

# EPITIPIFICAÇÃO E RELACIONAMENTO FILOGENÉTICO DE FUNGOS CERCOSPOROIDES ASSOCIADOS A PLANTAS DO CERRADO

ALINE SUELEN DA SILVA

#### ALINE SUELEN DA SILVA

# EPITIPIFICAÇÃO E RELACIONAMENTO FILOGENÉTICO DE FUNGOS CERCOSPOROIDES ASSOCIADOS A PLANTAS DO CERRADO

Dissertação apresentada à Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia pelo Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.

#### Orientador

Dr. Danilo Batista Pinho, Doutor em Fitopatologia

BRASÍLIA - DISTRITO FEDERAL BRASIL 2018

## FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Aline Suelen da.

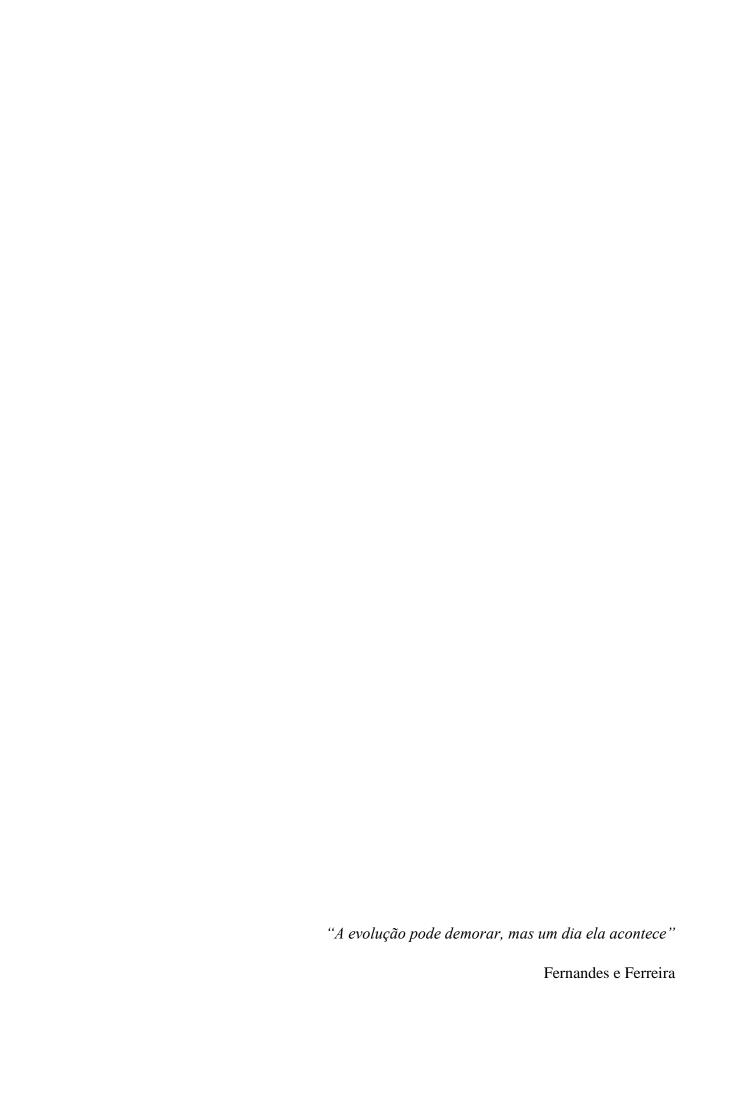
Epitipificação e relacionamento filogenético de fungos cercosporoides associados a plantas do Cerrado. / Aline Suelen da Silva. Brasília, 2018.

p.75.

Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília.

- 1. Fungos cercosporoides Plantas do Cerrado.
- I. Universidade de Brasília.PPG/FIT.
- II. Epitipificação e relacionamento filogenético de fungos cercosporoides associados à plantas do Cerrado.





#### **AGRADECIMENTOS**

Minha maior gratidão nesse momento é a Deus, por ser meu porto seguro em todos os momentos e me dar forças para chegar até aqui...

Agradeço aos meus familiares pelo apoio, em especial a minha mãe Cleuza por compartilhar comigo sua alegria e ser compreensiva em todos os momentos, aos meus tios Rosa e Marcus, que foram fundamentais no meu acesso ao ensino superior, ajudando e incentivando no início dessa jornada até os dias atuais, assim como Antônio, Sueli e Clêide, que mesmo não sendo do meu próprio sangue se tornaram minha família de coração.

Aos meus amigos, que tornaram essa caminhada mais leve e feliz, em especial Giovana, Helen, Natália, Alexandre, Jennifer, Jéssica, Débora, Lincoln, Justino, Deziany, Déborah, Bianca, Érica, Anna Sofya, Thiago, Samuel, Pollyane, Marla e Carla.

Agradeço em especial a Camila pela ajuda nos trabalhos de bancada, Alexandre por estar sempre disponível para me ajudar na filogenia, Jennifer por me ajudar nas fotografias e Débora e Samuel por sempre sanarem minhas dúvidas.

Agradeço ao professor José Carmine Dianese, a Maria, Thiago e Letícia pela ajuda na identificação das plantas.

Ao professor Dr. Milton Luiz da Paz Lima por ter me instruído no começo dessa jornada e incentivado à seguir no caminho da pesquisa.

Também agradeço ao professor Danilo Batista Pinho pela orientação e ajuda durante todo esse período.

Ao professor Robert Neil Gerard Miller por conceder a infraestrutura do Laboratório de Interação Plantas- Praga e compor a banca examinadora.

Agradeço as bolsistas de Iniciação Científica do Laboratório de Micologia, Amanda Gomes Moreira, Ana Clara Ribeiro Quitânia e Thais Ramos pela ajuda oferecida.

À Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de recursos financeirose à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de Mestrado.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram para que eu chegasse até aqui.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do professor Dr. Danilo Batista Pinho, com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

# EPITIPIFICAÇÃO E RELACIONAMENTO FILOGENÉTICO DE FUNGOS CERCOSPOROIDES ASSOCIADOS A PLANTAS DO CERRADO

#### ALINE SUELEN DA SILVA

DISSERTAÇÃO APROVADA em:/ por:
Dr. Milton Luiz da Paz Lima
Instituto Federal Goiano câmpus Urutaí (Examinador Externo)
Dr. Robert Neil Gerard Miller
Universidade de Brasília (Examinador Interno)
Dr. Danilo Batista Pinho
Universidade de Brasília (Presidente - Orientador)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL BRASIL 2018

# **SUMÁRIO**

LIS	TA DE TABELAS	. X
LIS	TA DE FIGURAS	cii
RES	SUMO GERALx	iii
GEN	NERAL ABSTRACTx	iv
INT	RODUÇÃO	15
1.1	Bioma Cerrado	19
1.2	Fungos cercosporoides	20
1.3	Epitipificação e taxonomia de fungos cercosporoides	23
2 N	IATERIAL E MÉTODOS2	26
2.1	Coleta e processamento das amostras	26
2.2	Estudo taxonômico e herborização	26
2.3	Isolamento e armazenamento dos isolados	26
2.4	Extração do DNA genômico	27
2.5	Amplificação e purificação do DNA	28
2.6	Análises Filogenéticas	28
3 R	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.1	Local de coleta e informações dos espécimes coletados	36
3.2	Análise filogenética	37
3.3	Taxonomia	<b>41</b>
3.4	Espécie associada à Arecaceae	<b>1</b> 1
Pseu	udocercospora sp. (provável espécie nova nº 1). Figura 3 (A-C)	<b>41</b>
3.5	Espécies associadas à Bignoniaceae	14
Pass	cospora tabebuiae-impetiginosae Inácio & Dianese, Mycol. Res., 102:697 (1998)	

	salora tabebuiae-ochraceae C. A. Inácio & J. C. Dianese, Mycol. Progress,5: 121 (200	
Psei Psei	udocercospora cybistacis (Henn.) X. J. Liu & Y. L. Guo, Mycosystema 2:233 (1989) udocercospora tabebuiae-caraibae C. A. Inácio & J. C. Dianese, Mycol. Progress, 5: 06)	. 48 122
3.6	Espécie associada à Passifloraceae	
Psei	udocercospora passiflorae-setaceae A. C. Dianese, A. M. Costa & J.	C.
Dia	nese,Mycotaxon, 105:2 (2008)	. 52
3.7	Espécie associada à Piperaceae	. 54
Psei	udocercospora piperis(Pat.) Deighton, Mycological Papers, 140: 150 (1976)	. 54
3.8	Espécie associada à Rubiaceae	. 55
Psei	udocercospora rigidaeM. Silva & O. L. Pereira, Mycotaxon, 102: 261 (2007)	. 55
3.9	Espécie associada à Smilacaceae	. 57
Pass	salora smilacis (Thüm.) U. Braun, Arnoldia, 14:30 (1997).	. 57
3.6	Espécie associada à Solanaceae	. 59
Psei	udocercospora sp. (provável espécie nova nº 2). Figura 4 (A-D).	. 59
3.7	Espécie associada à Velloziaceae	. 62
Мус	cosphaerella sp. (provável espécie nova nº 3). Figura 5 (A-C).	. 62
4 (	CONSIDERAÇÕES FINAIS	. 65
REI	FERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	. 66

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Códigos de acesso das sequências no GenBank e informações das espécies
utilizadas na análise filogenética
Tabela 2. Características morfométricas de espécies de Pseudocercospora associadas à
Arecaceae
Tabela 3. Características morfométricas de Cercospora tabebuiae-impetiginosae em
Handroanthusheptaphyllus descrito em literatura
Tabela 4. Características morfométricas de espécies de Passalora associadas a plantas
do gênero <i>Handroanthus</i>
Tabela 5. Características morfométricas de espécies de Pseudocercospora próximas
filogenéticamente de P. cybistacis (Figura 2), associadas à hospedeiras da família
Bignoniaceae
Tabela 6. Características morfométricas de espécies de Pseudocercospora associadas a
plantas do gênero <i>Tabebuia</i>
Tabela 7. Características morfométricas de espécies de Pseudocercospora associadas a
plantas do gênero <i>Passiflora</i>
Tabela 8. Características morfométricas de Pseudocercospora piperis em Piper
aduncum no Brasil
Tabela 9. Características morfométricas de espécies de Pseudocercospora em
Palicourea (Rubiaceae).
Tabela 10. Características morfométricas de <i>Passalora</i> smilacis em plantas do gênero
Smilax (Smilacaceae)

	Γabela 11. Características morfométricas de espécies de Pseudocercospora associadas
à Sola	num60
	Γabela 12. Características morfométricas de espécies de Mycosphaerella associadas a
famíli	a Pandanaceae63

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização geográfica das áreas amostradas no Distrito Federal36
Figura 2. Árvore filogenética obtida por comparação de sequências da região ITS por
Inferência Bayesiana. Valores de probabilidade posterior são indicados acima dos nós. A
árvore foi enraizada com Cladosporium cladosporioides. Os espécimes obtidos nesse estudo
estão destacados em azul. 41
Figura 3.Pseudocercospora sp. em folhas de Mauritia flexuosa. A. Lesão na face
adaxial da folha. B. Conidióforos. C. Conídios
Figura 4. Pseudocercospora sp. em folhas de Solanum sp. A. Lesões na face adaxial da
folha. B. Conidióforos. C-D. Conídios
Figura 5. Mycosphaerella sp. em folhas de Vellozia squamata. A. Lesões com bordas
escuras, centro mais claro e pontações negras. B. Detalhe da lesão mostrando ascomas
subepidérmicos. C. Ascoma com ascas e ascósporos

#### **RESUMO GERAL**

SILVA, Aline Suelen da. **Epitipificação e relacionamento filogenético de fungos cercosporoides associados a plantas do Cerrado.** 2018. 75p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) — Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Os fungos cercosporoides são comumente associados a lesões foliares em várias espécies de plantas. Atualmente, existem mais de 2000 espécies, a maioria das quais é conhecida em um único hospedeiro. Este grupo de fungos é o mais representativo no Cerrado brasileiro, mas até agora a maioria das espécies foram descritas exclusivamente por meio de características morfológicas. A inclusão de dados moleculares na taxonomia de fungos cercosporoides revelou que o grupo é polifilético e demonstrou a necessidade de comparação de sequências para a identificação precisa das espécies. Portanto, este trabalho tem como objetivo epitipificar os espécimes de fungos cercosporoides associados às plantas do Cerrado e entender sua relação filogenética. Para identificação precisa, isolados foram obtidos a partir de lesões foliares em Piper aduncum (Piperaceae), Solanum sp. (Solanceae), Palicourea rigida (Rubiaceae), Smilax japecanga (Smilacaceae), Cybistax antisyphilitica, Handroanthus ochraeus, Handroanthus heptaphyllus, Handroanthus serratifolius, Tabebuia aurea, (Bignoniaceae), Passiflora setacea (Passifloraceae), Mauritia flexuosa (Arecaceae) e Vellozia squamata (Velloziaceae). Após a confirmação da identidade por comparações morfológicas, o DNA genômico foi extraído utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification. As sequências de nucleotídeos da região do DNA ribossomal foram obtidas e comparadas com sequências de espécimes tipo e espécies disponíveis no GenBank. No total, 28 isolados foram obtidos de 12 plantas hospedeiras pertencentes a oito famílias botânicas. Os isolados obtidos pertencem à Mycosphaerellaceae e são agrupados em seis clados distintos. Este estudo confirma o relato de Pseudocercospora piperis associado à Piper aduncume Pseudocercopora rigidae associada à Palicourea rigida, com alto suporte filogenético. Os epitipos de Cercospora tabebuiae-impetiginosae, Passalora tabebuiae, Pseudocercospora passifloraesetaceae, P. cybistacis, P. tabebuiae-caraibae e P. tabebuiae-ochraeae associadas a Handroanthus heptaphyllus, Handroanthus serratifolius, Passiflora setacea, Cybistax antisyphilitica, Tabebuia aurea e Handroanthus ochraceus, respectivamente, foram designados pela primeira vez e três prováveis espéciesnovas, sendo duas Pseudocercospora associadas à Solanum sp. e Mauritia flexuosa, respectivamente e Mycosphaerella associada à Vellozia squamata, serão propostas seguindo as normas do Código Internacional de Nomenclatura para algas, fungos e plantas. Os espécimes examinados neste estudo representam uma pequena fração de fungos cercosporoides relatados no Cerrado e demonstram a necessidade de recoletar esses organismos para entender sua relação filogenética. Suporte financeiro: FAP-DF, Capes, CNPq e UnB.

**Palavras-chave:**Filogenia molecular,fungos, Mycosphaerellaceae,DNA barcoding, taxonomia.

Orientador- Dr. Danilo Batista Pinho- Universidade de Brasília

#### **GENERAL ABSTRACT**

SILVA, Aline Suelen da. **Epitipification and phylogenetic relationship of cercosporoid fungi associated with plants of the brazilian Cerrado.** 2018. 75p. Dissertation (Master in Plant Phatology) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil.

Cercosporoid fungi are commonly associated with leaf lesions in numerous plant species. Currently, there are over 2000 species, most of which are known in a single host. Although this group of fungi is the most representative in the Brazilian Cerrado, the majority of species have been described exclusively by morphological characteristics. The inclusion of molecular data in the taxonomy of cercosporoid fungi revealed that the group is polyphyletic and demonstrated the need for sequence comparison for accurate identification of species. Therefore, the objective this work was to epitypify specimens of cercosporoid fungi associated to Cerrado plants and to understand their phylogenetic relationships. For precise identification, isolates were obtained from leaf lesions on Piper aduncum (Piperaceae), Solanum sp. (Solanceae), Palicourea rigida (Rubiaceae), Smilax japecanga (Smilacaceae), Cybistax antisyphilitica, Handroanthus ochraeus, Handroanthus heptaphyllus, Handroanthus serratifolius, Tabebuia aurea, (Bignoniaceae), Passiflora setacea (Passifloraceae), Mauritia flexuosa (Arecaceae) and Vellozia squamata (Velloziaceae). After confirmation of identity by morphological comparisons, genomic DNA was extracted using the Wizard® Genomic DNA Purification kit. Nucleotide sequences from the ribosomal DNA region were obtained and compared to sequences of type specimens and species available from GenBank. In total, 28 isolates were obtained from 12 host plants belonging to eight botanical families. The isolates obtained belong to the Mycosphaerellaceae and are grouped into six distinct clades. This study confirms the report of Pseudocercospora piperis associated with Piper aduncum and Pseudocercopora rigidae associated to Palicourea rigida, with high phylogenetic support. tabebuiae-impetiginosae, epitypes Cercospora Passalora Pseudocercospora passiflorae-setaceae, P. cybistacis, P. tabebuiae-caraibae, and P. tabebuiae-ochraceae associated with Handroanthus heptaphyllus, serratifolius, Passiflora setacea, Cybistax antisyphilitica, Tabebuia aurea and Handroanthus ochraceus, respectively, were designated for the first time and three probable new species, two Pseudocercospora associated with Solanum sp. and Mauritia flexuosa, respectively and a Mycosphaerella associated with Vellozia squamata, will be proposed following the International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants. The specimens examined in this study represent a small fraction of the fungi reported in the Cerrado and demonstrate the need to carry out re-inventory of cercosporoid fungi to understand their phylogenetic relationship.

**Keywords:** Molecular phylogeny, fungi, Mycosphaerellaceae, DNA barcoding, taxonomy.

Guidance Committee- Dr. Danilo Batista Pinho- Universidade de Brasília (Advisor).

# INTRODUÇÃO

Os fungos comumente conhecidos como cercosporoides compõem um dos maiores grupos de microfungos existentes, compreendendo mais de 2000 espécies (Crous e Braun, 2003). Esses organismos são caracterizados por possuir células conidiogênicas blásticas e conídios septados, longos e finos. Os cercosporoides são capazes de infectar a maioria das espécies de plantas silvestres e cultivadas (Braun*et al.*, 2013). A maioria das infecções resultam em manchas foliares, mas também observam-se lesões em flores, frutos e sementes de espécies florestais, plantas ornamentais, hortaliças, cereais e gramíneas. Entre as principais doenças causadas por esses microrganismos encontram-se a mancha-angular do feijoeiro (*Pseudocercospora griseola* Sacc.), a mancha-púrpura da soja (*Cercospora kikuchii* Tak. Matsumoto & Tomoy), a mancha-de-cercospora em milho (*Cercospora zeae-maydis* Tehon & E. Y. Daniels), a mancha de olho pardo em cafeeiro (*C. coffeicola* Berk. & Cooke), a sigatoka negra (*P. fijiensis* Deighton) e a sigatoka amarela (*P. musae* Deighton) em bananeira (Braun *et al.*, 2013).

Esses fungos possuem uma ampla distribuição geográfica, podendo ser encontrados desde as zonas temperadas até os trópicos, porém a maior riqueza e abundância são encontradas em áreas tropicais e subtropicais da África, Ásia, Austrália, América Central e do Sul (Beilharz e Pascoe, 2002; Braun e Freire, 2004; Hernández-Gutiérrez e Dianese 2008; 2009).

No bioma Cerrado, os fungos cercosporoides representam um dos principais grupos encontrados (Braun, 1995; 1998), representando 9% das espécies de fungos associadas a plantas nativas do Cerrado (Hernández-Gutiérrez, 2000).

Agrupados inicialmente no complexo gênero *Cercospora* Fresen., foram desmembrados em gêneros menores, utilizando-se, inclusive, estudos de biologia molecular e,

desde então, a taxonomia deste grupo vem provando ser altamente contraditória e sofre alterações significativas (Crouse Braun, 2003).

Tradicionalmente, os pesquisadores baseavam-se, sobretudo na morfologia para identificação de fungos associados a plantas (Hyde e Alcorn, 1993), porém, o uso da morfologia na identificação nem sempre permitiu demonstrar o processo evolutivo de um indivíduo (Bakhshi, 2015).

Outro fator agravante é que na maioria dos estudos iniciais foram utilizadas estirpes de fungos que, em geral, não foram cuidadosamente referenciados (Ariyawansa *et al.*, 2014a). Muitos estudos obtiveram estirpes de coleções de culturas e essas estirpes foram comumente nomeadas sem nenhum material comprovante anexado, como as exsicatas, sendo impossível verificar suas características para garantir a correta identificação (Ariyawansa *et al.*, 2014b).

Descrições de espécies novas ou já conhecidas devem incluir todas as características encontradas *in vivo*, *in vitro* e em dados filogenéticos. Ainda é limitado o número de fungos cercosporoides que já foram cultivados e sequenciados, e centenas de taxa são conhecidos apenas a partir de caracteres *in vivo*. No entanto, todas as características têm de ser levadas em consideração para fins taxonômicos e estão sujeitas às regras do Código Internacional de Nomenclatura Botânica (McNeill *et al.*, 2012), incluindo o artigo 11, que lida com a prioridade de nomes, onde a fase anamófica e teleomófica dos fungos passam a possui o mesmo nome, preferencialmente.

Nas últimas décadas, um enorme progresso taxonômico ocorreu através do aumento da aplicação de métodos moleculares na identificação e classificação de fungos, incluindo membros da família Mycosphaerellaceae (Crous *et al.*, 2013; Groenewald *et al.*, 2013; Bakhshi *et al.*, 2014; Nguanhom *et al.*, 2015; Guatimosim *et al.*, 2016). Análises de culturas e sequências de nucleotídeos têm sido utilizadas para fins taxonômicos deste grupo de fungos sempre que possível.

A aplicação de técnicas moleculares gerou novas informações que estão auxiliando no entendimento das relações filogenéticas, levando a uma reestruturação do sistema de classificação deste grupo de fungos com rearranjos, fusão de gêneros e reconhecimento de novos gêneros. Por outro lado, os sintomas e características morfológicas ainda são importantes no diagnóstico de fungos cercosporoides, especialmente para fins de monitoramento e identificação de rotina dos fungos de interesse. (Silva *et al.*, 2016).

Designar um epitipo para interpretar um material tipo, que não pôde ser atribuído com confiança ao material moderno, juntamente a disponibilização de dados moleculares, culturas fúngicas e sua descrição detalhada configuram como meios para corrigir a denominação incerta de diversos fungos e assim estabilizar a interpretação das espécies, gêneros, famílias ou ordens (Ariyawansa *et al.*, 2014b). Diante disso, Cai *et al.* (2011) e Liu *et al.* (2016) ressaltam a importância de recoletar muitos desses patógenos em complexos de espécies (como *C. apii sensu* Crous e Braun, 2003) e re-identificá-los com base em protocolos modernos e conceitos de espécie atualizados.

Com base em critérios de taxonomia clássica várias espécies de cercosporoides foram descritos no Brasil nos últimos 19 anos (Furlanetto e Dianese, 1999; Braun *et al.*, 1999; Braun e Freire, 2004; Pereira e Barreto, 2005; Silva e Pereira, 2007; Rocha *et al.*, 2008; Soares e Barreto, 2008; Silva *et al.*, 2012; Firmino *et al.*, 2013; Parreira *et al.*, 2014; Hernández-Gutiérrez e Dianese 2008; 2009; Hernández-Gutiérrez *et al.*, 2014; 2015; Guatimosim *et al.*, 2016; Braun e Freire, 2003; Silva *et al.*, 2016; Nakashima *et al.*, 2016), porém poucos estudos incluíram dados de sequenciamento e filogenia.

Devido a maioria das espécies de fungos cercosporoides associados a plantas do Cerrado serem descritas exclusivamente por meio de características morfológicas, o objetivo principal desse trabalho é compreender o relacionamento filogenético desses microorganismos. Adicionalmente, os objetivos específicos são: (i) recoletar os fungos

cercosporoides descritos em associação comas plantas do Cerrado; (ii) epitipificar as espécies conhecidas; (iii) descrever novas espécies; (iv) e registrarnovas associações e/ou distribuição geográfica.

#### REVISÃO DE LITERATURA

#### 1.1 Bioma Cerrado

Até o momento, segundo o Ministério do Meio Ambiente são reconhecidos seis biomas no Brasil: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Araújo, 2017). O Cerrado abrange os estados do MG, MS, RO, GO, TO, MA, PI, BA, MG, SP e o DF (Silva *et al.*, 2008), constituindo a segunda maior formação vegetal brasileira e ocupando uma área de aproximadamente 24% do território nacional, extensão superada apenas pela Amazônia (Scariot *et al.*, 2005).

A alta variação fisionômica do bioma Cerrado levou aoreconhecimento de um complexo de biomas, e sua classificação em cerrado *sensu lato*, subdividido entre os biomas campo tropical (campo limpo), savana (campo sujo, campo cerrado e cerrado *sensu stricto*) e floresta estacional (cerradão) (Batalha, 2011).

Características como a presença de solos profundos, ácidos, de baixa fertilidade e ricos em alumínio são comuns ao bioma Cerrado *sensu lato*. Em sua grande parte, apresenta duas estações bem definidas: uma chuvosa, que se inicia entre os meses de setembro e outubro e se estende até os meses de março e abril, e seca entre abril e setembro (Klink e Machado, 2005).

Esse bioma possui vegetação bastante diversa, com mais de 12.000 espécies de plantas, distribuídas em 170 famílias. As famílias Fabaceae, Asteraceae, Orchidaceae, Poaceae, Rubiaceae, Myrtaceae, Malpighiaceae, Lythraceae, Euphorbiaceae e Melastomataceae estão entre as principais encontradas no Cerrado e representam cerca de 50% de sua riqueza florística. Além disso, 1/3 das espécies de seres vivos relatados no Brasil são encontrados no Cerrado, que abriga aproximadamente 320.000 espécies conhecidas incluindo fungos, vírus, bactérias, algas, plantas e animais (Sano *et al.*, 2008).

Considerado um *hotspot*, ou seja, um ponto quente para a conservação da biodiversidade no mundo, o Cerrado também é um dos biomas mais ameaçados devido à

tendência de ocupações, que têm causado uma perda anual de 2,2 milhões de hectares de áreas nativas (Myers *et al.*, 2000; Machado *et al.*,2004).

Estudos voltados para as plantas do Cerrado ainda são necessários, assim como para a diversidade micológica a elas associada, sobretudo diante de sua diversidade e área ocupada. Estima-se em 48,89% a perda causada pelo desmatamento e somente 8,1% destas áreas são protegidas em Unidades de Conservação (MMA, 2018).

Estimativas feitas por Hawksworth (1991), sugerem que exista um total de 1,5 milhão de espécies fúngicas, mas tem sido proposto o número de até 5,1 milhão de espécies especialmente (Blackwell, 2011). Estudos exaustivos, nos trópicos, são de extrema importância para melhorar a eficácia dessas estimativas. Em trabalhos mais recentes sugeriu-se que o número estimado de fungos seja mantido como pelo menos 1,5 milhões, podendo chegar ao dobro, ou seja, 3 milhões (Hawksworth, 2012), o que equivale à aproximadamente seis espécies fúngicas encontradas em cada planta vascular, dessa forma, espera-se encontrar entre 70.000 a 100.000 espécies fúngicas no Cerrado. Porém, estudos realizados por Chaves (1998) e Dornelo-Silva (1999) diferem dessa estimativa, onde foi encontrado um número maior de fungos associados a plantas nesse bioma. Atualmente são conhecidas menos de 1000 espécies coletadas e descritas no Cerrado (Zambrano, 2016), entre elas os fungos cercosporoides.

#### 1.2 Fungos cercosporoides

A etimologia do nome cercosporoides é derivada dos termos gregos "kerkos" (cauda) e "sporos" (esporos), significando fungos com conídios filiformes (Dornelo-Silva, 2014). Esses fungos produzem, geralmente, esporos longos e finos, chamados de esporos filiformes ou escolecosporos, sendo normalmente formados sobre um tecido fúngico estromático (Chupp, 1954).

Pertencentes a classe Dothideomycetes e ordem Capnodiales, os fungos cercosporoides se encontram, principalmente, na família Mycosphaerellaceae, que engloba 213 gêneros (Mycobank, 2018).

Fungos cercosporoides englobam diversos gêneros de formas assexuais, tendo como correspondente fase sexuada formas ascosporogênicas que eram tradicionalmente classificadas no gênero *Mycosphaerella* e relacionados (Crous e Braun 2003).

Inicialmente, a forma sexuada dos fungos cercosporoides era conhecida como *Mycosphaerella* (Crous e Braun, 2003), mas recentemente, com a nova abordagem de "um fungo, um nome" definida pelo código de nomenclatura de fungos isso foi alterado.

Com a abolição do Artigo 59 do Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Fungos e Plantas (ICN), um único nome genérico vem sendo usado para fases sexuadas e assexuadas de fungos (Hawksworth *et al.*, 2011; Wingfield *et al.*, 2012; Crous *et al.*, 2015). *Mycosphaerella* foi reconhecido como um nome que deve ser aplicado apenas a táxons que possuam o gênero *Ramularia* na fase assexuada, sendo o nome *Mycosphaerella* agora considerado sinônimo facultativo de *Ramularia*. Para qualquer outro taxon de família a gênero, o nome correto é o mais antigo legítimo com o mesmo grau, exceto em casos de limitação de prioridade por conservação (Hawksworth *et al.*, 2011).

Esses fungos formam ascomas imersos no tecido do hospedeiro na forma de pseudotécios (corpo de frutificação), no interior dos quais é possível observar a formação de ascas bitunicadas, ascósporos didimosporos e hialinos, além disso, podem ser observadas lesões tanto na face adaxial quanto abaxial (Chupp, 1954).

A dispersão desses fungos é favorecida pela sua esporulação intensa, o que os torna fungos de grande importância fitopatogênica. Algumas doenças bastante conhecidas na agricultura mundial são causadas por fungos cercosporoides, como a Sigatoka-amarela (*Pseudocercospora musae* Zimm.) e negra (*P. fijiensis* Zimm.) em bananeira, assim como a

cercosporiose do cafeeiro (*Cercospora coffeicola* Berk. e Cooke), mancha-angular do feijoeiro (*P. griseola* Sacc.), cercosporiose do milho (*Cercospora zeae-maydis* Tehon e E.Y. Daniels) e mancha-púrpura da soja (*C. kikuchii* Matsumoto e Tomoy) (Kimati*et al.*, 2005).

Inicialmente, os gêneros classificados dentro do grupo de fungos cercosporoides eram distinguidos de acordo com as características dos conídios e conidióforos, principalmente. Entre os vinte e um gêneros de fungos cercosporoides fitopatogênicos relatados, destacam-se os gêneros *Cercospora*, *Pseudocercospora*, *Passalora*, *Stenella* e *Zasmidium*. O gênero *Cercospora* possui características relevantes na distinção de gêneros, como uma cicatriz conspícua na célula conidiogênica e no conídio, que se apresenta hialino (Fuckel, 1863). Já o gênero *Pseudocercospora* não possui cicatriz evidente (*in conspicua*) e, além disso, seus conídios são pigmentados (Spegazzini, 1910). Em *Passalora* ocorre a presença de cicatriz conspícua na célula conidiogênica e no conídio, porém ele se diferencia de *Cercospora* por possuir conídios pigmentados (Fries, 1849a).

Inicialmente, todos os cercosporoides que tinham o micélio verruculoso eram classificados no gênero *Stenella* (Crous e Braun, 2003), mas com a inclusão de dados moleculares viu-se que na realidade as espécies de *Stenella* agrupavam em duas famílias diferentes (Mycosphaerellaceae e Teratosphaeriaceae). Desde então, membros do gênero que agruparam na família Teratosphaeriaceae permaneceram com no gênero *Stenella*, e os que agruparam na família Mycosphaerelaceae foram classificados em um novo gênero chamado *Zasmidium* (Braun *et al.*, 2010). A partir daí descobriu-se um marcador morfológico para diferenciar espécies de *Stenella* e *Zasmimidium*, onde o primeiro gênero citado possui a célula conidiogênica em forma simpodial (zigue-e-zague), e o segundo possui a cicatriz da célula conidiogênica achatada (Braun *et al.*, 2010).

Atualmente, são descritas 125 espécies desse grupo de fungos associados a plantas no Cerrado, totalizando 25 famílias botânicas. Diversos trabalhos descrevem essas espécies, porém, essas descrições basearam-se predominantemente em características morfológicas.

#### 1.3 Epitipificação e taxonomia de fungos cercosporoides

Nos últimos anos, diversos autores vêm mostrando as limitações que existem em se classificar organismos apenas com base em dados morfológicos. No ano 2000, quando se iniciaram os estudos moleculares desses organismos, Crous e colaboradores observaram que um grupo de fungos cercosporoides era monofilético, se agrupando em um único clado, o que demonstrava sua ancestralidade, porém, a única região gênica utilizada foi a ITS e a quantidade de taxas representativos presentes no trabalho era pequena (Crous *et al.*, 2000).

Posteriormente, em 2007, os mesmos autores fizeram uma amostragem maior desse grupo com diferentes regiões gênicas (LSU, SSU e ITS), onde verificaram que esses organismos eram polifiléticos, dado o agrupamento dos isolados em clados distintos (Crous *et al.*, 2007).

Outro problema encontrado na identificação desses fungos é a confusão gerada durante a distinção de características morfológicas, como ocorreu com a cercosporiose em Lúpulu (*Humulus lupulus*), utilizado na fabricação de cerveja, em que o agente causal da doença foi erroneamente identificado como *Cercospora* quando, de acordo com sua morfologia, se tratava de *Pseudocercospora* (Radisek *et al.*, 2008).

O arranjo de conidióforos era tido como uma das características diferenciadoras de gêneros, o que levou a classificação do agente causal da mancha angular do feijoeiro como *Phaeoisariopsis*, diante da sua formação de conidióforos agrupados na forma de sinêmios. Porém, a partir de dados moleculares, constatou-se que essa característica não separava gêneros. Desde então, *Phaeoisariopsis* passou a ser chamado de *Pseudocercospora griseola*,

pois filogenéticamente se agrupava junto a *Pseudocercospora* vitis, espécie tipo do gênero (Crous *et al.*, 2006).

Outras observações feitas a partir de dados moleculares foram que espécies de *Pseudocercospora* possuíam arranjos de conidióforos diferentes e até mesmo isolados, além disso, espécies identificadas morfologicamente como *Passalora* e *Stenella* eram agrupadas em clados distintos de uma mesma árvore filogenética, indicando que a morfologia não correspondia à história evolutiva desses organismos (Crous *et al.*, 2001).

Trabalhos recentes mostram essas incoerências, como o realizado por Bakhshi *et al.* (2015), onde foi observado que fungos com características de *Cercospora*, como conídios hialinos e cicatriz proeminente, após serem analisados filogeneticamente formaram um clado separado das espécies de *Cercospora*, levando os autores a propor um novo gênero chamado *Neocercospora*. Também foi observado por Crous *et al.* (2009) que diversos fungos com morfologia semelhante se agrupavam em diferentes clados, entre eles espécies de *Pseudocercospora*.

Devido à importância das informações morfológicas associadas a dados moleculares, vem ocorrrendo uma tendência a realização da epitipificação de espécies fúngicas. De forma geral, a epitipificação é importante na identificação completa de um organismo. Para tanto, é preciso encontrar o fungo de interesse na mesma região geográfica, na mesma hospedeira, expressando os mesmos sintomas e possuindo as mesmas características morfológicas para propor um epitipo (Ariyawansa *et al.*, 2014).

Existem trabalhos confirmando a importância que há em recoletar espécies de fitopatógenos para uma identificação mais robusta desses organismos, já que muitos estudos basearam-se apenas na morfologia pra fazer a classificação de fungos fitopatogênicos (Cai *et al.*, 2011).

Até 2008, o DNA de espécies eucariotos era pouco usado para fazer diagnose de doenças, mas essa prática vem sofrendo um aumento exponencial, inclusive para fungos (Renner, 2016). Um levantamento feito no período de 2010 à 2015, mostra que ocorreu um aumento no uso de sequências de DNA para fazer a descrição de espécies fúngicas, e em 2015 cerca de 60% das novas espécies de fungos foram descritas com base em sua sequência de DNA (Hibbett *et al.*, 2016).

#### 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Coleta e processamento das amostras

No ano de 2017, plantas apresentando sintomas de manchas foliares ocasionadas por fungos cercosporoides foram coletados em locais com vegetaçãotípica do bioma Cerradono Distrito Federal. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e levadas para a Coleção Micológica da Universidade de Brasília.

Folhas foram examinadas sob microscópio estereoscópico para preparo de laminas semipermanentes pelo método de pescagem direta utilizando o fixadorlactoglicerol à lâmina microscópica que foi vedada com esmalte incolor, para observação e identificação prévia do grupo.

#### 2.2 Estudo taxonômico e herborização

A identidade do patógeno foi baseada no estudo da morfologia e morfometria de estruturas somáticas e reprodutivas. Os espécimescontidos em lâminas semipermanentes foram examinadas sob microscópio de luz, para visualização, caracterização e registro de características microscópicas. A identificação foi realizada por meio de comparações de características morfológicas das espécies encontradas com as apresentadas em descrições e chavesde identificação (Crous e Braun, 2003; Chupp, 1954; Aptroot, 2006). Após a confirmação das espécies, as estruturas somáticas e reprodutivas foram descritas e incorporadas ao herbário da coleção micológica da Universidade de Brasília.

#### 2.3 Isolamento e armazenamento dos isolados

O isolamento foi realizado pelo método direto (Alfenas *et al.*, 2007), transferindo-se com o auxílio de um estilete esterilizadosobum microscópio estereoscópico, conidióforos e conídios dos espécimes para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). As placas foram incubadas à 25°C.

A pureza genética foi obtida pela repicagem monohifal de cada isolado por meio da remoção de uma pequena porção da extensão marginal de uma hifa individual e transferência para uma nova placa de Petri contendo meio BDA (Alfenas *et al.*, 2007).

Após 15 dias de incubação, as placas repicadas que permaneceram em temperatura ambiente, formadas por culturas monohifais foram identificadas por meio da observação de estruturas somáticas e reprodutivas em microscópio de luz. Os isolados identificados como gêneros de fungos cercosporoides foram depositados na coleção de culturas da Universidade de Brasília e armazenados através de discos contendo micélio, que foram cultivados a partir de placas matrizes durante um período de 15 dias, em seguida recortados em discos de 6 mm de diâmetro sendo transferidos para microtubos contendo 1 mL de água destilada e esterilizada (Método Castellani).

Armazenamento em glicerol: Os isolados foram cultivados em BDA durante 15 dias e em seguida, cinco discos miceliais de 6 mm de diâmetro foram transferidos para microtubos de 2 mL contendo 1 mL de glicerol a 10% autoclavado. [glicerol foi esterilizado? Autoclavado? Deixar claro]

Armazenamento em óleo mineral: Os isolados foram cultivados durante 5 dias em frascos tubos com tampa de 5 mL contendo meio BDA inclinado. Em seguida as colônias forammergulhadas em 1,5 mL de óleo mineral esterilizado e guardadas à  $\pm$  18 °C.

#### 2.4 Extração do DNA genômico

Para a caracterizaçãomolecular, os isolados foram cultivados em meio BDA coberto com papel celofane por três semanas à 25°C. Após o crescimento das colônias, o micélio foi removido com auxílio de um palito de madeira esterilizado e transferido para microtubos de 1,5 mL contendo 30 µL de tampão Tris-EDTA (TE). A extração de DNA genômico foi realizada utilizando o Kit de purificação de DNA genômico da Promega (Wizard Genomic

DNA Purification Kit) conforme Pinho *et al.* (2012). As amostras foram armazenadas à -20°C para posterior utilização.

#### 2.5 Amplificação e purificação do DNA

Para cada reação de PCR foram utilizados 6,25  $\mu$ L de MyTaq, 2,35  $\mu$ L de água ultrapura, 2,0  $\mu$ L de BSA, 0,3  $\mu$ L de DMSO, 0,3  $\mu$ L de cada iniciador (senso e anti-senso) e 1,0  $\mu$ L de DNA genômico, totalizando um volume final de 12,5  $\mu$ L.

A combinação dos inciadores V9G (5' TTACGTCCCTGCCCTTTGTA 3') (Hoog e Ende, 1998) e LR5 (5' ACCCGCTGAACTTAAGC 3') (Vilgalys e Hester, 1990) foi utilizada para amplificar uma região parcial do rDNA, utilizando uma desnaturação inicial à 95 °C por 1,5', seguida de 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 20'', anelamento a 53 °C por 45''e extensão a 72 °C por 45'', além de uma extensão final de 72 °C por 5'. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose a 1%. Os amplicons foram purificados e sequenciados pela Macrogen® Inc., Coréia do Sul (http://www.macrogen.com).

#### 2.6 Análises filogenéticas

As sequências de nucleotídeos foram editadas com o software DNA Dragon, sendocorrigidas manualmente e o arranjo dos nucleotídeos em posições ambíguas foram reparados utilizando as sequênciasno sentido 5'-3' e 3'-5'.

Os isolados foram previamente identificados pela comparação das sequências da região do espaçador interno transcrito (ITS) obtidas em relação com as sequências disponíveis no GenBank. Após a identificação inicial, sequências adicionais foram selecionadas a partir de Videira *et al.* (2016), e posteriormente obtidas no GenBank (Tabela 1) para inferir a árvore filogenética.

As sequências foram alinhadas utilizando o software MUSCLE (Edgar, 2004), implementado no programa MEGA® 6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Tamura

et al.,2011). Foi realizada a análise de Inferência Bayesiana (IB) empregando o método da Cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC). O programa MrMODELTEST® 2.3 (Posada e Buckley, 2004) foi utilizado para selecionar o modelo de substituição de nucleotídeos para análise de IB.

Os valores de verossimilhança foram calculados e o modelo foi selecionado de acordo com o Akaike Information Criterion (AIC). A análise de IB foi concluída com MrBayes<sup>®</sup> ver. 3.1.2 (Rannalae Yang, 1996; Mau*et al.*,1999; Ronquiste Huelsenbeck, 2003).

As árvores iniciaram aleatoriamente até 10.000.000 de gerações e foram amostradas a cada 1.000 gerações, resultando em 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram descartadas da análise. Os valores de probabilidade posterior (Rannala e Yang, 1996) foram determinados da árvore consenso através das 7.500 árvores remanescentes. A árvore foi visualizada no software FigTree® (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/) e exportada para programas gráficos. A espécie *Cladosporium cladosporioides* foi utilizada como grupo externo.

Tabela 1. Códigos de acesso das sequências no GenBank e informações das espécies utilizadas na análise filogenética.

ESPÉCIE	Isolado	Hospedeira	Família	ITS
Acrodontium	CBS 144.33	-	-	MF951410
Batcheloromyces sedgefieldii	CBS 112119	Protea repens	Proteaceae	EU707893
Batcheloromyces proteae	CBS 110696	Protea cynaroides	Proteaceae	JF746163
Cercospora apii*	CBS 116455	Apium graveolens	Apiaceae	AY840519
Cercospora armoraciae	CBS 538.71	Berteroa incana	Brassicaceae	JX143547
Cercospora beticola	CPC 18813	Beta vulgaris	Amaranthaceae	JX143556
Cercospora campi-silii	CBS 132625	Impatiens noli-tangere	Balsaminaceae	JX143561
Cercospora capsici	CBS 132622	Capsicum annuum	Solanaceae	X143568
Cercospora cf. chenopodii	CBS 126.29	-	-	MF951299
Cercospora cf. chenopodii	CBS 256.67	Atriplex hortensis	Amaranthaceae	MF951300
Cercospora cf. chenopodii	CBS 543.71	Atriplex hortensis	Amaranthaceae	MF951301
Cercospora cf. chenopodii	CBS 123192	Chenopodium album	Amaranthaceae	MF951298
Cercospora cf. chenopodii	CPC 10303	Chenopodium ficifolium	Amaranthaceae	MF951297
Cercospora cf. chenopodii	CPC 12450	Chenopodium ficifolium	Amaranthaceae	JX143574
Cercospora cf. flagellaris	MUCC 831	Phytolacca decandra	Phytolaccaceae	JX143614.1
Cercospora cf. malloti	CPC 24845	Mallotus japonicus	Euphorbiaceae	KT193692.1
Cercospora cladosporioides	CBS 112388	-	-	HM148003
Cercospora dubia strain	CPC 15600	Atriplex hastata	Amaranthaceae	KX287277.1
Cercospora euphorbiae-sieboldianae	CBS 113306	Euphorbia sieboldiana	Euphorbiaceae	JX143593
Cercospora fagopyri	CBS 132623	Fagopyrum esculentum	Polygonaceae	JX143594

Tabela 1. Continuação.

Cercospora lactucae-sativae	CPC 10082	Ixeris chinensis subsp. strigosa	Asteraceae	JX143622
Cercospora sojina	CBS 220.31	-	-	KX287279
Cercospora sojina	CBS 132018	Glycine soja	Fabaceae	GU214655
Cercospora sojina	CBS 132615	Glycine soja	Fabaceae	JX143659
Cercospora sojina	CPC 11422	Glycine soja	Fabaceae	KX287280
Cercospora sp.	CBS 544.71	Solanum dulcamara	Solanaceae	MF951302
Cladosporium cladosporiodes	CBS 112388	-	-	NR119839.1
Filiella pastinacae	CBS 114116	-	-	KF251328
Mycosphaerellaendophytica	CBS 111519	Eucalyptus grandis	Myrtaceae	DQ267579.1
Mycosphaerellascytalidii	CBS 516.93	Eucalyptus urophylla	Myrtaceae	DQ303014.1
Mycosphaerellastromatosa	CBS 101953	Protea sp.	Proteaceae	NR137690.1
Neopenidiella nectandrae	CBS 734.87	Nectandra coriacea	Lauraceae	MF951335
Nothopericoniella perseamacranthae	CBS 122097	Machilus zihoensis	Lauraceae	MF951354
Nothopericoniella perseamacranthae	CBS 122282	-	Lauraceae	MF951355
Nothophaeocryptopus gaeumannii	CBS 244.38	-	-	MF951336
Nothophaeocryptopus gaeumannii	CBS 267.37	Pseudotsuga menziesii	Pinaceae	EU700365
Pallidocercospora acaciigena	CBS 112515	Acacia mangium	Fabaceae	KF901805
Pallidocercospora crystallina	CBS 111045	Eucalyptus grandis	Myrtaceae	KF901704
Pallidocercospora crystallina	CPC 14140	Eucalyptus sp.	Myrtaceae	MF951340
Pallidocercospora heimii	CBS 110682	Eucalyptus sp.	Myrtaceae	KF901671
Pallidocercospora heimii	CPC 11716	-	-	KF901612

Tabela 1. Continuação.

Pallidocercospora heimioides	CBS 111190	Eucalyptus sp.	Myrtaceae	KF901659
Pallidocercospora irregulariramosa	CBS 111211	Eucalyptus saligna	Myrtaceae	KX287297
Pallidocercospora konae	CBS 111028	-	-	KF901798
Parapallidocercospora colombiensis	CBS 110968	Eucalyptus urophylla	Myrtaceae	AY752148
Parapallidocercospora thailandica	CBS 120723	Eucalyptus calmadulensis	Myrtaceae	MF951353
Parapenidiella pseudotasmaniensis	CBS 124991	Eucalyptus globulus	Myrtaceae	KF901522
Parapenidiella tasmaniensis	CBS 111687	Eucalyptus nitens	Myrtaceae	KF901521
Passalora brachycarpa	CBS 115124	Solanum lycocarpum	Solanaceae	GU214664.1
Passalora eucalypti	CBS 111306	Eucalyptus saligna	Myrtaceae	GU269845
Passalora leptophlebiae	CBS 129524	Eucalyptus leptophleba	Myrtaceae	MF951310
Passalora loranthi	CBS 122465	Musa sp.	Musaceae	EU514279.1
Passalora sequoiae	CPC 11258	Sequoiadendron giganteum	Cupressaceae	GU214667.1
Passalora smilacis	CBS 556.71	Smilax sp.	Smilacaceae	KJ633269.1
Pleuropassalora armatae	CBS 125420	Dalbergia armata	Fabaceae	GU214640
Pseudocercospora airliensis	BRIP 58550	Polyalthia nitidissima	Annonaceae	NR147281.1
Pseudocercospora atromarginalis	CBS 114640	Solanum sp.	Solanaceae	GU269658
Pseudocercospora atromarginalis	CPC 11372	Solanum nigrum	Solanaceae	GU269657
Pseudocercospora catalpigena	MUCC 743	Catalpa ovata	Bignoniaceae	GU269690
Pseudocercospora catappae	MAFF 238312	Terminalia catappa	Combretaceae	MF951366
Pseudocercospora chengtuensis	CPC 10696	Lycium chinense	Solanaceae	GU269673
Pseudocercospora convoluta	CBS 113377	Chromolaena odorata	Asteraceae	DQ676519

Tabela 1. Continuação.

Pseudocercospora dingleyae	CBS 114645	Haloragis erecta	Haloragaceae	KX287299
Pseudocercospora eucalyptorum	CBS 114866	Eucalyptus nitens	Myrtaceae	KF901720
Pseudocercospora flavomarginata	CBS 124990	Eucalyptus camaldulensis	Myrtaceae	GU269799
Pseudocercospora fori	CBS 113286	Eucalyptus sp.	Myrtaceae	KF901721
Pseudocercospora fuligena	MUCC 533	Lycopersicon esculentum	Solanaceae	GU269712
Pseudocercospora fuligena	CPC 12296	Lycopersicon sp.	Solanaceae	GU269711
Pseudocercospora macadamiae	CBS 133432	Macadamia integrifolia	Proteaceae	KX287300
Pseudocercospora metrosideri	CBS 114294	Metrosideros excelsa	Myrtaceae	KX287301
Pseudocercospora nodosa	CBS 554.71	Psoralea bituminosa	Fabaceae	MF951367
Pseudocercospora norchiensis	CBS 120738	Eucalyptus sp.	Myrtaceae	GU269753
Pseudocercospora paederiae	CPC 10007	Paederia foetida	Rubiaceae	GU269757
Pseudocercospora pallida	CPC 10776	Campsis grandiflora	Bignoniaceae	GU269758
Pseudocercospora paranaensis	CPC 24680	Cyathea atrovirens	Cyatheaceae	NR147289.1
Pseudocercospora piperis	VIC 31889	Piper aduncum	Piperaceae	JX875062.1
Pseudocercospora pistacina	CPC 23118	Pistacia vera	Anacardiaceae	KF442647
Pseudocercospora prunicula	CPC 14511	Prunus x yedoensis	Rosaceae	GU269676
Pseudocercospora punctata	CBS 132116	Syzygium sp.	Myrtaceae	GU269765
Pseudocercospora rhapisicola	CBS 282.66	-	-	GU269770
Pseudocercospora rigidae	CPC 25175	Palicourea sp.	Rubiaceae	KT313489.1
Pseudocercospora robusta	CBS 111175	Eucalyptus robusta	Myrtaceae	DQ303081
Pseudocercospora sambucigena	CBS 126000	Sambucus nigra	Adoxaceae	GU269805

Tabela 1. Continuação.

Pseudocercospora sordida	MUCC 913	Campsis radicans	Bignoniaceae	GU269777
Pseudocercospora sp. A	CBS 277.39	Robinia pseudoacacia	Fabaceae	MF951369
Pseudocercospora sp. B	CBS 500.92	Bauhinia cumanensis	Fabaceae	MF951371
Pseudocercospora sp. D	CBS 113386	Chromolaena odorata	Asteraceae	DQ676532
Pseudocercospora sp. E	CPC 19537	Eichhornia azurea	Pontederiaceae	KX287304
Pseudocercospora vitis*	CBS 132012	Vitis vinifera	Vitaceae	GU269829
Readeriella nontingens	CPC 14444	Eucalyptus oblonga	Myrtaceae	GQ852786
Scolecostigmina mangiferae	CBS 125467	Mangifera indica	Anacardiaceae	GU269870
Septoria protearum	CBS 135477	Zantedeschia aethiopica	Araceae	KF251524
Septoria sp. A	CBS 135472	Vigna unguiculata	Fabaceae	KF251558
Septoria sp. C	CBS 135479	Syzygium cordatum	Myrtaceae	KF251561
Sonderhenia eucalypticola	CBS 112502	Eucalyptus sp.	Myrtaceae	KF901677
Sonderhenia eucalyptorum	CBS 120220	Eucalyptus coccifera	Myrtaceae	DQ923536
Stenella araguata	CBS 105.75	-	-	EU019250
Teratosphaeria stellenboschiana	CBS 125215	Eucalyptus punctata	Myrtaceae	KF901733
Trochophora fasciculata	CBS 124744	Daphniphyllum macropodum	Daphniphyllaceae	GU269872
Zasmidium elaeocarpi	CBS 142187	Elaeocarpus kirtonii	Elaeocarpaceae	MF951398
Zasmidium elaeocarpi	CPC 16640	Elaeocarpus kirtonii	Elaeocarpaceae	MF951399
Zasmidium gupoyu	CBS 122099	Alocasia odora	Araceae	MF951401
Zasmidium iteae	CBS 113094	Itea parvifolia	Iteaceae	MF951405
Zasmidium queenslandicum	CBS 122475	Musa banksii	Musaceae	EU514295

 Tabela 1. Continuação.

Zasmidium schini	CBS 142188	Schinus terebinthifolius	Anacardiaceae	MF951408
Zasmidium strelitziae	CBS 121711	Strelitzia sp.	Strelitziaceae	EU041803

<sup>\*</sup> Espécime - tipo

#### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Local de coleta e informações dos espécimes coletados

Tecidos de plantas com sintomas típicos de doenças causadas por fungos cercosporoides foram coletados em áreas do Distrito Federal com vegetação típica do Cerrado (Figura 1).

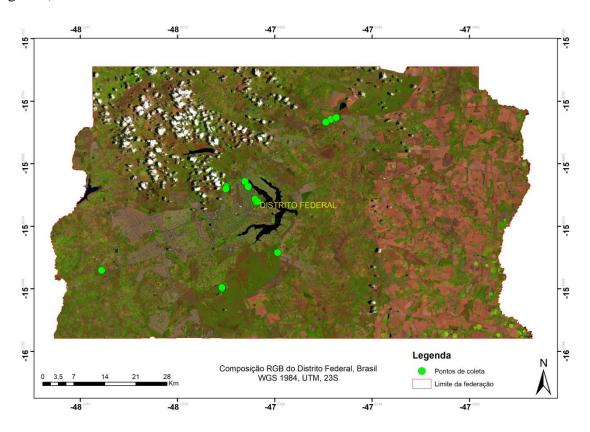


Figura 1.Localização geográfica das áreas amostradas no Distrito Federal.

Um total de 28 espécimes de fungos cercosporoides foram coletados a partir de tecidos foliares de doze plantas hospedeiras pertencentes a oito famílias botânicas: *Piper aduncum* (Piperaceae), *Solanum* sp. (Solanceae), *Palicourea rigida* (Rubiaceae), *Smilax japecanga* (Smilacaceae), *Cybistax antisyphilitica*, *Handroanthus ochraceus*, *H. heptaphyllus*, *Handroanthus serratifolius*, *Tabebuia aurea*, (Bignoniaceae), *Passiflora setacea* (Passifloraceae), *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) e *Vellozia squamata* (Velloziaceae). As

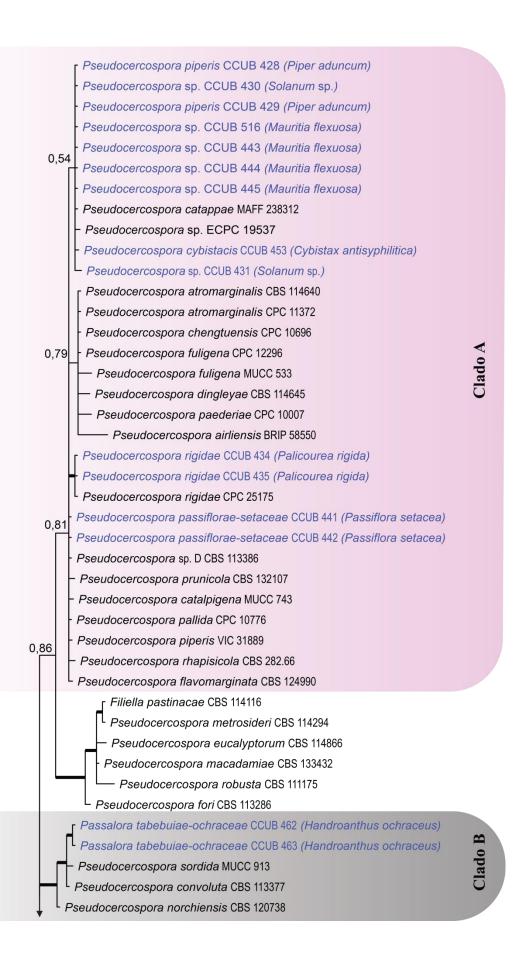
espécies fúngicas associadas com essas hospedeiras foram identificadas como Pseudocercospora (n=7), Passalora (n=3), Cercospora (n=1) e Mycosphaerella (n=1).

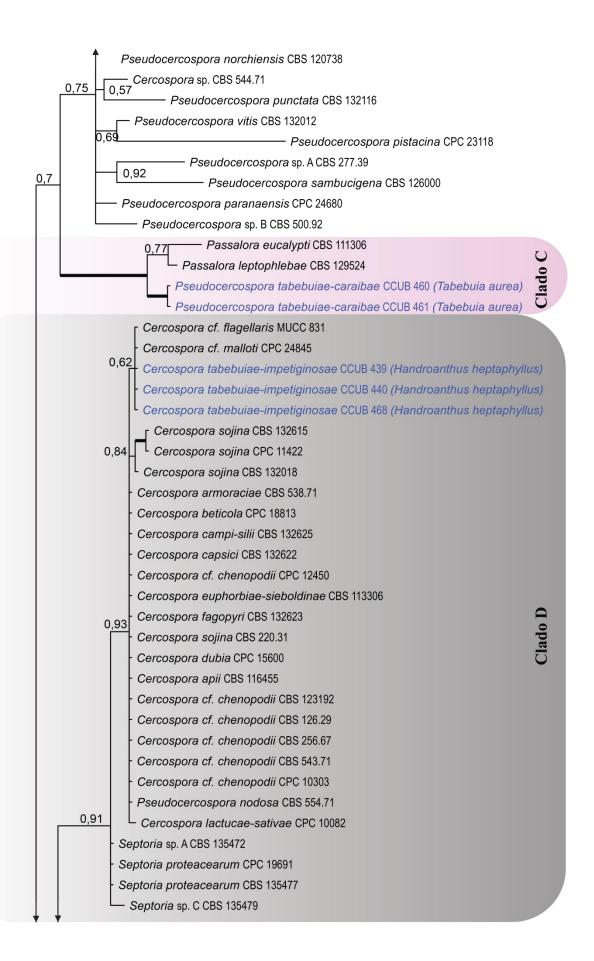
# 3.2 Análise filogenética

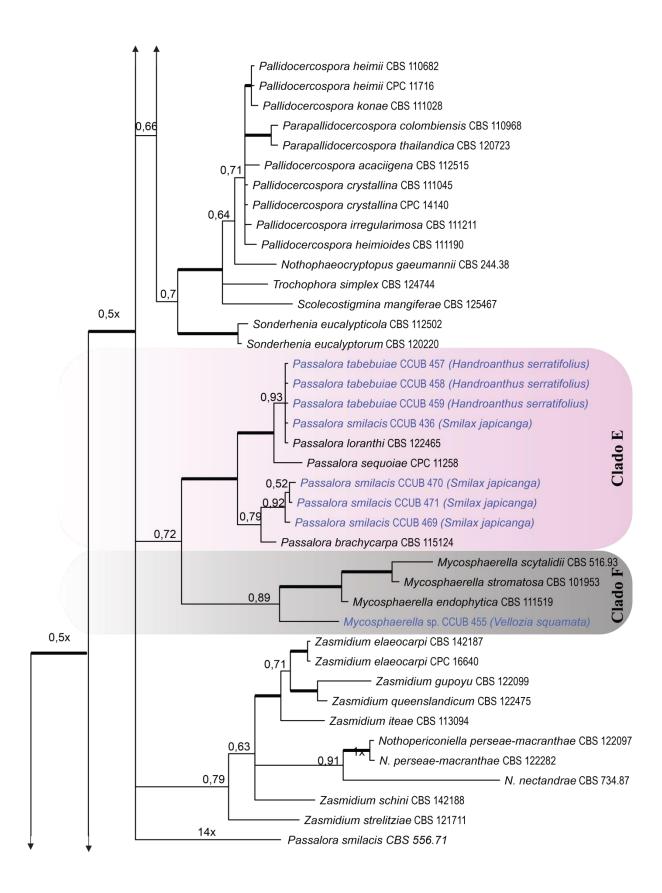
Sequências da região do espaçador interno transcrito (ITS) (Tabela 1) foram utilizadas nas análises filogenéticas por Inferência Bayesiana. O alinhamento compreende 134 taxa, dos quais 28 foram obtidos nesse estudo e 106 foram baixados do GenBank. O alinhamento incluindo inserções e/ou deleções consistiuem 1200 pb, contendo 356 sítios conservados, 509 sítios variáveis e 244 sítios informativos para parcimônia. O modelo de substituição de nucleotídeos selecionadopara a análise de Inferência Bayesiana foi o GTR+I+G.

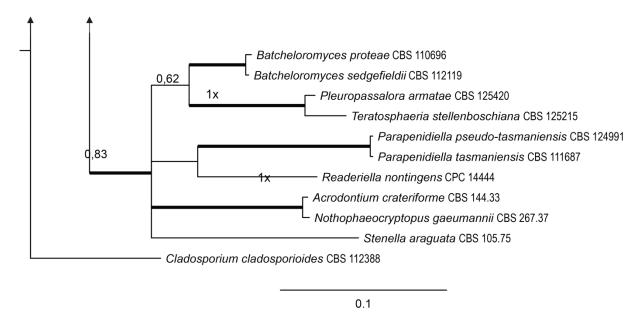
A árvore filogenética obtida por comparações de sequências da região ITS confirmou os resultados da caracterização morfológica, onde todos os espécimes obtidos nesse estudo foram identificados como membros da família Mycosphaerellaceae (Figura 2). As espécies de *Pseudocercospora*, *Cercospora*, *Passalora* e *Mycosphaerella* foram distribuídas em seis clados distintos. Para facilitar a compreensão dos resultados, os grupos filogenéticos foram informalmente designados de clados A, B, C, D, E e F.

A maioria das espécies morfologicamente identificadas como *Pseudocercospora* agruparam no Clado A com outras espécies do gênero. Adicionalmente, alguns espécimes com características de *Passalora* agruparam com as espécies de *Pseudocercospora* contidas no Clado B. No entanto, alguns espécimes com características de *Pseudocercospora* agruparam com espécies de *Passalora* no Clado C. Os clados D, E e F compreendem espécies de *Cercospora*, *Passalora* e *Mycosphaerella*, respectivamente.









**Figura 2.** Árvore filogenética obtida por comparação de sequências da região ITS por Inferência Bayesiana. Valores de probabilidade posterior são indicados acima dos nós. A árvore foi enraizada com *Cladosporium cladosporioides*. Os espécimes obtidos nesse estudo estão destacados em azul.

#### 3.3 Taxonomia

## 3.4 Espécie associada à Arecaceae

Pseudocercospora sp. (provável espécie nova nº 1). Figura 3 (A-C).

Lesões foliares anfígenas, inicialmente individuais, surgindo como pequenas pontuações de coloração palha à acinzentada, com bordas marrom-escuras, tornando-se confluentes e espalhando-se por amplas áreas da superfície foliar. Estroma marrom-escuro, subcuticular. Conidióforos numerosos, em fascículos densos, esporodoquiais, macronematosos, emergindo do estroma, marrom-claros a marrom-escuros, lisos, retos, não ramificados, 13,5–20 × 2–3,5 μm. Células conidiogênicas terminais, com locos conidiogênicos inconspícuos. Conídio cilíndrico à obclavado, marrom-claro, ligeiramente afilado, com base truncada e suave, 19–36 × 2–3 μm.

*Espécime examinado*: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Asa Norte, Trevo do Bragueto, em folhas de *Mauritia flexuosa* (Arecaceae), 03/03/2017, Aline Suelen da Silva (holótipo designado aqui UBCC 443).

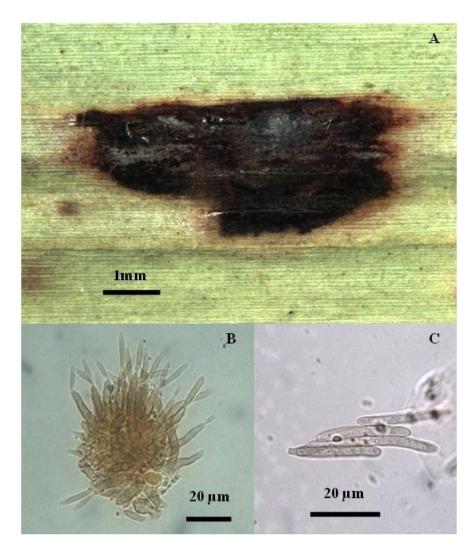
O espécime estudado possui as características morfológicas do gênero *Pseudocercospora* como conidióforos e conídios pigmentados, células conidiogênicas terminais que formam conídios através de proliferações simpodiais e locos conidiogênicos inconspícuos (Crous *et al.*, 2009).

Até o momento, cinco espécies de *Pseudocercospora* foram descritas na família Arecaceae (Tabela 2). Entre essas, somente *P. rhapisicola* (Tominaga) Goh & W. H. Hsieh (CBS 282.66) agrupou no mesmo clado filogenético (Figura 2, Clado A). O novo táxon proposto distingue-se de *P. rhapisicola* e *P. coperniciae* (Braun e Freire, 2003), uma espécie previamente relatada no Brasil, por possuir conídios menores (Tabela 2). Devido às diferenças encontradas nas dimensões dos conídios, o taxón será proposto como uma nova espécie de acordo com as normas do Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Fungos e Plantas.

**Tabela 2.** Características morfométricas de espécies de *Pseudocercospora* associadas à Arecaceae.

ESPÉCIE	Conidióforoµm	Conídioµm	Hospedeira	Local
P. arecacearum <sup>1</sup>	5–100 × 2,5–6	20–130 × 3,5–7	Rhopalostylis sapida	Nova Zelândia
P. carpentariae <sup>2</sup>	Até 170 × 5–8	40–90 × 5–9	Carpentaria acuminata	Austália
P. coperniciae <sup>3</sup>	5–15 × 2–5	$10-60 \times 2-3,5$	Copernicia prunifera	Brasil
P. rhapisicola <sup>4</sup>	10-30 × 2-4	30–160 × 2–4	Rhapis excelsa	Japão
P. roystoneae <sup>5</sup>	5–60 × 3–6	40–100 × 4–7	Roystonea regia	EUA
Pseudocercospora sp.UBCC 443	13,5–20 × 2–3,5	19–36 × 2–3	Mauritia flexuosa	Brasil

<sup>1</sup>(Braun et al., 2006); <sup>2</sup>(Leung et al., 1997); <sup>3</sup>(Braun e Freire, 2003); <sup>4</sup>(Hsieh e Goh, 1990); <sup>5</sup>(Braun et al., 2003).



**Figura 3.***Pseudocercospora* sp. em folhas de *Mauritia flexuosa*. A. Lesão na face adaxial da folha. B. Conidióforos. C. Conídios.

#### 3.5 Espécies associadas à Bignoniaceae

Cercospora tabebuiae-impetiginosae Inácio & Dianese, Mycol. Res., 102:697 (1998).

Lesões anfígenas, marrom-acinzentadas à cinza-claras com bordas arroxeadas, coalescentes, necróticas, 5–28 mm de diâmetro. *Conidióforos* de coloração marrom, anfígenos, 1-2 septos, geniculados, raramente ramificados, retos ou levemente curvados, 14–149 × 2–4 μm. *Célula conidiogênica* simpodial e terminal, integrada, com cicatriz do locos conidiogênico evidente. *Conídios* hialinos, cilíndricos, com base truncada, 1–2 septos, 42–107 × 2–3 μm.

*Tipo:* Brasil, Distrito Federal, Brasília, Universidade de Brasília, Faculdade de Educação, em folhas de *Tabebuia impetiginosae* (Bignoniaceae), 17/07/1994, C. A. Inácio, nº 181 (holótipo UB - Col. Micol. 6283).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Viveiro II - Companhia Urbanizadora da Nova Capital - Novacap, em folhas de *Handroanthus heptaphyllus* (sin. *T. impetiginosae*) (Bignoniaceae), 27/01/2017, Aline Suelen da Silva (epitipo designado aqui UBCC 439).

A espécie *Tabebuia impetiginosae*, popularmente conhecida como ipê roxo, foi sinonimizada, sendo atualmente chamada de *Handroanthus heptaphyllus* (Mattos, 1970). Entre as espécies do gênero *Cercospora* apenas *C.tabebuiae-impetiginosae* foi relatada em associação a essa planta (Inácio e Dianese, 1998; Crous e Braun, 2003), e tendo em vista a similaridade morfológica, morfométrica e a hospedeira em comum (Tabela 3), conclui-se que o material examinado trata-se da espécie *Cercospora tabebuiae-impetiginosae*, relatada em *Tabebuia impetiginosa* (sin. *H. heptaphyllus*) (Inácio e Dianese, 1998).

A análise filogenética realizada a partir das regiões ITS1, 5.8 S e ITS2 mostrou que os três isolados obtidos em *H. heptaphyllus* se agruparam em um único clado (Figura 2, clado D), próximos a outros 26 espécimes de C*ercospora*, entre elas *Cercospora apii*, espécie tipo

do gênero, que também foi relatada em hospedeiras da família Bignoniaceae, incluindo ipês (Urtiaga, 1986).

As informações filogenéticas obtidas para neste trabalho são as primeiras para o táxon em estudo.

**Tabela 3.** Características morfométricas de *Cercospora tabebuiae-impetiginosae* em *Handroanthusheptaphyllus* descrito em literatura.

ESPÉCIE	Lesões	Conidióforoµm	Conídioµm	Hospedeira
C. tabebuiae- impetiginosae <sup>1</sup>	3–30	24–58 × 2,5–4	25–135 × 2–4	Handroanthus heptaphyllus
C. tabebuiae- impetiginosae UBCC 439	3–28	14–149 × 2–4	42–107 × 2–3	Handroanthus heptaphyllus

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>(Inácio e Dianese, 1998).

Passalora tabebuiae (Muchovej & Ferreira) Crous & Braun, CBS Biodiversity Studies, 1:
230 (2003).

*≡Phaeoramularia tabebuiae* Muchovej & Ferreira, Mycologia, 73:346, 1981.

*Lesões* epífitas, castanhas com halo marrom-escuro, circular, irregular, coalescentes. *Estroma* marrom-escuro, subcuticular, subepidérmico. *Conidióforos* numerosos, em fascículos densos, esporodoquiais, macronematosos, emergindo do estroma, castanhos, lisos, retos ou ligeiramente sinuosos,marrom a oliváceos,7–40 × 2–3 μm. *Células conidiogênicas* integradas, com locos conidiogênicos espessados e pigmentados. *Conídio* cilíndrico, obclavado, liso, castanho-claro, ligeiramente afilado, suave, 23–57 × 2,5–3 μm.

*Tipo:* Brasil, Minas Gerais, Viçosa, em folhas de *Tabebuia serratifolia* (Bignoniaceae), 03/06/1980, F. A. Ferreira (holótipo BPI; isótipo IMI 237714).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Universidade de Brasília, Centro de Informática (CPD), em folhas de *Handroanthus serratifolius* (sin. *T. serratifolia*) (Bignoniaceae), 16/03/2017, Aline Suelen da Silva (epitipo designado aqui UBCC 457).

Os espécimes examinados sobre folhas de *Handroanthus serratifolius*, apresentam características típicas do gênero *Passalora* Fr., como células conidiogênicas com locos conidiogênicos espessados e pigmentados, conídios clavados, com poucos septos e pigmentados (Fries, 1849b).

Duas espécies de *Passalora* são relatadas em plantas do gênero *Handroanthus*: *P. tabebuiae*, em *Handroanthus serratifolius* (Crous e Braun, 2003) e *P. tabebuiae-ochraceae* em *Handroathhus ochraceus* (Inácio e Dianese, 2006).

Passalora tabebuiae-ochraceae difere do espécime examinado (Tabela 4), formando conídios maiores, 31–75 × 5–8 μm (Inácio e Dianese, 2006). Em comparação a espécie *P. tabebuiae* (Muchovej e Ferreira, 1981), o espécime foi similar quanto as dimensões de conídios e conidióforos.

A análise filogenética demonstrou que o espécime analisado é próximo a outras sete espécies de *Passalora* (Figura 2, clado E), sendo quatro obtidas nesse estudo, mas em hospedeiras de famílias distintas. Adicionalmente, esse é o primeiro estudo à fornecer informações filogenéticas sobre esse táxon.

**Tabela 4.** Características morfométricas de espécies de *Passalora* associadas a plantas do gênero *Handroanthus*.

ESPÉCIE	Conidióforoµm	Conídioµm	Hospedeira
P. tabebuiae-ochraceae <sup>1</sup>	19–49 × 3–6	31-75 × 5-8	Handroanthus ochraceus
P. tabebuiae <sup>2</sup>	Até $50 \times 2,5-3,0$	$6-41 \times 2, 5-3, 0$	Handroanthus serratifolius
P. tabebuiae UBCC 457	$740 \times 23$	23–57 × 2,5–3	Handroanthus serratifolius
P. tabebuiae-ochraceae UBCC 462	$22-30,5 \times 2-4$	27–64 × 2,5–4	Handroanthus ochraceus

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>(Inácio e Dianese, 2006); <sup>2</sup>(Muchovej e Ferreira, 1981).

Passalora tabebuiae-ochraceae C. A. Inácio & J. C. Dianese, Mycol. Progress, 5: 121 (2006).

Lesões epífitas, castanhas com borda castanho-avermelhada, circulares, irregulares, coalescentes, com até 50 mm de diâmetro. *Micélio* imerso no mesófilo, hialino, denso. *Estroma* marrom, subcuticular, subepidérmico, textura angular, 24–130 × 52–126 μm. *Conidióforos* numerosos, em fascículos densos, quase esporodoquiais, provenientes de estroma, macronematosos, castanhos, lisos, de proliferação percorrente, retos, ligeiramente sinuosos, tendo várias células conidiogênicas, 22–30,5 × 2–4 μm. *Células conidiogênicas* integradas ou conidióforos reduzidos a células conidiogênicas, 8–12 μm, simpodiais, com cicatrizes visíveis, um pouco espessadas e escurecidas, com 2–4 μm de diâmetro. *Conídio* sem constrições septais, sub-cilíndrico, obclavado, liso, hialino, castanho claro, com ápices subagudos e bases truncadas cicatrizadas, 27–64 × 2,5–4 μm.

*Tipo:* Brasil, Goiás, Brasilinha, Fazenda Alto Alegre, em folhas de *Tabebuia ochracea* (Bignoniaceae), 11/10/1997, A. L. Lima (holótipo UB – Col. Micol. 16036).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Parque Olhos D'água, em folhas de *Handroatnhus ochraceus* (sin. *T. ochracea*) (Bignoniaceae), 23/05/2017, Aline Suelen da Silva, (epitipo designado aqui UBCC 462).

O espécime examinado possui características representativas do gênero *Passalora* (Crous e Braun, 2003), apresentando conídios sub-cilíndricos catenulados a obclavados, castanho-claros, formados em células conidiogênicas simpodiais cicatrizadas.

Duas espécies de *Passalora* são relatadas em associação com manchas foliares em espécies de plantas do gênero *Tabebuia*: *P. tabebuiae*, em *Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nichols. (Crous e Braun, 2003) e *P. tabebuiae-ochraceae* (Cham.) Standl. em *Tabebuia ochracea* (Cham.) Standl. (Inácio e Dianese, 2006). Essas hospedeiras foram sononimizadas, sendo atualmente reconhecidas como *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose e *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos, respectivamente (Lohmann, 2018).

Passalora tabebuiae difere do espécime examinado (Tabela 4), formando conídios menores, 6–41 × 2,5–3,0 μm (Muchovej e Ferreira, 1981). Em comparação a espécie *P. tabebuiae-ochraceae* (Inácio e Dianese, 2006), o espécime apresentou morfometria de conídios e conidióforos semelhantes.

Embora possuam características morfológicas comuns ao gênero *Passalora*, filogeneticamente ficaram próximos a *Pseudocercospora* (Figura 2, clado B), mas como observado por Braun *et al.* (2013), a estrutura filogenética de *Passalora* é considerada complexa e análises de dados de sequência não suportam uma clara separação de *Passalora* e muitos outros gêneros de fungos cercosporoides.

Pseudocercospora cybistacis (Henn.) X. J. Liu & Y. L. Guo, Mycosystem 2:233 (1989).

≡ Cercospora cybistacis Henn., Hedwigia 48:17 (1909).

Lesões locais, necróticas, marrom acinzentadas, medindo de 3–7 mm de diâmetro, às vezes com um leve relevo nas bordas. Estroma bem desenvolvido de coloração marrom, com 25–75 μm de diâmetro, com fascículos adensados. Conidióforos de coloração palha a marrom, mais pálido e mais estreito em direção à ponta, não ramificado, raramente septado,

10–35 × 2,5–4 μm. *Conídios* de coloração castanha, cilíndrico obclavados, ligeiramente curvados, pluriseptados, com base truncada, ponta arredondada a cônica, 39–63 × 2–3 μm.

*Tipo:* Brasil, São Paulo, Horto Botânico, em folhas de *Cybistax antisyphilitica* (Bignoniaceae), A. Puttemans, 20/05/1902 (neótipo n° 506).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Chácara Suvaco da Cobra, em folhas de *C. antisyphilitica* (Bignoniaceae), 16/03/2017, Aline Suelen da Silva (epitipo designado aqui UBCC 453).

Até o momento, *P. cybistacis* é a única espécie de fungo cercosporoide relatada no gênero *Cybistax* (Bignoniaceae) (Chupp, 1954; Crous e Braun, 2003).

Essa espécie foi primeiramente encontrada em folhas de *Catalpa* sp. (Bignoniaceae), na China (Guo e Liu, 1989). Posteriormente, um espécime fúngico com as mesmas características morfológicas foi encontrado em *Cybistax antisyphilitica* no Brasil. Devido à ausência do holótipo para comparação, os autores identificaram o material como *P. cybistacis*, mas a identificação precisa do espécime encontrado no Brasil ainda permanece incerta.

O espécime examinado possui características morfológicas de *P. cybistacis* e agrupou no clado A (Figura 2), próximo a 30 espécimes de *Pseudocercospora*, dos quais 12 isolados foram obtidos nesse estudo em associação com plantas do Cerrado. Entre esses materiais somente *Pseudocercospora pallida* e *P. catalpigena* estão associados a plantas da família Bignoniaceae.

Apesar de o espécime possuir morfologia semelhante a *P. cybistacis* e características distintas dos demais espécimes descritos em hospedeiras da família Bignoniaceae, com os quais se agrupou na análise filogenética (Tabela 6), é necessário obter mais isolados de *Catalpa* sp. para esclarecer a identificação precisa do espécime associado à *C.antisyphilitica*. Adicionalmente, essa é a primeira informação filogenética associada a esse táxon.

**Tabela 5.** Características morfométricas de espécies de *Pseudocercospora* próximas filogeneticamente de *P. cybistacis* (Figura 2), associadas à hospedeiras da família Bignoniaceae.

ESPÉCIE	Conídioµm	Conidióforoµm	Hospedeira
P. pallida <sup>1</sup>	$20-105 \times 2-4$	$12-26 \times 2,5-4$	Campsis grandiflora
P. catalpigena <sup>2</sup>	$24-44 \times 2-4$	$10-25 \times 2-4,5$	Catalpa ovata
P. cybistacis UBCC453	39–63×2–3	10–35×2,5–4	Cybistax antisyphilitica

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> (Shin et al., 2000); <sup>2</sup> (Nakashima et al., 2011).

Pseudocercospora tabebuiae-caraibae C. A. Inácio & J. C. Dianese, Mycol. Progress, 5: 122 (2006).

Lesões anfígenas, dispersas nas folhas, castanho-amareladas a marrom claras com bordas castanho-escuras, circulares à elípticas, coalescentes, com até 30 mm de diâmetro. Colônias anfígenas, castanho-escuras, de crescimento lento. Micélio interno, marrom-pálido, atingindo o mesófilo. Estroma de coloração marrom, subepidérmico, 18–50 × 23–55 μm. Conidióforos 25–35 × 2–3 μm, numerosos, macronematosos, castanhos, lisos, decorrentes de estroma, 0–1 septos, às vezes com proliferação percorrente, raramente ramificados, retos ou ligeiramente curvados. Células conidiogênicas integradas, geralmente terminais, simpodais, geniculadas, raramente percorrentes, com locos conidiogênicos discretos. Conidios solitários, 14–16 × 2–2,5 μm, 3–8 septos, sinuosos a curvados, sub-cilíndricos à obclavados, lisos, marrom-pálido a oliváceo, mais claros no ápice, com base truncada e sem presença de cicatriz.

*Tipo:* Brasil, Goiás, Parque Nacional das Emas, estrada do Rio Jacuba, em folhas de *Tabebuia caraiba* (Bignoniaceae), 01/04/1997, J. C. Dianese (holótipo UB - Col. Micol. 13814); Brasília, Distrito Federal, Viveiro II - Companhia Urbanizadora da Nova Capital -

Novacap, Asa Norte, Plano Piloto, em folhas de *T. caraiba*, 09/03/1999, C. A. Inácio (parátipo UB - Col. Micol. 17435).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Viveiro II - Companhia Urbanizadora da Nova Capital - Novacap, em folhas de *Tabebuia aurea* (sin. *T. caraiba*) (Bignoniaceae), 23/05/2017, Aline Suelen da Silva (epitipo designado aqui UBCC 460).

Três espécies de *Pseudocercospora* são relatadas em associação com manchas foliares em *Tabebuia*: *P. jahnii* (Chupp, 1954; Crous e Braun, 2003), *P. tabebuiae-caraibae* e *P. tabebuiae-roseoalbae* (Farr e Rossman, 2018; Chupp, 1954; Crous e Braun, 2003). Apenas *P. tabebuiae-caraibae* é relatada em *Tabebuia aurea*.

O espécime examinado apresenta características morfométricas semelhantes às de *P. tabebuiae-roseoalbae*, no que diz respeito ao tamanho dos conídios e conidióforos (Tabela 7), porém *P.tabebuiae-roseoalbae* apresenta um estroma mais profundo (23-77 µm de profundidade) do que *P. tabebuiae-caraibae* e também difere em tamanho das lesões, com até 13 mm de diâmetro (Inácio e Dianese, 1998). Em relação a *P. jahnii* difere principalmente no tamanho dos conídios, que são menores do que os descritos para a espécie em comparação.

Apesar de possuírem evidentes características de *Pseudocercospora*, na análise filogenética os espécimes se agruaparam no clado C (Figura 2), junto à *Passalora eucalypti* e *P.leptophlebae*. A estrutura filogenética de *Passalora* é considerada complicada. Análises correspondentes de dados de sequência não suportam uma clara separação de *Passalora* e muitos outros gêneros de fungos cercosporoides (Braun *et al.*, 2013).

Entre as espécies de *Pseudocercospora* relatadas em *Tabebuia* spp., apenas *P. jahnii* possui sequência disponível no Genbank, que em comparação com a sequência de *P. tabebuiae-caraibae* obtida nesse estudo possui 91% de identidade.

**Tabela 6.** Características morfométricas de espécies de *Pseudocercospora* associadas a plantas do gênero *Tabebuia*.

ESPÉCIE	Conidióforoµm	Conídioµm	Hospedeira
P. jahnii <sup>1</sup>	$10-40 \times 3-5$	$20-110 \times 3-5$	T. rosea
P. tabebuiae-caraibae <sup>2</sup>	$20-52 \times 4-6$	$35 - 98 \times 3 - 5$	T. aurea
P. tabebuiae-roseoalbae³	$18 - 58 \times 2 - 5$	$12-57 \times 2-5$	T. roseo-albae
P. tabebuiae-caraibae UBCC 460	25–35 × 2–3	14–16 × 2–2,5	T. aurea

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>(Chupp, 1954); <sup>2</sup>(Inácio e Dianese, 2006); <sup>3</sup>(Inácio e Dianese, 1998).

#### 3.6 Espécie associada à Passifloraceae

Pseudocercospora passiflorae-setaceae A.C. Dianese, A. M. Costa & J.C. Dianese, Mycotaxon, 105:2 (2008).

Lesões adaxiais, solitárias, irregularmente dispersas nas folhas, amareladas, depois coalescendo em áreas necróticas marrons claras com pontos negros centrais e manchas irregulares acinzentadas na superfície abaxial. Micélio imerso, marrom claro, formando estroma epífilo e micélio superficial hipófilo, fortemente ramificado, castanho acinzentado a marrom. Estroma 49–195 μm de diâmetro, epífilo, subgloboso a globoso, marrom a marrom-escuro, subepidérmico. Conidióforos epífilos 39,5–54 × 2–3,5 μm, numerosos, densamente fasciculados, formados em estroma na forma de esporodóquio, castanho-claro, septados e lisos. Célula conidiogênica integrada, terminal, 20–50 μm de comprimento e simpodial. Locos conidiogênico achatado, discreto. Conídios solitários, cilíndricos, raramente obclavado-cilíndricos, 35–77 × 2–4 μm, septados, sub-hialinos à marrom-claro, de paredes finas, lisas, ápice subagudo e base truncada

*Tipo:* Brasil, Distrito Federal, Planaltina, Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado (CPAC), Km 18, Br-020, em folhas de *Passiflora setaceae* (Passifloraceae), 12/02/2008, Alexei de Campos Dianese, (holótipo UB - Col. Micol. 20872).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Planaltina, Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado (CPAC), Km 18, Br-020, em folhas de *Passiflora setaceae* (Passifloraceae), 08/02/2017, Aline Suelen da Silva (epitipo designado aqui UBCC 441).

Quatro espécies de *Pseudocercospora* são relatadas em *Passiflora: Pseudocercospora* calospilea, *P. passiflorae*, *P.passiflorae-setaceae* e *P. stahlii* (Crous e Braun, 2003; Dianese et al., 2008). A espécie *P. passiflorae-setaceae* é relatada na mesma hospedeira em que foi encontrado o espécime examinado (Dianese et al., 2008). Além disso, ambas apresentam características similares como formato e dimensões dos conídios e conidióforos (Tabela 8) e presença de micélio externo hipófilo com conidióforos solitários, ausente nas outras três espécies de *Pseudocercospora* relatadas em *Passiflorae*.

Filogeneticamente, o espécime encontrado ficou próximo à outras 29 espécies de *Pseudocercospora*, entre elas 11 espécies obtidas nesse estudo (Figura 2, clado A).

No Genbank, a comparação da sequência da região ITS do espécime estudado mostrou 99% de similaridade com *P. stahlii* (CBS 117), apesar das diferenças morfológicas e morfométricas encontradas (Tabela 8).

**Tabela 7.** Características morfométricas de espécies de *Pseudocercospora* associadas a plantas do gênero *Passiflora*.

ESPÉCIE	Conidióforoµm	Conídioµm	Hospedeira
P. calospilea <sup>1</sup>	5–25 × 2–4	$20-60 \times 2-4$	Passiflora liguaris
P. passiflorae <sup>2</sup>	$10-60 \times 2-4,5$	$30-120 \times 2-4$	Passiflora sexflora
P. passiflorae-setaceae <sup>3</sup>	$7-31 \times 2, 5-5$	$43 - 129 \times 3 - 5,5$	Passiflora setacea
P. stahlii <sup>4</sup>	$78-153 \times 5-7$	$20,5-43 \times 4-7$	Passiflora foetida
P. passiflorae-setaceae UBCC 441 e 442	12-20 × 2,5-3,5	40-80 × 2,5-4,0	Passiflora setacea

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>(Chupp, 1954); <sup>2</sup>(Crous e Braun, 2003); <sup>3</sup>(Dianese et al., 2008); <sup>4</sup>(Yen e Lim, 1980).

### 3.7 Espécie associada à Piperaceae

Pseudocercospora piperis (Pat.) Deighton, Mycological Papers, 140: 150 (1976)

- *≡ Cercospora piperis* Pat., Bull. Soc. Mycol. France 11:233, 1895.
- = Cercospora piperis Ellis & Ev., Mo. Bot. Gard. Ann. Rept. 9:119, 1898.
- = Cercospora portoricensis Earle, Muhlenbergia, 1:15, 1901.
- *≡ Cercospora pipericola* Sacc. & Sydow, Syll. Fung. 16:1073, 1902.

Lesões foliares anfígenas, inicialmente pequenas manchas cinza pálidas de menos de 2,5 mm, tornando-se angulares ou circulares por delimitação das nervuras, atingindo 7 mm de diâmetro, marrom escuras na face abaxial e acizentadas com bordas escuras na face adaxial. Colônias com crescimento lento, circulares, planas, aveludadas, acinzentadas a escuras. Conidióforo raramente ramificado, 0–4 septos, marrom pálido, 48–71× 3–4,5 μm. Conídios isolados, sub-cilíndricos, ligeiramente curvados, 50,5–110 × 3–4,5 μm, 1–7 septos, marrom amarelados.

*Tipo:* Equador, Pululahua, em folhas de *Piper* sp. (Piperaceae), De Lagerheim, 1895 (parátipo VIC 31889, COAD 1111).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Fazenda Água Limpa; em folhas de *P. aduncum* (Piperaceae), 18/01/2017, Aline Suelen da Silva (UBCC 428 e UBCC 429).

Atualmente, sete espécies de *Pseudocercospora* são relatadas em associação com plantas do gênero *Piper* (Farr e Rossman, 2018), das quais apenas *Pseudocercospora piperis* é associada à *Piper aduncum*.

Pseudocercospora piperis foi encontrada pela primeira vez no Equador associada com folhas de *Piper* sp. (Patouillard, 1895). Em *Piper aduncum* foi relatada pela primeira vez em Porto Rico (Chupp, 1954; Crous e Braun, 2003), e no Brasil seu primeiro relato, na mesma hospedeira, ocorreu no Amazonas (Rocha *et al.*, 2013).

No Brasil, a espécie *P. piperis* também está associada a outras plantas do gênero *Piper* sp., como *P. crassinervium* e *P. mollicomum* (Rocha *et al.*, 2008).

O espécime aqui examinado foi comparado ao espécime de *P. piperis* relatado em *P. aduncum* no Brasil (Rocha *et al.*, 2013), e verificou-se que ambos possuem similaridades quanto a morfometria de seus conídios e conidióforos (Tabela 9).

Na análise filogenética o isolado agrupou-se no clado A (Figura 2), próximo a 29 espécimes de *Pseudocercospora*, dos quais 11 isolados foram obtidos nesse estudo em associação com plantas do Cerrado. A sequência da região ITS no GenBank para *P. piperis* em *Piper aduncum*, disponibilizada por Rocha *et al.*, (2013), em comparação com a sequência do isolado obtido nesse estudo apresentou 99% de identidade.

**Tabela 8.** Características morfométricas de *Pseudocercospora* piperis em *Piper aduncum* no Brasil.

ESPÉCIE	Conídioµm	Conidióforoµm	Hospedeira
P. piperis <sup>1</sup>	$17-65 \times 3-5$	20-80×4,5-5	Piper aduncum
P. piperis UBCC 428 e UBCC 429	50,5–111×3–4,5	48–71×3,5–4,5	Piper aduncum

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> (Rocha et al., 2013).

### 3.8 Espécie associada à Rubiaceae

Pseudocercospora rigidae M. Silva & O. L. Pereira, Mycotaxon, 102: 261 (2007).

Lesões foliares anfígenas, irregulares ou delimitadas pela nervura, marrons pálidas, acinzentadas com margens marron-escuras, confluentes, medindo de 3–30 mm de diâmetro. Estroma bem desenvolvido, subepidérmico, erumpente, marrom escuro, 19–53 μm de diâmetro. Conidióforos anfígenos, fasciculados, sobre estroma subepidérmico, 23–42 × 3–3,5 μm, marrom-claros, 0–4 septos. Locos conidiogênico inconspícuos, não escurecidos, planos. Conídios solitários, obclavados a cilíndricos, retos a levemente curvos, 55–78 × 2,5–3,5 μm, ápice obtuso, 4–7 septos, marrom-claros, hilos sem cicatrizes, não escurecidos.

*Tipo:* Brasil, Minas Gerais, Carrancas, em folhas de *Palicourea rigida* (Rubiaceae), 03/2007, O. L. Pereira (holótipo VIC 30472).

*Espécime examinado*: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Universidade de Brasília, Vegetação do Centro de Informática (CPD), em folhas de *Palicourea rigida* (Rubiaceae), 25/01/2017, Aline Suelen da Silva (UBCC 434, UBCC 435).

Atualmente existem três espécies de *Pseudocercospora* relatadas em plantas do gênero *Palicourea* (Rubiaceae), sendo elas *Pseudocercospora palicoureae* O.L. Pereira & R.W. Barreto relatada em *Palicourea marcgravii* no Brasil; *P. palicoureina* (Petr. & Cif.) U. Braun relatada em *Palicourea domingensis* na República Dominicana e *P. rigidae* M. Silva & O.L. Pereira, relatada em *Palicourea rigidae* no Brasil (Tabela 10).

O espécime encontrado em *Palicourea rigida* foi identificado como *P. rigidae* (Silva e Pereira, 2007) por compartilhar a mesma hospedeira, e possuir características morfométricas semelhantes, como as dimensões das lesões, conidióforos e conídios (Tabela 10).

Os dois isolados obtidos nesse estudo possuem 99% de identidade (490/491) com o espécime tipo de *P. rigidae* isolado COAD 1472 (Silva *et al.*, 2016). Na análise filogenética os isolados agruparam no clado A (Figura 2), próximos a 29 espécimes de *Pseudocercospora*, nos quais apenas *Pseudocercospora paederiae* (CPC 10007) é relatada em associação com plantas da família Rubiaceae. Embora a espécie tipo de *P. rigidae* já tenha sido epitificada, dois espécimes de outra região geográfica foram adicionados para a melhor compreensão dessa espécie e estudos posteriores.

**Tabela 9**. Características morfométricas de espécies de *Pseudocercospora* em *Palicourea* (Rubiaceae).

ESPÉCIE	Lesões mm	Conidióforoµm	Conídioµm	Hospedeira
P. palicoureae <sup>1</sup>	2–12	$15-70 \times 3-4,5$	$13-115 \times 2,5-3,5$	P. marcgravii
P. palicoureina <sup>2</sup>	5–20	$10-150 \times 3-5$	$10-75 \times 2,5-4$	P. domingensis
$P. rigidae^3$	3–12,5	$11-25 \times 3-4,5$	$22-102,5 \times 3-4$	P. rigida
P. rigidae UBCC 434, UBCC 435	3–12	23–42 × 3–3,5	55–78 × 2,5–3,5	P. rigida

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>(Pereira e Barreto, 2006); <sup>2</sup>(Braun, 2001); <sup>3</sup>(Silva e Pereira, 2007).

## 3.9 Espécie associada à Smilacaceae

Passalora smilacis (Thüm.) U. Braun, Arnoldia, 14:30 (1997).

- ≡ *Cercospora smilacis* Thüm., Contrib. Fl. Mycol. Lusit., 2:14, 1879.
- = Cercospora smilacina Sacc., Michelia, 2:364, 1881.
- = Cercospora smilacis var. asperae Gonz. Frag., Trab. Mus. Nac. Ci. Nat., Madrid, Ser. Bot., 9:66, 1916.

Lesões anfígenas, necróticas, circulares, às vezes confluentes, castanho-escuras, 1–7 mm de diâmetros. *Colônias* anfígenas, cespitosas, castanho-escuras. *Estromas* 30–77× 30–70 μm subglobosos, marrons a marrom-avemelhados, pouco ou medianamente desenvolvidos de *textura globosa*, subestomáticos. *Conidióforos* 55–83 × 2,5–5 μm, macronemáticos, mononemáticos, cespitoso, emergindo de dentro do estômato, filiformes, retos ou flexuosos, marrons, lisos. *Células conidiogênicas* 15–45 × 3–5 μm, filiformes, poliblásticas, simpodiais, integradas, terminais, cicatrizadas, com cicatrizes proeminentes, escuras e espessadas. *Conídios* 52–97 × 3–5,5 μm, solitários, acropleurogenos, obclavados, marrom à marrom-claros, lisos, 1–7 septos, hilo conspícuo.

*Tipo:* Portugal, Coimbra, Mycoth. Univ., em folhas de *Smilax mauritanica* (Smilacaceae), 05/1879, F. Moller (BPI 441368) (lectótipo MBT178170).

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Universidade de Brasília, Centro de Informática (CPD), em folhas de *Smilax japicanga* (Smilacaceae), 25/01/2017, Aline Suelen da Silva (UBCC 436, UBCC 469, UBCC 470 e UBCC 471).

Os espécimes examinados sobre folhas de *Smilax japicanga*, apresentam características típicas do gênero *Passalora* Fr., como células conidiogênicas com locos conidiogênicos espessados e pigmentados, conídios clavados, com poucos septos e pigmentados (Fries, 1849b).

Seis espécies de *Cercospora* foram listadas por Chupp (1954) em plantas do gênero *Smilax*, entre elas *Cercospora smilacis* Thüm, que devido à pigmentação do conídio e o lócus da célula conidiogênica conspícuo foi recombinada para *Passalora smilacis* (Thüm) U. Braun (Braun *et al.*, 2014).

Passalora smilacis é relatada em Smilax aspera, S. glauca, S. havanensis, S. herbacea, S. hispida, S. laurifolia, S. macrophylla, S. mauritanica, S. nigra, S. pseudochin, S. rotundifolia, S. tamnoides (Crous e Braun, 2003), S. chinensis, S. guianensis (Braun et al., 2014) e S. japicanga (Armando, 2014), sendo esta última a única planta no Brasil em que se tem relato de P. smilacis.

O isolado obtido nesse estudo apresentou dimensões de conídios e conidióforos um pouco maiores do que o obtido por Armando (2014), apesar de ambos serem provenientes da mesma hospedeira. As dimensões de conídios e conidióforos apresentaram similaridade às dos isolados de *Smilax aspera* e *S. mauritanica* (Tabela 11).

A análise filogenética mostrou que os espécimes obtidos nesse estudo se agruparam no clado E (Figura 2), próximo a outras seis espécies de *Passalora*, entre elas, três isolados obtidos em plantas do Cerrado coletadas no presente trabalho.

**Tabela 10.** Características morfométricas de *Passalora* smilacis em plantas do gênero *Smilax* (Smilacaceae).

ESPÉCIE	Conidióforoµm	Conídioµm	Hospedeira
P. smilacis <sup>1</sup>	$15-65 \times 2, 5-4, 5$	$35-100 \times 3-5$	S. mauritanica
P. smilacis <sup>2</sup>	$10-130 \times 2,5-7$	$20-120 \times 2-6$	S. aspera
P. smilacis <sup>3</sup>	$15-45 \times 2-4$	$21 - 48 \times 2 - 4$	S. japicanga
P. smilacis UBCC 436, UBCC 469, UBCC 470 eUBCC 471	55–83 × 2,5–5	52–97 × 3–5,5	S. japicanga

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>(Chupp, 1954); <sup>2</sup>(Braun et al., 2014); <sup>3</sup>(Armando, 2014).

#### 3.6 Espécie associada à Solanaceae

Pseudocercospora sp. (provável espécie nova nº 2). Figura 4 (A-D).

Lesões anfígenas, castanho-claras na face adaxial e palhas na face abaxial, irregulares. Conidióforos solitários surgindo de hifas hialinas superficiais, envoltas nos tricomas da folha,  $20-60 \times 2-4 \ \mu m$ . Células conidiogênicas semelhantes ao prolongamento do conidióforo, marrom-claras, com locos conidiogênicos inconspícuos,  $5-36 \times 2-3 \ \mu m$ . Conídios subcilíndricos, oliváceos, retos a levemente curvados, com ápice arredondado,  $20-63 \times 3-4 \ \mu m$ .

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Fazenda Água Limpa, em folhas de *Solanum* sp. (Solanaceae), 18/01/2017, Aline Suelen da Silva (holótipo designado aqui UBCC 430).

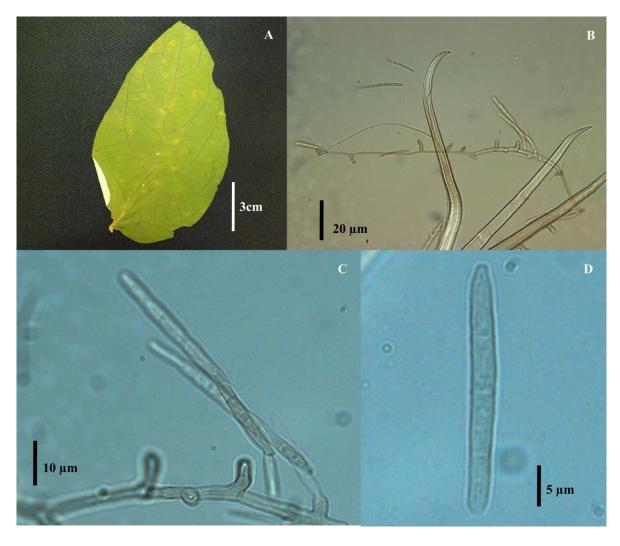
Para a família Solanaceae foram relatadas a ocorrência de 24 espécies do gênero, das quais 14 ocorrem em *Solanum* spp. (Tabela 12). A espécie *P. fuligena* se assemelha ao espécime estudado na morfologia e dimensões dos conídios, porém se diferencia por produzir conidióforos em agregados de hifas (Phengsintham *et al.*, 2012), além da coloração mais escura. *P. venezuelae* também apresenta conídios com dimensões muito próximas às do espécime estudado, porém seu formato difere no ápice, que é subagudo, e também produz conidióforos em agregados de hifas (Braun, 2017).

O espécime examinado agrupou-se no clado A, próximo a 29 espécimes de *Pseudocercospora* (Figura 2), entre elas *P. atromarginalis* (CBS 114640; CPC 11372), *P. chengtuensis* (CPC 10696) e *P. fuligena* (CPC 12296; MUCC 533). Essas espécies são relatadas em Solanaceae, porém diferem morfológicamente do espécime examinado (Tabela 11), e baseando-se na análise filogenética do alinhamento da região ITS não é possível distinguí-las, fato também observado por Silva *et al.* (2016), sendo necessária a realização de análise filogenética baseada no alinhamento de outras regiões.

Tabela 11. Características morfométricas de espécies de *Pseudocercospora* associadas à *Solanum*.

ESPÉCIE	Conidióforo µm	Conídio µm	Hospedeira	Local
P. atromarginalis <sup>1</sup>	_	$10-70 \times 4-5$	S. nigrum	EUA
P. carolinensis <sup>2</sup>	_	$30-130 \times 3-4$	S. carolinensis	EUA
P. egenula <sup>3</sup>	-	$30-70 \times 3-4$	S. panduriformi	África do Su
P. fasciculata <sup>4</sup>	_	80–110 × 2	S. pseudocapsici	_
P. fuligena <sup>5</sup>	$8-31 \times 4-5$	$21-76 \times 2,5-4$	S. lycopersicum	Filipinas
P. marcelliana <sup>6</sup>	$5-25 \times 2-4$	$15-70 \times 2-3,5$	S. micranthum	Venezuela
P. modesta <sup>7</sup>	$15-50 \times 3-5$	$35 - 78 \times 3 - 5$	Solanum sp.	_
P. rugosi <sup>6</sup>	$20-150 \times 3-5$	$20-85 \times 2-4,5$	S. rugosum	Rep. Dominica
P. solanacea <sup>8</sup>	5–40 × 2–5,5	$30-75 \times 2,5-5,5$	S. nigrum	Índia
P. solani-asperi <sup>9</sup>	$10-60 \times 3-5$	$30-80 \times 3-4$	S. asperum	_
P. solani-pseudocapsicicola <sup>10</sup>	10–35 × 3–5	$42-128 \times 2-3,5$	S. pseudocapsicum	Brasil
P. solani-torvicola <sup>11</sup>	-	23–115 × 3,5–6	S. torvum	China
P. trichophila <sup>12</sup>	40–68 × 5	20–110 × 4–6,5	S. torvum	Porto Rico
P. venezuelae <sup>8</sup>	10–70 × 2–4	15–65 × 3–5	Solanum sp.	Venezuela
Pseudocercospora sp. UBCC 430 e 431	20-60 × 2-4	20-63 × 3-4	Solanum sp.	Brasil

<sup>1</sup>(Chapel Hill, 1891); <sup>2</sup>(Tharp, 1917); <sup>3</sup>(Sydow, 1935); <sup>4</sup>(Spegazzini, 1882); <sup>5</sup>(Phengsintham *et al.*, 2012); <sup>6</sup>(Chupp, 1954); <sup>7</sup>(Sydow, 1927); <sup>8</sup>(Braun, 2017); <sup>9</sup>(Baker e Dale, 1951); <sup>10</sup>(Silva *et al.*, 2016); <sup>11</sup>(González e Ciferri, 1927); <sup>12</sup>(Stevens, 1927).



**Figura 4**. *Pseudocercospora* sp. em folhas de *Solanum* sp. A. Lesões na face adaxial da folha. B. Conidióforos. C-D. Conídios.

### 3.7 Espécie associada à Velloziaceae

*Mycosphaerella* sp. (provável espécie nova nº 3). Figura 5 (A-C).

*Lesões* anfígenas, com centro de coloração palha e bordas marrom-escuras, irregulares, com ascomas visíveis na forma de pequenas pontuações escuras no centro da lesão. *Ascomas* formados no interior dos tecidos foliares, escuros, subepidérmicos, globosos, 73,5–166 μm de diâmetro; com presença de ostíolo apical. *Ascas* bitunicadas, cilíndricas, retas, com extremidades arredondadas, 28–33 × 5–5,5 μm. *Ascósporos* sobrepostos, hialinos, finos, retos, fusiformes à elipsoidais, com extremidades obtusas, mais largo acima do septo, bicelular, 14–18 × 3–4 μm. Fase assexual não encontrada.

Espécime examinado: Brasil, Distrito Federal, Brasília, Jardim Botânico de Brasília, em folhas de *Vellozia squamata* (Velloziaceae), 16/03/2017, Aline Suelen da Silva (holótipo designado aqui UBCC 455).

O gênero *Mycosphaerella* foi descrito inicialmente como *Sphaerella* (Saccardo, 1882) por possuir ascomas subepidérmicos com presença de ostíolo apical, ausência de hamatécio no interior do ascoma, ascas bitunicadas, ascósporos hialinos e bicelulares (Verkley *et al.*, 2004). Como o nome *Sphaerella* era amplamente utilizado para algas verdes, todas as espécies fúngicas com características de *Sphaerella* foram transferidas para o gênero *Mycosphaerella* (Aptroot, 2006).

Devido ao grande número de formas assexuais encontradas em conexão com a fase sexual e a inclusão de dados moleculares na taxonomia, o nome *Mycosphaerella* foi segregado em novos gêneros e somente as espécies que agrupam com a espécie tipo, *M. punctiformis*, e/ou possuem a fase assexual de *Ramularia* são reconhecidas como *Mycosphaerella* (Crous, 2009).

Tradicionalmente a identificação das espécies desse grupo foi baseada em características morfológicas e especificidade hospedeira. O espécime obtido nesse estudo

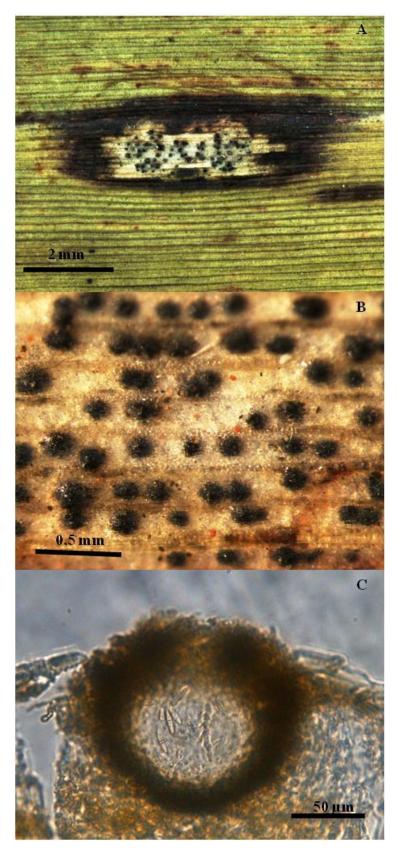
encontra-se associado com uma planta hospedeira da família Velozziaceae e devido a ausência de espécies descritas nessa família botânica, o material foi comparado com os taxa descritos em Pandanaceae, uma família botânica filogeneticamente relacionada à Velozziaceae.

O espécime obtido nesse estudo difere morfologicamente das duas espécies descritas em Pandanaceae. A nova espécie proposta possui ascósporos maiores que *M. freycinetia* e menores que *M. pandani* (Tabela 13). Molecularmente, o táxon é filogeneticamente próximo à *M. endophytica, M.scytalidii e M. stromatosa* (Figura 2, clado F), entretanto, essas espécies são relatadas em hospedeiras das famílias Myrtaceae e Proteaceae, que são filogeneticamente distantes de Velloziaceae. Devido às diferenças nas dimensões dos ascósporos e da especificidade hospedeira, o táxon será proposto como uma nova espécie de acordo com as regras do Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Fungos e Plantas.

**Tabela 12.**Características morfométricas de espécies de *Mycosphaerella* associadas a família Pandanaceae.

ESPÉCIE	Ascas µm	Ascósporos µm	Hospedeira
M. freycinetia <sup>1</sup>	_	24–38 × 4–6	Freycinetia sp.
M. pandani¹	_	$6-8 \times 1,5-2$	Pandanus sp.
Mycosphaerella sp.UBCC 455	28–33 × 5–5,5	14–18 × 3–4	Vellozia squamata

<sup>1</sup>(Aptroot, 2006).



**Figura 5**. *Mycosphaerella* sp. em folhas de*Vellozia squamata*. **A**. Lesões com bordas escuras, centro mais claro e pontações negras. **B**. Detalhe da lesão mostrando ascomas subepidérmicos. **C**. Ascoma com ascas e ascósporos.

# 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um total de 28 espécimes de fungos cercosporoides foram coletados a partir de tecidos foliares de doze plantas hospedeiras pertencentes aoito famílias botânicas. As espécies fúngicas associadas com essas hospedeiras foram identificadas como *Pseudocercospora* (n=7), *Passalora* (n=3), *Cercospora* (n=1) e *Mycosphaerella* (n=1).

Os taxa coletados em *Solanum* sp., *Mauritia flexuosa*, e *Vellozia squamata* serão propostos como novas espécies de acordo com as regras do Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Fungos e Plantas. Adicionalmente, os espécimes de *Pseudocercospora piperise P. rigidae* encontrados no Distrito Federal representam novos registros de distribuição geográfica.

Além disso, os epitipos das espécies *Cercospora tabebuiae-impetiginosae*, *Passalora tabebuiae*, *Pseudocercospora passiflorae-setaceae*, *P. cybistacis*, *P. tabebuiae-caraibae* e *P. tabebuiae-ochraeae* foram designados pela primeira vez nesse estudo.

A árvore filogenética obtida por comparações de sequências da região ITS confirmou os resultados da caracterização morfológica, onde todos os espécimes obtidos nesse estudo foram identificados como membros da família Mycosphaerellaceae.

Esse trabalho é a primeira contribuição para o entendimento do relacionamento filogenético dos fungos cercosporoides associados à plantas encontradas no Cerrado. Estudos complementares são necessários para (i) re-coletar os fungos cercosporoides no Cerrado, (ii) re-examinar os espécimes por caracteres morfológicos e moleculares, (iii) epitipificar as espécies conhecidas, (iv) descrever os espécimesconsiderados como novos para a ciência, e (v) relatar as novas ocorrências para o hospedeiro/substrato ou o novo registro de distribuição geográfica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; MAFIA, R. G.; GONÇALVES, R. C. Isolamento de fungos fitopatogênicos. **Métodos em fitopatologia.** Viçosa: Ed. UFV, p. 53-90, 2007.

APTROOT, A. *Mycosphaerella* and its anamorphs: 2. Conspectus of *Mycosphaerella*. **CBS Biodiversity Series**, v. 5, p. 1-231, 2006.

ARAÚJO, P. Biomas. **Ministério do Meio Ambiente**. Disponível em: <a href="http://www.mma.gov.br/biomas">http://www.mma.gov.br/biomas</a>. Acessado em: 28/12/2017.

ARIYAWANSA, H. A.; HAWKSWORTH, D. L.; HYDE, K. D.; *et al.* Epitypification and neotypification: guidelines with appropriate and inappropriate examples. **Fungal Diversity**, v. 69, p. 57-91, 2014b.

ARIYAWANSA, H.; PHOOKAMSAK, R.; TIBPROMMA, S.; KANG, J. C.; HYDE, K. D. A Molecular and morphological reassessment of Diademaceae. **Scienific World Journal,** v. 2014, p. 1-11, 2014a.

ARMANDO, E. A. S. Fungos epifíticos e fitopatogênicos associados a plantas do Cerrado. **Tese de doutorado**. Universidade de Brasília, p. 205, Brasília, 2014.

BAKER, R. E. D.; DALE, W. T. Fungi of Trinidad and Tobago. **Mycological Papers**, v. 33, p. 1–123, 1951.

BAKHSHI, M.; ARZANLOU, M.; BABAI-AHARI, A.; GROENEWALD, J. Z.; BRAUN, U.; CROUS, P. W. Application of the consolidated species concept to *Cercospora* spp. from Iran. **Persoonia**, v. 34, p. 65-86, 2014.

BAKHSHI, M.; ARZANLOU, M.; BABAI-AHARI, A.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Is morphology in *Cercospora* a reliable reflection of generic affinity?. **Phytotaxa**, v. 213, n. 1, p. 22-34, 2015.

BATALHA, M. A. O cerrado não é um bioma. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 1-4, 2011.

BEILHARZ, V.; PASCOE, I. Two additional species of *Verrucisporota*, one with a *Mycosphaerella* teleomorph, from Australia. **Mycotaxon**, v.87, p. 357-365, 2002.

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

BRAUN, U. A monograph of *Cercosporella*, *Ramularia* and allied genera (Phytopathogenic Hyphomycetes). **IHW-Verlag**, v.1, 333 p., 1995.

BRAUN, U. A monograph of *Cercosporella*, *Ramularia* and allied genera (Phytopathogenic Hyphomycetes). **IHW-Verlag**, v. 2, 493 p., 1998.

BRAUN, U. *Pseudocercosporasolanacea* revisited and a survey of *Pseudocercospora* spp. on *Solanum* with a key to the species. **Schlechtendalia**, v. 32, p. 51–65, 2017.

BRAUN, U. Taxonomic notes on some species of the *Cercospora* complex (VII). **Fungal Diversity**, v. 8, p. 41-71, 2001.

BRAUN, U.; CROUS, P. W.; KAMAL. New species of *Pseudocercospora*, *Pseudocercosporella*, *Ramularia* and *Stenella* (cercosporoid hyphomycetes). **Mycological Progress**, v. 2, p. 197-208, 2003.

BRAUN, U.; CROUS, P.W.; NAKASHIMA, C. Cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) 2. Species on monocots (Acoraceae to Xyridaceae, excluding Poaceae). **IMA Fungus**, v. 5, p. 203–390, 2014.

BRAUN, U.; CROUS, P.W.; SCHUBERT, K.; SHIN, H.-D. Some reallocations of *Stenella* species to *Zasmidium*. **Schlechtendalia**, v. 20, p. 99-104, 2010.

BRAUN, U.; FREIRE, F. C. O. Some cercosporoid hyphomycetes from Brazil – II. **Cryptogamie Mycologie**, v. 23, p. 295-328, 2003.

BRAUN, U.; FREIRE, F. Some cercosporoid hyphomycetes from Brazil - III. **Cryptogamie Mycologie**, v.25, p. 221-244, 2004.

BRAUN, U.; HILL, C. F.; SCHUBERT, K. New species and new records of biotrophic micromycetes from Australia, Fiji, New Zealand and Thailand. **Fungal Diversity**, v. 22, p. 13-35, 2006.

BRAUN, U.; MOUCHACCA, J.; MCKENZIE, E. H. C. Cercosporoid hyphomycetes from New Caledonia and some other Pacific Islands. **New Zealand Journal of Botany**, v. 37, p. 297-327, 1999.

BRAUN, U.; NAKASHIMA, C.; CROUS, P. W. Cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) 1. Species on other fungi, Pteridophyta and Gymnospermae. **IMA Fungus**, v. 4, n. 2, p. 265-345, 2013.

CAI, L.; UDAYANGA, D.; MANAMGODA, D. S.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; MCKENZIE, E. H. C.; GUO, L. D.; LIU, X. Z.; BAHKALI, A.; HYDE, K. D. The need to carry out re-inventory of plant pathogenic fungi. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 4, p. 205-213, 2011.

CHAPEL HILL, N. C. Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society. v. 8, p. 59, 1891.

CHAVES, Z. M. Fungos associados a *Mauritia flexuosa* (Buriti) e *Mauritiella armata* (Buritirana). **Dissertação de Mestrado**. Universidade de Brasília. Brasília, 104p., 1998.

CHUPP, C. A monograph of the fungus genus *Cercospora*. **Ithaca**, New York, 667 pp., 1954.

CROUS, P. W.; APTROOT, A.; KANG, J. C.; BRAUN, U.; WINGFIELD, M. J.The genus *Mycosphaerella* and its anamorphs. **Studies in Mycology**, v. 45, p. 107-121, 2000.

CROUS, P. W.; BRAUN, U. *Mycosphaerella* and its anamorphs: 1. Names published in *Cercospora* and *Passalora*. **CBS Biodiversity Series**, v. 1, p. 1-571, 2003.

CROUS, P.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J.Z. *Mycosphaerella* is polyphyletic. **Studies in Mycology**, v. 58, p.1-32, 2007.

CROUS, P.W. Taxonomy and phylogeny of the genus *Mycosphaerella* and itsanamorphs. **Fungal Diversity**, v. 38, p. 1-24, 2009.

CROUS, P. W.; BRAUN, U.; HUNTER, G. C.; *et al.* Phylogenetic lineages in *Pseudocercospora*. **Studies in Mycology**, v. 75, p. 37-114, 2013.

CROUS, P. W.; HAWKSWORTH, D. L.; WINGFIELD, M. J. Identifying and naming plant pathogenic fungi: past, present, and future. **Annual Review of Phytopathology**, v. 53, p. 247-267, 2015.

CROUS, P. W.; KANG, J. C.; BRAUN, U. A Phylogenetic Redefinition of Anamorph Genera in *Mycosphaerella* Based on ITS rDNA Sequence and Morphology. **Mycologia**, v. 93, p. 1081-1101, 2001.

CROUS, P. W.; LIEBENBERG, M. M.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J. Z. Reevaluating the taxonomic status of *Phaeoisariopsisgriseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. **Studies in Mycology**, v. 55, p.163–173, 2006.

CROUS, P. W.; SUMEMERELL, B. A.; CAMEGIE, A. J.; WINGFIELD, M. J.; HUNTER, G. C.; BURGESS, T. I.; ANDJIC, V.; BARBER, P. A.; GROENEWALD, J. Z. Unravelling *Mycosphaerella*: do you believe in genera?. **Persoonia**, v. 23, p. 99-118, 2009.

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

DIANESE, A. C.; COSTA, A. M.; DIANESE, J. C. A new *Pseudocercospora* species on *Passiflora setacea*. **Mycotaxon**, v. 105, pp. 1–5, 2008.

DORNELO-SILVA, D. Fungos associados a plantas da família Vochysiaceae presentes no Cerrado. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de Brasília. Brasília, 96p., 1999.

DORNELO-SILVA, D. Fungos cercosporoides e assemelhados em plantas no Brasil. **Tese de doutorado**. Inst. Ciên. Biol. Dep. Fito. Universidade de Brasília, 2014.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic acids research**,v. 32, n. 05, p. 1792-1797, 2004.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA**. Disponível em: <a href="https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/fungushost/new\_frameFungusHostReport.cfm">https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/fungushost/new\_frameFungusHostReport.cfm</a>>. Acessado em: 23/01/2018a.

FIRMINO, A. L.; PINHO, D. B.; PEREIRA, O. L. Three new cercosporoid fungi from the Brazilian Atlantic Forest. **Mycotaxon**, v. 123, p. 343-352, 2013.

FRIES, E. M. Summa vegetabilium Scandinaviae. v. 2, p. 259-572, 1849a.

FRIES, E. Summa vegetabilium Scandinaviae. **Typographia Academica**, Uppsala, v. 2, p. 500, 1849b.

FUCKEL, K.W.G. L. **Hedwigia**. v. 2, n. 15, p. 133-134, 1863.

FURLANETTO, C.; DIANESE, J. C. Some *Pseudocercospora* species and a new *Prathigada* species from the Braziliam cerrado. **Mycological Research**, v. 103, p. 1203-1209, 1999.

GONZÁLEZ, F. R.; CIFERRI, R.Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural.**Biologica**, v. 27, p. 80, 1927.

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

GUATIMOSIM, E.; SCHWARTSBURD, P. B.; BARRETO, R. W.; CROUS, P. W. Novel fungi from an ancient niche. Cercosporoid and related sexual morphs on ferns. **Persoonia**, v. 37, p. 106-141, 2016.

GUO, Y. L.; HSIEH, W. H. The genus *Pseudocercospora* in China. Beijing: International Academic Publishers. **Mycosyst Monograph**, v. 2, p. 1–388, 1995.

GUO, Y. L.; LIU, X. J. Studies on the genus *Pseudocercospora* in China. I. **Mycosystema**, v. 2, p. 225-240, 1989.

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

HAWKSWORTH, D. L.; CROUS, P. W.; REDHEAD, S. A.; *et al.* The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. **IMA Fungus**, v. 2, p. 105-112, 2011.

HAWKSWORTH, D. L. Global species numbers of fungi: are tropical studies and molecular approaches contributing to a more robust estimate? **Biodiversity and Conservation**, v. 21, n. 9, p. 2425- 2433, 2012.

HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Fungos cercosporoides sobre plantas nativas do Cerrado. **Tese de Doutorado**, UnB. 272 p, 2000.

HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; BRAUN, U.; DIANESE, J. C. Cercosporoid hyphomycetes on malpighiaceous hosts from the Brazilian Cerrado: species of *Pseudocercospora* on hosts belonging to *Byrsonima*. **Mycological Progress**,v. 13, p. 193-210, 2014.

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

HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; DIANESE, J. C. New cercosporoid fungi from the Brazilian Cerrado 1. Species on hosts of the families *Anacardiaceae*. **Mycotaxon**, v. 106, p. 41-63, 2008.

HIBBETT, D.; ABARENKOV, K.; KÕLJALG, U.; et al. Sequence-based classification and identification of Fungi. **Mycologia**, v. 108, n. 6, p. 1049-1068, 2016.

HOOG, G. S.; ENDE, A. H. G. Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous Basidiomycetes. **Mycoses**, v. 41, n. 5-6, p. 183-189, 1998.

HSIEH, W. H.; GUO, T. K. *Cercospora* and Similar Fungi from Taiwan. **Taipei: Maw Chang Book Co**, 1990. p. ???

HYDE, K. D.; ALCORN, J. L. Some disease-associated microorganisms on plants of Cape York Peninsula and Torres Strait Islands. **Australian Plant Pathology**, v. 22, p. 73-83, 1993.

INÁCIO, C. A.; DIANESE, J. C. Foliicolous fungi on *Tabebuia* species from the Cerrado. **Mycological Progress**, v. 5, p. 120–127, 2006.

INÁCIO, C. A.; DIANESE, J. C. Some foliicolous fungi on *Tabebuia* species. **MycoloicalResearch**, v. 102, n. 6, p. 695–708, 1998.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia**. Editora Agronômica Ceres Ltda, v. 2, São Paulo, p. 165-180, 2005.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

LEUNG, H. Y. M.; GOH, T. K.; HYDE, K. D. *Pseudocercospora carpentariae*. IMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, n° 1313. Wallingford: **CAB International**, 1997.

LIU, Z.et al. Taxonomy and phylogeny of cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) from China 1. **Phytotaxa**, v. 278, n. 3, p. 212-224, 2016.

LOHMANN, L. G. 2015. Bignoniaceae em Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114257">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114257</a>>. Acessado em: 28/01/2018a.

MACHADO, R. B.; NETO, M. B. R.; PEREIRA, P. G. P.; *et al.* Estimativa de perdas de área do Cerrado brasileiro. Relatório Técnico publicado. **Conservação Internacional**, Brasília, 2004.

MATTOS, J.R. **Loefgrenia**, v. 50, p. 2, 1970.

MAU, B.; NEWTON, M.; LARGET, B. Bayesian phylogenetic inference via markov chain montecarlo methods. **Biometrics**, v. 55, p.1-12, 1999.

MCNEILL, J.; BARRIE, F. R.; BUCK, W. R.; *et al.* International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code) adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne. Australia, July 2011. **Königsten: Koeltz ScientificBooks**, 2012.

MMA. Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite: monitoramento do bioma cerrado 2010-2011. **Ministério do Meio Ambiente**. Diponível em: <a href="http://www.mma.gov.br/publicacoes/biomas/category/62cerrado">http://www.mma.gov.br/publicacoes/biomas/category/62cerrado</a> ?download=1138:monitoramento-do-desmatamento-dos-biomas-brasileiros-por sat%C3%A9lite-cerrado-cerrado-2010-2011>. Acessado em: 03/01/2018.

MUCHOVEJ, J. J.; FERREIRA, F. A. A new species of *Phaeoramularia* from Brasil. **Mycologia**, v. 73, p. 345–347, 1981.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

**NAKASHIMA, C.; ARAKI, I.; KOBAYASHI, T.** Addition and re-examination of Japanese species belonging to the genus *Cercospora* and allied genera. X: newly recorded species from Japan (5). **Mycoscience**, v. 52, p. 253-259, 2011.

NAKASHIMA, Chiharu et al. Species diversity of *Pseudocercospora* from far East Asia. **Mycological Progress**, v. 15, n. 10-11, p. 1093-1117, 2016.

NGUANHOM, J.; CHEEWANGKOON, R.; GROENEWALD, J. Z.; BRAUN, U.; TO ANUN, C.; CROUS, P. W. Taxonomy and phylogeny of *Cercospora* spp. From Northern Thailand. **Phytotaxa**, v. 233, n. 1, p. 27-48, 2015.

PARREIRA, D. F.; SILVA, M.; PEREIRA, O. L.; *et al.* Cercosporoid hyphomycetes associated with *Tibouchina herbaceae* (Melastomataceae) in Brazil. **Mycological Progress**, v. 13, p. 691-702, 2014.

PEREIRA, O. L.; BARRETO, R. W. *Pseudocercospora palicoureae* sp. nov. associated with the toxic rubiaceous weed *Palicourea marcgravii* in Brazil, with observations on its mycobiota. **Fungal Diversity**, v. 23, p. 243-253, 2006.

PEREIRA, O. L.; BARRETO, R. W. The micobiota de weed *Mitracarpus hirtus* in Minas Gerais (Brazil), whith particular reference to fungal pathogens for biological control. **Australasian Plant Pathology**, v. 34, p. 41-50, 2005.

PHENGSINTHAM, P.; CHUKEATIROTE, E.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D.; BRAUN, U. Tropical phytopathogens 2: *Pseudocercospora fuligena*. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 2, n. 1, p. 57–62, 2012.

PINHO, D. B.; FIRMINO, A. L.; FERREIRA-JUNIOR, W. G.; PEREIRA, O. L. An efficient protocol for DNA extraction from Meliolales and the description of *Meliola centellae* sp. nov. **Mycotaxon**, v. 122, n. 1, p. 333-345, 2012.

PITA, J. D.; SANTOS, P. C. M.; OLIVEIRA, F. C.; *et al.* Primeiro relato de *Phaeoramularia tabebuiae* J.J. Muchovej & F.A. Ferreira em ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* nichols.) (Bignoniaceae) no estado do Pará. **60ª Reunião Anual da SBPC**, Campinas, São Paulo, 2008.

POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic biology**, v. 53, n. 5, p. 793-808, 2004.

RADISEK, S.; LESKOSEK, G.; JAKSE, J.; JAVORNIK, B. Occurrence of *Cercospora cantuariensis* on hop in Austria and Slovenia. *New Disease Reports*, v. 17, p. 27, 2008.

RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal of molecular evolution**, v. 43, n. 3, p. 304-311, 1996.

RENNER, S. S. A return to Linnaeus's focus on diagnosis, not description: The use of DNA characters in the formal naming of species. **Systematic Biology**, v. 65, n. 6, p. 1085-1095, 2016.

ROCHA, F. B.; HANADA, R. E.; ALBUQUERQUE, S. T.; BARRETO, R. W. *Pseudocercospora piperis* associated with leaf spots on *Piper aduncum* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 8, p. 101-103, 2013.

ROCHA, F. B.; SOARES, D. J.; BARRETO, R. W. *Pseudocercospora* species on Piperaceae from Viçosa, Minas Gerais, Brazil. **Mycological Progress**, v. 7, p. 249-252, 2008.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**,v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.

SACCARDO, P.A. Fungi boreali-americani. Michelia, v. 2, n. 8, p.564-582, 1882.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: Ecologia e Flora. Vol 2. **Embrapa-Cerrados: Brasilia, Brazil**, 2008.

SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. M. Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação. **Ministério do Meio Ambiente**, Brasília-DF, 439 p., 2005.

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

SILVA, F. A. M.; ASSAD, E. D.; STEINKE, E. T.; MÜLLER, A. G. Clima do Bioma Cerrado. In: Agricultura Tropical: Quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas. **Embrapa Informações Tecnológicas**, ed. 1, cap. 2, Brasília, DF, 56p., 2008.

SILVA, M.; BARRETO, R. W.; PEREIRA, O. L. Fungal pathogens of "cat's claws" from Brazil for biocontrol of *Macfadyena unguis-cati*. **Mycotaxon**, v. 119, p. 181-195, 2012.

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

SILVA, M. D.; PEREIRA, O. L. A new species of *Pseudocercospora* on *Palicourea rigida* (Rubiaceae) from Minas Gerais, Brazil. **Mycotaxon**, v. 102, p. 261-266, 2007.

SOARES, D. J.; BARRETO, R. W. Fungal pathogens of the invasive riparian weed *Hedychium coronarium* from Brazil and their potential for biological control. **Fungal Diversity**, v. 28, p. 85-96, 2008.

SPEGAZZINI, C. L. Fungi argentini. **Anales de la sociedad científica argentina**, v. 13, n. 1, p. 23, 1882.

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

STEVENS, F. L. Porto Rican Fungi, old and new. **Illinoys academy of science**, v. 10, p. 212, 1917.

SYDOW, H. Beschreibungen neuer südafrikanischer Pilze-VI. **Annales Mycologici**, v. 33, p. 234, 1935.

SYDOW, H. Fungi in itineri costaricensi collecti. **Annales mycologici**., v. 25, v.1, p. 141, 1927.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary

distance, and maximum parsimony methods. **Molecular biology and evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

THARP, B. C. Texas parasitic fungi. **Mycologia**, v. 2, n. 9, p. 109, 1917.

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

VERKLEY, G. J. M.; CROUS, P. W.; GROENEWALD, J. Z.; BRAUN, U.; APTROOT, A. *Mycosphaerellapunctiformis* revisited: morphology, phylogeny, and epitypification of the type species of the genus *Mycosphaerella* (Dothideales, Ascomycota). **MycologicalResearch**, v. 108, n. 11, p. 1271–1282, 2004.

VIDEIRA, S. I. R.; GROENEWALD, J. Z.; NAKASHIMA, C.; BRAUN, U.; BARRETO, R. W.; de WIT, P. J. G. M.; CROUS, P. W. Mycosphaerellaceae – Chaos or clarity?. **Studies in Mycology**, v. 87, p. 257–421, 2017.

VILGALYS, R.; HESTER, M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. **Journal of bacteriology**, v. 172, n. 8, p. 4238-4246, 1990.

WINGFIELD, M. J.; DE BEER, Z. W.; SLIPPERS, B.; *et al.* One fungus, one name promotes progressive plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, p. 604-613, 2012.

YEN, J. M.; LIM, G. *Cercospora* and allied genera of Singapore and the Malay Peninsula. **The Gardens Bulleti Singapore**, v. 33, p. 186, 1980.

ZAMBRANO, S. M.V. Taxonomia de fungos associados a plantas do Cerrado do Mato Grosso e Distrito Federal. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de Brasília. Brasília, 155 p., 2016.