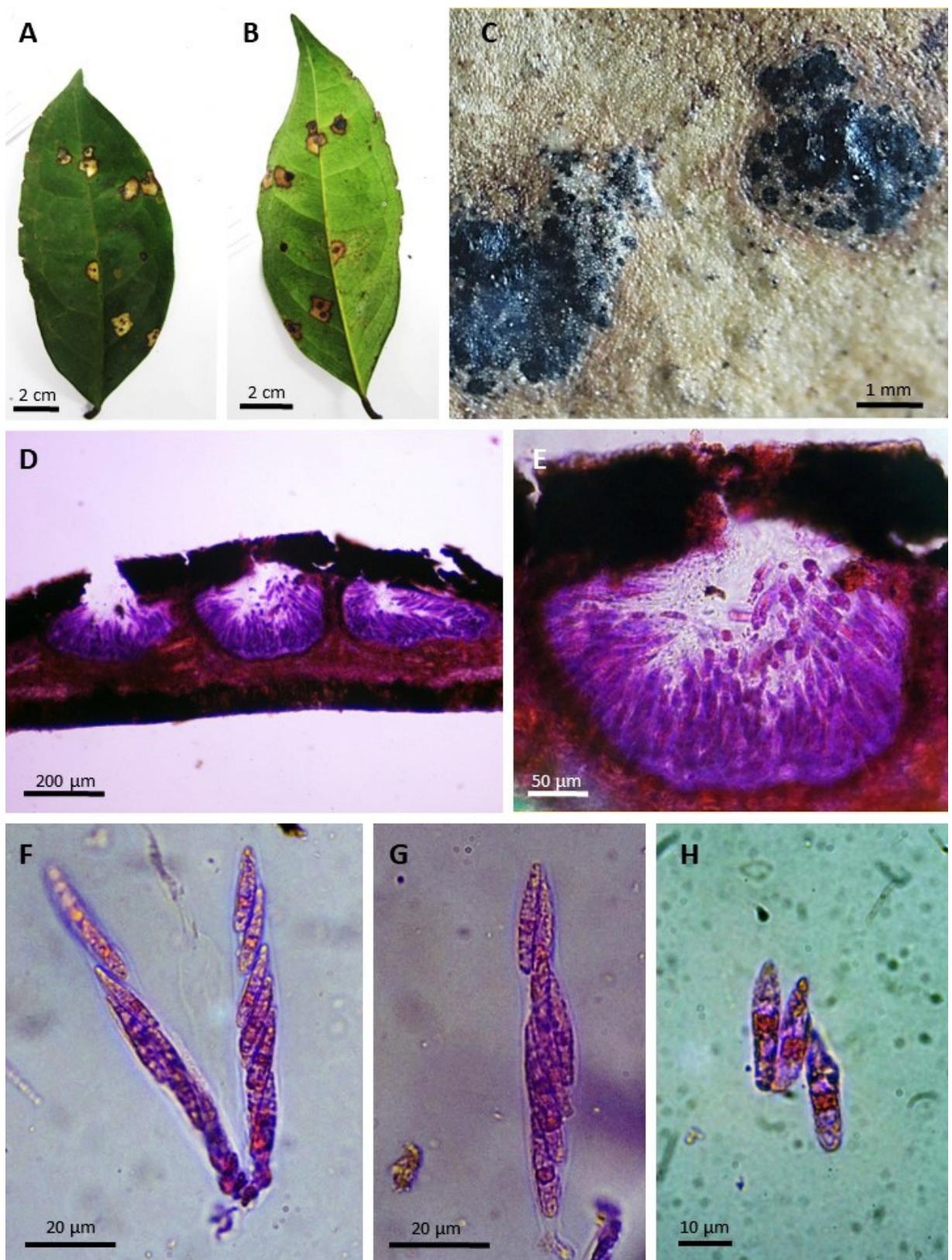


Figura 42. A-H. *Phyllachora* em folhas de *Eugenia florida*, coletadas na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ. A e B. Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B) das folhas. C. Detalhe do sintoma exibindo crostas negras ocorrendo em halo necrótico. D. Ascos periteciais, agrupados, vistos em corte vertical-transversal. E. Detalhe de um ascoma. F e G. Ascospores agrupados (F) ou isolado (G), ocorrendo com diferentes modos de disposição dos ascósporos, uni (F) ou bisseriados (G). I. Grupo de ascósporos.

3.5. *Phyllachora* sp. em folhas de *Cedrella fissilis* (Meliaceae) (Figs. 43; Tab. 22)

Phyllachora cf. *brasiliensis* Speg.

Descrição. *Manchas* 3 a 12 mm de diâmetro, marrom-avermelhadas, contendo *crostas* 86 a 300 μm diâm., negras formato variável, anfígenas nas folhas e com formato idêntico das crostas na face inferior da folha e ocorrendo nos pecíolos. *Ascomas* 55-200 \times 55-226 μm negros. *Clípeos* 24-70 μm , escuros. *Paráfises* 2-4 μm de diâmetro, hialinas. *Ascos* 47-76 \times 11-24 μm , cilíndricos a cilíndrico-clavados, arredondados no ápice a truncados, com anéis refrativos, pedicelado curto, até 8 ascósporos. *Ascósporos* 10-16 \times 7-12 μm , bastante unisseriados, hialinos, gutulados, formato variável, ovais a cilíndrico-ovais.

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Gávea. Em folhas de *Cedrella fissilis* Vell. (Meliaceae; ordem Spindales) “Cedro”. Instituto Biológico de Defesa Agrícola-Serviço de Vigilância Sanitária Vegetal (UFRJ 452B-SDSV-MA).

Discussão. Em relação à *Phyllachora* encontrada em *Cedrella fissilis*, apenas uma espécie registrada na literatura (*P. brasiliensis* Speg. - SPEGAZZINI, 1881) apresentou alguma proximidade morfológica, especialmente no que se refere às dimensões do estroma, dos ascos e dos ascósporos. Conforme descrito na Tabela 22, o diâmetro dos estromas das diferentes espécies geralmente excede 0,3 mm (*Telimena balansae* (Speg.) Mardones, Trampe & M. Piepenbr., *Phyllachora swieteniae* Petr. & Cif., *P. zanthoxyllicola* Seaver e *P. applanata* G. Winter), que é o máximo verificado na espécie analisada neste trabalho.

Apenas duas espécies se aproximam neste quesito: *P. balansae* Speg. (SPEGAZZINI, 1885), e *P. brasiliensis* Speg. No entanto, destas duas, apenas *P. brasiliensis* apresenta dimensões dos ascos e ascósporos próximas da espécie em estudo. Os ascos de *P. balansae* são menos largos, atingindo no máximo 12 μm de largura, enquanto, que, a espécie analisada apresenta ascos de até 24 μm de largura. Por outro lado, *P. brasiliensis* apresenta variação de 25-30 μm na largura dos ascos, sendo um pouco maior que na espécie em questão. Do mesmo modo, ocorre com a comparação dos ascósporos, pois *P. balansae* apresenta ascósporos bem mais estreitos (6-7 μm). No entanto, *P. brasiliensis* e a espécie em estudo apresentam larguras próximas dos ascósporos (9-11 μm e 7-12 μm , respectivamente). *Telimena balansae* (MARDONES et. al., 2020) apresenta dimensões dos ascósporos muito similares às da espécie em análise. Porém, os ascos e estromas são muito maiores, conforme se observa na Tabela 6. Sendo assim, este estudo inicial revela a possibilidade da *Phyllachora* em estudo ser identificada como *P. brasiliensis*. Estudos adicionais serão efetuados com esta espécie e se possível, molecular.

Tabela 22. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Cedrela fissilis* comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família Meliaceae.

Espécies de <i>Phyllachora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro mm)	Cavidade do Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Espessura das Paráfises (μm)	Ascos (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>Phyllachora balansae</i>	<i>Cedrela brasiliensis</i> (Meliaceae)	Paraguai	5-20	0,12-0,25 unilocular	---	---	---	55-60 × 10-12	8-10 × 6-7 (1-3 gútulas)	Spegazzini (1885)
<i>Telimena balansae</i>	<i>Swietenia mahagoni</i> e várias espécies de <i>Cedrela</i> (Meliaceae)	Brazil; Costa Rica; Panamá; Paraguai	Geralmente epífilas	0,2-0,5 (estroma isolado) 5-25 × 5-15 (grupos de estromas coalescentes)	(120-) 135-200(- 220) × 170-220	10-20	2	(85-) 91-103(- 105) × 11-14(- 16)	12-15(-17) × (8) 9-11(- 12)	Mardones, Trampe & Piepenbring (2020)
<i>Phyllachora swieteniae</i>	<i>Swietenia macrophylla</i> (Meliaceae)	República Dominicana	Sem manchas	2-6	200-300 × 150-200	40-60	Ocorrem; abundantes	60-70 × 12-18	10-16 × 6-8,5	Petrak & Ciferri (1932)
<i>Phyllachora zanthoxylicola</i>	<i>Zanthoxylum insularis</i> (Rutaceae)	Jamaica	---	1 Anfígeno (vários lóculos)	---	---	---	---	30 × 7-8	Seaver (1928)
<i>Phyllachora appanata</i>	<i>Zanthoxylum</i> sp. (Rutaceae)	Brasil (SC)	Sem manchas	1 × 0,5 anfígeno	140 (largura)	---	---	90-106 × 10,5-14	14 × 4,5	Winter (1887)
<i>P. brasiliensis</i>	---	Brasil	---	0,2-0,25	---	---	---	70-80 × 25-30	15-17 × 9-11	Spegazzini (1881)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Cedrela fissilis</i>	Brasil	3-12	86-300 anfígeno	55-200 × 55-226	24-70	2-4	47-76 × 11-24	10-16 × 7-12	Este trabalho

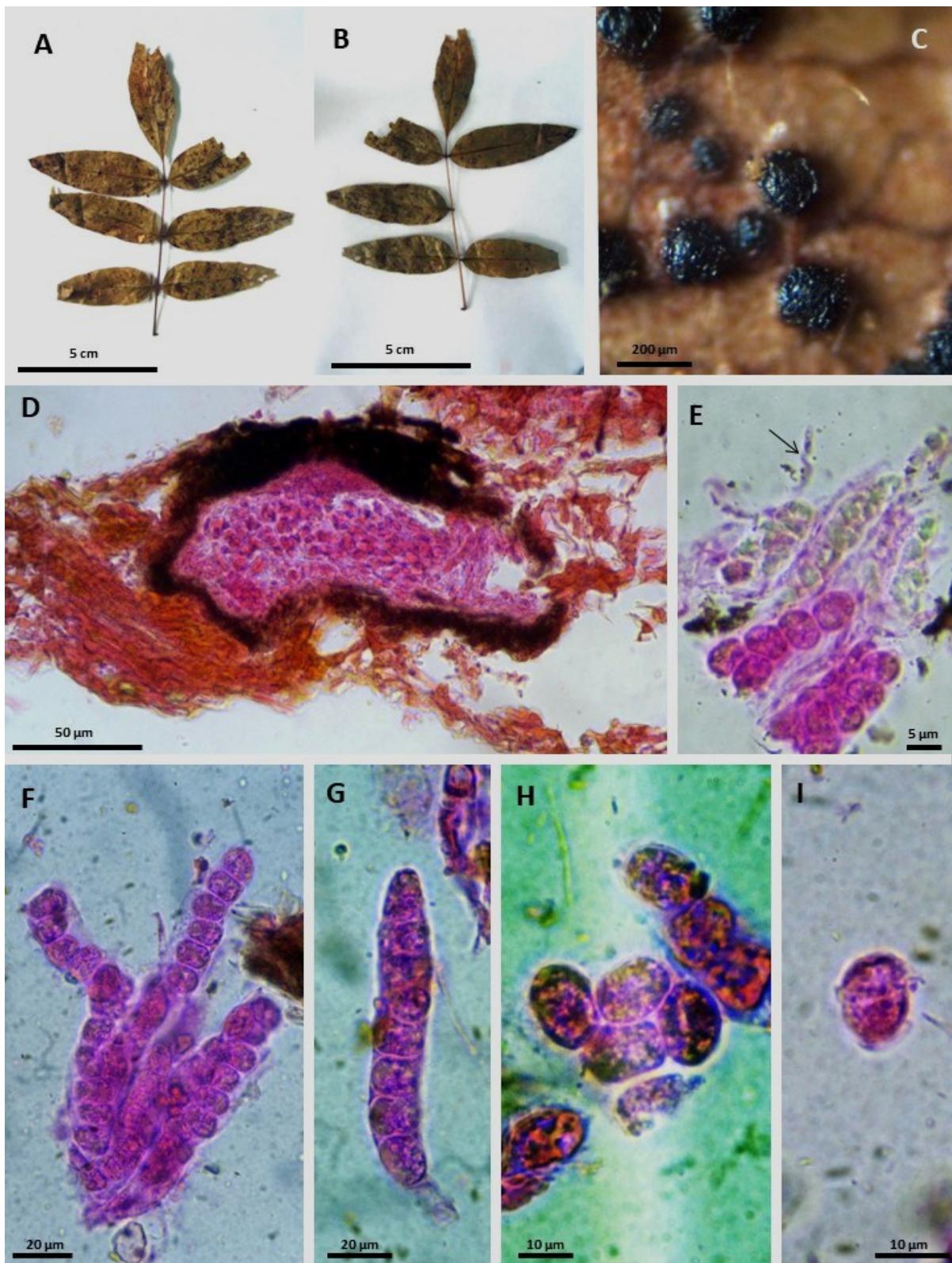


Figura 43. A-I. *Phyllachora* sp. em folhas de *Cedrela fissilis* (Meliaceae). A, B-Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo estroma. D.Corte transversal vertical mostrando a cavidade do ascoma. E. Detalhe das paráfises (seta) entre alguns ascos. F. Grupo de asco. G. Detalhe de um asco. H. Grupo de ascósporos. I. Detalhe de um ascósporo.

3.6. *Phyllachora* sp. em folhas de *Machaerium villosum* (Fabaceae) (Fig. 44; Tab. 23)

Provável sp. nov. nº 9

Descrição. *Manchas* marrons de 0,1-2,5 cm, contendo crostas pretas de 92-1426 μm de diâmetro, variáveis, bastante irregulares, anfígenas nas folhas, e com formato idêntico das crostas na face inferior da folha. *Ascoma* 55-200 \times 55-250 μm negro. *Clípeo* 20-50 μm , escuro. *Paráfises* com 1-3 μm de diâmetro, hialinas, às vezes ramificadas. *Ascósporos* 35-65 \times 10-19 μm , cilíndrico a cilíndrico-clavado, pediculado curto, até 8 ascósporos. *Ascósporos* 10-16 \times 7-11 μm uniseriados, às vezes biseriados, hialinos, gutulados, de formato variável, elipsoidais ou ovais a cilíndrico-ovais ou cilíndrico-elipsoidais.

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro, Gávea. Em folhas de *Machaerium villosum* Vogel (Fabaceae) “Jacarandá-paulista”. 1944. Instituto Biológico de Defesa Agrícola-Serviço de Vigilância Sanitária Vegetal (UFRJ 266-SDSV-MA).

Discussão. Na tabela 23, estão descritas as dimensões das estruturas de diversas espécies de *Phyllachora* em Fabaceae, contrapondo-as com as características do fungo em estudo, em *Machaerium villosum* Vogel. Nenhuma das espécies registradas na literatura apresentou proximidade com o fungo em estudo. Algumas delas apresentam alguma similaridade do diâmetro dos estromas (*P. glycinicola* P.F. Cannon e *P. contigua* Syd.), mas diferem por apresentar ascos mais longos e ascósporos muito mais estreitos. *P. sydowii* P.F. Cannon apresenta dimensões de ascos mais próximas (56-73 \times 15,5-18 μm), mas possuem estromas muito menores (no máximo 300 μm de diâmetro), e ascósporos muito mais estreitos (5,5-7 μm). A espécie que mais se aproximou foi *P. diocleicola* Chardón, com dimensões de ascos e ascósporos mais próximas, mas com estromas bem menores, alcançando o máximo de 250 μm de diâmetro, enquanto, que, a espécie em estudo alcança mais de 1400 μm . Sendo assim, é possível que o fungo em estudo seja uma nova espécie de *Phyllachora*, havendo a necessidade de estudos mais aprofundados, inclusive filogenéticos, para a confirmação desta hipótese.

Tabela 23. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Machaerium villosum* comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família Fabaceae.

Espécies de <i>Phyllachora</i> em Fabaceae	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro mm)	Cavidade do Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Espessura das Paráfises (μm)	Ascos (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>Phyllachora conica</i>	<i>Machaerium lunatum</i> ; <i>M. angustifolium</i> ; <i>Machaerium</i> sp.; <i>M. robiniiifolium</i>	Porto Rico; Venezuela; Panamá; Colômbia	8-20	(0,4-1-3,5(-7)) (1-2-15 lóculos)	1,5-1,75 (Razão largura/altura)	---	4	70-98 × 30-34	12-17(-21) × 10-15,5	Cannon (1991)
<i>P. manaosensis</i>	<i>Machaerium</i> sp.	Brasil (AM)	50 μm de largura em torno do estroma	0,2-0,5 uniloculado	1-1,25/1 (Razão largura/altura)	20	3	74-87 × 14-17	9,5-11(-12) × 6-8	Cannon (1991)
<i>P. sydowii</i>	<i>Machaerium</i> sp.	Brasil (RJ)	até 15	0,15-0,3 1-3 lóculos	1/1 (Razão largura/altura)	---	4	56-73 × 15,5-18	14-16 × 5,5-7	Cannon (1991)
<i>P. machaeriicola</i>	<i>Machaerium amplum</i> ; <i>M. humboldtianum</i> ; <i>M. moritzianum</i> ; <i>M. robiniiifolium</i> ; <i>M. tobagense</i>	Bolívia; Brasil; Colômbia; Trindade E Tobago; Venezuela	40 × 15	0,15-300(-600) Em geral uniloculado (às vezes 2-4 lóculos)	---	---	2-3(-4)	60-86(-98) × 12-15	(7)-8-11,5(-13,5) × 5-7(-9)	Cannon (1991)
<i>P. glycinicola</i>	<i>Glycine tabacina</i>	Australia	3-12	0,08-0,2	---	35	Até 5,5	68-92 × 11-17	10,5-12,5 × 6,5-7,5	Cannon (1991)
<i>P. swartziae</i>	<i>Swartzia latifolia</i>	Brasil (AM)	---	1,5-4,5 hipófilo 1-3 lóculos	---	---	Não observado	68-97 × 9,5-14	11,5-14,5 × 6-7,5	Cannon (1991)

Tabela 23. Continuação.

<i>P. contigua</i>	<i>Milletia pallens</i> ; <i>Milletia</i> sp.	Etiópia; Gana; Guinea; Serra Leoa	2-10(-50)	0,15-1,2 1-7 lóculos	1-1,25/1 (Razão altura/largura) Hipófilo	—	2-4	45-80 × 9-15	8-11 × 5-7	Cannon (1991)
<i>P. diehlii</i>	<i>Brya buxifolia</i> ; <i>B. ebenus</i>	Cuba; Haiti; Jamaica	Faixa necrótica estreita em torno do estroma	0,4-1,2 1-4 lóculos	Epífilo	—	5,5	54-89 × 16-22	10,5-14,5 × 6-7,5	Cannon (1991)
<i>P. diocleicola</i>	<i>Centrosema</i> <i>virginianum</i> ; <i>Dioclea</i> <i>comosa</i> ; <i>D.</i> <i>guianenses</i> ; <i>D.</i> <i>rufescens</i>	Brazil; Ecuador; Panama; Trindade	3-9	0,15-0,25 unilocular	Epífilo 1,5 × as wide as tall	—	2-3,5	70-93 × 14-17,5	10,5-15,5 × 7-8	Cannon (1991)
<i>P. puncta</i> subsp. <i>dalbergiicola</i> (Current name: <i>P. puncta</i>)	<i>Apuleia</i> <i>leiocarpa</i> ; <i>Dalbergia</i> <i>frutescens</i> ; <i>D.</i> <i>miscolobium</i> ; <i>D.</i> sp.; <i>Machaerium</i> <i>nigrum</i> ; <i>M.</i> <i>scleroxylon</i> ; <i>M.</i> sp.; <i>M. tipu</i>	Argentina; Brasil; Jamaica	Sem manchas	0,8-1,2(-2,5)	300-450 (diâmetro)	—	3-5	98-128 × 17(21)-32	(14)16-23 × 8-11	Cannon (1991)
<i>Phyllachora</i> sp. (nº266)	<i>Machaerium</i> <i>villosum</i>	Brasil	1-25	0,092-1,426 anfígeno	55-200 × 55-250 (altura × largura)	20-50	1-3	35-65 × 10-19	10-16 × 7-11	Este trabalho

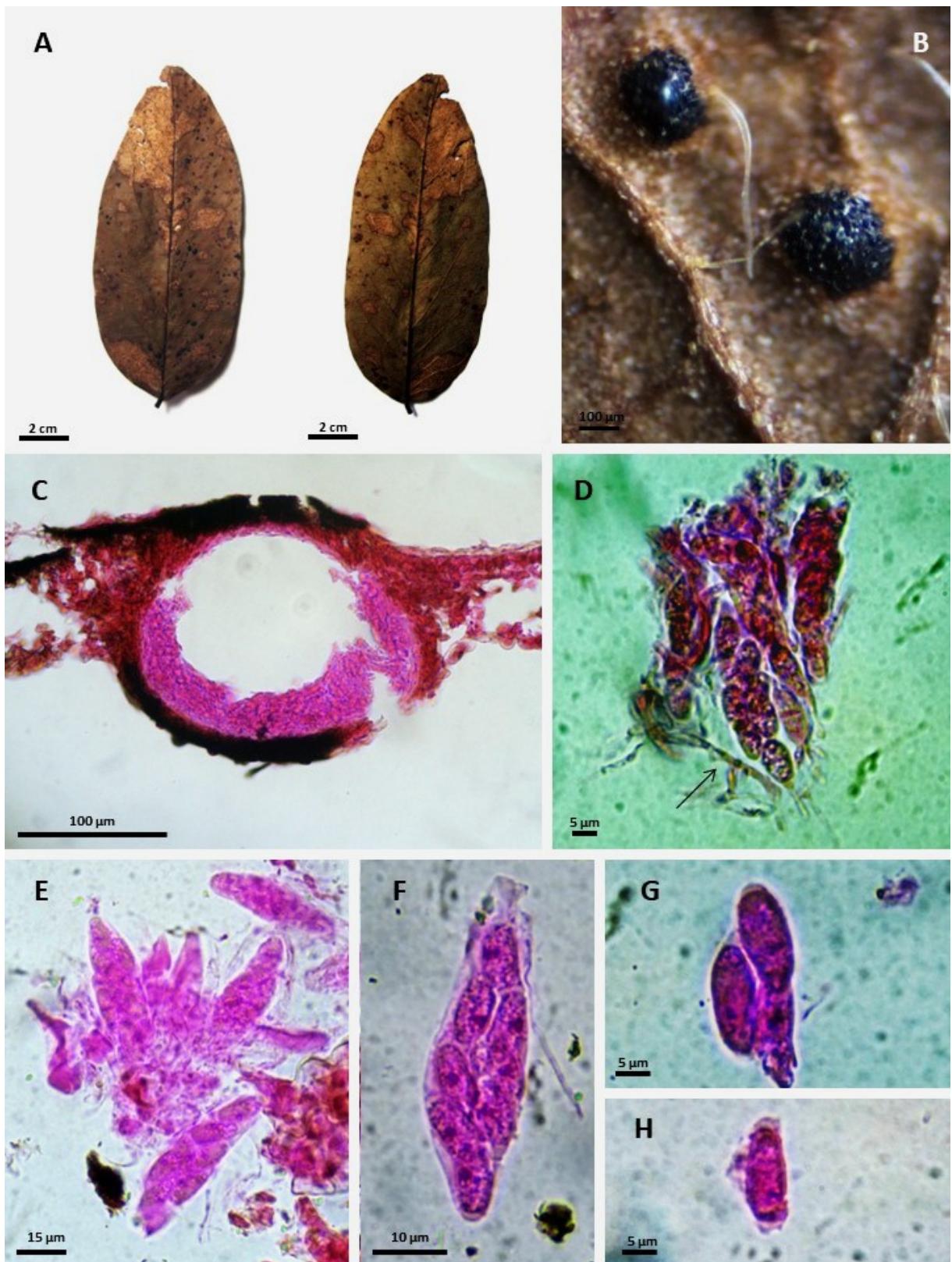


Figura 44. A-H. *Phyllachora* sp. em folhas de *Machaerium villosum* (Fabaceae). A. Sintomas na região adaxial (esquerda) e abaxial (direita). B. Detalhe de dois estromas. C. Corte transversal vertical mostrando a cavidade do ascoma. D. Detalhe das paráfises (seta) entre alguns ascos. E. Grupo de ascos. F. Detalhe de um asco. G. Grupo de ascósporos. H. Detalhe de um ascósporo.

3.7. *Phyllachora* sp. em folhas de *Chloris* sp. (Poaceae) (Figs. 45; Tab. 24)

P. eriochloe Speg.

Descrição. *Manchas* ausentes. *Estromas* anfígenos $230-805 \times 115-575 \mu\text{m}$, geralmente agrupados, às vezes coalescentes, imersos, uni ou biloculares, elípticos, com ostíolos perifisados, negros brilhantes; *clipeus* $25,5-51,5 \mu\text{m}$, negros; cavidade do *ascoma* $(57,5-78-218,5(-264,5) \times 87,5-310,5(-391) \mu\text{m}$; *paráfises* $1-3 \mu\text{m}$, hialinas, septadas, ramificadas; *ascos* $55-100 \times 9-14 \mu\text{m}$, cilíndricos a cilíndrico-clavados, geralmente unisseriado, com 8 ascósporos; *ascósporos* $8,5-16 \times 4,5-8,5 (-12) \mu\text{m}$, hialinos, asseptados, ovais a cilíndrico-ovais, gutulados, lisos.

Espécimes examinados. Brasil: Rio de Janeiro. Em folhas de *Chloris* sp. Sw. (Poaceae) “Capim-branco”. Coleção de Arsène Puttemans (UFRJ 322B-Puttemans).

Discussão. Nota-se que a espécie em estudo (associada a folhas de *Chloris* sp.), mostrou-se próxima da maioria das espécies já reportadas em Poaceae comparadas (Tabela 24). Desse modo, há seis espécies que possuem ascos e ascósporos com dimensões próximas ao fungo estudado: *Phyllachora boutelouae* Rehm (REHM, 1897) ($10 \times 7 \mu\text{m}$) *P. cynodontis* Niessl (NIESSL, 1876) ($10 \times 7 \mu\text{m}$), *P. maydis* Maubl. (ORTON, 1944), *P. anthephorae* Syd. & P. Syd. (SYDOW & SYDOW, 1915), *P. sphaerosperma* G. Winter (ORTON, 1944), e *P. eriochloae* Speg. (SPEGAZZINI, 1909). Embora ocorra esta proximidade, a amplitude de variação das dimensões nestas espécies é muito menor do que na espécie estudada. Além disso, ao se considerar as dimensões de outras estruturas (estroma, cavidade do ascoma, clípeo), destas espécies citadas, apenas *P. eriochloae* apresentou similaridades.

As outras espécies, apresentadas na Tabela 24, possuem dimensões de ascos e ascósporos consideravelmente distantes das que ocorrem com o fungo estudado. Desse modo, *P. oxyspora* Starbäck (ORTON, 1944), por exemplo, apresenta tanto os ascos quanto os ascósporos muito maiores. Já *P. quadraspora* Tehon (TEHON, 1919) e *P. tripsacina* Petr. & Cif. (ORTON, 1944) possuem ascósporos consideravelmente maiores e ascos levemente maiores. Por fim, *P. paspalicola* Henn. (HENNINGS, 1909) é a única espécie que apresenta ascósporos menores ($6-8 \times 4,5-6 \mu\text{m}$) que os observados no fungo estudado.

Sendo assim, a espécie que apresentou maior similaridade foi *P. eriochloae*, pois além de ascos ($70-80 \times 10-12 \mu\text{m}$) e ascósporos ($14-15 \times 7 \mu\text{m}$), as dimensões de estromas e cavidade dos ascomas são próximas aos do fungo estudado (ascos $55-100 \times 9-14 \mu\text{m}$; ascósporos $8,5-16 \times 4,5-8,5(12) \mu\text{m}$). De qualquer modo, como já foi apontado, a amplitude de variação das dimensões das estruturas é muito maior no caso do fungo estudado. Por essa razão, testes moleculares poderão confirmar se o fungo estudo se enquadra na espécie *P. eriochloae*.

Tabela 24. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Chloris* sp. comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família Poaceae.

Espécies de <i>Phyllachora</i> em Poaceae	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro µm)	Cavidade do Ascoma (µm)	Clípeo (µm)	Espessura das Paráfises (µm)	Ascos (µm)	Ascósporos (µm)	Referência
<i>Phyllachora boutelouae</i>	<i>Bouteloua curtipendula</i>	Argentina (Córdoba)	---	2000×1000 Anfígeno Pluriloculado	---	---	filiformes	90 × 9	10 × 7 Gútulas abundantes	Rehm (1897)
<i>P. cynodontis</i>	<i>Andropogon gryllus</i>	Austria	---	---	---	---	ocorrem	65-75 ×13-16	8-10 × 5-6	Niessl (1876)
<i>P. maydis</i>	<i>Zea mays</i>	Guatemala; México; Porto Rico; República Dominicana	---	500-2000 (>10 quando confluentes); Anfígeno	---	---	---	80-100 × 8-10	9-12 × 5,5-7	Orton (1944)
<i>P. tripsacina</i>	<i>Tripsacum dactyloides</i>	República Dominicana	---	200-1000 × 100-500 anfígeno	---	---	---	90-110 × 15-20	16-19 × 6,5-7,5	Orton (1944)
<i>P. quadraspora</i>	<i>Paspalum glabrum</i>	Porto Rico	---	500-1000 × 500 anfígeno	115-125 (diâmetro)	---	ocorrem	100-110 × 10-12 c/ 4 ascósporos	20-22 × 8	Tehon (1919)

Tabela 24. Continuação.

<i>P. oxyapora</i>	<i>Imperata brasiliensis; I. contracta; Sorghastrum parviflorum</i>	Porto Rico; República Dominicana	---	300-2000 × 200-1000 anfígeno	---	---	---	90-120 × 15-20	17-23 × 7-9	Orton (1944)
<i>P. anthephorae</i>	<i>Anthephora hermaphrodita</i>	Jamaica	---	1000-1500 Angígeno	140-170 × 150-200	25-30	abundantes	60-70 × 10-14	11-13 × 7-9	Sydow & Sydow (1915)
<i>P. sphaerosperma</i>	<i>Cenchrus echinatus; C. incertus; C. myosuroides; C. vidris</i>	EUA; Cuba; Porto Rico; Jamaica	---	200-800 × 150-400 anfígeno	---	---	---	65-100 × 10-13	8-11 × 7-8,5	Orton (1944)
<i>P. eriochloae</i>	<i>Eriochloa annulata</i>	Argentina	---	250-1000 × 200-250 anfígeno 1-3 lóculos	100-120 (diâmetro)	---	---	70-80 × 10-12	14-15 × 7	Spegazzini (1909)
<i>P. paspalicola</i>	<i>Paspalum</i> sp.	Brasil (PA)	efusas	300 (diâmetro)	---	---	---	70-90 × 8-10	6-8 × 4,5-6	Hennings (1909)
<i>Phyllachora</i> sp. (nº322B)	<i>Chloris</i> sp.	Brasil	Sem manchas	230-805 × 115-575 Anfígeno 1-2 lóculos	(57,5)78-218,5(264,5) × 87,5-310,5(391)	25,5-51,5	1-3	55-100 × 9-14	8,5-16 × 4,5-8,5(12)	Este trabalho

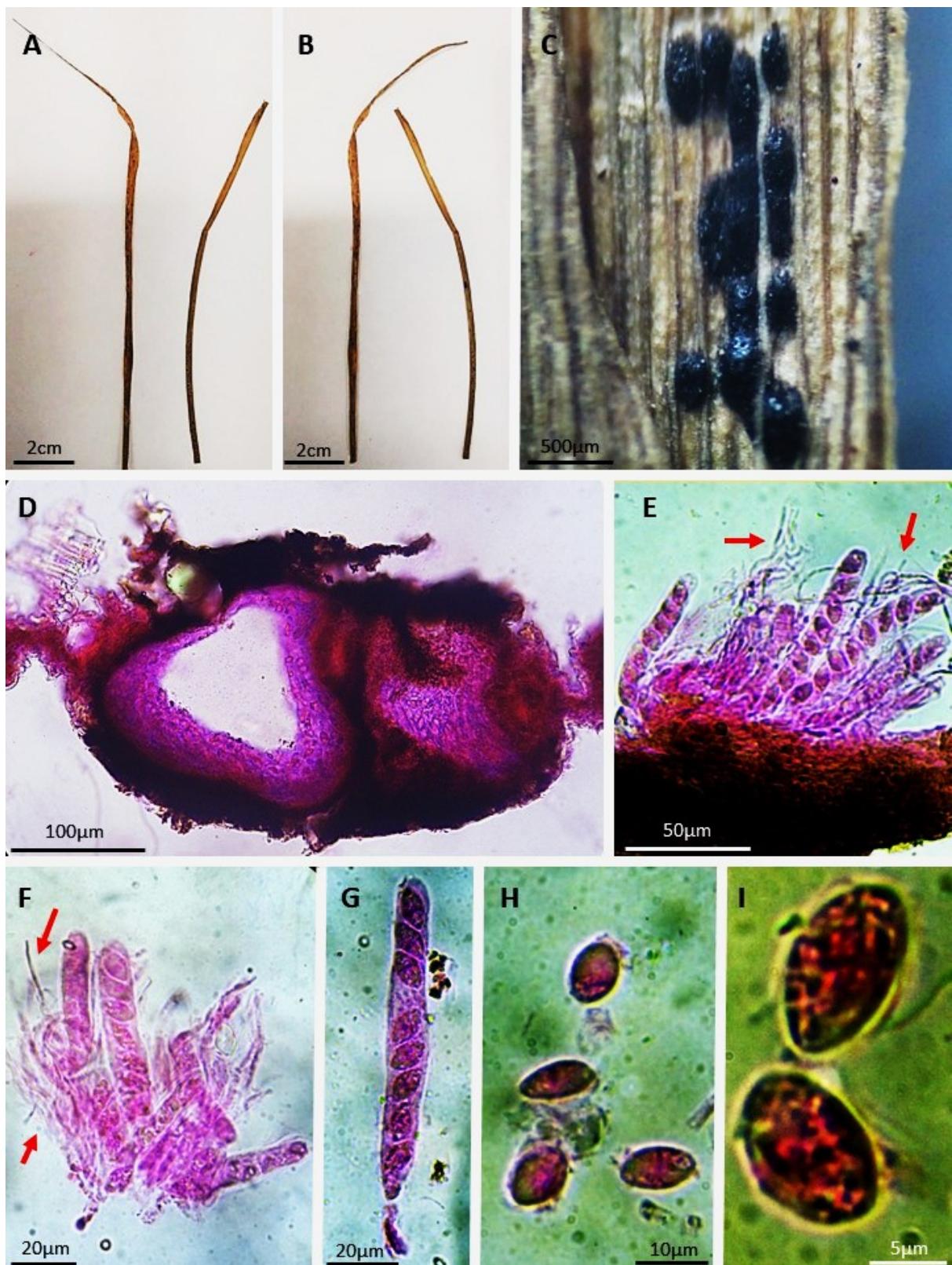


Figura 45. A-I. *Phyllachora* sp. em folhas de *Chloris* sp. (Poaceae). A e B-Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo de estromas. D. Corte transversal vertical mostrando as cavidades de dois ascos. E. Grupo de ascos e parafíses (setas) ainda aderidos à camada fértil do ascoma. F. Grupo de ascos e parafíses (setas) totalmente expostos. G. Detalhe de um asco. H. Grupo de ascósporos. I. Dois ascósporos em detalhe.

3.8. *Phyllachora* sp. em folhas de *Poaceae* (gênero indefinido) (Figs. 46; Tab. 25)

P. eriochloe Speg.

Descrição. *Manchas* não observadas. *Estroma* anfígeno 207-1,035(- 1,495) × 184-506 µm, geralmente agrupados, às vezes coalescentes, imersos, uni, bi ou triloculares, com ostíolos perifisiados; *clípeos* 28-54,5 µm; *cavidade do ascoma* (-41,5) 57,5-154 × 73,5-255,5(-264,5) µm; *paráfises* 1-3 µm, abundantemente hialinas, septadas, às vezes ramificadas; *asco* (49-) 66-101,5 × 9,5-16 µm, clavado, uni ou bisseriado, com 8 ascósporos; *ascósporos* 8,5-16 × 5,5-9,5 µm, hialinos, asseptados, cilíndricos ou ovais.

Espécimes examinados. Brasil: Local indefinido. Em folhas de *Poaceae* (gênero indefinido). Coleção de Arsène Puttemans (UFRJ 475B-Puttemans).

Discussão. Verifica-se que a espécie encontrada em *Poaceae* desconhecida mostrou-se próxima a encontrada em *Chloris* sp, (*Poaceae*) neste mesmo trabalho (Tabela 25). As conclusões aqui são que as duas espécies são próximas a *P. eriochloae*. Entretanto, estudos adicionais são necessários para a confirmação de sua identidade, tais como estudos utilizando técnicas moleculares.

Tabela 25. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Chloris* sp. comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família Poaceae.

Espécies de <i>Phyllachora</i> em Poaceae	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro μm)	Cavidade do Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Espessura das Paráfises (μm)	Ascos (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>Phyllachora boutelouae</i>	<i>Bouteloua curtipendula</i>	Argentina (Córdoba)	---	2000×1000 Anfígeno pluriloculado	---	---	filiformes	90×9	10×7 Gútulas abundantes	Rehm (1897)
<i>P. cynodontis</i>	<i>Andropogon gryllus</i>	Austria	---	---	---	---	ocorrem	65-75 ×13-16	8-10×5-6	Niessl (1876)
<i>P. maydis</i>	<i>Zea mays</i>	Guatemala; México; Porto Rico; República Dominicana	---	500-2000 (>10 quando confluentes); anfígeno	---	---	---	80-100 × 8-10	9-12 × 5,5-7	Orton (1944)
<i>P. tripsacina</i>	<i>Tripsacum dactyloides</i>	República Dominicana	---	200-1000 × 100-500 anfígeno	---	---	---	90-110 × 15-20	16-19 × 6,5-7,5	Orton (1944)
<i>P. quadraspora</i>	<i>Paspalum glabrum</i>	Porto Rico	---	500-1000 × 500 anfígeno	115-125 (diâmetro)	---	ocorrem	100-110 × 10-12 c/ 4 ascósporos	20-22 × 8 17-23 × 7-9	Tehon (1919) Orton (1944)
<i>P. oxyapora</i>	<i>Imperata brasiliensis; I. contracta; Sorghastrum parviflorum</i>	Porto Rico; República Dominicana	---	300-2000 × 200-1000 anfígeno	---	---	---	90-120 × 15-20	17-23 × 7-9	Orton (1944)
<i>P. anthephorae</i>	<i>Anthephora hermaphrodita</i>	Jamaica	---	1000-1500 Angígeno	140-170 × 150-200	25-30	abundantes	60-70 × 10-14	11-13 × 7-9	Sydow & Sydow (1915)

Tabela 25. Continuação.

<i>P. sphaerosperma</i>	<i>Cenchrus echinatus</i> ; <i>C. incertus</i> ; <i>C. myosuroides</i> ; <i>C. vidris</i>	EUA; Cuba; Porto Rico; Jamaica	---	200-800 × 150-400 anfígeno	---	---	---	65-100 × 10-13	8-11 × 7-8,5	Orton (1944)
<i>P. eriochloae</i>	<i>Eriochloa annulata</i>	Argentina	---	250-1000 × 200-250 anfígeno 1-3 lóculos	100-120 (diâmetro)	---	---	70-80 × 10-12	14-15 × 7	Spegazzini (1909)
<i>P. paspalicola</i>	<i>Paspalum</i> sp.	Brasil (PA)	efusas	300 (diâmetro)	---	---	---	70-90 × 8-10	6-8 × 4,5-6	Hennings (1909)
<i>Phyllachora</i> sp. (nº322B)	<i>Chloris</i> sp.	Brasil	Sem manchas	230-805 × 115-575 Anfígeno 1-2 lóculos	(57,5)78-218,5(264,5) × 87,5-310,5(391)	25,5-51,5	1-3	55-100 × 9-14	8,5-16 × 4,5-8,5(12)	Este trabalho
<i>Phyllachora</i> sp. (nº475B)	<i>Poaceae</i>	Brasil	Sem manchas	207-1035(1495) × 184-506 Anfígeno 2-3 lóculos	(41,5)57,5-154 × 73,5-255,5(264,5)	28-54,5	1-3	(49)66-101,5 × 9,5-16	8,5-16 × 5,5-9,5	Este trabalho

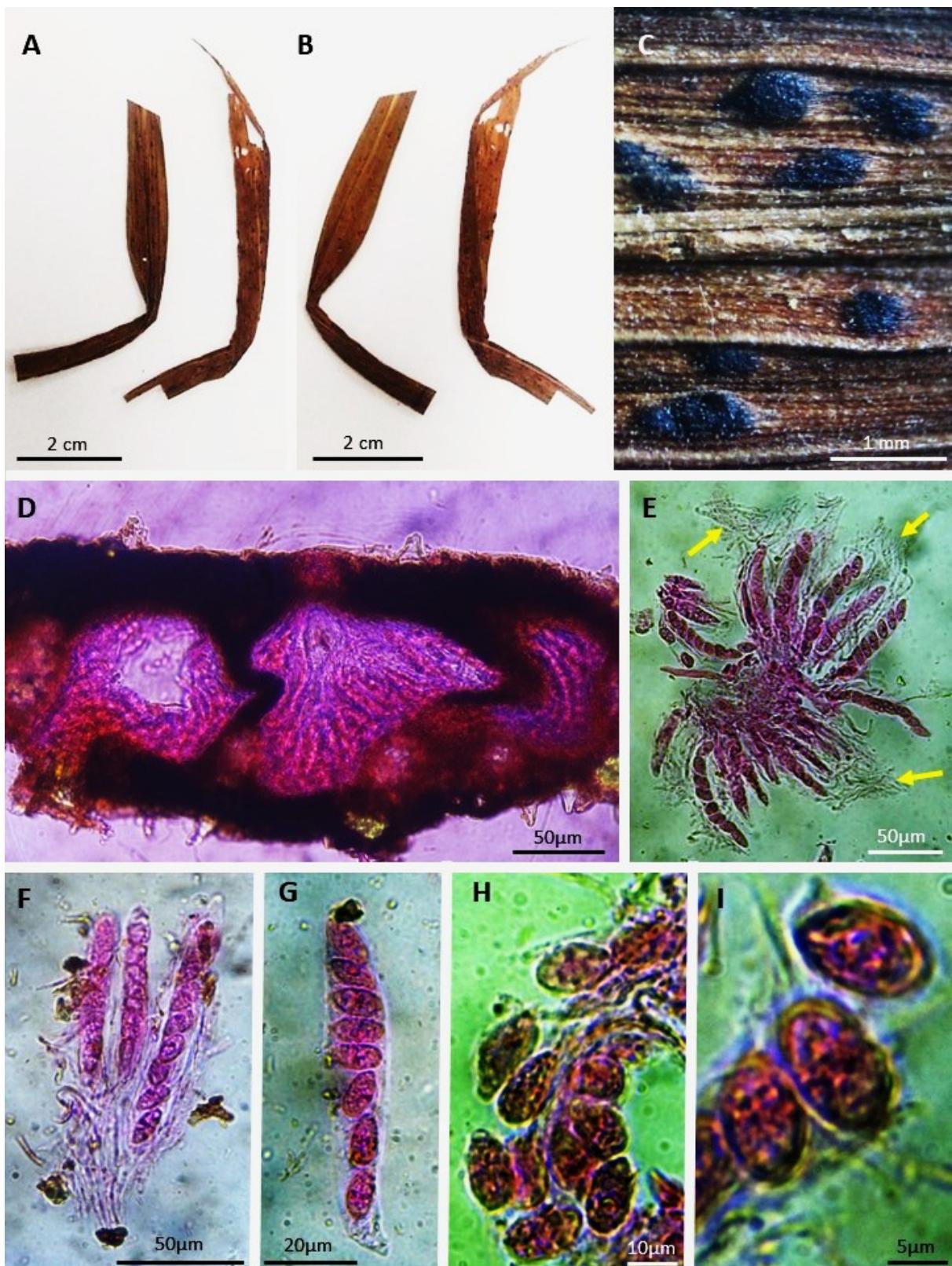


Figura 46. A-I. *Phyllachora* sp. em folhas do hospedeiro da família Poaceae. A e B-Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo de estromas. D. Corte transversal vertical mostrando as cavidades de três ascos. E. Grupo de ascos e parâfises (setas) ainda aderidos. F. Grupo de ascos. G. Detalhe de um asco. H. Grupo de ascósporos. I. Três ascósporos em detalhe.

3.9. *Phyllachora* sp. em folhas de *Vernonia* sp. (Asteraceae) (Figs. 47; Tab. 26)

Provável sp. nov. nº 10

Descrição. *Manchas* não observadas. *Estromas* negros globosos, anfígenos, isolados ou em grupos, unilocular, com 230-736 µm de diâmetro (Fig. 47, C). *Cavidade dos ascomas* 149,5-315(471,5) × 172,5-414 µm, periteciais, intramesofílicos, alcançando ambas as faces da folha (Fig. 47, D). *Clípeos* 51,5-94 µm, negros. *Paráfises* 3-5 µm, hialinas, septadas, não ramificadas. *Ascos* (69,5)82-110 × 9,5-22,5 µm, cilíndricos a cilíndrico-clavados, geralmente uni-seriados, podendo ser irregularmente distribuídos (Fig. 47, F, G e H). *Ascósporos* 15-21,5 × 9,5-15 µm, hialinos, asseptados, piriforme a turbinato (Fig. 47, I). *Anamorfo* formando picnídios, e esporos hialinos, asseptados, e escolecospóricos, com provável função espermacial (Fig. 47, E).

Espécimes examinados. Brasil: São Paulo, Horto Botânico de São Paulo. Em folhas de *Vernonia* sp. Schreber (Asteraceae) “Assa-peixe”. Abril de 1900. Coleção de Arsène Puttemans (UFRJ 185B-Puttemans).

Discussão. De todas as espécies de *Phyllachora* estudadas neste trabalho, a encontrada em *Vernonia* sp. Schreber (UFRJ 185B) foi a que mais se distanciou das espécies já descritas. O maior destaque está na forma dos ascósporos (piriforme), que difere totalmente das espécies listadas na literatura. De fato, nota-se na Tabela 26, que as formas observadas nos ascósporos destas espécies variam em ovóides, elípticos, cilíndrico a fusiformes. Nenhuma delas sendo piriforme. Há inclusive uma espécie, *P. asterigena* Ellis & Everh. (ELLIS & EVERHART, 1894), que apresenta ascósporos didimosporos, sendo esta também um ponto fora da curva em relação às outras, neste aspecto. Inclusive, o nome *P. asterigena* permanece válido, segundo o site <https://www.indexfungorum.org/>⁸¹.

As outras espécies listadas na Tabela 26 possuem ascósporos amerospóricos, inclusive a analisada neste trabalho. Quanto às dimensões dos ascos e ascósporos, a maioria das espécies possuem ascósporos menores do que os observados na espécie analisada. A única que apresentou alguma similaridade foi *Phyllachora nidulans* Pat. (PATOUILLARD & LAGERHEIM, 1891) em relação aos ascósporos, pois seus ascos superaram significativamente as dimensões encontradas na espécie estudada. Ademais, conforme já destacado, as duas espécies também diferem na forma dos ascósporos, pois em *Phyllachora nidulans* eles são ovais. Há, portanto, grande probabilidade de se tratar de uma nova espécie de *Phyllachora* em *Vernonia* sp., não podendo também se descartar a hipótese de um gênero novo, tendo em vista não ser comum na família *Phyllachoraceae* a ocorrência de ascósporos piriformes.

⁸¹ Em KIRK et. at. (2024).

Tabela 26. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Vernonia* sp. comparadas a espécies já descritas e associadas a hospedeiros da família Asteraceae.

Espécies de <i>Phyllachora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro mm)	Cavidade do Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Paráfises (μm)	Ascos (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>Phyllachora ambrosiae</i>	<i>Ambrosia elatior</i>	EUA	---	---	---	---	filiformes	cilíndricos	Unisseriado; elípticos	Saccardo (1883)
<i>P. asterigena</i>	<i>Sympyotrichum oblongifolium</i>	EUA	---	2-6 hipófilo	100	---	---	---	15-25 × 4-4,5 1 septo; oblongo ou clíntrico	Ellis & Everhart (1894)
<i>P. dallasensis</i>	<i>Vernonia</i> sp.	Malásia	circular: 10-30 elíptica: 60 × 15-30; anfígenas	anfígeno	250-350	---	ocorrem	50-60 × 13-16	16-20 × 6-7,5 elípticos-fusiformes	Petrak (1954)
<i>P. microtheles</i>	<i>Chaptalia nutans</i>	Colômbia	---	unilocular	---	---	---	---	12 × 5 Elíptico-fusiformes	Chardón (1930)
<i>Puiggarina microtheles</i>	<i>Trichocline nutans</i>	São Paulo-Brasil	pequenas, irregulares e anfígenas	1-3; epífilo; unilocular	120-200	---	Ocorrem poucas	60 × 8-10	12-14 × 5-6 elípticos-fusiformes	Spegazzini (1919)
<i>Phyllachora nidulans</i>	<i>Asteraceae</i>	Equador	---	0,5-1; 4-7 lóculos	globosos	---	Ocorrem	180-200 × 20	19-20 × 10-12 ovóides	Patouillard & Lagerheim (1891)

Tabela 26. Continuação.

<i>P. nidulans</i> var. <i>senecionis</i>	<i>Senecio</i> sp.	Argentina	---	Epífilo 3-5 lóculos	---	---	Não encontrados	70-80 × 9-12	15 × 8-10 ovóides	Patouillard & Lagerheim (1895)
<i>P. pictocarphae</i>	<i>Piptocarpha</i> sp.	Equador	3-5; Epífilas; irregulares	1-3 lóculos	250-400	---	2-3,5	70-90 × 15-20	13-17 × 7-10,5 ovóides a elípticos	Petrak (1948)
<i>P. stigmodes</i>	<i>Viguiera quitensis</i>	Equador		unilocular	150-250	12-40	2-4	70-105 × 9-15	9,5-16 × 6,5-8,5 ovóides a elípticos	Sydow (1939)
<i>P. effusa</i>	<i>Helianthus annuus</i>	EUA	negras	Peritécios negros, elevados, confluentes	---	---	---	---	---	Saccardo (1883)
<i>Cryptophyllachora eurasiatica</i>	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Hungria	---	180-280 unilocular	---	---	Com paredes fnas	92-114 comprimento	13-22 × 8-10 cilíndricos	Kiss <i>et. al.</i> (2018)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Vernonia</i> sp.	São Paulo-SP	Sem manchas	0,23-0,736 anfígeno	149,5-315(471,5) × 172,5-414	51,5-94	3-5	(69,5)82-1 10 × 9,5-22,5	15-21,5 × 9,5-15 piriformes	Este trabalho

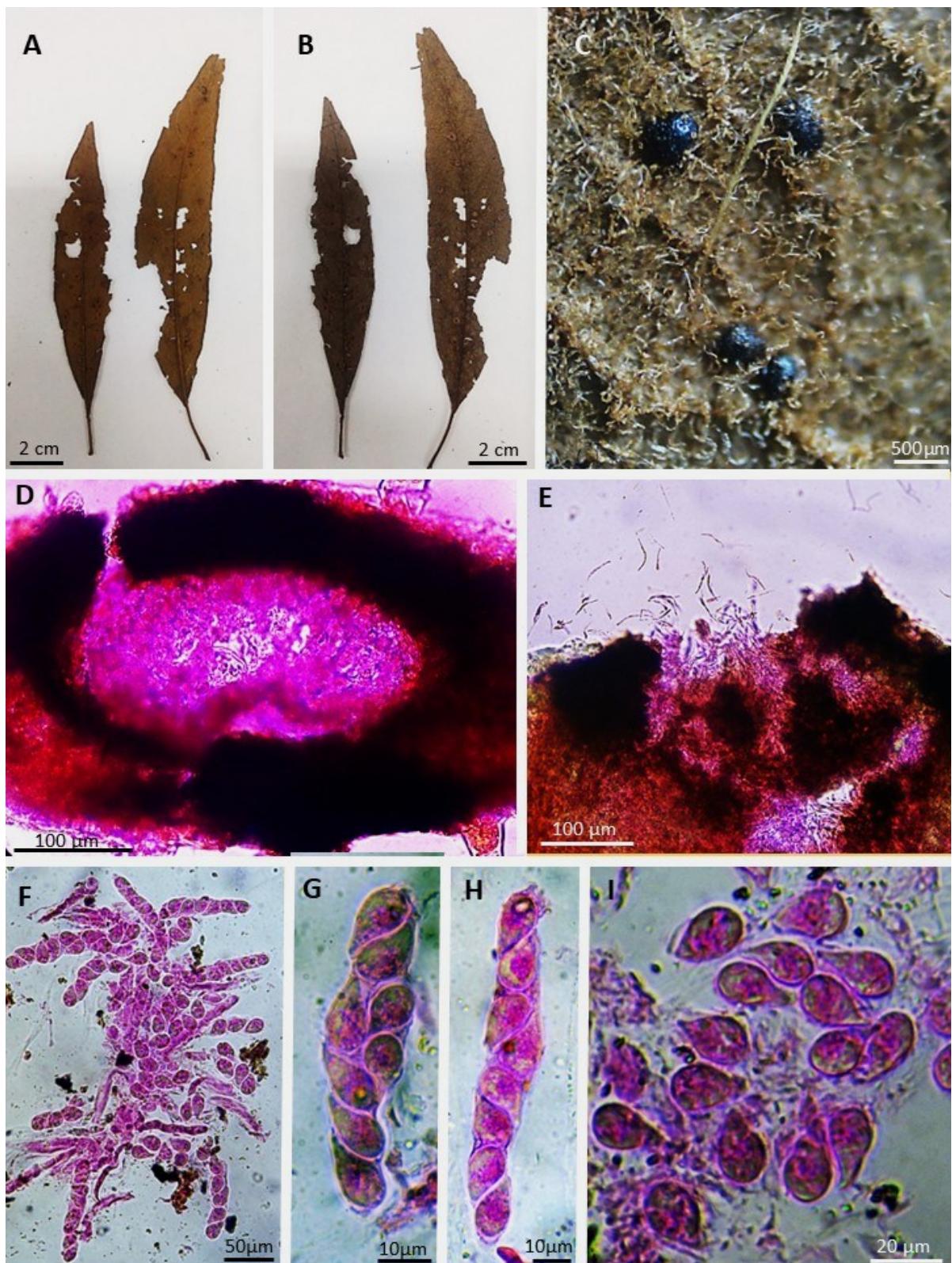


Figura 47. A-I. *Phyllachora* sp. em folhas de *Vernonia* sp. (Asteraceae). A e B-Estromas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Grupo de estromas em detalhe. D. Corte transversal vertical mostrando a cavidade de um ascoma. E. Frutificação e espermácia do anamorfo. F. Grupo de ascos. G. e H. Asco em detalhe. I. Grupo de ascósporos.

3.10. *Phyllachora* sp. em folhas de *Myrtaceae* (gênero indefinido) (Figs. 48; Tab. 27)

Provável sp. nov. nº 11

Descrição. Sem *manchas*. *Estromas* negros, irregulares, geralmente confluentes, ocupando grande parte da superfície foliar, em ambas as faces (Fig. 48, A, B e C), pluriloculares, medindo $0,4\text{--}1,7 \times 0,3\text{--}1,2$ cm, com os peritécios ocupando a região subcuticular adaxial (Fig. 48, D e E). *Ascomas* com cavidade $(71,5)110,5\text{--}292(333,5) \times (191)207\text{--}361(545)$ µm, periteciais, subcuticulares. *Paráfises* 1-3 µm, hialinas, septadas, não ramificadas (Fig. 48, F). *Ascos* $88,5\text{--}128 \times 9,5\text{--}15$ µm, cilíndricos a cilíndrico-clavados, geralmente uni-seriados, podendo ser irregularmente distribuídos (Fig. 48, F, G e H). *Ascósporos* $7,5\text{--}16 \times 4\text{--}6,5$ µm, hialinos, asseptados, oblongos com ápices obtusos (Fig. 48, I e J).

Espécimes examinados. Brasil: Minas Gerais, Belo Horizonte. Em folhas de *Myrtaceae* (gênero indefinido). Coleção de Arsène Puttemans (UFRJ 283B-Puttemans).

Discussão. A característica de maior destaque apresentada pela espécie estudada são as dimensões do estroma: $4\text{--}17 \times 3\text{--}12$ mm. De todas as espécies listadas na Tabela 27, apenas *Phyllachora maculata* (COOKE, 1891) atinge níveis próximos (5-10 mm), porém, seus ascóporos alcançam dimensões substancialmente maiores ($22\text{--}25 \times 8$ µm) que os da espécie em análise. Sem considerar as dimensões do estroma, as espécies menos distantes da espécie deste trabalho são: *P. whetzelii* Chardón (CHARDON, 1921), *P. verrucosa* Chardón (CHARDON, 1932) e *Phyllachora myrciae-rostratae* Viégas (VIÉGAS, 1944).

Comparando-se os ascos e ascósporos, estas são menos distantes do que as outras espécies listadas na Tabela 27. Porém, embora haja o enquadramento de algumas dimensões, cada uma destas três espécies sempre apresenta algum desvio em relação à espécie deste estudo. Por exemplo: *P. verrucosa* apresenta maior largura dos ascósporos; *Phyllachora myrciae-rostratae* possui ascos mais estreitos; e *P. whetzelii* atinge larguras menores de ascos e ascósporos. Ao se considerar as dimensões do estroma, estas três espécies alcaçam o máximo de 3 mm de diâmetro, enquanto, que, a espécie estudada chega a apresentar comprimento de 17 mm e largura de 12 mm. Outro ponto a ser destacado é a posição da cavidade dos ascomas da espécie analisada, ocupando predominantemente a posição subepidérmica da face superior das folhas, ainda que haja estroma em ambas as faces. No caso, nem a cavidade do ascoma tampouco o estroma aparecem em posições centrais do mesófilo. A maioria das descrições das espécies comparadas não tratam em detalhes da posição do ascoma, o que dificulta a comparação deste aspecto. De qualquer modo, as diferenças morfológicas apresentadas pela espécie estudada indicam se tratar de uma nova espécie.

Tabela 27. Características de *Phyllachora* sp. em folhas de *Myrtaceae* (gênero indefinido). comparadas a espécies já descritas e associadas a diferentes hospedeiros da família *Myrtaceae*.

Espécies de <i>Phyllachora</i>	Hospedeiro	Local	Mancha foliar (diâmetro mm)	Estroma (diâmetro mm)	Cavidade do Ascoma (μm)	Clípeo (μm)	Paráfises (μm)	Ascos (μm)	Ascósporos (μm)	Referência
<i>P. tachirensis</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Venezuela	1-2	2-4 Anfígeno	100-160 (diâmetro)	30-40	Ocorre	109-166 × 9,5-12	13-17 × 7-8	Chardon (1934)
<i>P. emarginata</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Equador	Sem manchas	0,5-1,5 Geralmente epífilo	---	70-150	Ocorre 2-3	80-130 × 18-28	16-20 × 10-12	Petrak (1948)
<i>P. mulleri</i>	<i>E. dodonaeifolia</i>	Minas Gerais	Sem manchas	1,5-3 Anfígeno	285-360 × 218-260	---	Ocorre	95-120 × 13-15	28-32 × 6-7	Chardon <i>et. al.</i> (1940)
<i>P. biareolata</i>	<i>E. guabiju</i>	Paraguai	Sem manchas	2-3 Anfígeno	200-250 × 100-150	---	Ocorre	90-95 × 6-9	12 × 5	Spegazzini (1888)
<i>P. brenesii</i>	<i>E. guayaquilensis</i> var. <i>glabrior</i>	Costa Rica	Sem manchas	1-3 Geralmente epífilo	800 (diâmetro)	3-5	Ocorre	70-80 × 10-15	12-17 × 8-10	Sydow & Petrak (1929)
<i>P. whetzelii</i>	<i>E. monticola</i>	Porto Rico	Ocorrência de manchas	1-1,5 anfígena	150-250 (profundidade)	---	Ocorre	87-109 × 8-10,5	11,5-13 × 3-4	Chardon (1921)
<i>P. eugeniae</i>	<i>E. rhombea</i>	Porto Rico	Ocorrência de manchas	1-2,5 anfígena	110-150 × 80-130	---	Ocorre	60-75 × 7-9	8-10 × 4-4,5	Chardon (1927)
<i>P. angustispora</i>	<i>Eugenia</i> sp.	Paraguai	1-3	0,5-2 Geralmente Hipófilos	120-150 diâmetro	---	Sem paráfises	80-90 × 12-14	30 × 8-9	Spegazzini (1919)

Tabela 27. Continuação.

<i>P. verrucosa</i>	<i>Eugenia buxifolia</i>	Haiti e Porto Rico	---	1-2 Anfígeno	250-320 (diâmetro)	---	Ocorrem	85-100 × 12-15	10-13 × 7-9	Chardon (1932)
<i>Catacauma truncatisporum</i> (nome atual: <i>Phyllachora truncatispora</i>)	<i>Myrtaceae</i>	São Paulo	Leve halo amareulado	2-5 epífilos	160-200 × 100-350	20-30	Filiformes hialinas	70-90 × 16-24	22-26 × 7-8	Viégas (1944)
<i>Phyllachora myrciae-rostratae</i>	<i>Myrica rostrata</i>	Minas Gerais	---	1-3 Anfígeno	200-250 × 400-500	60-100	filiformes	100-120 × 6-8	14-17 × 5-6	Viégas (1944)
<i>Phyllachora eucalypti</i>	<i>Eucalyptus</i> sp.	Australia	---	2-3 epífilo	---	---	---	---	35-40 × 10	Cooke & Massee (1887)
<i>Phyllachora maculata</i>	<i>Eucalyptus</i> sp.	Australia	---	5-10	---	---	---	---	22-25 × 8	Cooke (1891)
<i>Phyllachora rugulosa</i>	<i>Eucalyptus</i> sp.	Australia	---	1,0	---	---	---	---	20 × 6	Cooke (1892)
<i>Phyllachora</i> sp.	<i>Myrtaceae</i>	Belo Horizonte-MG	Sem manchas	4-17 × 3-12 anfígeno	(71,5)110,5-292(333,5) × (191)207-361(545)	---	1-3	88,5-128 × 9,5-15	7,5-16 × 4-6,5	Este trabalho

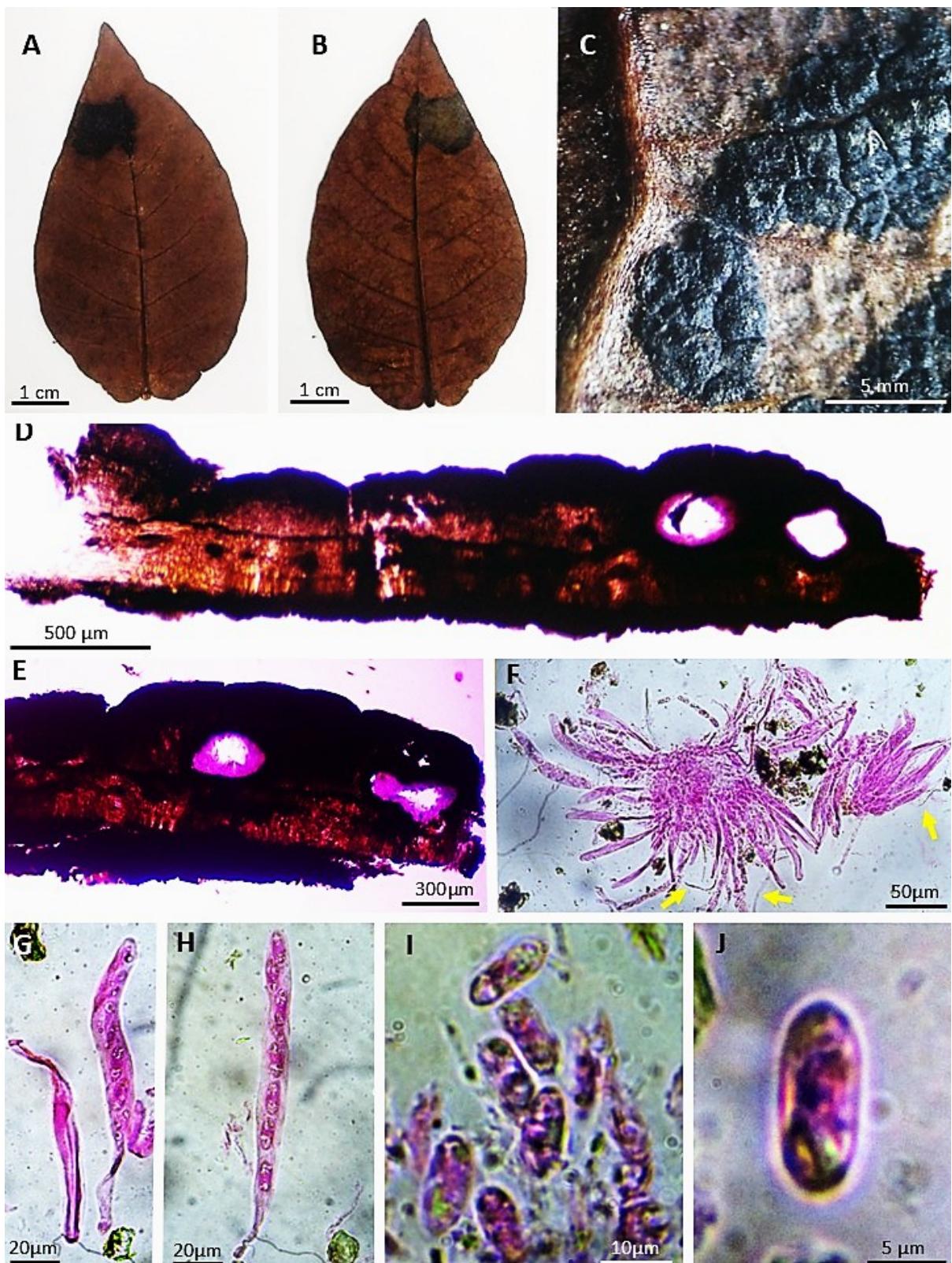


Figura 48. A-J. *Phyllachora* sp. em folhas de *Myrtaceae* (gênero indefinido). A e B. Sintomas na região adaxial (A) e abaxial (B). C. Estroma em detalhe. D. Corte transversal vertical mostrando as cavidades de três ascos. Detalhe das cavidades dos ascos em corte transversal. F. Grupo de ascos. G. Detalhe de um asco maduro (direita) e outro imaturo (esquerda). H. Detalhe de um asco maduro. I. Grupo de ascósporos. J. Detalhe de um ascósporo.

4. CONCLUSÃO

Diante de todas as análises realizadas no presente trabalho, foi possível concluir que provavelmente cinco das espécies caracterizadas são novas. As outras cinco foram identificadas com base na proximidade com espécies já descritas na literatura. Análises moleculares poderão confirmar estas informações. De qualquer modo, a análise morfológica foi importante como ponto de partida para caracterização destes fungos, apontando para caminhos mais promissores em revelar novas espécies, conforme está resumido na Tabela 28.

Tabela 28. Conclusões referentes a identificação de cada espécie de *Phyllachora* sp. caracterizada neste estudo.

Hospedeiro/Família	Número de registro	Local de coleta	Identificação mais provável
<i>Eugenia punicifolia</i> (Myrtaceae)	UFRJ 1189	Restinga da Marambaia	<i>Phyllachora</i> sp. (espécie nova)
<i>Croton compressus</i> (Euphorbiaceae)	UFRJ 1198	Restinga da Marambaia	<i>Phyllachora</i> sp. (espécie nova)
<i>Paullinia rubiginosa</i> (Sapindaceae)	UFRJ 1243	Flona Mário Xavier	<i>Phyllachora</i> <i>alamoi</i>
<i>Eugenia florida</i> (Myrtaceae)	UFRJ 1236	Flona Mário Xavier	<i>P. mulleri</i>
<i>Cedrela fissilis</i> (Meliaceae)	UFRJ 452B-SDSV-MA	Gávea, Rio de Janeiro-RJ	<i>P. brasiliensis</i>
<i>Machaerium villosum</i> (Fabaceae)	UFRJ 266-SDSV-MA	Gávea, Rio de Janeiro-RJ	<i>Phyllachora</i> sp. (espécie nova)
<i>Chloris</i> sp. (Poaceae)	UFRJ 322B-Puttemans	Rio de Janeiro-RJ	<i>P. eriochloae</i>
gênero indefinido (Poaceae)	UFRJ 475B-Puttemans	desconhecido	<i>P. eriochloae</i>
<i>Vernonia</i> sp. (Asteraceae)	UFRJ 185B-Puttemans	Horto Botânico, São Paulo-SP	<i>Phyllachora</i> sp. (espécie nova)
gênero indefinido (Poaceae)	UFRJ 283B-Puttemans	Belo Horizonte-MG	<i>Phyllachora</i> sp. (espécie nova)

5. REFERÊNCIAS

- ARX, J.A. von; MÜLLER, E. Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten [The classification of pyrenomycetes with aseptate spores]. *Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz*, v. 11 (1), p. 1-434, 1954.
- BARR, M.E. The ascomycete connection. *Mycologia*, v. 75 (1), p. 1-13, 1983.
- CANNON, P.F. A revision of *Phyllachora* and some similar genera on the host family Leguminosae. *Mycological Papers*, v. 163, 302 pp., 1991.
- CHARDÓN, C.E. A contribution to our knowledge of the pyrenomycetes of Porto Rico. *Mycologia*, v. 13 (6), p. 279-300, 1921.
- CHARDÓN, C.E. New or interesting tropical American Dothideales. I. *Mycologia*, v. 19 (6), p. 295-301, 1927.
- CHARDÓN, C.E.; Toro, R.A. Mycological explorations of Colombia. *Journal of the Department of Agriculture, Porto Rico*, v.14 (4), p. 195-369, 1930.
- CHARDÓN, C.E. New or interesting tropical American Dothideales. III. *Journal of the Department of Agriculture, Porto Rico*, v. 16, p. 167-192, 1932.
- CHARDÓN, C.E.; Toro, R.A. Mycological explorations of Venezuela. *Monographs of the University of Puerto Rico, Series B*, v. 2, p. 1-351, 1934.
- CHARDÓN, C.E.; Miller, J.H.; Müller, A.S. Ascomycetes from the state of Minas Geraes, Brazil. *Mycologia*, v. 32 (2), p. 172-204, 1940.
- COOKE, M.C. Australian fungi. *Grevillea*, v. 20 (93), p. 4-7, 1891.
- COOKE, M.C. Exotic fungi. *Grevillea*, v. 10 (56), p. 121-130, 1882.
- COOKE, M.C. New Australian fungi. *Grevillea*, v. 16 (77), p. 1-6, 1887.
- COOKE, M.C. *Handbook of Australian Fungi*. London, 458 p., 1892.
- COOKE, M.C. Synopsis Pyrenomycetum (continued). *Grevillea*, v. 13 (67), p. 61-72, 1885.
- ELLIS, J.B.; EVERHART, B.M. New species of fungi from various localities. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, v. 46, p. 322-386, 1894.
- EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 2024. Banco de Dados - Fungos Relatados em Plantas no Brasil. Disponível em <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michhtml/micbanco01a.asp>. Acessado em: 23/05/2024.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Disponível em: <https://fungi.ars.usda.gov/>. Acessado em: 23/07/2024.

HENNINGS, P.C. Fungi Paraenses I. *Hedwigia*, v. 39 (3), p. 76-80, 1900.

HENNINGS, P.C. Fungi Paraenses III. *Hedwigia* v. 48, p. 101-117, 1909.

HENNINGS, P.C. Neue und interessante Pilze aus dem Kgl. Botanischen Museum Berlin. II. *Hedwigia*, v. 33, p. 229-233, 1894.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *MAPA DE CLIMA DO BRASIL*, 2002. Disponível em: <https://geoftp.ibge.gov.br/informacoes_ambientais/climatologia/mapas/brasil/Map_BR_clima_2002.pdf>. Acesso em: 06 de julho de 2024.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Acervo dos municípios brasileiros* – Biblioteca IBGE, 2015. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=440614>>. Acesso em: 06 de julho de 2024.

ICMBio - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. *Plano de manejo da Floresta Nacional Mário Xavier*, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/unidade-de-conservacao/unidades-de-biomas/mata-atlantica/lista-de-ucs/flona-mario-xavier/arquivos/pm_fn_mario_xavier_versao_versao_final-cleaned-1.pdf>. Acesso em: 08 de julho de 2024.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. *Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas*. Vol. 2., Ceres: São Paulo, 774 p., 1997.

INDEX FUNGORUM PARTNERSHIP, 2024. *Index Fungorum*. Disponível em: <https://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=462239>. Acessado em: 15/07/2024.

KISS, L. *et. al.* Deciphering the biology of *Cryptophyllachora eurasistica* gen. et sp. nov., an often cryptic pathogen of an allergenic weed, *Ambrosia artemisiifolia*. *Scientific Reports*, v.8, p. 1-14, 2018.

LUTTRELL, E.S. Taxonomy of Pyrenomycetes. *University of Missouri Stud.*, v. 24 (3), 120 pp., 1951.

MARDONES, M.; TRAMPE-JASCHIK, T.; OSTER, S.; ELLIOTT, M.; URBINA, H.; SCHMITT, I.; PIEPENBRING, M. Phylogeny of the order *Phyllachorales* (*Ascomycota, Sordariomycetes*): among and within order relationships based on five molecular loci. *Persoonia: Mol Phylog Evol Fungi*, v. 39(1), p. 74–90, 2017.

MARDONES, M.; TRAMPE-JASCHIK, T.; HOFMANN, MANGELSDORFF & PIEPENBRING, M. New neotropical species of *Phyllachorales* based on molecular, morphological, and ecological data. *Mycologia*, v. 110(5), p. 835-859, 2018.

MARDONES, M.; TRAMPE-JASCHIK, T.; & PIEPENBRING, M. Phylogenetics and taxonomy of Telimenaceae (Phyllachorales) from Central America. *Mycological Progress*, v. 19, p. 1587-1599, 2020.

NIESSL, G. von. Notizen über neue und kritische Pyrenomyceten. *Verhandlungen der Naturforschenden Vereins in Brünn*, v. 14, p. 165-218, 1876.

OLIVER, R.P. *Agrios' Plant Pathology*. 6 ed. Londres: Academic Press, Elsevier, 2024.

ORTON, C.R. Studies in the morphology of the ascomycetes I. The stroma and the compound fructification of the *Dothideaceae* and other groups. *Mycologia*, v. 16 (2), p. 49-95, 1924.

ORTON, C.R. Graminiculous species of *Phyllachora* in North America. *Mycologia*, v. 36 (1), p. 18-53, 1944.

PATOUILARD, N.T.; LAGERHEIM, G. Champignons de l'équateur. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, v. 7, p. 158-184, 1891.

PATOUILARD, N.T.; LAGERHEIM, G. Champignons de l'équateur (Pugillus III). *Bulletin de la Société Mycologique de France*, v. 9, p. 124-165, 1893.

PATOUILARD, N.T.; LAGERHEIM, G. Champignons de l'Équateur. Pugillus V. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, v. 11, p. 205-234, 1895.

PETRAK, F. Mykologische Notizen. VII. *Annales Mycologici*, v. 22 (1-2), p. 1-182, 1924.

PETRAK, F.; CIFERRI, R. Fungi Dominican. II. *Annales Mycologici*, v. 30 (3-4), p. 149-353, 1932.

PETRAK, F. Pilze aus Ekuador. *Sydowia*, v. 2 (1-6), p. 317-386, 1948.

PETRAK, F. Beiträge zur Pilzflora von Britische Nord-Borneo. *Sydowia*, v. 8 (1-6), p. 12-26, 1954.

REHM, H.-J. Beiträge zur Pilzflora von Südamerika III. *Dothideaceae. Hedwigia*, v. 36, p. 366-380, 1897.

REHM, H.-J. Ascomycetes exs. Fasc. 45. *Annales Mycologici*, v. 7 (6), p. 524-530, 1909.

ROMERO, J.A.O. Inventario taxonómico de especies pertenecientes al género *Phyllachora* (fungi Ascomycota) asociadas a la vegetación de sabana neotropical (Cerrado Brasílico) con énfasis en el Parque Nacional de Brasilia DF. Dissertação de Mestrado. Brasília-DF. Universidade de Brasília. 226 p., 2008.

SACCARDO, P.A. *Sylloge Fungorum* v. 2, i, 1-815, ii-lxix, 1-77. Italy, Padua, 1883.

SACCARDO, P.A.; BERLESE, A.N. Fungi Brasilienses a cl. B. Balansa lecti (3). *Revue Mycologique*, Toulouse, v. 7 (26), p. 155-158, 1885.

SACCARDO, P.A.; SYDOW, P. (1899). *Sylloge Fungorum*, v. 14 (1): i-vi, p. 1-724. Italy, Patavii, 1899.

SEAVER, F.J. Studies in tropical ascomycetes. V. Species of Phyllachora. *Mycologia*, v. 20 (4), p. 214-225, 1928.

SPEGAZZINI, C.L. Fungi Guaranitici. Pugillus II. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, v. 26 (1), p. 5-74, 1888.

SPEGAZZINI, C.L. Fungi Argentini additis nonnullis Brasiliensibus Montevideensibusque. Pugillus Quartus [cont.]. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, v. 12 (4), p. 174-189, 1881.

SPEGAZZINI, C.L. Fungi Guaranitici. Pugillus 1. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, v. 19 (2), p. 91-96, 1885.

SPEGAZZINI, C. Fungi guaranitici. Pug. 1 (cont.). *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, v. 19 (6), p. 241-265, 1885.

SPEGAZZINI, C.L. Fungi Guaranitici. Pugillus II. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, v. 26 (1), p. 5-74, 1888.

SPEGAZZINI, C.L. Mycetes Argentinenses. Series 4. *Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Buenos Aires*, Ser. 3, v. 19 (12), p. 257-458, 1909.

SPEGAZZINI, C.L. Mycetes Argentinenses. Series VI. *Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Buenos Aires*, v. 23, p. 1-146, 1912.

SPEGAZZINI, C.L. Reliquiae mycologicae tropicae et fungi Costaricenses nonnulli. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias Córdoba*, v. 23 (3-4), p. 365-609, 1919.

SPEGAZZINI, C.L. Fungi Paraguayenses. *Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Buenos Aires*, v. 31, p. 355-450, 1922.

STEVENS, F.L. Fungi from Costa Rica and Panama. *Illinois Biological Monographs*, v. 11 (2), p. 157-255, 1927.

SYDOW, H.; SYDOW, P. Novae fungorum species – XIII. *Annales Mycologici*, v. 13 (1), p. 35-43, 1915.

SYDOW, H. Fungi in itinere Costaricensi collecti. Pars prima. *Annales Mycologici*, v. 23 (3-6), p. 308-429, 1925.

SYDOW, H.; PETRAK, F. Fungi Costaricenses a cl. Prof. Alberto M. Brenes collecti. *Annales Mycologici*, v. 27 (1-2), p. 1-86, 1929.

SYDOW, H. Fungi Aequatorienses (series prima). *Annales Mycologici*, v. 37 (4-5), p. 275-438, 1939.

TEHON, L.R. Studies of some Porto Rican fungi. *Botanical Gazette*, v. 67 (6), p. 501-511, 1919.

THEISSEN, F.; SYDOW, H. Die Dothideales. Kritisch-systematisch Originaluntersuchungen [The Dothideales. An original, critical and systematic piece of research]. *Annales Mycologici*, v.13 (3-4), p. 147-430, 1915.

VIÉGAS, A.P. Alguns fungos do Brasil. II. Ascomicetos. *Bragantia* São Paulo, v. 4 (1-6), p. 5-392, 1944.

WINTER, H.G. Fungi novi Brasilienses. *Grevillea*, v. 15 (75), p. 86-92, 1887.