



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA MICROBIANA

**MORFOTAXONOMIA E FILOGENIA MOLECULAR DE PUCCINIALES DO
CERRADO BRASILEIRO**

ERICA SANTOS DO CARMO DE SOUZA

BRASÍLIA-DF

2016

ERICA SANTOS DO CARMO DE SOUZA

**MORFOTAXONOMIA E FILOGENIA MOLECULAR DE PUCCINIALES DO
CERRADO BRASILEIRO**

Tese apresentada à Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana.

Orientador: Prof. José Carmine Dianese

BRASÍLIA-DF

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

SOUZA, Erica Santos do Carmo

Morfotaxonomia e Filogenia Molecular de Pucciniales do Cerrado Brasileiro / Erica Santos do Carmo de Souza. – Brasília, DF [s.n.], 2016

Número de páginas p. 350: il.

Tese (doutorado). Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília/ Programa de Pós-graduação em Biologia Microbiana.

Orientador: Dr. José Carmine Dianese

Bibliografia.

1. Micodiversidade. 2. Pucciniomycetes. 3. Análise Filogenética 4. Savana Brasileira

I. Título. II. Programa de Pós-graduação em Biologia Microbiana

Trabalho realizado nos laboratórios dos Departamentos de Biologia Celular e Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do Professor José Carmine Dianese, com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), do Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio-Cerrado) e da Fundação de apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF).

MORFOTAXONOMIA E FILOGENIA MOLECULAR DE PUCCINIALES DO CERRADO BRASILEIRO

ERICA SANTOS DO CARMO DE SOUZA

TESE APROVADA em 15 de dezembro de 2016 por:

Prof. Adalberto C. Café Filho
Examinador

Prof. Paulo Eduardo Aguiar Câmara
Examinador Externo

Prof. Danilo Batista Pinho
Examinador

Prof. Robert Neil Gerard Miller
Examinador

Prof. José Carmine Dianese
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA-DF

2016

Dedico este trabalho à minha família pelo amor incondicional, apoio e confiança.

“As pessoas que vencem neste mundo, são as que procuram as circunstâncias de que precisam e, quando não as encontram, as criam.”

(Bernard Shaw)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela minha vida, por ter me proporcionado integridade física e mental, por Ele abrir as portas para as minhas conquistas e por ser o condutor do meu caminho me dando uma vivência abençoada.

Ao meu orientador, Professor José Carmine Dianese, pela confiança em meu trabalho, pelos seus valiosos ensinamentos e por ser espelho de motivação e determinação pela carreira científica.

Ao professor Robert Neil Gerard Miller, pela amizade, ensinamentos e por disponibilizar o laboratório para a realização de parte deste trabalho.

À Universidade de Brasília, especialmente aos Departamentos de Fitopatologia e de Biologia Celular, pela oportunidade da execução deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e ao Programa de Pesquisa em Biodiversidade – CNPq/MCTI (PPBio-Cerrado) pelo apoio financeiro ao projeto que possibilitou a realização da pesquisa.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) pelo apoio nas despesas de publicações dos trabalhos em eventos nacionais e internacionais.

Ao Jardim Botânico de Brasília (JBB) e à Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR – IBGE) por autorizar a realização de coletas das plantas hospedeiras, contribuindo para a execução e êxito deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora: Prof. Robert Neil Gerard Miller, Prof. Danilo Batista Pinho, Prof. Paulo Eduardo Aguiar Câmara, Prof. Adalberto Corrêa Café Filho, pelas críticas que muito contribuíram para a melhoria do texto da tese.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia: Kamila Araújo, Ribamar Frazão e, principalmente, ao José César Castro pela amizade e por proporcionar condições favoráveis ao desenvolvimento deste trabalho e por me ajudar intensivamente nas coletas.

À Professora Mariza Sanchez (*in memorian*), ex curadora da Coleção Micológica do Herbário UB, por todo o seu carinho, cuidado e apoio para a realização deste trabalho.

Às alunas que realizaram estágio comigo: Monique Resende, Caroline Rodrigues e Fabíola Turiel, pela ajuda nas atividades rotineiras do laboratório e amizade conquistada.

Ao nosso grupo de estudos em Micologia: Bruno Souza, Débora Guterres, Leandro Agra, William Soares, Zuleide Chaves, Bianca Samay, Camila Pereira, Aline da Silva, Sérgio Zambrano, pela amizade, ajuda nas atividades de laboratório, coletas e pelo compartilhamento mútuo de conhecimentos.

À Glaucia Midorikawa, pela amizade, paciência e pelos ensinamentos técnicos na área molecular.

Ao Prof. José Elias (*in memorian*), Profa. Mariza Sanchez (*in memorian*), Prof. Juvenil Cares, Marcelo Kuhlmann e Jair Eustáquio pela ajuda na identificação das plantas hospedeiras.

À Ingrid e Shayene do laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura pela ajuda na execução das fotos.

Aos Professores dos Programas de Pós-graduação em Fitopatologia e de Pós-graduação em Biologia Microbiana, pela arte de ensinar e transferir experiências construtoras do caráter profissional, Adalberto Café, Beatriz Dolabela, Carlos Uesugi, Cecília Favali, Cláudio Costa, Cleber Furlanetto, Consuelo de Lima Danilo Pinho, Denise Vilela, Helson Vale, José Carmine Dianese, Juvenil Cares, Luiz Blum, Marisa Ferreira, Renato Resende, Ricardo Kruger, Rita de

Cássia, Robert Miller e Tatsuya Nagata. A vocês, a minha admiração pela competência acadêmica.

À secretária Luciana Medeiros do IB pela amizade e ajuda nos processos burocráticos.

À Profa. e amiga Rita de Cássia pelo apoio e incentivo na área acadêmica e pessoal.

Ao Prof. Danilo Batista Pinho, pela amizade e ensinamentos relacionados aos trabalhos em filogenia molecular.

À Rafaela Borges, Pedro Verlage e Daniel Lage pelas amostras fúngicas coletadas e incluídas neste trabalho.

Ao William Soares pela amizade, parceria e incentivo, sobretudo nos momentos mais difíceis.

Aos amigos Justino Dias e Débora Guterres por sempre deixar o ambiente mais alegre e descontraído, pela amizade, apoio e pela prontidão em me ajudar sempre.

As amigas Fabiane Brito e Karina Nascimento, pela amizade e confiança.

As “migas” da UnB: Caroline Amaral, Catharine Abreu, Flávia Milene e Geisianny Augusta pelos grandes momentos de alegria, desabafos, conselhos e, principalmente, pela amizade e consideração.

Aos colegas de curso: Gláucia Figueiró, Daniela Rossato, Nancy Nino, Carina Lopes, Cristiano Silva, Cecília Rodrigues, Cléia Cabral, Luciane Reis, Josiane Goulart, Marcelo Rennó, Pollyana Hermenegildo, Elenice Barbosa e Maurício Rossato pela amizade e bons momentos de descontração.

Aos colegas do Laboratório de Interação Planta Praga (Microbiologia) do Departamento de Biologia Celular: Rosane Mansan e Gabriel Alves pela força, amizade e ajuda nas atividades do laboratório.

Aos meus amigos “Amanitas” Vanessa Alves, Thais Torquato, Milton Lima e Eduardo Lima por toda amizade verdadeira, bom humor e companheirismo.

Ao meu amigo e incentivador Prof. Milton Lima, exemplo de empolgação, dedicação e amor à profissão. Muito obrigada por todos os conselhos, ensinamentos, motivação e pela ajuda nas coletas das plantas hospedeiras.

À minha mãe América e aos meus irmãos, Eduardo, Samuel, Simeão e Sizaltino, pelo amor incondicional, apoio e confiança em todos os momentos da minha vida.

Ao Helson Mário pelo carinho, companheirismo, conselhos, incentivo e apoio. Agradeço também pela companhia e ajuda na realização de algumas coletas.

À minha prima Edvânia por sempre me dar força e me apoiar, sobretudo nos momentos mais difíceis estando ao meu lado.

A minha tia Maria de Jesus e ao casal de primos Michele e Robson pela acolhida, admiração, incentivo e força em todos os momentos sempre colocando Deus a frente de tudo em nossas vidas.

Ao meu pai Sezinho pelas orações e torcida por meu sucesso.

A toda a minha família pela admiração e incentivo constante.

À minha amiga Raquel Alves, por compartilhar desafios, incertezas, e mais que isto, pelo companheirismo nas alegrias e tristezas, cumplicidade e crédito.

As amigas Eliane Lagasse e Daiane Aparecida, as quais tenho muita satisfação em compartilhar uma amizade intensa concretizada na confiança. Muito obrigada por torcerem e fazerem parte da minha história.

Aos meus padrinhos Izabel Lagasse e Edson Ferreira e a toda a nossa família, por todo cuidado, afeto e consideração.

A todos que de alguma maneira contribuíram para o êxito deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. Gêneros e espécies novas publicadas entre 1993-2016 em pesquisas desenvolvidas na Coleção Micológica do Herbário UB 14

Tabela 2. Número de espécies de Pucciniales pertencentes aos gêneros relatados no Brasil até 2016..... 22

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Comparação entre coletas de *Crossopora byrsonimatis* obtidas de diferentes espécies de *Byrsonima*.....142

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Espécies de Pucciniales do Cerrado e todas as outras espécies incluídas neste estudo utilizados na análise filogenética.....226

Tabela 2. Iniciadores utilizados para amplificação da região 28S do rDNA de Pucciniales.233

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Números de acessos do GenBank de *Uromyces hawkswothii* e de todas as outras espécies incluídas no estudo266

CAPÍTULO 4

Tabela 1. Iniciadores e respectivas temperaturas de anelamento utilizadas na PCR287

Tabela 2. Acessos do GenBank de *Colletotrichum truncatum* (Endofítico e Acervular) e todas as outras espécies incluídas neste estudo292

Tabela 3. Acessos do GenBank de *Uromyces euphorbiae* e de todas as outras espécies incluídas neste estudo295

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1. Distribuição geral dos Biomas Brasileiros. 6

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 2. Ciclo de vida macrocíclico heteroécio de *Puccinia graminis tritici*..... 30

Figura 3. Cístron de genes e regiões espaçadoras do DNA ribossomal nuclear. 38

CAPÍTULO 1

Figura 4. Esquema adotado por Cummins & Hiratsuka (2003) para facilitar a descrição dos espermogônios por meio de uma divisão em Grupos e Tipos e usado no presente trabalho....74

Figura 5. Designações e desenhos esquemáticos das fases assexuadas (écios e urédios) dos Paucinales criados por Hiratsuka & Hiratsuka (1980) e adotados por Cummins & Hiratsuka (2003), para facilitar a descrição de famílias e gêneros e usados neste trabalho 75

Figura 6. *Chaconia brasiliensis* em folhas de *Stryphnodendron adstringens*. 80

Figura 7 (A-J). *Chaconia ingae*, fase assexual em folhas de *Inga sessilis* 83

Figura 8 (A-G). *Chaconia ingae*, fase sexual em folhas de *Inga laurina*..... 84

Figura 9 (A-L). *Chaconia maprouneae*, forma assexual em folhas de *Maprounea guianensis* 86

Figura 10 (A-H). *Aplopsora hennenii*, fase uredínica em folhas de *Qualea multiflora* 90

Figura 11 (A-L). *Kuehneola loeseneriana*, fase uredínica em folhas de *Rubus brasiliensis*.. 97

Figura 12 (A-E). *Skierka divinopolensis* em folhas de *Matayba guianensis* 101

Figura 13 (A-L). *S. divinopolensis* em folhas de *Matayba guianensis*.....102

Figura 14 (A-K). *Kimuromyces cerradensis* em folhas de *Astronium fraxinifolium*..... 107

Figura 15 (A-F). Forma espermogonial de *Dasyscypha gregaria* em *Xylopia aromatica* 112

Figura 16 (A-I). Formas ecídica e teliospórica de *D. gregaria* em *Xylopia aromatica*..... 113

Figura 17 (A-H). *Mimema venturae* em *Dalbergia micolobium*.. 117

Figura 18 (A-H). Forma uredínica e télica de <i>Porotenus memorae</i> em <i>Adenocalymma bipinnatum</i> (= <i>Memora bipinata</i>)	121
Figura 19 (A-K). <i>Prospodium impolitum</i> em folha de <i>Pyrostegia venusta</i>	124
Figura 20 (A-E). Forma uredínica de <i>Phakopsora bluteri</i> em folha de <i>Kielmeyera coriácea</i>	128
Figura 21 (A-D). Forma uredínica de <i>Phakopsora chavesii</i> em folhas de <i>Terminalia phaeocarpa</i>	130
Figura 22 (A-F). Fase uredínica de <i>Phakopsora coca</i> em folhas de <i>Erythroxylum deciduum</i>	132
Figura 23 (A-H). <i>Batistopsora crucis-filii</i> em folhas de <i>Anonna tomentosa</i>	136
Figura 24 (A-H). Fase uredínica de <i>Catenulopsora henneneae</i> em folhas de <i>Pouteria torta</i>	139
Figura 25 (A-G). Fase uredínica de <i>Crossopsora byrsonimatis</i> em folhas de <i>Byrsonima coccolobifolia</i>	146
Figura 26 (A-G). <i>Crossopsora byrsonimatis</i> em folhas de <i>Byrsonima crassa</i>	147
Figura 27 (A-D). <i>Crossopsora byrsonimatis</i> em folhas de <i>Byrsonima crassa</i>	148
Figura 28 (A-K). <i>Crossopsora byrsonimatis</i> em folhas de <i>Byrsonima verbacifolia</i> teliósporos.....	149
Figura 29 (A-K). <i>Crossopsora byrsonimatis</i> em folhas de <i>Byrsonima laxiflora</i>	150
Figura 30 (A-G). <i>Crossopsora byrsonimatis</i> em brotação jovem de <i>Byrsonima pachyphylla</i>	151
Figura 31 (A-F). Forma uredínica de <i>Crossopsora hymeneae</i> em folhas de <i>Hymenaea stigonocarpa</i>	153
Figura 32 (A-H). <i>Puccinia banisteriae</i> em folhas de <i>Banisteriopsis gardneriana</i>	157
Figura 33 (A-G). <i>Puccinia barbatula</i> em folhas de <i>Heteropterys byrsonimifolia</i>	160
Figura 34 (A-G). <i>Puccinia pipta</i> em folhas de <i>Piptocarpha macropoda</i>	163
Figura 35 (A-H). <i>Puccinia pipta</i> em folhas de <i>Piptocarpha rotundifolia</i>	164
Figura 36 (A-E). <i>Puccinia arechavaletae</i> em folhas de <i>Serjania lethalis</i>	167
Figura 37 (A-F). <i>Puccinia psidii</i> em folhas de <i>Syzygium cumini</i>	171
Figura 38 (A-F). Forma uredínica de <i>Ravenelia geminipora</i> em <i>Platymaenia reticulata</i>	179

Figura 39 (A-G). Forma télica de <i>Ravenelia geminipora</i> em <i>Platymaenia reticulata</i> vista em microscopia de luz.....	180
Figura 40 (A-G). Forma ecídica e télica de <i>Ravenelia hieronymi</i> em folhas de <i>Acacia farnesiana</i> vistas em microscopia de luz.....	182
Figura 41 (A-J). <i>Ravenelia</i> sp. em folhas de <i>Eriosema rigidum</i>	184
Figura 42 (A-J). <i>Sphaerophragmium albiziae</i> em folhas de <i>Albizia lebeck</i>	187
Figura 43 (A-H). <i>Diorchidium copaiferae</i> em folhas de <i>Copaifera langsdorffii</i>	190
Figura 44 (A-G). <i>Esalque holwayi</i> em bagens de <i>Poincianella ferrea</i>	193
Figura 45 (A-H). <i>Cerradoa palmaea</i> em folhas de <i>Syagrus comosa</i>	196
Figura 46 (A-D). <i>Desmella</i> sp. em folha de <i>Thelypteris</i> sp.	198
Figura 47. <i>Aecidium duguetiae</i> em folhas de <i>Duguetia furfuraceae</i>	200
Figura 48. (A-H). <i>Uredo</i> sp. em folhas de <i>Pera glabrata</i>	202
Figura 49. (A-G). <i>Uredo</i> sp. em folhas de <i>Pradosia brevipes</i>	204
Figura 50. (A-G). <i>Uredo</i> sp. (UB 22345) em folhas de <i>Solanum</i> sp.	206
Figura 51. (A-D). <i>Uredo</i> sp. (UB22360) em folhas de <i>Solanum</i> sp.....	207

CAPÍTULO 2

Figura 1. Localização dos iniciadores utilizados para amplificar uma região parcial do 28S do rDNA.....	233
Figura 2. Árvore filogenética inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana com base nas sequências da região 28S do rDNA de representantes da ordem Pucciniales.....	237
Figura 3. Representação da árvore filogenética de espécies da ordem Pucciniales subdividida em 6 setores.....	238
Figura 4. Setor 1 da árvore filogenética mostrando em detalhe os clados de 1 a 4 e o subclado 5.1 do clado 5.....	240
Figura 5. Setor 2 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os subclados 5.2, 5.3 e 5.4 do clado 5. Além disso também são mostrados os clados 6 e 7.....	245
Figura 6. Setor 3 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os clados de 8 a 13.....	248

Figura 7. Setor 4 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os clados 14 a 16.....	251
Figura 8. Setor 5 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe o clado 17.....	253
Figura 9. Setor 6 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os clados 18 a 20.....	254

CAPÍTULO 3

Figura 1. Árvore filogenética inferida a partir da análise Bayesiana com base nas sequências de LSU de <i>Uromyces</i> e taxa relacionados.....	270
Figura 2. Fase ecídica de <i>Uromyces hawksworthii</i> em folhas de <i>Phthirusa stelis</i>	274
Figura 3. Fase telial de <i>Uromyces hawksworthii</i> (UB Mycol Col. 22875.)	275

CAPÍTULO 4

Figura 1. Árvore filogenética inferida a partir da análise de Máxima Verossimilhança e sob Inferência Bayesiana com base nas sequências concatenadas de ITS, TUB2, GAPDH e HIS de espécies do complexo <i>C. truncatum</i> e de espécies de <i>Colletotrichum</i> com conídios curvados.....	293
Figura 2. Árvore filogenética inferida a partir da análise de Máxima Verossimilhança e sob Inferência Bayesiana com base nas sequências de LSU de <i>Uromyces</i> e taxa relacionados...	296
Figura 3. Principais características de <i>Colletotrichum truncatum</i> em <i>Euphorbia hirta</i>	298
Figura 4. Fase ecial de <i>Uromyces euphorbiae</i> em folhas de <i>Euphorbia hirta</i>	300
Figura 5. <i>Uromyces euphorbiae</i> em folhas de <i>Euphorbia hirta</i>	301
Figura 6. <i>Colletotrichum truncatum</i> e <i>Uromyces euphorbiae</i> em folhas de <i>Euphorbia hirta</i>	304

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMO GERAL	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
OBJETIVOS	10
REVISÃO DE LITERATURA	11
Importância e diversidade fúngica	11
Os grandes repositórios de Pucciniales do Cerrado	25
Ciclo de vida dos Pucciniales.....	27
Parasitismo e Círculo de hospedeiros dos Pucciniales.....	31
Taxonomia dos Pucciniales.....	35
Taxonomia e filogenia Molecular dos Pucciniales	36
Taxonomia molecular e filogenia de Pucciniales.....	41
REFERÊNCIAS	46
CAPÍTULO 1	65
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS PUCCINIALES DO CERRADO USADOS NAS ANÁLISES FILOGENÉTICAS	65
RESUMO	65
INTRODUÇÃO	67
MATERIAL E MÉTODOS	70
RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
Membros da Família Chaconiaceae Cummins & Y. Hiratsuka	76
Gênero <i>Chaconia</i> Juel 1897	77

Espécies de <i>Chaconia</i> do Cerrado.....	79
Gênero <i>Aplopsora</i> Mains.....	87
(Espécie-tipo: <i>Aplopsora nyssae</i> Mains).....	87
Membros da Família Phragmidiaceae Corda.....	91
<i>Kuehneola loeseneriana</i> (= <i>Uredo loeseneriana</i>). Fig. 11 (A–L).....	94
Membros da Família Pileolariaceae (Arthur) Cummins & Y. Hirats. no Cerrado.....	98
Gênero <i>Skierka</i> Raciborski no Cerrado.....	98
Membros da Família Uropyxidaceae (Arthur) Cummins & Y. Hirats no Cerrado.....	103
Gênero <i>Kimuromyces</i> Dianese, Santos, Medeiros & C. Furlaneto.....	103
Gênero <i>Dasyspora</i> Berk. & M.A. Curtis.....	108
Gênero <i>Mimema</i> H. S. Jackson no Cerrado.....	114
Gênero <i>Prospodium</i> Arthur.....	122
Membros da Família Phakopsoraceae (Arthur) Cummins & Y. Hiratsuka.....	125
Gênero <i>Phakopsora</i> Dietel.....	125
Gênero <i>Batistopsora</i> Dianese, Medeiros & Santos.....	132
Gênero <i>Catenulopsora</i> B. B. Mundkur.....	137
Gênero <i>Crossopsora</i> H. Sydow & P. Sydow.....	140
Membros da Família Pucciniaceae Chevall.....	154
Gênero <i>Puccinia</i> Pers. ex Pers (Espécie-tipo: <i>P. graminis</i>).....	155
Gênero <i>Uromyces</i> (Link) Unger.....	172
Membros da Família Raveneliaceae (= Sphaerophragmiaceae).....	173
Gênero <i>Ravenelia</i> Berk.....	174
Gênero <i>Sphaerophragmium</i> Magnus.....	185
Gênero <i>Diorchidium</i> Kalchbr.....	188
Gênero <i>Esalque</i> Hennen, Figueiredo & Carvalho.....	191
Gêneros e espécies <i>Incertae sedis</i>	194
Gênero <i>Cerradoa</i> J.F. Hennen & Y. Ono.....	194
Gênero <i>Desmella</i> H. Sydow & P. Sydow.....	197
Formas assexuadas de Pucciniales incluídas na análise filogenética.....	199
<i>Uredo</i> sp. (UB22281) Fig. 48 (A-H).....	201
<i>Uredo</i> sp. (UB22481) Fig. 49 (A-G).....	203

<i>Uredo</i> sp. (UB22345) Fig. 50 (A-G)	205
<i>Uredo</i> sp. (UB22360) Fig. 51 (A-D)	207
REFERÊNCIAS	209
CAPÍTULO 2	218
RELACIONAMENTO FILOGENÉTICO DE ALGUNS PUCCINIALES DO CERRADO	218
RESUMO	218
INTRODUÇÃO	220
MATERIAL E MÉTODOS	225
RESULTADOS E DISCUSSÃO	236
REFERÊNCIAS	255
CAPÍTULO 3	260
<i>Uromyces hawksworthii</i> UM NOVO NOME PARA <i>Aecidium goyazense</i> EM <i>Phthirusa stelis</i> (LORANTHACEAE) DO CERRADO BRASILEIRO (*)	260
RESUMO	260
INTRODUÇÃO	262
MATERIAL E MÉTODOS	263
RESULTADOS	269
DISCUSSÃO	276
REFERÊNCIAS	278
CAPÍTULO 4	282
INTERAÇÃO ENTRE <i>Colletotrichum truncatum</i> E <i>Uromyces euphorbiae</i> EM FOLHAS DE <i>Euphorbia hirta</i> (*)	282

INTRODUÇÃO	284
MATERIAL E MÉTODOS	285
RESULTADOS E DISCUSSÃO	291
REFERÊNCIAS	305
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	311
ANEXO 1	313
ANEXO 2	322

RESUMO GERAL

A ordem Pucciniales é um componente importante da microbiota do cerrado brasileiro, entretanto pouco se sabe sobre a sua diversidade e as informações até agora obtidas são quase que exclusivamente baseadas em aspectos morfológicos. Os estudos envolvendo a análise molecular e filogenética para fungos causadores de ferrugens no cerrado é escasso. Com o objetivo da ampliação do estudo em termos morfológicos bem como promover algum avanço em termos de suas relações filogenéticas, foram caracterizadas morfológicamente um total de 41 espécies de Pucciniales das quais destas 36 foram caracterizadas molecularmente, entre formas sexuadas e assexuadas, coletadas nos estados de Goiás, Mato Grosso, Maranhão, Minas Gerais e no Distrito Federal. No Cerrado, os fungos causadores de ferrugem foram encontrados em plantas hospedeiras das famílias Anacardiaceae, Annonaceae, Arecaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Clusiaceae, Combretaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lauraceae, Loranthaceae, Malpighiaceae Myrtaceae, Rosaceae, Sapindaceae, Sapotaceae, Solanaceae, Vochysiaceae e Thelypteridaceae. O trabalho consistiu na caracterização, ilustração e complementação de dados de vários espécimes já conhecidos ou não. Neste estudo foram incluídos membros representantes da família Pucciniaceae (*Puccinia* e *Uromyces*), Phakopsoraceae (*Phakopsora*, *Batistopsora*, *Catenulopsora* e *Crossopssora*), Raveneliaceae (*Diorchidium*, *Esalque*, *Ravenelia* e *Sphaerophragmium*), Uropyxidaceae (*Dasyspora*, *Kimuromyces* sp., *Mimema*, *Porotenus* e *Prospodium*) Chaconiaceae (*Chaconia* e *Aplopsora*), Pileolariaceae (*Skierka*) e Phragmidiaceae (*Kuehneola*). Além disso, foram incluídas no estudo espécies de classificação taxonômica incerta pertencentes aos gêneros *Cerradoa* e *Desmella* e alguns espécimes assexuais considerados simplesmente como *Aecidium* e *Uredo*. A análise filogenética foi realizada com base na região LSU do rDNA por meio de Inferência Bayesiana envolvendo os espécimes aqui estudados e demais retirados do GenBank

relacionados filogeneticamente com as famílias e enraizada por *Platygløea disciformis*. Esta é a primeira vez que foi realizado um estudo baseado em análises moleculares filogenéticas de Pucciniales do cerrado numa dimensão ampla, envolvendo membros representantes de várias famílias. Aqui foi apresentada de forma inédita a caracterização molecular de vários espécimes fúngicos pertencentes a ordem Pucciniales encontradas em plantas endêmicas e introduzidas no cerrado que enriquecerá o banco de dados do NCBI e muito contribuirá para o estudo e compreensão da filogenia da ordem em estudos posteriores. De forma geral, os dados obtidos possibilitaram o entendimento do posicionamento filogenético de apenas alguns grupos em níveis de gênero e espécies como o caso de membros componentes da família Phakopsoraceae. No presente estudo a maioria das famílias de Pucciniales como Pucciniaceae, Raveneliaceae, Uropyxidaceae e Phakopsoraceae se mostraram polifiléticas, entretanto, os dados obtidos não foram suficientes para o esclarecimento das relações filogenéticas dos membros causadores de ferrugem do cerrado neste nível hierárquico dentro da ordem, havendo a necessidade de aprofundamento das análises filogenéticas principalmente com os grupos mais esclarecidos e atualização nomenclatural de alguns espécimes com classificação taxonômica indefinida. Além disso foi realizada caracterização morfo-molecular e nova nomeação de uma espécie de *Uromyces* encontrada em *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) e um estudo sobre a interação entre *U. euphorbiae* com *Colletotrichum truncatum*, baseado em caracterização morfo-molecular de ambos os fungos envolvidos encontrados em folhas de *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae). Além de aumentar as informações sobre as espécies já conhecidas, o trabalho resultou em novos relatos de ocorrência de membros das Pucciniales em nova hospedeiras e novos locais, prováveis espécies novas, relatos de fase ou fases do ciclo de vida até então inéditas e, finalmente, algumas atualizações nomenclaturais e taxonômicas.

Palavras chave: Micodiversidade, Pucciniomycetes, Análise Filogenética e Savana Brasileira

ABSTRACT

The order Pucciniales is an important component of Brazilian Cerrado microbiota, although few is known about its biodiversity and the existent information is almost exclusively based on morphological aspects. Studies of rust fungi involving molecular and phylogenetic analysis in the Cerrado are scarce. In order to increase the morphological knowledge and promote some advance in the understandment of their phylogenetic relationships, a total of 41 Pucciniales species were morphologically characterized, among which 36 were also mollecularly characterized, including sexual and assexual forms. The specimens were collected in the states of Goiás, Mato Grosso, Maranhão, Minas Gerais and Distrito Federal. In the Cerrado, the rust fungi were found inhabiting plants of the families Anacardiaceae, Annonaceae, Arecaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Clusiaceae, Combretaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lauraceae, Loranthaceae, Malpighiaceae Myrtaceae, Rosaceae, Sapindaceae, Sapotaceae, Solanaceae, Vochysiaceae and Thelypteridaceae. This study consisted in the characterization, illustration and complementation of data about many specimens previously known or unknown. In this study were included members of Pucciniaceae (*Puccinia* and *Uromyces*), Phakopsoraceae (*Phakopsora*, *Batistopsora*, *Catenulopsora* and *Crossopsora*), Raveneliaceae (*Diorchidium*, *Esalque*, *Ravenelia* and *Sphaerophragmium*), Uropyxidaceae (*Dasyspora*, *Kimuromyces*, *Mimema*, *Porotenus* and *Prospodium*) Chaconiaceae (*Chaconia* and *Aplopsora*), Pileolariaceae (*Skierka*) and Phragmidiaceae (*Kuehneola*). Besides, in this study they were included some species of uncertain taxonomic classification belonging to the genera *Cerradoa* and *Desmella* and some assexual specimens simply considered as *Aecidium* and *Uredo*. The phylogenetic analysis based on LSU region of rDNA was realized using Bayesian Inference and included the specimens studied here and more related species obtained from GenBank and the tree was

rooted with *Platygløea disciformis*. This is the first time that a broad study based on molecular and phylogenetic analysis of Pucciniales from Cerrado is realized, including representative members of many families. Here it was presented the molecular characterization of many fungal specimens belonging to Pucciniales inhabiting endemic and exotic plants in the Cerrado, which will enrich NCBI database and contribute to study and comprehension of phylogeny of this order in posterior studies. In general, the data obtained enabled the understanding about phylogenetic placement of some groups at genera and species level, as observed in Phakopsoraceae. The majority of families as Pucciniaceae, Raveneliaceae, Uropyxidaceae and Phakopsoraceae were polyphyletic, although data were insufficient to clarify the phylogenetic relationship among rust fungi at this taxonomic level. So, it is necessary to intensify the phylogenetic analysis specially with groups more clarified and to update the nomenclature of some specimens with uncertain taxonomic classification. Furthermore, it was realized the morpho-molecular characterization and naming of a new species of *Uromyces* founded in *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) and the study of interaction between *U. euphorbiae* and *Colletotrichum truncatum* based on morpho-molecular characterization of both fungi inhabiting leaves of *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae). In addition to increase the disponible information about species already known, this study resulted in new records of occurrence of Pucciniales in new hosts and locals, probable new species, record of stadium or life cycle stadium unknown until now and, finally, some nomenclatural and taxonomic actualizations.

Key words: Mycodiversity, Pucciniomycetes, Phylogenetic Analysis, Brazilian Savanna

INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, estudos sobre diversidade microbiana são limitados em escopo, inclusive os que se referem aos fungos. Poucos trabalhos fazem referência à riqueza das espécies de fungos que compõem a microbiota dos biomas nacionais. Muitas áreas nunca foram exploradas e, certamente, um grande número de novas espécies ainda serão relatadas, descritas e taxonomicamente definidas. Um dos biomas brasileiros onde pouco se conhece sobre a diversidade fúngica é o Cerrado (Forzza et al. 2010), apesar dos esforços mais recentes onde vários gêneros e mais 150 espécies novas foram descritas pelos pesquisadores da Universidade de Brasília a partir de 1993, conforme sumarizado em Dianese et al. (1997) e Véllez-Zambrano (2016). O Bioma Cerrado é a maior savana da América do Sul. Localizado na região central do Brasil é o segundo maior bioma do país, superado apenas pela Floresta Amazônica, ocupando originalmente mais de dois milhões de km² (23 % de toda a área do país) e abrangendo uma área contínua do Distrito Federal e dos estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo e Tocantins; uma parte dos estados da Bahia, Ceará, Rondônia, sul do Maranhão e do Piauí e áreas isoladas ao norte do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima, contendo também áreas isoladas no Paraná (Ribeiro & Walter 1998) (Figura 1).

O clima mostra duas estações bem definidas, uma seca e uma chuvosa com precipitação média anual de 1500 mm, com grandes variações intra-regionais (Klink et al. 1995).

A região do Cerrado exibe uma enorme heterogeneidade espacial, estendendo-se por mais de 20 graus de latitude, com altitudes variando de quase 0 a 1800 metros. A área do



Figura 1. Distribuição geral dos Biomas Brasileiros. Encontrado em <https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/originals/50/0a/6f/500a6f3ddba117196fce114e3f6e34a2.jpg>. Acesso em dezembro de 2016.

Cerrado compõe diferentes bacias hidrográficas (Amazonas, Tocantins, Paraná, Paraguai, São Francisco e Parnaíba) e exibe uma grande diversidade de solos e climas que se refletem numa vasta e diversa biota (Cole 1986, Ribeiro & Walter 2008). Este importante bioma abriga um rico patrimônio de recursos naturais adaptados às condições climáticas e edáficas que determinam a sua existência O Cerrado é uma savana tropical na qual uma vegetação rasteira, formada principalmente por gramíneas, coexiste com árvores e arbustos esparsos (Klink et al. 1995).

Esse bioma constitui a maior savana tropical do mundo em termos de diversidade apresentando 44% de suas espécies endêmicas de plantas lenhosas (Klink & Machado 2005). O Cerrado *latu sensu* apresenta vegetação com plantas lenhosas e aparência tortuosa com

troncos e galhos retorcidos constituindo cerca de 12% de toda a flora brasileira (Ribeiro & Walter 1998). Possui diversidade estimada em 12.000 espécies de plantas nativas vasculares já catalogadas sendo 4.400 endêmicas (Mendonça et al. 1998, Mendonça et al. 2008, MMA 2016).

Dentre as plantas do Cerrado, algumas possuem potencial econômico, podendo ser domesticadas e cultivadas para produção de alimentos, a exemplo do Pequi (*Caryocar brasiliense*), Maracujás nativos (*Passiflora* spp.), Cagaita (*Eugenia dysenterica*), Pêra-do-cerrado (*Eugenia klotzchiana*), Gabiroba (*Campomanesia* spp.), Pitanga-do-cerrado (*Eugenia lutescens*), Araçá (*Psidium firmum*), Jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*), Mangaba (*Hancornia speciosa*), Bacupari (*Salacia crassifolia*), Cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*), Araticum (*Annona crassifolia*) e Barú (*Dipteryx alata*), entre outros. Além disso, mais de 200 espécies de plantas do Cerrado possuem uso como medicinal (Guarim-Neto & Moraes 2003). Acima de 400 espécies podem ser usadas na recuperação de solos degradados, como barreiras contra o vento, proteção contra a erosão, ou para criar habitat para a proliferação de predadores naturais de pragas (MMA 2016). Em contrapartida, plantas exóticas de interesse agrônômico e ornamental, são comumente introduzidas no Cerrado tornando-se hospedeiras alternativas de vários fungos associados a plantas do Cerrado, como é o caso de *Puccinia psidii*, fungo oriundo do Neotrópico, causando ferrugem em Eucalipto (*Eucalyptus* spp.), Jambeiro rosa (*Syzygium malaccense*), Jamelão (*S. cumini*) e outras mirtáceas (Dianese et al. 1984, Dianese et al. 1984, Tessmann et al. 2001).

Os solos do Cerrado são profundos e bem drenados, ácidos e de baixa fertilidade, com altos níveis de ferro e alumínio. A paisagem apresenta relevos relativamente suaves, aptos à mecanização agrícola e florestal, favorecendo o processo de agricultura comercial e implantações florestais para fins econômicos (Bayma et al. 2003).

A atividade agropecuária tem aumentado intensivamente no Cerrado nas últimas quatro décadas, resultando em uma extensa conversão e fragmentação dos espaços naturais. Aproximadamente 80% das áreas originais já sofreram alterações de alguma forma, restando apenas 20% totalmente preservada. Esta exploração desenfreada constitui algumas consequências como perdas da biodiversidade, invasão de espécies exóticas, erosão do solo, poluição de aquífero, degradação de ecossistemas, alterações no regime de queimadas e possivelmente alterações climáticas regionais. De acordo com Prevedello & Carvalho (2006) estima-se que o Cerrado pode desaparecer até 2030, se medidas sustentáveis não forem tomadas.

Diante deste cenário, o Cerrado juntamente com a Mata Atlântica é considerado um *hotspot* mundial de biodiversidade por ser um dos biomas mais ricos e, também, um dos mais ameaçados do mundo (Myers *et al.*, 2000).

Apesar do reconhecimento de sua importância biológica, de todos os *hotspots* mundiais, o Cerrado possui a menor porcentagem de áreas sob proteção integral. O Bioma apresenta 8,21% de seu território legalmente protegido por unidades de conservação; desse total, 2,85% são unidades de conservação de proteção integral, 5,36% unidades de conservação de uso sustentável, sendo que 0,07% dessas últimas são RPPNs - Reservas Particulares do Patrimônio Natural (MMA 2016).

Devido à ocupação antrópica acentuada nas últimas décadas, a degradação do Cerrado está acontecendo rapidamente e é provável a perda de ampla faixa da diversidade de plantas ali existentes e, conseqüentemente, imensurável perda da diversidade fúngica neste bioma, incapaz de sobreviver com a remoção das plantas hospedeiras (Ribeiro & Walter, 1998). Juntamente com a vegetação, os fungos sofrem os mesmos efeitos associados a ela e ao solo do Cerrado. Portanto, estudos sobre as espécies fúngicas associadas a plantas nativas do

Cerrado, têm grande urgência, pois muitas espécies para existir dependem das plantas hospedeiras.

Entre essas espécies destacam-se especialmente os fungos biotróficos, com destaque para os causadores de ferrugens pertencentes a ordem Pucciniales, parasitas de um grande número de espécies nativas do Cerrado. Cabe lembrar que a especificidade por hospedeira varia com fungos capazes de afetar espécies de diferentes gêneros, dentro de uma mesma família (e.g. *P. psidii* / família Myrtaceae), no entanto, na maioria dos casos a competência patogênica é limitada a uma única espécie hospedeira.

Sendo assim, uma vez que essas plantas hospedeiras endêmicas para o Cerrado encontram-se ameaçadas de extinção, os Pucciniales a elas associados também estarão correndo o risco de serem extintos, até mesmo antes de serem detectados e revelados à ciência.

Dados da Coleção Micológica do Herbário UB (Dianese 2000), revelam que membros da ordem Pucciniales mostram a maior incidência, entre os fungos biotróficos associados a plantas nativas do Cerrado, tornando clara a necessidade urgente de um estudo intensivo e moderno dessa importante fração da micobiota desse importante bioma.

OBJETIVOS

GERAL

- Ampliar o conhecimento sobre diversidade, taxonomia e filogenia dos fungos causadores de ferrugens (Pucciniales) em plantas nativas do Cerrado.

ESPECÍFICOS

- Identificar e posicionar filogeneticamente os espécimes de ferrugens coletados sobre plantas do Cerrado, com base em sequências da LSU do rDNA.
- Conduzir análise filogenética dos Pucciniales presentes no Cerrado com ênfase em espécies associadas a plantas endêmicas presentes neste Bioma.
- Estabelecer suas relações evolutivas utilizando os dados de sequências obtidas com os marcadores moleculares utilizados.
- Contribuir para o esclarecimento das relações co-evolutivas dos membros de Pucciniales e suas respectivas plantas hospedeiras.
- Ilustrar cada espécie estudada com fotos de alto padrão.
- Identificar, descrever e publicar possíveis novas espécies ou ocorrências de Pucciniales em plantas nativas e cultivadas no Cerrado com suporte de dados morfológicos e moleculares.

Importância e diversidade fúngica

Os fungos são importantes para indústria alimentícia na fabricação de bebidas como cervejas e vinhos, na fabricação de queijos e fermentos para bolos e pães e no consumo de cogumelos comestíveis .

Na área médica e farmacêutica atuam como causadores de doenças graves em pessoas com imunidade baixa podendo levar a morte. São causadores de micoses em humanos e animais, porém, em contrapartida, são utilizados como componentes de vários medicamentos.

Em biotecnologia são potenciais produtores de metabólitos úteis, utilizados na fermentação para a produção de álcool.

Para a agricultura são potencialmente importantes no controle biológico de insetos, nematoides, aracnídeos, plantas invasoras e outros fungos. Além disso, estabelecem associações micorrízicas com várias famílias de plantas e também em simbioses com insetos. Entretanto, são responsáveis por mais de 70% das doenças em plantas cultivadas, são causadores de podridão em madeiras, além de gerar micotoxinas em grãos armazenados, nocivas ao homem e aos animais.

Ecologicamente, são os maiores responsáveis pela degradação e ciclagem de matéria orgânica (Alexopoulos et al. 1996, Maia & Carvalho Júnior 2010, Cantrell et al., 2011).

A diversidade global de fungos é estimada de várias maneiras, variando de 1,5 milhões de espécies (Hawksworth 1991, 2012), até aproximadamente 5,1 milhões (Blackwell 2011), com apenas aproximadamente 135.000 conhecidas e catalogadas (Mora et al., 2011; Hibbett et al., 2016). Lewinsohn & Prado (2005) estimaram o número de espécies de fungos conhecidas no Brasil em cerca de 15.000 e estimaram o total para o país de aproximadamente

264.000. Forzza et al. (2010) registraram 78 ordens, 924 gêneros e 3.608 espécies de fungos, sendo que Minter & da Silva (2007) listaram 4.325 espécies de fungos estudados apenas por Augusto Chaves Batista e colaboradores.

Segundo Maia et al. (2015), foram relatadas para o Brasil, 5.719 espécies de fungos distribuídas em 1.246 gêneros e 102 ordens, consistindo em considerável aumento em relação a 2010. A maioria das espécies pertencem aos filos Basidiomycota (2.741 espécies, em 22 ordens) e Ascomycota (1.881 espécies, em 41 ordens). A Mata Atlântica possui a maior quantidade de registros, com 3.017 espécies, seguido pela Amazônia (1.050), Caatinga (999), Cerrado (638), Pampa (84) e Pantanal e (35). A região Nordeste tem a maior riqueza (2.617 espécies), seguida pelo Sudeste (2.252), Sul (1.995), Norte (1.301) e Centro-Oeste (488 espécies). Em relação aos Estados da Federação, São Paulo (1.846 espécies), Pernambuco (1.611) e Rio Grande do Sul (1.377) possuem o maior número de espécies conhecidas.

Hennen et al. (2005) demonstraram que a diversidade dos Pucciniales em diferentes biomas brasileiros é incontestável, com base na realização de inventários em todos os tipos de vegetação, desde o semi-árido às florestas tropicais e equatoriais, incluindo o Cerrado.

O conhecimento da micobiota em diferentes habitats no bioma Cerrado está em expansão, com estudos incluindo leveduras, fungos filamentosos e endofíticos, em frutos e folhas de plantas do Cerrado (Sperandio 2012, Sperandio et al., 2015). Mais recentemente, surgiram estudos envolvendo metagenômica (Castro et al. 2008, Castro et al. 2016, Bruce et al. 2012, Araújo et al. 2012), a partir de amostras ambientais da comunidade microbiana do solo de diferentes fitofisionomias do Cerrado.

Valência & Chambergo (2013) descreveram o progresso na pesquisa micológica brasileira com ênfase nas espécies produtoras de enzimas com potencial para a degradação da biomassa e aplicação produção de bioenergia.

Seguramente uma grande contribuição para os estudos da micodiversidade do Cerrado foi realizada pela Universidade de Brasília com início em meados de 1993 (Dianese et al. 1993, Dianese et al. 1997, Véllez-Zambrano 2016), conforme mostra a Tabela 1. Com o apoio da Fundação Banco do Brasil e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) foi implantada a Coleção Micológica do Herbário UB (UB Col Micol), atualmente com mais de 23.000 exsicatas. A grande maioria do acervo da UB Col Micol está ainda em fase de estudo, com grande parte do material classificado apenas em termos de grandes grupos (basidiomicetos, ascomicetos e suas formas conidiais).

Tabela 1. Gêneros e espécies novas publicadas entre 1993-2016 em pesquisas desenvolvidas na Coleção Micológica do Herbário UB.

	Espécies-tipo de gêneros novos
1	<i>Batistopsora crucis-filli</i> Dianese, Medeiros & Santos, 1993 ³ ●
2	<i>Chaetothyriomyces brasiliensis</i> Pereira-Carvalho, Dornelo-Silva, Inácio & Dianese 2009 ²⁶
3	<i>Echinocodiophorum cerradense</i> Pereira-Carvalho & Dianese 2009 ³³
4	<i>Globoconidiopsis cerradensis</i> Sepúlveda-Chavera Pereira-Carvalho & Dianese 2009 ³³
5	<i>Globoconidium cerradense</i> Sepúlveda-Chavera, Pereira-Carvalho & Dianese, 2009 ³³
6	<i>Helminthosporiomyces cerradensis</i> Sepúlveda-Chavera, Pereira-Carvalho & Dianese 2009 ³³
7	<i>Plurispermopsis cerradensis</i> Pereira-Carvalho, Inácio & Dianese 2009 ³⁵
8	<i>Kimuromyces cerradensis</i> Dianese, Santos, Medeiros & Furlaneto 1995 ⁷ ●
9	<i>Phaeostilbelloides velloziae</i> Armando, Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁶
10	<i>Phragmoconidium cerradense</i> Sepúlveda-Chavera, Pereira-Carvalho & Dianese 2009 ³³
11	<i>Trichomatomyces byrsonimae</i> Dornelo-Silva & Dianese 2004 ²⁹
12	<i>Trichosporodochium cerradensis</i> Dornelo-Silva & Dianese 2004 ²³
13	<i>Trichomatoclava cerradensis</i> Sepúlveda-Chavera, Pereira-Carvalho & Dianese 2009 ³³
14	<i>Trichomatosphaera cerradensis</i> Pereira-Carvalho, Sepúlveda-Chavera & Dianese 2009 ³³
15	<i>Velloziomyces ramosiconidialis</i> Armando, Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁶
16	<i>Vesiculohyphomyces cerradensis</i> Armando, Pereira-Carvalho & Dianese 2009 ³³
17	<i>Wilmia brasiliensis</i> Dianese, Inácio & Dornelo-Silva, 2001 ²⁵
	Novos táxons
1	<i>Alternaria qualeae</i> Dornelo-Silva & Dianese 2003 ¹⁶
2	<i>Anhelia tabebuiae</i> Inácio & Dianese 1998 ¹
3	<i>Aplopsora hennenii</i> Dianese & Santos 1995 ² ●
4	<i>Asperisporium galactiae</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
5	<i>Asteriolibertia bahiensis</i> Firmino, Inácio & Dianese 2015 ⁴⁴
6	<i>Asteriolibertia barrinhensis</i> Firmino, Inácio & Dianese 2015 ⁴⁴
7	<i>Asteriolibertia campograndensis</i> Firmino, Inácio & Dianese 2015 ⁴⁴
8	<i>Asteriolibertia licaniae</i> Firmino, Inácio & Dianese 2015 ⁴⁴
9	<i>Asterolibertia parinaricola</i> Firmino, Inácio & Dianese 2015 ⁴⁴
10	<i>Camarotella brasilienses</i> Souza, Vitória, Bezerra, Luz, Inácio & Dianese 2008 ³¹
11	<i>Cercospora jatrophiphila</i> A Dianese, Vale, ECS Souza, Pereira-Carvalho, ZM Chaves, PEC Câmara, Dianese ⁴¹
12	<i>Cercospora mimosae-sensitivae</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁴
13	<i>Cercospora ochromae</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
14	<i>Cercospora tabebuia-impetiginosae</i> Inácio & Dianese 1998 ¹
15	<i>Cerotelium giacomatii</i> Dianese, Santos & Medeiros 1993 ³
16	<i>Cirsosia splendida</i> var <i>laevigata</i> Firmino, Inácio & Dianese 2015 ⁴⁴

17	<i>Coniella costae</i> Dianese, Medeiros, Santos & Sutton 1993 ⁴
18	<i>Crinipellis brasiliensis</i> Arruda, Sepúlveda, Miller, Ferreira & Felipe 2005 ²⁸
19	<i>Crossospora hymenaeae</i> Dianese, Buriticá & Hennen 1994 ⁵ ●
20	<i>Dictyonella tabebuiae</i> Inácio & Dianese 1998 ¹
21	<i>Dinemasporium duguetia</i> Furlanetto & Dianese 1998 ⁶
22	<i>Dothidasteroma psidii</i> Inácio, Pereira-Carvalho, Souza & Dianese ³⁶
23	<i>Fumagospora tabebuiae</i> Inácio & Dianese 1998 ¹
24	<i>Harknessia qualeae</i> Furlanetto & Dianese 1998 ⁶
25	<i>Harknessia salvertiana</i> Furlanetto & Dianese 1998 ⁶
26	<i>Janetia salvertia</i> Dornelo-Silva & Dianese 2003 ¹⁶
27	<i>Meliola albiziae-polyanthae</i> Soares & Dianese 2013 ³⁸
28	<i>Meliola andirae-humilis</i> Soares & Dianese 2013 ³⁸
29	<i>Meliola bodoquenensis</i> Soares & Dianese 2013 ³⁸
30	<i>Meliola eriosemae</i> Soares & Dianese 2013 ³⁸
31	<i>Meliola sweetiae</i> Soares & Dianese 2013 ³⁸
32	<i>Mimema venturae</i> Dianese, Santos, Medeiros & Sanchez 1994 ⁸ ●
33	<i>Mycovellosiella micranthae</i> (Müller & Chupp) Dianese & Furlanetto 1996 ¹⁹
34	<i>Mycovellosiella myracrodruonis</i> Inácio & Dianese 1999 ⁹
35	<i>Mycovellosiella peixotae</i> (Chupp & Viégas) Furlanetto & Dianese 1996 ¹⁹
36	<i>Parastenella callisthenis-fasciculatae</i> Dornelo-Silva, Pereira-Carvalho & Dianese 2007 ²⁹
37	<i>Passalora acosmii</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁴
38	<i>Passalora brasilianensis</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ³⁹
39	<i>Passalora caesalpiniae</i> (Bhalla, Sarbhoy, Kulshr & Kushwaha) Braun, Dianese & Hern.-Gut 2009 ³⁸
40	<i>Passalora cerradensis</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ³⁹
41	<i>Passalora chamaecristae-orbiculatae</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁸
42	<i>Passalora chamaecristicola</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁴
43	<i>Passalora chapadensis</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ⁴⁰
44	<i>Passalora dalbergiae</i> (S.K Singh & P.N Singh) U Braun, Dianese & A Hern.-Gut 2009 ³⁴
45	<i>Passalora delamonicae</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ⁴⁰
46	<i>Passalora eitenii</i> Medeiros & Dianese 1994 ¹⁰
47	<i>Passalora guimaranhensis</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ⁴⁰
48	<i>Passalora machaerii</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁴
49	<i>Passalora peixotae-reticulatae</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ³⁹
50	<i>Passalora peixotoae-goianae</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ³⁹
51	<i>Passalora qualeae</i> Dornelo-Silva & Dianese 2003 ¹⁶
52	<i>Passalora schefflerae</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
53	<i>Passalora tabebuiae-ochraceae</i> Inácio & Dianese 2006 ³⁰
54	<i>Periconiella campograndensis</i> Dornelo-Silva & Dianese 2003 ¹⁶

55	<i>Periconiella longispora</i> Dornelo-Silva & Dianese 2003 ¹⁶
56	<i>Periconiella qualeae-grandiflorae</i> Dornelo-Silva & Dianese 2003 ¹⁶
57	<i>Phaeoidiomyces qualeae</i> Dornelo-Silva & Dianese 2004 ²³
58	<i>Phaeoramularia chupii</i> Inácio & Dianese, 1998 ¹⁹
59	<i>Phaeoramularia pyrostegiae</i> (Viégas) Inácio & Dianese 1996 ¹⁹
60	<i>Phaeoramularia rubida</i> (Müller & Chupp) Inácio & Dianese 1996 ¹⁹
61	<i>Phakopsora bluteri</i> Dianese, Santos & Medeiros, 1993 ³ ●
62	<i>Phakopsora chavessi</i> Dianese, Santos & Medeiros 1993 ³ ●
63	<i>Phakopsora rossmanii</i> Dianese, Santos & Tessmann 1993 ³ ●
64	<i>Phloeosporella flavio-moralis</i> Dianese, Sutton & Tessmann 1993 ¹¹
65	<i>Phloeosporella kitajimae</i> Dianese, Medeiros & Santos 1993 ¹²
66	<i>Phomopsis amaranthophila</i> Inácio, Dianese & Carlos, 1999 ¹⁷
67	<i>Phyllachora cerradensis</i> Santos, R.B Medeiros & Dianese 2016 ⁴⁷
68	<i>Phyllachora ermidensis</i> Santos, R.B Medeiros & Dianese 2016 ⁴⁷
69	<i>Phyllachora furnasensis</i> Santos, R.B Medeiros & Dianese 2016 ⁴⁷
70	<i>Phyllachora myrciariae</i> Santos, & Dianese 2016 ⁴⁷
71	<i>Phyllachora nigerrima</i> (Viégas) Santos, R.B Medeiros & Dianese 2016 ⁴⁷
72	<i>Phyllosticta xylopieae-sericeae</i> Furlanetto & Dianese 1998 ⁶
73	<i>Plurispermopsis cerradensis</i> Pereira-Carvalho, Inácio & Dianese 2009 ³⁵
74	<i>Polychaeton tabebuiae</i> Inácio & Dianese 1998 ¹
75	<i>Prathigada austroplenckiae</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
76	<i>Prathigada backmanii</i> Furlanetto & Dianese 1998 ¹³
77	<i>Pseudocercospora astroniiphila</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
78	<i>Pseudocercospora acosmii-subelegantis</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
79	<i>Pseudocercospora annellidica</i> A Hern-Gut & Dianese ⁴²
80	<i>Pseudocercospora aquae-emendadasensis</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
81	<i>Pseudocercospora aspidospermatis</i> (Batista, Peres & Garnier) Dianese & Câmara 1994 ¹⁸
82	<i>Pseudocercospora astronii</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
83	<i>Pseudocercospora austroplenckiae</i> Her.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
84	<i>Pseudocercospora banisteriopsis-megaphyllae</i> A Hern.-Gut & Dianese 2014 ⁴²
85	<i>Pseudocercospora bolkanii</i> Furlanetto & Dianese 1999 ¹³
86	<i>Pseudocercospora bonducella</i> (Henn.) Braun, Dianese & A Hern.-Gut.2009 ³⁴
87	<i>Pseudocercospora byrsonimae-basilobae</i> A Hern-Gut & Dianese 2014 ⁴²
88	<i>Pseudocercospora byrsonimae-coccolobifoliae</i> A Hern-Gut & Dianese 2014 ⁴²
89	<i>Pseudocercospora byrsonimicola</i> A Hern-Gut & Dianese 2014 ⁴²
90	<i>Pseudocercospora byrsonimigena</i> A Hern-Gut & Dianese 2014 ⁴²
91	<i>Pseudocercospora caesalpiniicola</i> Braun, Dianese & A Hern.-Gut 2009 ⁴²
92	<i>Pseudocercospora campograndensis</i> A Hern-Gut & Dianese 2014 ⁴²

93	<i>Pseudocercospora chamaecristigena</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁴
94	<i>Pseudocercospora eriothecae</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
95	<i>Pseudocercospora exilis</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁴
96	<i>Pseudocercospora luzardii</i> Furlanetto & Dianese 1999 ¹³
97	<i>Pseudocercospora luzianiensis</i> Hern.-Gut & Dianese 2009 ³⁴
98	<i>Pseudocercospora matogrossensis</i> A Hern.-Gut & Dianese 2014 ⁴²
99	<i>Pseudocercospora mutabiliconidiophorum</i> A Hern-Gut & Dianese ⁴²
100	<i>Pseudocercospora passiflorae-setaceae</i> A.C Dianese, Costa & Dianese 2008 ³²
101	<i>Pseudocercospora pediformiconidiorum</i> A Hern-Gut & Dianese ⁴²
102	<i>Pseudocercospora planaltinensis</i> A Hern-Gut & Dianese 2014 ⁴²
103	<i>Pseudocercospora protii</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
104	<i>Pseudocercospora pseudobombacis</i> Hern.-Gut & Dianese 2008 ²⁷
105	<i>Pseudocercospora sennae</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
106	<i>Pseudocercospora sennae-rugosae</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
107	<i>Pseudocercospora stryphnodendri</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
108	<i>Pseudocercospora subcuticularis</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
109	<i>Pseudocercospora subhyalina</i> A Hern-Gut & Dianese 2014 ⁴²
110	<i>Pseudocercospora tabebuiae-caraibae</i> Inácio & Dianese 2006 ³⁰
111	<i>Pseudocercospora tabebuiae-roseo-albae</i> Inácio & Dianese 1998 ¹
112	<i>Pseudocercospora urenae</i> (Viégas & Chupp) Hern & Dianese 1996 ¹⁹
113	<i>Pseudocercospora uwebraumiana</i> A Hern.-Gut & Dianese 2013 ⁴⁰
114	<i>Pseudocercospora zeyheriae</i> (Henn.) Dianese, Furlanetto & Santos 1999 ²⁰
115	<i>Ramularia crupinae</i> Dianese, Hasan & Sobian 1996 ²⁶
116	<i>Ravenellia bezerrae</i> Dianese, Medeiros & Furlanetto 1993 ³ ●
117	<i>Ravenellia cerradensis</i> Rezende & Dianese 2001 ²¹ ●
118	<i>Ravenellia chapadensis</i> Rezende & Dianese 2001 ²¹ ●
119	<i>Ravenellia emaensis</i> Rezende & Dianese 2001 ²¹ ●
120	<i>Ravenellia mineirosensis</i> Rezende & Dianese 2001 ²¹ ●
121	<i>Ravenellia santos-costae</i> Dianese, Medeiros, Santos & A C Dianese 1993 ³ ●
122	<i>Ravenellia victoria -rossetii</i> Dianese, Santos, Medeiros & Sanchez 1993 ³ ●
123	<i>Rhinocladium abietina</i> (Peck) Furlanetto & Dianese 1995 ²¹
124	<i>Rhinocladium magenotii</i> (Reisinger) Furlanetto & Dianese 1995 ²¹
125	<i>Septoria tabebuiae-impetiginosae</i> Inácio & Dianese 1998 ¹
126	<i>Sirosporium sclerolobii</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
127	<i>Skierka divinopolensis</i> Dianese, Medeiros & Santos 1993 ³ ●
128	<i>Stenella cyrtopodii</i> Dornelo-Silva, Pereira-Carvalho & Dianese 2007 ²⁹
129	<i>Stenella erythroxyli-campestris</i> Dornelo-Silva, Pereira-Carvalho & Dianese 2007 ²⁹
130	<i>Stenella erythroxylicola</i> Dornelo-Silva & Dianese 2007 ²⁹

131	<i>Stenella erythroxyli-suberosi</i> Dornelo-Silva, Pereira-Carvalho & Dianese 2007 ²⁹
132	<i>Stenella ocoteae</i> Dornelo-Silva & Dianese 2007 ²⁹
135	<i>Uncinula viegasii</i> Dianese & A C Dianese 1995 ¹⁴
136	<i>Uncinulla alvinii</i> A C Dianese & Dianese 1995 ¹⁴
137	<i>Uncinulla heringeriana</i> Braun ex Dianese & A C Dianese 1995 ¹⁴
138	<i>Uromyces galactiae</i> Rezende & Dianese 2003 ²¹ ●
139	<i>Uromyces hawksworthii</i> Souza, Chaves, Soares, Pinho, Dianese 2015 ⁴³ ●
140	<i>Zamidium ocotei</i> (Dorn.-Silva & Dianese) Dorn.-Silva, A Hern.-Gut & Dianese, comb nov 2015 ⁴⁵
141	<i>Zasmidium erythroxyli-campestris</i> (Dorn.-Silva, Pereira-Carv & Dianese) Dorn.-Silva, A Hern.-Gut & Dianese, comb nov 2015 ⁴⁵
142	<i>Zasmidium erythroxylicolum</i> (Dorn.-Silva & Dianese) Dorn.-Silva, A Hern.-Gut & Dianese, comb nov 2015 ⁴⁵
143	<i>Zasmidium erythroxyli-suberosi</i> (Dorn.-Silva, Pereira-Carv & Dianese) Dorn.-Silva, A Hern.-Gut & Dianese, comb nov 2015 ⁴⁵
144	<i>Zasmidium sclerobii</i> A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese 2015 ⁴⁵
<p>¹Inácio & Dianese Mycol Res 102:695-708 ²Dianese & Santos Mycol Res 99:914-916 ³Dianese et al. Fitopatol Bras 18:436-450 ⁴Dianese et al. Mycol Res 97:1234-1236 ⁵Dianese et al. Fitopatol Bras 19:588-591 ⁶Furlanetto & Dianese Mycol Res 102:19-29 ⁷Dianese et al. Fitopatol Bras 20:251-255 ⁸Dianese et al. Mycol Res 98:786-788 ⁹Inácio & Dianese Mycotaxon 72:251-263 ¹⁰Medeiros & Dianese Mycotaxon 51:509-513 ¹¹Dianese et al. Mycol Res 97:123-126 ¹²Dianese et al. Mycol Res 97:610-612 ¹³Furlanetto & Dianese Mycol Res 103:1203-1209 ¹⁴Dianese & Dianese Mycol Res 96:821-824 ¹⁵Dianese, Inácio & Dornelo-Silva Mycologia 93:1014-1018 ¹⁶Dornelo-Silva e Dianese, Mycologia 95:1239-1251 ¹⁷Inácio, Dianese & Carlos Fitopatol Bras 24:185-189.1999 ¹⁸Dianese & Câmara Sydowia 46: 225-223.1994 ¹⁹Inácio, Furlanetto, Gutierrez & Dianese Fitopatol Bras 21:405-409 1996 ²⁰Dianese et al. Mycol Res 103: 40-42 ²¹Rezende & Dianese Fitopatol Bras 26: 627-634 ²²Rezende & Dianese Fitopatol Bras 28: 495-501 ²³Dornelo-Silva & Dianese Mycologia 96: 879-884 ²⁴Furlanetto & Dianese Mycol Res 100: 244-246 ²⁵Dianese et al. Mycologia, 93, 1014-1018 ²⁶Pereira-Carvalho <i>et al</i> Mycotaxon 107, 883-888 ²⁷Hernandez-Gutiérrez & Dianese Mycotaxon 106, 41-63 ²⁸Arruda et al. Mycologia, 97, 1348-1361 ²⁹Dornelo-Silva et al. Mycologia 99, 753-764 ³⁰Inácio & Dianese Mycol Progress 5120-127 ³¹Souza et al. Mycotaxon 103: 313-317 ³²A.C Dianese et al. Mycotaxon 105, 1-5 ³³Pereira-Carvalho et al. Mycol Res 113, 261-274 ³⁴Hernandez-Gutiérrez & Dianese Mycotaxon 107, 1-24, ³⁵Pereira-Carvalho et al. Mycologia 102, 1163-1166, ³⁶Inácio <i>et al</i> Mycotaxon 116, 27-32, ³⁷Inácio et al. Mycotaxon 119, 307-313, ³⁸Soares & Dianese Mycological Progress 13, 321-331, ³⁹Hernández-Gutiérrez & Dianese, Mycological Progress 12, 989, ⁴⁰Hernández-Gutiérrez & Dianese, Mycological Progress 13, 75-79, ⁴¹A Dianese et al Mycol Progress 13:1069-1093, ⁴²A Hern-Gut & Dianese Mycol Progress 13: (2014) 13:193–210, ⁴³Souza ECS, Chaves ZM, Soares WRO, Pinho DB & Dianese IMA Fungus 6:155-162; ⁴⁴Firmino, Inácio & Dianese IMA Fungus 7(1):9-26, ⁴⁵A Hern.-Gut., Z.M Chaves & Dianese Mycobiota 5: 33–64 (2015), ⁴⁶Armando, Z.M Chaves & Dianese Mycotaxon 130: 757–767, ⁴⁷Santos, R.B Medeiros & Dianese (aceito para publicação em Mycologia 2016).</p> <p>● Gêneros e espécies pertencentes à Ordem Pucciniales</p>	

A relação fungo/planta no bioma Cerrado extrapola as estimativas sugeridas para o mundo por Hawksworth (1991, 2001), a qual se baseia na ocorrência de seis espécies de fungo para cada espécie de planta. Dianese et al. (1997) e Dianese (2000) argumentaram que este número é muito conservador quando se trata da savana tropical mais diversificada, o Cerrado, e sugeriram um mínimo de dez a vinte fungos por espécie de planta, com base no fato de algumas espécies abrigarem até 45 espécies diferentes de fungos apenas nas folhas (Santos 2011), sem considerar ramos, troncos, raízes, rizosfera, folheto, insetos e solo.

Alguns exemplos que extrapolam Hawksworth (1991, 2001), constando a associação de mais de 18 fungos por espécie estão disponíveis em vários trabalhos (Dianese et al. 1997, Chaves 1998, Dornelo-Silva 1999, Pereira-Carvalho 2004, Armando 2004, Castro 2009 e Santos 2011). Assim, de forma conservadora, estima-se a ocorrência de 70 a 100 mil espécies de fungos associadas às plantas do Cerrado.

A lista de fungos para este bioma, em 1997 (Dianese et al. 1997), consistia de apenas 875 espécies de microfungos pertencentes a 301 gêneros, associados às plantas nativas do Cerrado. A maioria dessas espécies pertenciam às ordens Pucciniales (250), Dothideales (175), Phyllachorales (105), Meliolales (47), Hypocreales (7) e Erysiphales (9), além de 174 celomicetos, 96 hifomicetos.

Como visto, em termos de incidência sobre a vegetação nativa do Cerrado, destacam-se os fungos pertencentes à ordem Pucciniales. Com efeito, das 144 espécies listadas na Tabela 1, 18, ou seja mais de 10%, são membros dessa ordem, justificando o foco dado ao grupo no presente trabalho.

A Ordem Pucciniales Clem. & Shear (= Uredinales G Winter).

A Ordem Pucciniales, inserida no Filo Basidiomycota, Subfilo Pucciniomycotina, Classe Pucciniomycetes, é monofilética (Maier et al. 2003, Wingfield et al. 2004, Aime et al. 2006, Hibbett et al. 2007, Zuluaga et al. 2011, Aime et al. 2014), caracterizando-se pela produção de esporos sexuais haploides denominados basidiósporos, produzidos externamente em estruturas septadas designadas metabasídios ou promicélios, os quais resultam da germinação meiótica de um probasídio dicariótico/diploide, especificamente designado teliósporo, no caso dos Pucciniales.

Os membros dessa ordem, são biotróficos por excelência, caracterizados por apresentar micélio endofítico, dicariótico e septado, sem grampos de conexão, poros simples nos septos, parasítico por meio de haustórios, originando células esporogênicas que levam à formação de probasídios (teliósporos), ou esporos disseminativos (urediniósporos) dicarióticos. Além disso, formam eciosporos igualmente dicarióticos, advindos da conjugação de micélio haploide resultante da germinação de basidiósporos compatíveis, muitas vezes compondo espermogônios contendo espermácias e hifas receptivas, onde ocorre a dicaritização dessas últimas. Essas hifas, agora dicarióticas, crescem parasiticamente para formar os écios e os eciosporos (Swann & Taylor 1995a, Cummins & Hiratsuka 2003). A ordem Pucciniales abriga, 13 famílias (Chaconiaceae, Coleosporaceae, Cronartiaceae, Melampsoraceae, Mikronegeriaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae, Pucciniaceae, Pucciniastraceae, Raveneliaceae (=Sphaerophragmiaceae), Uncolaceae e Uropyxidaceae), 166 gêneros e cerca de 8.000 espécies (Cummins & Hiratsuka 2003; Aime 2006, Kirk et al. 2008). Alguns gêneros ainda são mantidos em família *incertae sedis*, como por exemplo: *Hiratsukamyces* e *Masseëlla* (Cummins & Hiratsuka, 2003, Minnis et al. 2012).

Para Rossman (1995) existiriam em torno de 50.000 fungos na Ordem Pucciniales no mundo, entretanto, Aime et al. (2014) reconheceram 7.458 espécies sendo: 75 na família Chaconiaceae, 313 na Coleosporiaceae, 90 na Melampsoraceae, 13 na Mikronegeriaceae, 205 na Phakopsoraceae, 164 na Phragmidiaceae, 34 na Pileolariaceae, 6.095 na Pucciniaceae, 323 na Raveneliaceae, 3 na Uncolaceae e 143 na Uropyxidaceae.

Pelo menos 68 formas sexuadas, oito gêneros assexuados e cerca de 750 espécies foram encontrados no Brasil das quais 36,5 % são endêmicas (Tabela 2) (Hennen et al. 2005, Kirk et al. 2008, Carvalho Jr 2013, Maia et al., 2015). Em 1985, haviam registradas para o Brasil 538 espécies teleomórficas e atualmente existe o registro de 750 (Maia et al. 2015). Os gêneros com número igual ou maior que 10 espécies são *Puccinia*, *Uromyces*, *Ravenelia*, *Prospodium*, *Phakopsora* e *Crosssopsora* e, entre os anamórficos, encontram-se *Uredo* e *Aecidium*.

Os gêneros da ordem Pucciniales com maior número de espécies registrados para o país até 2016 foram: *Puccinia* (256), *Uromyces* (103), *Uredo* (75), *Aecidium* (67), *Ravenelia* (43) e *Prospodium* (37) (Maia et al. 2015)

A região Sudeste, onde esses fungos foram mais estudados, é a que apresenta maior número de espécies conhecidas, seguida pela região Sul, Norte, Centro-Oeste e Nordeste. São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, em ordem decrescente, são os estados com maior número de coletas. Além disso, áreas de influência do bioma Mata Atlântica são mais bem amostradas que outras regiões brasileiras. Isso reflete um maior esforço de coleta nessa região em decorrência da presença de grandes centros urbanos e numerosos centros de pesquisa. Em coletas intensivas realizadas no Parque Nacional do Itatiaia (PNI), uma região de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro, foram coletadas 207 espécies (Salazar & Carvalho Jr 2010). No Cerrado, apenas a partir de 1993 (Tabela 1), foram descritas 18 novas espécies, duas delas espécies-tipo de novos gêneros (*Batistopsora* e *Kimuromyces*).

Tabela 2. Número de espécies de Pucciniales pertencentes aos gêneros relatados no Brasil até 2016.

Gênero	Número de Espécies	Número de Espécies Endêmicas
<i>Aecidium</i>	67	43
<i>Anthomyces</i>	1	1
<i>Aplopsora</i>	1	1
<i>Para</i>	1	0
<i>Arthuria</i>	2	2
<i>Atelocauda</i>	1	0
<i>Batistopsora</i>	1	0
<i>Botryorhiza</i>	1	0
<i>Calidion</i>	1	1
<i>Catenulopsora</i>	3	1
<i>Cerotelium</i>	9	6
<i>Cerradoa</i>	1	0
<i>Chaconia</i>	5	1
<i>Chrysocyclus</i>	2	0
<i>Cionothrix</i>	2	1
<i>Coleosporium</i>	6	0
<i>Crossopsora</i>	10	2
<i>Cumminsiella</i>	1	1
<i>Dasyspora</i>	1	0
<i>Desmella</i>	1	0
<i>Desmosorus</i>	1	0
<i>Diabole</i>	1	0
<i>Dicheirinia</i>	7	2
<i>Didymopsora</i>	3	3
<i>Dietelia</i>	1	1
<i>Diorchidiella</i>	2	1
<i>Diorchidium</i>	4	3
<i>Dipyxis</i>	1	1
<i>Endophyllum</i>	2	0
<i>Esalque</i>	1	1
<i>Frommeëlla</i>	1	0
<i>Hemileia</i>	2	0
<i>Intrapes</i>	1	0
<i>Kimuromyces</i>	1	0
<i>Kuehneola</i>	1	0
<i>Kweilingia</i>	1	0
<i>Leptinia</i>	1	0
<i>Malupa</i>	1	1
<i>Maravalia</i>	8	6

<i>Melampsora</i>	8	0
<i>Milesia</i>	1	1
<i>Olivea</i>	2	0
<i>Phakopsora</i>	29	8
<i>Phragmidiella</i>	4	0
<i>Phragmidium</i>	1	0
<i>Porotenus</i>	4	2
<i>Prospodium</i>	37	13
<i>Puccinia</i>	256	64
<i>Pucciniastrum</i>	3	0
<i>Puccinosira</i>	2	1
<i>Ravenelia</i>	43	28
<i>Skierka</i>	2	1
<i>Sphaerophragmium</i>	2	0
<i>Sphenospora</i>	5	0
<i>Spumula</i>	1	0
<i>Tranzschelia</i>	1	0
<i>Uncol</i>	1	0
<i>Uredinopsis</i>	1	0
<i>Uredo</i>	75	41
<i>Uredopeltis</i>	1	1
<i>Uromyces</i>	103	32
<i>Uromycladium</i>	1	0
<i>Uropyxis</i>	1	0
<i>Ypsilospora</i>	1	0
Total / 64 gêneros	743	271 (36,5%)

Segundo Hennen et al. (2005) os principais coletores de fungos causadores de ferrugens no Brasil foram: Ernest Ule (1883-1910), Juan Puiggari (1887-1892), Arsene Puttemans (1892-1909), Eugênio Rangel (1912-1920), Edward Holway (1921-1922). O próprio Hennen, entre 1975 e 2002, coletou extensivamente no Brasil e principalmente no Cerrado, com espécimes depositados no Arthur Fungarium na Universidade de Purdue (Indiana, USA) e no Herbário do Instituto Biológico de São Paulo, então sob responsabilidade do Dr Mário Barreto Figueiredo.

No Cerrado os Pucciniales são representados por 19 espécies distribuídas em dez gêneros. Entre os gêneros existentes no Cerrado, destacam-se *Batistopsora* (Dianese et al.

1993) e *Kimuromyces* (Dianese et al. 1995), que se constituíram na primeira contribuição brasileira a integrar a quarta edição do manual de Cummins & Hiratsuka (2003), após a publicação pioneira de *Porotenus* Viégas em 1960 (Viégas 1960). Além disso, uma longa lista adicional de espécies novas de Pucciniales foi descrita (Tabela 1), incluindo novos membros dos gêneros *Crossopsora*, *Phakopsora*, *Uromyces*, *Ravenelia*, *Aplopsora*, *Cerotelium*, *Skierka* e *Uromyces*, a saber: *Aplopsora hennenii* Dianese & Santos, em *Qualea multiflora* (Vochysiaceae), *Batistopsora crucis-filli* Dianese, Medeiros & Santos em *Annona tomentosa* (Annonaceae), *Cerotelium giacomettii* Dianese, Medeiros & Santos em *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae), *Crossopsora hymenaeae* Dianese, Buriticá & Hennen em *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae), *Kimuromyces cerradensis* Dianese, Santos, Medeiros & Furlanetto em *Astronium fraxinifolium* (Anacardiaceae), *Mimema venturae* Dianese, Santos, Medeiros & Sanchez em *Dalbergia miscolobium* (Fabaceae), *Phakopsora blutleri* Dianese, Medeiros & Santos em *Kielmeyera coriacea* (Clusiaceae), *Phakopsora chavessi* Dianese, Medeiros & Santos em *Terminalia phaeocarpae* (Combretaceae), *Phakopsora rossmanii* Dianese, Santos & Tessmann em *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), *Ravenelia bezerrae* Dianese, Medeiros & Furlanetto em *Enterolobium ellipticum* (Fabaceae), *Ravenelia cerradensis* Rezende & Dianese em *Chamaecrista clausenii* var *cyclophylla* (Fabaceae), *Ravenelia chapadensis* Rezende & Dianese em *Chamaecrista decumbentes* (Fabaceae), *Ravenelia emaensis* Rezende & Dianese em *Anadenanthera* sp (Fabaceae), *Ravenelia mineirosensis* Rezende & Dianese em *Anadenanthera colubrina* var *colubrina* (Fabaceae), *Ravenelia santos-costae* Dianese, Medeiros, Santos & A C Dianese em *Calliandra dysantha* (Fabaceae), *Ravenelia victoria-rossetii* Dianese, Santos, Medeiros & Sanchez em *Mimosa radula* var *imbricata* (Fabaceae), *Skierka divinopolensis* Dianese, Medeiros & Santos em *Matayba guianense* (Sapotaceae), *Uromyces galacticae* Rezende & Dianese em *Galactia peduncularis* (Fabaceae) e *Uromyces hawksworthii* Souza, Chaves, Soares, Pinho & Dianese em *Phthirusa*

stelis (Loranthaceae) (Dianese et al. 1993, Dianese *et al*, 1994, Dianese & Santos 1995, Rezende & Dianese 2001, 2002, 2003, Souza et al. 2015).

Castro (2012) estudou vinte e nove Pucciniales mencionando uma provável nova espécie de *Crossopsora* em *Blepharodon pictum*, ainda não publicada. Além disso, relatou oito Pucciniales em hospedeiras inéditas: *Aecidium ipomoeae* em *Ipomoea cairica*, *Aecidium piptocarphae* e *Puccinia pipta* em *Piptocarpha rotundifolia*, *Puccinia malvacearum* em *Triumfetta rhomboidea*, *Puccinia inrecta* em *Peixotoa goiana* e *Cerotelium sabiceae* em *Sabicea brasiliensis*.

Os grandes repositórios de Pucciniales do Cerrado

O Arthur Fungarium é o maior repositório de Pucciniales brasileiras, inclusive das espécies do Cerrado. Essa importante coleção está alojada no Departamento de Botânica e Fitopatologia da Universidade Purdue, Indiana, USA, e foi assim designada em homenagem ao seu fundador, o Prof. Joseph C. Arthur, um pioneiro da fitopatologia e da micologia americana falecido em 1915. Este *Fungarium* constitui-se na maior e mais importante coleção de fungos Pucciniales, não apenas das Américas, mas sim de todo o mundo, contendo mais de 110 mil exsicatas de espécimes coletadas por amplas áreas e seguindo uma longa linha de tempo histórico, conforme mostra a sequência de seus curadores a partir de 1887, considerados os maiores uredinologistas de todos os tempos, ou seja: J. C. Arthur (1887 - 1915), George B. Cummins (1938 -1971), Joe F. Hennen (1971 – 1995), R. Greg Thorn (1995 – 1996), A. L. Swinehart (1997 – 1998), M. Scholler (1999 – 2002), G. E. Shaner (2003 – 2008) e M. C. Aime, a partir de 2012, até o presente.

A contribuição do Arthur Fungarium começou com o seu fundador que em 1887 já havia descrito 29 gêneros e 309 espécies de Pucciniales da América do Norte, além de 50

outras espécies de países como Índia, Filipinas, América Central e do Sul; tendo publicado 12 volumes da North American Flora (1907-1931), além de 289 publicações em periódicos. O continuador de Arthur, Prof. Cummins foi igualmente prolífico e influente, produzindo entre inúmeras obras importantes, inclusive o clássico, *The Illustrated Genera de Rust Fungi*, agora em sua quarta edição (Cummins & Hiratsuka 2003). Não menos importante é a obra já consolidada realizada pelo Prof Joe F Hennen, hoje aposentado, sem dúvida o maior especialista em Pucciniales ainda vivo. Para o Brasil sua obra é o que pode ser considerada como essencial e referência obrigatória para quem queira estudar os Pucciniales do Brasil. Graças às coletas e aos estudos do Prof Hennen, sabe-se que no Arthur Fungarium, o Brasil é o terceiro país com maior número de espécimes de Pucciniales ali depositadas, ou seja, 4.625 coletas (Purdue Herbaria 2016), superado apenas pelos próprios Estados Unidos (52.866) e o vizinho México (5.285). É importante ressaltar que, o número é mais de duas vezes superior ao contido na Coleção Micológica do Herbário UB, da Universidade de Brasília (2.386). A coleção feita pelo Prof Hennen durante mais de 25 anos, montada a partir do Cerrado brasileiro, bem como as coletas anteriores feitas na América Latina, pelo botânico americano E W D Holway, na década de 1920-30, são extremamente relevantes no que diz respeito a representatividade mundial de Pucciniales.

Em síntese, a razão de aqui se enfatizar a importância do Arthur Fungarium está no fato de ali estar depositada a maior coleção de Pucciniales do Cerrado, estabelecida pelo Prof. Joe F Hennen, a qual está disponível para uso internacional, mas o material nele depositado não foi estudado no presente trabalho.

Ciclo de vida dos Pucciniales

Os Pucciniales possuem os ciclos de vida mais complexos dentro do reino Fungi e, provavelmente, entre os eucariontes (Petersen 1974). Eles são chamados de fungos causadores de ferrugens por produzirem em suas hospedeiras sintomas que se assemelham à ferrugem provocada pela oxidação do ferro. Em geral seus sintomas são caracterizados pela formação de pústulas ou soros de aspecto pulverulento de coloração que variam de esbranquiçadas, amareladas, laranja, ferruginosas, marrons, marron-escuras a tons negros.

Cummins & Hiratsuka (2003) adotaram as seguintes definições para os cinco estágios esporíferos do ciclo de vida dos Pucciniales:

a) Espermogônios ou Pícnios (Estágio 0): são soros produzidos a partir de hifas haploides resultantes da infecção por basidiósporos (haploides), os quais produzem pequenas células fecundantes, denominadas espermásias ou picniósporos, além de hifas receptivas (haploides) susceptíveis de serem espermatizadas, passando com isto a uma condição dicariótica. Assim, as espermásias fecundam hifas receptivas compatíveis, resultando em hifa dicariótica, a qual irá formar um micélio igualmente dicariótico que irá colonizar as células da hospedeira, em geral em direção à face abaxial das folhas, e será responsável pela formação dos écios. O processo de fecundação de hifas receptivas pode ser intermediado pela ação e movimentação de insetos no local, ao serem atraídos pela massa adocicada que envolve os esporos produzidos pelos espermogônios.

b) Écios (estágio I): são frutificações de formato variado nas quais são produzidos os eciósporos ($n+n$), os quais são responsáveis pela infecção de outros sítios susceptíveis na mesma hospedeira ou em um hospedeiro complementar. Quando ocorre a germinação do eciósporo, o tubo germinativo penetra a hospedeira através dos estômatos, e assim há a produção de hifas intercelulares e haustórios. A maioria causa infecção local. No entanto, há

situações em que a fase ecídica de várias ferrugens assemelha-se a uma infecção sistêmica, por induzir alterações hormonais importantes que levam a formação de hiperplasia ou hipertrofia das células vegetais, onde são encontrados principalmente écios com eciósporos. Do micélio (n+n) resultante da germinação dos eciósporos irão ser formados os urédios.

c) Urédios ou Uredínios (Estágio II): é a fase em que são produzidos urediniósporos capazes de levar à repetição vegetativa com eventos mitóticos sucessivos. Os urediniósporos são formados em frutificações, na maioria dos casos, imersas, erutivas, ou formados em soros mistos, contendo também um outro tipo de esporos, os teliósporos. Os urediniósporos ao germinarem produzem micélio dicarióticos que podem infectar a mesma hospedeira, através dos estômatos ou diretamente pela epiderme, nesse caso, com formação de apressório, como ocorre com *Puccinia psidii* Winter e *Phakopsora pachyrhizi*. O micélio endófito e infectivo, irá formar novos urédios, resultando em multiplicação exponencial do número de esporos. Com isso, levando a ataques epidêmicos de relevância econômica. Assim, são responsáveis por multiciclos, resultando em epidemias, dada a facilidade de disseminação dos mesmos pelo ar. Possuem parede espessa e bem pigmentada, pouco sensível a radiação ultravioleta conseguindo sobreviver a longas distâncias quando levados pelo ar.

d) Télios (estágio III): são soros formados a partir do mesmo micélio dicariótico, pode ser o mesmo que formou os urédios. Porém nos télios são formados probasídios dicarióticos, no caso designados como teliósporos. Neles ocorre cariogamia (diploidização) seguida de meiose durante a germinação que consiste exclusivamente na formação de um metabasídio externo. Da meiose resultam 4 núcleos haploides migratórios, os quais passam a ocupar cada um uma célula do metabasídio. Os núcleos incorporam citoplasma e migram para pontas de esterigmas, onde amadurecem na forma de basidiósporos haploides, sendo daí lançados sempre por pressão.

e). Basidiósporos (estágio IV): células indectivas haploides, em geral penetrando a hospedeira diretamente através da epiderme, por meio de formação de um apressório. Podem infectar e a hifa pode se conjugar com outra compatível, resultando hifa dicariótica capaz de formar écio, urédio, ou télio, dependendo do caso. Porém, muitas vezes, a hifa haploide dá origem às estruturas do Estágio 0, os espermogônios, formadores de espermásias e hifas receptivas.

Os cinco estágios descritos, em conjunto ocorrem nos Pucciniales de ciclo longo, ou macrocíclicos (Figura 2). No entanto, existem outros tipos de ciclos de vida nos quais variam o número de esporos e de frutificações. Os principais tipos de ciclos são conhecidos como macrocíclico, microcíclico e demicíclico (Cummins & Hiratsuka 2003).

Os Pucciniales macrocíclicos (exemplo mostrado na Figura 2) mostram ciclo de vida com até cinco etapas diferentes, cada uma com um tipo de esporo (basidiósporos, espermásias ou picniósporos (fecundadores das hifas receptivas), eciósporos, urediniósporos e teliósporos), podendo envolver duas plantas hospedeiras (ciclo heteroécio) filogeneticamente não relacionadas (Cummins & Hiratsuka 2003), para a conclusão do ciclo. Neste caso em uma hospedeira ocorrem espermogônios e écios e na outra urédios e télios. Entretanto, algumas espécies são capazes de concluir o seu ciclo de vida em uma única planta hospedeira, formando nela até 5 tipos de esporos (ciclo autoécio, macrocíclico).

No outro extremo, as espécies microcíclicas não possuem a fase uredínica e tampouco a ecídica, apenas teliósporos que germinam produzindo basidiósporos, quais completam o ciclo do fungo ao infectar indivíduos da mesma hospedeira, gerando micélio dicariótico capaz de formar novos télios diretamente, ou os formar a partir de hifa dicariótica resultante da espermatização de hifas receptivas. Germinados os teliósporos ($n+n/2n$) fecha-se o microciclo.

Parasitismo e Círculo de hospedeiros dos Pucciniales

Pucciniales são biotróficos obrigatórios, o que significa que eles precisam de uma planta hospedeira viva para o seu desenvolvimento (Alexopoulos et al. 1996). Eles não sobrevivem saprofiticamente, porém alguns cresceram artificialmente de forma precária em meios de cultura (Williams et al. 1984, Fasters et al. 1993).

Assim, vários métodos foram desenvolvidos para facilitar o crescimento em cultura, inclusive inoculando-se urediniósporos em cultura de tecido da planta hospedeira. Algumas espécies de Pucciniales foram cultivadas com sucesso a partir da germinação de basidiósporos ou hifas em folhas; contudo, meios complexos são necessários, e a taxa de crescimento dessas culturas é extremamente lenta e limitada (Kinloch & Dupper 1996; Moricca & Ragazzi 2001).

Esses organismos formam o maior grupo de fungos patógenos de plantas. Constituem 95% das espécies do Subfilo Pucciniomycotina e cerca de 8% de todos os fungos descritos (Kirk et al. 2008). Os Pucciniales formam o maior grupo de basidiomicetos fitopatogênicos representando cerca de um terço de todos os Basidiomycota (Aime et al. 2014). Podem ser encontrados até mesmo em locais de grandes altitudes e desertos, sendo abundantes nos trópicos e subtropicais (Arthur 1934, Savile 1971, Smith et al. 2004, Aime et al. 2014).

Em agroecossistemas monoculturais esses fungos podem causar danos consideráveis aos seus hospedeiros e são, portanto, importantes patógenos em habitats florestais, agrícolas, hortícolas e industriais (Agrios 2005), podendo se constituir em importantes invasores biológicos de dimensão mundial (Carnegie et al. 2016).

Trata-se de um grupo de fitopatógenos importante tanto em plantas nativas, como em cultivadas. Alguns exemplos são: as ferrugens do trigo, milho e outros cereais; a ferrugem das mirtáceas; as ferrugens das forrageiras, gramíneas e cana-de-açúcar; as ferrugens das

leguminosas como feijão, soja, amendoim e outras fabáceas; além das ferrugens de várias fruteiras, café e outras plantas.

A ferrugem do trigo (*Puccinia graminis tritici*) foi considerada uma das doenças mais graves para a agricultura na antiguidade sendo responsável por tragédias humanas, em consequência da falta de grãos (Schumann & Leonard 2000). O fungo *P. graminis tritici* provoca ferrugem do colmo ou ferrugem negra do trigo, uma das doenças mais devastadoras que afetam o trigo mole e trigo duro, a cevada e o triticale (Leonard e Szabo, 2005; Park, 2007). O trigo fornece um quinto das calorias e proteínas de consumo humano em todo o mundo. De acordo com a FAO (2015) a produção de trigo do mundo para 2015 foi estimada em mais de 733 milhões de toneladas, um número que terá de ser duplicado para atender às demandas de abastecimento projetadas até o ano de 2050. *Puccinia graminis tritici* tem uma ampla distribuição geográfica, e pode destruir um campo de trigo inteiramente em menos de 3 semanas graças a capacidade de disseminação por meio de transporte a longa distâncias (Leonard e Szabo, 2005). Por essas razões, este agente causal foi classificado como uma das ameaças à segurança alimentar mundial (Dean *et al.*, 2012).

Um caso singular é a invasão da Austrália por *P. psidii*, um fungo originário da América do Sul onde causa doença séria em goiabeira, e em várias mirtáceas nativas e exóticas (eucalipto, calistemon, jambeiros diversos, cravo-da-Índia e etc.). Conhecido em eucalipto a partir da década de 1980 (Ferreira 1983) e internacionalmente a partir de 1984 (Dianese *et al.* 1984), chegou à Austrália em 2010 (Carnegie *et al.* 2010).

Puccinia psidii disseminou-se pela América do Sul (Telechea *et al.* 2003), Caraíbas (Coutinho *et al.*, 1998), América do Norte (Marlatt & Kimbrough 1979), Havaí (Uchida *et al.* 2006), Japão (Kawanishi *et al.* 2009), Austrália (inicialmente relatado como *Uredo rangelii*) (Carnegie *et al.* 2010), China (Zhuang & Wei 2011), África do Sul (Roux *et al.* 2013) e Nova Caledônia (Giblin 2013). Em julho de 2015, sintomas de ferrugem semelhantes aos de *P.*

psidii foram observados em *Eucalyptus pellita* e em *Melaleuca leucadendra* no norte e sul de Sumatra e Indonésia.

Aspectos morfológicos e moleculares e uma abordagem filogenética com marcadores do rDNA foram utilizados para identificar os membros que causam ferrugens em Myrtaceae na Indonésia, confirmando a presença da espécie (McTarggart et al. 2016).

Porém, o mais relevante é o fato de que o fungo hoje ameaça provocar um amplo desequilíbrio ecológico no continente australiano, prevendo-se inclusive a extinção de várias espécies de Myrtaceae (Carnegie et al. 2016).

O patógeno tem uma ampla gama de hospedeiros, aproximadamente 450 espécies em 73 gêneros (Giblin e Carnegie 2014), sendo um dos fungos causadores de ferrugem que ocorrem em vários gêneros de hospedeiras. *P. psidii* foi descrita pela primeira vez no Brasil em *Psidium guajava*, e depois atingiu outras hospedeiras como espécies de *Eucalyptus* e *Syzygium jambos* (Castro et al., 1983, Tessmann et al. 2001). Porém, as populações de *P. psidii* em *Eucalyptus* e em *Psidium* divergiram há mais de 1000 anos atrás, e uma mudança de hospedeiro, mais provavelmente, não ocorreu após a introdução de eucalipto para o Brasil (Graça et al. 2013). Por isso mesmo, o genótipo de *P. psidii* em *Eucalyptus* e *S. jambos* tem uma origem ainda não explicada (Graça et al. 2013).

A ocorrência da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) encontrada hoje em todas as regiões onde ocorre a cafeicultura, em 1879 liquidou com a produção de café no Sri Lanka naquela ilha cessando a exportação do produto, forçando os ingleses a optarem pelo chá indiano, hoje uma tradição no país (Arneson 2000). Chegou às Américas em 1970 transportado por correntes aéreas sobre o Atlântico vinda de plantações de café da Angola.

Atualmente a ferrugem asiática da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* é considerada uma das doenças mais importantes para a cultura no Brasil, uma vez que esta representa uma das maiores fontes de divisas para o país (Yorinori et al. 2007). A doença tem

origem na Ásia e recentemente se espalhou pelas América do Sul e do Norte (Kelly *et al.*, 2015). No Brasil, a doença foi encontrada em 2001, no estado do Paraná, e vem aumentando sua área de ocorrência a cada ano, disseminando-se rapidamente para outros Estados do Brasil. Em 2002, a doença já estava presente nos Estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo, e em quase todo o país a partir de 2004, causando prejuízos consideráveis em várias regiões produtoras. É atualmente um dos maiores problemas da cultura na região dos Cerrados Brasileiros, especialmente em Mato Grosso, onde têm sido necessário um excessivo número de pulverizações com fungicidas levando ao aumento de custos significativos e prejudicando a lucratividade da indústria da soja e contribuindo para a poluição ambiental. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com exceção de Roraima, todos os Estados que possuem cultivo de soja já foram atingidos pela doença, envolvendo uma área de 22 milhões de hectares. No sul do Brasil, epidemias severas têm sido esporádicas, porém está sendo detectada cada vez mais cedo durante a safra (Nunes 2016).

Os Pucciniales presentes em plantas úteis nativas do Cerrado são representados por espécies de vários gêneros como: *Cerotelium* em *Caryocar brasiliense* (Pequi), *Puccinia* em *Psidium guajava* (Goiaba), *Eugenia dysenterica* (Cagaita), *Eugenia florida* (Guamirim), *Campomanesia adamantium* (Gabirola), *Uredo* em *Dipterix alata* (Baru), *Batistopsora* em *Annona tomentosa* (Araticum), *Crossopsora* em *Byrsonima* sp (Murici), *Hymenaea stigonocarpa* (Jatobá) e *Diorchidium copaiiferae* em *Copaifera langsdorfii* (Copaífera) e podem futuramente representar prejuízos econômicos significativos, uma vez que há um crescimento em potencial do cultivo dessas plantas para utilização com fins alimentícios, farmacêuticos, biotecnológicos e ornamentais.

As plantas hospedeiras dos fungos causadores de ferrugem variam de samambaias e coníferas a plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas. Apesar da ampla variedade de

hospedeiras, em geral, como um resultado de uma co-evolução com as plantas, a maioria dos Pucciniales são específicos para o hospedeiro ao nível de espécie (Saville 1971, Aime 2006, van der Merwe et al. 2008, Duplessis et al. 2011, Vialle et al. 2013, McTaggart et al. 2015), em que pese a existência de exceções envolvendo espécies com amplo aspecto de hospedeiras dentro de famílias, como é o caso de *P. psiddi*, *P. graminis*, *Phakopsora pachyrhizi*.

Já alguns gêneros mostram especificidade em termos de família de hospedeira, como *Prospodium*, *Kernkampella* e *Ravenelia* associados apenas a plantas das famílias Bignoniaceae, Euphorbiaceae e Fabaceae, respectivamente.

Taxonomia dos Pucciniales

A taxonomia clássica em Pucciniales é baseada, em grande parte, na morfologia dos esporos, principalmente a dos teliósporos (Petersen 1974, Sato & Sato 1985, Cummins & Hiratsuka 2003). Características como o arranjo dos teliósporos, se isolados ou em cadeia; a posição, se imersos ou eruptivos formando pústulas; o número ou orientação das células no esporo; se uni, bi- ou multicelulares; são importantes na classificação dos Pucciniales. Além das características dos teliósporos, o tipo, a posição e forma dos espermogônios, bem como forma das frutificações e dos esporos de origem assexuada (urédios, urediniósporos, écios e eciósporos) e especificidade de hospedeira também são importantes (Cummins & Hiratsuka 2003).

A ornamentação da superfície dos esporos é fundamental para caracterizar gêneros e espécies e, além disso, também o arranjo e o número de poros germinativos dos urediniósporos são características importantes na identificação de espécies, principalmente nos casos de esporos bem pigmentados (Cummins & Hiratsuka 2003). Em conjunto, o grau de afinidade filogenética, as características morfológicas, a ontogenia dos esporos, a evolução e a relação

com os hospedeiros, são os critérios modernamente usados, principalmente para a organização supra genérica dos Pucciniales.

Características da morfologia, exclusivamente dos teliósporos, inicialmente foram utilizadas para definir originalmente duas famílias: Melampsoraceae com teliósporos não pedicelados (télios subepidérmicos) e Pucciniaceae com teliósporos pedicelados (télios eruptivos) (Dietel 1928). Subsequentemente, Gaumann (1949) acrescentou as famílias Pucciniastraceae (télios imersos), Cronartiaceae (télios colunares), Chrysomyxaceae (télios cupulares) e Coleosporiaceae (télios com basídio interno). Posteriormente, Cummins & Hiratsuka (2003) propuseram 14 famílias para a ordem, que, em seguida, reduziram para 13, uma vez que as famílias Raveneliaceae e Sphaerophragmiaceae foram sinonimizadas (Cummins & Hiratsuka 2003).

A taxonomia é baseada tradicionalmente na utilização de caracteres morfológicos e no caso de gêneros próximos, ou que reünam um grande número de espécies, utiliza frequentemente dados de filogenia molecular para definir e identificar espécies de forma segura. Felizmente a caracterização de Pucciniales por análise molecular, contribuiu fortemente para a validação dos resultados obtidos através de análises morfológicas, validando gêneros e todas as famílias tradicionalmente estabelecidas (Beenken et al. 2012, 2014, McTaggart et al. 2015).

Taxonomia e filogenia Molecular dos Pucciniales

A taxonomia dos fungos sofreu forte impacto com os avanços na área da filogenia molecular, instrumento importante, no caso dos Pucciniales, para a caracterização de novas espécies, e para elucidação de relações filogenéticas entre espécies, gêneros e famílias (Beeken et al. 2012, McTaggart et al. 2015). No aspecto técnico-laboratorial, protocolos de

extração de DNA genômico de fungos e a técnica de amplificação em cadeia de fragmentos específicos do DNA (PCR), ainda permanecem complicados quando se trata de material herborizado. Comumente é usada a extração de DNA pelo método CTAB de Doyle & Doyle (1990) e outros métodos como Fenol-clorofórmio estabelecido por Reader & Broda (1985), bem como o uso de kits comerciais.

A PCR (*Polymerase Chain Reaction*), descrita em meados da década de 80, por Mullis e colaboradores (Mullis & Faloona 1987), é uma técnica que permite obter *in vitro* várias cópias de um determinado segmento de DNA. Devido à sua especificidade e sensibilidade, a PCR é um método importante para identificação de fungos e estudos de filogenia. Ela pode ser utilizada para detectar grupos de linhagens, patotipos, espécies ou taxa superiores. Para a detecção de um determinado fungo em qualquer tipo de amostra é necessário *iniciadores* (iniciadores) que propiciem a amplificação de um gene ou segmento específico daquela espécie ou daquela função que se deseja identificar. Assim, o desenvolvimento de procedimentos de diagnóstico baseados em PCR requer o conhecimento de sequências de nucleotídeos de pelo menos parte da região alvo a fim de que *iniciadores* específicos possam ser desenhados. Neste sentido, algumas regiões tais como aquelas que codificam para RNA ribossômico têm sido bastante úteis (Fungaro 2001).

A filogenia molecular é o estudo, através de dados moleculares (principalmente sequências de DNA), da descendência, bem como das relações evolutivas de organismos que possuam ou não, a mesma ancestrabilidade. Além de ser uma ferramenta em que são considerados muitos caracteres evolutivos obtidos tem-se o fato das informações moleculares serem independentes de condições fisiológicas do organismo e do ambiente (Futuyama 2009, Ferreira & Gratapaglia 1998, Faleiro 2007)

A filogenia molecular de fungos é realizada por meio do estudo de genes nucleares ribossomais (White 1990, Wanderlei-Silva et al. 2003, Crouch 2009, Feau et al. 2011,

Hoshino 2012, Foltz et al. 2012, Pinho et al. 2012, Li & Cui 2013), genes do DNA mitocondrial (Bruns & Szaro 1992, Bullerwell & Gray 2004, Seifert et al. 2007, Barroso et al. 2011, van de Sande 2012), entre outras regiões gênicas envolvidas em funções essenciais ao metabolismo celular. Essas regiões do genoma fúngico variam em grau de conservação e este pode ser um critério utilizado para separar níveis hierárquicos de classificação dos organismos. Com o avanço e sucesso de ferramentas moleculares envolvidas na análise molecular de fungos, tem se intensificado as discussões e critérios para eleger quais regiões do genoma fúngico são determinantes para cada grupo de fungos estudado.

O DNA que codifica para RNA ribossômico apresenta-se como um cluster gênico contendo três genes referentes às subunidades ribossomais: 18S (*small subunit* - SSU), 5.8S e 28S (*large subunit* - LSU), separados por dois espaçadores internos transcritos denominados ITS1 e ITS2, os quais são transcritos e processados para dar origem ao RNA ribossômico maduro. Toda essa composição gênica é caracterizada por um cístron e este se repete por centenas de vezes ao longo do DNA e são separados adjacientemente pelas regiões intergênicas não transcritas (IGS) (**Figura 3**).

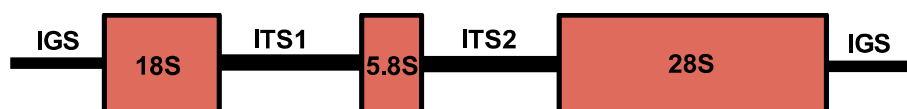


Figura 3. Cístron de genes e regiões espaçadoras do DNA ribossomal nuclear.

As sequências dos segmentos componentes do rDNA apresentam diferenças no que diz respeito a taxa de evolução, e isso permite o estudo acerca da micro e macro diversidade de organismos de interesse em decorrência do grau de polimorfismos presente em cada segmento (Oliveira 2001). O fato desse cluster gênico apresentar algumas regiões altamente

conservadas e outras variáveis, tem permitido a análise de variação de diferentes níveis taxonômicos.

As regiões codificadoras para os genes rDNA nucleares, 18S, 5.8S e 28S, estão sob pressão seletiva e são altamente conservadas. Esses genes apresentam como característica, principalmente o 18S, uma lenta evolução nas suas sequencias codificadoras, são altamente conservados, possuem baixa taxa de mutação e são resistentes à transferência lateral de genes (Broccheri 2001). Portanto, para o estudo com fungos, apresentam baixa capacidade de discriminar espécies, são utilizadas apenas para comparação de organismos distantemente relacionados sendo mais utilizados para o estabelecimento de relações filogenéticas em nível hierárquico superior como famílias, classes e ordens (White et al. 1990, Fungaro 2000, Novaes et al. 2010, Schoch et al. 2012). A porção 28S, apesar de manter uma certa conservação, é mais variável graças a polimorfismos existentes nas regiões D1 e D2 e, portanto, é apropriada para a comparação de diferentes gêneros ou mesmo de diferentes espécies (Fungaro 2000, Hyde 2014).

Ao contrário das regiões gênicas, as regiões ITS evoluem rapidamente, apresentando maior taxa de mutação e alto polimorfismo. Elas têm sido apropriadas para discriminar espécies relacionadas ou até mesmo variedades de uma mesma espécie (White et al. 1990, Fungaro 2000, Schoch et al. 2012). As regiões ITS são facilmente amplificadas e sequenciadas devido ao fato de serem flanqueadas por segmentos conservados, serem relativamente curtas (500 a 800 pb) e aparecerem em grande número de cópias no genoma. Como consequência disso, é grande o número de sequências ITS de diferentes fungos que estão atualmente disponíveis nos bancos de dados de sequências de nucleotídeos. Atualmente, a sequência da região ITS tem sido a proposta mais relevante a ser utilizada como código de barra universal, na identificação de fungos, pelo *Consortium for Barcode of Life* (Bellemain et al. 2010, Schoch et al. 2012).

Entretanto, a identificação de espécies fúngicas utilizando apenas a região ITS, não tem mostrado muita eficiência na determinação em nível intraespecífico e, para tornar resoluções mais robustas, outros marcadores moleculares como β -Tubulina, Fator de Elongação, Histona e Calmodulina tem se tornado necessário para corroborar essas informações.

A escolha dos genes a serem utilizados na análise filogenética está relacionada ao grupo de fungos estudado. Em geral, cada grupo de fungos possui uma seleção preestabelecida de genes a ser empregada no estudo filogenético. Entre outras regiões gênicas utilizadas separadamente ou simultaneamente (concatenadas) para conferir a robustez dos dados podem ser citadas a Calmodulina (Cal), Histona (HIS), Actina (ACT), β Tubulina (TUB), Fator de Elongação (EF), Gliceraldeído-3-Fosfato Desidrogenase (GAPDH), Glutamina Sintetase (GS), entre outras.

De acordo com Wade (2007) as sequências dos loci para esses genes, em geral, são altamente conservadas nos eucariotos. Embora seja elevado o grau de conservação dessas proteínas, o polimorfismo de íntrons em seus genes, as tornam potencialmente úteis no estudo da filogenia de fungos (O'Donnell et al. 2000, Craven et al. 2001, Begerow et al. 2004, Ceresini et al. 2007, Kauserud & Shalchian-Tabrizi, 2007, Konrad et al. 2007, Maciel et al. 2010).

Outro componente do genoma de organismos eucarióticos utilizado em filogenia de fungos é o DNA mitocondrial (mtDNA) Estes são elegíveis para inferir relações filogenéticas entre espécies relacionadas (Vialle et al. 2009, Barroso et al. 2011), bem como para a distinção entre gêneros (Bruns *et al.*1991).

Taxonomia molecular e filogenia de Pucciniales

Nas últimas décadas, vários estudos envolvendo filogenia de fungos Pucciniales, utilizando-se sequências do DNA ribossômico (rDNA), tem se intensificado desempenhando um papel fundamental na inferência de relações evolutivas entre esses indivíduos (Sugiyama 1998; Maier et al. 2003, Wingfield et al. 2004, Aime 2006, Blackwell et al. 2006; Zualaga *et al.*, 2011; Aime et al. 2014, Beenken & Wood 2015, Kenaley *et al.*, 2016). No entanto o número de estudos utilizando estas ferramentas moleculares para estudos taxonômicos em fungos causadores de ferrugens é muito pequena quando comparados com outros grupos de fungos (Zuluaga et al. 2009).

Para o estudo das relações filogenéticas dos membros de Pucciniales tem sido utilizado, principalmente os genes do rDNA (18S e 28S) e a região ITS. Entretanto, outros marcadores vêm sendo estabelecidos como a Btub (β tubulina) e o CO3 (Citocromo C oxidase, subunidade III) do mtDNA (Glass & Donaldson 1995, Ayliffe et al. 2001, Wirsal et al. 2004, van der Merwe et al. 2007, Liu & Hambleton 2013).

Assim, sabe-se que a análise da região ITS presta-se para a identificação de espécies de Pucciniales, conforme McTaggart et al. (2014) que utilizou a região ITS bem como 28S para identificar espécies de ferrugens das famílias Goodeniaceae e Stylidiaceae, na Austrália. Já, Beenken et al. (2012, 2014) separaram espécies de *Dasyscypha* e *Phakopsora* em espécies de *Annona* através da análise conjunta da região ITS e do gene para CO3.

Apesar de possuir características de alta conservação, Maier et al. (2003), e, mais recentemente, Hyde (2014) revelaram que o uso do gene 28S é apropriado para separar, com boa resolução, níveis hierárquicos inferiores, gênero e espécie para membros de Pucciniales, dada a sua taxa de evolução, e grau de polimorfismo maior do que o gene 18S.

Sequências da subunidade 28S do rDNA são essenciais na determinação das relações filogenéticas entre membros de Pucciniales e muito utilizado para discriminar gêneros e espécies. Assim, Maier et al. (2003) estudaram 52 fungos causadores de ferrugem distribuídos em nove famílias com as análises confirmando que os fungos formavam um grupo natural e indicaram que *Puccinia*, *Uromyces*, *Endophyllum* e *Cumminsella* formavam um grupo monofilético. Os gêneros de Pucciniales de rosáceas (*Phragmidium*, *Kuehneola*, *Triphragmium* e *Trachyspora*) igualmente formaram um grupo monofilético. Ao mesmo tempo mostraram que o gênero *Ochropsora* está intimamente relacionado com *Tranzschelia*. Dentro dos gêneros os seguintes se mostraram compostos por um conjunto monofilético de espécies: *Chrysomyxa*, *Coleosporium*, *Cronartium*, *Gymnosporangium*, *Melampsora*, *Phragmidium* e *Tranzschelia*, enquanto que os gêneros *Puccinia*, *Pucciniastrum*, *Thekopsora* e *Uromyces* não o são. A condição de polifilética dos gêneros de *Puccinia* e *Uromyces* foi confirmada em seguida por Van der Merwe et al. (2007), analisando sequências de genes do EF1 e β -tubulina 1.

Um estudo semelhante foi realizado por Wingfield *et al.*, (2004), mas por análise da sequência do 18S do rDNA em 64 espécies de 12 famílias de Pucciniales, mostrou que os gêneros com estágio ecídico em gimnospermas são filogeneticamente distantes de fungos que forma ecios em angiospermas; determinando também que a condição de autoecismo ou heteroecismo não representa um caracter taxonômico válido para as famílias polifiléticas Pucciniaceae e Pucciniastraceae.

Trabalhos recentes mostram a adoção generalizada do uso combinado da caracterização morfológica com a análise filogenética na taxonomia dos Pucciniales. Assim, Souza et al. (2015), encontraram a fase télica de *Aecidium goyazense* infectando *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) e baseados em caracterização morfológica suportada por análise de sequências da região 28S do rDNA, puderam não apenas dar um novo nome à espécie,

Uromyces hawksworthii Souza et al. (2015), mas também promover a epitypificação da espécie. A análise filogenética reforçou a convicção de que a espécie era a segunda do gênero *Uromyces* conhecida em hospedeiras do gênero *Phthirusa*. Da mesma forma, duas novas espécies de *Phragmidium* sp., *P. zhouquensis* e *P. longissima*, foram identificadas em duas plantas nativas, *Rosa omeiensis* e *R. likiangensis* respectivamente, no oeste da China por Yang et al. (2015). Além das evidências morfológicas observadas que as diferenciam, as análises filogenéticas com base em sequências de genes parcial 28S rRNA confirmaram a distinção dessas espécies de *P. zhouquensis* e *P. longissima* por formarem duas linhagens distintas. *Phragmidium longissima* foi a primeira espécie de *Phragmidium* sp. relatada em *R. likiangensis*.

Anteriormente, Aime et al. (2006), realizaram estudos filogenéticos baseados nos genes 18S e 28S do rDNA envolvendo diferentes famílias da Ordem Pucciniales, anteriormente propostas por Cummins e Hiratsuka (2003) com base em aspectos morfológicos. Das treze famílias propostas em 2003, oito (Coleosporiaceae, Melampsoraceae, Mikronegeriaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae, Pucciniaceae e Raveneliaceae) mostraram-se bem suportadas pela análise com base nas sequências, enquanto que três não puderam ser segregadas (Cronartiaceae, Pucciniastraceae e Puccinosiraceae), e para duas outras (Chaconiaceae e Uropyxidaceae) os estudos filogenéticos não permitiram uma resolução. Além disso, o autor concluiu que os dados de filogenia molecular indicaram uma correlação entre planta hospedeira e características morfológicas das espécies. Mostram que a evolução dos fungos causadores de ferrugem foi, em grande parte, impulsionada por associações permanentes com as plantas hospedeiras, sem explicar o mecanismo por trás da ocorrência do heteroecismo nos Pucciniales (Aime 2006). Mais recentemente, McTaggart et al. (2015) reforçaram com ampla análise molecular as grandes coincidências entre a definição

morfológica das famílias (Cummins & Hiratsuka 2003) e a circunscrição das mesmas com o apoio também da filogenia molecular.

No Neotrópico, merece atenção os esforços de especialistas em Pucciniales de onde tem surgido contribuições importantes tanto em termos de taxonomia clássica (Buriticá 1991, Buritica 1994, Buritica 2000, Pardo-Cardona 2001, Salazar 2002, Buriticá 2003a) e mais recentemente utilizando-se também ferramentas moleculares. Assim, Zualaga et al. (2011) realizaram a análise filogenética de 40 Pucciniales parasitas de diferentes plantas na região andina colombiana, com base na região 28S do rDNA, especificamente nos domínios D1 e D2. Os resultados mostraram que as famílias Pucciniaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae, Mikronegeriaceae, Coleosporiaceae e Cronartiaceae estão bem suportadas e válidas taxonomicamente, enquanto que Pucciniastraceae e Puccinosiraceae mostraram-se redundantes, repetindo a conclusão de Aime (2006). Além disso, as análises indicaram que Uropyxidaceae, Raveneliaceae, Chaconiaceae e Pucciniastraceae são polifiléticas, enquanto que Melampsoraceae mostrou-se um táxon basal para os Pucciniales, concordando com Wingfield et al. (2004).

As informações obtidas no estudo de Zualaga et al. (2011) contribuíram para incorporar um maior número de sequências de fungos causadores de ferrugem tropicais dentro esforços globais para redefinir a taxonomia da ordem Pucciniales. Além disso, há a necessidade de priorizar o estudo filogenético dos gêneros: *Gerwasia*, *Hemileia*, *Phragmidium*, *Prospodium*, *Puccinia* e *Uromyces*, gêneros que incluem um elevado número de fungos que causam ferrugem dos trópicos.

Estudos recentes feitos por McTaggart et al. (2015) baseados na combinação das regiões do rDNA (28S e 18S) e CO3, confirmam em geral, a classificação das famílias reconhecidas por Cummins & Hiratsuka (2003), Aime (2006) e Zualaga et al. (2011).

Até o momento, poucas espécies de fungos que causam ferrugem foram descritas com suporte de dados moleculares. Com tudo isso em foco, o presente trabalho, encarou a tarefa de estudar de forma ampla a diversidade, taxonomia e filogenia molecular dos Pucciniales do Cerrado, com base em amostras incorporadas à Coleção Micológica de Herbário UB, conforme consta nos capítulos seguintes. Neles reporta-se estudos morfo-taxonômicos (Capítulo 1. Caracterização morfológica de Pucciniales do Cerrado), filogenia molecular (Capítulo 2. Caracterização molecular e filogenia de Pucciniales do cerrado), caracterização morfo-molecular de uma espécie de *Uromyces* (Capítulo 3. Novo nome para *Aecidium goyazense* em *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) do Cerrado Brasileiro); interação entre um fungo causador de ferrugem encontrado no Cerrado com *Colletotrichum truncatum*, baseado em caracterização morfo-molecular de ambos os fungos envolvidos (Capítulo 4. Interação entre *Colletotrichum truncatum* e *Uromyces euphorbiae* em folhas de *Euphorbia hirta*). Assim, a meta central do trabalho é conhecer melhor os Pucciniales do Cerrado em termos morfológicos e contribuir com uma primeira abordagem ampla sobre a filogenia molecular desses organismos, incluindo também dois trabalhos enfocando aspectos específicos da taxonomia e patologia de duas espécies de *Uromyces*.

REFERÊNCIAS

- Agrios G (2004) *Plant Pathology*. 5a ed. New York: Acad. Press. 952 pp.
- Aime MC (2006) Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience* 47: 112-122
- Aime MC, Brandon MP, Henk DA, Frieders EM, Nilson RH, Piepenbring M, McLaughlin DJ, Szabo LJ, Begerow D, Sampaio JP, Bauer R, Weib M, Oberwinkler FY, Hibbert D (2006) An overview of the higher level classification of Pucciniomycotina based on combined analyses of nuclear large and small subunit rDNA sequences. *Mycologia* 98: 896-905.
- Aime MC, Toome M, McLaughlin D (2014) The Pucciniomycotina PP: 271–294 In: *The Mycota VII Part A Systematics and Evolution* 2nd Ed McLaughlin D, Spatafora JW (Eds), Springer-Verlag.
- Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M (1996) *Introductory Mycology* 4 ed New York: John Wiley & Sons 831.
- Anikster Y & Wahl I (1979) Coevolution of the rust fungi on Gramineae and Liliaceae and their host. *Annual Review of Phytopathology* 17: 367-403
- Araujo JF, de Castro AP, Costa MM, Togawa RC, Junior GJ, Quirino BF, Bustamante M MC, Williamson L, Handelsman J & Krüger RH (2012) Characterization of Soil Bacterial Assemblies in Brazilian Savanna-Like Vegetation Reveals Acidobacteria Dominance *Microbial Ecology* 64: 760-70
- Armando EAS (2004) *Micobiota associada a família Caryocaraceae*. Dissertação de mestrado Universidade de Brasília. Brasília
- Arneson, PA (2000) Coffee rust. *The Plant Health Instructor* <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/basidiomycetes/pages/coffeerust.aspx>, acessado em 02/12/2016.
- Arthur JC (1934) *Manual of the rusts in United States and Canadá* Lafayette, Indiana Purdue Research Foundation 438 p.

- Ayliffe MA, Dodds PN & Lawrence GJ (2001) Characterization of a β -tubulin gene from *Melampsora lini* and comparison of fungal β -tubulin genes. *Mycological Research* 105: 818-826.
- Barroso G, Ferandon C Callac P (2011) From the comparative analysis of fungal mitochondria genes to the development of taxonomic and phylogenetic tools Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7) 2011 Section: Diversity and Taxonomy 91-99
- Bayma A, Santiago AMO, Miranda Jr A, Silvano D, Oliveira G, Vianna L, Pires MO (2003) Programa nacional de conservação e uso sustentável do Bioma Cerrado Ministério do Meio Ambiente Programa Cerrado Sustentável. Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf/arquivos/programa_bioma_cerrado.pdf Acessado em setembro de 2014.
- Beenken L (2014) Pucciniales on *Annona* (Annonaceae) with special focus on the genus *Phakopsora*. *Mycological Progress* 13: 791-809
- Beenken L, Wood AR (2015) *Puccorchidium* and *Sphenorchidium*, two new genera of Pucciniales on Annonaceae related to *Puccinia psidii* and the genus *Dasyscypha*. *Mycological Progress* 14: 1-13.
- Beenken L, Zoller S, Berndt R (2012) Rust fungi on Annonaceae II: The genus *Dasyscypha*. *Mycologia* 104: 659-681.
- Bellemain E, Carlsen T, Brochmann C, Coissac E, Taberlet P, Kuserud H (2010) ITS as an environmental DNA barcode for fungi: An in silico approach reveals potential PCR biases. *BMC Microbiology* 10:189.
- Berndt R & Beenken L (2013) *Chaconia heliconiae* and *C. clusiae* sp. novae from French Guiana with notes on the genus *Chaconia* (Uredinales) in the neotropics. *Mycological Progress* 12: 397-401.
- Blackwell M (2011) The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany* 98: 936-948

- Blackwell M, Hibbert D, Taylor JW, Spatafora JW (2006) Research Coordination Networks: a phylogeny or kingdom Fungi (Deep Hypha) *Mycologia* 98: 829-837 Broccheri 2001.
- Bruns TD, Szaro TM (1992) Rate and mode differences between nuclear and mitochondrial small-subunit rDNA genes in mushrooms *Molecular Biology and Evolution* 9: 836-855.
- Bruns TD, White TJ, Taylor JW (1991) Fungal molecular systematic *Annual Review of Ecology Systematics* 22: 525-564.
- Bullerwell CE, Gray MW (2004) Evolution of the mitochondrial genome: protist connections to animals, fungi and plants *Current Opinion in Microbiology* 7: 528-534.
- Buriticá P (1991) Familias del orden Uredinales con ciclo de vida completamente reducido *Revista - Academia Colombiana de Ciências* 18: 131-148.
- Buriticá P (1994) Cambios taxonómicos y nuevos registros de Uredinales de la flora andina *Rev I.C.N.E Univ Nacional Colombia, Medellín* 5: 173-190
- Buriticá P (2003) Centros naturales de diversificación en el orden Uredinales (Fungi, royas) *Rev Fac Nal Agr Medellín* 56: 1999-2019.
- Cantrell AS, Dianese JC, Fell J, Gunde-Cimerman N, Zadar P (2011) Unusual fungi niches *Mycologia* 103: 1161-1174
- Carnegie AJ, Kathuria A, Pegg GS, Entwistle P, Nagel M, Giblin FR (2016) Impact of the invasive rust *Puccinia psidii* (myrtle rust) on native Myrtaceae in natural ecosystems in Australia *Biological Invasions* 18: 127-144.
- Carnegie AJ, Lidbetter, JR, Walker J, Horwood MA, Tesoriero L, Glen M and Priest M.J (2010) *Uredo rangelii*, a taxon in the guava rust complex, newly recorded on Myrtaceae in Australia *Australasian Plant Pathology* 39: 463-466.
- Carvalho Jr AA (2013) Diversidade das Pucciniales do Brasil In: 36º Congresso Paulista de Fitopatologia Summa Phytopathologica Botucatu: Sociedade Paulista de Fitopatologia 39 São Paulo.
- Carvalho Jr AA, Hennen JF (2012) The species of *Puccinia* on *Piptocarpha* and *Vanillosmopsis* (Asteraceae-Vernonieae) in the Neotropics *Mycologia* 104: 557-568.

- Castro AP, Quirino BF, Pappas G, Kurokawa AS, Neto EL, Krüger RH (2008) Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields Archives of Microbiology 190:129-139.
- Castro AP, Silva MRSS, Quirino BF, Bustamante MMC, Krüger RH (2016) Microbial Diversity in Cerrado Biome (Neotropical Savanna) Soils Plos One 11: e0148785.
- Castro H, Ogram A, Reddy KR (2004) Phylogenetic characterization of methanogenic assemblages in eutrophic and oligotrophic areas of the Florida Everglades Applied and environmental microbiology 70: 6559-6568.
- Castro HA, Krüger TL, Ideriha CHF, Cappello MSC, Marchi AB (1983) Inoculação cruzada de *Eucalyptus*, goiaba (*Psidium guajava*) e jameiro (*Syzygium jambos*) com *Puccinia psidii*. Fitopatologia Brasileira 8: 491-7.
- Castro MT (2009) Fungos associados à Copaifera Monografia Universidade de Brasília. Brasília.
- Castro MT (2012) Pucciniales em plantas nativas do cerrado brasileiro e em algumas exóticas. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília.
- Ceresini PC, Shew HD, James TY, Vilgalys RJ, Cubeta MA (2007) Phylogeography of the Solanaceae-infecting Basidiomycota fungus *Rhizoctonia solani* AG-3 based on sequence analysis of two nuclear DNA loci. BMC Evolutionary Biology 7:163-184.
- Chaves ZM (1998) Fungos associados à *Mauritia flexuosa* (Buriti) e *Mauritiella armata* (Buritirana) Tese de Mestrado Universidade de Brasília Brasília
- Cole MM (1986) The Savannas - Biogeography and Geobotany Academic Press, London.
- Coutinho TA, Wingfield MJ, Alfenas AC, Crous PW (1998) *Eucalyptus* rust: a disease with the potential for serious international implications Plant Disease 82: 819-25
- Craven KD, Blankenship JD, Leuchtman A, Hignight K, Schardl CL (2001) Hybrid fungal endophytes symbiotic with the endophyte effects is mainly caused by the endophyte grass *Lolium pretense*. Sydowia 53: 44-73.

- Crouch JA, Clark BB & Hillman BJ (2009) What is the value of ITS sequence data in *Colletotrichum* systematics and species diagnosis? A case study using the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* group. *Mycologia* 101: 648-656
- Cummins G, Hiratsuka Y (1983) Illustrated genera of rust fungi American Phytopathological Society, San Pablo, EEUU.
- Cummins GB (1936) Phylogenetic significance of the pores in urediospores. *Mycologia* 28: 103-132.
- Cummins GB, Hiratsuka Y (2003) Illustrated genera of rust fungi 3 ed The American Phytopathological Society, St Paul 225
- Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology *Molecular Plant Pathology* 13: 414-430
- Dianese AC, Costa AM, Dianese JC (2008) A new *Pseudocercospora* species on *Passiflora setacea*. *Mycotaxon* 105: 1-5
- Dianese AC, Vale HMM, Souza ESC, Pereira-Carvalho RC, Chaves ZM, Câmara PEAS, Dianese JC (2014) New *Cercospora* species on *Jatropha curcas* in central Brazil. *Mycological Progress* 13: 1069
- Dianese JC & Santos LTP (1995) *Aplopsora hennenii* sp nov., the first rust fungus recorded in host-family Vochysiaceae. *Mycological Research* 99: 914-916 London.
- Dianese JC (2000) Micodiversidade associada a plantas nativas do Cerrado In: TB, Cavalcanti; BMT, Walter (Org.) Tópicos atuais em Botânica 1ª ed Brasília: Soc Bras Botânica / EMBRAPA: 109-115
- Dianese JC, Buriticá P, Hennen JF (1994) The rust of jatobá: a new *Crossospora* species from Neotropica on *Hymenaea* (Leguminosae). *Fitopatologia Brasileira* 19: 588-591.
- Dianese JC, Medeiros RB, Santos LTP (1997) Biodiversity of microfungi found on native plants of the Brazilian cerrado In: K Hyde (Org.) Biodiversity of tropical microfungi: Hong Kong Uni Press 36-417.

- Dianese JC, Medeiros RB, Santos LTP, Furlanetto C, Sanchez M, Dianese AC (1993) *Batistopsora* gen nov and new *Phakopsora*, *Ravenelia*, *Cerotelium*, and *Skierka* species from the Brazilian Cerrado. *Fitopatologia Brasileira* 18: 436-450.
- Dianese JC, Moraes TS, Haridassan M (1986) Screening *Eucalyptus* species for rust resistance in Bahia, Brazil. *International Journal of Pest Management*: 292-295, 1986.
- Dianese, JC, Moraes, TS, Silva AR (1984) Response of *Eucalyptus* species to field infection by *Puccinia psidii*. *Plant Disease* 68: 314-316.
- Dietel P (1928) Hemibasidii (Ustilaginales and Uredina-les), p 24-98 In A Engler & K Prantl (eds) *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, vol 2 Engelmann, Leipzig, Alemania.
- Dornelo-Silva D (1999) Fungos associados a plantas da família Vochysiaceae presentes no Cerrado. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília.
- Dornelo-Silva D, Dianese JC (2004) New hyphomycete genera on *Qualea* species from the Brazilian Cerrado. *Mycologia* 96: 879-884.
- Dornelo-Silva D, Pereira-Carvalho RC, Dianese JC (2007) New *Stenella* and *Parastenella* species from the Brazilian Cerrado. *Mycologia* 99: 753-764
- Doungsa-ard C, McTaggart AR, Geering ADW, Dalisay TU, Ray J, Shivas RG (2015) *Uromycladium falcatarium* sp nov., the cause of rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia *Australasian Plant Pathology* 44: 25-30.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15
- Duplessis S, Cuomo CA, Lin Y-C, Aerts A, Tisserant E, Veneault-Fourrey C, Joly DL, Hacquard S, Anselme J, Cantarel BL, Chiu R, Coutinho PM, Feu N, Field M, Frey P, Gelhaye E, Goldberg J, Grabherr MG, Kodira CD, Kohler A, Kües U, Lindquist EA, Lucas SM, Mago R, Mauceli E, Morin E, Murat C, Pangilinan JL, Park R, Pearson M, Quesneville H, Rouhier N, Sakthikumar S, Salamov AA, Schmutz J, Selles B, Shapiro H, Tanguay P, Tuskan A, Henrissat B, Vande Peer Y, Rouzé P, Ellis JG, Dodds PN, Schein JE, Zhong S, Hamelin RC, Grigoriev IV, Szabo LJ, Martin F 2011. Obligate biotrophy features unraveled by the genomic analysis of rust fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108: 9166-1971.

- Faleiro FG (2007) Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Embrapa Cerrados Planaltina.
- FAO (2015) World Food Situation. Disponível em: <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/> acessado em 02setembro de 2015.
- Fasters MK, Daniels U, Moershbacher BM (1993) A simple and reliable method for growing the wheat-stem rust fungus, *Puccinia graminis* f sp tritici in liquid culture. *Physiol Mol Plant Pathol* 42: 259-265.
- Feau N, Vialle A, Allaire, M, Maier W, Hamelin RC (2011) DNA barcoding in the rust genus *Chrysomyxa* and the implications for the phylogeny of the genus. *Mycologia* 103: 1250-1266.
- Ferreira FA (1983) Ferrugem do eucalipto. *Revista Árvore* 7: 91–109.
- Ferreira ME, Grattapaglia D (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética 3. Ed. Embrapa Cenargen Brasília.
- Foltz MJ, Perez KE & Volk TJ (2012) Molecular phylogeny and morphology reveal three new species of *Cantharellus* within 20 m of one another in western Wisconsin, USA. *Mycologia* 105:447-461
- Forzza RC, Baumgratz JFA, Bicudo CEM, Canhos Dal, Carvalho Jr AA, Costa A, Costa DP, Hopkins M, Leitman PM, Lohmann LG, Lughadha EN, Maia, LC, Martinelli, G, Menezes M, Morim MP, Coelho, MAN, Peixoto AL, Pirani JR, Prado J, Queiroz LP, Souza S, Souza VC, Stehmann JR, Sylvestre LS, Walter BMT & Zappi D (2010) Síntese da diversidade brasileira In: Forzza, R.C et al. (eds.) Catálogo de plantas e fungos do Brasil v 1 Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro 21-42.
- Fungaro MHP (2000) PCR na micologia *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento* 14: 12-16.
- Fungaro MHP (2001) PCR na Micologia - Diagnóstico e Análise de Variabilidade *Biotecnologia. Ciência & Desenvolvimento* 14: 12-16.

Futuyma DJ (2009) *Biologia evolutiva* 3^a ed Editora Funpec Ribeirão Preto.

Giblin F & Carnegie AJ (2014) *Puccinia psidii* (Myrtle Rust) – Australian host list. Acessado em outubro de 2014. Disponível em: http://www.anpc.asn.au/resources/Myrtle_Rust.html.

Giblin F (2013) Myrtle rust report: new Caledonia. University of the Sunshine Coast, Maroochydore.

Glass NL, Donaldson GC (1995) Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 1323-1330.

Graça RN, Ross-Davis AL, Klopfenstein NB, Kim M-S, Peever TL, Cannon PG, Aun CP, Mizubuti ESG, Alfenas AC (2013) Rust disease of eucalypts, caused by *Puccinia psidii*, did not originate via host jump from guava in Brazil. *Molecular Ecology* 22: 6033-6047.

Guarim-Neto G, Morais RG (2003) Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. *Acta bot bras* 17: 561-584

Gutiérrez AH, Dianese JC (2008) New cercosporoid fungi from the Brazilian Cerrado 1 Species on hosts of the families Anacardiaceae, Araliaceae, Bombacaceae, Burseraceae and Celastraceae *Mycotaxon* 106: 41-63

Gutiérrez AH, Dianese JC (2009) New cercosporoid fungi from the Brazilian Cerrado 2 Species on hosts of the subfamilies Caesalpinioideae, Faboideae and Mimosoideae (Leguminosae s lat.). *Mycotaxon* 107: 1-24

Hawksworth DL (2012) Managing and coping with names of pleomorphic fungi in a period of transition. *IMA Fungus* 3: 15-24.

Hawksworth DL (1991) The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research* 95: 641-655

Hawksworth DL (2001) The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105: 1422-1432

Hennen, JF, Figueiredo, MB, Carvalho Jr., AA, Hennen, PG (2005) Catalogue of plant rust fungi (Uredinales) of Brazil Hernández-Gutiérrez & Dianese JC 2013 New *Passalora* species on *Peixotoa* (Malpighiaceae) from the Brazilian Cerrado. *Mycological Progress* 4 107-111.

Hernández-Gutiérrez A, Braun U, Dianese JC (2014) Cercosporoid hyphomycetes on malpighiaceae hosts from the Brazilian Cerrado: species of *Pseudocercospora* on hosts belonging to *Byrsonima*. *Mycological Progress* 13: 193-210.

Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon F, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lücking R, Thorsenlumschm H, Lutzoni F, Matheny PB, McLaughlin DJ, Powell MJ, Redhead S, Schoch CL, Spatafora JW, Stalpers JA, Vilgalys R, Aime MC, Aptroot A, Bauer R, Begerow D, Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Dai Y, Gams W, Geiser DM, Griffith GW, Gueidan C, Hawksworth DL, Hestmark G, Hosaka K, Humber RA, Hyde KD, Ironside JE, Kõljalg U, Kurtzman CP, Larsson K, Lichtwardt, Mozley-Standridge JS, Oberwinkler F, Parmasto E, Reeb V, Rogers JD, Roux C, Ryvarden L, Sampaio JP, Schübler V, Sugiyama J, Thorn RG, Tibell L, Untereiner WA, Walker C, Wang Z, Weir A, Wess M, White MM, Winka K, Yao Y, Zhang N (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 111: 509-547.

Hibbett D, Abarenkov K, Kõljalg U, Öpik M, Chai B, Cole J, Wang Q, Crous P, Robert V, Helgason T, Herr JR, Kirk P, Lueschow S, O'Donnell K, Nilsson RH, Oono R, Schoch C, Smyth C, Walker DM, Porras-Alfaro A, Taylor JW, Geiser DM. 2016. Sequence-based classification and identification of Fungi. *Mycologia* 108: doi: 10.3852/16-130.

Hoshino YT (2012) Molecular analyses of soil fungal community – methods and applications In: Soriano, M.C.H (ed.) *Soil health and land use management* In Tech Shanghai.

Hyde KD, Nilsson RH, S Alias A, Ariyawansa AH, Blair E & Lei Cai & Arthur WAM de Cock & Dissanayake AJ & Glockling SL & Goonasekara ID & Gorczak M & Hahn M & Jayawardena RS & van Kan JAL & Laurence MH & Lévesque CA & Li X & Liu J-K & Maharachchikumbura SSN & Manamgoda DS & Martin FN & McKenzie EHC & McTaggart AR & Mortimer PE & Nair PVR & Pawłowska J & Rintoul TL & Shivas RG & Spies CFJ & Summerell BA & Taylor PWJ & Terhem RB & Udayanga D & Vaghefi N & Walther G & Wilk M & Wrzosek M & Xu J-C & Yan J & Zhou N (2014) One stop

- shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014) *Fungal Diversity* 67: 21-125.
- Inácio CA, Pereira-Carvalho RC, Souza ESC, Dianese JC (2011) A new *Dothidasteroma* species on leaves of *Psidium laruotteanum* from the Brazilian Cerrado *Mycotaxon* 116: 27-32.
- Inácio CA, Pereira-Carvalho RC, Souza ESC, Sales HB, Dianese JC (2012) A new *Hysterostomella* species from the Cerrado in Brasília National Park. *Mycotaxon* 119: 307-313.
- Kausrud H, Shalchian-Tabrizi K (2007) Multilocus sequencing reveals multiple geographically structured lineages of *Coniophora arida* and *C. olivacea* in North America. *Mycologia* 99: 705-713.
- Kawanishi T, Uemastu S, Kakishima M, Kagiwada S, Hamamoto H, Horie H, Namba S (2009) First report of rust disease on ohia and the causal fungus in Japan. *Journal of Genetic Plant Pathology* 75: 428-431.
- Kenaley SC, Hudler GW, Bergstrom GC (2016) Detection and phylogenetic relationships of *Puccinia emaculata* and *Uromyces graminicola* (Pucciniales) on switchgrass in New York State using rDNA sequence information. *Fungal biology* 120: 791-806.
- Kinloch BB Jr., Dupper GE (1996) Genetics of *Cronartium ribicola* I Axenic culture of haploid clones Canadian. *Journal of Botany* 74: 456-460.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA (2008) Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi 10th ed Wallingford, CAB International.
- Klink CA, Macedo RF, Mueller CC (1995) De Grão em Grão, o Cerrado Perde Espaço (Cerrado - Impactos do Processo de Ocupação) WWF- Fundo Mundial para a Natureza Brasília.
- Klink CA, Machado, RB (2005) A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* 1: 147-155.

- Konrad H, Stauffer C, Kirisits T, Halmschlager E (2007) Phylogeographic variation among isolates of the *Sirococcus conigenus* P group For. Pathol 37: 22-39.
- Lee D, Redfern O, Orengo C (2007) Predicting protein function from sequence and structure Nature. Reviews Molecular Cell Biology 8: 995-1005.
- Leonard KJ, Szabo LS (2005) Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis*. Molecular Plant Pathology 6: 99-111.
- Li H & Cui B (2013) Taxonomy and phylogeny of the genus *Megasporoporia* and its related genera. Mycologia 105: 368-383.
- Liu M & Hambleton S (2013) Laying the foundation for a taxonomic review of *Puccinia coronata* s.l in a phylogenetic context. Mycological Progress 12:63-89.
- Maia LC, Carvalho Jr AA (2010) Os fungos do Brasil In: Forzza, R.C et al. (Eds.) Catálogo de plantas e fungos do Brasil. V 1 Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- Maia LC, Carvalho Jr AA, Cavalcanti LH, Gugliotta AM, Drechsler Santos ER, Santiago ALMA, Cáceres MES, Gibertoni TB, Aptroot A, Giachini AJ, Soares AMS, Silva ACG, Magnago AC, Goto BT, Lira CRS, Montoya CAS, Pires-Zottarelli CLA, Silva DKA, Soares DJ, Rezende DHC, Luz EDMN, Gumboski EL, Wartchow F, Karstedt F, Freire FM, Coutinho FP, Melo GSN, Sotão HMP, Baseia IG, Pereira J, Oliveira JJS, Souza JF, Bezerra JL, Araujo Neta LS, Pfenning LH, Gusmão LFP, Neves MA, Capelari M, Jaeger MCW, Pulgarín MP, Menolli Junior N, Medeiros PS, Friedrich RCS, Chikowski RS, Pires RM, Melo RF, Silveira RMB, Urrea-Valencia S, Cortez VG, Silva VF (2015) Diversity of Brazilian Fungi. Rodriguésia 66: 1033-1045
- Maier W, Begerow D, Weiss M, Oberwinkler F (2003) Phylogeny of the rust fungi: an approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. Canadian Journal of Botany 81: 12-23
- Marlatt RB, & Kimbrough JW (1979) *Puccinia psidii* on *Pimenta dioica* in south Florida. Plant Disease Reporter 63: 510-512.

- McTaggart AR, Doungsa-ard C, Geering ADW, Aime MC, Shivas RG (2015) A co-evolutionary relationship exists between *Endoraecium* (Pucciniales) and its *Acacia* hosts in Australia. *Persoonia* 35: 50-62
- McTaggart AR, Geering AD, Shivas RG (2014) The rusts on Goodeniaceae and Stylidiaceae. *Mycological Progress* 13: 1017-1025.
- McTaggart AR, Shivas RG, Nest MA, Roux J, Wingfield BD, Wingfield MJ (2016) Host jumps shaped the diversity of extant rust fungi (Pucciniales). *New Phytologist* 209: 1149-1158.
- Mendonça R, Felfili J, Walter B, Silva JR, Rezende A, Filgueiras T, Nogueira P (1998) Flora vascular do Cerrado. In: S Sano & S Almeida (eds.) *Cerrado Ambiente e flora* p 288-556. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa Cerrados, Planaltina, Brasil.
- Minnis AM, McTaggart A, Rossman A, Aime MC (2012) Taxonomy of mayapple rust: the genus *Allodus* resurrected. *Mycologia* 104: 942-950.
- Minter DW, da Silva, M (2007) Fungos do Brasil Disponível em: www.cybertruffle.org.uk/brazfung.
- MMA (2016) Ministério do Meio Ambiente Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf/arquivos/programa_bioma_cerrado.pdf Acessado em abril de 2016.
- Mora C, Tittensor DP, Adl S, Simpson AGB, Worm B (2011) How many species are there on earth and in the ocean. *PLoS Biol* 9:1001127.
- Moricca S, Ragazzi A (2001) Establishment of single genotype axenic cultures from the haploid stage of the pine blister rust *Cronartium flaccidum*. *Mycological Research* 105: 1527-1532.
- Mullis K, Faloona F (1987) Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* 55: 335-350.
- Myers N, Mittermeier CG, Mittermeier GABF, Kents J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.

- Novaes CB, Souza FA & Siqueira JO (2010) Caracterização fenotípica e molecular de fungos micorrízicos arbusculares mantidos em banco de germoplasma. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45: 806-896.
- Nunes JLS (2016) Ferrugem asiática. Disponível em Agro Link: <http://www.agrolink.com.br/culturas/soja/ferrugem.aspx> Acessado em julho de 2016.
- O'Donnell K, Kistler HC, Tacke BK, Casper HH (2000) Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:7905-7910.
- Oliveira MC (2001) Estudios de la macro y microbiodiversidad de las algas Secuenciamiento del RNA ribosomal (rDNA) In: Alveal, K.; Antezana, T (eds.) *Sustentabilidade de la Biodiversidad, um problema atual Bases científico-técnicas, teorizaciones y proyecciones.* Universidad de Concepción Concepción 85-96.
- Ono Y (2015) *Kuehneola* species (Phragmidiaceae, Pucciniales) on Vitaceae plants. *Mycological Progress* 14: 50.
- Ono Y (2016) *Phakopsora hornotina*, an additional autoecious rust species on *Meliosma* in the Philippines and the Ryukyu Islands. *Japan Mycoscience* 57: 71-78.
- Pardo-Cardona V (2001) Historia, estado actual y perspectivas de la investigación de los Uredinales en Colombia. *Rev Fac Nal Agr Medellín* 54: 1333-1350.
- Park R (2007) Stem rust of wheat in Australia. *Crop Pasture Sci* 58: 558-566.
- Perdomo-Sánchez O, Pierpenbring M (2014) Species of *Uromyces* (Pucciniales, Basidiomycota) on Loranthaceae. *Tropical Plant Pathology* 39:141-153.
- Pereira OL, Soares DJ (2012) Fungos Fitopatogênicos In: Laércio Zambolim; Waldir Cintra de Jesus Júnior; Olinto Liparini Pereira (Org.). *O Essencial da Fitopatologia 1ª ed* Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora Ltda 01 225-307.

- Pereira-Carvalho RC (2004) Micobiota Foliícola associada a espécie de *Blepharocalyx*, *Eugenia*, *Gomidesia* e *Psidium* no Cerrado. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília.
- Pereira-Carvalho RC, Dornelo-Silva D, Inacio CA, Dianese JC (2009a) *Chaetothyriomyces*: a new genus in family Chaetothyriaceae. *Mycotaxon* 107: 483-488
- Pereira-Carvalho RC, Sepúlveda-Chavera G, Armando EA, Dianese JC (2009b) An overlooked source of fungal diversity: novel hyphomycete genera on trichomes of Cerrado plants. *Mycological Research* 113: 261-274
- Petersen R (1974) The rust fungus life cycle. *The Botanical Review* 40: 453-513.
- Pinho DB, Honorato Junior J, Nicoli A, Hora Junior BT, Pereira OL (2012) Phylogenetic placement of the genus *Anhellia* and the description of a nectrandae sp. nov. *Mycologia* 104: 1291-1298
- Pretti VQ, Calcagnotto D, Toledo-Piza M, de Almeida-Toledo LF (2009) Phylogeny of the Neotropical genus *Acestrorhynchus* (Ostariophysi: Characiformes) based on nuclear and mitochondrial gene sequences and morphology: A total evidence approach. *Molecular phylogenetics and evolution* 52: 312-320.
- Prevedello JA, Carvalho CJB (2006) Conservação do Cerrado brasileiro: o método pan-biogeográfico como ferramenta para a seleção de áreas prioritárias. *Natureza e conservação* 4: 39-57. Paraná.
- Purdue Herbaria - Botany and Plant Pathology. Disponível em: ([https://ag.purdue.edu/btny/Herbaria/Pages/Arthur%20Herbarium/Arthur Herbarium Overview.aspx](https://ag.purdue.edu/btny/Herbaria/Pages/Arthur%20Herbarium/Arthur%20Herbarium%20Overview.aspx)). Acessado em novembro 2014.
- Ramsbottom J (1912) Some notes on the history of the classification of the Uredinales *Transactions of the British. Mycological Society* 4: 77-105
- Reader U, Broda P (1985) Rapid preparation of DNA from filamentous fungi *Lett. Appl Microbiology* 1: 17-20.

- Rezende DV, Dianese JC (2001) New species of *Ravenelia* from Brazilian Cerrado áreas. Fitopatologia Brasileira, SBF 26: 627-634 Fortaleza.
- Rezende DV, Dianese JC (2002) Aspectos taxonômicos de Uredinales infectando leguminosas utilizadas na arborização urbana do Distrito Federal. Fitopatologia Brasileira. 27: 361-371 Brasília, DF.
- Rezende DV, Dianese JC (2003) Espécies de *Uromyces* em Leguminosae do Cerrado com descrição de *U. galactiae*. Fitopatologia Brasileira 28: 495-501 Fortaleza, Ceará.
- Ribeiro JF, Walter BMT (1998) Fitofisionomias do bioma Cerrado In: Cerrado: Ambiente e flora Sano, S.M & Almeida, S.P (ed.), Planaltina, DF, Embrapa 87-166 p.
- Ribeiro JF, Walter BMT (2008) As principais fitofisionomias do bioma Cerrado In: Sano SM, Almeida SP, Ribeiro JF (orgs.) Cerrado: ecologia e flora 151-212 Embrapa Brasília.
- Rossmann AY (1995) A strategy for an all-taxa inventory of fungal biodiversity. In: Biodiversity and Terrestrial Ecosystems C Peng & Chou CH. eds Academia Sinica, Taiwan 169-194.
- Roux KH (2003) Optimization and troubleshooting in PCR In: Dieffenbach, CW & Dveksler GS (eds.) PCR primer: a laboratory manual 2ed Cold Spring Harbor Press New York.
- Salazar M (2002) Uredinales (royas) en la zona cafetera colombiana Tesis Maestría, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.
- Salazar MY, Carvalho Jr AA (2010) Novos registros de ferrugens (fungi, Uredinales) para o Brasil, coletados no Parque Nacional do Itatiaia Acta Botanica Brasílica 24: 378-385.
- Santos LTP (2011) Micobiota foliícola de *Salacia crassifolia*. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília.
- Santos MDM (2013) Morfotaxonomia e filogenia molecular de espécies dos gêneros *Phyllachora* e *Ophiodothella* em hospedeiras da família Myrtaceae nativas do cerrado. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. Brasília.
- Sato T, Sato S (1985) Morphology of aecia of the rust fungi Transactions of the British Mycological Society 85: 223-238.

- Savile DBO (1971) Coevolution of the Rust Fungi and Their Hosts. *The Quarterly Review of Biology* 46: 211-218.
- Savile DBO (1976) Evolution of the rust fungi (Uredinales) as reflected by their ecological problems. *Evol Biol* 9:137-2.
- Savile DBO (1979) Fungi as aids in higher plant classification. *Bot Rev* 45: 377-503.
- Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, Chen W (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 109: 6214-6246.
- Schumann GL, Leonard KJ (2000) Stem rust of wheat (black rust) *The Plant Health Instructor*.
- Seifert KA et al. (2007) Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104: 3901-3906.
- Sjamsuridzal W, Nishida H, Ogawa H, Kakishima M, Sugiyama J (1999) Phylogenetic positions of rust fungi parasitic on ferns: evidence from 18S rDNA sequence analysis. *Mycoscience* 40:21-27.
- Smith JA, Blanchette RA, Newcombe G (2004) Molecular and morphological characterization of the willow rust fungus, *Melampsora epitea*, from arctic and temperate hosts in North America. *Mycologia* 96: 1330-1338.
- Soares WRO, Dianese JC (2014) New *Meliola* species on fabaceous hosts from the Brazilian Cerrado. *Mycological Progress* 13: 321-331.
- Souza CAP, Vitória NS, Bezerra JL, Luz EDMN, Inácio CA, Dianese JC (2008) *Camarotella brasiliensis* sp nov (Phyllachoraceae) on *Syagrus schizophylla* (Arecaceae) from Brazil. *Mycotaxon* 103: 313-317.
- Souza ESC, Chaves ZM, Soares WR, Pinho DB, Dianese JC (2015) *Uromyces hawksworthii* nom nov for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado. *IMA fungus* 6: 155-162.

- Sperandio EM (2012) Ocorrência, diversidade e potencial biotecnológico de leveduras associadas a plantas do Cerrado. Dissertação de mestrado Universidade de Brasília. Brasília.
- Sperandio EM, Vale HMM, Moreira GAM (2015) Yeasts from native Brazilian Cerrado plants: Occurrence, diversity and use in the biocontrol of citrus green mould. *Fungal Biology* 119: 984-993.
- Sugiyama J (1998) Relatedness, phylogeny, and evolution of the fungi. *Mycoscience* 39: 487-511
- Suneetha KB, Dahle G, Naevdal G (2000) Analysis of mitochondrial DNA sequences from two *Maurolicus* taxa: evidence for separate species? *Journal of fish biology* 57(6): 1605-1609.
- Swann EA, Taylor JW (1995a) Phylogenetic diversity of yeast-producing basidiomycetes. *Mycological Research* 99: 1205-1210.
- Telechea N, Rolfo M, Coutinho TA, Wingfield MJ (2003) *Puccinia psidii* on *Eucalyptus globulus* in Uruguay. *Plant Pathology* 52: 427-427.
- Tessmann DJ, Dianese JC, Miranda, AC, Castro, LHR (2001) Epidemiology of a Neotropical rust (*Puccinia psidii*): periodical analysis of the temporal progress in a perennial host (*Syzygium jambos*). *Plant Pathology* 50: 725-731.
- Ulloa M (2016). unibio.unam.mx/irekni/handle/123456789/32020?proyecto=Irekani. Acessado em 03/12/2016.
- Uchida J, Zhong S, Killgore E (2006) First report of a rust disease on *Ohia* caused by *Puccinia psidii* in Hawaii. *Plant Disease* 90: 524-524.
- Valencia EY, Chambergo FS (2013) Mini-review: Brazilian fungi diversity for biomass degradation *Fungal. Genetics and Biology* 60: 9-18.
- Van de Sande WWJ (2012) Phylogenetic analysis of the complete mitochondrial genome of *Madurella mycetomatis* confirms its taxonomic position within the order Sordariales. *Plos One* 7:1-10.

- Van Der Merwe M, Ericson L, Walker J, Thrall PH, Burdon JJ (2007) Evolutionary relationships among species of *Puccinia* and *Uromyces* (Pucciniaceae, Uredinales) inferred from partial protein coding gene phylogenies *Mycological Research* 111: 163-175.
- Van Der Merwe MM, Walker J, Ericson L, Burdon JJ (2008) Coevolution with higher taxonomic host groups within the *Puccinia/Uromyces* rust lineage obscured by host jumps. *Mycological Research* 112: 1387-1408.
- Vialle A, Feau N, Allaire M, Didukh M, Martin F, Moncalvo JM, Hamelin RC (2009) Evaluation of mitochondrial genes as DNA barcode for Basidiomycota. *Mol Ecol Resour* 9:99-113.
- Vialle A, Feau N, Frey P, Bernier L, Hamelin, RC (2013) Phylogenetic species recognition reveals host-specific lineages among poplar rust fungi. *Molecular phylogenetics and evolution* 66: 628-644.
- Véllez-Zambrano S (2016). Taxonomia de fungos associados a plantas do cerrado do Distrito Federal e Mato Grosso. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília.
- Wade RH (2007) Microtubules: An overview. *Meth Mol Med* 137: 1-16
- Wanderlei-Silva D, Neto E, Hanlin RT (2003) Molecular systematics of the Phyllachorales (Ascomycota, Fungi) based on 18S ribosomal DNA sequences Brazil. *Arch Biol Tech* 46: 315-322.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics In: InnisMA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. 315-322 Academic, San Diego.
- Williams PG (1984) Obligate parasitism and axenic culture Pgs 399- 430 in: *The Cereal Rusts* Bushnell WR, Roelfs AP eds Academic Press Orlando.
- Wingfield GD, Ericson L, Szaro T, Burdon JJ (2004) Phylogenetic patterns in the Uredinales. *Australasian Plant Pathology* 33: 327-335.

- Wirsel SG (2004) Homogenous stands of a wetland grass harbour diverse consortia of arbuscular mycorrhizal fungi FEMS. *Microbiology Ecology* 48: 129-138.
- Yang T, Chang W, Cao B, Tian C, Zhao L & Liang Y (2015) Two new *Phragmidium* species identified on *Rosa* plants native to China. *Phytotaxa* 217: 182-190.
- Yorinori JT (2007) Controle da ferrugem “asiática” da soja da na safra 2006/2007. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br> Acessado em agosto de 2013.
- Zhuang JY, Wei SX (2011) Additional materials for the rust flora of Hainan Province, China. *Mycosystema* 30: 853-860.
- Zuluaga C, Buriticá P, Marín M (2009) Generalidades de los Uredinales (Fungi: Basidiomycota) y de sus relaciones filogenéticas. *Acta Biol Colombiana* 14: 39-54.
- Zuluaga C, Buriticá P, Marín M (2011) Filogenia de hongos roya (Uredinales) en la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del ADN ribosomal 28S. *Revista de Biología Tropical* 59: 517-540 2011 San José, Costa Rica.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS PUCCINIALES DO CERRADO USADOS NAS ANÁLISES FILOGENÉTICAS

RESUMO

A ordem Pucciniales representa um dos maiores grupos de fungos do Cerrado brasileiro (Dianese et al. 1997, Dianese 2000), entretanto o estudo acerca da sua biodiversidade ainda é insatisfatório. O que se tem de informações são principalmente refletidas em trabalhos de caracterização morfológica. Nessas condições, um total de 41 espécies entre formas sexuadas e assexuadas de Pucciniales foram aqui estudados, coletados nos estados de Goiás, Minas Gerais, Maranhão, Mato Grosso e no Distrito Federal. No Cerrado, os fungos causadores de ferrugem foram encontrados em plantas hospedeiras das famílias Anacardiaceae, Annonaceae, Arecaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Clusiaceae, Combretaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lauraceae, Loranthaceae, Malpighiaceae, Myrtaceae, Rosaceae, Sapindaceae, Sapotaceae, Solanaceae, Vochysiaceae e Thelypteridaceae. O trabalho consistiu na caracterização, ilustração e complementação de dados de vários espécimes já conhecidos ou não. Neste estudo a família com a maior quantidade de membros representados foi a Pucciniaceae (gêneros: *Puccinia* e *Uromyces*) seguida das famílias Phakopsoraceae (gêneros: *Phakopsora*, *Batistopsora*, *Catenulopsora* e *Crossopssora*), Raveneliaceae (gêneros: *Diorchidium*, *Esalque*, *Ravenelia* e *Sphaerophragmium*), Uropyxidaceae (gêneros: *Dasyscypha*, *Kimuromyces* sp., *Mimema*, *Porotenus* e *Prospodium*) Chaconiaceae (gêneros: *Chaconia* e *Aplopsora*), Pileolariaceae (gênero: *Skierka*) e Phragmidiaceae (gênero: *Kuehneola*). Além disso, foram incluídas no

estudo espécies de classificação taxonômica incerta pertencentes aos gêneros *Cerradoa* e *Desmella* e alguns espécimes assexuais considerados simplesmente como *Aecidium* e *Uredo*. Além de aumentar as informações sobre as espécies já conhecidas, o trabalho resultou em novos relatos de ocorrência de membros das Pucciniales em nova hospedeiras e novos locais, prováveis espécies novas, relatos de fase ou fases do ciclo de vida até então inéditas e, finalmente, algumas atualizações nomenclaturais e taxonômicas.

Palavras chave: Morfologia, Ferrugens, Micodiversidade, Savana brasileira, Fungos da Neotropica

INTRODUÇÃO

A Ordem Pucciniales é um grupo de grande importância no Cerrado, todavia os conhecimentos acerca da ocorrência e diversidade de membros deste grupo ainda são escassos. Atualmente cerca de um terço dos gêneros de Pucciniales são conhecidos no Cerrado (Kirk et al. 2008, Hennen et al. 2005). A caracterização morfológica é uma ferramenta base para o conhecimento de tais fungos sendo primordial a continuidade de pesquisas voltadas para este grupo neste sentido. Com o objetivo de se estender as informações sobre Pucciniales do Cerrado, extensivas coletas foram realizadas em diversos estados brasileiros dentro do bioma, seja em áreas de preservação ambiental, seja em parques Nacionais, bem como em locais de fronteira de ocupação urbana e agrícola.

A caracterização morfológica dentro do grupo dos Pucciniales detém uma particularidade em relação aos outros grupos fúngicos. Neste caso, o grupo pode envolver em seu ciclo de vida até 5 estágios esporíferos distintos e a morfologia das estruturas, principalmente dos esporos sexuais (teliósporos) e assexuais de cada estágio é determinante para a caracterização de gêneros e também de muitas espécies (Cummins e Hiratsuka 2003). Cabe lembrar que, associada à análise morfológica temos a inferência de gêneros e espécies por meio da determinação da hospedeira, uma vez que os Pucciniales infectam grupos específicos de plantas sendo restritos principalmente a famílias.

Uma contribuição relativamente importante em termos da taxonomia do grupo, foi dada pelos micólogos da Universidade de Brasília, a qual se refletiu inclusive de forma significativa no conteúdo da quarta edição do clássico *Illustrated Genera of Rust Fungi*, por Cummins & Hiratsuka (2003), onde foram incorporados dois novos gêneros (*Batistopsora* e *Kimuromyces*) e reinstalado um terceiro (*Mimema*), todos os três encontrados sobre plantas endêmicas do Cerrado. Além disso, várias ilustrações importantes passaram a constar do

referido manual (Dianese et al. 1993, 1995; Resende 1999). As principais famílias de hospedeiras dos fungos causadores de ferrugem no Cerrado são: Fabaceae, Vochysiaceae, Annonaceae, Anacardiaceae, Clusiaceae, Combretaceae, Myrtaceae, Sapotaceae, Salpindaceae, Loranthaceae, entre outras.

Em Fabaceae são relatadas as espécies *Crossopsora hymenaeae* em *Hymenaea stigonocarpa*, *Mimema venturae* em *Dalbergia miscolobium*, *Ravenelia bezerrae* em *Enterolobium ellipticum*, *Ravenelia cerradensis* em *Chamaecrista clausenii* var. *cyclophylla*, *Ravenelia chapadensis* em *Chamaecrista decumbentes*, *Ravenelia emagensis* em *Anadenanthera* sp., *Ravenelia mineirosensis* em *Anadenanthera colubrina* var. *colubrina*, *Ravenelia santos — costae* em *Calliandra dysantha*, *Ravenelia victoria — rossetii* em *Mimosa radula* var. *imbricata*, *Uromyces galacticae* em *Galactia peduncularis*. Na família Vochysiaceae é encontrada a espécie *Aplopsora hennenii* em *Qualea multiflora*. Em Annonaceae *Batistopsora crucis — filli* em *Annona tomentosa*. Em Caryocaraceae a espécie *Cerotelium giacometti* em *Caryocar brasiliense*. Para Anacardiaceae é relatada a espécie monotípica *Kimuromyces cerradensis* em *Astronium fraxinifolium*. Em Clusiaceae *Phakopsora blutleri* em *Kielmeyera coriacea*. Em Combretaceae *Phakopsora chavessi* em *Terminalia phaeocarphae*. Em Myrtaceae *Phakopsora rossmanii* em *Campomanesia adamantium*. Na família Sapotaceae é descrita a espécie *Skierka divinopolensis* em *Matayba guianense*. Na família Loranthaceae *Uromyces hawksworthii* em *Phthirusa stelis*, uma planta parasita de outras árvores do Cerrado (Dianese et al. 1993, Dianese et al. 1994, Dianese & Santos 1995, Rezende & Dianese 2001, 2002, 2003 e Souza et al. 2015).

Os principais trabalhos envolvendo o estudo da taxonomia de Pucciniales do Cerrado foram realizados por Resende (1999) com espécies em plantas da família Fabaceae, revelando entre outras várias espécies do gênero *Ravenelia*. Castro em 2012 estudou vinte e nove Pucciniales sendo uma provável nova espécie de *Crossopsora* em *Blepharodon pictum* e

relatou oito fungos em hospedeiras inéditas: *Aecidium ipomoeae* em *Ipomoea cairica*, *Aecidium piptocarphae* e *Puccinia pipta* em *Piptocarpha rotundifolia*, *Puccinia malvacearum* em *Triumfetta rhomboidea*, *Puccinia inrecta* em *Peixotoa goiana* e *Cerotelium sabiceae* em *Sabicea brasiliensis*.

Dada a abundância de membros da Ordem Pucciniales neste bioma faz-se necessário o aprimoramento de técnicas clássicas de identificação morfológica, como alicerce para posteriores inclusão de ferramentas moleculares e estudos em filogenia molecular. Assim, o objeto do presente trabalho é prover um avanço na caracterização morfológica de um grupo de espécies para servir de base para um estudo molecular eficiente, capaz de resolver pendências que eventualmente apareçam.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de plantas hospedeiras contendo sinais de fungos causadores de ferrugens foram coletadas no Distrito Federal, principalmente nos seguintes locais: Jardim Botânico de Brasília (JBB), Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR – IBGE), Reserva da Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL – UNB), Reserva da Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (EEB – UNB) e *Campus* Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília. Além do Distrito Federal, as coletas das amostras também foram realizadas em reservas no estado de Minas Gerais (Fazenda das Grotadas), Mato Grosso (Vila da Santíssima Trindade), Goiás (Rialma, Curralinho) e Maranhão (Chapada das Mesas – Carolina).

As plantas hospedeiras contendo sinais e sintomas de fungos característicos de membros da ordem Pucciniales, foram identificadas, processadas e submetidas ao processo de herborização. Posteriormente, essas plantas foram depositadas na Coleção Micológica do Herbário UB da Universidade de Brasília o qual receberam um código de referência (UB Col. Micol.), e um número seriado.

Aproximadamente 400 amostras frescas de plantas foram analisadas, no entanto, quase 3.000 espécimes de Pucciniales do Cerrado, estão incorporados à Coleção Micológica do Herbário UB (UB Col. Micol). Adicionalmente, algumas das amostras herborizadas contidas na UB Col. Micol foram utilizadas para a complementação da caracterização morfológica, quando necessária, a fim de ampliar o universo do estudo filogenético em Pucciniales do Cerrado.

Plantas mostrando sintomas/sinais de fungos causadores de ferrugens em folhas, caules, flores e frutos, foram submetidas primeiramente à análise em microscópio estereoscópico. As estruturas fúngicas foram retiradas através de estilete de ponta fina e

colocadas em lâminas de vidro contendo corante a base de lactoglicerol, e, em seguida, sobrepostas com lamínulas de vidro e vedadas com camadas de esmalte para unhas. Essas montagens são caracterizadas como lâminas semipermanentes. Principalmente, nos materiais herborizados, fragmentos do tecido da planta contendo estruturas dos fungos foram separados e hidratados com etanol 10% (v/v) e tween — 20 a 0,1%, por 30 minutos (material fresco) e por 3 horas (material herborizado). Para a análise da relação do fungo com o tecido vegetal da hospedeira, esses fragmentos foram submetidos a cortes histológicos com espessura entre 10 a 30 µm, realizados em criomicrotomo modelo Micron CM 1850 – 220V/60Hz e os cortes montados em lâminas semipermanentes para observação em microscópio de luz.

O material assim tratado, foi examinado e fotografado em microscópio de luz Leica® DM 2500 provido de câmara Leica® DFC 490, acoplada a computador conectado a sistema eletrônico de captura de imagem. A mensuração das estruturas dos fungos foram realizadas através do programa Leica® QwinV3. As medidas referentes a cada estrutura fúngica foram realizadas com 20 a 50 repetições e foram consideradas as dimensões extremas e as de maior frequência.

Os sintomas e sinais dos respectivos fungos nas hospedeiras foram fotografados em um microscópio estereoscópico (Leica® M205 C) acoplada a uma câmara fotográfica digital (Leica® DFC 295) conectada a conectada a um computador e a um sistema eletrônico de captura de imagem que são processadas por meio do software Leica® LAS V4.4.

Os dados então gerados somados à identificação precisa da planta hospedeira, dada à especificidade patogênica dos Pucciniales, constituiu, em conjunto, em uma primeira fase obrigatória para chegar com sucesso a identificação precisa da espécie de fungo envolvida.

A literatura básica envolvida nos estudos morfológicos consistiu em primeiro plano na quarta edição do “*Illustrated Genera of Rust Fungi*” publicado pela *American Phytopathological Society* (Cummins & Hiratsuka 2003) e no “*Catalogue of the Species of*

Rust Fungi from Brazil” (Hennen *et al.* 2005), entre muitos outros artigos a serem mencionados quando no trato de material especificamete vinculado a cada gênero e/ou espécie.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo concentrou-se apenas em espécies de Pucciniales do Cerrado pertencentes as famílias Chaconiaceae, Phakopsoraceae, Uropyxidaceae, Pucciniaceae, Phragmidiaceae, Pileolaricaceae e Raveneliaceae. No entanto, também foram caracterizadas espécies Pucciniales com classificação taxonômica incerta (*Incertae sedis*) e formas assexuadas de ocorrência inédita para algumas das hospedeiras estudadas.

Assim, as coletas de membros de cada Família da Ordem Pucciniales estudada, foram caracterizadas morfológicamente através de descrição e ilustração precisas, acompanhadas da consequente classificação taxonômica precisa de cada uma.

As descrições de cada espécime seguiram os conceitos de Cummins & Hiratsuka (2003), no que se refere aos 6 grupos e 12 tipos de espermogônios estabelecidos por Hiratsuka & Hiratsuka (1980) (Figura 4), e as formas estabelecidas para a fase ecídica e uredínica conforme contidos em Cummins & Hiratsuka (2003) e Hennen et al. (2005), conforme a Figura 5.

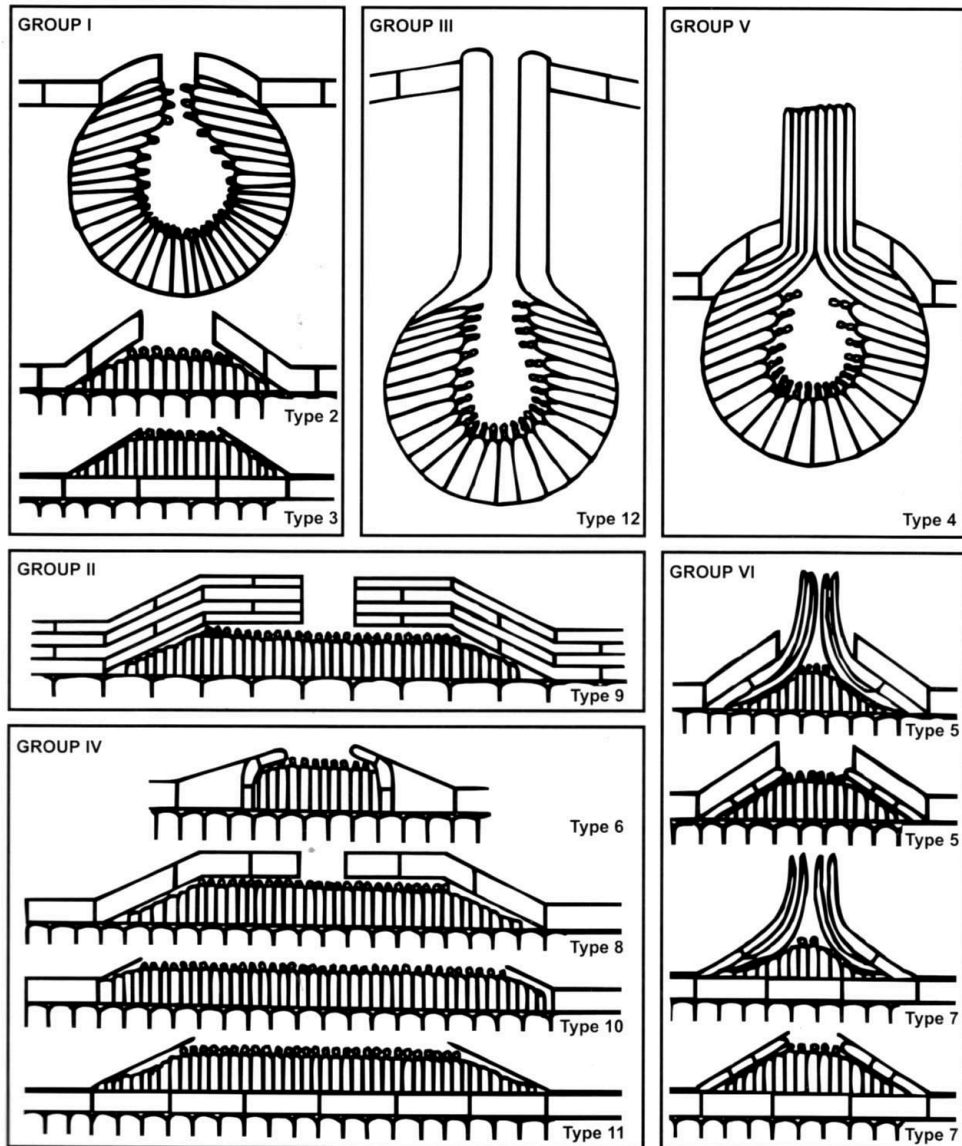


Figura 4. Esquema adotado por Cummins & Hiratsuka (2003) para facilitar a descrição dos espermogônios por meio de uma divisão em Grupos e Tipos e usado no presente trabalho.

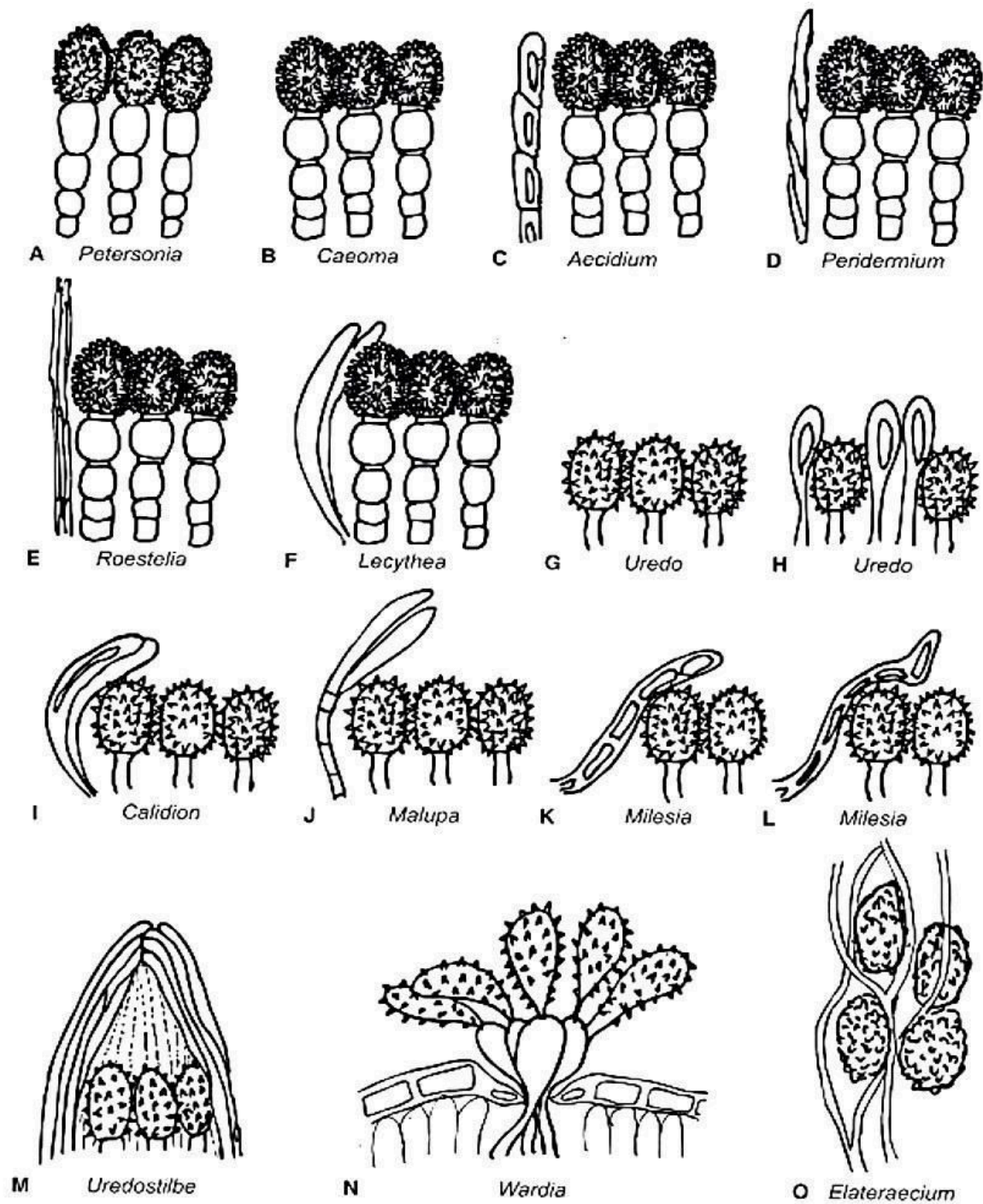


Figura 5. Designações e desenhos esquemáticos das fases assexuadas (écios e urédios) dos Paucinales criados por Hiratsuka & Hiratsuka (1980) e adotados por Cummins & Hiratsuka (2003), para facilitar a descrição de famílias e gêneros e usados neste trabalho.

Membros da Família Chaconiaceae Cummins & Y. Hiratsuka

A Família Chaconiaceae é caracterizada morfologicamente por possuir *Espermogônios* Grupo VI (tipos 5 ou 7). *Écios* tipo *Uraecium sensu* Arthur, ou do tipo *Aecidium*, com ou sem perídio; *eciósporos* individuais ou catenulados, geralmente equinulados, poros germinativos variados. *Urédios* do tipo *Uredo*, com ou sem paráfises; urediniósporos solitários, curto — pedicelados, geralmente equinulados com poros germinativos distribuídos ao acaso. *Télios* irrompentess, teliósporos unicelulares, lateralmente livres, sésseis ou pedicelados, paredes finas, com ou sem poros germinativos conspícuos; germinam sem dormência; basídio externo ou interno (septados internamente). Autoécios ou heteroécios com hospedeiros variados.

Essa Família incluía os Gêneros: *Achrotelium*, *Aplopsora*, *Botryorhiza*, *Ceraceopsora*, *Chaconia*, *Chrysocelis*, *Goplana*, *Maravalia*, *Olivea*, *Stomatisora*, *Telomapea*, *Acervulopsora*, *Angusia*, *Argomycetella*, *Bitzea*, *Desmotelium*, *Scopella*, *Scopellopsis*, *Tegillum* e *Mapea*, sendo o Gênero *Chaconia* Juel designado como tipo (Cummins & Hiratsuka 1983, Index Fungorum 2016, Mycobank 2016).

Os gêneros *Achrotelium*, *Botryorhiza*, *Ceropsora*, *Maravalia* e *Scopella* que produzem teliósporos pedicelados, foram excluídos da família Chaconiaceae, onde estavam anteriormente incluídos por Cummins e Hiratsuka (1983) e por Ono & Hennen (1983), segundo Mycobank e Index Fungorum, acessados em 29/11/2016. Assim, atualmente, com a sinonimização de gêneros e recombinação de várias espécies, a família Chaconiaceae se limita aos gêneros que apresentam teliósporos unicelulares e sésseis como em *Aplopsora*, *Chaconia*, *Chrysocelis*, *Goplana*, *Ochropsora* e *Olivea*.

O gênero *Hemileia* era considerado por Cummins e Hiratsuka (2003) como membro de Chaconiaceae, porém atualmente permanece como gênero *incertae sedis* (Index Fungorum,

Mycobank acessados em 29/11/2016, devendo estar vinculado ao grupo de espécies que formam teliósporos em cestas supra — estomatais.

Cummins & Hiratsuka (2003) já haviam excluído *Chrysocelis* de Chaconiaceae por diferir de outros gêneros quanto ao tipo de espermogônio, e écios do tipo *Petersonia*-like alocando-o dentro de *Mikronegeriaece*. Até o presente, prevalece a observação de Ono & Harada (1994) de que os gêneros atribuídos a Chaconiaceae não estão claramente estabelecidos devido ao conhecimento incompleto dos ciclos de vida e caracteres morfológicos dos soros.

Daí a ênfase dada no presente trabalho aos detalhes das diferentes formas de esporulação de espécies da família Chaconiaceae. No Cerrado brasileiro trabalhou-se aqui com espécies pertencentes aos Gêneros *Chaconia* e *Aplopsora*, ambas aqui caracterizadas em detalhe.

Gênero *Chaconia* Juel 1897

O gênero possui, segundo Cummins & Hiratsuka (2003): *Espermogônias* subepidérmicas ou subcuticulares do grupo VI. *Écios* subepidérmicos, irrompentes, paráfises ausentes, do tipo *Uredo* ou periféricas e encurvadas, tipo *Calidion sensu* Cummins & Hiratsuka (2003); *eciósporos* solitários, pedicelados, equinulados ou com verrugas em linhas, mais ou menos reticulados, poros germinativos equatoriais ou obscuros. *Urédios* similares aos *écios* mas não acompanhados por espermogônios; *urediniósporos* semelhantes aos *eciósporos*. *Télios* subepidérmicos, irrompentes; *teliósporos* unicelulares probasidiais, elipsoides ou clavados, de parede fina e lisa, lateralmente livres, sésseis, agrupados em células esporogênicas basais, poros germinativos inconspícuos de parede fina e coloração pálida; desenvolvendo *metabasídios* externos. *Basidiósporos* em esterimas formadas por

alongamento apical dos teliósporos, germinando em grupos, sem dormência; *mebasídios* externos. Esses conceitos são também considerados em trabalhos mais recentes (Hennen *et al.*, 2005, Berndt & Beenken 2013).

O gênero *Chaconia* (espécie tipo: *Chaconia alutacea* Juel), foi descrito em *Pithecellobium divaricatum* (Borg.) Benth, originalmente identificado como *Calliandra* sp., no Paraguai (Juel 1897).

Atualmente são reconhecidas 12 espécies válidas para o gênero, encontradas em diversas famílias botânicas: Fabaceae (*C. alutacea*, *C. brasiliensis*, *C. coaetanea* e *C. ingae*), Euphorbiaceae (*C. maprouneae*), Oleaceae (*C. butleri*), Bignoniaceae (*C. thailandica*), Verbenaceae (*C. berroana*), Clusiaceae (*C. clusiae*), Heliconiaceae (*C. heliconiae*), Moraceae (*C. hennenii*) e Loranthaceae (*C. texensis*) (Index Fungorum e Mycobank, acessados em 29/11/2016).

Todas as espécies de *Chaconia* spp. são autoécias. Como consequência, espécies de *Chaconia* podem na prática serem identificadas com base em características dos télios combinadas com a identificação precisa da espécie hospedeira.

As espécies *C. africana* (Y. Ono & J.F. Hennen) Eboh e *C. baphiae* (Cummins) Thirum. & Cummins, ambas descritas em Fabaceae, foram tratadas como espécies de *Chaconia* por Eboh (1979) e Thirum. & Cummins (1948). No entanto, hoje, os próprios autores das recombinações, alocaram ambas em *Ypsilospora*, família Raveneliaceae, designadas: *Y. africana* Ono & J.F. Hennen e *Y. baphiae* Cummins. Nessas espécies, os teliósporos são unicelulares e sésseis, mas ligados em pares, por um único pedicelo, além de serem produzidos sucessivamente em células esporogênicas às vezes soldadas a outras adjacentes, Com isso, resultando em teliósporos arranjados em roseta ou em espiral.

Duas espécies de *Chaconia* foram re combinadas para os gêneros *Maravalia* e *Olivea*, ambos da mesma família, como foi o caso de *C. millettiae* Suj. Singh, encontrada em folhas

de *Millettia auriculata* (Fabaceae) descrita em 1968 (Suj. Singh 1968) hoje *M. milletticola* Y. Ono & J.F. Hennen (1984); e *C. tectonae* T.S. Ramakr. & K. Ramakr, a partir de 1973, tratada como *Olivea tectonae* (T.S. Ramakr. & K. Ramakr.) J.L. Mulder (T.S. Ramakr. & K. Ramakr 1949, Mulder 1973).

Espécies de *Chaconia* do Cerrado

***Chaconia brasiliensis* Ono & Hennen (1983). Figs. 6 (A-I)**

De acordo com a descrição original de Ono & Hennen (1983) e estudos feitos por Vilela (1999) a espécie mostrou: *Lesões* esbranquiçadas na presença de teliósporos, ou ferruginosas quando dominam os urédios. *Espermogônios* e *Écios* ausentes. *Urédios* anfigenos, maioria hipófilos, 0,2 — 0,5 mm de diâmetro, subepidérmicos, irrompentess, dispersos ou gregários, pulverulentos, de coloração canela a marrom, parafisados. *Urediniósporos* 23 — 38 × 18 — 25 µm; paredes 1,5 µm de espessura, pedicelados, subglobosos, obovoides a elipsoides, equinulados, coloração canela a marrom dourado; 5 — 7 poros germinativos (maioria 6), dispersos, parafisados. *Paráfises* 28 — 44 × 2 — 4 µm, himeniais, hialinas, cilíndricas a clavadas. *Télios* 0,2 — 0,5 mm, hialinos, compactos, cerosos. *Teliósporos* cilíndricos 47 — 67 × 9 — 14 (— 16) µm, paredes finas, hialinas, lisas, metabasídios formados pela germinação apical dos teliósporo. *Basidiósporos* hialinos, unicelulares, obovoides 10 — 13 × 7 — 10 µm.

Espécimes examinados: em folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae): Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 01 ago. 2012, leg. E.S.C. Souza 102, UB22333; Centro Olímpico da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 25 jun. 2012, leg. E.S.C. Souza 65, UB22270; Instituto

Federal de Brasília, Planaltina, Distrito Federal, 20 ago. 2015, leg. E.S.C. Souza 248, UB23242.

Esta espécie já foi relatada em *Stryphnodendron adstringens*, *S. barbatimam*, *S. cristalinae* e *Stryphnodendron* sp. (Fabaceae) com ocorrência apenas nos estados brasileiros da Bahia, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí, Roraima, São Paulo e no Distrito Federal.

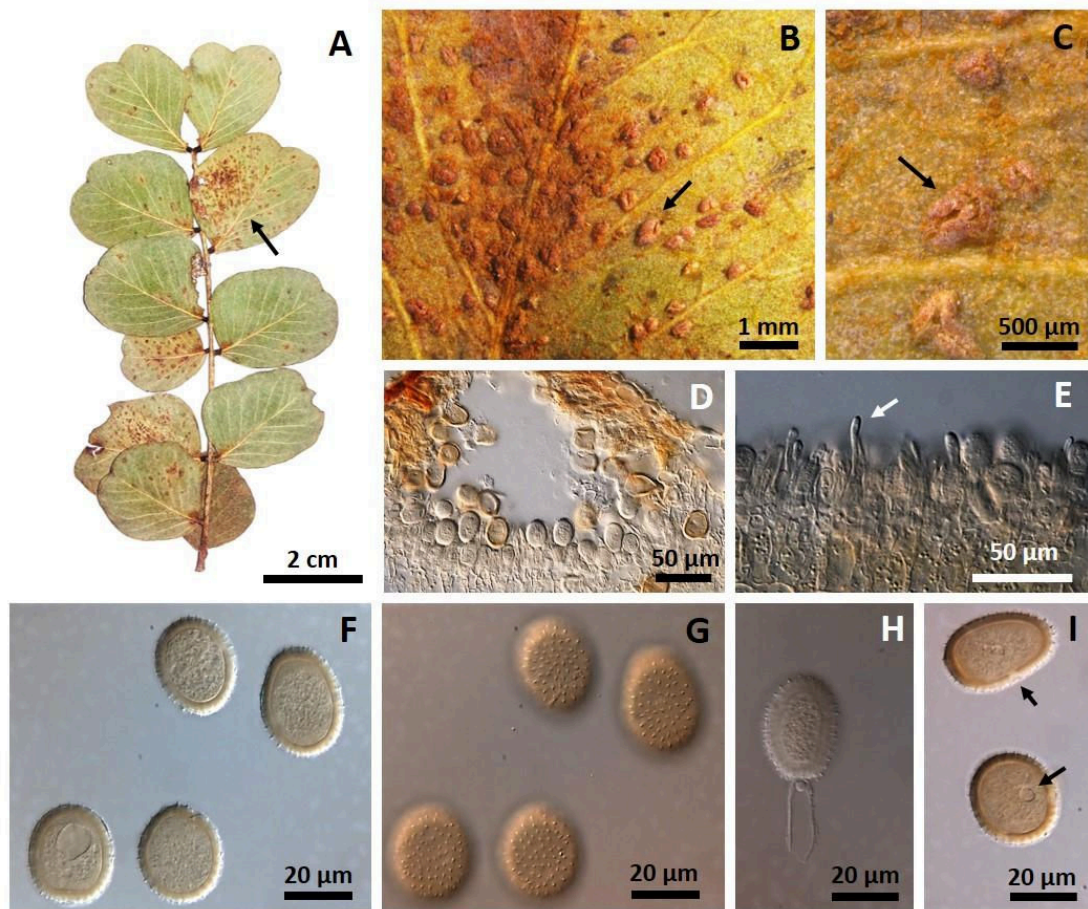


Figura 6. *Chaconia brasiliensis* em folhas de *Stryphnodendron adstringens*. **A.** Ferrugem cersas nos folíolos. **B e C.** Urédios (setas) com soros de coloração canela a marrom distribuídas na face abaxial dos folíolos. **D.** Corte transversal de um urédio subepidérmico, incorporando parte do parênquima paliçádico, irrompente, parafisado. **E.** Detalhe das paráfises himeniais hialinas cilíndricas a clavadas (seta). **F e G.** Urediniósporos, subglobosos, obovoides a elipsoides, equinulados, coloração canela a marrom dourado, em diferentes profundidades de foco. **H.** Urediniósporo pedicelado. **I.** Poros germinativos dos urediniósporos (seta).

***Chaconia ingae* (Syd.) Cummins. Figs. 7 (A–J) e 8 (A–G)**

Espermogônios (108 –) 115 (–145) × (30 – 46) (–60) µm, profundos, irrompentes, anfigenos, subcuticulares, cilíndricos, hemisféricos. *Écios* (0,2–) 0,5 (–1,0) × (0,1) 0,4 (–0,7) mm, sobre calos hipertrofiados, profundos, irrompentes, uredinioides, anfigenos, parafisados; *Paráfises* cilíndricas, clavadas no ápice, himeniais e periféricas, 28 – 55 × 2 – 4 µm. *Eciósporos* (20–) 25 (–31) × (15–21 (–25) µm, pedicelados, ovoides, obovoides a elipsoides ou irregulares, ligeiramente clavados com estreitamento em direção à base, marrom-canela, verrugosos na metade subequatorial, com projeções em estrias no terço distal do esporo, com sulcos longitudinais proeminentes, muitas vezes reticulados com menos sulcos transversais pronunciados; *parede* 2 – 4 µm de espessura nos lados, 2 – 5 µm no ápice 3 – 9 µm na base; 3 – 4 poros germinativos, equatoriais. *Urédios* semelhantes aos écios, mas não associadas aos espermogônios. *Urediniósporos* smelhantes aos eciósporos. *Télios* (0,3–) 0,6 (–0,9) × (0,2–) 0,5 (–0,6) mm, hipófilos, dispersos ou pouco gregários, muitas vezes confluentes, subepidérmicos na origem, irrompendo precocemente. *Teliósporos* (103–) 129 (–150) × (12–) 16 (–21) µm, cilíndricos, clavados, lisos, fasciculados, germinação externa, apical, sem dormência; paredes finas, hialinas, lisas. *Metabasídios* formados por germinação apical dos teliósporos. *Basidiósporos* obovoides 9 – 10 × 7 – 8 µm.

Essas observações concordam com as descrições de Ono e Hennen (1983) e Hernández & Hennen (2003).

Espécimes examinados: em folhas de *Inga sessilis* (Fabaceae): Quadra 23, rua 15 S/N Centro, Rialma, Goiás, 22 set. 2013, leg. E.S.C. Souza 220, UB22559; Quadra 23, rua 15 S/N Centro, Rialma, Goiás, 19 jan. 2014, leg. E.S.C. Souza 223, UB22597. Em folhas de *Inga laurina* (Vellozo) Martius (Fabaceae): Rancho Riacho, Lagoa da Prata, Minas Gerais, 01 ago. 2015, leg. Danilo Batista Pinho 111, UB23340.

Os espécimes aqui estudados apresentaram urediniósporos com as mesmas características morfológicas que a descrição original, entretanto mostram maiores dimensões, $29 - 39 \times 20 - 24 \mu\text{m}$, e mostrando quase sempre 2 poros germinativos. Já os teliósporos são menores ($100-122 \times 8-12 \mu\text{m}$), porém possuem a mesma morfologia.

Assim como nas considerações feitas por Rezende (1999) as características morfológicas das estruturas e dos esporos estão de acordo com as descrições de Ono (1978), porém as ornamentações das paredes dos eciósporos e urediniósporos não se mostram sempre em linhas como nas descrições anteriores feitas por Viegas (1945) e por Cummins e Hiratsuka (1983). Rezende (1999) observou saliências, tuberculosidades ou projeções no topo do esporo, aparentando uma franja e, quando vistos em MEV, mostraram a superfície com pequenas depressões alveolares nos dois terços basais. Possuem também os quatro poros germinativos bem evidentes, mas no terço distal ocorrem tuberosidades em linha que recobrem até o topo do esporo.

No material aqui estudado, os eciósporos não foram vistos. A ornamentação da parede dos urediniósporos mostrou-se reticulada e fortemente estriada com projeções longitudinais dispostas irregularmente ao longo de toda a superfície do esporo, concordando com Ono & Hennen (1983).

Ao germinar, os teliósporos produzem primeiramente o basidiósporo apical, diferentemente de *Chaconia brasiliensis* em que todos os quatro basidiósporos são formados simultaneamente no metabasídeo com a liberação de basidiósporos um a um (Ono & Hennen 1984). Esta espécie também foi relatada infectando outras espécies hospedeiras do Gênero *Inga* em outros países como: Equador, El Salvador, Costa Rica, Argentina, Colômbia, Paraguai, Belize, Guatemala, Porto Rico, Ilhas Britânicas, Venezuela, México, Honduras, Panamá, Peru, Guiana Francesa, Guiana, Trinidad e Tobago (Farr & Rossman 2016).

A espécie foi reportada em *Inga edulis*, *I. insignis*, *I. sessilis*, *I. vera* e *Inga* sp. (Fabaceae) no Brasil, em registros diferentes nos estados de Minas Gerais, Pará, Paraíba, São Paulo, Amapá, Amazonas e Goiás, Rio de Janeiro e no Distrito Federal. No entanto, esta é a primeira vez que *C. ingae* foi encontrada em *Inga laurina*.

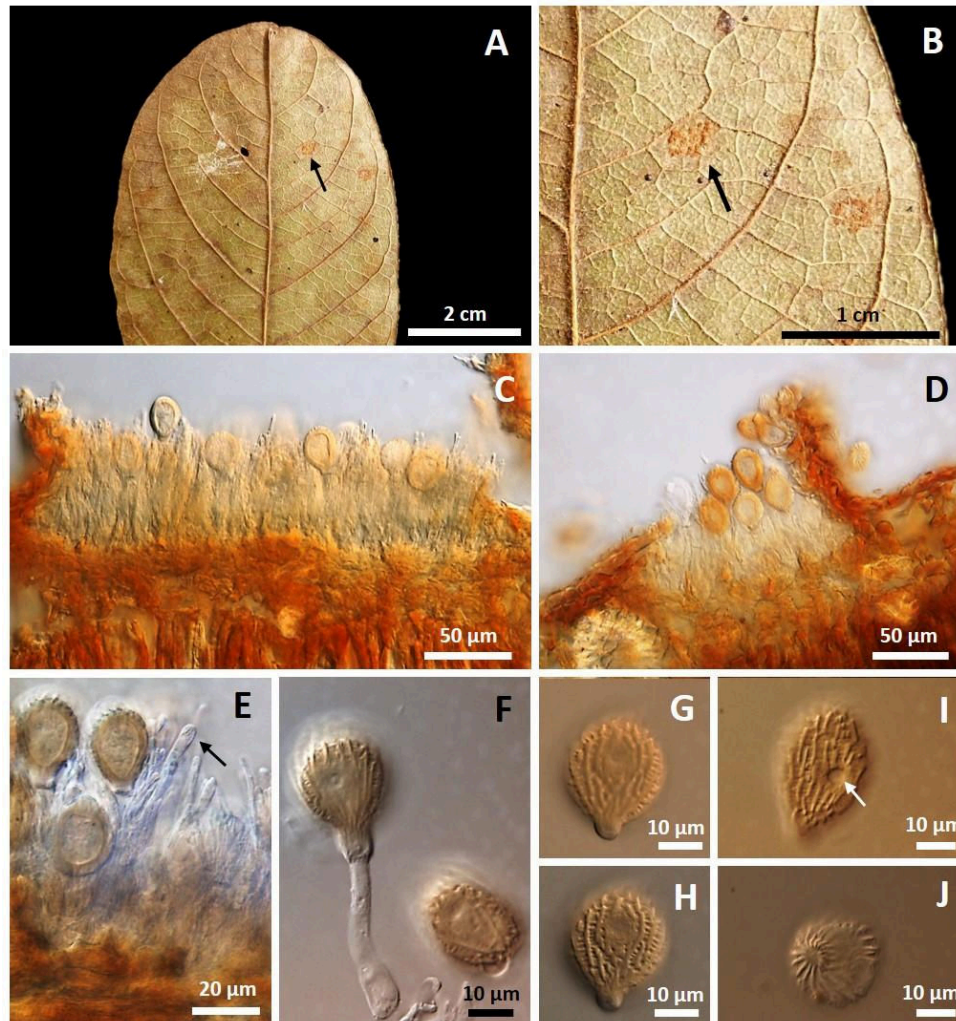


Figura 7 (A-J). *Chaconia ingae*, fase assexual em folhas de *Inga sessilis*. **A-B.** Sintoma de ferrugem com aspecto pulverulento e distribuição dos soros (setas) em grupo. **C-D.** Corte transversal de urédios subepidérmicos, irrompentes e paráfisadas. **E.** Detalhe das paráfises himeniais hialinas cilíndricas a clavadas (seta). **F.** Urediniósporo pedicelado. **G-H.** Urediniósporos obovoides, subglobosos a subclavados, marrom-canela, verrugosos, com projeções em estrias no terço distal do esporo, com sulcos longitudinais proeminentes ou não, **I.** Poro germinativo (seta). **J.** Detalhe da base estriada do urediniósporo.

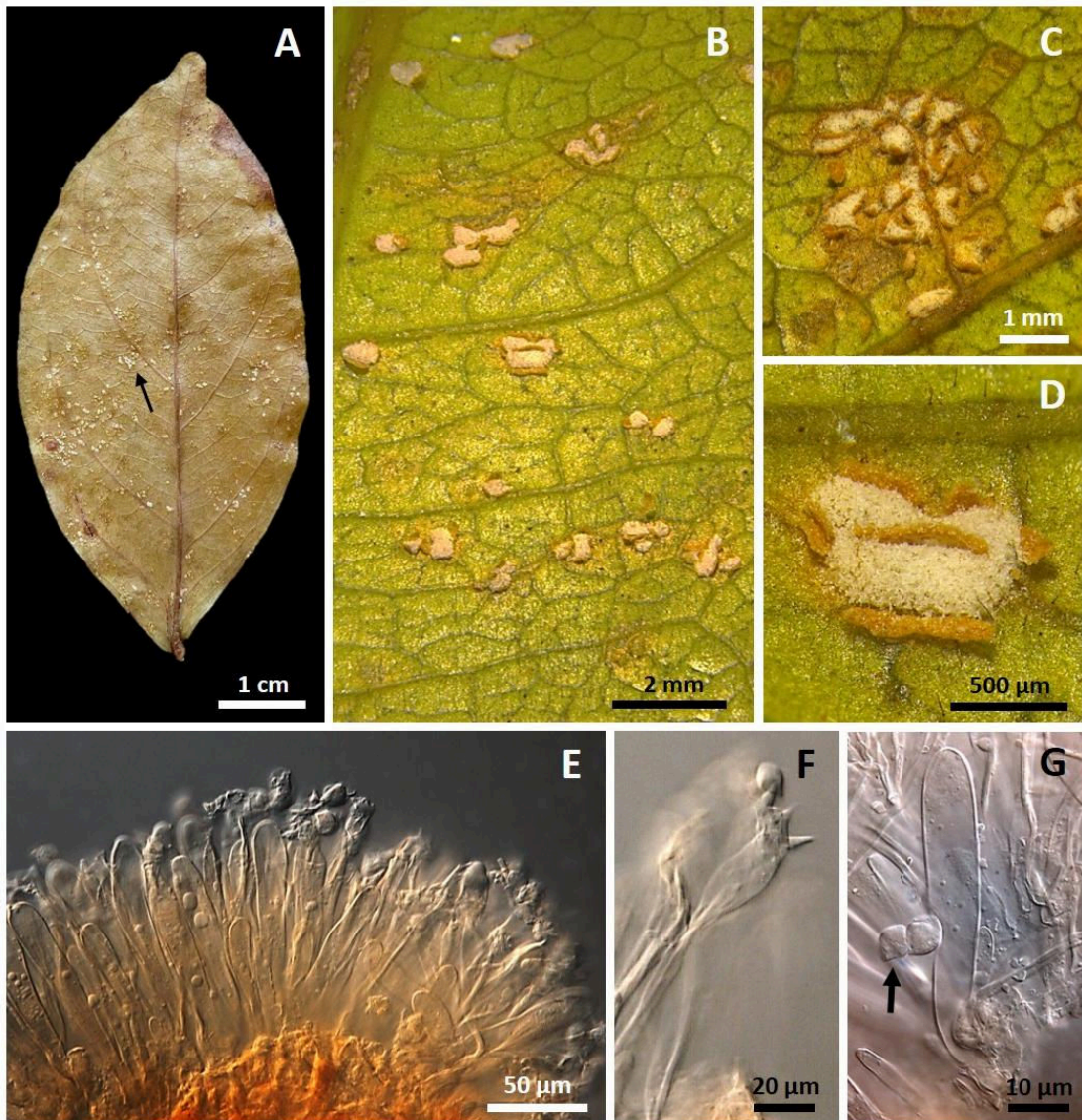


Figura 8 (A-G). *Chaconia ingae*, fase sexual em folhas de *Inga laurina*. **A.** Distribuição das pústulas (seta) na face abaxial da folha. **B, C e D.** Télios irrompentes, cerosas, esbranquiçadas e de aspecto brilhante. **E.** Télios em corte transversal mostrando agrupamento dos teliósporos hialinos, cilíndricos, clavados, lisos e fasciculados com germinação externa e apical. **F.** Metabasídios formados por alongamento apical dos teliósporos, mostrando esterigmas e um basidiósporo. **G.** Teliósporo e basidiósporos dois livres (seta).

***Chaconia maprouneae* (Viégas) Ono & Hennen. Fig. 9 (A-L)**

Essa espécie é caracterizada por: *Espermogônios* e *écios* não observados. *Urédios* 0,2 – 1,0 mm de diâmetro, hipófilos, dispersos a densamente agregados, subepidérmicos na origem, irrompentes (Fig.4.A – F). *Urediniósporos* 26 – 31 (– 35) × 18 – 25 (– 27) µm, pedicelados, reniformes, assimetricamente obovóides a piriformes; *parede* 1 – 1,5 µm de espessura, equinulados, castanho claros a castanho – amarelados, 5 – 6 poros germinativos supraequatoriais, ou dispersos na metade superior do esporo. *Télios* 0,1 – 0,3 mm de diâmetro, hipófilos, espalhados ou em pequenos grupos, misturados com os urédios, subepidérmicos em origem, irrompentes. *Teliósporos* 27 – 41 × (4–) 6 – 10 µm, cilíndricos, parede fina, hialinos; *metabasídeos* formados pelo alongamento da região apical dos teliósporos; *basidiósporos* 7 – 8 × 6 – 7 µm obovóides a piriformes. Essa descrição concorda com a de Ono e Hennen (1983).

Espécimes examinados: em folhas de *Maprounea guianensis* (Euphorbiaceae): Reserva Ecológica (RECOR) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Brasília, Distrito Federal, 06 jun. 2012, leg. E.S.C. Souza 52, UB22226; Centro Olímpico da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 25 jun. 2012, leg. E.S.C. Souza 60, UB22264; Fazenda Água Limpa (FAL) da Universidade de Brasília na trilha do córrego da Capetinga, Brasília, Distrito Federal, 08 ago. 2013, leg. E.S.C. Souza 207, UB22541.

A forma assexuada de *Chaconia maprouneae* é a espécie *Uredo maprouneae* P. Hennings, encontrada em folhas de *Maprounea brasiliensis* em 1904 no Peru.

Chaconia maprouneae foi encontrada em folhas de *Maprounea brasiliensis* e *M. guianensis* no Brasil em Goiás, Distrito Federal, em Minas Gerais, no Mato Grosso, Pará e São Paulo. Além disso, *C. maprouneae*, já foi registrada na Guiana Francesa, Bolívia e Trinidad (Hennen *et al.* 2005, Farr & Rossman 2016).

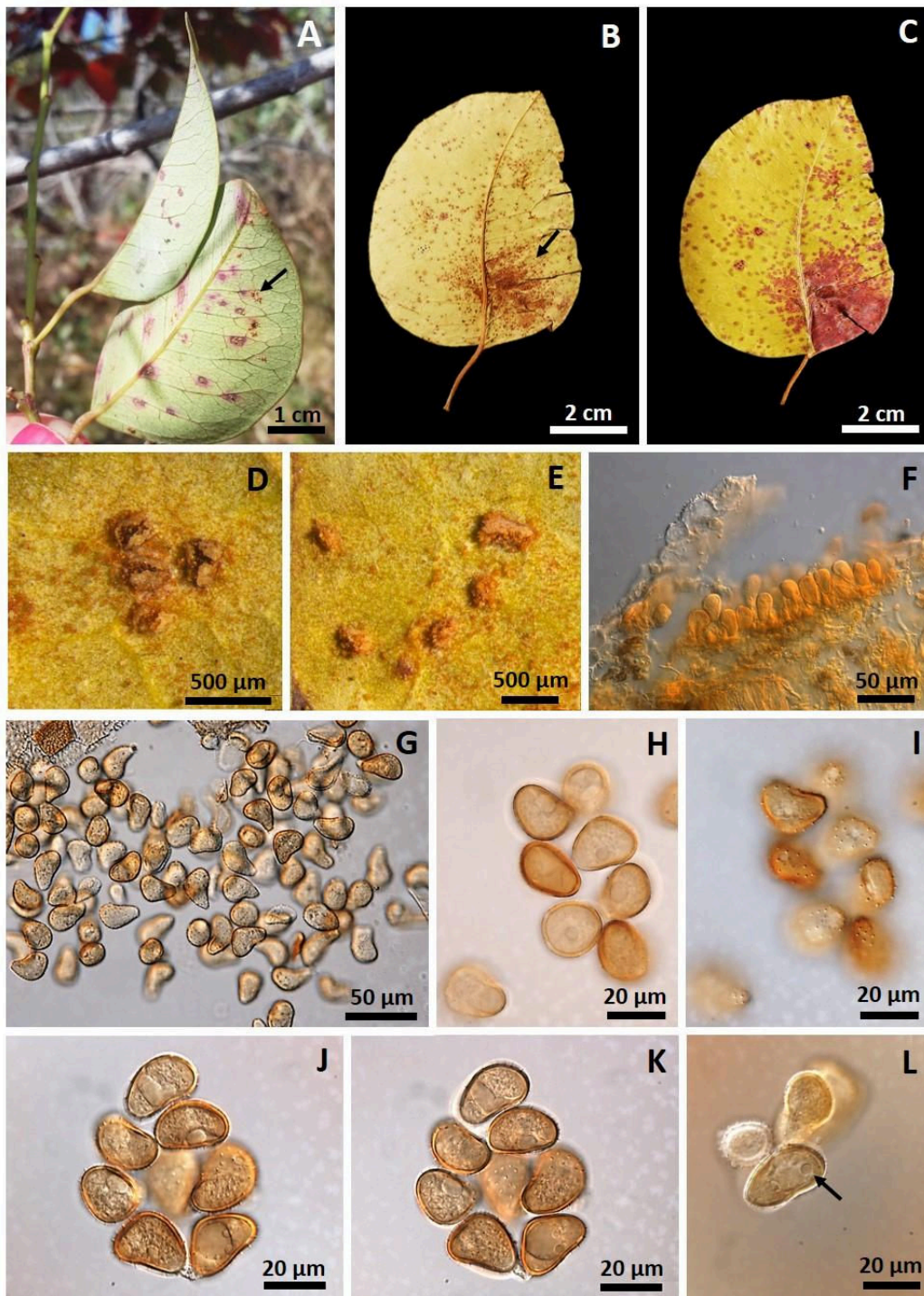


Figura 9 (A-L). *Chaconia maprouneae*, forma assexual em folhas de *Maprounea guianensis*. **A, B, C.** Manchas avermelhadas anfigenas, contendo soros irrompentes (setas). **D e E.** Urédios irrompentes pulverulentos de coloração castanha. **F.** Corte transversal da urédio subepidêmico. **G.** Massa de urediniósporos. **H, I, J e K.** Urediniósporos reniformes a piriformes, equinulados. **L.** Urediniósporo com seta mostrando poro germinativo.

Gênero *Aplopsora* Mains

(Espécie-tipo: *Aplopsora nyssae* Mains)

Conforme Mains (1921) e Hennen *et al.*, (2005), o gênero *Aplopsora* mostra as seguintes características: *Espermogônios* e *écios* não observados. *Urédios* subepidérmicos, irrompentes, paráfises periféricas fortes e recurvadas, unidas pela base. *Urediniósporos* pedicelados, poros germinativos inconspícuos. *Télios* subepidérmicos, imersos, irrompentes, sésseis, consistindo de uma camada de células adensadas cenocíticas. *Teliósporos* subhialinos, parede fina, às vezes, na parte central de um soro, formados em uma ou poucas camadas de uma a três células, poros germinativos são inconspícuos, germinação sem dormência; *metabasídio* basídio externo.

São conhecidas seis espécies dentro do gênero: *A. corni* Y. Ono & Y. Harada, em *Cornus controversa* descrita do Japão; *A. dicentrae* (Mains & H.W. Anderson) Buriticá & J.F. Hennen, em *Urticastrum divaricatum* nos Estados Unidos; *A. hennenii* Dianese & L.T.P. Santos (Sin= *A. qualeae* Buriticá & Hennen) em *Qualea multiflora* (Vochysiaceae) no Cerrado; *A. nyssae* Mains em *Nyssa aquatica* (Nyssaceae) nos Estados Unidos; e *A. tanakae* em *Falcata comosa* no Japão.

A espécie tipo do gênero é *Aplopsora nyssae* Mains, coletada sobre *Nyssa aquatica* L. (Nyssaceae), no Mississippi (Cummins & Hiratsuka, 2003).

Aplopsora dicentrae é a única espécie documentada claramente como sendo heteroécia com espermogônios e écios em *Dicentra* sp. (Fumariaceae), ao passo que urédios e télios são produzidos em *Laportea* sp. (Urticaceae).

Aplopsora possui urédio semelhante ao de *Phakopsora*, porém os teliósporos são em poucas camadas e embora os sejam semelhantes aos de *Melampsora*, as paráfises dos urédios são diferentes. Em *Aplopsora* as paráfises são curvas e periféricas, já em *Melampsora* elas

são muito mais numerosas, capitadas, não curvas, mais estreitas e com o ápice menos abaulado. Os teliósporos também são próximos aos do gênero *Ochropsora* sp. (antigamente dentro de Chaconiaceae e hoje em Uropyxidaceae), entretanto neste gênero os basídios são produzidos internamente, ao contrário aos de *Aplopsora*.

No Cerrado evidentemente o destaque é para *A. hennenii*, única espécie de Pucciniales conhecida em hospedeiros da família Vovhysiaceae.

***Aplopsora hennenii* Dianese & L. T. P. Santos. Fig. 10 (A–H)**

(≡ *Aplopsora qualeae* Buriticá & Hennen)

Aplopsora hennenii descrito por Dianese & Santos (1995) mostra *Urédios* hipófilos, 75 – 150 μm de diâmetro, irrompentes, pulverulentos, cinza claros a marrom-claros, solitários ou gregários, numerosos, cobrindo boa parte da folha. *Paráfises* 28 – 33 $\mu\text{m} \times 8$ – 12 μm , periféricas, numerosas, com as pontas dilatadas e encurvadas, hialinas a levemente pigmentadas, paredes lisas. *Urediniósporos* 13 – 20 $\mu\text{m} \times 11$ – 15 μm reniformes a subclavados, equinulados, pedicelados, parede com 1 μm de espessura, levemente pigmentados, dois poros germinativos subequatoriais. *Télios*

As características morfológicas são as mesmas, quando comparado com o espécime-tipo, entretanto o material aqui estudado apresenta urédios maiores em diâmetro (108 – 170 μm), paráfises maiores e mais estreitas (23 – 38 \times 8 – 9 μm), urediniósporos mais longos [16 – 22 (19) \times 12 – 16 (13) μm], e ao contrário do mostrado acima, apresenta poros germinativos inconspícuos sendo a maioria apenas um por esporo.

Este é o primeiro registro do fungo em *Qualea parviflora*, uma vez que a espécie-tipo foi descrita em *Q. multiflora*.

Espécimes examinados: em folhas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 07 abr. 2014, leg. E.S.C. Souza 228, UB22891; em folhas de *Qualea multiflora* (Vochysiaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 07 abr. 2014, leg. E.S.C. Souza 229, UB22895; Rancho Riacho, Lagoa da Prata, Minas Gerais, 01 ago. 2015, leg. D.B. Pinho 113, UB23329.

Esta foi a primeira vez que *Aplopsora hennenii* foi encontrada em *Qualea parviflora* no Cerrado. *Aplopsora hennenii* foi relatada no Brasil em *Qualea multiflora*, posteriormente por Buriticá (1998) em *Qualea* sp. (Farr & Rossman 2016, Index Fungorum 2016, Mycobank 2016) e agora em *Qualea parviflora*.

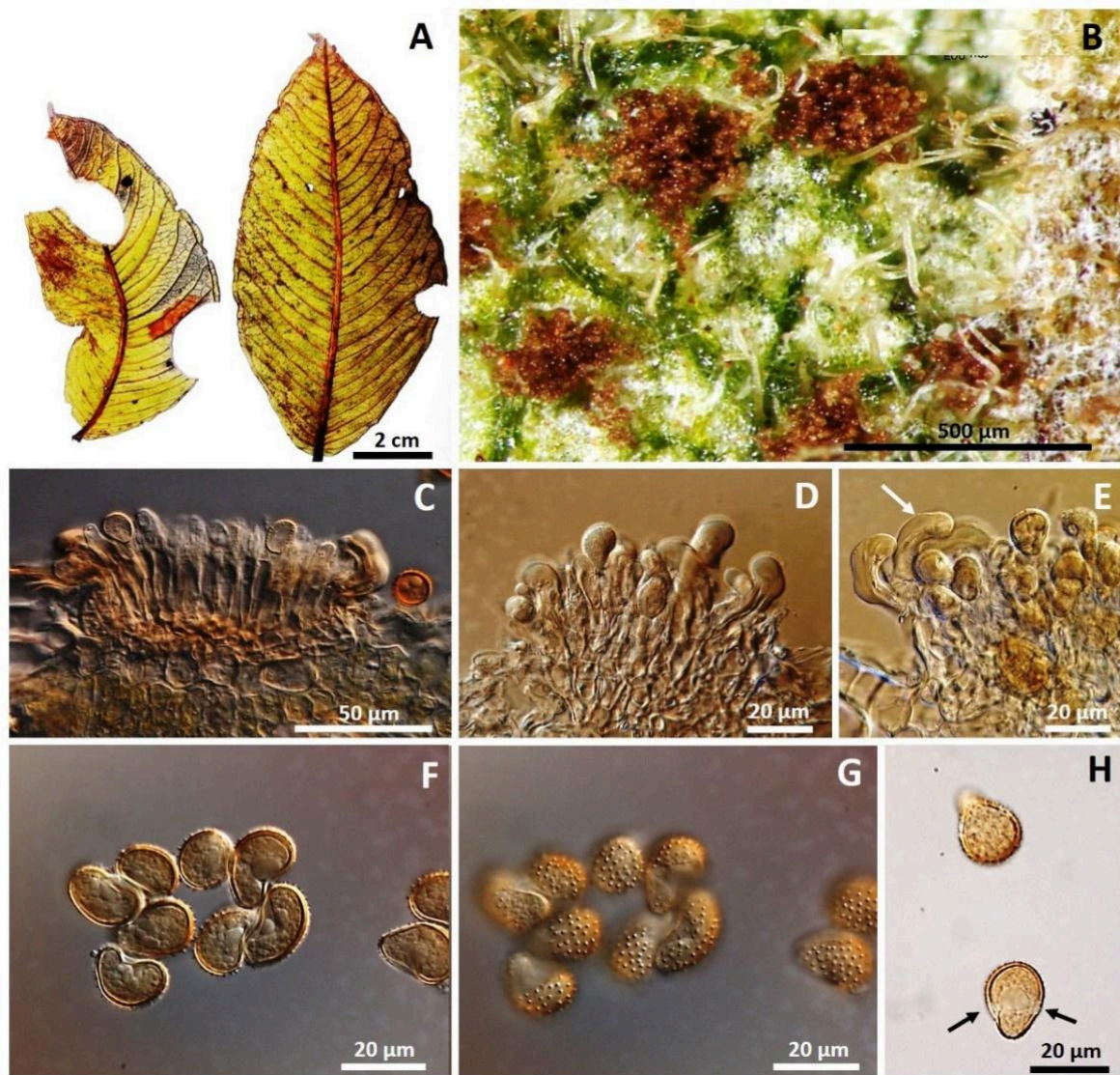


Figura 10 (A–H). *Aplopsora hennenii*, fase uredínica em folhas de *Qualea multiflora*. **A.** Sintoma na folha. **B.** Soros pulverulentos. **C, D, E.** Corte transversal de urédios mostrando paráfises periféricas recurvadas, fortes. **F, G, H.** Urediniósporos reniformes, equinulados e marrom claros em diferentes profundidades de foco em microscopia de luz, inclusive mostrando dois poros germinativos (setas).

Membros da Família Phragmidiaceae Corda

Esta família é representada por treze gêneros autoécios que parasitam apenas plantas da família Rosaceae e normalmente produzem: *espermogônios* e *écios* de vários tipos com eciósporos catenulados ou pedicelados liberados solitariamente. *Eciósporos* verrugosos ou equinulados. *Urédios* na maioria das vezes com paráfises periféricas e encurvadas; *urediniósporos* geralmente equinulados com poros germinativos dispersos. *Télios* irrompentes com ou sem paráfises, *teliósporos* pedicelados com um a vários septos transversais e um ou mais poros germinativos por célula, *metabasídio* externo (Cummins & Hiratsuka 2003, Zualaga et al. 2011).

Esta Família compreende os gêneros *Arthuriomyces*, *Campanulospora*, *Frommeëlla*, *Gerwasia*, *Gymnoconia*, *Hamasporea*, *Joerstadia*, *Kuehneola*, *Morisporea*, *Phragmidium*, *Scutelliformis*, *Trachyspora* e *Xenodochus* e é composta por mais de mais de 164 espécies (Kirk et al. 2008, Mycobank: www.mycobank.org acessado em 29/11/2016).

Phragmidium é o gênero-tipo para a família, definido com base na espécie-tipo *P. mucronatum* (Pers.) Schltld. infectando *Rosa* sp. na Europa.

O gênero *Newinia* já foi considerado anteriormente como membro de Phragmidiaceae por Cummins & Hiratsuka (2003), entretanto atualmente ele está alocado em Phakopsoraceae (Mycobank 2016).

Já, o gênero *Kuehneola* Magnus (1898) abriga espécies com: *Espermogônios* subcuticulares ou intraepidérmicos, com crescimento determinado ou indeterminado, himênio plano ou ligeiramente côncavo, pertence ao Grupo 4 (tipo 11) estabelecido por Hiratsuka & Hiratsuka (1980). *Écios* comumente produzem deformações no hospedeiro, são subepidérmicos na origem, irrompentes, tipo *Uraecium*, pulverulentos, *eciósporos* pedicelados. *Urédios* subepidérmicos na origem, irrompentes, tipo *Uredo*, pulverulentos;

urediniósporos pedicelados, geralmente equinulados, poros germinativos subequatoriais ou inconspícuos. *Télios* subepidérmicos na origem, irrompente. *Teliósporos* produzido em soros mistos, juntamente com urediniósporos; *teliósporos* com pedicelos curtos, de duas a várias células divididas por septos transversais, parede lisa, pálida incolor, poro germinativo obscuro (um por célula), germinação ocorre sem dormência; *metabasídios* externos, bem diferenciados a partir das células probasidiais (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen *et al.* 2005).

Embora a presença de pedicelos nos teliósporos seja uma característica essencial para a definição do gênero *Kuehneola*, é difícil determinar a sua presença em algumas espécies. Um representante comum deste gênero no neotrópico é *Kuehneola loeseneriana* (Arthur) H. S. Jackson & Holway que pode incitar grande pulverulência de coloração laranja formando galhas em folhas e caules em espécies de *Rubus* sp.

O gênero *Spirechina* descrito em *Rubus* sp. na Bolívia (Arthur 1907) foi considerado como sendo sinônimo de *Kuehneola* (Jackson 1931). Thirumalachar (1960) considerou *Catenulopsora* como sinonímia de *Kuehneola* ao invés de *Cerotelium* (Cummins & Hiratsuka 1983) e transferiu essas espécies de *Catenulopsora* para *Kuehneola*.

Phakopsora nishidana Ito, a ferrugem comum de *Ficus carica* foi impropriamente tida como *Kuehneola fici* Butler por Arthur (1917), sabendo-se hoje que se trata de *Cerotelium fici* (Butler) Arthur. Também, *Phakopsora gossypii* (Lagerheim) N. Hiratsuka, a ferrugem tropical de *Gossypium hirsutum* (algodoeiro), uma espécie bem estabelecida, foi anteriormente tratada como *Kuehneola desmium* (Berkeley & Curtis) Butler e *K. gossypii* Arthur.

O gênero *Kuehneola* possui poucas espécies e são relatadas em hospedeiros de Rosaceae, Anarcadiaceae, Malvaceae, Verbenaceae e Celatraceae (Bagyanarayana & Rao 1985). Todas as espécies são autoécias e macrocíclicas. *Kuehneola uredinis* pode causar queda de folhas em framboesa e pode infectar também o caule (Cummins & Hiratsuka 2003).

A espécie tipo de *Kuehneola* é *K. uredinis* (= *Oidium uredines* = *Chrysomyxa albida* = *Kuehneola albida*) encontrada em *Rubus fruticosus* (Rosaceae) na Alemanha.

Para a identificação prática de espécies de *Kuehneola* atualmente, é considerada a apenas espécies com hospedeiros da família Rosaceae como *Rosa* sp. e *Rubus* sp. (Hennen *et al.* 2005). Hennen *et al.* (2005) possui uma chave para identificação de espécies de *Kuehneola* em Rosaceae para hospedeiras dos gêneros *Dryas*, *Rosa* e *Rubus* reproduzida a seguir:

1. Teliósporos com paredes uniformemente finas
 2. Teliósporos com 3 – 4 células nas linhas verticais
 3. Teliósporos de 21 – 37 × 10 – 20 μm sobre *Dryas* ***Kuehneola dryadis***
 3. Teliósporos de 20 – 34 × 17 – 22 μm em *Rosa* ***Kuehneola japonica***
 2. Teliósporos com 4 – 6 células nas linhas verticais sobre *Rubus*
 4. Ligação estreita entre as células dos teliósporos ***Kuehneola filipina***
 4. Ligação ampla entre as células dos teliósporos ***Kuehneola andina***
1. Paredes dos teliósporos irregularmente espessada em *Rubus*
 5. Eciósporos e urediniósporos equinulados
 6. Urediniósporos de 18 – 28 × 16 – 23 μm ***Kuehneola albida***
 6. Urediniósporos de 23 – 27 × 19 – 25 μm ***Kuehneola guatemalensis***
 5. Eciósporos e urediniósporos com verrugas ou espinhos em espirais
 7. *Kuehneola loeseneriana* (inclui ***Kuehneola arthurii*** e ***K. uleana***)

***Kuehneola loeseneriana* (= *Uredo loeseneriana*). Fig. 11 (A–L)**

No Cerrado, foi encontrada apenas a fase uredínica de *Kuehneola loeseneriana* (= *Uredo loeseneriana*) apresentando: *urédios* 90 – 200 µm subepidérmicos, irrompentes, sem paráfises, pulverulentos de coloração amarelada a esbranquiçada; *urediniósporos* 22 – 38 (30) × 21 – 25 µm, pedicelados, elipsoides, verrugosos com verrugas distribuídas em forma de espiral, poros germinativos inconspícuos. As linhas em espirais espaçadas constituídas por conjunto organizado de pequenas verrugas, são bem características da espécie e, com isso facilitam a identificação de sua fase assexuada, ao se conhecer a identidade da hospedeira.

Espécime examinado: em folhas de *Rubus brasiliensis* (Rosaceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 27 jul. 2012, leg. H.M.M. Vale 177, UB22326.

O material tipo, anteriormente classificado como *Spirechina loeseneriana*, foi encontrado em *Rubus bogotensis* na Bolívia em 1890. Arthur (1912) e Gallegos & Cummins (1981) relataram que espermogônios e écios de *Kuehneola loeseneriana* formavam galhas laranja-amareladas brilhantes em caules e folhas. Encontraram também espermogônios e écios associados com galhas, com massas de eciósporos tornando as galhas pulverulentas. Na maturidade as galhas nos troncos eram atingiam de 8 a 10 cm de diâmetro. Acredita-se que todas as galhas produzidas por esta espécie são o resultado de infecções de basidiósporos e que geram espermogônios e écios, com os urédios espalhados pelas folhas.

Embora fungo seja relatado em várias espécies selvagens de *Rubus*, designadas amoras pretas no Brasil, principalmente na região da Mata Atlântica, ele também pode infectar algumas dessas espécies que são aqui cultivadas. Devido ao manejo de plantações cultivadas de *Rubus* em que as plantas são bem espaçadas, aumentando a circulação de ar e secagem da folha, a doença é de pouca importância no Brasil.

Kuehneola loeseneriana foi primeiramente tratada como *Uredo loeseneriana* P. Hennings em 1898 a partir de material da Guatemala. Arthur (1907) foi o primeiro a relatar a fase sexuada. Ele encontrou a ferrugem em um espécime fanerogâmico de herbário, *Rubus bogotensis*, coletado na Bolívia e depositado no Field Herbarium do Museu de Chicago. Arthur designou este material como espécime-tipo de seu novo gênero *Spirechina*, uma vez que *Spirechina loeseneriana* era a única espécie no gênero. Assim, o espécime automaticamente se tornou a espécie-tipo do gênero *Spirechina*. Arthur publicou esta espécie como "*Spirechina loeseneriana* (P. Henn.) Arthur *nom. novum* ", indicando que era um novo nome para *Uredo loeseneriana* P. Hennings.

Arthur (1907) indicou que o gênero *Spirechina* possui teliósporos unicelulares encontrados na amostra da Bolívia citada acima. Mais tarde, Arthur (1912) incluiu cinco espécies no gênero, todos parasitas de espécies de *Rubus*. Três destas espécies são atualmente tratadas como membros de *Gerwasia*, um gênero que tem teliósporos unicelulares. As outras duas, *S. loeseneriana* e *S. arthuri*, foram colocadas em *Kuehneola*, um gênero que tem, pelo menos, alguns teliósporos multicelulares, com as células probasidiais enfileiradas.

Jackson (1931) transferiu *S. loeseneriana* para *Kuehneola* como *K. loeseneriana* (P. Henn.) Jackson & Holway" por descobrir que os teliósporos de *S. loeseneriana* são, na sua maioria, unicelulares, mas duas ou mais células probasidiais enfileiradas também são produzidas.

O Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Fungos e Plantas - Código de Melbourne (McNeil et. al. 2012) exige que o espécime-tipo da forma sexuada de um determinado táxon deve conter elementos dessa fase de seu ciclo. Para seguir esta exigência do Código foi ignorada designação de *Spirachina loeseneriana* Arthur como um novo nome ou como uma derivação de *Uredo loeseneriana* P. Hennings. Com isso o nome aceito é *Kuehneola loeseneriana* (Arthur) H. S. Jackson & Holway.

A fase assexuada de *K. loeseneriana* é *U. loeseneriana* e já foi relatado em *Rubus* sp. na Guatemala em 1896, em *Rubus imperialis* na Argentina em 1899, em *Rubus urticaefolius* no Brasil em São Paulo em 1908 (Hennen et al. 2005).

Ainda em Rosaceae a espécie já foi encontrada no Brasil infectando *R. brasiliensis* em Minas Gerais e São Paulo; em *R. erythroclados* em São Paulo; em *R. sellowii* no Rio Grande do Sul; em *R. urticaefolius* em São Paulo e em *Rubus* sp. no Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo. *Kuehneola loeseneriana* é também conhecida na Argentina, América Central e no México (Farr & Rossman 2016).

Esta é a primeira vez que a fase uredínica de *K. loeseneriana* foi encontrada em *R. brasiliensis* no Distrito Federal.

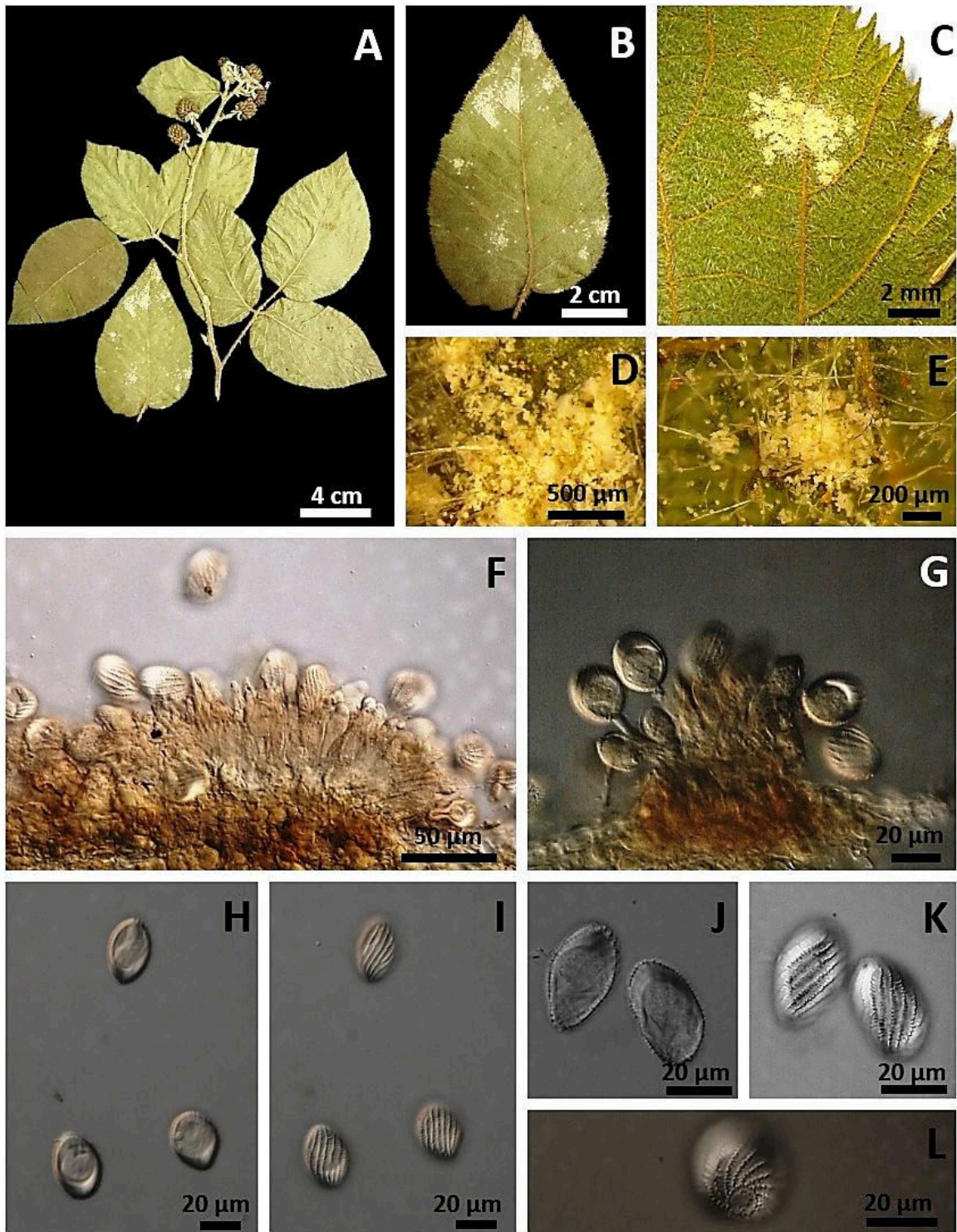


Figura 11 (A-L). *Kuehneola loeseneriana*, fase uredínica em folhas de *Rubus brasiliensis*. **A e B** Hospedeira herborizada e folha com sintoma de ferrugem. **C, D, E.** Soros irrompentes pulverulentos de coloração amarelada na face abaxial das folhas. **F e G.** Urédios subepidérmicos em corte transversal. **H-I.** Urediniósporos elipsoides em dois planos de foco. **J-K.** Detalhe da superfície dos urediniósporos em profundidades de foco diferentes mostrando verrugas em espiral. **L.** Detalhe da base de um urediniósporo.

Membros da Família Pileolariaceae (Arthur) Cummins & Y. Hirats. no Cerrado

Os membros dessa família caracterizam-se por: *Espemogônios* epifilos, Grupo VI (tipo 5 ou 7), *Écios* do tipo *Uraecium*. *Eciósporos* solitários liberados um a um, usualmente reticulados, rígidos, verrugosos ou com marcações em espiral, poros germinativos zonados. *Urédios* semelhantes aos *écios*, mas não acompanhados por *espermogônios*. *Télios* irrompentes, *teliósporos* unicelulares, com um ou poucos esporos pedicelados, como pode também conter cistos estéreis lateralmente, um poro germinativo por esporo, germinação por metabasídio externo. Todas as espécies conhecidas são autoécias em plantas hospedeiras da família *Anarcadiaceae* e *Fabaceae* (Cummins & Hiratsuka 2003).

A família *Pileolariaceae* abriga os gêneros *Atelocauda*, *Endoraecium*, *Pileolaria*, *Racospermyces*, *Skierka* e *Uromycladium* com mais de 34 espécies descritas (Kirk *et al.* 2008, Mycobank 2016).

O gênero tipo da família (*Pileolaria*), tem *Pileolaria terebinthi* (DC.) Castagne (1842) como sua espécie-tipo, sendo sua forma assexuada *Uredo terebinthi*, encontrado em *Pistacia terebinthus* (*Anarcadiaceae*), descrito em 1815 na Hungria.

Alguns gêneros anteriormente classificados em *Pileolariaceae* foram sinonimizados, como é o caso de *Ctenoderma* que foi incorporado a *Skierka*, *Discospora* a *Pileolaria*, e *Macalpinia* a *Uromycladium* (Mycobank 2016).

Gênero *Skierka* Raciborski no Cerrado

A espécie-tipo do gênero, *Skierka canarii* Raciborski em *Canarium commune* (*Burseraceae*) foi coletada na ilha Java na Indonésia em 1990.

O gênero *Skierka* é prontamente caracterizado por possuir *urediniósporos* com paredes duplas e verrugosas, formados em *urédios* subepidérmicos. Os *teliósporos* são unicelulares,

muitas vezes com uma estreita extensão apical similar por onde germinam dando origem a um metabasídio externo. Os teliósporos são produzidos em sucessão, fortemente aderidos uns aos outros formando télios colunares longos esbranquiçados, semelhantes a pelos, a partir de urédios após descarga dos urediniósporos.

Cerca de quinze espécies foram relatadas com ocorrência em áreas tropicais. Mains (1939b) incluía dez espécies e as considerava pertencentes a uma família incerta (Cummins & Hiratsuka, 1983). Atualmente o gênero *Skierka* é alocado na família Pileolariaceae (Mycobank 2016, Index Fungorum 2016).

O gênero conta com as espécies *S. agallocha*, *S. canarii*, *S. clemensiae*, *S. congensis*, *S. cristata*, *S. diploglottidis*, *S. divinopolensis*, *S. holwayi*, *S. nephelii*, *S. petchii*, *S. philippinensis*, *S. robusta* e *S. toddaliae* (Mycobank 2016).

***Skierka divinopolensis* J. C. Dianese, Medeiros & Santos. Figs 12 (A-E) e 13 (A-L).**

Espermogônios e *Écios* são desconhecidos. *Urédios* 216 – 260 µm de diâmetro, hipófilos, subepidérmicos, solitários ou gregários, irrompentes, circulares, amarelados a marrom-claros, imersos, subepidérmicos, profundos, ostiolados, himênio côncavo, (Fig.8.D). *Urediniósporos* (50 →) 55 – 57 (– 64) × (24→) 28 – 32 (– 34) µm, elipsoides a fusoides, truncados na base, amarelados a marrons claros, parede com 1 µm de espessura, formando franjas laterais na superfície de 5 – 7 µm de largura, moderadamente rugosas, poros germinativos indistintos. *Télios* colunares, com a base subepidérmica, gregários, hipófilos, amarelados a marrom-claros, surgindo de urédios já vasios. *Teliósporos* (35→) 43 – 48 (–50) × (15→) 17 – 20 µm, fusoides, acuminados na parte apical e base truncada, esbranquiçados, hialinos a marrom-claros, catenulados, aderidos uns aos outros em sequência acropetal, formando colunas de 1.4 – 1.8 mm de comprimento por 48 – 60 µm de diâmetro; *parede* 2

— 4 μm de espessura, lisa, com um poro germinativo apical; *metabasídios* cilíndricos 48 — 52 $\mu\text{m} \times 7$ — 8 μm , externos.

Espécimes examinados: em folhas de *Matayba guianensis* (Sapindaceae): Reserva da Embrapa Cerrados (CPAC) Planaltina, Distrito Federal, 05 set. 2012, leg. E.S.C. Souza 136, UB22373; em folhas de *Cupania rugosa* (Sapindaceae): Divinópolis, Minas Gerais, 04 ago. 2015, leg. D.B. Pinho 157, UB23331.

Skierka divinopolensis é claramente diferente de *S. cristata* (Mains 1931) e das espécies de *Skierka* reportadas para o Brasil (Hennen et al. 1982) em termos de morfologia e tamanho dos teliósporos e basidiósporos.

A espécie foi originalmente encontrada em folhas de *Matayba guianensis* no município de Araguaí, Minas Gerais em 1993. Ela também foi relatada em folhas de *Cupania rugosa* em Minas Gerais no mesmo ano.

Primeira vez foi relatada em folhas de *Matayba guianensis* no Distrito Federal em 2012.

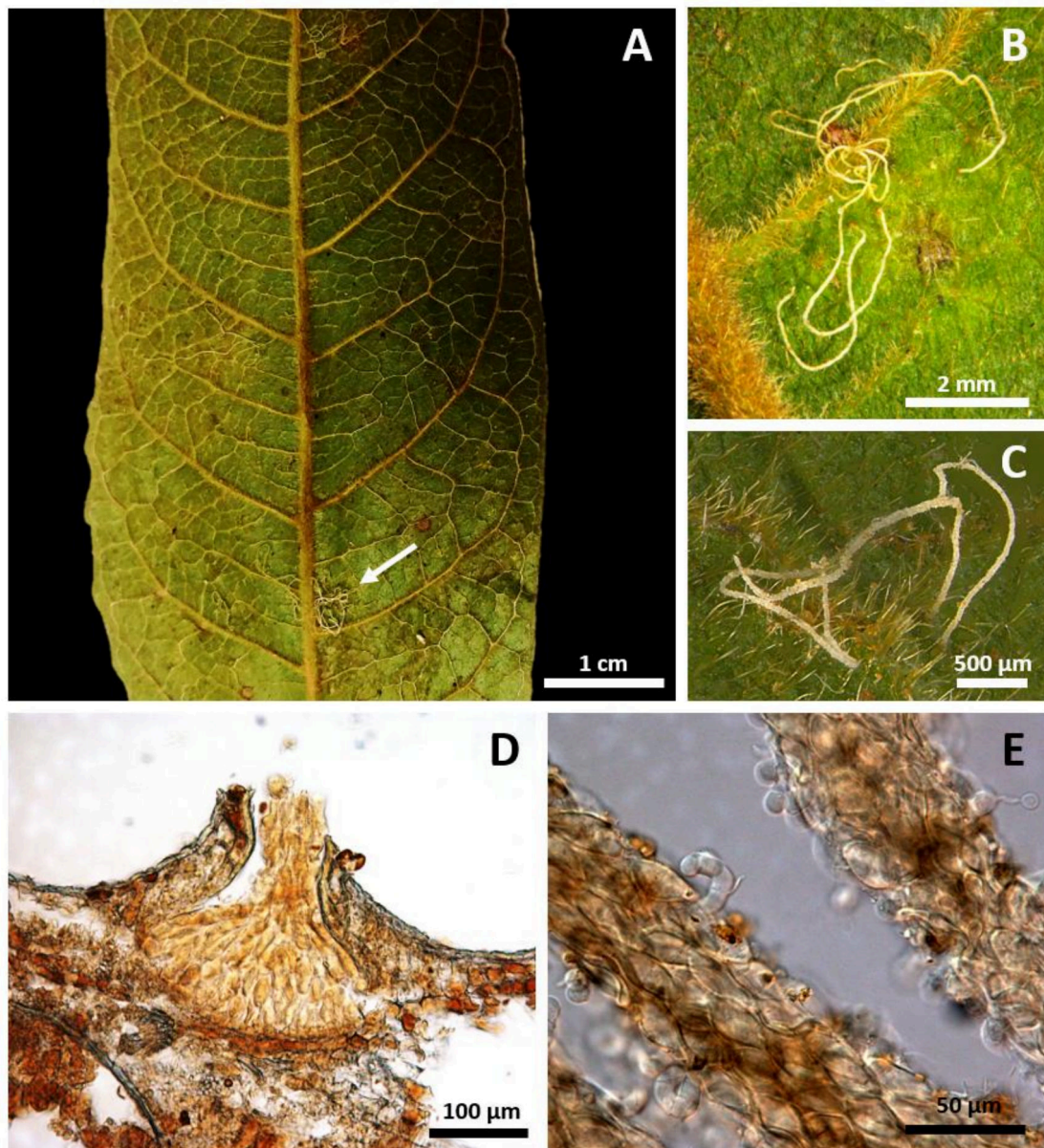


Figura 12 (A-E). *Skierka divinopolensis* em folhas de *Matayba guianensis*. **A.** Sintoma na face abaxial da folha. **B—C.** Vistas dos télios colunares. **D.** Base do télio colunar. **E.** Télios com alguns teliósporos germinados, ou seja, produzindo metabasídios.



Figura 13 (A-L). *Skierka divinopolensis* em folhas de *Matayba guianensis*. Detalhe das colunas mostrando os teliosporos aderidos e formação de metabasídios. **A.** Teliósporos vistos isoladamente. **B.** Metabasídio em formação. **C.** Basidiósporo preso ao metabasídio. **D.** Basídios com esterigmas formados. **E.** Massa de urediniósporos. **F.** Urediniósporos acuminados de coloração marrom. **G–L.** Urediniósporos com faixas laterais rugosas vistas em profundidades de foco diferentes e detalhes da superfície.

Membros da Família Uropyxidaceae (Arthur) Cummins & Y. Hirats no Cerrado

A família possui membros com: *Espermogônios* do Grupo IV (tipo 5). *Écios* do Tipo *Aecidium* ou *Caeoma*, ou mais comumente do tipo *Uredo* com ou sem perídio, paráfisados ou não. *Eciósporos* catenulados ou não, verrugosos ou equinulados. *Urédios* do tipo *Calidion*, *Malupa* ou *Uredo*, com ou sem paráfises, ou do tipo *Wardia* (supraestomatal), *sensu* Hennen et al. (2005). *Urediniósporos* não catenulados, geralmente equinulados, poros germinativos dispersos. *Télios* com ou sem paráfises; teliósporos de duas ou mais células separadas por septo vertical, muitas vezes com a parede bilaminar e camada exterior higroscópica, um ou mais poros germinativos por célula. *Teliósporos* pedicelados, frequentemente higroscópicos, basídio externo. Os membros da família podem ser autoécios ou heteroécios e possuem amplo espectro de hospedeiras (Cummins & Hiratsuka 2003).

Os gêneros válidos para a família incluem: *Dasyspora*, *Didymopsorella*, *Dipyxis*, *Kimuromyces*, *Leucotelium*, *Macruropyxis*, *Mimema*, *Ochropsora*, *Phragmopyxis*, *Poliomopsis*, *Porotenus*, *Prospodium*, *Sorataea*, *Tranzschelia* e o gênero tipo *Uropyxis* (Mycobank 2016). A família Uropyxidaceae é composta por mais de 143 espécies descritas (Kirk et al. 2008).

Gênero *Kimuromyces* Dianese, Santos, Medeiros & C. Furlaneto

O gênero é assim caracterizado: *Espermogônios* e *écios* desconhecidos. *Urédios* subepidérmicos irrompentes, paráfises densas e geralmente periféricas, do tipo *Calidion*. *Urediniósporos* marrons, não catenulados, desenvolvem-se em células esporogênicas de proliferação simpodial, equinulados, reniformes, com dois poros germinativos equatoriais. *Télios* irrompentes, marrons, às vezes se apresentando como soros mistos mostrando tanto teliósporos como urediniósporos, parafisados; *paráfises* semelhantes às dos urédios, com

ápice verrugoso quando vistas em MEV. *Teliósporos* pedicelados, bicelulares, septados transversalmente, ambas as células dos teliósporos com proeminências simples e com apêndices ramificados e salientes, um poro germinativo por célula; metabasídios externos (Dianese et al. 1995. Cummins & Hiratsuka 2003).

O gênero é monotípico representado pela espécie *Kimuromyces cerradensis* encontrada em folhas de *Astronium fraxinifolium* (Anarcadiaceae) (Dianese et al. 1995).

Outras espécies de fungos causadores de ferrugem como *Leptinia brasiliensis* (= *Puccinia brasiliensis*) já foram relatadas para *Astronium*, entretanto são claramente diferentes de *K. cerradensis* com relação a morfologia dos teliósporos. *Kimuromyces* foi relatado apenas nas amostras tipo descritas abaixo. Dianese et al. (1995) julgaram mais apropriado tentativamente colocar o gênero na família Uropyxidaceae.

***Kimuromyces cerradensis* Dianese, Santos, Medeiros, & C. Furlaneto Fig. 14 (A-K)**

A descrição da espécie realizada por Dianese *et al.* (1995) consta de: *Urédios* 60 — 160 μm de diâmetro, subepidérmicos na origem e irrompentes com o desenvolvimento, hipófilos, marrons e parafisados. *Paráfises* 25 — 35 \times 8 — 12 μm , a maioria periféricas ou as vezes himeniais, levemente clavadas a clavadas, retas ou curvadas, cada uma com a ponta enrugada ou rugosa. *Urediniósporos* 20 — 25 \times 14 — 21 μm , marrons, elipsoide transversalmente em vista plana, originados individualmente com proliferação simpodial das células esporogênicas, equinulados na maioria das vezes, mas algumas vezes com a superfície lisa, dois poros germinativos equatoriais localizados nos ângulos laterais. *Télios* 60 — 160 μm de diâmetro, marrom a marrom-escuros, subepidérmicos, irrompentes, solitários ou as vezes coalescentes, à semelhança dos urédios, parafisados. *Paráfises* idênticas às dos urédios em formato, tamanho e localização. *Teliósporos* 22 — 32 \times 11 — 16 μm , formados por proliferação

simpodial das células esporogênicas, bicelulares com septo transversal, parede fina, marrom clara, pedicelados, ambas células com apêndices salientes a maioria ramificados, um poro germinativo por célula. *Metabasídio* externo $58 - 62 \times 5 - 6 \mu\text{m}$. *Basidiósporos* $5 - 7 \mu\text{m}$ de diâmetro, hialinos e globoides.

Hennen et al. (2005) descreveram a fase assexuada de *Kimuromyces*, *Uredo rhombica* Speg. e ao mesmo tempo, validaram a espécie *K. cerradensis* descrita por Dianese et al. (1995)

Espécimes examinados: em folhas de *Astronium fraxinifolium* (Anacardiaceae): Mineradora Rio do Sal, Padre Bernardo, Curralinho, Goiás, 05 jul. 2012, leg. C. Pietrani 01, UB23337; Santo Antônio do Monte, Minas Gerais, 05 ago. 2015, leg. D.B. Pinho 176, UB23333.

O espécime descrito por Dianese *et al.* (1995) é claramente diferente da espécie *Leptinia brasiliensis* que possui teliósporos lisos e fase uredínica desconhecida como também dos outros gêneros com teliósporos bicelulares e septo transversal reportados na família Pucciniaceae (*Puccinia* e *Cleptomycetes*) e Uropyxidaceae (*Prospodium*, *Dasyspora*, *Soratea*, *Porotenus*, *Uropyxis* e *Dipyxis*).

O gênero *Kimuromyces* é separado de todos os outros fungos neotropicais independentemente do tipo dos espermogônios, graças a morfologia clara dos teliósporos, espécies hospedeiras e características do formato da urédio e dos urediniósporos (Dianese *et al.* 1995). O gênero mais próximo morfologicamente de *Kimuromyces* é *Porotenus*, em termos da forma e do tipo de germinação dos teliósporos (Dianese *et al.* 1995), porém claramente diferenciado pelas ornamentações dos telióporos, distância filogenética entre as hospedeiras e formação de uma saliência na célula inferior, junto ao septo do teliósporo de *Porotenus*, por onde o mesmo germina.

Erroneamente Sotão et al. (2006) consideraram um espécime de herbário de 1997 como *K. cerradensis*, encontrado no Pará em folhas de *Astronium* sp.. Eles admitiram o

espécime como sendo uma variação da espécie por conter teliósporos com três células, conforme a descrição original. Entretanto, os teliósporos do material estudado por Sotão *et al.* (2006) não apresentaram apêndices na superfície das células, característica essencial do gênero *Kimuromyces*.

Segundo Hennen et al., *Uredo rhombica* foi encontrado em folhas de *Astronium urundeuva* na Argentina em 1884, e antes reportado em *Astronium juglandifolium* no Paraguai em 1883, além de relatar a ocorrência em outras anacardiáceas, como inclusive *Astronium fraxinifolium* no Ceará, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará e São Paulo, e sobre *Astronium lecointe* no Pará. Além disso *Uredo rhombica* é conhecido na Venezuela e na Costa Rica (Hennen et al. 2005).

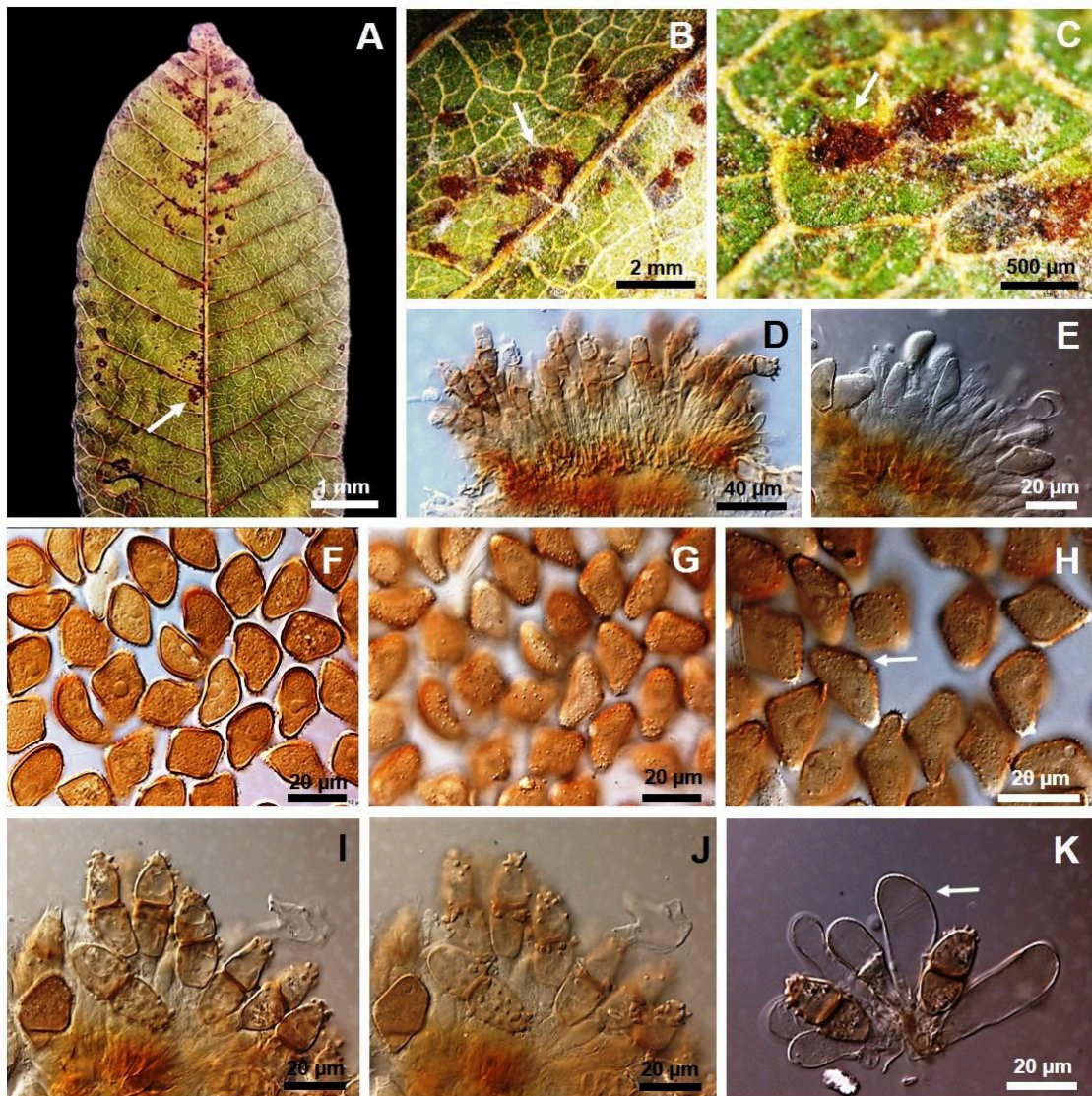


Figura 14 (A-K). *Kimuromyces cerradensis* em folhas de *Astronium fraxinifolium*. **A.** Sintoma e distribuição dos soros (seta) na face abaxial da hospedeira. **B, C.** Pústulas pulverulentas de coloração marrom. **D.** Disposição de teliósporos em um télio. **E.** Urediniósporos com pedicelos em um urédio. **F e G.** Massa de urediniósporos vistos em diferentes profundidades de foco. **H.** Poro germinativo (seta) de um urediniósporo. **I, J.** Teliósporos bicelulares com parede contendo apêndices salientes, sob diferentes profundidades de foco. **K.** Teliósporos e paráfises (seta) grossas cilíndricas com porção apical mais larga.

Gênero *Dasyscypha* Berk. & M.A. Curtis

Com base na espécie *Dasyscypha foveolata* Berk. & Curt, uma espécie microcíclica (com fase uredínica até o presente desconhecida) encontrada em espécies de *Xylopiya* L. (Annonaceae) no Neotrópico, Berkeley e Curtis (1853) propuseram *Dasyscypha* como um novo gênero de Pucciniales. Como a espécie fora anteriormente designada *Puccinia gregaria* Kunze, em 1827, *D. foveolata*, publicada em 1853 passou a ser seu sinônimo. Assim, o nome da espécie-tipo do gênero *Dasyscypha*, *D. gregaria* (Kunze) Henn, resultou de recombinação a partir do nome mais antigo (*P. gregaria*). *Dasyscypha geranii-silvatici* Arthur e *D. malvacearum* Arthur foram descritas em 1906 (Mycobank 2016, Index Fungorum 2016).

Beenken & Berndt (2010), em um estudo monográfico sobre fungos causadores de ferrugem em anonáceas, investigaram inúmeros espécimes de *Dasyscypha* a partir de uma ampla faixa geográfica e diferentes espécies hospedeiras. Através de comparações por morfologia e análise filogenética descreveram nove novas espécies para o gênero *Dasyscypha*: *D. amazonica*, *D. echinata*, *D. emarginatae*, *D. ferrugineae*, *D. frutescentis*, *D. guianensis*, *D. mesoamericana*, *D. nitidae* e *D. segregaria*. Já Beenken et al. (2012) recombinaaram *Puccinia winteri* Pazschke, sendo agora tratada como *Dasyscypha winteri* (Pazschke) Beenken. Com isso, chega-se ao número de 13 espécies de *Dasyscypha* conhecidas até o presente (Index Fungorum 2016, Mycobank 2016).

O gênero *Dasyscypha*, segundo Cummins & Hiratsuka (2003) é caracterizado por: *Espermogônios* subepidérmicos, Grupo VI (tipo 5). *Écios* subepidérmicos hipófilos, irrompentes, cupulados. *Uredios* desconhecidas. *Télios* subepidérmicos, irrompentes; *Teliósporos* bicelulares, pedicelados, paredes pigmentadas, verrugosos, um poro germinativo por célula, *metabasídios* externos.

A verrugosidade extrema dos teliósporos bicelulares com projeções em formato cilíndrico, muitas vezes ramificadas na porção apical constitui em caráter fundamental na definição do gênero. Além disso, *Dasyspora* é separada de *Puccinia*, que também forma teliósporos bicelulares às vezes ornamentados, pelo tipo de espermogônio. Em espécies de *Puccinia* os espermogônios pertencem ao Grupo V (tipo 4), segundo Cummins & Hiratsuka (2003). Na verdade, modernamente inclusive com dados de filogenia molecular (Beenken et al. 2012), o gênero *Dasyspora* está alocado distante de Pucciniaceae, na família Uropyxidaceae, confirmando Cummins e Hiratsuka (2003).

Assim, o gênero *Dasyspora* foi por algum tempo, tratado como monotípico distribuído pelas Américas tropicais (Arthur 1927, 1929, Buriticá & Pardo-Cardona 1996; Dennis 1970; Hennings 1895; Hennen e Figueiredo 1981; Hennen et al. 2005, Jorstad 1956; Mains 1935, 1939; Sydow 1925; Viégas 1945).

As plantas hospedeiras pertencem ao gênero *Xylopia* (Annonaceae) com aproximadamente de 100 a 160 espécies e distribuídas pela Neotropica (Kessler 1993), porém apenas cerca de 50 espécies têm sido acometidas por *Dasyspora* até agora, com destaque para *X. aromatica* (Lam.) Mart., *X. frutescens* Aubl., *X. ochranta* Mart., e várias outras espécies de *Xylopia* listadas por Hennen et al. (2005).

***Dasyspora gregaria* (Kunze) Henn. Fig. 15 (A-E) e Fig. 16 (A-I)**

Espermogônios 100– 200 µm de diâmetro, subepidérmicos, globosos, predominantemente epífilos com massa de espermásias de coloração amarelada. Hifas receptivas cilíndricas e numerosas. *Espermásias ou Piciniósporos* 3–5 µm diam., elipsoides, subglobosos, hialinos. *Écios* 180–200 µm, hipófilos, gregários, esbranquiçados a amarelados, pulverulentos, irrompentes, cobrindo grande parte da folha, cupulados; *células peridiaias* 25 –

30 μm \times 16 – 22 μm , romboides a hexagonais, grossas verrugosas. *Eciósporos* de tamanho menor que as células peridiais, 18 – 22 μm \times 14 – 16 μm , globosos a irregulares, hialinos, catenulados; parede verrugosa a tuberculada, com grânulos superficiais de até 4 μm de diâmetro cobrindo os poros germinativos, às vezes se destacando do esporo. *Télios* 270 – 350 μm , hipófilos, subepidérmicos, irrompentes, castanho escuros a negros, dispostos em círculos concêntricos ou dispersos, parafisados. *Paráfises* periféricas, raramente himeniais, cilíndricas a ligeiramente clavadas. *Teliósporos* bicelulares septados transversalmente, constrictos no septo, pedicelados (pedicelos hialinos e frágeis), oblongos a elipsoides, 30 – 35 \times 15 – 20 μm , marrom-escuros, parede dupla, verrugosos e com projeções numerosas cilíndricas distribuídas principalmente nas regiões apical e basal, um poro germinativo por célula.

Espécimes examinados: em folhas de *Xylopia aromatica* (Annonaceae): Embrapa Cerrados (CPAC), Planaltina, Distrito Federal, 05 set. 2012, leg. E.S.C Souza 135, UB22371; Barra do Garça, Mato Grosso, 18 ago. 2014, leg. Z.M. Chaves A73, UB22969; Divinópolis, Minas Gerais, 29 jul. 2015, leg. D.B. Pinho A19, UB23339; Reserva do Instituto Federal de Brasília Campus Planaltina, Distrito Federal, 20 ago. 2015, E.S.C Souza 250, UB.

O espécime aqui estudado é claramente pertencente à espécie *D. gregaria*, uma vez que além de infectar a mesma hospedeira já descrita em literatura, ele possui morfologia (forma e distribuição das projeções da parede dos teliósporos) e dimensões compatíveis com a espécie quando comparados com as espécies descritas e ilustradas por Beenken et al. (2012).

As infecções causadas pela fase ecídica de *D. gregaria* (\equiv *Aecidium xylopieae*) ocorrem em brotações e em tecidos jovens e são raramente locais, pois, em geral, produzem efeitos sistêmicos, resultando em sintomas de “vassouras-de-bruxa” avantajadas, assumindo coloração amarela a laranja. A fase sexuada de *Dasyscypha gregaria* (Kunze) Henn, pode apresentar clorose ao redor dos soros, e muitas vezes associada com a alga *Cephaleuros virescens* Kunze (Hennen & Figueiredo, 1981).

Dasyspora gregaria é relatada em folhas de *X. aromatica* em Goiás, Mato Grosso e São Paulo; em *X. frutescens* em Pernambuco; em *X. grandiflora* no Mato Grosso, Rio de Janeiro e São Paulo; em *X. ocrantha* na Bahia; em *Xylopi*a sp., no Amapá, Amazonas, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Pernambuco e São Paulo (Hennen et al. 2005, Farr & Rossman 2016).

Além disso a espécie é reportada em folhas de *Annona* na Guiana, em *Polyalthia longifolia* e em *X. aromatica* na Índia; em *X. aromatica* em Trinidad e Tobago e Venezuela; em *X. cayennensis* na Guiana Francesa e Suriname; em *X. frutescens* em Belize, Guatemala e México; em *X. grandiflora* no Panamá e no Peru; em *Xylopi*a sp. na Colômbia, Costa Rica e Suriname (Beenken et al. 2012, Farr & Rossman 2016).

Esta é a primeira vez que *D. gregaria* é relatada em folhas de *X. aromatica* no Distrito Federal e em Minas Gerais.

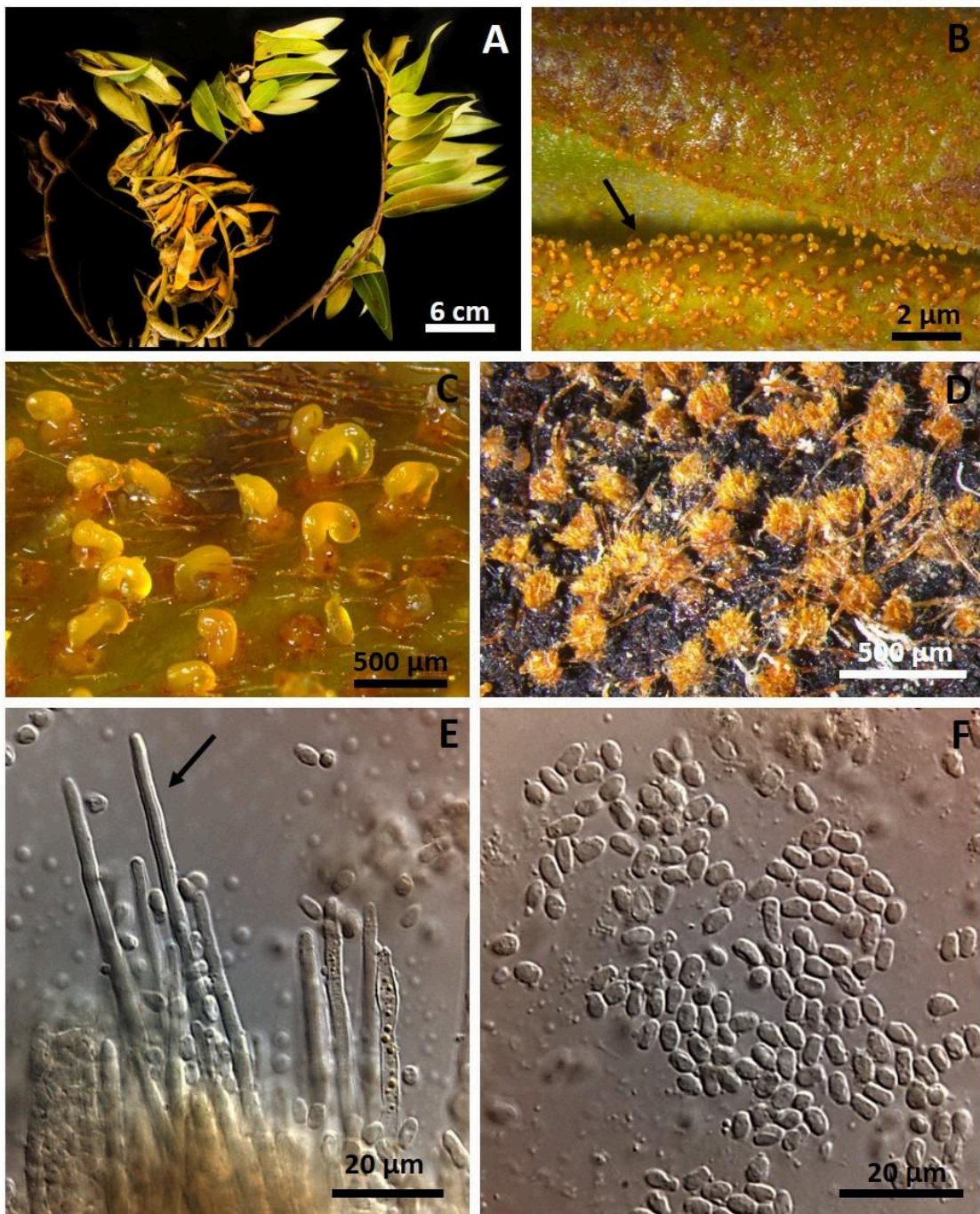


Figura 15 (A–F). Forma espermogonial de *Dasyspora gregaria* em *Xylopiia aromatica*. **A.** Sintomas. **B–C.** Espermogônios exudando cirros contendo espermásias. **D.** Espermogônios secos mostrando hifas receptivas. **E.** Hifas receptivas cilíndricas e espermásias oblongas. **F.** Espermásias.

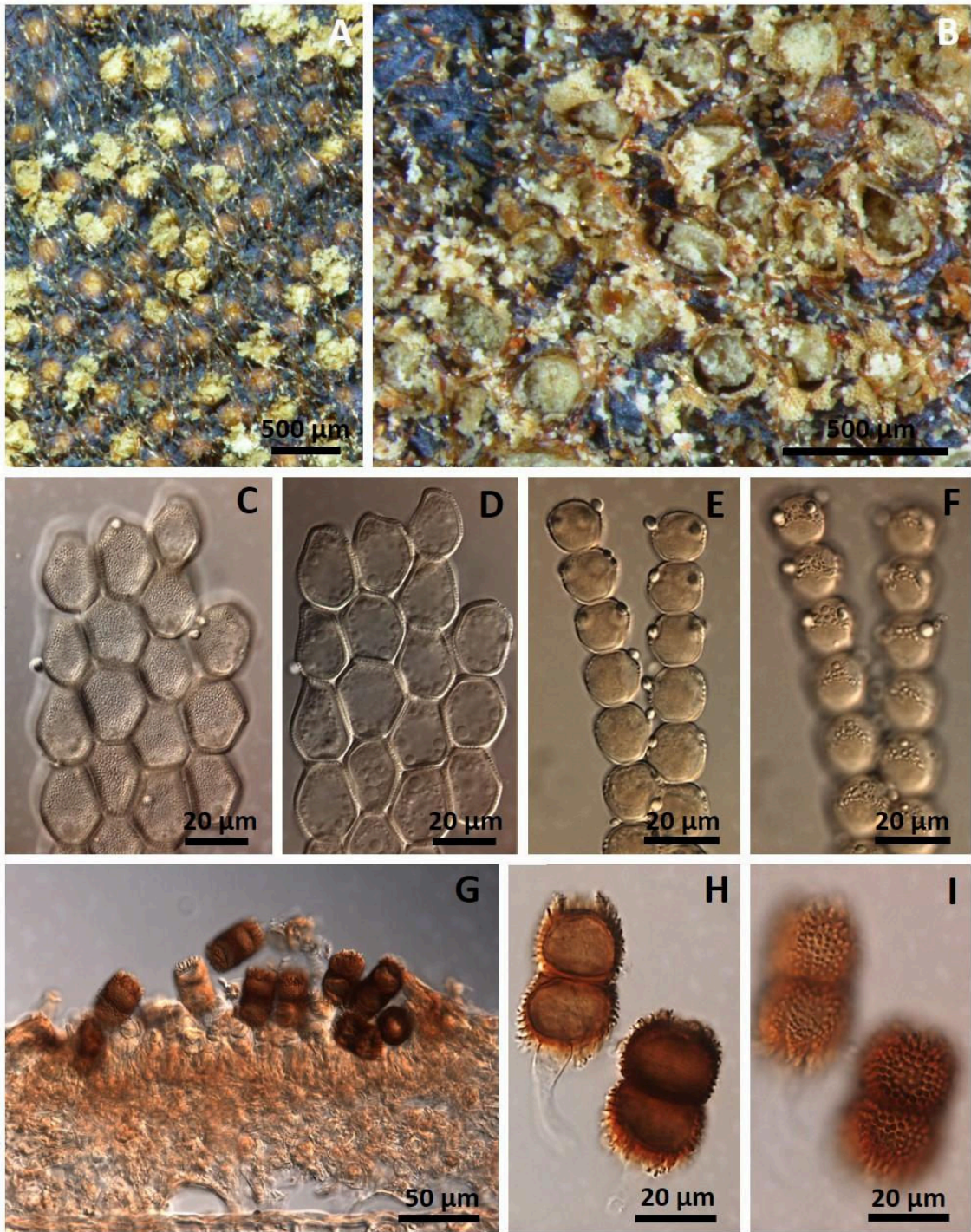


Figura 16 (A–I). Formas ecídica e teliospórica de *Dasyspora gregaria* em *Xylopia aromatica*. **A–B.** Écios em amostra herborizada. **C–D.** Células do perídio. **E–F.** Eciósporos catenulados, mostrando até 2 poros germinativos. **G.** Corte de um Télió. **H–I.** Teliósporos.

Gênero *Mimema* H. S. Jackson no Cerrado.

O gênero *Mimema*, pode ser assim descrito: Epermogônios e Écios não observados. *Uredios* com paráfises periféricas abundantes, tipo *Calidion*. *Urediniósporos* equinulados, poros germinativos 1 — 6, equatoriais. *Télios* colunares, instáveis, produzidos a partir de urédios já sem urediniósporos, com paráfises periféricas menores do que as uredínicas, formadas na base das colunas. *Teliósporos* cilíndricos ou fusiformes, multicelulares, geralmente tetracelulares, variando entre 3 e 6 células, com pedicelos não celulares afilados longos, reponsáveis pela conexão entre teliósporos nas colunas, com germinação simultânea em várias células através poros germinativos discretos, metabasídio externo (Cummins & Hiratsuka, 2003, Dianese et al. 1994).

O gênero *Mimema* anteriormente considerado sinônimo de *Sorataea*, foi reinstituído por Cummins e Hiratsuka (2003), com base na descrição de *M. venturae* por Dianese et al. (1994). Em *Mimema* ocorre um poro germinativo em cada célula probasidial através do qual o metabasídio emerge. Em *Sorataea* o metabasídio desenvolve-se pelo alongamento do ápice do probasídio. Além disso, os teliósporos em *Mimema* são formados e liberados a partir dos soros como uma coluna, uma característica não relatada para *Sorataea*. Além disso, Cummins e Hiratsuka (2003) incluíram *Mimema* na família Uropyxidaceae, mas não o incluíram na chave para gêneros da família. Dianese et al. (1994) admitiram que a morfologia dos teliósporos e a maneira como os basídios são formados claramente separa *Mimema* de *Soratea*. Os teliósporos de *Mimema* são semelhantes aos de *Hamasporea* que ocorre apenas em *Rubus* (Rosaceae) e possui espermogônia do Grupo IV tipo 8 ou 9, mas eles podem não estar intimamente relacionados. Como espermogônia e écio em *Mimema* não são conhecidos, somente quando descobertos, tornariam mais clara a relação com *Hamasporea*. Superficialmente as colunas dos teliósporos em *Mimema* são relativamente similares em

muitas espécies de *Crossopora* por apresentar paráfises periféricas e colunas a partir de urédios antigos. Porém, a semelhança cessa por aí, uma vez que em *Crossopora* os teliósporos são unicelulares.

Existem apenas duas espécies descritas para o gênero sendo que *Mimema holwayi* H. S. Jackson a espécie-tipo do gênero, foi coletada na Bolívia em 1920 (Jackson 1931), em uma espécie de *Dalbergia* (Fabaceae), na época identificada erroneamente como *Cassia versicolor* (Hennen et al. 2005). Somente em 1994, foi descrita a segunda espécie, *Mimema venturae*, reportada em *Dalbergia miscolobium* no Brasil em 1994 (Dianese et al. 1994).

***Mimema venturae* Dianese, L. T. P. Santos, R. B. Medeiros & M. Sanchez. Fig. 17 (A-H)**

O espécime aqui estudado mostrou: *Espermogônios e Écios* ausentes. *Urédios* hipófilos, em manchas amareladas da folha, dispersos ou em grupos densos até 4 mm de diâmetro, castanho-canela, irrompentes, pulverulentos, parafisados; *paráfises* 40 – 55 × 5 – 7 µm, numerosas, sempre periféricas, encurvadas, pontiagudas, parede incolor a pouco pigmentada. *Urediniósporos* 16 – 23 × 9 – 12 µm, subgloboides, ovoides, a piriformes, ligeiramente reniformes, marrom-claros, equinulados, poros germinativos provavelmente numerosos, obscuros. *Télios* colunares, 80 – 150 µm de comprimento, hipófilos, emergindo como colunas frágeis a partir de urédios velhos. *Teliósporos* até 65 – 110 × 8 µm, aciculares, com 4 septos, extremidades agudas, paredes incolores, pedicelos viscosos, responsáveis pela conexão entre teliósporos nas colunas.

Espécimes examinados: em folhas de *Dalbergia* sp. (Fabaceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL – UnB), Brasília, Distrito Federal, 27 jul. 2012, leg. E.S.C Souza 99, UB22323; em folhas de *Dalbergia* sp. (Fabaceae): Reserva do IBGE (RECOR)

próximo à nascente do Taquara, Brasília, Distrito Federal, 04 set. 2012, leg. M. Sanchez 4665, UB22364.

O material tipo foi encontrado em folhas de *Dalbergia miscolobium* no Distrito Federal em 1994. Além do material-tipo a espécie já foi relatada em *Dalbergia* sp. no Amazonas; em *D. foliolosa* na Bolívia; em *D. variabilis* em Santa Catarina; em *Dalbergia* sp. em Goiás e Mato Grosso (Hennem et al. 2005).

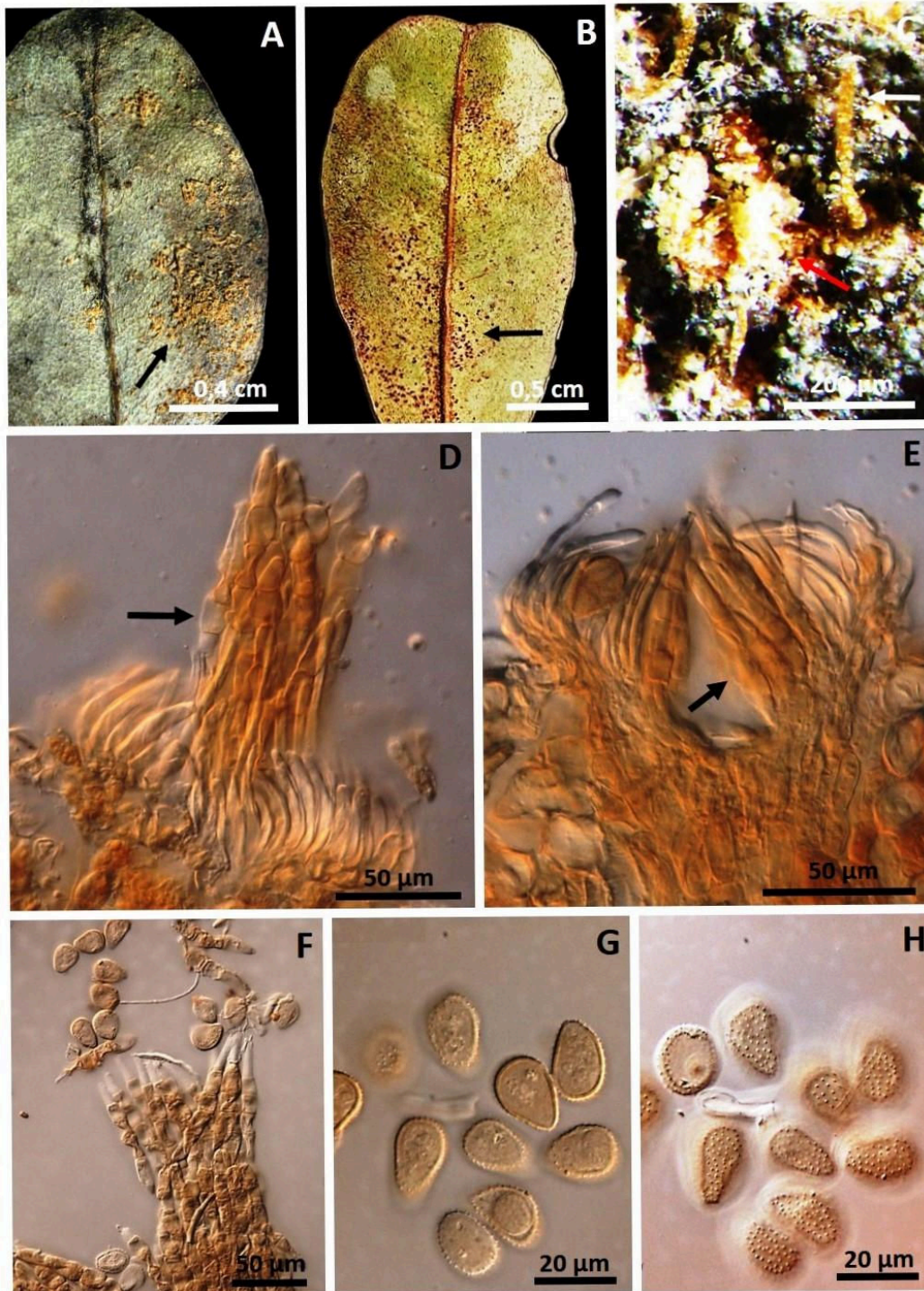


Figura 17 (A–H). *Mimema venturae* em *Dalbergia micolobium*. **A–B.** Sintomas. **C.** Télio colunar indicado por uma seta branca, e uréδιο por uma seta vermelha. **D.** Base de um télio em início de formação, circundado por paráfises cilíndricas de pontas afiladas. **E.** Uréδιο senescente onde se inicia a formação de um télio, com telióspro indicados por seta. **F.** Télio colunar rompido com teliósporos multiseptados (seta). **G–H.** Urediniósporos em profundidades de foco diferentes.

Gênero *Porotenus* Viégas

Espécie do gênero *Porotenus* mostra: *Espermogônios* do Grupo VI tipo 5 ou 7. *Écios* subepidérmicos, irrompentes. *Eciósporos* solitários pedicelados, radialmente assimétricos, equinulados, poros germinativos equatoriais ou basais, geralmente no lado encurvado do eciósporo. *Urédios* subepidérmicos, irrompentes. *Urediniósporos* semelhantes aos eciósporos. *Télios* subepidérmicos, irrompentes. *Teliósporos* bicelulares com septos transversal, pedicelados, célula superior com germinação apical e a inferior lateralmente junto ao septo do esporo, ambas originando metabasídio hialino, com ou sem um poro diferenciado na parede (Cummins & Y. Hiratsuka (1983).

A espécie-tipo, *Porotenus concavus* Viégas, foi descrita no Brasil em *Memora glaberrima* (atualmente *Adennocalyma* sp.) da família Bignoniaceae, hoje conhecida em espécies de *Adennocalyma* e *Amphilophium* (Bignoniaceae) e de *Lippia* (Verbenaceae).

Porotenus memorae F.C. Albuquerque foi descrita na Amazônia por Albuquerque (1971). Três outras espécies primeiramente classificadas como *Puccinia* e *Prospodium* foram transferidas para *Porotenus*: *P. elatipes* (Arthur & Holw.) Cummins & Y. Hirats., *P. permagnus* (Arthur & Holw.) Cummins & Y. Hirats., e *P. depallens* (Arthur & Holw.) Cummins & Y. Hirats. 1983. Hennen & Sotão (1996) adicionaram duas novas espécies relatadas em *Memora* no Brasil (*P. bibasiporulus* J.F. Hennen & Sotão e *P. biporus* J.F. Hennen & Sotão). *Porotenus* possui características comuns com *Prospodium* e os teliósporos de *P. concavus* guardam semelhanças com os de *Soratea*.

Atualmente existem sete espécies dentro do gênero *Porotenus*. Cinco espécies em Bignoniaceae: *P. bibasiporulus* em *Memora nodosa*, *P. biporus* em *Memora flavida*, *P. concavus* em *Memora glaberrima*, *P. memorae* em *Memora consanguinea* e *P. depallens* em

Pithecoctenium muricatum,) e duas em Verbenaceae (*P. elatipes* em *Lippia* sp. e *P. permagnus* em *Lippia myriocephala*) (Index Fungorum 2016).

As espécies de *Porotenus* conhecidas em *Memora* possuem características e tamanhos dos teliósporos muito semelhantes e não são consideradas úteis para a diferenciação entre elas. As variações das características presentes nos anamorfos são mais úteis do que os as características presentes na fase telial para caracterizar estas espécies de *Porotenus*.

***Porotenus memorae* F. C. Abuq. (Fig. 18. (A-E))**

Espermogônios e *Écios* não vistos. *Urédios* hipófilas, subepidérmicas irrompentess, gregárias, marrons, pulverulentas e mistas contendo urediniósporos e teliósporos. *Urediniósporos* 30 – 45 × 17 – 25 µm, reniformes a elipsoides, curvados, pedicelados, marrons, equinulados ora na parte côncava, ora na convexa, geralmente um poro germinativo, ocasionalmente dois próximos a região basal. *Télias* mistas e semelhantes às urédios. *Teliósporos* 45 – 55 × 16 – 22 µm, bicelulares, oblongo – elipsoides, constritos, lisos, quase incolores a subhialinos, um poro germinativo em cada célula dispostos na porção apical.

Espécime examinado: em folhas de *Adenocalymma bipinnatum* (Bignoniaceae): Barra do Garça, Mato Grosso, 18 ago. 2014, leg. L.A.N.N Agra 309, UB23198.

Em comparação com as espécies já descritas em espécies hospedeiras em Bignoniaceae, o espécime aqui estudado é semelhante em morfologia a *P. memorae*. As principais características semelhantes é a predominância do formato reniforme dos urediniósporos e a presença de equinulações nos urediniósporos predominantemente na porção convexa.

Em termos de dimensões o espécime encontrado em *A. bipinnatum* apresentou as medidas dos urediniósporos e teliósporos muito próximas das espécies *P. bibasiporulus*, *P.*

biporus e *P. memora*. *P. concavus* mostrou urediniósporos menores e mais largos (28 — 35 × 24 — 26 µm) e teliósporos entre os maiores (53 — 75 × 15 — 18 µm) para as espécies e *P. depallens* não possui fase de urédio descrita e mostrou teliósporos consideravelmente maiores do que todas as espécies (45 — 96 × 16 — 17 µm).

Porotenus bibasiporus já foi relatado em *M. nodosa* e em *Memora* sp. no Brasil; *P. biporus* em *M. flavida* no Brasil e na Guiana Francesa; *P. concavus* em *M. flavidula* e em *M. glaberrima* no Brasil; *P. memora* em *M. allamandiflora*, *M. axillaris*, *M. consanguinea*, *M. peregrina* no Brasil e em *M. racemosa* na Guiana Francesa.

Este é o primeiro relato de *Porotenus memora* na espécie hospedeira *Adenocalymma bipinnatum*.

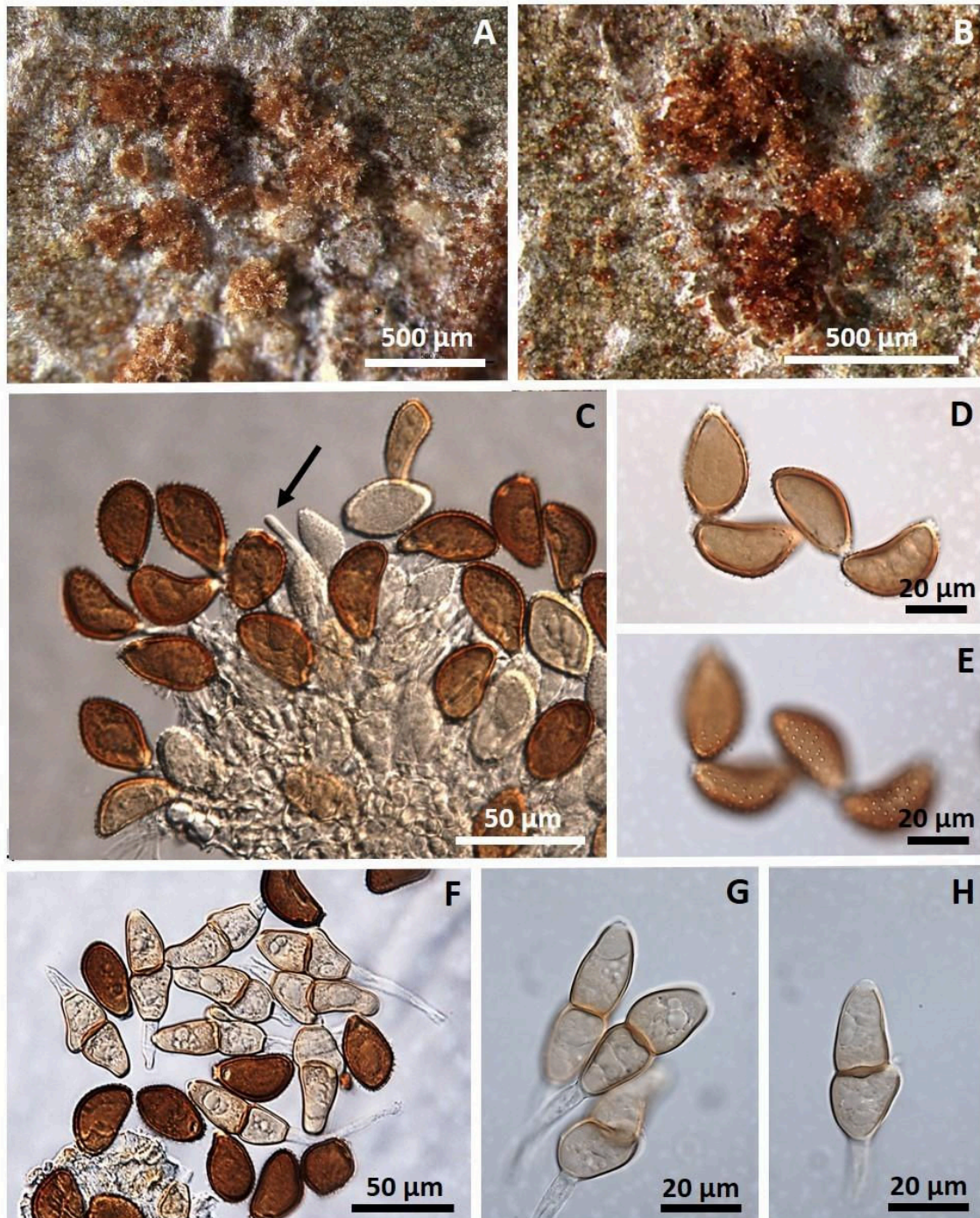


Figura 18 (A–H). Forma uredínica e télica de *Porotenus memoraе* em *Adenocalymma bipinnatum* (= *Memora bipinata*). A–B. Soros mistos. C. Urédio, seta mostra resíduo de pedicelo. D. Urediniósporos mostrando poros germinativos próximos ao hilo. E. Urediniósporos com foco nas ornamentações superficiais. F. Teliósporos e urediniósporos. G–H. Teliósporos em detalhe.

Gênero *Prospodium* Arthur

Descrição: *Espermogônios* subcuticulares, Grupo VI (tipo 7). *Écios* subepidérmicos na origem, irrompentes. *Eciósporos* solitários, pedicelados, principalmente equinulados. *Urédios* subepidérmicos, irrompentes, com paráfises periféricas, ou supra-estomatais, formando um cesto de células esporogênicas com paráfises periféricas; *Urediniósporos* solitários e pedicelados, equinulados, alguns assimétricos, parede simples ou com uma camada exterior mais clara, com dois poros germinativos equatoriais; *pedicelos* higroscópicos. *Télios* semelhantes aos urédios, sendo que nas espécies microcíclicas os télios são sempre subepidérmicos, irrompentes e associados com espermogônios, ou formando cestas supra-estomatais nas macrocíclicas. *Teliósporos* bicelulares com um septo transversal, solitários, pedicelados, parede pigmentada, muitas vezes obviamente bilaminada e geralmente equinulada ou verrugosa, poucas espécies possuem teliósporos com parede pálida ou incolores e lisas, um poro germinativo em cada célula, metabasídio externo (Cummins & Hiratsuka 2003).

Todas as espécies de *Prospodium* são autoécias e a maioria são de ciclos longos, algumas são microcíclicas e todas nativas das Américas. Cerca de 60 espécies infectam hospedeiros em Bignoniaceae e oito espécies infectam plantas da família Verbenaceae. Pelo menos três espécies de *Prospodium* foram relatadas na África e na Índia.

A espécie-tipo do gênero é *Prospodium appendiculatum* (Winter) Arthur (= *Puccinia appendiculata* Winter) relatada em uma bignoniácea não identificada, em 1940 no México (Jackson 1932).

***Prospodium impolitum* H. S. Jackson & Holway Fig. 19 (A-K)**

A espécie forma: *Espermogônios* escassos. *Écios* anfigenos, envolvendo os espermogônios, com poucas paráfises dispersas. *Eciósporos* semelhantes aos urediniósporos. *Urédios* hipófilos, gregários, marrons, supraestomatais, com perídio marrom dourado, suportando células esporogênicas recurvadas. *Paráfises* periféricas de 90 µm de comprimento. *Urediniósporos* 28–33×28–30 µm globoides ou obovoides, castanhos a castanho-escuros, com dois poros germinativos equatoriais. *Télios* formando setas supra-estomatais como as urédias, porém com coloração castanho escura. *Teliósporos* 35-47,5 x 21-28 µm, elipsoides, oblongos, constrictos ou não no septo, marrons, verrugosos com verrugas espaçadas, pedicelados. *Pedicelos* hialinos, higroscópicos, com um par de apêndices laterais ramificados.

A amostra do fungo causador de ferrugem aqui estudada foi identificada como pertencente à espécie *Prospodium impolitum* por possuir características morfométricas compatíveis com as do material tipo e por infectar a mesma planta hospedeira do material tipo da espécie.

Espécime examinado: em folhas de *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae): Fazenda Jonas Filgueiras próximo ao Distrito de Marilândia, Município de Itapeçerica, Minas Gerais, 04 ago. 2015, leg. D.B. Pinho, UB23334.

O espécime-tipo foi encontrada em folhas de *Pyrostegia venusta* em São Paulo no ano de 1922 (Jackson 1932), porém *Prospodium impolitum* encontrada no Brasil nos estados de São Paulo, Minas gerais e Rio Grande do Sul.

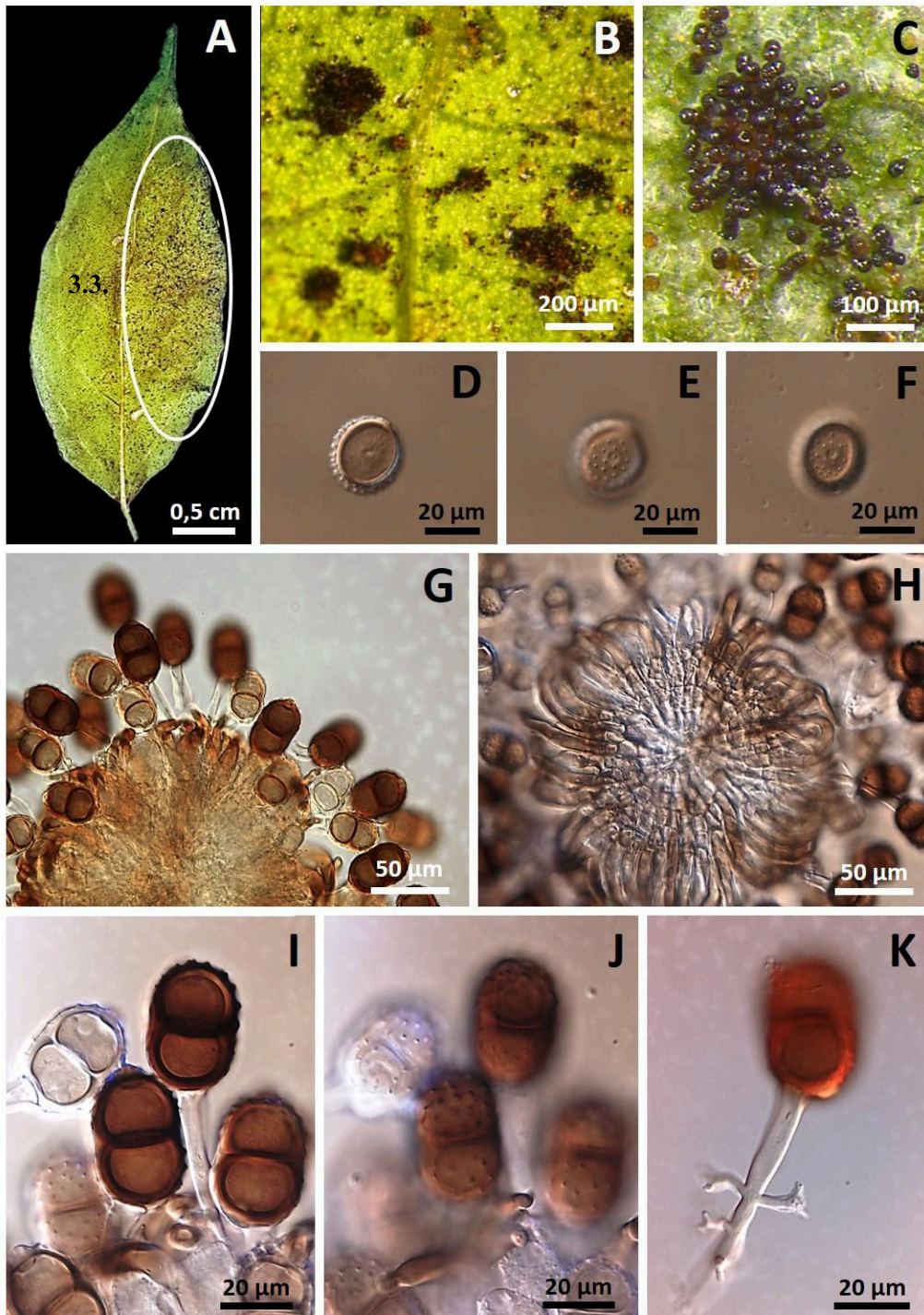


Figura 19 (A–K). *Prospodium impolitum* em folha de *Pyrostegia venusta*. **A.** Aspecto geral da área abaxial da folha tomada por frutificações do fungo. **B, C.** Télios vistos em estereomicroscópio. **D, E, F.** Urediniósporos. **G.** Télios com teliósporos pedicelados. **H.** Cesta supraestomatal com foco dirigido à sua base mostrando individualmente as células esporogênicas. **I, J, K.** Teliósporos.

Membros da Família Phakopsoraceae (Arthur) Cummins & Y. Hiratsuka

Esta família possui 18 gêneros, dos quais 13 tem sua forma sexuada conhecida, abrangendo aproximadamente 205 espécies (Cummins & Hiratsuka 2003, Kirk et al. 2008). Pelo menos 10 formas assexuadas receberam nomes (Buriticá & Hennen 1994), hoje em desuso dadas as mudanças advindas do Código de Melbourne de 2011.

Os membros da família Phakopsoraceae infectam grande diversidade de plantas mono e dicotiledôneas. Eles são assim caracterizados: *Espermogônios* do Grupo VI (tipo 5 ou 7). *Écios* do tipo *Aecidium*, *Caeoma* ou *Uredo*, com ou sem perídio, eciósporos catenulados ou solitários, verrugosos ou equinulados. *Uredios* geralmente com paráfises unidas na base, sendo as paráfises periféricas fortes e recurvadas, com a parede fina na parte dorsal. *Urediniósporos* solitários, exceto em *Anthuria* onde eles são catenulados, equinulados, poros germinativos obscuros e dispersos. *Télios* irrompentes ou imersos no tecido da hospedeira, com duas a várias camadas profundas de teliósporos. *Teliósporos* unicelulares, sésseis, catenulados ou organizados irregularmente, um poro germinativo por célula geralmente inconspícuos *metabasídio* externo (Cummins & Hiratsuka 2003).

A família é representada atualmente pelos gêneros *Aeciure*, *Arthuria*, *Batistopsora*, *Cerotelium*, *Crossopsora*, *Dasturella*, *Macabuna*, *Monosporidium*, *Newinia*, *Nothoravenelia*, *Phragmidiella*, *Pucciniostele*, *Scalarispora*, *Uredendo*, *Uredopeltis*, *Uredostilbe* e *Phakopsora* (espécie-tipo: *P. punctiformis*), sendo este último o gênero-tipo da família.

Gênero *Phakopsora* Dietel

Esse gênero mostra: *Espermogônios* subcuticulares, Grupo VI, tipo 7 (Hiratsuka e Hiratsuka, 1980). *Écios* subepidérmicos, irrompentes. *Eciósporos* solitários e semelhantes aos urediniósporos. *Uredios* subepidérmicos, irrompentes, com paráfises encurvadas, fortes, mas

de parede fina na porção dorsal. *Urediniósporos* solitários, fortemente equinulados, marrons a quase incolores, poros germinativos espalhados ou equatoriais. *Télios* subepidérmicos, imersos, compostos de duas a várias camadas irregulares ou regulares de células probasidiais (teliósporos), aderidas umas às outras lateralmente formando um bloco tridimensional, de textura angular quando em cortes transversais. *Teliósporos* unicelulares, sésseis, marrons a castanhos, um poro germinativo apical, catenulados ou irregularmente dispostos, com paredes espessadas e pigmentadas, compostos por duas ou mais camadas profundas.

Presume-se que a germinação dos teliósporos ocorra após a vencido um período de dormência; *metabasídios* externos (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen et al. 2005).

A partir da contribuição de Ono et al. (1992), em que incluiu *Physopella* em *Phakopsora*, cerca de 50 espécies foram confirmadas no Novo Mundo e 50 no Velho. Isso faz com que o gênero *Phakopsora* chegue a cerca de 100 espécies, sendo o terceiro ou quarto maior gênero entre os Pucciniales, superado apenas por *Puccinia*, *Uromyces* e *Ravenelia*. As espécies de *Phakopsora* ocorrem em todas as regiões mais quentes do mundo em plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas. A maioria é provavelmente autoécia mas espermogônios e écios são desconhecidos para a maioria de espécies. Buriticá (1999), Cummins (1971), Ono, Buriticá & Hennen (1992) e Hennen et al. (2005), são trabalhos básicos indispensáveis nos estudos sobre taxonomia e diversidade do gênero *Phakopsora* na Neotrópica. No Brasil, foram relatadas cerca de 30 espécies. *Phakopsora euvitis* Ono em *Vitis* sp., conhecida no Brasil a partir do registro de Tessmann et al. (2004), *P. gossypii* (Lagerheim) N. Hiratsuka em espécies de *Gossypium*, cabendo lembrar a importância de *P. pachyrhizi* infectando vários gêneros de leguminosas, causando inclusive a ferrugem asiática da soja (*Glycine max*), essa também atacada por *P. meibomiae* (Arthur) Arthur (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen et al. 2005, Kirk et al. 2008).

Phakopsora butleri Dianese, Santos & Medeiros Fig. 19 (A-E)

Descrita por Dianese et al. (1993), mostra: *Espermogônios* e *Écios* não observados. *Urédios* 280–616 μm , geralmente hipófilos, às vezes epifilos, subepidérmicos, irrompentes, com um perídio com *textura intricata* no topo, parafisados; *paráfises* himeniais cilíndricas com as pontas arredondadas, solitárias, hialinas, 26–42 \times 10–12 μm . *Urediniósporos* sésseis, marrom-claros a marrons, obovóides com a base truncada, 18–30 \times 17–22 μm , parede com 1–2 μm de espessura, equinulados, 2-4 poros germinativos supra-equatoriais. *Télios* epifilos, amarelas, esbranquiçadas, cerosas, originalmente subcuticulares, tornando-se tipicamente intra-epidérmicos. *Teliósporos* organizados em 4-9 camadas, variando de cilíndricos, ovóides e obovóides a elipsóides 21–32 \times 12–14 μm .

O espécime aqui estudado apresentou apenas urédios sendo os urediniósporos pouco maiores (26–33 \times 18–22) do que os do espécime-tipo.

Espécimes examinados: em folhas de *Kielmeyera coriacea* (Clusiaceae): Reserva Ecológica do IBGE (Projeto Fogo), Brasília, Distrito Federal. 06 jun. 2012, leg. E.S.C Souza 49, UB22223; em folhas de *Kielmeyera coriacea* (Clusiaceae): Parque Ecológico Ermida Dom Bosco, Asa Sul, Brasília, Distrito Federal. 27 jul. 2013, leg. E.S.C Souza 198, UB22520.

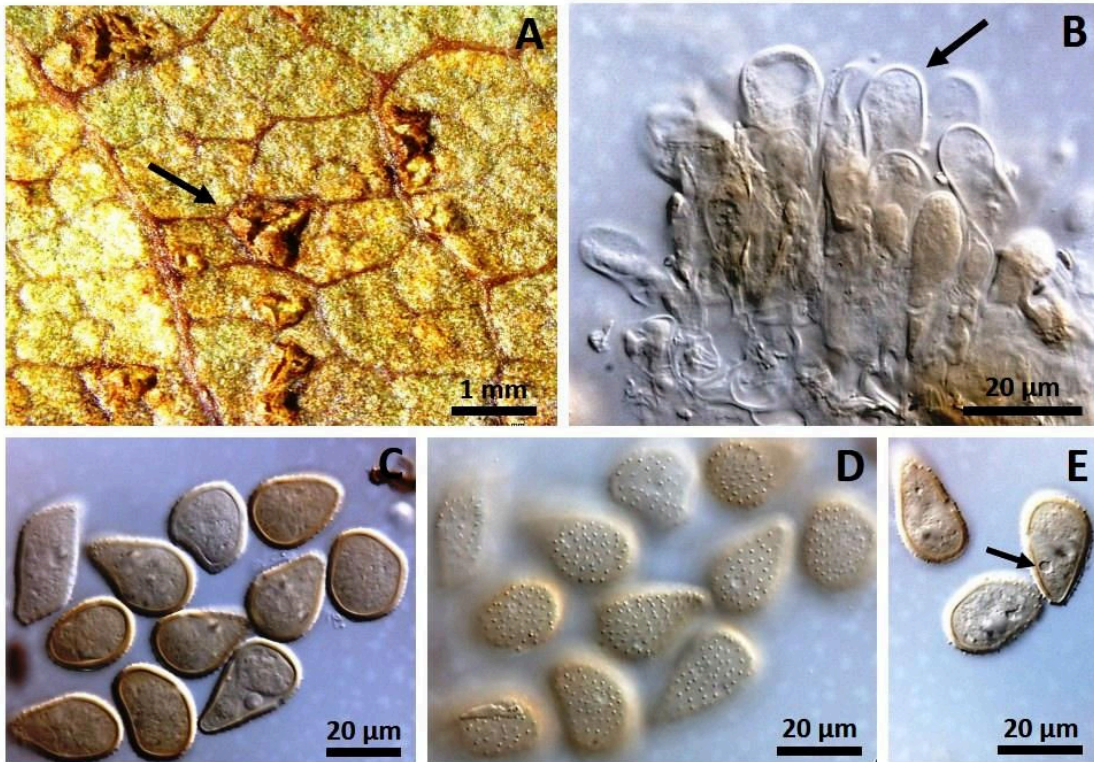


Figura 20 (A–E). Forma uredínica de *Phakopsora bluteri* em folha de *Kielmeyera coriácea*. **A.** Soro (seta). **B.** Corte de um urédio, mostrando urediniósporos e paráfises. **C–E.** Urediniósporos em diferentes profundidades de foco, com seta mostrando poro germinativo.

A espécie tipo *P. butleri* infecta *Kielmeyera coriacea* Martius (Clusiaceae), espécie endêmica do Cerrado e foi descrita em de Brasília, Distrito Federal, em 1992 (Dianese et al. 1993).

***Phakopsora chavesii* Dianese, Santos & Medeiros. Fig. 21 (A-D)**

Essa espécie foi assim descrita por Dianese et al. (1993): *Espermogônios* e *Écios* desconhecidos. *Urédios* 118–132 µm de diâmetro, anfígenos, maioria das vezes hipófilos, em pequenos grupos, redondos, amarelados a marrons, irrompentes, subepidérmicos. *Urediniósporos* sésseis, hialinos a amarelados, elipsoides a obovoides com a base truncada, 21–26 x 16–19 µm; fortemente equinulados, 3 poros germinativos obscuros. *Télios*

anfígenos, marrons a amarelados, cerosos, subepidérmicos, 2-4 camadas de teliósporos. *Teliósporos* irregularmente distribuídos em camadas imersas, cilíndricos ou as vezes ovoides, obovoides a fusiformes, $14-38 \times 7-13\mu\text{m}$; parede com 2-3 μm de espessura.

Nas amostras aqui estudadas foi encontrada apenas a fase uredínica com urediniósporos maiores do que os do espécime-tipo, e, além disso, tendo mostrado poros germinativos numerosos.

Espécimes examinados: em folhas de *Terminalia phaeocarpa* (Combretaceae): Câmpus Darcy Ribeiro Universidade de Brasília, ao lado direito da entrada do CESPE, Brasília-Distrito Federal, 21 jun. 2013, leg. E.S.C Souza 184, UB22487; em folhas de *Terminalia phaeocarpa* (Combretaceae): Campus Darcy Ribeiro Universidade de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 11 jul. 2013, leg. E.S.C Souza 186, UB22502; em folhas de *Terminalia argentea* (Combretaceae): Jardim Botânico de Brasília, próximo à portaria privativa, Brasília-Distrito Federal, 07 jul. 2014, leg. E.S.C Souza 230, UB22896.

Há relatos de *P. chavesii* em *Terminalia argentea* em Goiás e em Minas Gerais e em *Terminalia phaeocarpa* no Distrito Federal, entretanto é a primeira vez que *P. chavesii* é relatada em *T. argentea* no Distrito Federal. *Phakopsora chavesii* foi reportada apenas no Brasil.

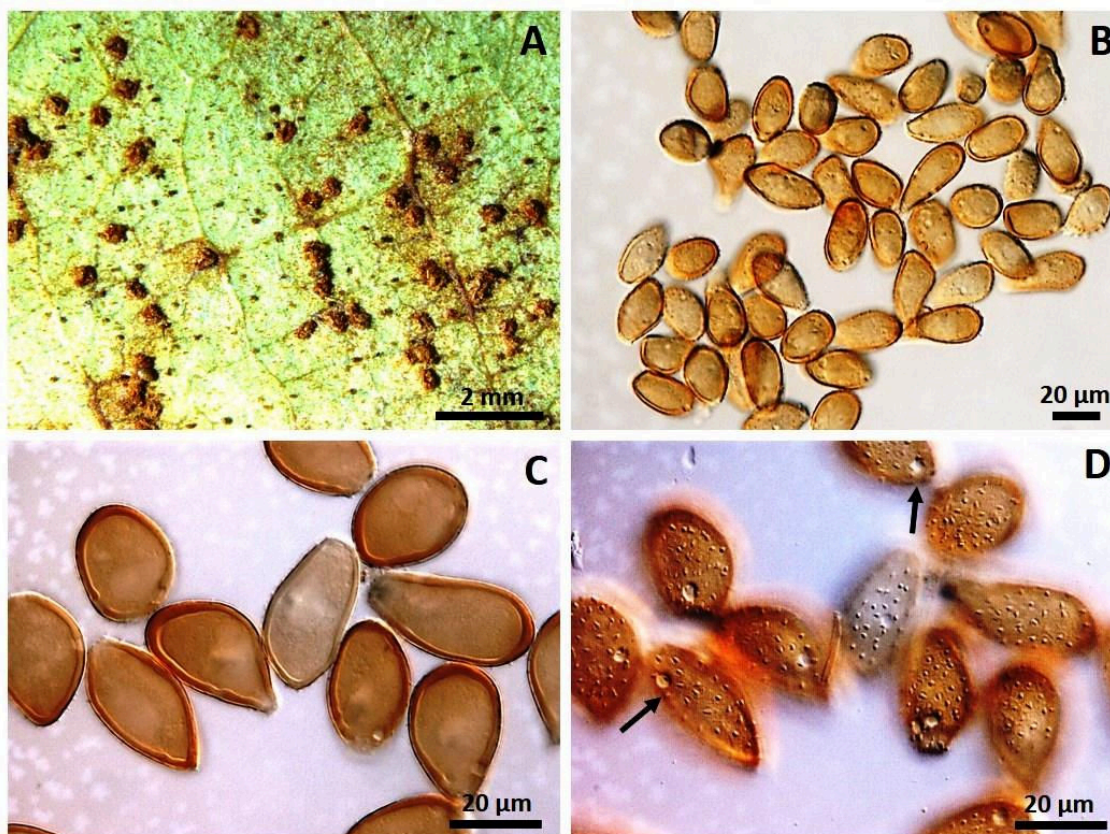


Figura 21 (A–D). Forma uredínica de *Phakopsora chavesii* em folhas de *Terminalia phaeocarpa*. **A.** Urédios pustulares arredondados, amareladas a marrons, irrompentes. **B–D.** Urediniósporos vistos em diferentes profundidades de foco, com setas indicando poros germinativos.

***Phakopsora coca* Buriticá & Hennen in Buriticá. Fig. 22 (A-F)**

Epermogônios e *écios* não bservados. *Urédios* hipófilos, dispersos ou em pequenos grupos, subepidérmicos, pulverulentos, parafisadois; *paráfises* himeniais, hialinas, clavadas a cilíndricas 15–25 × 7–9 µm, *Urediniósporos* com pseudopedicelos curtos, obovóides a elipsóides, 22–30 x 16–20 µm, equinulados, marrons; 2-4 poros germinativos equatoriais ou em ângulos. *Télios* e *teliósporos* não observados.

Espécime examinado: em folhas de *Erythroxylum deciduum* (Erythroxylaceae): Campus Universitário Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília, ao lado direito da entrada

do CESPE, Asa Norte, Brasília-Distrito Federal, 20 jun. 2013, leg. E.S.C Souza 170, UB22470.

Existem três espécies de fungos causadores de ferrugem que infectam plantas da família Erythroxylaceae na América Latina a saber: *Maravalia erythroxyli*, *Phakopsora erythroxylois* e *Phakopsora coca*.

Uma chave proposta para a identificação para essas espécies, disponível Hennen et al. (2005), mostrou que, de acordo apenas com a fase uredínica a espécie que mais se aproximou do espécime aqui estudado foi a espécie *Phakopsora coca* por conter os urediniósporos praticamente com as mesmas medidas, formatos e número de poros germinativos que o espécime aqui estudado.

Phakopsora coca Buriticá & Hennen foi relatada pela primeira vez em folhas de *Erythroxylum engleri* em Goiás no ano de 1979, sendo que a sua fase uredínica foi encontrada originalmente na Bolívia e no Peru (Hennen et al. 2005).

Pelo menos 12 outras espécies de *Erythroxylum*, incluindo *E. coca* Lamarck, foram listadas como hospedeiras dessa espécie causadora de ferrugem.

A espécie *P. coca* é relatada em *E. campestre* (São Paulo), em *E. citrifolium* (Minas Gerais), *E. daphnites* (Minas Gerais), *E. deciduum* (São Paulo), *E. engleri* (Distrito Federal, Goiás e Minas Gerais), *E. ovalifolium* (Minas Gerais e Rio de Janeiro), *E. pelleterianum* (Minas Gerais e São Paulo), *E. suberosum* (São Paulo), *E. tortuosum* (Distrito Federal e Minas Gerais), *Erythroxylum* sp., (Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais e Rio de Janeiro) *E. vacciniifolium* (Distrito Federal).

Além desses relatos *P. coca* também foi reportada infectando *E. areolatum* na Guatemala, *E. brevipes* no Porto Rico, *E. coca* na Argentina e no Peru e *E. mexicanum* no México.

Esta é a primeira vez que *P. coca* é encontrada em folhas de *E. deciduum* no Distrito Federal.

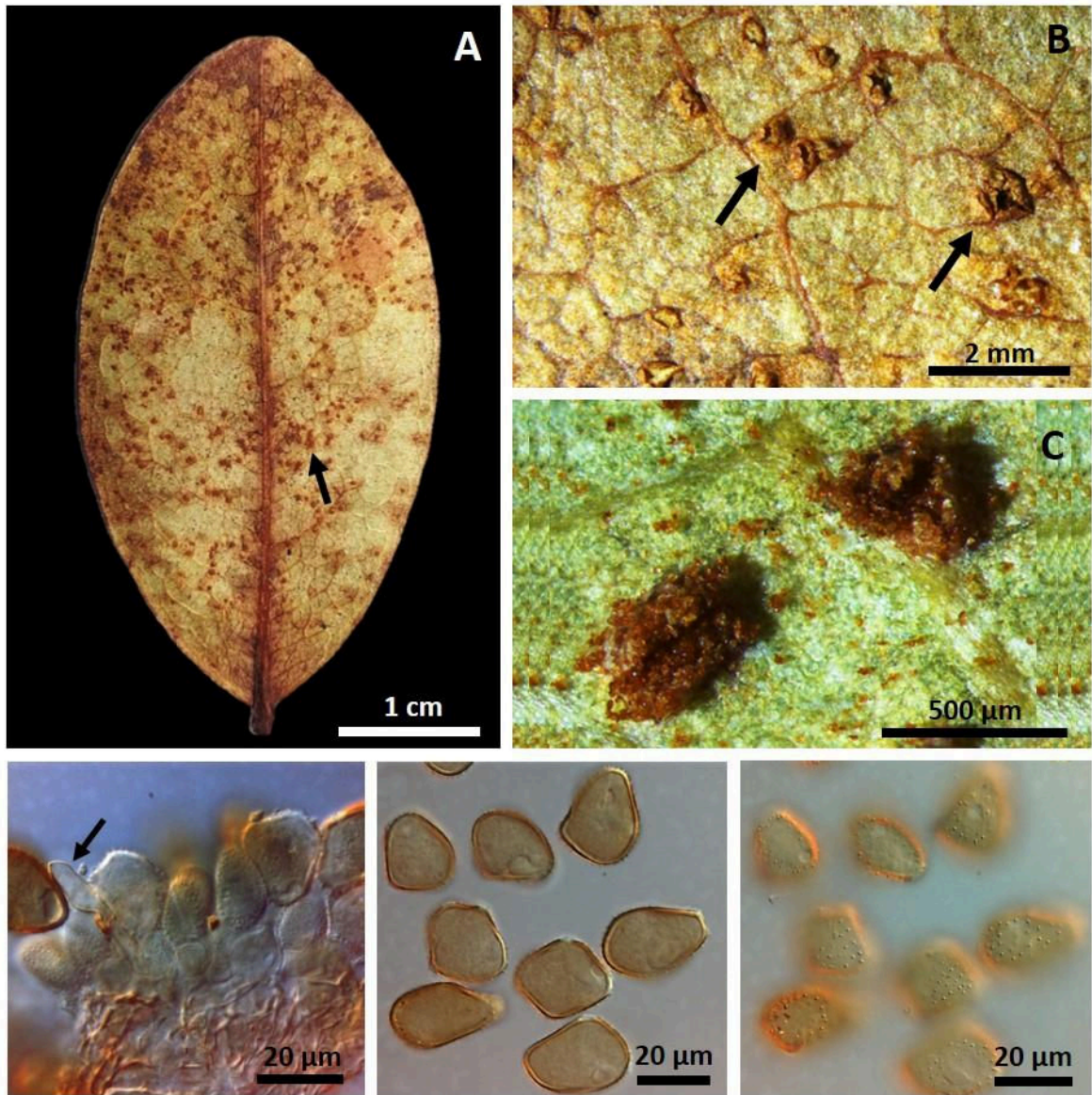


Figura 22 (A–F). Fase uredínica de *Phakopsora coca* em folhas de *Erythroxylum deciduum*. A–C. Aspectos da infecção das folhas resultando na produção de soros uredínicos. D–F. Urediniósporos em diferentes profundidades de foco.

Gênero *Batistopsora* Dianese, Medeiros & Santos

Descrição: *Espermogônios* subepidérmicos, formando hifas receptivas e espermásias facilmente observados Grupo VI (tipo5). *Écios* não observados. *Urédios* subepidérmicos,

irrompentes, parafisados; *paráfises* periféricas longas em paliçada, unidas lateralmente formando um cilindro na saída dos urédios, onde os esporos se acumulam e emergem. *Urediniósporos* equinulados com a vase truncada, sésseis, marrom-claros. *Télios* subepidérmicos, marrons de aparência crustosa, composta de várias camadas (3-4) de esporos de paredes finas, com textura firme. *Teliósporos* unicelulares, sésseis, formados em camadas superpostas, paredes finas, incolores ou ligeiramente pigmentados (Dianese et al. 1993, Cummins & Hiratsuka 2003).

A posição das espermogônios e a paliçada cilíndrica de paráfises soldadas ao redor dos urédios auxilia na identificação do gênero. Dianese et al. (1993) encontraram espermogônios do Grupo VI (tipo 5).

Há controvérsias com relação a permanência do gênero *Batistopsora* separado de *Phakopsora* uma vez que, recentemente Beenken (2014), através de estudos filogenéticos, os considera como sendo um gênero único com permanência para *Phakopsora*.

A espécie tipo para o gênero é *Batistopsora crucis-fili* encontrada em *Annona tomentosa* (Annonaceae) no Brasil (Minas Gerais) em 1993.

Além de *Batistopsora crucis-filii*, uma outra espécie foi relatada, *Batistopsora pistila* Buriticá & Hennen, reportada em *Annona nolosericca* de Honduras e do Panamá (Buriticá, 1999).

***Batistopsora crucis-filii* Dianese, Medeiros & Santos. Fig. 23 (A-H)**

Descrição: *Espermogônios* subepidérmicos na origem, 100–150 µm de largura, 75–115 µm de altura no centro, Grupo VI (tipo5). *Écios* imaturos, não observados. *Urédios* hipófilos, subepidérmicos, esbranquiçados a amarelados a marrom-claros, paráfises periféricas (40–) 75–80 × 7–12 µm, cilíndricas planas, pontas arredondadas, capitadas,

aderidas lateralmente formando uma paliçada cilíndrica. *Urediniósporos* sésseis, (17→) 20–24 (–26) × (12→) 16–18 µm, elipsoides a globoides, truncados na base, paredes finas com 1 µm de espessura, densamente equinulados, marrom-claros, poros germinativos inconspícuos. *Télios* subepidérmicos, hipófilos, 140–160 µm de largura x 70–80 µm de altura, lenticulares, cerosas, amarelados, com 3 a 5 camadas de teliósporos. *Teliósporos* (8–12) 14–18 × (5→) 8–10 µm, sésseis, cilíndricos curtos, em camadas de 3–4 (–5) esporos, parede com 1–2 µm de espessura, subhialinos a marrom-claros (Dianese et al., 1993; Buriticá, 1999).

A amostra analisada possui características morfológicas e dimensionais semelhantes às do material tipo com urediniósporos, entretanto, os urédios (127–240 x 80–240 µm) e os Télios (190–347 x 59–70) apresentam valores muito maiores que a os descritos para o holótipo da espécie (Dianese et al. 1993).

Espécimes examinados: em folhas de *Annona tomentosa* (Annonaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 23 abr. 2012, leg. E.S.C Souza 16, UB22180; em folhas de *Annona tomentosa* (Annonaceae): Proximidades do Centro Olímpico da Universidade de Brasília (UnB), Brasília-Distrito Federal, 25 jun. 2012, leg. E.S.C Souza 62, UB22266; em folhas de *Annona tomentosa* (Annonaceae): Jardim Botânico de Brasília, próximo à portaria principal, Brasília-Distrito Federal, 07 jul. 2014, leg. E.S.C Souza 234, UB22902.

O material tipo foi reportado em *Annona tomentosa* Fries no Brasil, em Minas Gerais em 1993 e possui como anamorfo *Uredostilbe crucis-filii* Buriticá encontrado na Colômbia em 1999.

Batistopsora crucis-filii também foi encontrada em outros locais e hospedeiras da família Annonaceae como *A. crassifolia* em Minas Gerais; *A. glaucophylla* em Goiás, *A. tomentosa* em Goiás, Mato Grosso e Minas Gerais; *A. squamosa* no Ceará e *Annona* sp., em

Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (Hennen et al. 2005, Beenkem 2014).

Batistopsora crucis-filii foi reportada apenas no Brasil, entretanto a espécie também é relatada sobre *A. paludosa* em diversas regiões da Guiana Francesa (Hennen et al. 2005, Beenkem 2014).

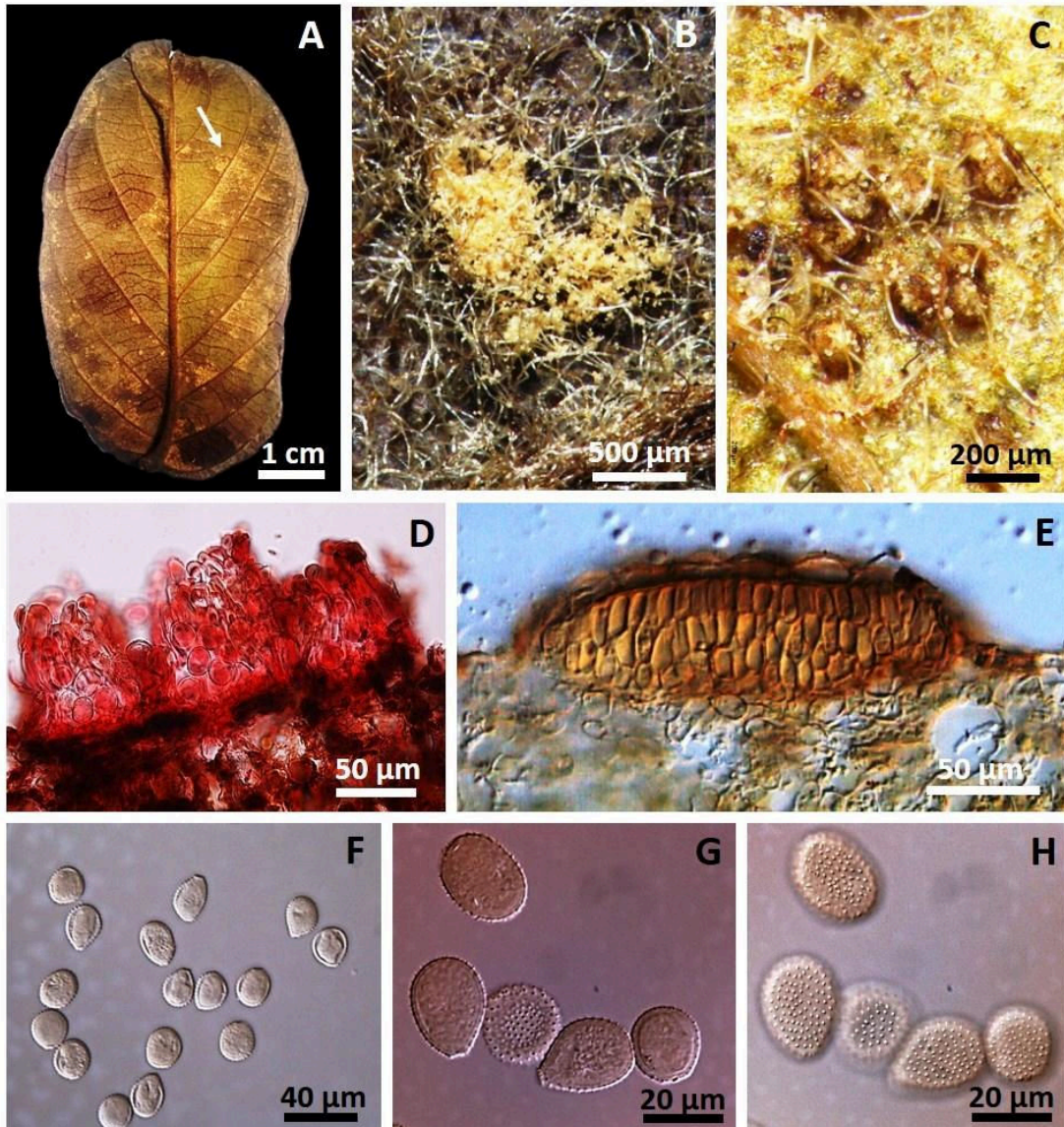


Figura 23 (A–H). *Batistopsora crucis-filii* em folhas de *Annona tomentosa*. **A–C.** Sintoma na folha e soros em diferentes aumentos em estereomicroscópio. **D.** Urédios com paráfises formando paliçada. **E.** Télió subepidérmico, com teliósporos sésseis em três camadas mais ou menos organizadas. **F–H.** Urediniósporos em diferentes profundidades de foco.

Gênero *Catenulopsora* B. B. Mundkur

Descrição: *Espermogônios* do tipo IV. *Urédios* hipófolos, irrompentes. *Urediniósporos* obovoides a reniformes, equinulados, marrons a marrom-claros, com poros germinativos dispersos. *Télios* com teliósporos produzidos em fileiras verticais lateralmente livres de células basais esporogênicas, estes às vezes se assemelham a um pedicelo (Buriticá, 1998).

Cummins & Hiratsuka (2003), colocaram *Catenulopsora* como sinônimo de *Kuehneola*, mas Buriticá e Hennen (1994) e Buriticá (1999) o reconheceram como um gênero à parte. Além das espécies *C. praelonga* e *C. henneneae*, Buriticá (1999) registrou nove outras espécies dos Trópicos de África, Índia, Birmânia, Tailândia e Filipinas em uma lista não publicada.

Atualmente o gênero está sinonimizado como *Kuehneola* por Cummins & Hiratsuka (2003), embora outros autores, considerem o gênero como sinônimo de *Cerotelium*.

A espécie-tipo do gênero, *C. flacourtia*, foi descrita em *Flacourtia sepiaria* (Flacourtiaceae) em 1943, na Índia (Hennen et al. 2005).

Catenulopsora henneneae Buriticá Fig. 23 (A-H)

Descrição: o material estudado continha apenas urédios e urediniósporos, a saber: *Urédios* 87–145 µm de diâmetro, hipófilas, subepidérmicos tornando-se irrompentes quando velhos, pulverulentos, amarelados a amarronzados *Paráfises* 18–34 µm × 4 – 10 µm, curvadas, lisas, hialinas a levemente pigmentadas, paredes grossas com até 3,5 µm de espessura, numerosas. *Urediniósporos* 22 – 32 µm × 19 – 27µm, obovoides a reniformes, marrons, parede grossa com até 3 µm de espessura, equinulações grandes e uniformes, poros germinativos espalhados, podendo chegar até 4.

Espécime examinado: em folhas de *Pouteria torta* (Sapotaceae): Centro Olímpico da Universidade de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 25 jun. 2012, leg. E.S.C Souza 61, UB22265.

Cummins & Hiratsuka (2003) consideraram *Catenulopsora* como sinônimo de *Kuehneola*, mas Buriticá & Hennen (1994) e Buriticá (1999) separaram os gêneros. Buriticá (1999) reconheceu 11 espécies para o gênero, sendo que duas ocorrem no Brasil, a saber: *Catenulopsora henneneae* Buriticá e *Catenulopsora praelonga* (Speg.) Buriticá, em Sapotaceae e Malvaceae, respectivamente.

A forma uredínica de *Catenulopsora henneneae*, embora hoje em desuso, foi designada *Macabuna henneneae* Buriticá, encontrado no mesmo material que a espécie tipo, segundo Buriticá (1999).

Aquela descrição da fase uredínica é semelhante à do espécime estudado e também está associada à mesma hospedeira. Castro (2012) também encontrou a mesma fase uredínica em *Pouteria* sp.

Catenulopsora henneneae foi anteriormente relatada em São Paulo e Minas Gerais (Buriticá, 1999) e sua fase uredínica em Goiás e Mato Grosso do Sul (Castro 2012) e agora no Distrito Federal.

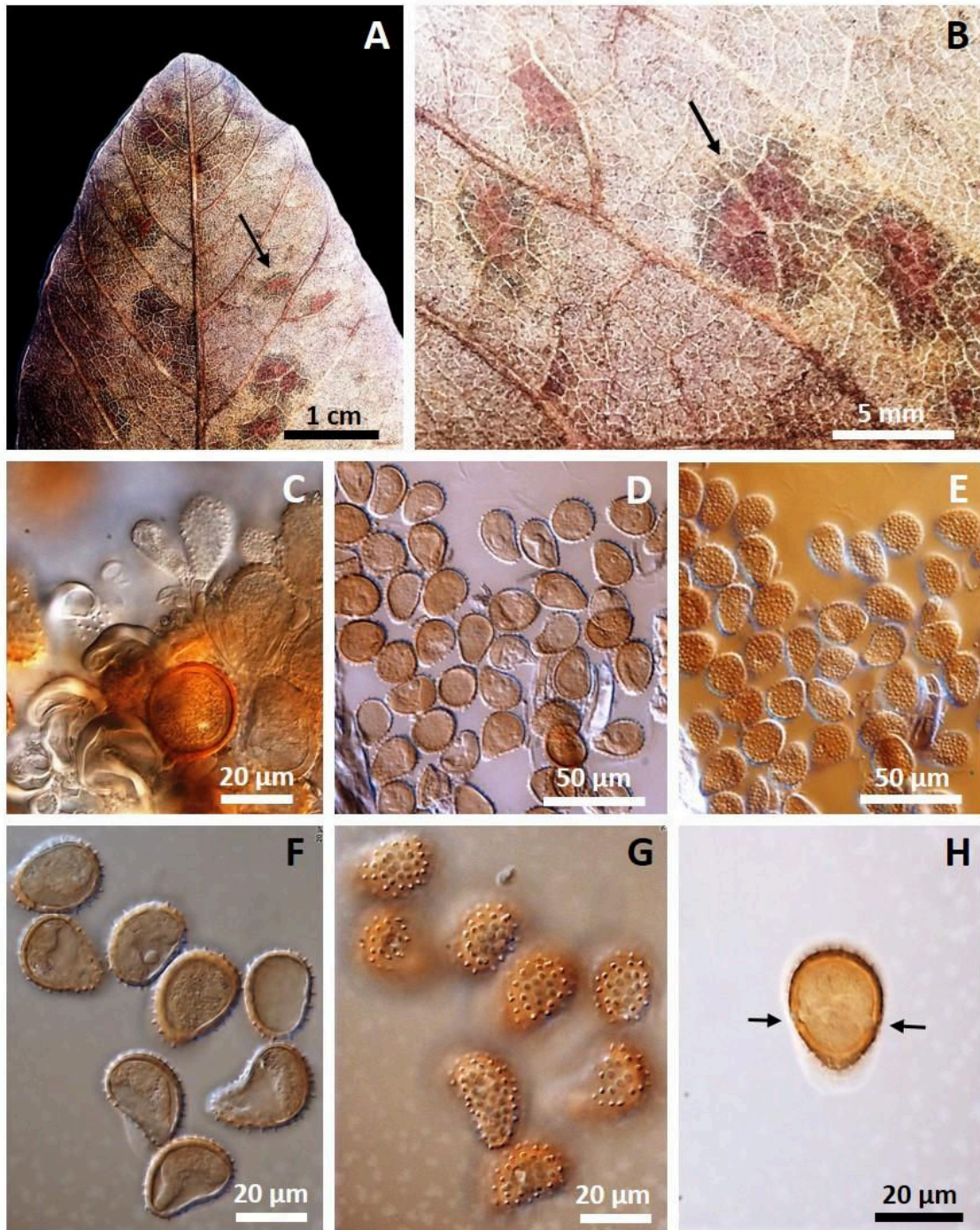


Figura 24 (A–H). Fase uredínica de *Catenulopsora henneneae* em folhas de *Pouteria torta*. A–B. Sintomas. C–G. Urediniósporos vistos em diferentes profundidades de foco. H. Urediniósporo com setas indicando posição dos poros germinativos.

Gênero *Crossopsora* H. Sydow & P. Sydow

Descrição: *Espermogônios* subcuticulares, Grupo VI, tipo 7. *Écios* subepidérmicos, sem perídio, irrompentes, tipo *Caecoma*. *Eciósporos* catenulados e equinulados. *Urédios* subepidérmicos, irrompentes, parafisados; *paráfises* geralmente septadas e unidas na base. *Urediniósporos* pedicelados, equinulados, poros dispersos, inconspícuos. *Télios* subepidérmicos, irrompentes, depois colunares, com teliósporos fortemente ligados formando filamentos longos e estáveis. *Teliósporos* unicelulares, cilíndrico-elípticos, catenulados, fortemente aderidos uns aos outros, formando coluna ereta ou recurvada, com um poro germinativo lateral, germinação sem dormência, basídio externo (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen et al. 2005).

A espécie tipo do gênero é *C. zizyphi* encontrada em folhas de *Zizyphus oenopilia* e de *Z. rugosa* (Rhamnaceae) reportada em 1919 na Índia.

As espécies ocorrem em regiões de clima tropical e subtropical, com 11 espécies no Neotrópico Buritica (1999).

Dodge (1925) relatou que os télios colunares de *Crossopsora* são semelhantes aos de *Cronartium* tanto na estrutura quanto na ontogenia, principalmente nas células que ficam ao redor do ápice da coluna. As paredes do ápice das células adjacentes são fundidas com as de outras células em um arranjo vertical e incorporadas em uma matriz gelatinosa que lhes dão coesão lateral, principalmente depois de secar. Em *Crossopsora* essa coluna tem origem em urédios que já liberaram os urediniósporos, fato não demonstrado em *Cronartium*.

Outro fato é que os télios de *Crossopsora* se assemelham superficialmente aos de *Cronartium*, mas é duvidoso de que os dois gêneros estejam relacionados pois as espermogônios são diferentes, os écios de *Crossopsora* não são peridiados, os seus urédios possuem paráfises em vez de perídio, e os teliósporos não são incorporados em uma matriz

comum com os urediniósporos. Mundkur & Thinrumalachar (1946) descreveram e ilustraram urédio supraestomatal em *C. zizyphi*, mas a maioria das espécies tem soros imersos e irrompentes. Todas as espécies provavelmente são autoécias (Cummins & Hiratsuka 2003).

Atualmente há 19 espécies membros do gênero *Crossopsora*: *C. aganosmae*, *C. angusta* e *C. stevensii* em Apocynaceae; *C. asclepiadiaceae* e *C. mateleae* em Asclepiadaceae, *C. bixae* em Bixaceae, *C. byrsonimatis* em Malpighiaceae, *C. clemensiae* em Euphorbiaceae, *C. crassa* em Bignoniaceae, *C. fici* em Moraceae, *C. gilgiana* em hospedeira não determinada, *C. hymenaeae* em Fabaceae, *C. opposita* em Solanaceae, *C. perscita* em Asteraceae, *C. piperis* em Piperaceae, *C. premnae* e *C. premnae-tomentosae* em Verbenaceae, *C. symphorematis* em Lamiaceae e *C. zizyphi* em Rhamnaceae (Index fungorum 2016).

Das nove espécies antes consideradas em *Crossopsora* oito foram transferidas para o gênero *Cronartium*: *C. antidesmae-dioicae* e *C. malloti* em Euphorbiaceae, *C. byrsonimae* e *C. notata* em Malpighiaceae, *C. kemangae* em Anacardiaceae, *C. sawadae*, *C. uleana* (Solanaceae) e *C. wilsoniana* em Vitaceae e *C. caucensis* para o gênero *Physopella* (Index Fungorum 2016, Mycobank 2016).

Espécies de *Crossopsora* encontradas no Cerrado

Crossopsora byrsonimatis (P. Hennings) = *Cronartium byrsonimatis* = *Crossopsora byrsonimae* Fig. 24 (A-G), Fig. 25 (A-G), Fig. 26 (A-D), Fig. 27 (A-K), Fig. 28 (A-K) e Fig. 29 (A-G)

Espermogônios densamente e igualmente distribuídas em ambos os lados das folhas e em caules deformados, infectados sistematicamente, subcuticulares, inicialmente castanho-amarelados e finalmente castanhos. *Écios* espalhados entre os espermogônios, distribuídos em fileiras em torno da folha, cilíndricos, brancos a marrom-claros; células peridiaias firmemente

unidas em linhas regulares, 48–66 (53) × 24–31,5 (24) μm, romboides, grosseiramente verrugosas. *Eciósporos* 35–48 (46) × 27–33,5 (32) μm, angulares a ovóides, elipsoides ou oblongos, muitas vezes apiculados, marrom-amarelados. *Urédios* hipófilos, subepidérmicos, dispersos ou gregários, paráfises longas e espessas, acuminadas, sobrepostas, hialinas ou levemente pigmentadas. *Urediniósporos* hialinos, marrom-claros a marrons, clavados a obovóides, curto-pedicelados, equinulados de forma homogênea por toda a superfície, 3-4 esporos germinativos. *Télios* colunares, capiliformes, cilíndricos, longos, hipófilos, gregários a dispersos, formados a partir de urédios senescentes, côr de palha a marrom-escuros. *Teliósporos* unicelulares, lisos, solidamente catenulados formando colunas tridimensionais, geralmente oblongo-cilíndricos, ápice e bases obtusos, mais largos na base, germinação lateral. *Metabasídios* reniformes a alantoides, 3 septos transversais, hialinos, as vezes com probasídios largos na base. A Tabela 1 mostra as dimensões das estruturas de *C. byrsonimatis* encontradas nas diferentes espécies do gênero *Byrsonima*.

A espécie *C. byrsonimatis* foi encontrada pela primeira vez em *Byrsonima coccolobifolia* no estado de São Paulo em 1904 (Hennen et al. 2005).

Tabela 1. Comparação entre coletas de *Crossopsora byrsonimatis* obtidas de diferentes espécies de *Byrsonima*.

Hospedeiras	Eciósporos (μm)	Urediniósporos (μm)	Télios (μm)	Teliósporos (μm)
<i>Byrsonima verbascifolia</i> (UB22347)	—	39-53 × 28,5-35	95-257	43-69 × 25-35
<i>Byrsonima laxiflora</i> (UB22202)	—	37-50 × 27-38	—	—
<i>Byrsonima coccolobifolia</i> (UB22259)	—	29-47,5 × 22-36	—	—
<i>Byrsonima pachyphylla</i> (UB23344)	35-48,5 × 27-33,5	—	—	—
<i>Byrsonima pachyphylla</i> *	—	34-42 × 21-27	—	35-66 × 20-26
<i>Byrsonima coccolobifolia</i> **	—	36-44,4 × 24-30	90-150	40-76 × 18-29
<i>Byrsonima crassifolia</i> ***	28-55 × 22-35	—	—	—

* Castro (2012), ** Peterson (1973), *** P. & H. Sydow (1923)

As amostras aqui estudadas foram comparadas com o material tipo e se encaixam na descrição original para a espécie, principalmente quanto aos aspectos morfológicos, embora

apresentem dimensões com poucas variações. Conforme mostrado na Tabela 1, o espécime sobre folhas de *B. verbascifolia* foi o que apresentou maiores dimensões em termos de urediniósporos, teliósporos e télios. Em *B. coccolobifolia* o urédio não apresentaram paráfises e os urediniósporos são mais curtos, porém mais largos, o mesmo ocorrendo com o espécime de *B. laxiflora*. Embora na espécie-tipo a fase ecídica não tenha sido descrita, ela está presente em nossa amostra de *C. byrsonimatis* em *B. pachyphylla* e já foi reportada em *B. crassifolia* (P. & H. Sydow 1923). Porém, nessa hospedeira as formas uredínica e telial não foram aqui encontradas, as quais, no entanto, já foram observadas e descritas por Castro (2012).

Espécimes examinados: em folhas de *Byrsonima coccolobifolia* (Malpighiaceae): Proximidades do Centro Olímpico da Universidade de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 21 jun. 2012, leg. M. Sanchez 4662, UB22259; em folhas de *Byrsonima crassa* (Malpighiaceae): Parque Ecológico Olhos D'Água de Brasília na SQN 413 (Asa Norte), Brasília- Distrito Federal, 12 set. 2012, leg. E.S.C Souza 144, UB22384; em folhas de *Byrsonima laxiflora* (Malpighiaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-DF, 30 mai. 2012, leg. E.S.C Souza 28, UB22202; em folhas de *Byrsonima verbascifolia* (Malpighiaceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL-UnB), Brasília- Distrito Federal, 03 set. 2012, leg. E.S.C Souza 119, UB22347; em folhas de *Byrsonima pachyphylla* (Malpighiaceae): Parque Nacional Chapada das Mesas, Maranhão, 29.10.2015, leg. D.B. Pinho UB23344.

Hennen et al. (1982) citaram cinco espécies de Pucciniales sobre *Byrsonima*: *Aecidium byrsonimatis* P. Hennings, *Aecidium vinnulum* H. S. Jackson & Holway, *Crossopora byrsonimatis* (P. Hennings) R.S. Peterson, *Crossopora notata* Arthur e *Uredo uberabensis* P. Hennings. Essa última teve o hospedeiro erroneamente identificado como *Byrsonima*, quando se tratava do gênero *Caryocar* (Caryocaraceae), tratando-se provavelmente da fase uredínica de *Cerotelium giacomettii* (Dianese et al. 1973). De acordo com Buriticá (1999c), *C. byrsonimatis* diferencia-se de *C. notata* por apresentar soros anamórficos (urédios) com

paráfises largas e grossas e esporos com uniformemente equinulados, enquanto que as paráfises dos soros de *C. notata* seriam curtas e os esporos irregularmente ornamentados, com áreas lisas e outras verrugosas. *Aecidium byrsonimatis* e *A. vinnulum* anteriormente eram diferenciados de *C. byrsonimatis* pelos tipos de soros e esporos. Nas duas espécies de *Aecidium* os soros encontrados eram de espermogônios e écios com eciósporos de parede verrugosa, enquanto que em *C. byrsonimatis* eram conhecidos soros uredínicos com urediniósporos de parede equinulada e télios com teliósporos catenulados. Cummins & Hiratsuka (2003) já citavam que havia a possibilidade de *A. byrsonimatis* ser o estágio ecídico de *Crossopora*, uma vez que esta espécie apresentava espermogônio do tipo 7, característico da família Phakopsoraceae (Cummins & Hiratsuka 2003).

A fase anamórfica ecídica (*Aecidium byrsonimatis*) é relatada em *Byrsonima* sp., em *Byrsonima crassifolia*, em *Byrsonima sericea* e agora em *Byrsonima pachyphylla*. A correlação do anamorfo ecídico com o teleomorfo do fungo em questão era questionada sendo aqui esclarecida por ser encontrada as duas fases correspondentes na mesma espécie hospedeira, *Byrsonima pachyphylla*.

Crossopora byrsonimatis é relatada nas seguintes hospedeiras e locais: *B. affinis* e *B. fagifolia* em Minas Gerais; *B. coccolobifolia* em Minas Gerais e em São Paulo; *B. crassifolia* no Acre e no Pará; *B. densa* no Maranhão e em Minas Gerais; *B. intermedia* no Mato Grosso do Sul, em Minas Gerais e em São Paulo; *B. pachyphylla* no Distrito Federal em Goiás; *B. sericea* no Rio de Janeiro e *Byrsonima* sp. no Amapá, no Amazonas, em Goiás, no Maranhão, no Mato Grosso, em Minas Gerais, no Pará e em São Paulo (Castro 2012, Farr & Rossman 2016; Hennen et al. 2005).

Além do Brasil, a fase ecídica de *C. byrsonimatis* foi encontrada em folhas de *Byrsonima* sp. no México, em *Byrsonima crassifolia* na Guatemala e em *Byrsonima*

crassifolia na Guiana Francesa. *Aecidium byrsonimatis* tem sido reportada também na Venezuela, em Trinidad e na América Central (Hennem et al. 2005; Farr & Rossman 2016).

Crossopora byrsonimatis foi relatada também em *Byrsonima sericea* e *Byrsonima crassifolia* na Bolívia, Costa Rica, Cuba, Guatemala, Honduras, México, Panamá, Porto Rico, Venezuela (Hennen et al., 2005, Farr et al., 2009).

Esta é a primeira vez que a espécie *Crossopora byrsonimatis* infectando *Byrsonima pachyphylla* e *B. coccolobifolia* foi encontrada no Maranhão e no Distrito Federal, respectivamente. *Crossopora byrsonimatis* é também relatada aqui, pela primeira vez, em *Byrsonima verbascifolia*, *Byrsonima laxiflora* e *Byrsonima crassa*, todas no Distrito Federal.

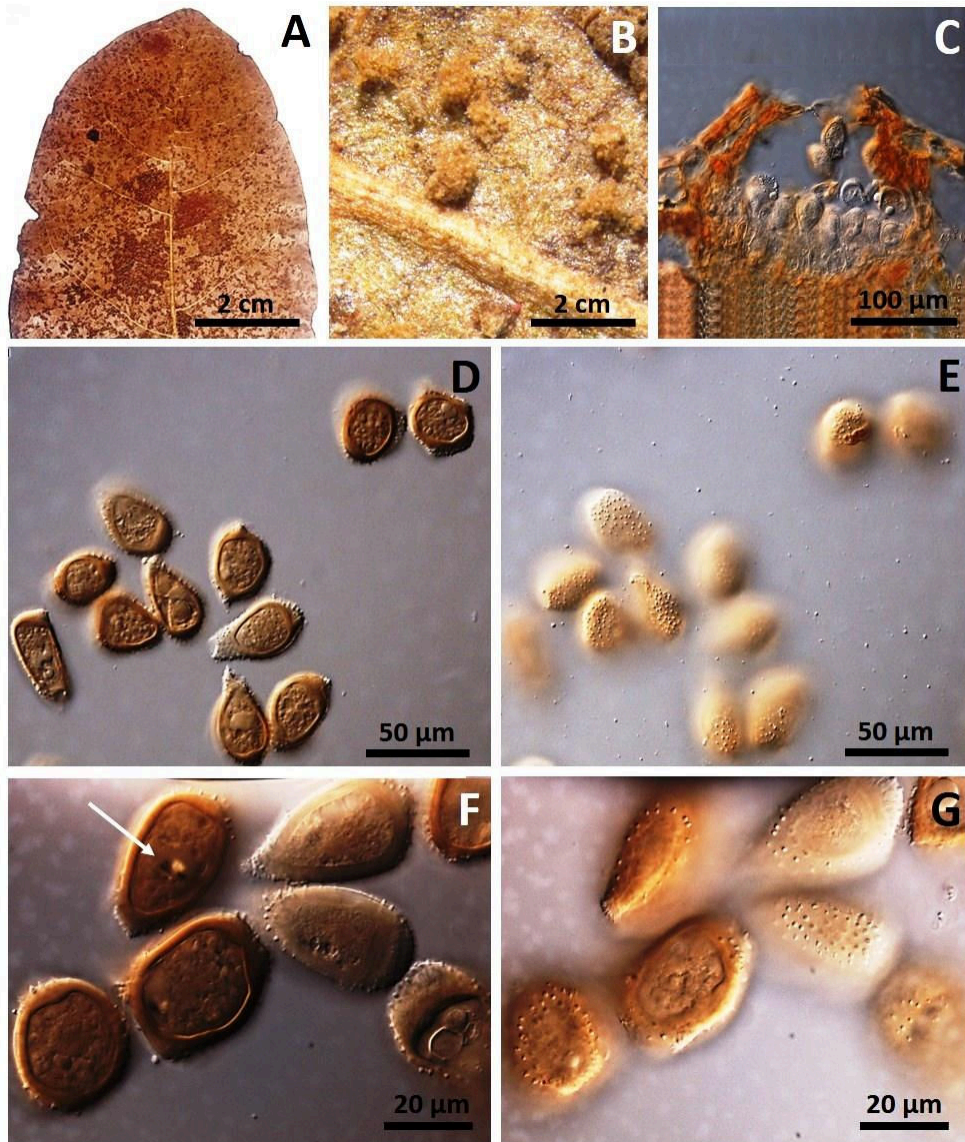


Figura 25 (A–G). Fase uredínica de *Crossopora byrsonimatis* em folhas de *Byrsonima coccolobifolia*. A–B. Sintomas. C. Corte de um uréidio. D–G. Urediniósporos vistos em diferentes aumentos e profundidades de foco.

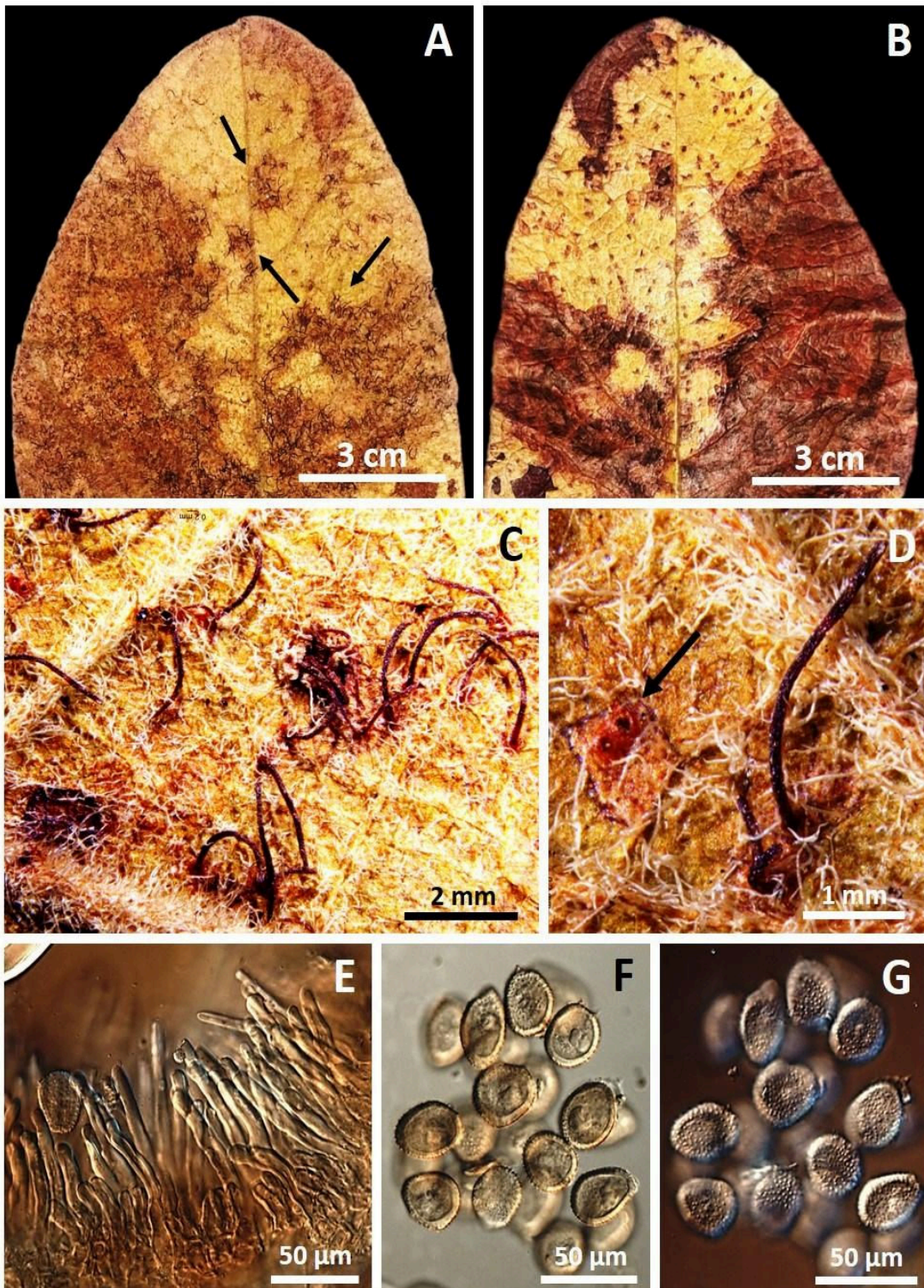


Figura 26 (A–G). *Crossopora byrsonimatis* em folhas de *Byrsonima crassa*. A–B. Sintomas. C–D. Télios colunares. E. Paráfises localizadas na base dos télios colunares. F –G. Urediniósporos vistos em diferentes profundidades de foco.

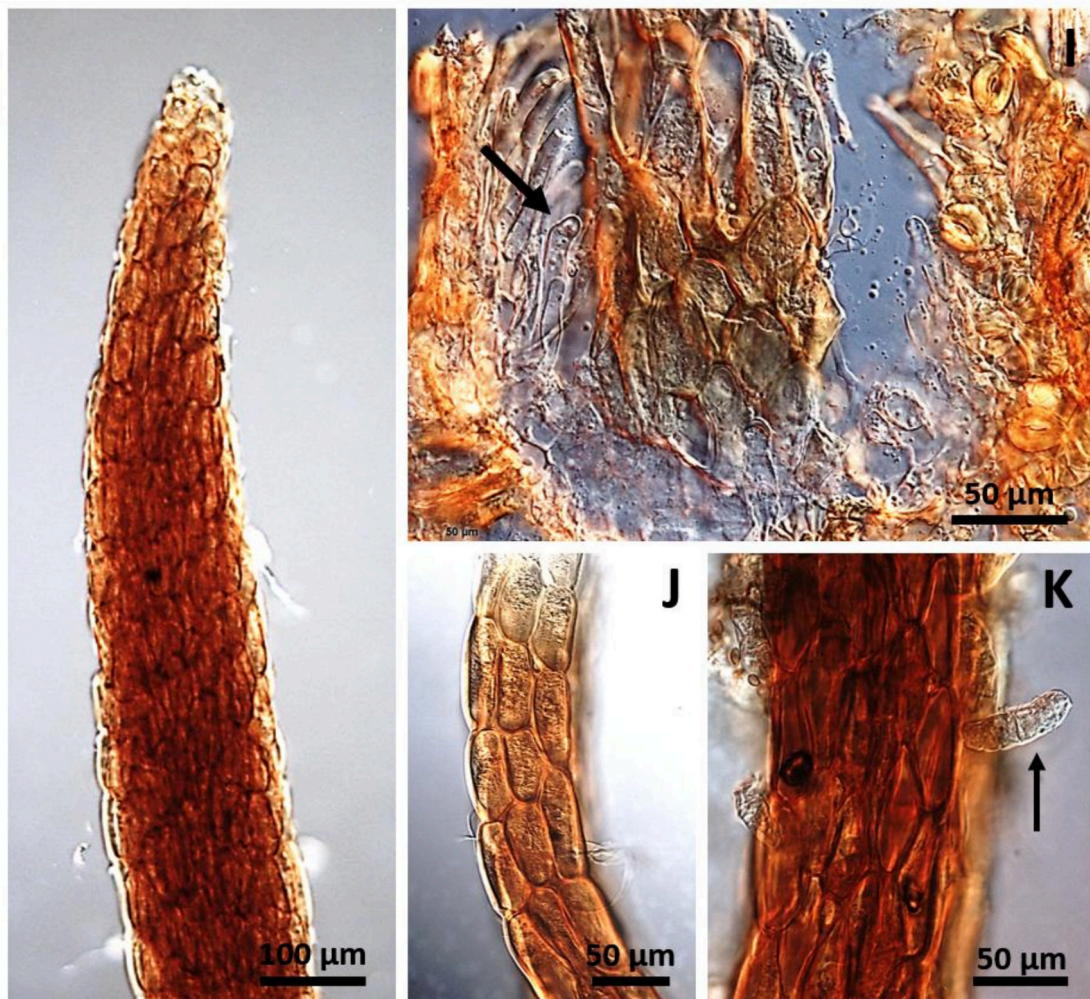


Figura 27 (A–D). *Crossospora byrsonimatis* em folhas de *Byrsonima crassa*. **A.** Télio colunar. **B.** Base de um télio colunar, mostrando posição das paráfises (seta). **C.** Telio colunar com teliósporos unicelulares. **D.** Teliósporo e um metabasídio (seta) ainda sem basidiósporos.

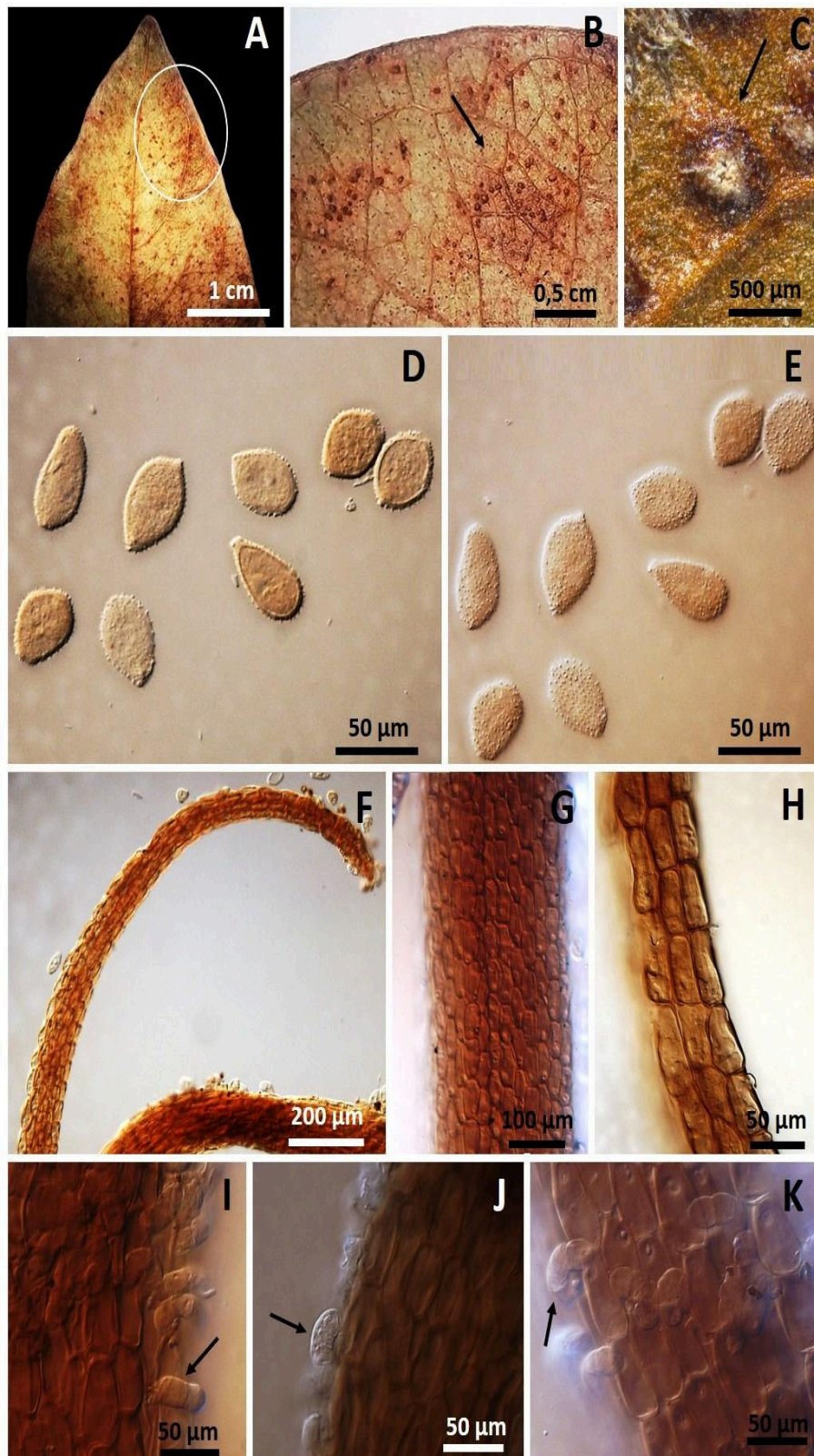


Figura 28 (A–K). *Crossospora byrsonimatis* em folhas de *Byrsonima verbacifolia*. A–B. Sintomas. C. Urédio. D–E. Urediniósporos vistos em diferentes profundidades de foco. F–H. Télios colunares compostos por teliósporos unicelulares. I–K. Germinação de teliósporos em tédio colunar.

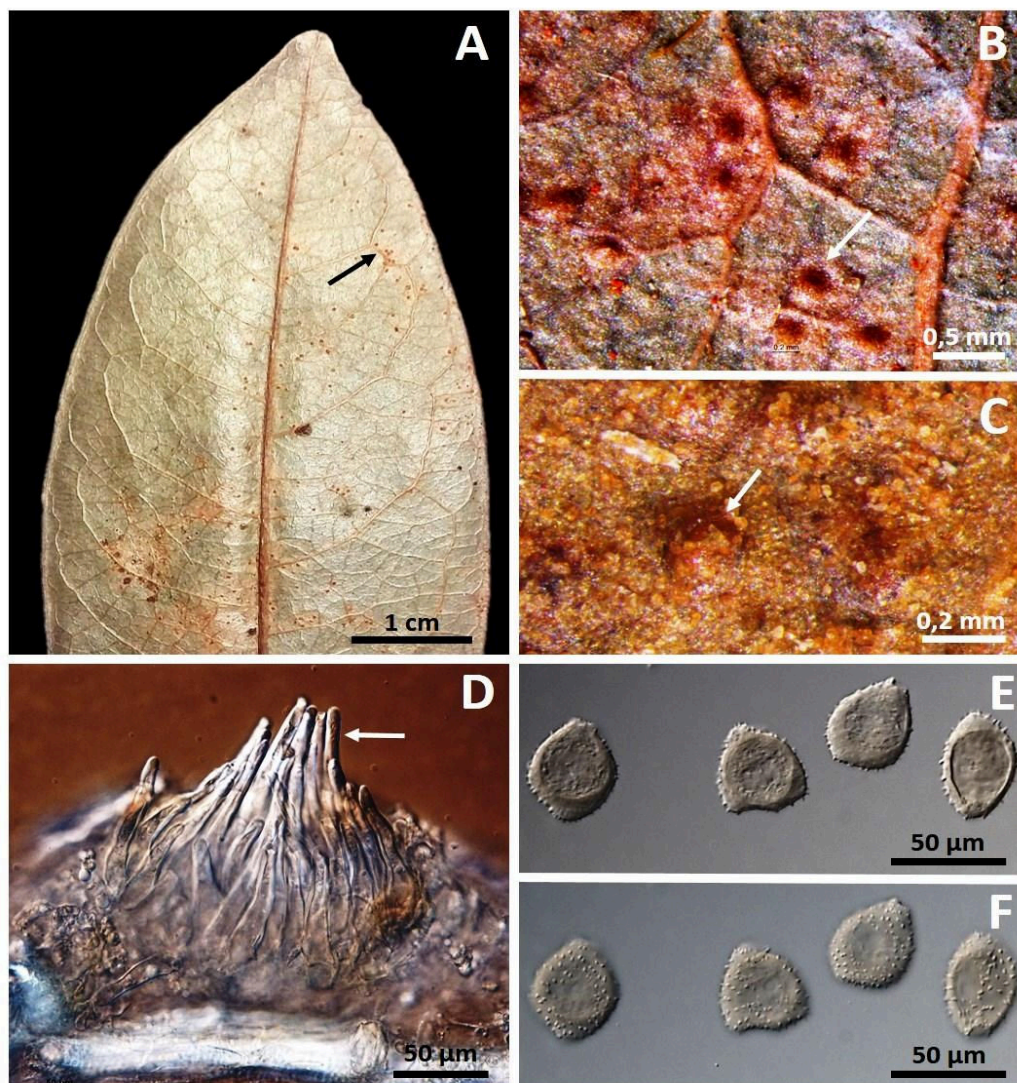


Figura 29 (A–K). *Crossopora byrsonimatis* em folhas de *Byrsonima laxiflora*.
A. Sintomas consistindo de urédios na forma de pontos marrom-avermelhados.
B–C. Urédios. **D.** Urédio coberto de paráfises afiladas. **E–F.** Urediniósporos vistos em diferentes profundidades de foco.

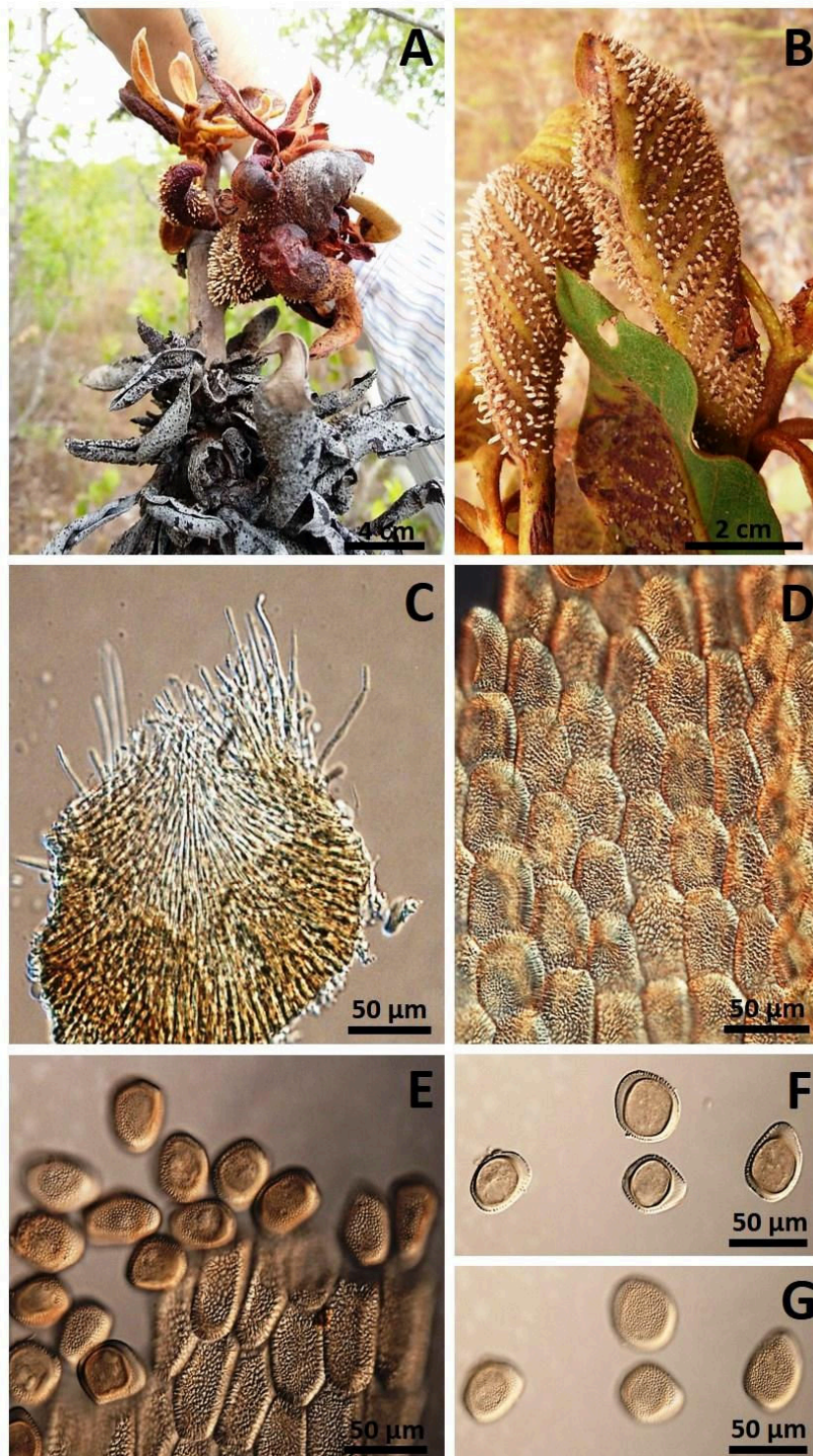


Figura 30 (A–G). *Crossopora byrsonimatis* em brotação jovem de *Byrsonima pachyphylla*. **A.** Sintomas de deformação foliar e envassouramento. **B.** Formação abundante de écios na face abaxial das folhas. **C.** Detalhe de um espermogônio mostrando uma profusão de hifas receptivas. **D.** Textura do perídio de um écio, mostrando a verrugosidade de suas células. **E.** Eciósporos e parte do perídio do écio. **F–G.** Ecióspros visto em diferentes profundidades de foco.

Crossopsora hymenaeae Dianese, Buriticá & Hennen Fig. 30 (A-E)

Espermogônios e *écios* não observados. *Urédios* 0,3–0,7 mm de diâmetro, hipófilos, dispersos a gregários, em manchas castanho-canela, subepidérmicos, irrompentes, abrindo-se em formato de urnas, pulverulentos, parafisados; *paráfises* himeniais, 40–48 x 9–12 (–17) µm, cilíndricas com pontas afiladas, flexuosas, parede fina, ocasionalmente 2–3 µm de espessura no ápice. *Urediniósporos* (26–) 29–33 (–39) x (13–) 16–17 (–20) µm, obovóides ou elipsóides, parede com 1 µm de espessura, porém com 2–4 µm de espessura no ápice, moderadamente equinulados, (2–) 3–4 poros germinativos, supra-equatoriais. *Télios* hipófilos, subepidérmicos, irrompentes, colunares, filiformes, originando-se urédios senescentes, marrom-claro a marrom escuros. *Teliósporos* 26–32 x 7–10 µm, cilíndricos, castanho-canela, unidos apical e lateralmente formando coluna cilíndrica, parede cerca de 1 µm de espessura, com 1 poro germinativo (Dianese et al. 1994, Buriticá et al. 1996).

O material aqui estudado apresentou as mesmas características morfológicas do material tipo (Dianese et al. 1994).

Espécimes examinado: em folhas de *Hymenaea stigonocarpa* Martius (Fabaceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL-UnB) na trilha da cachoeirinha, Brasília-Distrito Federal, 03 set. 2012, leg. E.S.C Souza 120, UB22349; em folhas de *Hymenaea stigonocarpa* Martius (Fabaceae): Campus universitário Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília ao lado da entrada do CESPE, Brasília-Distrito Federal, 20 jun. 2013, leg. E.S.C Souza 171, UB22472.

O espécime-tipo foi encontrada em folhas de *Hymenaea stigonocarpa* Martius (Fabaceae) entre os municípios de Rialma e Rianópolis (Goiás) em 1979. Além de Goiás o fungo causador de ferrugem também foi relatado no Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais.

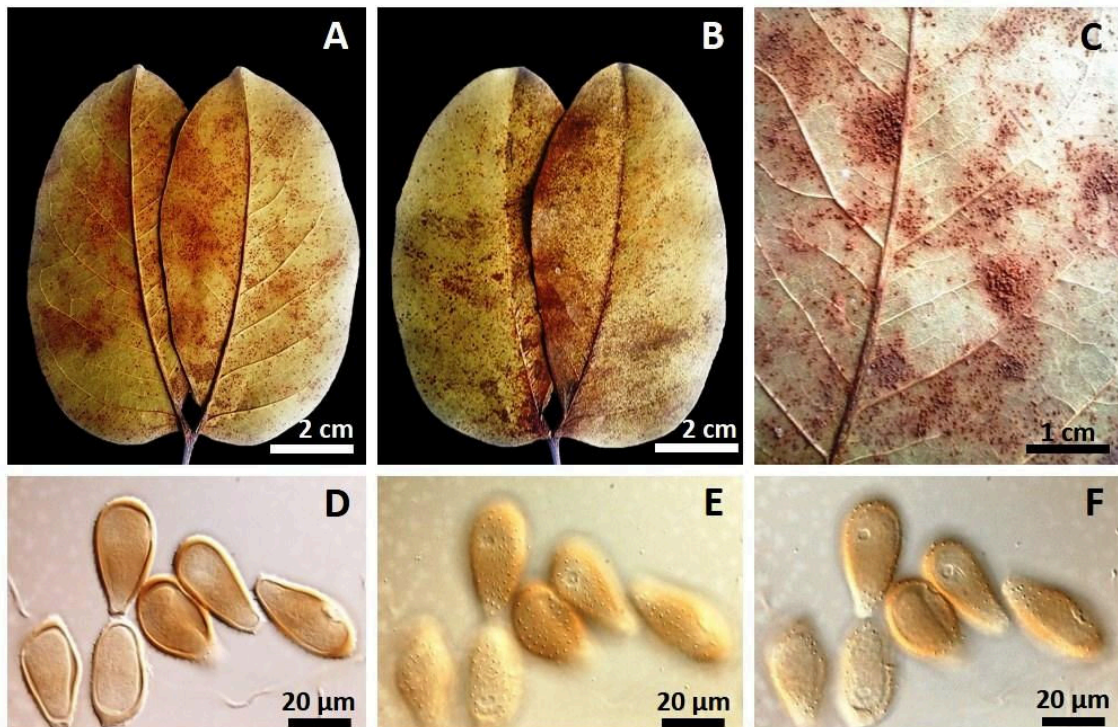


Figura 31 (A–F). Forma uredínica de *Crossopora hymeneae* em folhas de *Hymenaea stigonocarpa*. A–B. Sintomas nas duas faces de uma mesma folha. C. Urédios gregários. D–F. Grupo de urediniósporos vistos em três diferentes profundidades de foco.

Membros da Família Pucciniaceae Chevall

Descrição: *Espermogônios* Grupo VI, Tipo 4. *Écios* do tipo *Aecidium* ou *Caeoma*, com ou sem perídio, eciosporos catenulados, verrugosos; ou do tipo *Uraecium* com perídio e com eciosporos solitários, ou raramente com perídio, mas com esporos catenulados. *Urédios* do tipo *Uredo* com ou sem paráfises, ou do tipo *Uredostilbe* com perídio em paliçada. *Urediniósporos* solitários, frequentemente equinulados, poros germinativos numerosos, conspícuos. *Télios* com ou sem paráfises, mas raramente com perídio em paliçada, ou télios algumas vezes separados em lóculos por paráfises. *Teliósporos* solitários, geralmente pedicelados, com uma ou duas células (raramente mais), com septo transversal, raramente oblíquo, um poro germinativo em cada célula, germinação geralmente por basídios externos, raramente por basídios internos.

Essa família inclui o maior número fungos de causadores de ferrugem da ordem Pucciniales, com cerca de 7000 espécies e 18 gêneros. Os gêneros *Puccinia* e *Uromyces* são os mais comuns, com mais de mais de 3000 e cerca de 600 espécies, respectivamente (Kirk et al. 2008, Cummins & Hiratsuka 2003).

Além dos gêneros *Puccinia* (gênero-tipo) e *Uromyces*, outros gêneros que compõe essa família são: *Cumminsiella*, *Gymnosporangium*, *Chrysella*, *Chrysocyclus*, *Chrysopsora*, *Cleptomyces*, *Corbulopsora*, *Endophyllum*, *Kernia*, *Miyagia*, *Polioma*, *Puccorchidium* e *Sphenorchidium*, *Stereostratum*, *Zaghouania* (Index Fungorum 2016, Mycobank 2016).

Membros desta família podem ser heteroécios ou autoécios e, em conjunto, possuem ampla gama de hospedeiras.

Gênero *Puccinia* Pers. ex Pers (Espécie-tipo: *P. graminis*)

Descrição: *Espermogônios* subepidérmicos, Grupo V, tipo 4. *Écios* subepidérmicos, eruptivos, do tipo *Aecidium* com perídio e eciósporos catenulados e verrugosos ou do tipo *Uraecium* com os eciósporos na maioria das vezes equinulados, solitários e pedicelados. *Urédios* subepidérmicos, eruptivos, sem perídio, com ou sem paráfises, tipo *Uredo* ou as vezes do tipo *Aecidium*. *Urediniósporos* solitários, pedicelados, geralmente equinulados, verrugosos, raramente catenulados, poros germinativos numerosos. *Télios* subepidérmicos, eruptivos na maioria das espécies, inicialmente cobertos pela epiderme e divididos em lóculos por paráfises em muitas espécies. *Teliósporos* tipicamente bicelulares com um septo transversal, em poucas se mostram unicelulares, ou com três a quatro células, solitários, pedicelados, paredes pigmentadas, nunca hialinos, mas com grau de pigmentação amplamente variado, lisos ou ornamentados, um poro germinativo por célula, mas inconspícuos em poucas espécies, os quais germinam por metabasídio externo, com quatro células com esterigmas.

As espécies de *Puccinia* podem heteroécias ou autoécias e acometem tanto famílias monocotiledôneas como dicotiledôneas, por exemplo, membros das Asteraceae, Cyperaceae, Fabaceae, Poaceae, Liliaceae, Malvaceae, entre outras.

Espécies em *Puccinia* causam sérias doenças importantes como a ferrugem do colmo das gramíneas (*P. graminis*), a ferrugem da aveia e cevada (*P. coronata*), ferrugem da cana de açúcar (*P. kuehnii*), a ferrugem do algodoeiro (*P. cacabata*), entre outras.

***Puccinia banisteriae* Henn. Fig. 31 (A-E)**

Descrição: *Espermogônias* e *Écios* não observados. *Urédios* hipófilos, castanho escuros, eruptivos, pulverulentos, dispersos ou gregários, causando lesões cloróticas ou necróticas na face adaxial das folhas. *Urediniósporos* 30–35 × 22–25 µm globosos, parede

espessa, equinulados e marrons. *Télios* semelhantes aos urédios. *Teliósporos* 40–55 × 21–25 µm, elipsoides a cilíndricos, arredondados em ambas as extremidades, ligeiramente constrictos no septo, com superfície reticulada e pedicelados; *pedicelos* hialinos, paredes finas, geralmente rompidos junto ao esporo.

Os traços úteis para a identificação de *P. banisteriae* incluem: teliósporo com paredes reticuladas, pontilhadas, com dois poros germinativos um no ápice da célula superior, e outro na célula inferior junto ao septo, pedicelos decíduos cujo resíduo permanece ligado ao esporo. Os grandes grupos irregulares de télios pulverulentos de coloração escura no lado abaxial das folhas são especialmente óbvios no campo pelo contraste com o cinza prateado na face abaxial das folhas das hospedeiras.

Espécime examinado: em folhas de *Banisteriopsis gardneriana* (Malpighiaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 30 mai. 2012, leg. E.S.C Souza 41, UB22210.

O material tipo de *P. banisteriae* foi encontrado em *Banisteriopsis* sp. no Estado de Goiás em 1892, e também em *B. anisandra* em Goiás e Minas Gerais; em *B. clauseniana* em Goiás e São Paulo; em *B. gardneriana* em Goiás; em *B. nummifera* em São Paulo; em *Banisteriopsis* sp., em Goiás e Minas Gerais. Este é o primeiro relato de *P. banisteriae*, em *Banisteriopsis gardneriana* para o Distrito Federal e a primeira vez que a fase uredínica é descrita e ilustrada para esta espécie.

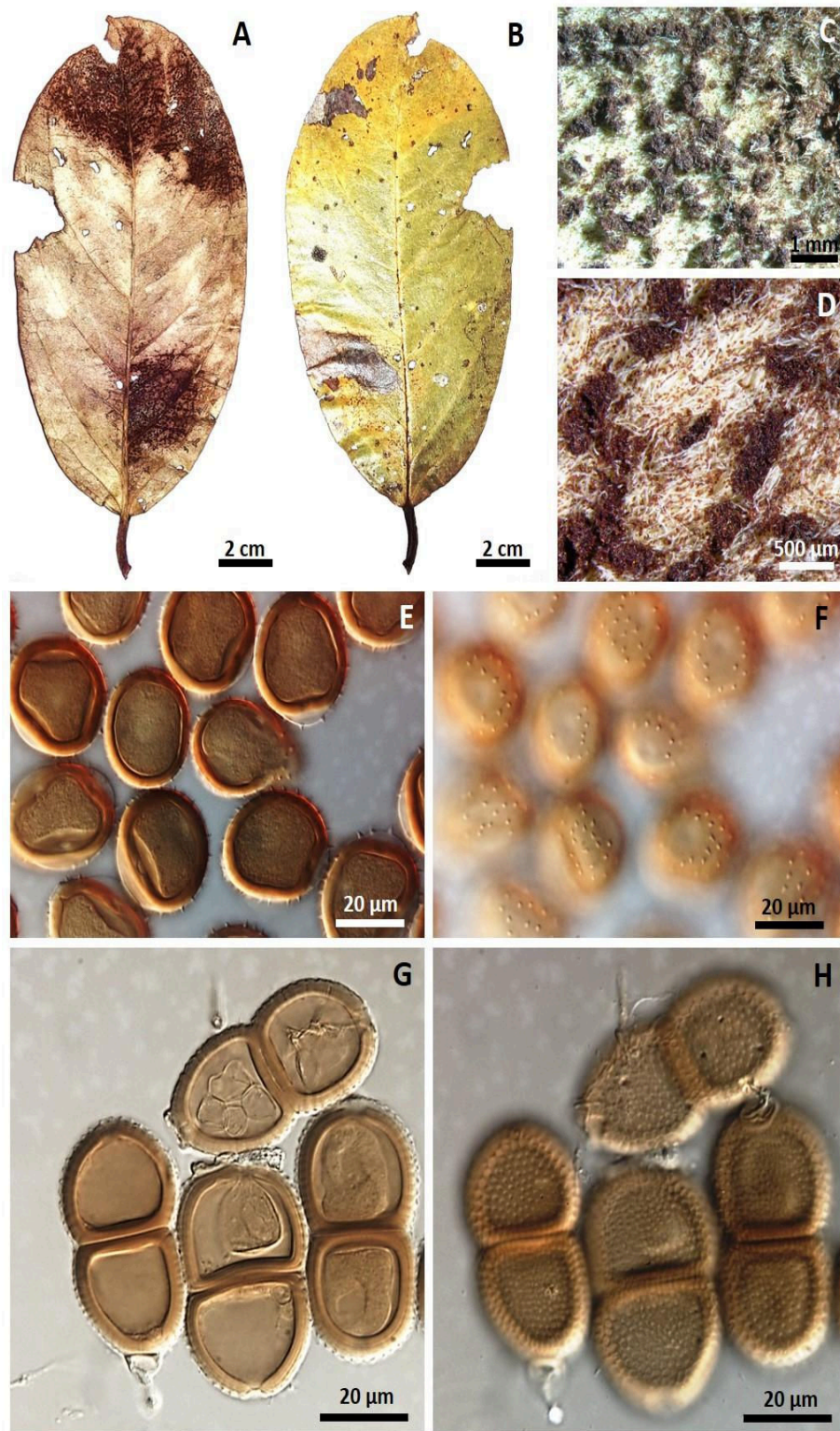


Figura 32 (A–H). *Puccinia banisteriae* em folhas de *Banisteriopsis gardneriana*. **A.** Sintoma na folha, áreas hipófilas contendo esporulação marrom. **B.** Áreas necrosadas na face adaxial. **C–D.** Soros (urédios e télíos) hipófilos. **E–F.** Urediniósporos vistos em duas profundidades de foco. **G–H.** Teliósporos visto em duas profundidades de foco.

Puccinia barbatula Arthur & J. R. Johnston. Fig. 32 (A-G)

Descrição: *Espermogônios* hipófilos, em pequenos grupos, tons acastanhados a marrom-claros, 1–3 mm de diâmetro. *Écios* circundando os espermogônios, 0,2–0,8 mm de diâmetro, profundos, eruptivos, parcialmente recobertos por tecido epidérmico, pulverulentos, castanho-canela escuros. *Eciósporos* pedicelados, $39\text{--}45 \times 25\text{--}32 \mu\text{m}$, amplamente elipsoides ou obovóides, com parede de 2–2,5 μm de espessura, equinulados, com 2 poros germinativos equatoriais. *Urédios* hipófilos, subepidérmicos, eruptivos, pulverulentos, castanho escuros, paráfises. *Paráfises* $40\text{--}65 \times 3\text{--}5 \mu\text{m}$, cilíndricas com a ponta arredondada, hialinas. *Urediniósporos* $35\text{--}45 \times 24\text{--}33 \mu\text{m}$, amplamente obovóides ou elipsoides, equinulados e pedicelados. *Télios* hipófilos, sobre áreas de cor mais ou menos clara, geralmente aglomerados em torno dos urédios ou écios, esbranquiçados ou marrons pálidos, geralmente longos. *Teliósporos* $40\text{--}55 \times 18\text{--}28 \mu\text{m}$, oblongos-clavados a elipsoides, arredondados na extremidade apical ou ligeiramente estreitado na porção basal, constrictos no septo, lisos, incolores a subhialinos, pedicelados; *pedicelos* longos $40\text{--}60 \times 13\text{--}18 \mu\text{m}$.

Características relevantes para a identificação de *Puccinia barbatula* incluem: écios e eciósporos e urédios e urediniósporos grandes e castanhos, fortemente equinulados, com dois poros germinativos equatoriais e teliósporos com paredes incolores a ligeiramente pigmentados e lisas. Na descrição original para a espécie não consta a presença de paráfises himeniais nos urédios, ao contrário do que foi observado aqui.

Apesar de não terem sido observados écios e eciósporos, outras características que permitiram a identificação do espécime aqui estudado foram as dimensões, formatos e textura da parede dos urediniósporos e teliósporos e pedicelos característicos (consideravelmente mais longos), semelhantes aos encontrados na descrição do material tipo da espécie. Além disso, o espécime foi encontrado infectando a mesma hospedeira já relatada para a espécie e,

de acordo com a chave de identificação disponível em Hennen et al. (2005) para espécies de *Puccinia* em membros de Malpighiaceae, o espécime se enquadrou em *Puccinia barbatula* por ser a única espécie com teliosporos lisos, pouco pigmentados. A maioria das espécies descritas em membros de Malpighiaceae possuem teliosporos reticulados e algumas verrugosos.

Espécimes examinados: em folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* (Malpighiaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 20 set. 2012, leg. E.S.C Souza 149, UB22390; em folhas de *Heteropterys byrsonimifolia* (Malpighiaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 20 set. 2012, leg. E.S.C Souza 157, UB22400.

O material tipo foi encontrado em folhas de *Heteropterys laurifolia* (reportado originalmente em *Banisteria laurifolia*) em Cuba (Arthur & J. R. Johnston (1916)). A espécie foi também encontrada em outras hospedeiras em Malpighiaceae como *Diplopterys* sp. no Distrito Federal; *H. byrsonimifolia* em Minas Gerais e São Paulo; *H. coriacea* no Distrito Federal; *H. escalloniifolia* na Bahia e *Heteropterys* sp. em Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo. Além disso, a espécie ocorre em Belize, Cuba e México (Hennen et al. 2005).



Figura 33 (A—G). *Puccinia barbatula* em folhas de *Heteropterys byrsonimifolia*. **A.** urédios irrompentes, pulverulentos e marrons claros. **B.** Paráfises himeniais hialinas dos urédios e alguns urediniósporos em formação. **C.** Massa de urediniósporos marrons. **D—E.** Urediniósporos obovoides marrons, equinulados. **F-G.** Teliósporos pedicelados, oblongo-elipsoides, subhialinos.

Puccinia pipta A.A. Carvalho & J. F. Hennen. Fig. 33 (A-G) Fig. 34 (A-H)

Descrição: *Écios* 250–350µm, hipófilos, amarelos claros a esbranquiçados, colunares, pequenos, pulverulentos. *Eciósporos* 18 – 20 µm × 16 µm, circulares a ovóides, hialinas, equinuladas. *Uredios* 100 – 300 µm hipófilos, subepidérmicos, eruptivos, pulverulentos, marrons. *Urediniósporos* 33 – 35 × 30 µm, globoides, marrons, equinulados, um poro germinativo na porção central. *Télios* numerosos, epífilos em *Piptocarpha rotundifolia* e hipófilos em *Piptocarpha macropoda*, dispersos amplamente na superfície da folha, marrons a negros, de diâmetro pequeno (250 µm, em média), sem paráfises himeniais ou periféricas, pulverulentos. *Teliósporos* 37 – 42 × 23 – 27 µm (em *Piptocarpha macropoda*) e 36 – 45 × 33 – 35 µm (em *Piptocarpha rotundifolia*), bicelulares, ligeiramente constrictos no septo, elípticos a subgloboides, marrons, reticulados e pedicelados: *pedicelos* não persistentes, deixando fragmento remanescente preso aos teliósporos, hialinos. Poro germinativo no ápice da célula apical.

Espécimes examinados: em folhas de *Piptocarpha macropoda* (Asteraceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL-UnB), Brasília-Distrito Federal, 27 jul. 2012, leg. H.M.M Vale 178, UB22327; em folhas de *Piptocarpha rotundifolia* (Asteraceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL-UnB), Brasília-Distrito Federal, 27 jul. 2012, leg. E.S.C Souza 100, UB22328; em folhas de *Piptocarpha rotundifolia* (Asteraceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 20 set. 2012, leg. E.S.C Souza 152, UB22395.

Puccinia pipta foi descrita recentemente por Carvalho Jr & Hennen (2011) em folhas de *Piptocarpha sellowii* e sobre *P. rotundifolia* descreveram: *P. manuelensis* A.A. Carvalho & J. F. Hennen e *P. calida* A.A. Carvalho & J.F. Hennen. As duas últimas, possuem teliósporos faveolados, porém *P. manuelensis* possui urediniósporos equinulados, e não

mostra constrição no septo dos teliósporos, enquanto que *P. calida* possui urediniósporos verrugosos e *P. pipta* urediniósporos equinulados, teliósporos faveolados e constrictos no septo, além do mais se trata de uma espécie microcíclica.

Os espécimes aqui estudados, foram identificados como *P. pipta* por serem também autoécios e morfológicamente idênticos a ela, afetando *P. rotundifolia* e, pela primeira vez observada em *P. macropoda*.

O holótipo de *P. pipta* apresenta télios epífilos, paráfises himeniais clavadas, amarelas pálidas a hialinas, geralmente grossas e espessas no ápice, com $40 - 60 \times 5 - 7(-10)$ μm de tamanho e paredes com $0,5 \mu\text{m}$ de espessura, em média, entretanto nos materiais ora estudados as paráfises não foram encontradas. Castro (2012) também estudou um espécime de *Puccinia* sobre folhas de *P. rotundifolia* que apresentou características semelhantes e ausência de paráfises, assim como os espécimes aqui analisados. Castro (2012) observou em *P. pipta* écios amarelo-amarronzados, cupulados, com eciosporos $26 - 37 \mu\text{m} \times 19 - 22 \mu\text{m}$, elipsoides, ligeiramente amarelados e verrugosos.

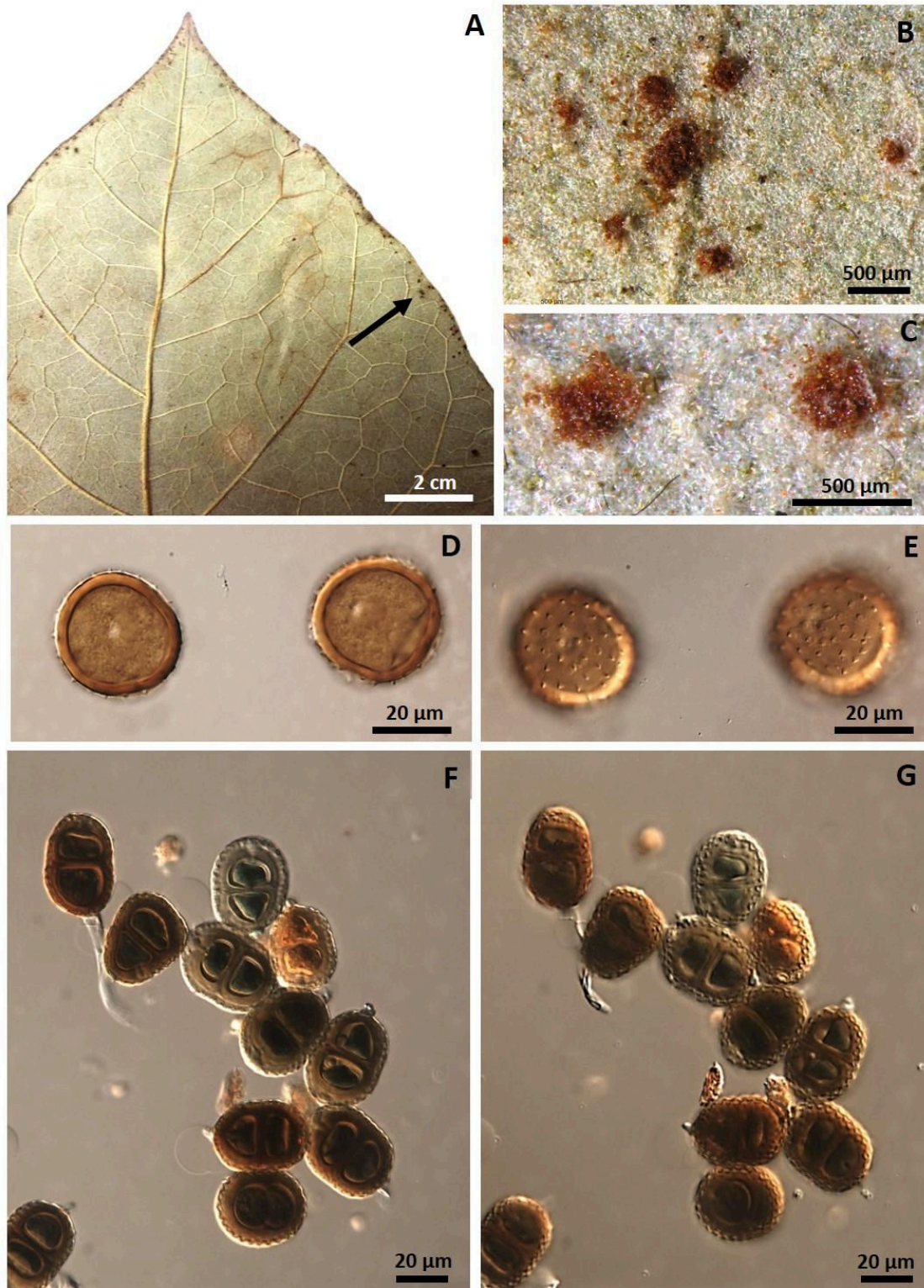


Figura 34 (A–G). *Puccinia pipta* em folhas de *Piptocarpha macropoda*. A. Folha com pontos escuros nas bordas em sua face **abaxial contendo **urédios** e **télios**. **B–C. Urédios**. **D–E. Urediniósporos** vistos em **duas** profundidades de foco, uma delas mostrando poros gerinativos. **F–G. Teliósporos** em duas profundidades de foco.**

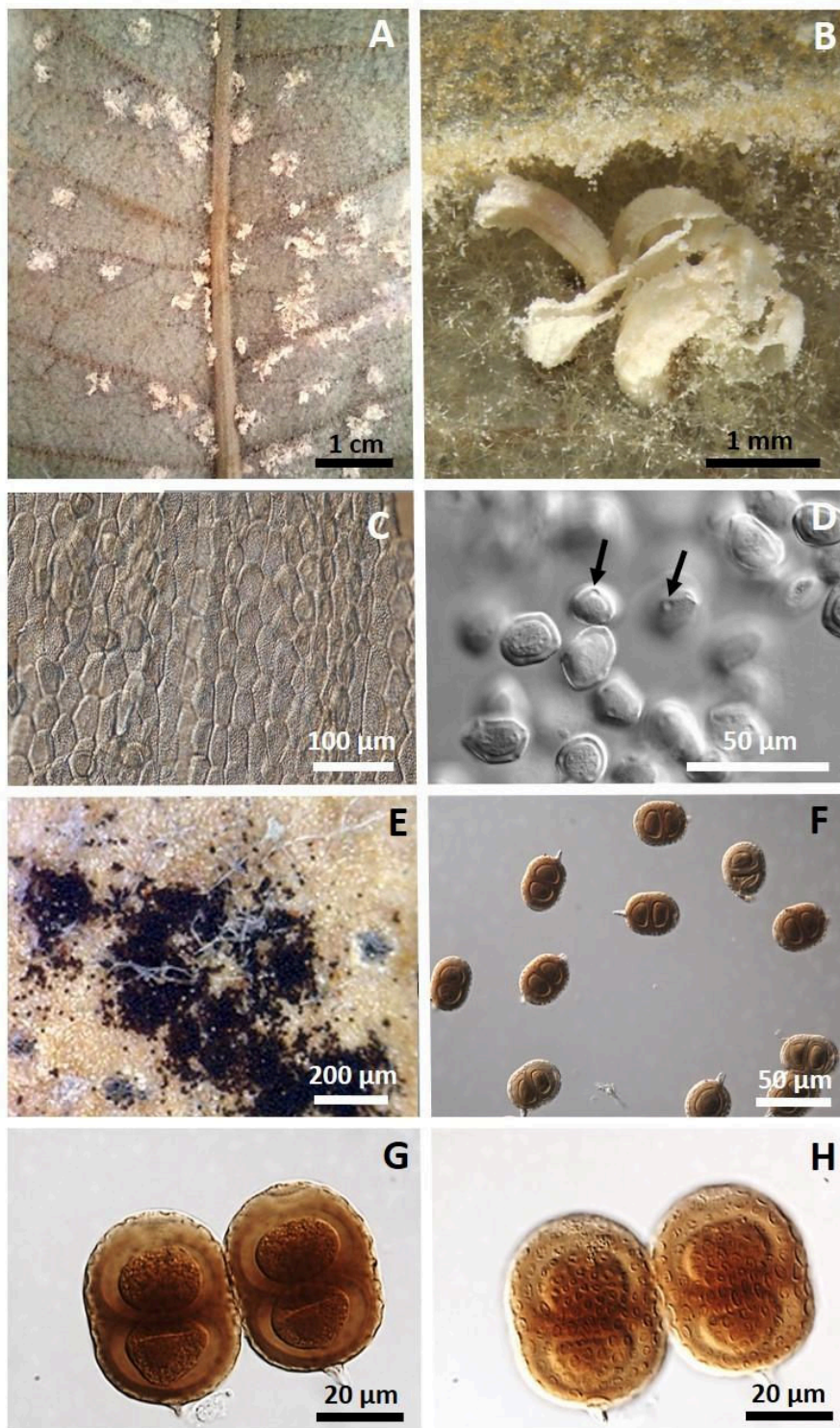


Figura 35 (A–H). *Puccinia pipta* em folhas de *Piptocarpha rotundifolia*. **A.** Écios esbranquiçados na face abaxial da folha. **B.** Detalhe de um écio rompido. **C.** Textura do perídio do écio. **D.** Eciósporos com parede espessa e presença de poros germinativos (setas). **E.** Massa de teliósporos sobre um grupo de soros, na superfície adaxial da folha. **F–H.** Teliósporos.

Descrição: *EspERMogônios*, *Écios* e *Urédios* não observados. *Télios* 150–200 µm, hipófilos, pulverulentos, marrons, marrom-escuros a negros, gregários dispostos em anéis concêntricos na lesão, parafisados; *paráfises* clavadas e hialinas. *Teliósporos*, 20–26 × 15–18 µm, unicelulares ou bicelulares, globosos, elipsoides ou oblongos, ligeiramente constrictos no septo, castanhos, lisos, pedicelados; *pedicelos* longos, hialinos e persistentes.

Espécime examinado: em folhas de *Serjania lethalis* (Sapindaceae): Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR-IBGE), Brasília-Distrito Federal, 06 jun. 2012, leg. J.C. Castro 436, UB22227.

Puccinia arechavaletae foi relatada na Argentina e no Texas em pelo menos seis gêneros de Sapindaceae. O material tipo foi encontrado em *Cardiospermum velutinum* no Paraguai (Spegazzini 1881).

Uma comparação da morfologia telial de *P. arechavaletae*, *P. heterospora* Berk. & M.A. Curtis, que parasita gêneros em Malvaceae e *P. lantanae* Farl, nas famílias Acanthaceae e Verbenaceae, revela que estas três espécies microcíclicas são notavelmente semelhantes. As três não mostram espermogônios, écios e tampouco urédios. Os télios são hipófilos, dispersos ou, em geral, em grupos concêntricos, castanho escuros. Os teliósporos são principalmente unicelulares, todos muito variáveis quanto à forma e tamanho. O espécime aqui estudado apresentou características morfológicas semelhantes ao holótipo, embora com teliósporos um pouco menores. Aparentemente, o que separa as espécies descritas acima é a planta hospedeira. Trata-se de um caso típico em que se faz necessário o uso de ferramentas moleculares incluindo-se sequências dos outros materiais, pois até o presente, somente o espécime aqui descrito teve sua sequência do segmento 28S incorporada ao GenBank.

Segundo (Hennen et al. 2005), *P. arechavaletae* já foi relatada no Brasil, em várias Sapindaceae como: *Cardiospermum grandiflorum* no Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo; *C. halicacabum* em Minas Gerais, Santa Catarina e São Paulo; *Cardiospermum* sp. na Paraíba

e em São Paulo; *Paullinia* sp., no Pará, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro e São Paulo; *Serjania communis* em Santa Catarina; *S. cuspidata* no Rio de Janeiro; *S. fuscifolia* na Bahia e Rio de Janeiro; *S. glabrata* na Paraíba; *S. mansiana* em Minas Gerais; *S. perulaceae* no Mato Grosso; *Serjania* sp. na Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraíba, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo; *Thouinia* sp., Rio de Janeiro; *Urvillea* sp., São Paulo; Sapindaceae indeterminada no Ceará, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Além disso, há relatos de *P. arechavaletae* na Colômbia, Venezuela, México, Panamá, República Dominicana, Costa Rica e Peru (Farr & Rossman 2016).

No entanto, pela primeira vez *P. arechavaletae* foi encontrada parasitando *Serjania lethalis*.

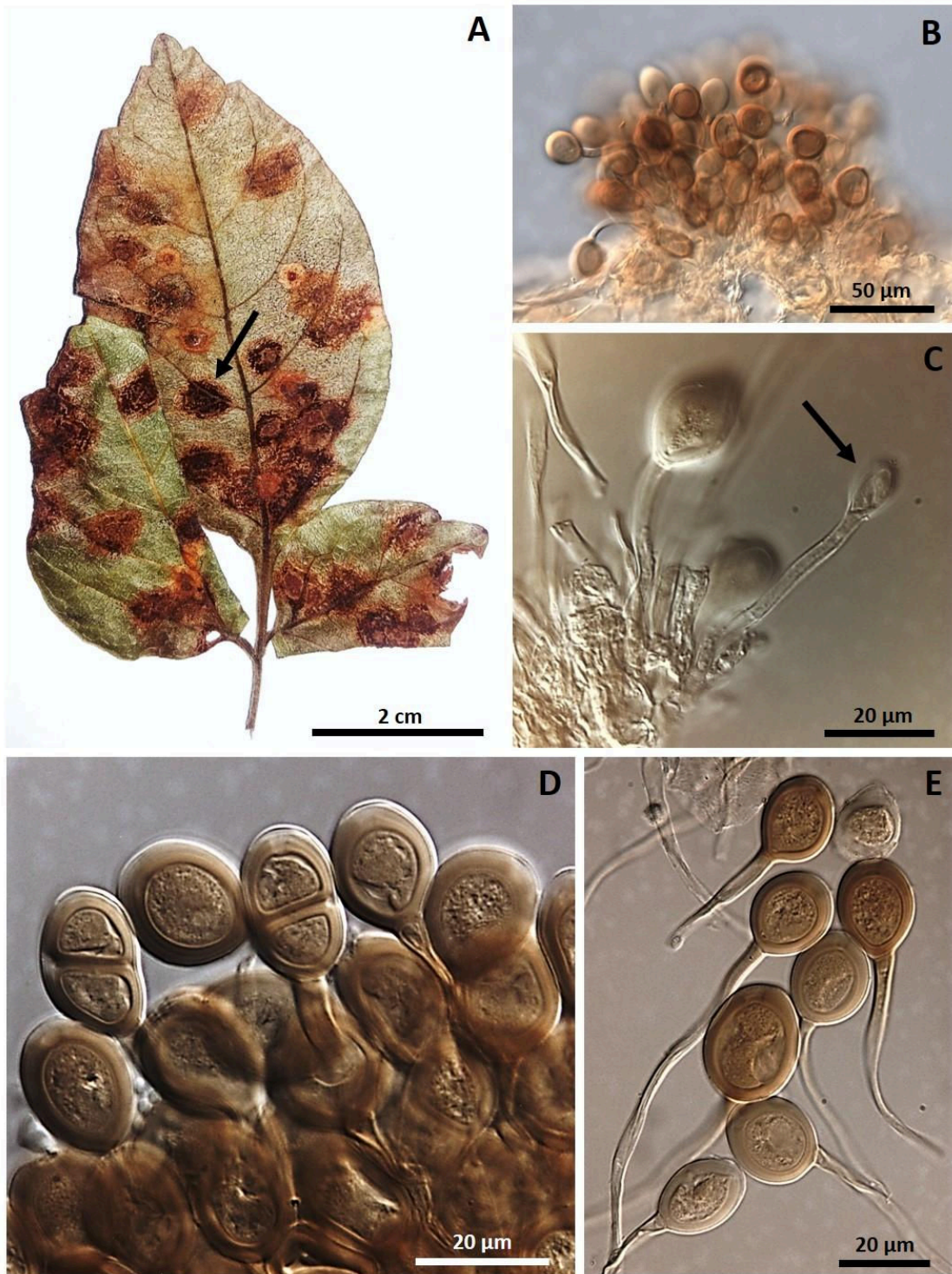


Figura 36 (A–E). *Puccinia arechavaletae* em folhas de *Serjania lethalis*. **A.** Sintoma de ferrugem na face abaxial de folha da hospedeira. **B–E.** Teliósporos unicelulares e bicelulares, vistos em diferentes aumentos e profundidades de foco.

Puccinia psidii Winter. Fig. 36 (A-F)

Descrição: *Espormogônios* e *Écios* não observados. *Soros* mistos contendo urediniósporos e teliósporos, hipófilos, subepidérmicos, gregários, numerosos, eruptivos, pulverulentos, amarelos. *Urediniósporos*, 18 – 30 × 13–15 µm, predominantemente elipsoides, amarelados, equinulados, poros germinativos obscuros. *Teliósporos* 41– 52 × 21 – 23 µm, bicelulares, ligeiramente constrictos no septo, elípticos a cilíndricos, castanho=amarelados a castanhos, lisos e pedicelados. Um poro germinativo em cada célula disposto no ápice da célula apical e lateralmente próximo ao septo, na célula basal. *Metabasídios*, 45– 62 × 6 – 8 µm, cilíndricos, hialinos, com 3 septos e um esterigma por célula. *Basidiósporos*, 6 – 8 µm, esféricos, hialinos.

Espécimes examinados: em folhas de *Syzygium jambos* (Myrtaceae): Campus Darcy Ribeiro da Universidade de Brasília, próximo a entrada do ICC Sul, Brasília-Distrito Federal, 25 jun. 2012, leg. E.S.C. Souza 67, UB22272; em folhas de *Myrcia linearifolia* (Myrtaceae): Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR-IBGE), Nascente do Roncador, Brasília-Distrito Federal, 04 set. 2012, leg. E.S.C. Souza 131, UB22366; em folhas de *Psidium guajava* (Myrtaceae): Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (RECOR-IBGE) próximo ao restaurante, Brasília-Distrito Federal, 04 set. 2012, leg. E.S.C. Souza 131, UB22366; em folhas de *Syzygium cumini* (Myrtaceae): Segunda Avenida, Bloco 801, casa 01, Núcleo Bandeirante-Distrito Federal, 05 mai. 2013, leg. E.S.C. Souza 167, UB22462; em folhas de *Syzygium malaccense* (Myrtaceae): Super Quadra Norte 312 entre os Blocos D e K, Brasília-Distrito Federal, 04 mai. 2013, leg. M. Sanchez 4667, UB22460; em folhas de *Callistemon rigidus* (Myrtaceae): Canteiro próximo ao estacionamento do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, 18 fev. 2013, leg. E.S.C. Souza 162, UB22424; em folhas de *Eugenia florida* (Myrtaceae):

Fazenda Barrinha, Divinópolis, Minas Gerais, 05 mai. 2013, leg. J.C. Dianese, UB23336; em folhas de *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae): Fazenda Campo Largo, Santo Antônio do Descoberto, 11 ago. 2013, leg. J.C. Castro, UB2.2537; em folhas de *Eucalyptus ficifolia* (Myrtaceae): NOVACAP Viveiro 2, Asa Norte, Brasília-Distrito Federal, 24 mar. 2014, leg. C.A Souza 01, UB22876; em folhas de *Eucalyptus* sp. (Myrtaceae): Condomínio Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 03 mai. 2014, leg. R.F. Borges 03, UB22878; em folhas de *Eucalyptus ficifolia* (Myrtaceae): NOVACAP Viveiro 2, Asa Norte, Brasília-Distrito Federal, 24 mar. 2014, leg. C.A Souza 01, UB22876; em folhas de *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae): Super Quadra Norte 616 em frente à Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 09 set. 2014, leg. J.C. Castro 551, UB23211.

O material tipo da espécie *P. psidii* foi descrita originalmente causando ferrugem em *Psidium guajava*, em Santa Catarina (Winter 1884). Além disso, infecta outras espécies nativas da região do Cerrado como: *Eugenia dysenterica*, *E. florida*, *Campomanesia adamantium*, *Maliera* sp., *Plinia cauliflora*, entre outras. Na goiabeira (*Psidium guajava*), causa grande prejuízo por infectar preferencialmente os frutos e folhas jovens. Das hospedeiras nativas *P. psidii* passou a infectar com grande intensidade espécies introduzidas no Brasil do continente indiano (jamelão - *Syzygium cumini*, o jambeiro rosa - *S. jambos*, jambo vermelho - *S. malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry) e da Oceania (eucalipto - *Eucalyptus* spp., *Melaleuca* spp. e *Callistemon rigidus*). A ferrugem do eucalipto, conhecida no Brasil através de Ferreira (1983), foi divulgada internacionalmente a partir de 1984 (Dianese et al. 1984), o que levou a quarentena australiana a publicar um folheto (Commonwealth Department of Primary Industry 1985), no qual se circulou pela primeira vez naquele país, fotos dos sintomas da doença em eucalipto fornecidas por J.C. Dianese (comunicação pessoal). Somente quase uma década e meia depois que Coutinho et al. (1998)

voltaram a expor ao mundo a ferrugem do eucalipto. A epidemiologia dessa ferrugem em Jambeiro foi detalhadamente estudada por Tessman et al. (2001).

Assim, a Austrália, onde a flora é predominantemente de espécies da família Myrtaceae, àquela época já revelava preocupação com a invasão por *P. psidii*. Porém, antes de chegar à Austrália, o patógeno percorreu amplas áreas envolvendo quatro continentes, América, Ásia, Oceania e posteriormente a África, China, Nova Caledônia e Indonésia. Descoberta no Brasil, *P. psidii*, atingiu vários países da América Sul e Central, os Estados Unidos (Marlatt & Kimbrough, 1979), a maioria das ilhas havaianas (Uchida et al., 2006), Japão (Kawanishi et al., 2009), Austrália (Carnegie et al., 2010), China (Zhuang & Wei, 2011), África do Sul (Roux et al., 2013), Nova Caledônia e Indonésia (Buys et al. 2016). A invasão da Austrália já completou seis anos (Carnegie et al., 2010) e é hoje uma realidade candente (Carnegie et al. 2016). Antes do estabelecimento do fungo na Austrália o número de hospedeiras já era amplo, contando com espécies de *Callistemon*, *Eucalyptus* e *Melaleuca* da Austrália, de *Syzygium* da Índia, e de *Campomanesia*, *Eugenia*, *Marliera*, *Myrcia*, *Phyllocalyx*, *Pimenta*, *Pseudomyrcianthes*, e *Psidium* do continente americano (Farr & Rossman 2016, Hennen et al. 2005). Porém, gama de hospedeiros de *P. psidii* expandiu-se exponencialmente desde a sua introdução na Austrália, infectando 250 espécies membros da família Myrtaceae distribuídos em 56 gêneros (Carnegie, 2015; Machado et al., 2015b). Cabe destaque para a ocorrência de morte de *Rhodamnia rubescens* e de *Rhodomyrtus psidioides* em áreas de floresta nativa da Austrália (Carnegie et al. 2016).

Aqui é relatada de forma inédita a ocorrência no Distrito Federal de *P. psidii* em *Callistemon rigidus*, *Corymbia ficifolia*, *Myrcia linearifolia*, *S. malaccense*; *Syzygium aromaticum* em Goiás e *Eugenia florida* em Minas Gerais.

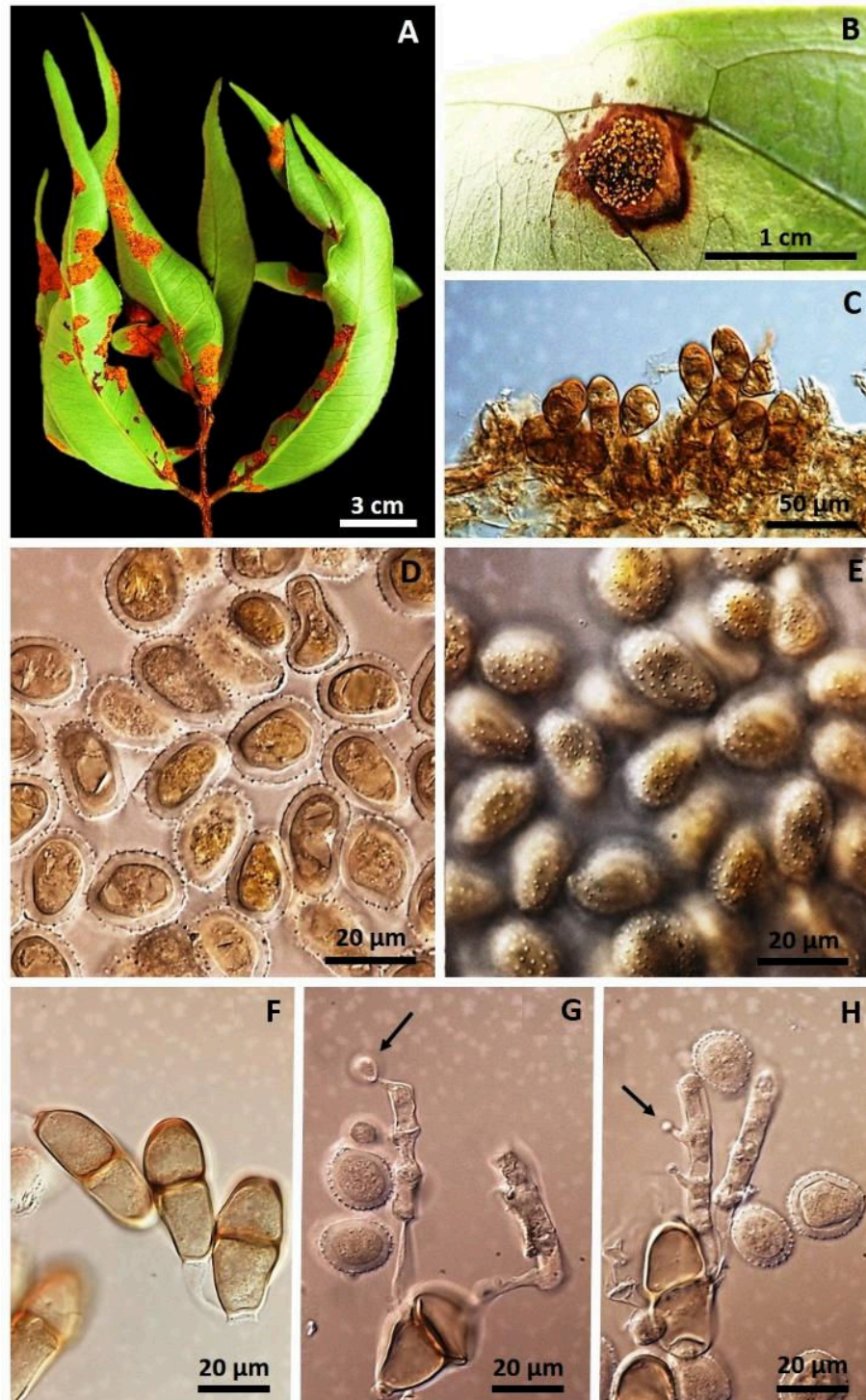


Figura 37 (A–F). *Puccinia psidii* em folhas de *Syzygium cumini*.
A–B. Sintomas de queima de folha. **C.** Télió. **D–E.** Urediniósporos vistos em duas profundidades de foco distintas. **F.** Teliósporos na superfície da folha. **G–H.** Teliósporos terminados com promicélios septados e com esterigmas suportando basidiósporos.

Gênero *Uromyces* (Link) Unger

Descrição: *Espermogônios* subepidérmicos, Grupo V (tipo 4). *Écios* subepidérmicos, irrompentes, do tipo *Aecidium* com perídio e eciósporos catenulados e verrugosos ou do tipo *Uredo* com os eciósporos na maioria das vezes equinulados, solitários e pedicelados. *Urédios* subepidérmicos, irrompentes, sem perídio, tipo *Uredo* ou as vezes do tipo *Aecidium*. *Urediniósporos* solitários, pedicelados, geralmente equinulados, poros germinativos numerosos e evidentes, *Télios* subepidérmicos, irrompentes na maioria das espécies, mas permanecendo coberto pela epiderme. *Teliósporos* unicelulares, solitários, pedicelados, paredes pigmentadas, um poro germinativo por célula, mas não diferenciado em poucas espécies. Basídio externo (Cummins & Hiratsuka 2003).

Uromyces é o segundo gênero com o maior número de espécies da ordem Pucciniales, com mais de 600 espécies reportadas, ficando atrás, em número, apenas para *Puccinia*.

As espécies parasitam monocotiledôneas e dicotiledôneas por todo o mundo representadas nas famílias Asteraceae, Poaceae, Liliaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, entre outras (Cummins & Hiratsuka 2003).

Uromyces se difere de *Puccinia* apenas com relação aos teliósporos. *Puccinia* possui teliósporos bicelulares e em algumas espécies unicelulares, enquanto que *Uromyces* apresenta teliósporos restritamente unicelulares. Alguns pesquisadores (Hennen et al. 2005) consideram esses dois gêneros como sinônimos e, atualmente existem trabalhos envolvendo análise molecular afim de esclarecer essa evidência (Van der Merve et al. 2007, Van der Merve et al. 2008).

O gênero possui espécies economicamente importantes que causam severas doenças como a ferrugem do feijão (*U. appendiculatus* (Pers.) Link 1816), da ervilha (*U. pisi* (Pers.) de Bary) e da beterraba (*U. betae* (Pers.) J. Kickx) (Cummins & Hyratsuka 2003).

Espécies de *Uromyces* encontradas no Cerrado

Duas espécies de *Uromyces* foram encontradas infectando plantas no Cerrado: *Uromyces hawkworthii* E.S.C. Souza, Z.M. Chaves, W.R.O. Soares, D.B. Pinho & Dianese em uma lorantácea nativa, *Phthirusa stelis*; e *U. euphorbiae* Cooke & Peck em folhas de *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae), planta invasora pantropical e de uso medicinal. As duas espécies de *Uromyces* (*U. hawkworthii* e *U. euphorbiae*) são objetos de estudo detalhado, incluindo aspectos da filogenia molecular, taxonomia e de morfologia baseada em ilustrações de qualidade, nos Capítulos 3 e 4 respectivamente.

Membros da Família Raveneliaceae (= Sphaerophragmiaceae)

Descrição: *Espermogônios* Grupo IV, VI (tipo 5, 7, 11). *Écios* do tipo *Aecidium* ou *Caecoma*, com ou sem perídio ou do tipo *Uredo* com ou sem paráfises. *Eciósporos* não catenulados, pedicelados, maioria equinulados ou catenulados e verrugosos. *Urédios* do tipo *Malupa*, *Calidion*, ou do tipo *Uredo*. *Urediniósporos* não catenulados, maioria equinulados, vários poros germinativos em geral evidentes. *Télios* subepidérmicos, erptivos, com ou sem paráfises. *Teliósporos* dois ou mais em um pedicelo composto, suportando dois ou mais esporos em célula no ápice do pedicelo, ou formando uma cabeça composta de muitos esporos, nesse caso com cistos pendentes ou aderentes à base dos esporos verticalmente aderidos podendo ser septados, radialmente arranjados no topo de pedicelo composto por multifilamentos compactamente soldados uns aos outros; *cistos* pendentes e higroscópicos, ou achatados e aderidos à base dos esporos em torno do topo do pedicelo; *poros germinativos* um ou dois por célula ou por esporo; *basídios* externos (metabasídios).

São Puccinilaes autoécios, na maioria das vezes parasitando membros das famílias Fabaceae, Rosaceae, Euphorbiaceae, Apiaceae, Tiliaceae e Dioscoreaceae (Cummins &

Hiratsuka 2003). Raveneliaceae inclui mais de 323 espécies (Kirk *et al.* 2008), distribuídas nos seguintes gêneros: *Allotelium*, *Anthomyces*, *Anthomycetella*, *Apra*, *Bibulocystis*, *Cumminsina*, *Cystomyces*, *Diabole*, *Diabolidium*, *Dicheirinia*, *Diorchidiella*, *Diorchidium*, *Kernkampella*, *Lipocystis*, *Ravenelia*, *Sphenospora*, *Spumula*, *Ypsilospora* (Mycobank 2016, Index Fungorum 2016).

Gênero *Ravenelia* Berk.

Descrição: *Espermogônios* principalmente subcuticulares (Grupo VI, tipo 7) e subepidérmicos em poucas espécies (Grupo VI, tipo 5). *Écios* subepidérmicos ou, às vezes, subcuticulares, eruptivos. *Eciósporos* em geral pedicelados (forma de *Uredo*), ou, em algumas espécies, com esporos catenulados (forma *Aecidium* ou *Caeoma*). *Urédios* principalmente subepidérmicos ou às vezes subcuticulares, eruptivos, pulverulentos, (forma *Uredo*), muitas vezes bem desenvolvidos, parafisados; *paráfises* periféricas. *Urediniósporos* solitários, pedicelados, principalmente equinulados, alguns com ornamentação em espiral. *Télios* subepidérmicos ou às vezes subcuticulares na origem, eruptivos, marrom-escuros a quase negros. *Teliósporos* formando cabeças compostas, com até quatro tipos de células, discoide e multicelular quando vistas de topo, por cabeça com até 80 ou mais células que operam como probasídios, as quais se mostram aderidas lateralmente, chegando a ter duas camadas de células na parte central da cabeça, graças à presença de septo transversal ou oblíquo nos esporos, superfície distal dos teliósporos lisa ou ornamentada e com contornos poligonais nas paredes das células probasidiais, podendo ser ornamentadas (equinuladas, verrugosas, tuberculadas), com fendas germinativas obscuras ou raramente com poros germinativos, um em cada célula, células probasidiais com fendas pouco vivíveis; *células estéreis*, intercalares, ligadas a cistos; *cistos* higroscópicos, hialinos, unisseriados ou multisseriados, pendentes ou

aderidos à face inferior da cabeça de esporos pedicelada; *pedicelos* compostos, constituídos por cordões de hifas unidas em colunas. *Metabasídios* externos.

O espécie-tipo do gênero é *Ravenelia epiphylla* (Schwein.) Dietel, (= *Ravenelia glandulosa* Berk. & M.A. Curtis ex Sacc) descrita em *Tephrosia virginiana* nos Estados Unidos da América (Berkeley 1874).

Os teliósporos de *Ravenelia* são na verdade cabeças complexas, sendo essas maiores do que os esporos dos demais Pucciniales, muitas vezes visíveis a olho nu. Essas cabeças contêm quatro tipos de células. Normalmente, oito ou mais chegando a quase 80) células probasidiais unidas lateralmente formando uma camada discoide quando vista do topo. Em algumas espécies duas camadas de células probasidiais podem ocorrer na parte central do esporo. Na superfície da cabeça de esporos, as células probasidiais mostram formato poligonal. Algumas espécies produzem poros germinativos, difícil de serem observados, e ranhuras por onde o metabasídio emerge, igualmente difícil de serem vistas, devido à pigmentação e à refração provocada pelas paredes das células abaixo. Para a maioria das espécies fendas e poros germinativos não foram demonstrados, mas pode se presumir que um ou ambos ocorrem. As células probasidiais estão assentadas sobre uma camada de células intercalares estéreis, às quais se ligam os cistos higroscópicos. Na água, os cistos se expandem, podem explodir e liberar uma substância pegajosa gelatinosa. A cabeça complexa, ou esporo composto, é suportada por pedicelo composto de um cordão de hifas alongado, contendo vários elementos soldados uns aos outros formando uma coluna. Esses pedicelos estão ligados fortemente ou frouxamente à base do esporo composto e, em torno do ápice deles se distribuem células intercalares e os cistos, ou diretamente as células probasidiais. Os pedicelos das cabeças, são cordas hifálicas composta por um conjunto de hifas soldadas (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen et al. 2005)

As paráfises encontradas em urédios de espécies de *Ravenelia* são geralmente bem diferenciadas e, principalmente periféricas. Cada célula esporogênica produz urediniósporos pedicelados que são decíduos, deixando um longo pedicelo ainda ligado à célula esporogênica. Depois de alguns esporos serem produzidos, a célula esporogênica permanece nos soros com os pedicelos antigos ainda ligados. Estes podem parecer paráfises e ocorrem com todos os urediniósporos pedicelados de *Ravenelia*.

Na natureza muitas espécies de *Ravenelia* não causam danos significativos em suas hospedeiras, mas algumas espécies incitam galhas e vassouras de bruxas espetaculares, como é o caso de *R. argentinica*, *R. hieronymi*, *R. papillosa* e *R. spegazziniana* (Hernández & Hennen 2003).

Hospedeiras e distribuição geográfica das espécies de *Ravenelia*

Embora algumas espécies de *Ravenelia* tenham sido reportadas em outras famílias, hoje apenas as espécies parasitas em Fabaceae, são aceitas no gênero. Suas espécies são numerosas nas regiões áridas, tropicais e subtropicais, onde espécies hospedeiras ocorrem de forma abundante, porém mesmo em desertos muito secos e até mesmo florestas tropicais elas são encontradas. A região Neotropical possui a maioria das espécies, seguida pelas regiões tropicais e subtropicais da África e Ásia.

Cerca de 115 espécies de *Ravenelia* são conhecidas no Hemisfério Ocidental sendo que destas, aproximadamente de 40 a 45 ocorrem no Brasil infectando espécies de *Acacia*, *Calliandra*, *Cassia* (incluindo *Senna* e *Chamaecrista*), *Lonchocarpus*, *Pithecellobium*, *Mimosa*, *Derris*, *Enterolobium*, *Anadenanthera*, *Cenostigma*, *Poincianella*, *Sesbania*, *Plathymentia*, *Andira*, *Piptadenia*, *Indigofera*, *Leucaena*, *Cratylia* e *Parkia* (Hennen et al. 2005, Farr & Rossman 2016).

Nenhuma espécie foi relatada na Europa até o momento. Há registros de espécies de *Ravenelia* na Austrália (*R. neocaledoniensis* B. Huguenin em *Acacia* sp. e em *Vachellia farnesiana*, e *R. sessilis* Berk em *Albizia procera*) (Farr & Rossman 2016). A maioria das espécies de *Ravenelia* são conhecidas apenas com base nos materiais tipo ou em poucas coletas.

O gênero *Kernkampella* Rajendren é um gênero causador de ferrugem em Euphorbiaceae, que foi anteriormente incluído em *Ravenelia*. Apenas uma espécie foi relatada em plantas de família diferente, *K. appendiculata* (Lagerh. & Dietel) G.F. Laundon em *Phyllanthus* spp. (Phyllanthaceae), encontrada na Bolívia, México e no Cerrado do Distrito Federal (Chaves et al. 2008). As outras espécies são da Ásia, principalmente da Índia.

Assim, existem três gêneros morfológicamente próximos, *Ravenelia*, *Spumula* e *Kernkampella* e nenhum outro gênero de Pucciniales tem esporos formando cabeça. Porém, embora espécies pertencentes aos três formem cistos higroscópios, a segregação dos três é simples: em *Spumula* o pedicelo é sempre simples, sendo composto em *Ravenelia* e *Kernkampella*; apenas nesse último gênero as cabeças complexas possuem sempre uma camada de células pateliformes (achatadas) entre os esporos e os cistos.

Os teliósporos compostos são demasiadamente grandes para disseminação a longa distância pelo vento. Além disso, o material gelatinoso dos cistos higroscópicos absorve e retém água suficiente, que se suspeita, poderiam ajudar na germinação das células probasidiais. Este processo de germinação resulta na formação de vários metabasídios e basidiósporos, estes lançados por pressão, a partir do mesmo teliósporo multicelular, assegurando assim a disseminação eficiente do fungo.

***Ravenelia geminipora* Hennen & Cummins**

Descrição *sensu* Hennen & Cummins (1990): *Espermogônios* epífilos, gregários. *Écios* anfigenos ou principalmente epífilos, ao redor e do lado oposto dos espermogônios, subepidérmicos, eruptivos, marrons, parafisados; *paráfises* abundantes, com pontas mais escuras, espatuladas, cilíndricas ou alongadas, principalmente periféricas, parede mais grossa na região apical, fina e mais clara na base. *Eciósporos*, 16 (24) 28 – 33 (–36) × (20–) 22–25 (–27) μm, pedicelados, fortemente equinulados, principalmente obovoides, menos equinulados junto aos poros; *poros germinativos*, quatro, equatoriais, em 2 pares gêmeos em lados opostos do esporo, poros frontais muito mais estreitos e elipsoides do que os poros opostos; *parede* lateral medindo (2–) 3–4,5 μm de espessura, apical com 4–7 μm, amarelada ou marrom dourada. *Uredios* epífilos, semelhantes aos écios, exceto por serem dispersos e não associados com espermogônios. *Urediniósporos* idênticos aos eciósporos. *Télios a maioria* epífilos, castanho-escuros, subepidérmicas na origem, eruptivas. *Teliósporos* (55–) 80–112 (–120) μm de diâmetro, marrom escuros, mais opacos quando maduros, parede exterior fina, lisa, (5) 6 ou 7 (8) μm entre as células probasidiais; *células centrais* (15) 16–20 (–22) μm, em uma única camada; *cistos* unisseriados do mesmo número que as células periféricas do esporo composto; *pedicelo* incolor a acastanhado, multihifálicos e decíduos.

A amostra analisada neste estudo, quando comparada com a descrição original, apresentou urediniósporos (21–30 × 19–21 μm) e teliósporos (88–104 μm de diam.) um pouco menores e paráfises 73–102 × 6–15 μm, lisas (medidas e característica não mencionada na descrição original). No geral, as características morfológicas são as mesmas, porém qui não foram encontrados espermogônios, nem tampouco écios.

Espécimes examinados: em folhas de *Plathymenia reticulata* (Fabaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília, Distrito Federal. 07 jul. 2014, leg. E.S.C Souza 232, UB22899;

Santo Antônio do Monte, Minas Gerais, Rancho Riacho, 29 jul. 2015, leg. D.B. Pinho 21, UB23328.

Os dois pares de poros germinativos, localizados em lados opostos da parede dos urediniósporos, é característica importante na identificação da espécie e é a razão para o epíteto (*geminipora*). Quando jovens, os teliósporos são menos pigmentados e a superfície da parede exterior por baixo da camada exterior é pálida e sinuosamente estriada, não lisa.

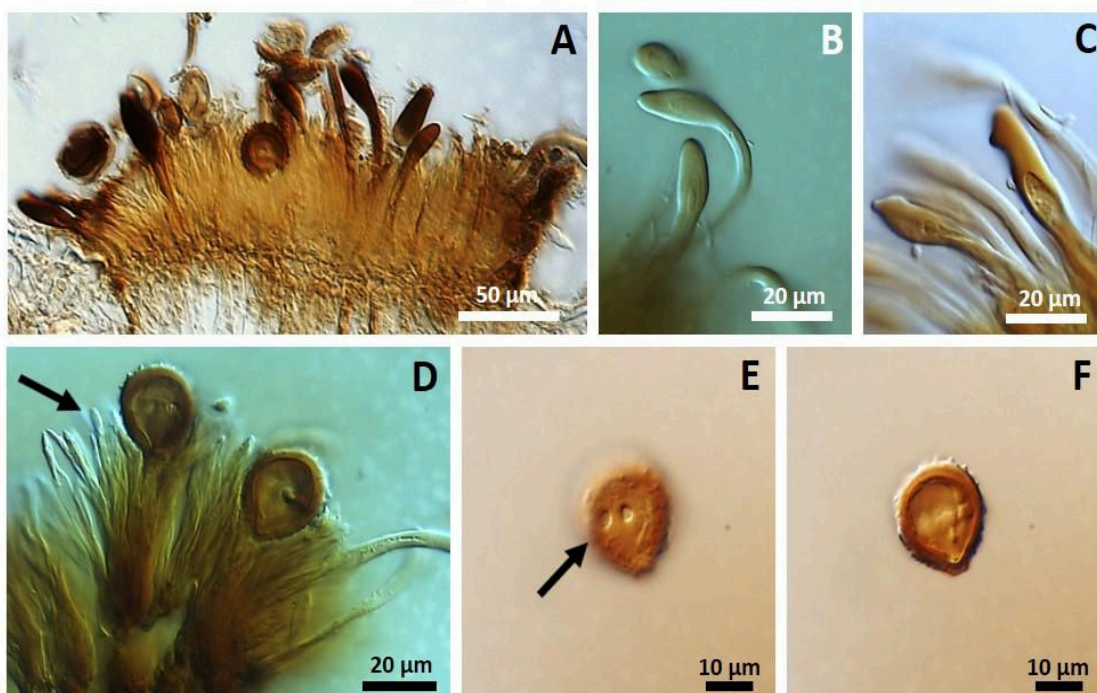


Figura 38 (A–F). Forma uredínica de *Ravenelia geminipora* em *Platymaenia reticulata*. **A.** Uredia em corte transversal mostrando a disposição dos urediniósporos e das paráfises. **B–C.** Paráfises. **D.** Urediniósporos ligados aos pedicelos cercados por paráfises himeniais numerosas (seta), ambos mostrando par de poros característicos. **E–F.** Urediniósporos em diferentes profundidades de foco.

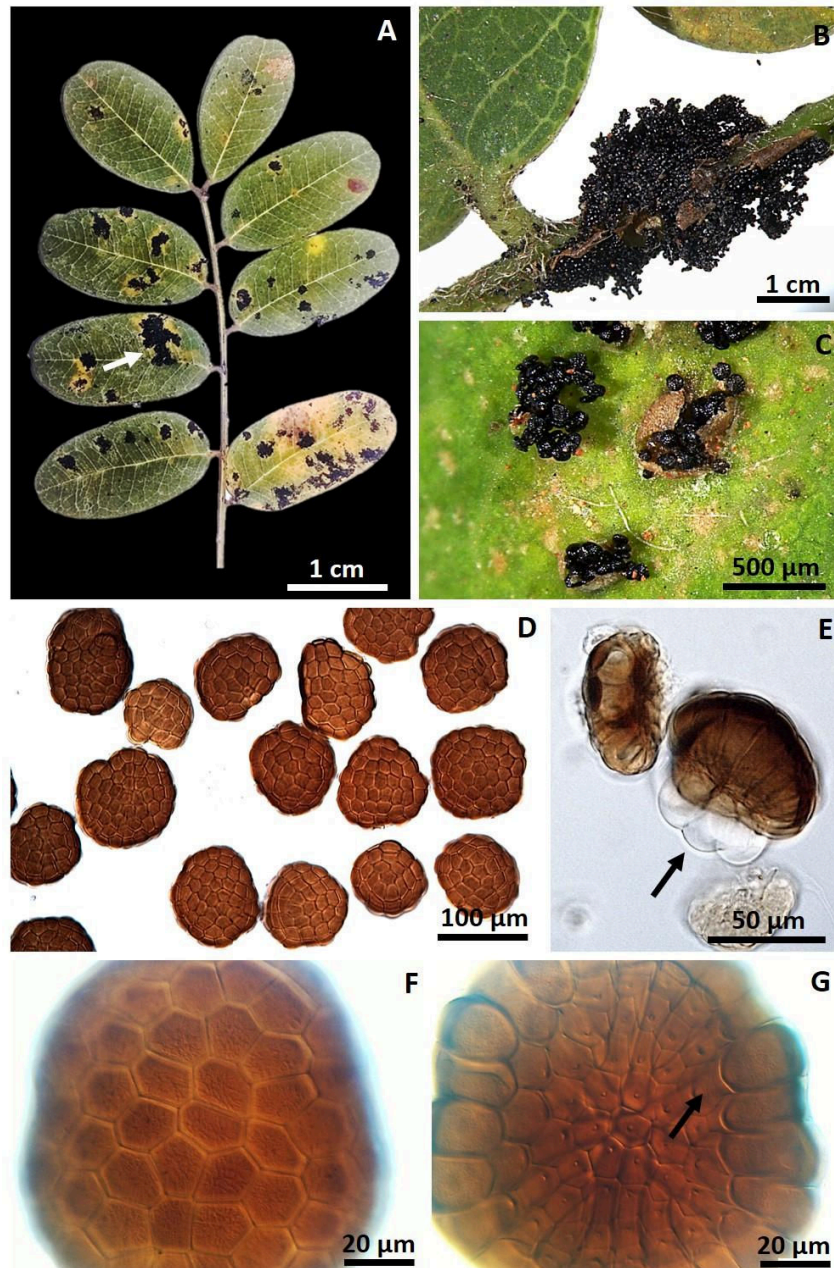


Figura 39 (A–G). Forma télica de *Ravenelia geminipora* em *Platymaenia reticulata* vista em microscopia de luz. **A.** Sintoma na face adaxial dos folíolos (seta). **B.** Massa pulverenta escura de teliósporos formados em um pecíolo. **C.** Soros eruptivos pulverulentos. **D.** Grupo de teliósporos compostos multicelulares lisos, vistos de topo. **E.** Teliósporo com cistos (seta) higroscópicos. **F.** Teliósporo liso, visto de topo mostrando células de perfil pentagonal e hexagonal e textura angular. **G.** Vista da base do teliósporo composto, sem os cistos, mostrando células em disposição radiada, onde se inserem os teliósporos individuais (seta).

***Ravenelia hieronymi* Speg. (= *R. deformans* (Maublanc) Dietel, Fig. 140 (A–G)).**

Descrição: *Epermogônios* subcuticulares, irregulares, hemisféricos ou em forma de almofada, *Écios* com longos perídios cilíndricos; *células peridiaias* 27– 40 × 15 – 21 µm, romboides, cilíndricas, hexagonais, irregulares, verrugulosas. *Eciósporos* catenulados, (18–) 20–26 (– 28) x (13–) 15–20 µm, variáveis em tamanho e forma, amplamente elipsoides ou oblongo-elipsoides, amarelo pálidos em massa, verrugosos, poros germinativos numerosos, dispersos, relativamente obscuros. *Urédios* e *urediniósporos* semelhantes aos ecios e eciósporos. *Télios* espalhados entre os ecios, subepidérmicos, eruptivos, castanhos. *Teliósporos* (65–) 75– 20 (–140) µm diam, castanho claros a marrons avermelhados, lisos, até 12 células probasidiaias. *Cistos* aparentemente unisseriados, adaptadas à parte inferior do teliósporo, coerentes. *Pedicelos* multihifais, hialinos, persistentes.

Espécime examinado: em folhas de *Acacia farneziiana* (Fabaceae): Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, próximo ao Memorial Darcy Ribeiro, Brasília, Distrito Federal. 22 out. 2013, leg. E.S.C Souza 221, UB22560.

Ravenelia hieronymi foi anteriormente descrita em Brasília por Rezende & Dianese (2002). O fungo é conhecido nas seguintes hospedeiras: *Acacia caven* na Argentina, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai; *A. cavenia* na Argentina e Chile; *A. farnesiana* na Argentina, Brasil, Chile, Texas, Uruguai; *A. farnesiana* var. *cavenia* na Bolívia; *A. fernandeziana* no Chile e *Acacia* sp. em Moçambique e em *Mimosa* sp. no Brasil (Farr & Rossman 2016, Hennen et al 2005).

A planta hospedeira é uma espécie exótica oriunda da América Central, usada na arborização de Brasília, porém mesmo assim o fungo foi agora incluído na análise filogenética objeto do Capítulo 2.

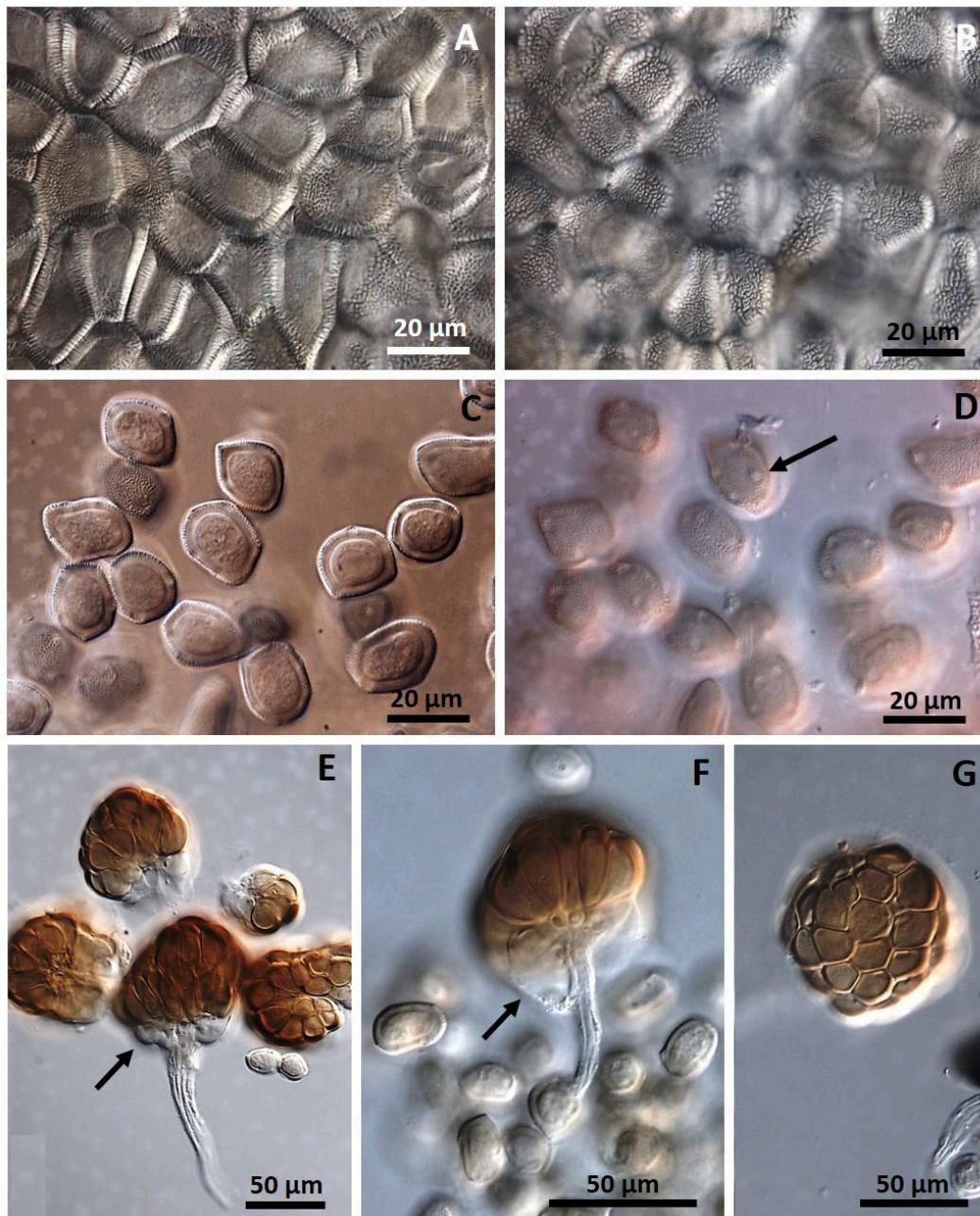


Figura 40 (A–G). Forma ecídica e télica de *Ravenelia hieronymi* em folhas de *Acacia farnesiana* vistas em microscopia de luz. **A–B.** Textura do perídio dos écios em diferentes profundidades de foco. **C–D.** Eciósoros visto em diferentes profundidades de foco. **E–F.** Teliósoros compostos com cistos aderidos (setas). **G.** Textura superficial das células centrais de um teliósoro composto.

***Ravenelia* possível sp. nov.**

Descrição: *Espermogônios* e *Écios* não observados. *Urédios* hipófilos, subepidérmicos, pulverulentos, eruptivos, marrons. *Urediniósporos* 21– 26 × 15 –18 µm limoniformes, equinulados, marrom-claros, poros germinativos equatoriais. *Télios* hipófilos, marrons, subepidérmicos, eruptivos. *Teliósporos* 50 – 67 µm de diâmetro, marrom-claros, paredes ornamentadas com projeções espiculares, cerca de nove células probasidiais distribuídas em uma camada única, cistos unisseriados, hialinos, com a mesma proporção das células dos teliósporos, pedicelos hialinos, multihifálicos, decíduos.

Espécime examinado: em folhas de *Eriosema rigidum* (Fabaceae): Estação Experimental da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal. 11 jul. 2012, leg. E.S.C Souza 81, UB22289.

Várias espécies de *Ravenelia* são listadas em diversas espécies de plantas hospedeiras membros de Fabaceae (Farr & Rossman 2016, Hennen et al 2005), entretanto esta é a primeira vez que foi encontrado um espécime em folhas de *Eriosema rigidum*. Em outras espécies de *Eriosema* são conhecidas as seguintes: *Phakopsora meibomiae*, *P. pachyrhizi*, *Uromyces dolichi*, *U. phaseoli*, *U. rhynchosiae*, *Aecidium eriosematidis*, *A. medellinense*, *Uredo eriosemae* e *Uredo* sp.

Portanto existe grande possibilidade de se tratar de uma nova espécie de *Ravenelia*, por isso mesmo foi incluída entre os espécimes que tiveram o segmento 28S sequenciado e filogeneticamente analisado (Capítulo 2).

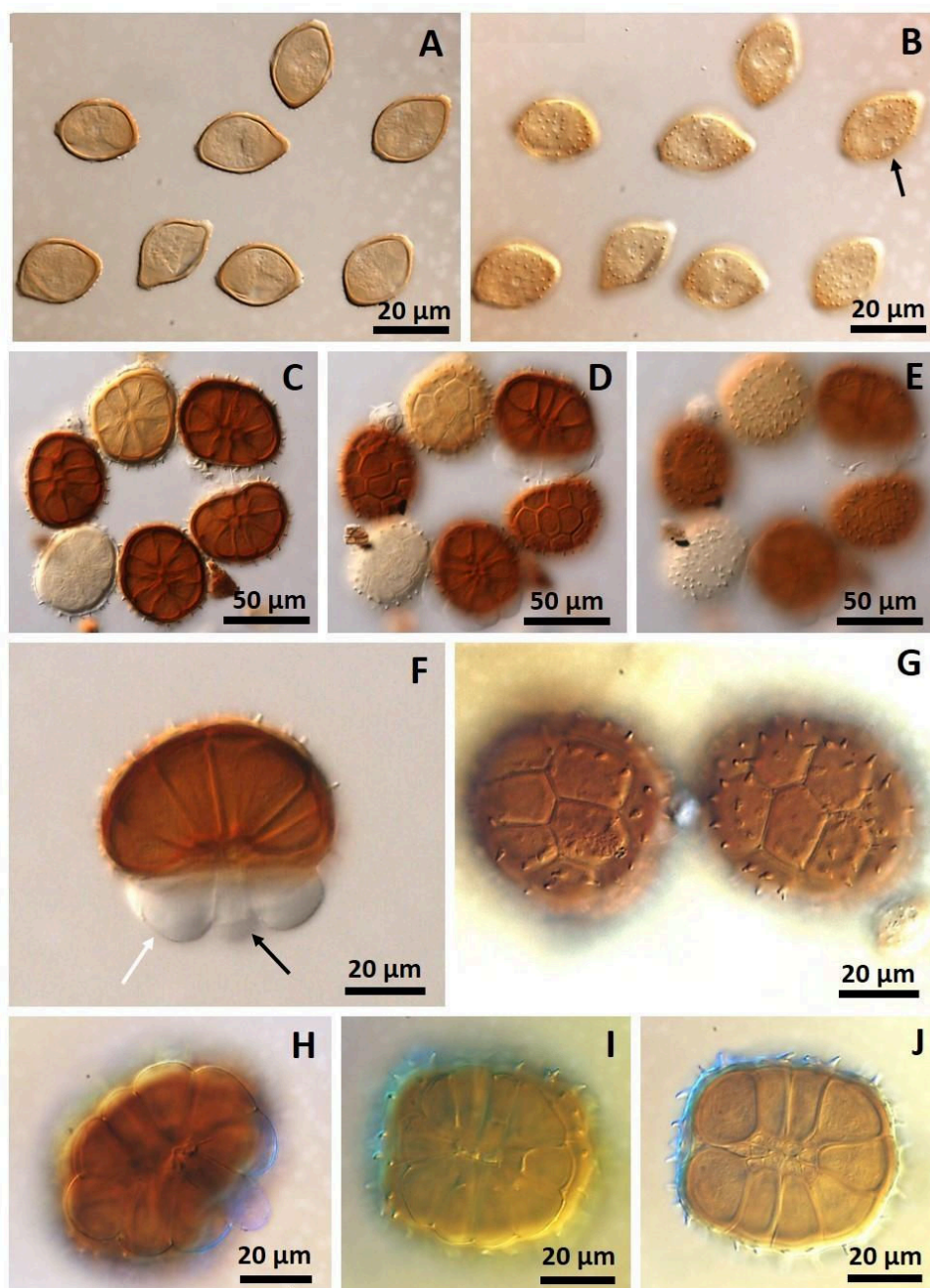


Figura 41 (A–J). *Ravenelia* sp. em folhas de *Eriosema rigidum*. **A–B.** Urediniósporos em diferentes profundidades de foco mostrando dois poros equatoriais. **C–E.** Uma mesma amostra de teliósporos de diferentes estágios de maturação, focados em três profundidades distintas, mostrando características da superfície e estrutura dos esporos compostos. **F.** Teliósporo composto com cistos pedentes (seta branca) e resíduo do pedicelo (seta negra). **G.** Células centrais de dois teliósporos compostos com poucas equinulações. **H.** Teliósporo composto com cistos higroscópicos. **I–J.** Mesmo teliósporo composto em duas diferentes profundidades de foco.

Gênero *Sphaerophragmium* Magnus

Descrição: *Espermogônios* subepidérmicos, Grupo VI (tipo 5). *Écios* subepidérmicos, eruptivos, peridiados, tipo *Aecidium*. *Eciósporos* catenulados, verrugosos. *Urédios* subepidérmicos, eruptivos, a maioria com paráfises periféricas. *Urediniósporos* solitários, assimétricos e reniformes, pedicelados, equinulados. *Télios* subepidérmicos, eruptivos. *Teliósporos* solitários, pedicelados, multicelulares com septos verticais e horizontais (muriformes), globosos, pigmentados, ornados por grande número de projeções tubulares medianas a longas, poros germinativos obscuros; *basídio* externo.

Sphaerophragmium é um gênero com a maioria das espécies infectando Fabaceae e outras em Annonaceae, com registros na Nigéria, China, Austrália, Cuba e Brasil (Farr & Rossman 2016).

Sphaerophragmium acaciae

Descrição: *Espermogônios* e *Écios* não observados. *Urédios* subepidérmicos, eruptivos, gregários, pulverulentos, marrom-claros. *Urediniósporos* 20–22 × 15–18 µm solitários, reniformes, castanhos, pedicelados, equinulados, poros germinativos equatoriais. *Télios* subepidérmicos, eruptivos, gregários, pulverulentos, marrons a negros. *Teliósporos* 27–30 µm solitários, multicelulares, muriformes, globosos, marrons, ornados por projeções numerosas e cilíndrico-captadas, poros germinativos obscuros, longo-pedicelados; *Pedicelos* persistentes e hialinos.

Espécime examinado: em folhas de *Albizia lebeck* (Fabaceae): Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, Jardim da Reitoria, Brasília, Distrito Federal. 20 jun. 2013, leg. E.S.C Souza 174, UB22477.

Essa espécie já foi descrita e ilustrada em coleta feita em Brasília (Rezende & Dianese 2002). As infecções provocadas por esse fungo provocam manchas foliares pontuais cloróticas nos locais de infecção e pontos escuros que indicam a presença de télios.

Espécies de *Sphaerophragmium* ocorrem em uma ampla gama de hospedeiras distribuídas em grande maioria na família Fabaceae (Farr & Rossman 2016) e nove em Annonaceae (Beeken & Berndt (2010). Em Fabaceae, *Sphaerophragmium* spp. são parasitas em membros dos gêneros: *Acacia*, *Albizia*, *Cassia*, *Dalbergia*, *Calliandra*, *Milettia*, *Strongylodon*, *Mucunae* e *Parkia*.

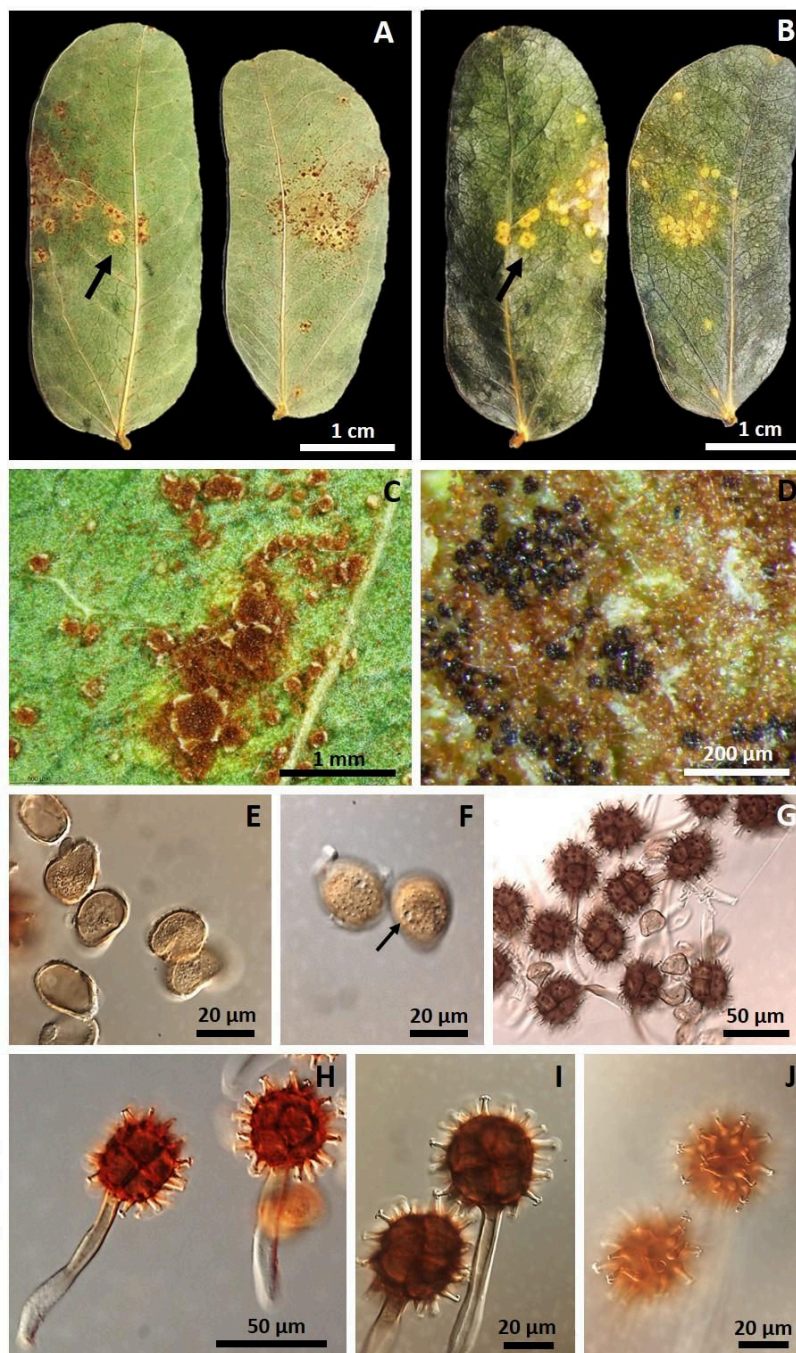


Figura 42 (A–J). *Sphaerophragmium albiziae* em folhas de *Albizia lebeck*. **A.** Sintomas na face abaxial da folha mostrando áreas cloróticas com pontos ferruginosos, onde o fungo esporula. **B.** Sintomas de clorose vistos na face adaxial da folha. **C–D.** Soros mistos contendo teliosporos e urediniósporos. **E.** Grupo de urediniósporos. **F.** Urediniósporos mostrando dois poros germinativos equatoriais. **G.** Grupo de teliosporos. **H.** teliosporos com peídelos higroscópicos dilatados. **I–J.** Detalhe das projeções cilíndrica com a extremidade bifurcada, ornando os teliosporos.

Gênero *Diorchidium* Kalchbr.

Descrição segundo Cummins & Hiratsuka (2003): *Espermogônios* subcuticulares, Grupo VI (tipo 7). *Écios* subepidérmicos, eruptivos, do tipo Uredo. *Eciósporos* solitários, equinulados, pedicelados, poros germinativos equatoriais. *Urédios* subepidérmicos, eruptivos, tipo Uredo. *Urediniósporos* como os eciósporos. *Télios* subepidérmicos, eruptivos. *Teliósporos* geralmente bicelulares, com um septo vertical, solitários, pedicelados, paredes pigmentadas, mas com grau de pigmentação amplamente variado, lisos ou ornamentados, um poro germinativo por célula na porção apical; *basídio* externo.

O gênero conta com aproximadamente 23 espécies (Index Fungorum 2016) tendo como tipo a espécie *D. woodii* Kalchbr. & Cooke encontrada em *Milletia* sp. (Fabaceae) na África do Sul (Kalchbrenner 1882). Outras espécies foram encontradas no Sri Lanka, Indonésia, Brasil e Argentina (Cummins & Hiratsuka 2003, Farr & Rossman 2016).

Cummins & Hiratsuka (1983, 2003) diferenciaram *Diorchidium* de *Puccinia* por ter espermogônios do grupo VI, tipo 7, em contraste com o grupo V, tipo 4 de *Puccinia*. No entanto, espermogônios nunca foram relatados para a espécie-tipo de *Diorchidium*, *D. woodii* (Kalchbrenner & Cooke 1882; Hennen et al. 1998).

Considerando isso, Beenken & Wood (2015), baseados em dados moleculares, consideram que o tipo *D. woodii* se trata de uma espécie de *Puccinia* pois não há evidência morfológica contra o resultado molecular.

Em *Diorchidium*, os espermogônios são conhecidos apenas para *D. puiggarii* Speg. e *D. taiwanensis* R. Berndt, que são do tipo 7 em ambas as espécies (Hennen et al., 1998; Berndt 1996). Estas duas espécies, bem como *D. koordersi* Wurth [= *Diphragmium koordersi* (Wurth) Boedijn] se assemelha ao gênero *Hapalophragmium* Syd. & Syd. (Berndt 1996,

Hennen et al., 1998), que tem espermogônios do tipo 7 e teliósporos com três células (Lohsomboon et al. 1992).

Diorchidium como definido por Cummins e Hiratsuka (2003) é polifilético, com membros pertencentes a pelo menos três linhagens distantes dentro dos Pucciniales (Beenken & Wood 2015).

***Diorchidium copaiiferae* (P. Sydow & H. Sydow) Cummins & Y. Hiratsuka**

Descrição: *Espermogônios* e *Écios* não observados. *Urédios* hipófilos, subepidérmicos, eruptivos, dispersos, pulverulentos, castanhos, paráfisados; *Paráfises* 43 – 65 × 10 – 12 µm, grossas, periféricas abundantes, unidas pela base, encurvadas, pálidas. *Urediniósporos* 34 – 44 × 13 – 18 µm de tamanhos e formas variáveis, alantoides, estreitamente elipsoides ou raramente ovoides, canela ou castanho-castanho, pálidos, moderadamente equinulados, um poro germinativo na base. *Télios* como os urédios, marrom amarelados. *Teliósporos* 34 – 44 × 15–22 µm, bicelulares, oblongo-elipsoides, lisos, dourado pálidos ou quase incolores, um poro germinativo na porção apical de cada célula, a germinação ocorre sem dormência, pedicelos incolores, persistentes.

Espécime examinado: em folhas de *Copaiifera langsdorffii* (Fabaceae): Parque Olhos D'Água de Brasília, Brasília, Distrito Federal. 12 set. 2012, leg. E.S.C Souza 145, UB22385.

Cummins & Hiratsuka (1983) transferiram *Sphenospora copaiifera* (Henn.) P. Syd. & Syd. para *Diorchidium* porque em sua fase telial faltava a matriz gelatinosa característica de outras espécies de *Sphenospora*, entretanto os urediniósporos longos, estreitos e curvos com um poro germinativo basal são característicos.

Rezende & Dianese (2002) observaram a presença de paráfises curvadas nos urédios e télios de *D. copaiiferae*, com urediniósporos reniformes, teliósporos bicelulares, lisos, com

projeções nos ápices e com um poro germinativo por célula do teliósporo. Essas características são as mesmas descritas para *D. copaiferae* por Cummins (1960) e também as mesmas observadas na amostra aqui estudada.

É importante notar que *Diorchidium copaiferae* foi relatada apenas no Brasil sempre sobre *Copaifera langsdorffii* (Cummins & Hiratsuka 2003, Farr & Rossman 2016).

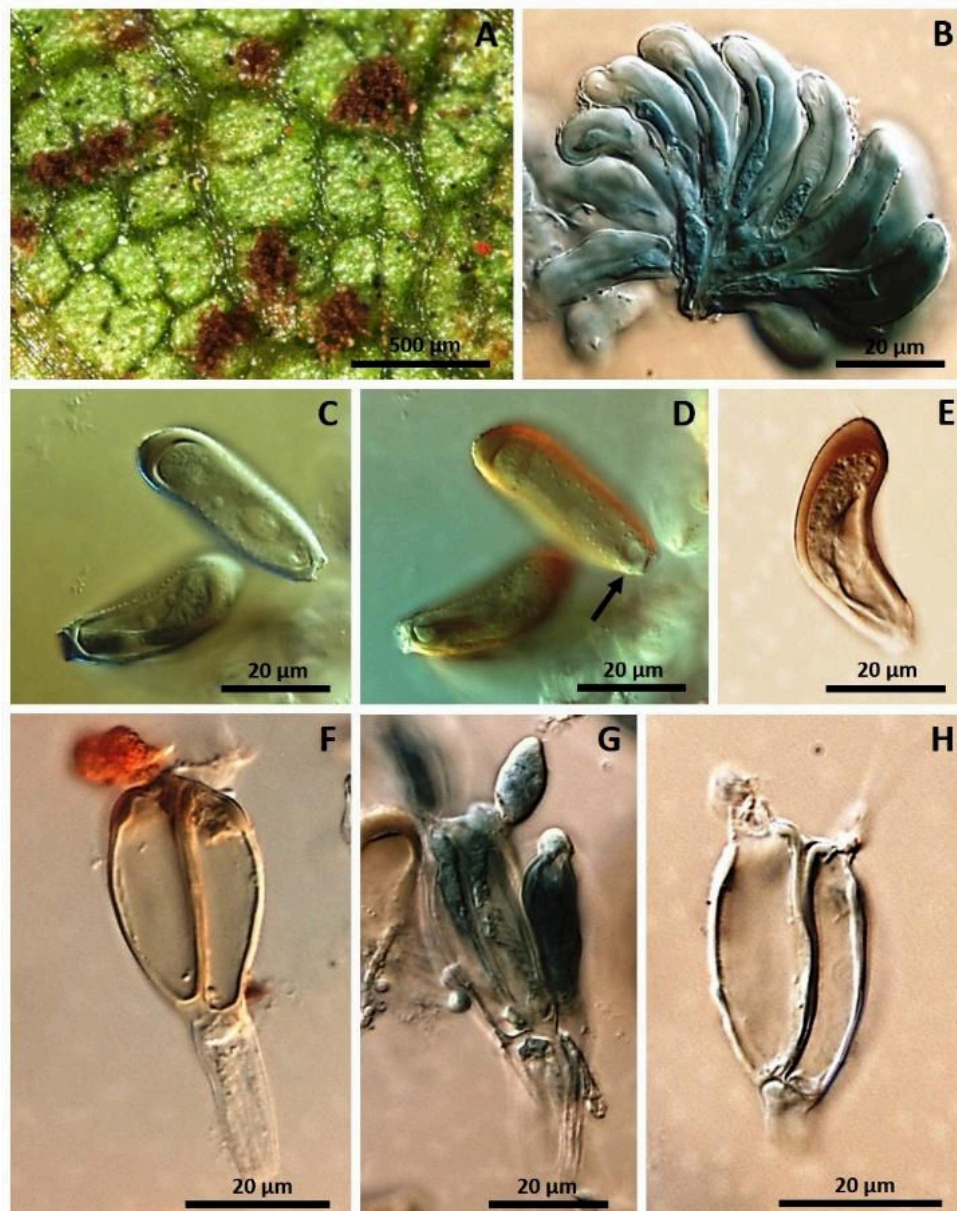


Figura 43 (A–H) *Diorchidium copaiferae* em folhas de *Copaifera langsdorffii*. A. Soros na face abaxial de folíolos. B. Paráfises uredínicas fortes e recurvadas. C–E. Urediniósporos. F–H. Teliósporos bicelulares, pedicelados.

Gênero *Esalque* Hennen, Figueiredo & Carvalho

Descrição: *Espermogônios* e *Écios* desconhecidos. *Urédios* anfigenos, subepidérmicos, dispersos, eruptivos, tipo Uredo. *Urediniósporos* unicelulares, pedicelados, equinulados, de um a dois poros germinativos. *Télios* subepidérmicos, eruptivos, mistos (presença de teliósporos junto aos urediniósporos). *Teliósporos* com três células sendo uma basal próxima ao pedicelo e duas distais, solitários, pedicelados, poros germinativos obscuros, basídio externo (Hennen et al. 2000).

Em estudos sobre fungos causadores de ferrugem em leguminosas do Brasil, Hennen et al (1982) registraram quatro espécies de fungos nos gêneros *Anthomyces* Grüss, *Hapalophragmium* Syd. & P. Syd., *Ravenelia* Berk e *Triactella* Syd. infectando *Poincianella ferrea* (= *Caesalpinia ferrea*). Duas dessas espécies, *Hapalophragmium holwayi* (H. Jackson) H. Sydow e *Triactella holwayi* H. S. Jackson, foram inicialmente consideradas sinônimas uma vez que as espécies-tipo de *Triactella* foi recombinação em *Hapalophragmium*. Porém, devido ao arranjo das células probasidiais nos teliósporos, *T. holwayi* esta não pode ser alocada em *Hapalophragmium*. De imediato, Hennen et al (2000), verificaram que *T. holwayi* do Brasil não se tratava de uma espécie de *Hapalophragmium*, mas sim de um novo gênero. Assim a espécie foi recombinação para *Esalque holwayi*. Trata-se de um gênero monotípico com a espécie-tipo *Esalque holwayi* (H. S. Jackson) Hennen, Figueiredo & Carvalho (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen et al 2005, Index Fungorum 2016).

Esalque holwayi (H. S. Jackson) Hennen, Figueiredo & Carvalho

Existe apenas como espécie-tipo do gênero, a qual já foi descrita acima.

Espécime examinado: *Esalque holwayi* em folhas de *Poincianella ferrea* (Fabaceae): Super Quadra Norte 209, próximo à passagem subterrânea do Eivo W, Brasília, Brasília, Distrito Federal. 10 jul. 2012, leg. E.S.C Souza 79, UB22286.

O material aqui estudado apresentou somente a fase uredínica com urédios densamente pulverulentos, fortemente amarelados, encontrados infectando vagens da hospedeira. Os aspectos morfológicos e métricos dos urediniósporos foram comparados com a descrição original da espécie e apresentou urediniósporos pouco maiores e mais largos (18–25 × 13–17 μm). *Esalque holwayi* além de relata em *P. ferrea*, também foi encontrada em outra espécie do mesmo gênero da hospedeira, *P. punctata* (Hennen et al.2005) e já reportada em Brasília por Rezende & Dianese (2002).

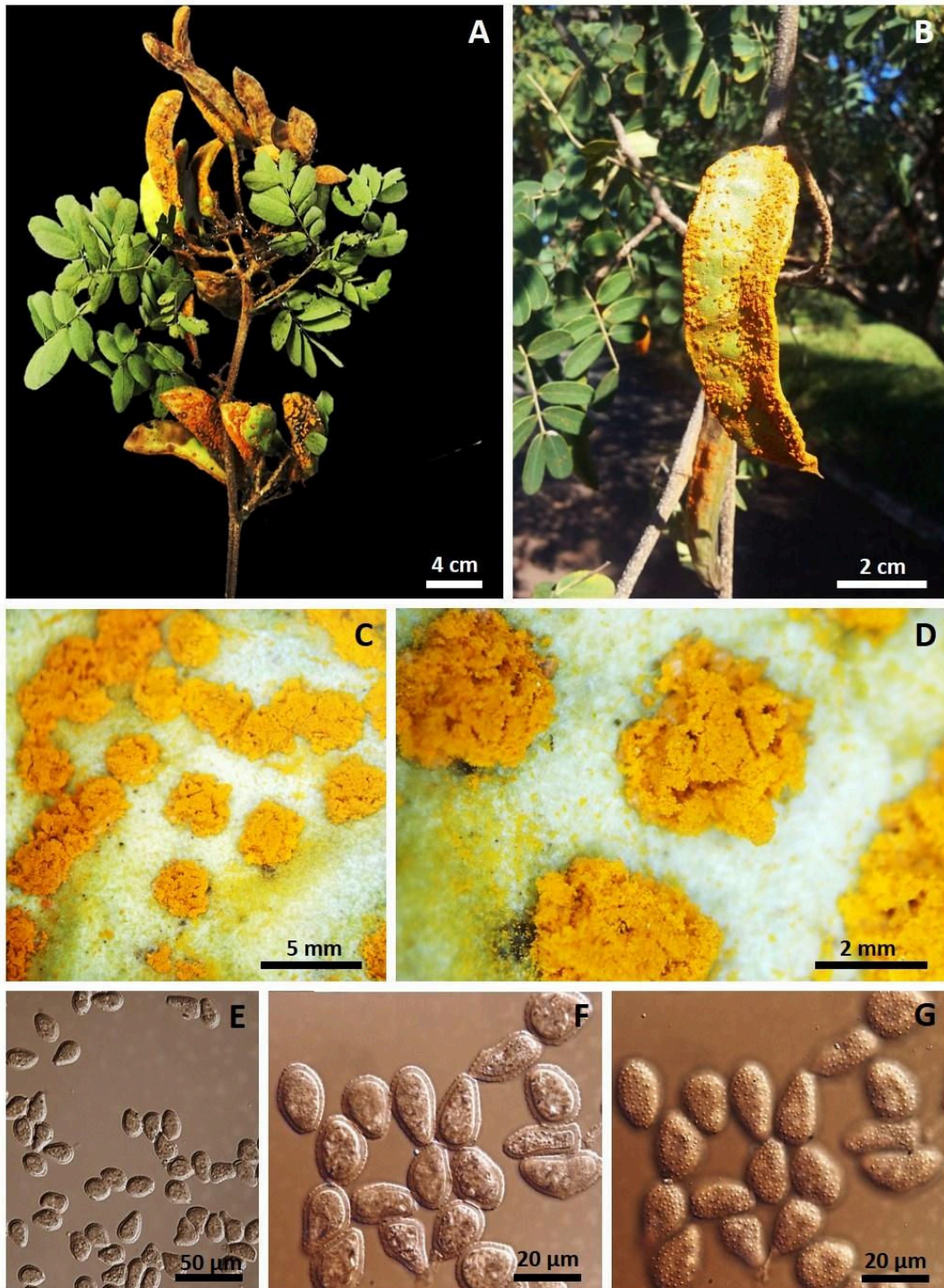


Figura 44 (A–G). *Esalque holwayi* em vagens de *Poincianella ferrea*. A–B. Sintomas em vagens. C–D. Urédios. E. Grupo de urediniósporos. F–G. Urediniósporos vistos em duas profundidades de foco diferentes.

Gêneros e espécies *Incertae sedis*

Gênero *Cerradoa* J.F. Hennen & Y. Ono

Descrição: *Espermogônios* e *Écios* desconhecidos. *Urédios* subepidérmicos, supra-estomatais, pulverulentos, castanho-claros a castanhos. *Urediniósporos* unicelulares, equinulados, pedicelados, decíduos. *Télios* como os urédios. *Teliósporos* solitários, bicelulares com as duas células probasidiais unidas lateralmente, septo vertical, cada célula com um poro ao lado do septo, longo-pedicelados. Basídio externo (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen et al 2005).

Cummins & Hiratsuka (1983, 2003) colocaram este gênero como sinônimo de *Edythea* H.S. Jacks. Eles consideraram que a diferença entre os dois gêneros se dava no grau de pigmentação da parede dos teliósporos. Os télios destes dois gêneros são morfologicamente semelhantes com relação a formação e alongamento das células esporogênicas e a forma como são emergidas através dos estômatos, entretanto, apesar de serem bicelulares, o formato dos teliósporos é completamente diferente. Em *Cerradoa* os teliósporos são oblongos, possuem septos verticais suportados por pedicelos finos inseridos na base dos septos. Já em *Edythea* os teliósporos são elipsoides, alguns com as células basais e apicais proeminentes lateralmente e apicalmente, respectivamente. Além disso, possuem septos transversais e pedicelos solidamente aderidos à base do teliósporo. Hennen et al (2005) também consideraram esses dois gêneros como distintos.

Edythea ocorre em *Berberis* spp. (Berberidaceae - dicotiledônea) no Equador, enquanto que *Cerradoa*, reportada no Brasil, é o único fungo em Areaceae (monocotiledônea) mostrando a forma sexuada (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen et al 2005).

Cerradoa palmaea J.F. Hennen & Y. Ono

Trata-se da espécie-tipo do gênero, a qual já foi descrita acima.

Espécimes examinados: em folhas de *Syagrus comosa* (Arecaceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 29 set. 2012, leg. E.S.C Souza 150, UB22391; em folhas de *Syagrus flexuosa* (Arecaceae): Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 05 set. 2013, leg. E.S.C Souza 214, UB22550.

Na descrição original de *C. palmaea* a hospedeira foi identificada erroneamente como *Attalea ceraensis* (Arecaceae) (Hennen & Ono 1978), posteriormente verificou-se que se tratava de *Syagrus comosa*, além de ter sido também encontrada em *S. flexuosa* (Dianese et al. 1992, Mendes et al. 1998).

Este foi o primeiro fungo reportado causando ferrugem em Arecaceae. Mais tarde registrou-se *Uredo crusa* J. Hennen & J. McCain em planta não identificada do México 2mm *Chamaedorea* sp. e *Geonoma* da Guatemala (Hennen & McCain, 1993).

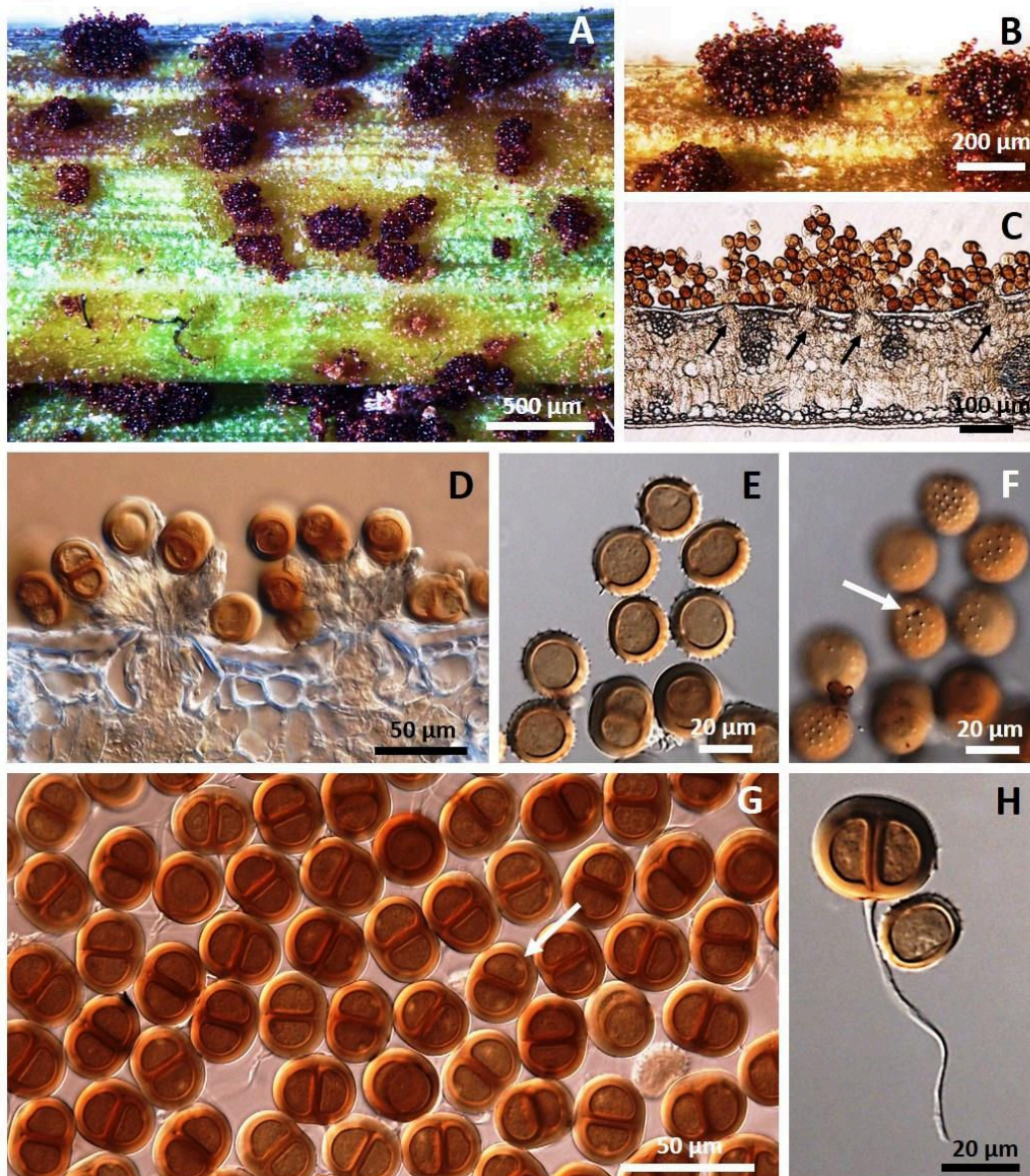


Figura 45 (A–H). *Cerradoa palmaea* em folhas de *Syagrus comosa*. **A.** Soros mistos na superfície abaxial da folha. **B.** Corte de um soro misto. **C.** Corte mostrando (setas) detalhes da frutificação trans-estomatal. **D.** Corte mostrando células esporogênicas através dos estômatos, suportando esporos. **E–F.** Urediniósporos em duas profundidades de foco, com seta indicando poro germinativo. **G.** Grupo de teliósporo com seta indicando um poro germinativo. **H.** Teliósporo pedicelado e um urediniósporo.

Gênero *Desmella* H. Sydow & P. Sydow

Descrição: *Espermogônios* e *Écios* desconhecidos. *Urédios* supraestomatais do tipo *Wardia*. *Urediniósporos* solitários, equinulados, pedicelados. *Télios* subestomatais emergindo dos estômatos através das poucas células esporogênicas dos quais cada uma pode produzir vários esporos, os soros quando maduros são supraestomatais. *Teliósporos* solitários, bicelulares, com septos transversais, oblíquos ou verticais, pedicelados, parede pálida ou pigmentada, um poro germinativo em cada célula, germinação sem dormência; *basídio* externos (Cummins & Hiratsuka 2003).

O gênero conta com quatro espécies: *Desmella aneimiae* Syd. & P. Syd., *D. gymnogrammes* Syd. & P. Syd., *D. mbatobiensis* (Speg.) Syd. & P. Syd. e *D. superficialis* Syd. & P. Syd., com ocorrência em mais de 21 gêneros diferentes de samambaias [Pteridophyta] (Index Fungorum 2016, Hennem et al. 2005).

Dentre as espécies relacionadas, *D. aneimiae* é a espécie-tipo do gênero encontrada em folhas de *Anemia tomentosa* (Schizaeaceae) no Brasil em 1919 (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennem et al. 2005).

***Desmella* sp.**

Descrição: *Espermogônios* e *Écios* não observados. *Urédios* supraestomatais, subepidérmicos, gregários ou dispersos, pulverulentos, amarelados. *Urediniósporos* 19– 42 µm de diâmetro, solitários, globoides, equinulados, marrom-claros, palha, pedicelados. *Télios* não observados.

Espécime examinado: em folhas de *Thelypteris* (Thelypteridaceae): Parque Olhos D'Água de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 17 set. 2013, leg J.C. Castro 443, UB22553.

Já foram relatadas duas espécies de *Desmella* em diferentes espécies de *Thelypteris*. *D. aneimiae* foi encontrada em *T. abrupta*, *T. hispidula* e *T. poiteana* na Guiana Francesa; *T. opulenta* na Guiana; *T. quadrangularis* na Argentina; *T. rudis* na Costa Rica e *Thelypteris* sp. na Argentina, Brasil, Costa Rica, Guiana, Panamá e Venezuela. *D. superficialis* foi relatada em *Goniopteris guadalupensis* em Porto Rico e Ilhas Virgens e *T. patens* na Jamaica, *T. tetragona* em Porto Rico e Ilhas Virgens (Farr & Rossman 2016).

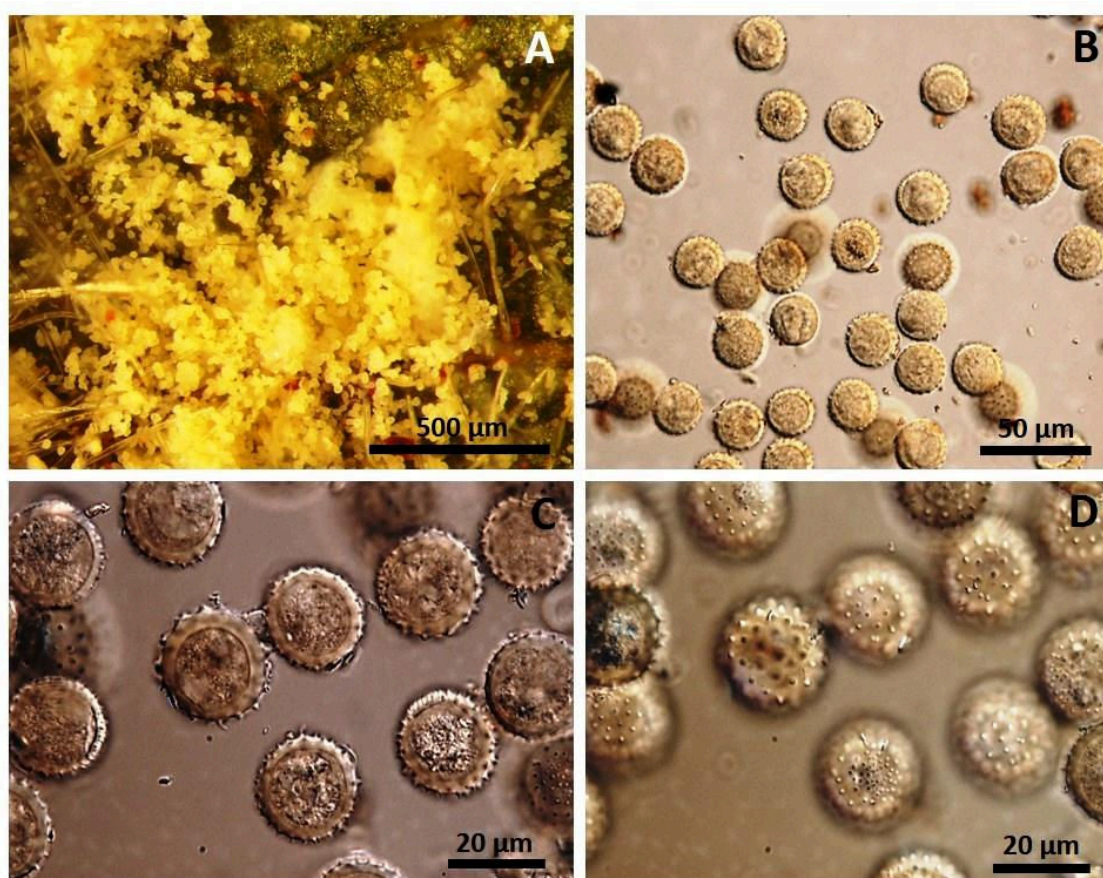


Figura 46 (A–D). *Desmella* sp. em folha de *Thelypteris* sp. **A.** Massa amarelada de urediniósporos em lesão eruptiva abaxial. **B.** Grupo de urediniósporos. **C–D.** Urediniósporos em duas profundidades de foco diferentes.

Formas assexuadas de Pucciniales incluídas na análise filogenética

Amostras de uma espécie de *Aecidium* e quatro de *Uredo* foram incluídas nas análises filogenéticas e são, a seguir, morfologicamente caracterizadas.

Aecidium duguetiae P. Hariot (= *Dietelia duguetiae* (Thurst.) Buriticá & J.F. Hennen)

Fig. 47 (A-F)

Descrição: *Epermogônios* não observados. *Écios* × 300–350 µm predominantemente epífilos, colunares, fortemente amarelados, desenvolvidos em galhas decorrentes da infecção ou em manchas marrons irregulares, podendo cobrir quase toda a folha. *Células peridiaais* 23–33 × 12–16 µm oblongas-poligonais, firmemente unidas, lisas. *Eciósporos* 18–23 × 14–19 µm, globoides, parede fina, lisa, quase incolor.

Espécimes examinados: em folhas de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae): Parque Ecológico Ermida Dom Bosco, Asa Sul, Brasília, Brasília-Distrito Federal, 25 jul. 2013, leg E.S.C. Souza 201, UB22524; em folhas de *Duguetia furfuracea* (Annonaceae): Vila Bela de Santíssima Trindade, Barra do Garça, Mato Grosso, 18 ago. 2014, leg Z.M. Chaves A161, UB23057.

Aecidium duguetiae é relatada apenas no Brasil, à semelhança de *Dietelia duguetiae* (Thurst.) Buriticá & J.F. Hennen, conforme Buriticá & Hennen (1980). Pendendo revisão adicional *D. duguetiae* será ora tratada como sinônimo de *A. duguetiae*.

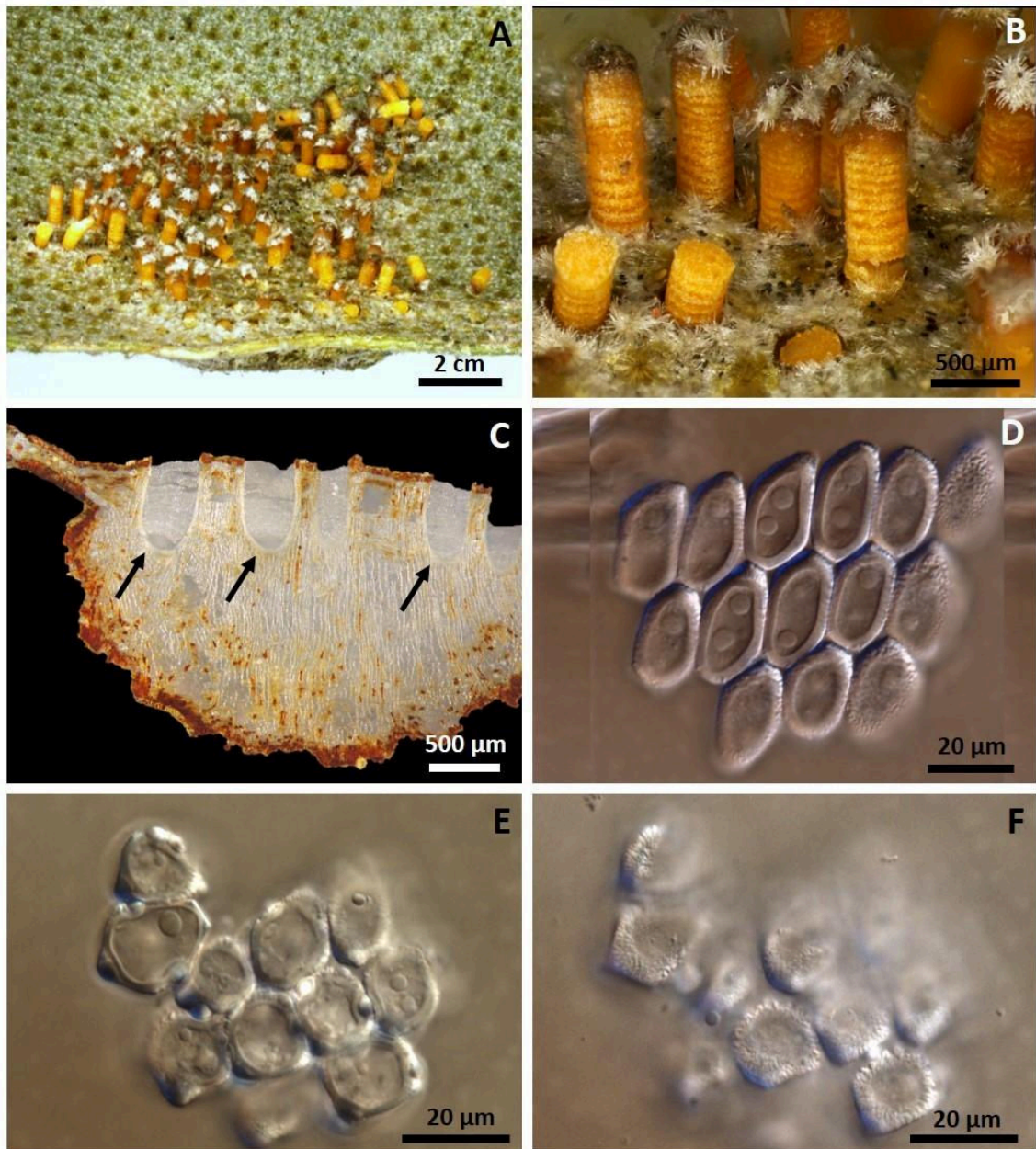


Figura 47. *Aecidium duguetiae* em folhas de *Duguetia furfuraceae*. **A.** Galha recoberta por écios colunares. **B.** Detalhe do formato dos écios. **C.** Corte de uma galha mostrando as bases (setas) de um grupo de écios. **D.** Células do perídio dos écios. **E–F.** Eciósporos em duas profundidades de foco diferentes.

***Uredo* sp. (UB22281) Fig. 48 (A-H)**

Descrição: *Urédios* 320–500 µm de diâmetro, subepidérmicos, hipófilos, eruptivos, com crosta brilhante, dispersos ou gregários, pulverulentos, marrons escuros. *Urediniósporos* 62–78 × 22–30 µm, unicelulares, solitários, obovoides a elipsoides, muitas vezes com um dos lados côncavo, ápice arredondado e papilados, estreitos próximo à base truncada, marrons claros, equinulados, dois a três poros germinativos supraequatoriais, pedicelados; *pedicelos* curtos e decíduos.

Espécime examinado: em folhas de *Pera glabrata* (Peraceae): Jardim Botânico de Brasília, Brasília-Distrito Federal, 25 jul. 2013, leg. E.S.C. Souza 75, UB22281.

Há apenas um relato de membro dos Pucciniales para o gênero *Pera*, a espécie *Maravalia perae* A.A. Carvalho & J.F. Hennen em *Pera* sp. (Carvalho et al. 2009, Farr & Rossman 2016).

Esta espécie apresenta urediniósporos obovoides assimétricos a estreitamente elipsoides, muitas vezes com um lado côncavo, ápice em grande parte papilado, estreitos próximo à base truncada, marrons claros, equinulados, dois a quatro poros germinativos equatoriais e pedicelos curtos e decíduos. Os seus urédios são hipófilos como no material aqui analisado. As características morfológicas da forma uredínica descritas em *M. perae* por Carvalho et al (2009), são exatamente as mesmas do espécime aqui estudado o qual apenas forma urediniósporos um pouco maiores.

Diante disso, pode-se considerar a possibilidade de o espécime aqui estudado pertencer a *M. perae* necessitando de maiores estudos na tentativa de encontrar a forma télica para esclarecer este fato. Além do mais, este estudo se trata do primeiro relato de membro de Pucciniales em *Pera glabrata*.

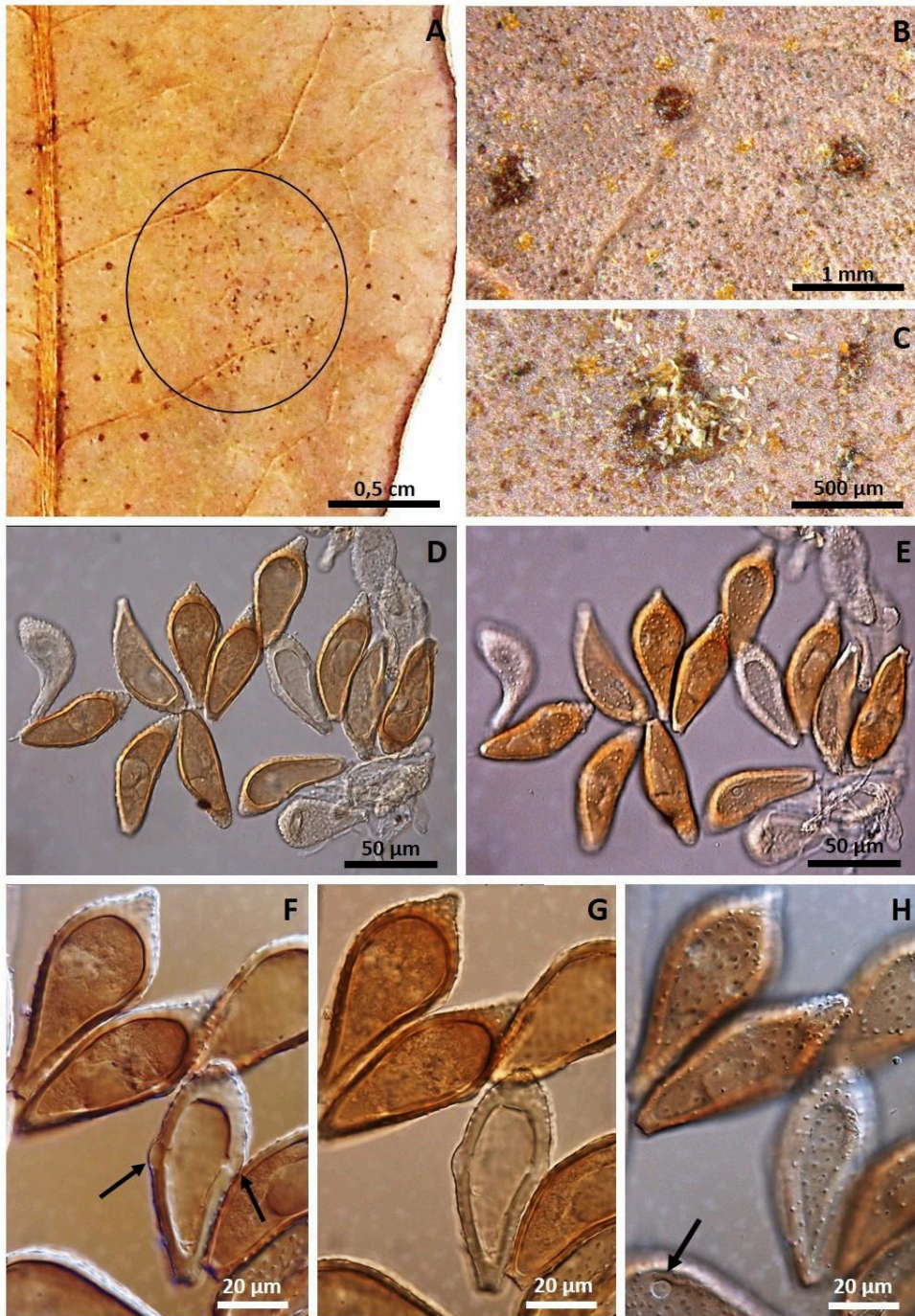


Figura 48. (A–H). *Uredo* sp. em folhas de *Pera glabrata*. A. Sintoma na forma de pontos escuros na face abaxial da folha. B–C. Urédios. D–H. Urediniósporos em diferentes profundidades de foco, com seta indicando poros germinativos equatoriais.

***Uredo* sp. (UB22481) Fig. 49 (A-G)**

Descrição: *Urédios* 100–50 µm de diâmetro, subepidérmicos, hipófilos, eruptivos, dispersos ou gregários, pulverulentos, marrons claros brilhantes, paráfises; *Paráfises* 23–39 × 5–7 µm, cilíndricas, encurvadas, hialinas. *Urediniósporos* 17–28 × 16–25 µm, solitários, reniformes, marrons claros, equinulados, poros germinativos obscuros, pedicelados; *Pedicelos* curtos e decíduos.

Espécime examinado: em folhas de *Pradosia brevipes* (Sapotaceae): Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, próximo ao CEBRASPE, Brasília-Distrito Federal, 21 jun. 2013, leg. E.S.C. Souza 75, UB22481.

Não há nenhum relato de membro de Pucciniales infectando *P. brevipes*, entretanto há espécie de *Catenulopsora* em espécies de *Pouteria* e ambas hospedeiras são da família Sapotaceae (Farr & Rossman 2016, Hennen et al. 2005).

A forma uredínica aqui observada possui as mesmas características da espécie de *Catenulopsora* já relatada no que diz respeito ao formato dos urediniósporos e das paráfises. Sendo assim, o espécime em estudo pode corresponder à forma assexuada de *Catenulopsora* e mais estudos devem ser realizados afim de solucionar essa questão.

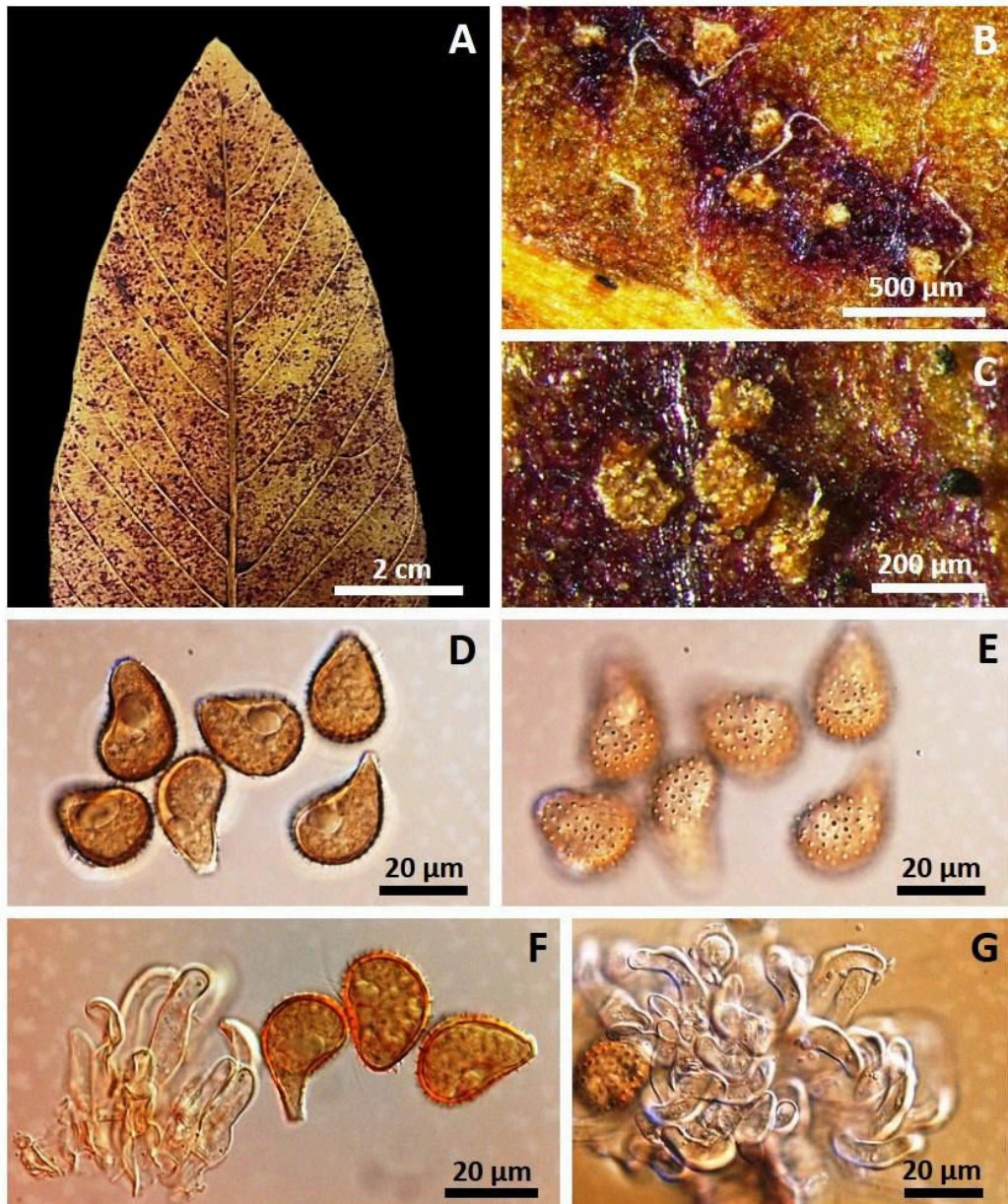


Figura 49. (A–G). *Uredo* sp. em folhas de *Pradosia brevipes*. A. Sintoma na forma de ampla área marrom-avermelhada na face abaxial da folha. B–C. Urédios. D–E. Urediniósporos obpiriformes a reniformes, em duas profundidades de foco diferentes. F. Paráfises ao lado de três urediniósporos. G. Paráfises recurvadas.

***Uredo* sp. (UB22345) Fig. 50 (A-G)**

Descrição: *Urédios* 100–150 μm de diâmetro, tipo subepidérmicos, hipófilos, eruptivos, dispersos ou gregários, pulverulentos, marrons, parafisadas; *Paráfises*, cilíndricas, pouco encurvadas, hialinas. *Urediniósporos* 17–28 \times 16–25 μm , solitários, globoides, marrons claros, equinulados, poros germinativos obscuros, pedicelados; *Pedicelos* decíduos.

Espécime examinado: em folhas de *Solanum* sp. (Solanaceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL-UnB), Brasília-Distrito Federal, 03 set. 2012, leg. E.S.C. Souza 117, UB22345.

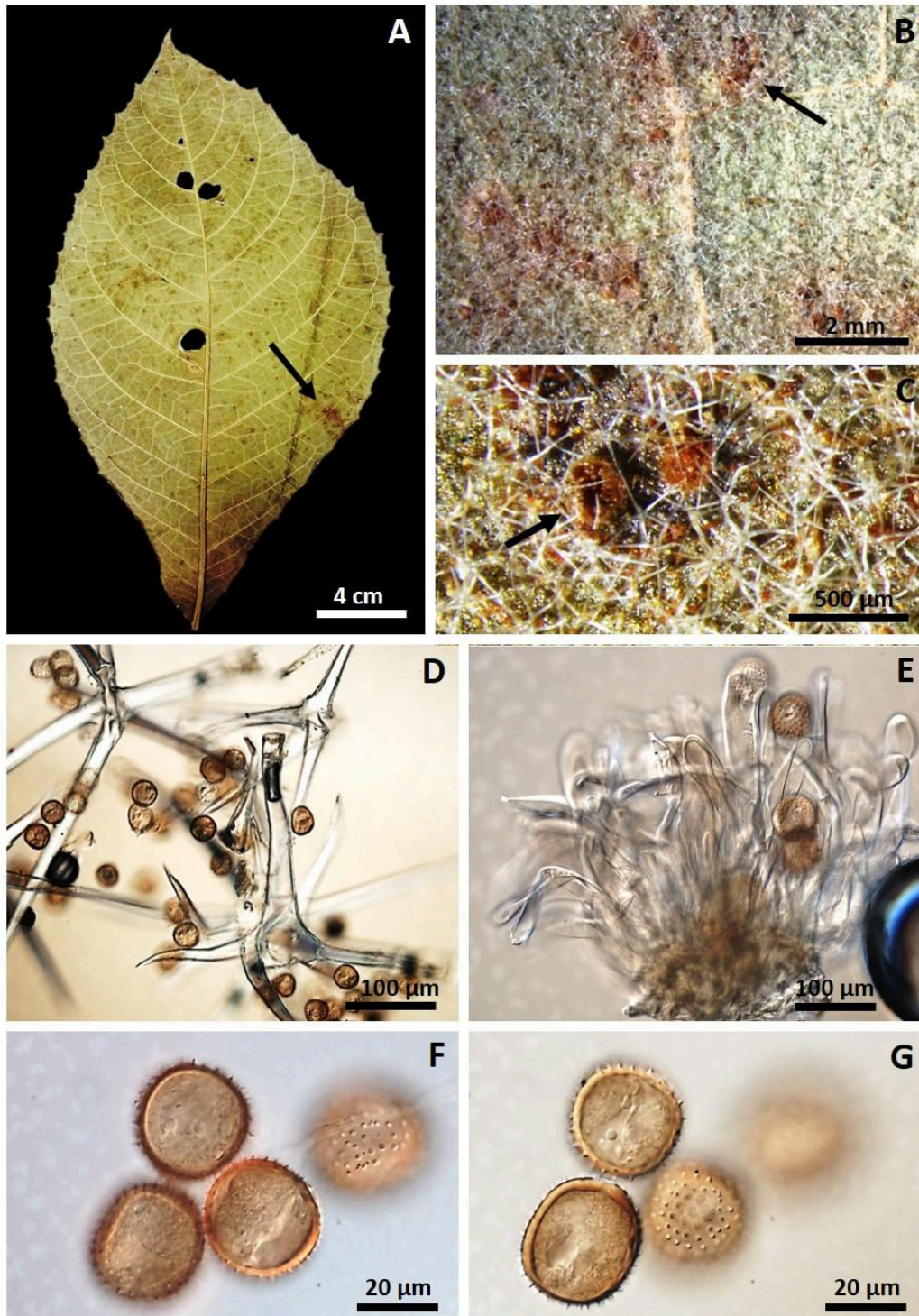


Figura 50. (A–G). *Uredo* sp. (UB 22345) em folhas de *Solanum* sp. A. Sintoma de pontos ferruginosos na face abaxial da folha. **B–C.** Urédios. **D.** Urediniósporos livres entre tricomas. **E.** Paráfises presentes na periferia dos urédios. **F–G.** Urediniósporos vistos em profundidades de foco diferentes, sem revelar os poros germinativos.

Uredo sp. (UB22360) Fig. 51 (A-D)

Descrição: *Urédios* 100–200 μm de diâmetro, tipo subepidérmicos, hipófilos, eruptivos, dispersos ou gregários, pulverulentos, marrons. *Urediniósporos* 26–32 \times 24–26 μm , solitários, predominantemente globosos, marrons claros, equinulados, poros germinativos escuros, pedicelados; *Pedicelos* decíduos.

Espécime examinado: em folhas de *Solanum* sp. (Solanaceae): Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília (FAL-UnB), Brasília-Distrito Federal, 03 set. 2012, leg. E.S.C. Souza 126, UB22360.

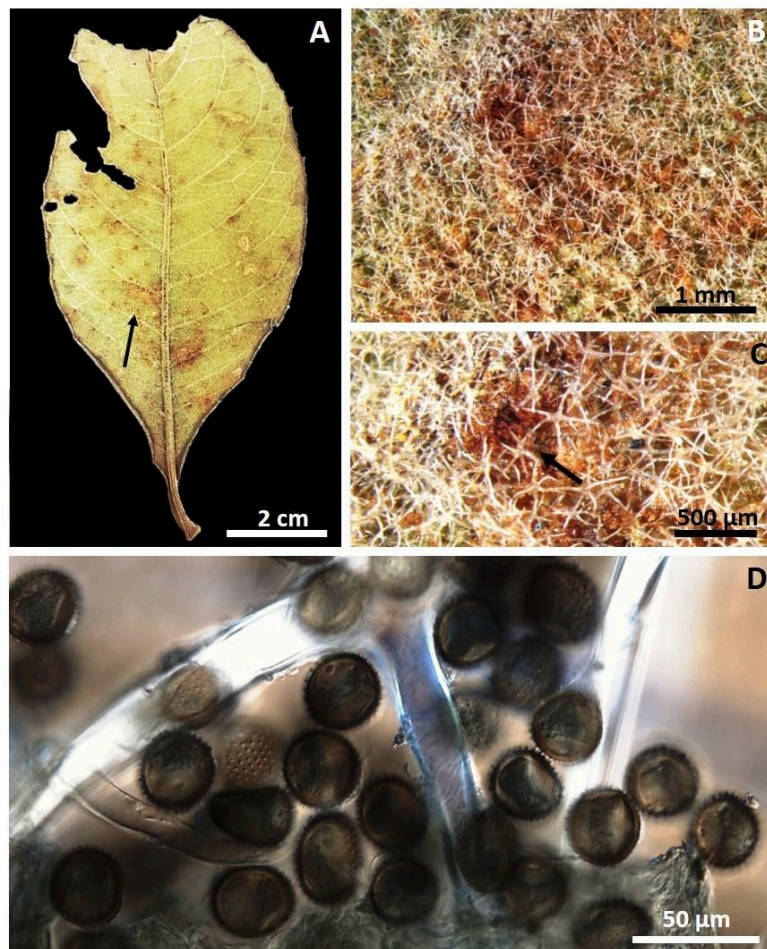


Figura 51. (A–D). *Uredo* sp. (UB22360) em folhas de *Solanum* sp. A. Sintoma na forma de pequenas áreas escurecidas na face abaxial da folha. **B–C.** Urédios aparafisados. **D.** Urediniósporos livres entre tricomas.

Os dois espécimes encontrados em *Solanum* sp. são muito parecidos quanto a forma e distribuição dos urédios e formato dos urediniósporos. Porém, o primeiro forma urédios parafisados. Há vários relatos de membros de Pucciniales em espécies de *Solanum* sp. Entre eles formas assexuadas como algumas espécies de *Aecidium* e de *Uredo*. As espécies de *Uredo* relatadas são: *U. invisa* em *S. fernandezianum* no Chile; *U. minitans* em *S. commersonii* na Argentina; *U. solaninum* em *Solanum* sp. na Tanzânia; *Uredo* sp. em *S. verbascifolium* em Hong Kong e *U. tolimensis* em *Solanum* sp. na Colômbia.

Além disso, algumas espécies em gêneros correspondentes à forma sexuada também foram relatadas em *Solanum* spp. como espécies de *Chrysocyclus*, *Crossopora*, *Didymopsora*, *Puccinia* e *Uromyces* (Farr & Rossman 2016).

REFERÊNCIAS

- Aime MC (2006) Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience*. 47: 112–122.
- Aime MC, Toome M, McLaughlin DJ. 2014. Pucciniomycotina. In: McLaughlin DJ, Spatafora JW, eds. *The Mycota, systematics and evolution*, 2 ed, 7A. Berlin, Germany: Springer-Verlag, in press.
- Arthur JC (1922) Uredinales - Aecidiaceae. *N Am Flora* 7:481–540.
- Arthur JC (1907) Aecidiaceae. *North American Flora*. 7(Part 2): 129-160.
- Arthur JC (1907) Coleosporiaceae. *North American Flora*. 7: 85-95.
- Arthur JC (1912) Uredinales. *North American Flora*. 7: 161-268.
- Arthur JC (1917) Relationship of the genus *Kuehneola*. *Bull. Torrey bot. Club* 44: 501-511.
- Arthur JC, Johnston JR (1918) Uredinales of Cuba. *Memoirs of the Torrey Botanical Club*. 17:97-175.
- Bagyanarayana G, Rao KN (1985) A new species of *Kuehneola* on *Gymnosporia montana* from India. *Canadian Journal of Botany*. 63(4):762-764.
- Beenken L, Berndt R (2010) Rust fungi on Annonaceae: the genus *Sphaerophragmium*. *Mycologia* 102:650–663.
- Beenken L, Zoller S, Berndt R (2012) Rust fungi on Annonaceae II: The genus *Dasyspora*. *Mycologia*.104:659-681.
- Beenken L (2014) Pucciniales on *Annona* (Annonaceae) with special focus on the genus *Phakopsora* *Mycological Progress*. 13:791-809.
- Beenken L, Wood AR (2015) *Puccorchidium* and *Sphenorchidium*, two new genera of Pucciniales on Annonaceae related to *Puccinia psidii* and the genus *Dasyspora*. *Mycological Progress* 14: 1-13.
- Berkeley MJ (1853) *Ravenelia glandulae* formis. *Gardeners' Chronicle*. 1853:132.

- Berkeley MJ (1874) Notices of North American fungi. Grevillea. 3:49-64.
- Berndt R, Beenken L (2013) *Chaconia heliconiae* and *C. chusiae* sp. novae from French Guiana with notes on the genus *Chaconia* (Uredinales) in the neotropics. Mycological Progress. 12:397-401.
- Berndt R (1996) *Diorchidium taiwanensis* sp. nov. (Uredinales) a new *Diorchidium* from Taiwan. Mycotaxon 59:253–257.
- Buriticá CP (1998) La familia Phakopsoraceae en el Neótropico-II. Generos *Arthuria*, *Nothoravenelia*, *Uredopeltis*, *Kweilingia*, *Aplopsora*, y *Pucciniosteles*. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 22: 325-334.
- Buriticá P, Hennen JF (1980) Pucciniosireae (Uredinales, Pucciniaceae). Flora Neotropica 24: 1-48.
- Buys H, Flint H J, Miller EM, Yao H, Caird AR, Ganley R.J (2016) Preparing for the invasion: efficacy of DNA barcoding to discern the host range of myrtle rust (*Puccinia psidii*) among species of Myrtaceae. Forestry, 17.
- Carnegie AJ, Cooper K (2011) Emergency response to the incursion of an exotic myrtaceous rust in Australia. Australasian Plant Pathology 40: 346–359.
- Carnegie AJ, Lidbetter JR, Walker J, Horwood MA, Tesoriero L, Glen M, Priest MJ (2010) *Uredo rangelii*, a taxon in the guava rust complex, newly recorded on Myrtaceae in Australia. Australas Plant Pathol 39:463–466.
- Carvalho AA, Hennen JF (2009) *Maravalia perae*, a new species of rust fungus on *Pera* from Brazil. Mycologia, 101: 239-242.
- Castro MT (2012) Pucciniales em plantas nativas do cerrado brasileiro e em algumas exóticas. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília.

- Chaves ZM, Fonseca MEN, Boiteux LS, Junqueira KP, (2008) First record of *Kernkampella* (Uredinales) in Brazil, and its relationship to *Ravenelia* species. In: 2008 Meetings Mycological Soc. of America, 2008, State College Pennsylvania. Inoculum, 2008.
- Coutinho TA, Wingfield MJ, Alfenas AC, Crous PW (1998) *Eucalyptus* rust: a disease with the potential for serious international implications. Plant Disease 82:819–825.
- Cummins GB, Hiratsuka Y (2003) Illustrated genera of rust fungi. 3 ed. The American Phytopathological Society, St. Paul. 225p.
- Cummins GB, Stevenson JA (1956) A check list of North American rust fungi (Uredinales). U.S.D.A. Plant Disease Reporter. 240 (suppl): 109-193.
- Cummins GB, Y. Hiratsuka (1983) Illustrated genera of rust fungi. Revised Edition. American Phytopathological Society. St. Paul. 152 pp.
- Deadman ML, Al Sadi AM, Al Maqbali YM, Farr DF, Aime MC (2011) Additions to the rust fungi (Pucciniales) from northern Oman. Sydowia 63: 155–168.
- Dianese JC & Santos LTP (1995) *Aplopsora hennenii* sp. nov., the first rust fungus recorded in host-family Vochysiaceae. Mycological Research. 99: 914-916. London.
- Dianese JC Buriticá P, Hennen JF (1994) The rust of jatobá: a new *Crossopsora* species from Neotropical on *Hymenaea* (Leguminosae). Fitopatologia Brasileira. 19: 588-591.
- Dianese JC, Medeiros RB, Santos LTP, Furlanetto C, Sanchez M & Dianese AC (1993) *Batistopsora* gen. nov. and new *Phakopsora*, *Ravenelia*, *Cerotelium*, and *Skierka* species from the Brazilian cerrado. Fitopatologia Brasileira 18:436-450.
- Dianese JC, Medeiros RB, Santos LTP (1992) *Cerradoa palmaea* Hennen & Ono found in two new hosts, *Syagrus commosa* (Mart.) Mart. and *S. flexuosa* Becc. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 1992. Fitopatologia Brasileira. (Suplemento): 123.
- Dianese JC, Medeiros RB, Santos LTP, Furlanetto C, Sanchez M, Dianese AC (1993) *Batistopsora* gen. nov. and new *Phakopsora*, *Ravenelia*, *Cerotelium*, and *Skierka* species from the Brazilian cerrado. Fitopatologia Brasileira. 18: 436-450.

- Dianese JC, Santos LTP, Medeiros RB, Sanchez M (1994) *Mimema venturae* sp. nov. on *Dalbergia miscolobium* in Brazil. Mycological Research. 98:786-788.
- Dietel P (1894) Die Gattung *Ravenelia*. Hedwigia 33: 22-48.
- Dodge BO (1925) Organization of the telial sorus in the pine rust *Gallowaya pinicola*. Journal Agriculture Reserch. 31: 641-651.
- Eboh DO (1985). A re-evaluation of *Ypsilospora*. Transactions of the British Mycological Society. 85(1): 39-64.
- Farr DF, Rossman AY (2016) Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Access in July 2016, available at <http://nt.arsgrin.gov/fungal-databases/>.
- Figueiredo MB, L Coutinho, J F Hennen (1984) Estudo para determinação do ciclo vital de *Puccinia psidii* Winter. Summa Phytopathologica 10: 53-54. (Abstracts).
- Gallegos ML, Cummins GB (1981) Uredinales (Royas) de Mexico. Vol. 2. Culiacan, Mexico. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas.
- Hennen J, M Hennen, M Figueiredo. 1982. Índice das ferrugens (Uredinales) do Brasil. Arquivos do Instituto Biológico. (São Paulo) 49: 1-201.
- Hennen JF, Cummins GB (1990) New species and nomenclature of *Ravenelia* in Neotropical. Reports of the Tottori Mycological Institute. 28:1-14.
- Hennen JF, Figueiredo MB, Carvalho Jr AA (2000) *Esalque holwayi*, gen.et comb. nov., a rust of Brazilian ironwood (*Caesalpinia* species). Mycologia 92: 312-316.
- Hennen JF, Sotão HMP, Winkler Hennen MM (1998) The genus *Diorchidium* in the Neotropics. Mycologia 90:1079–1086.
- Hennen JF, Sotão HMP (1996) New species of Uredinales on Bignoniaceae from Brazil. Sida 17:173-184.

- Hennen JF, Y Ono (1978) *Cerradoa palmaea*: The first rust fungus on *Palmae*. *Mycologia* 70: 569.
- Hennen JF, Figueiredo MB, Carvalho Jr. AA, Hennen PG (2005) Catalogue of plant rust fungi (Uredinales) of Brazil.
- Hernández JR, Hennen JF (2003) Rust fungi causing witches' brooms, and other abnormal plant growths in northwest Argentina. *Mycologia* 95: 728-725.
- Hiratsuka Y, Hiratsuka N (1980) "family classification" spermogonia.
- Hyde KD, Nilsson RH, S Alias A, Ariyawansa AH, Blair E, et al. (2014) One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014). *Fungal Diversity* 67: 21–125.
- Index Fungorum (2016) Disponível em: www.indexfungorum.org. Acessado em dezembro de 2016.
- Hennen JF, Ono Y (1978) *Cerradoa palmaea*: the first rust fungus on *Palmae*. *Mycologia* 70: 569-576.
- Jackson HS (1931) The rusts of South America based on the Holway collections. *Mycologia* 23:463–503.
- Juel HO (1897) Die Ustilagineen und Uredineen der Ersten Regnell's Expedition. *Bih. K. svenska VetenskAkad. Handl., Afd. 3* 23: 1-30.
- Kalchbrenner C, Cooke MC (1882) Fungi Macowaniani. *Grevillea* 11: 18–27.
- Kalchbrenner C (1882) Fungi macowaniani. *Grevillea* 11:18-27.
- Kawanishi T, Uematsu S, Kakishima M, Kagiwada S, Hamamoto H, Horie H, Namba S (2009) First report of rust disease on ohia and the causal fungus, *Puccinia psidii*, in Japan. *J Gen Plant Pathol* 75:428–443.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA (2008) Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi. 10th ed. Wallingford, CAB International.

- Kropp BR, Hansen DR, Wolf PG, Flint KM, Thomson SV (1997) A study on the phylogeny of the dyer's woad rust fungus and other species of *Puccinia* from Crucifers. *Phytopathology* 87: 565–571.
- Lohsomboon P, Kakishima OY (1992) A monograph of *Hapalophragmium*. *Mycological Research* 96: 461–472.
- López-Franco RM, Hennen JF (1989) The slit and other sorts of metabasidia exits in rust fungi probasidia. *Mycological Society of America Newsletter*. 40: 37.
- Machado PDS, Glen M, Pereira OL, Silva AA, Alfenas AC (2015) Epitypification of *Puccinia psidii*, causal agent of guava rust. *Tropical Plant Pathology*. 40: 5-12.
- Maier W, Begerow D, Weiss M, Oberwinkler F (2003) Phylogeny of the rust fungi: an approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany* 81: 12–23.
- Mains EB (1921) Unusual rusts on *Nyssa* and *Urticastrum*. *American Journal Botanic*. 8: 442-451.
- Mains EB (1939 b) The genera *Skierka* and *Ctenoderma*. *Mycologia*. 31: 175-190.
- Marlatt RB, Kimbrough JW (1979) *Puccinia psidii* on *Pimento dioica* in south Florida. *Plant Disease* 68:510–512.
- McNeill J, Barrie FR, Buck WR, Demoulin V, Greuter W, Hawksworth DL, Herendeen PS, Knapp S, Marhold K, Prado J, Prud'homme Van Reine WF, Smith GF, Wiersema JH, Turland NJ (2012) International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Melbourne Code) adopted by the eighteenth international botanical congress Melbourne, Australia, July 2011. *Regnum Vegetabile* 154. Hamburg, Germany. Koeltz scientific books.
- McTaggart AR, Geering ADW, Shivas RG (2014) *Uredinopsis pteridis* and *Desmella aneimiae*, the first rust fungi (Pucciniales) reported on ferns (Pteridophyta) in Australia. *Australasian Plant Disease Notes* 9: 149.

- McTaggart AR, Shivas RG, Nest MA, Roux J, Wingfield BD, Wingfield MJ (2016) Host jumps shaped the diversity of extant rust fungi (Pucciniales). *New Phytologist* 209: 1149-1158.
- Mendes MAS, Silva VL, Dianese JC, Ferreira MASV, Santos CEN, Gomes-Neto E, Urban AF, Castro C (1999) *Fungos em Plantas no Brasil*. Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasília, 555 pp.
- Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS (1995) Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 87: 223-238.
- Mycobank (2016) Mycobank database. Disponível em: <http://www.mycobank.org/>. Acessado em agosto de 2016.
- Ono Y, Hennen JF (1983) Taxonomy of the chaconiaceous genera, Uredinales. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 24: 369-402.
- Ono Y (1978) Taxonomic Revision of the tribe Oliveae and morphologically related genera (Uredinales). Ph. D. Thesis, Purdue University. 254.
- Rezende DV, Dianese JC (2001) New species of *Ravenelia* from Brazilian Cerrado areas. *Fitopatologia Brasileira*, SBF. 26: 627-634. Fortaleza.
- Rezende DV, Dianese JC (2003) Espécies de *Uromyces* em Leguminosae do Cerrado com descrição de *U. galactiae*. *Fitopatologia Brasileira*. 28: 495-501. Fortaleza, Ceará.
- Rezende DV, Dianese JC (2002) Aspectos taxonômicos de Uredinales infectando leguminosas utilizadas na arborização urbana do Distrito Federal. *Fitopatologia Brasileira*. 27: 361-371. Brasília, DF.
- Rezende DV (1999) Taxonomia de Uredinales em plantas da Família Leguminosae do Cerrado Brasileiro. Tese de doutorado. Universidade de Brasília. Brasília.
- Rodas CA, Roux J, Maier W, Granados GM, Bolaños MD, McTaggart AR, Wingfield MJ (2015) First report of *Puccinia psidii* on *Corymbia citriodora* and *Eucalyptus* in Colombia. *Forest Pathology*. 45: 534-536.

- Roux J, Greyling I, Coutinho TA, Verleur M, Wingfield MJ (2013) The myrtle rust pathogen, *Puccinia psidii*, discovered in Africa. *IMA Fungus* 4:155–159.
- Simpson JA, Thomas K, Grgurinovic CA (2006) Uredinales species pathogenic on species of Myrtaceae. *Australasian Plant Pathology* 35: 549–562.
- Sotão HMP, França IF, Hennen JF (2006) Fungos das famílias Phakopsoraceae e Uropyxidaceae (Uredinales) da Floresta Nacional de Caxiuanã, Pará, Brasil. *Hoehnea*. 33: 407-417.
- Souza ESC, Chaves ZM, Soares WR, Pinho DB, Dianese JC (2015) *Uromyces hawksworthii* nom. nov. for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado. *IMA fungus* 6: 155-162.
- Thirumalachar MJ, Mundkur BB (1950) Genera of rusts. *Indian Phytopathology*. 3, 4-42. 203-204.
- Thirumalachar MJ (1960) Critical notes on some plant rusts. III. *Mycologia*. 52: 688–693.
- Tommerup IC, Alfenas AC, Old KM (2003) Guava rust in Brazil - a threat to *Eucalyptus* and other Myrtaceae. *N Z J For Sci* 33:420–428
- Uchida J, Zhong S, Killgore E (2006) First report of a rust disease on Ohi'a caused by *Puccinia psidii* in Hawaii. *Plant Dis* 90:524.
- Viégas A P (1945) Alguns fungos do Brasil IV. Uredinales. *Bragantia*. 5: 1-144.
- Viégas AP (1961) Índice de Fungo da América do Sul. Instituto Agronômico, Campinas, São Paulo, Brasil. 921.
- Walker J (1983) Pacific mycogeography: deficiencies and irregularities in the distribution of plant parasitic fungi. *Aust J Bot Suppl Ser* 10:89–136.
- Wingfield GD, Ericson L, Szaro T, Burdon JJ (2004) Phylogenetic patterns in the Uredinales. *Australasian Plant Pathology*. 33: 327–335.
- Winter G (1884) Repertorium. Rabenhorstii fungi europaei et extraeuropaei exsiccati cura Dr. G. Winter, Centuria XXXI et XXXII. *Hedwigia* 23:164–172

Zhuang J-Y, Wei S-X (2011) Additional materials for the rust flora of Hainan Province, China. *Mycosystema* 30:853–860

Zuluaga C, Buriticá P & Marín M. 2011. Filogenia de hongos roya (Uredinales) en la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del ADN ribosomal 28S. *Revista de Biología Tropical*. 59: 517-5402011 San José, Costa Rica.

CAPÍTULO 2

RELACIONAMENTO FILOGENÉTICO DE ALGUNS PUCCINIALES DO CERRADO

RESUMO

A ordem Pucciniales é um componente importante da micobiota do cerrado brasileiro, entretanto pouco se sabe sobre a sua diversidade e as informações obtidas até o momento são baseadas principalmente em características morfológicas. Os estudos envolvendo análises filogenéticas de fungos causadores de ferrugens no cerrado é escasso. Com o objetivo de compreender as relações filogenéticas desse grupo, foram caracterizadas molecularmente 36 espécies de Pucciniales, entre formas sexuadas e assexuadas, coletadas nos estados de Goiás, Mato Grosso, Maranhão, Minas Gerais e no Distrito Federal. Neste estudo a família Pucciniaceae é representada por sete espécies sendo cinco *Puccinia* spp. e duas *Uromyces* spp., com hospedeiras das famílias Annonaceae, Myrtaceae, Malpighiaceae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Sapindaceae e Loranthaceae; Phakopsoraceae com sete espécies dos gêneros *Phakopsora* (três espécies), *Batistopsora* (uma espécie), *Catenulopsora* (uma espécie) e *Crossopsora* (duas espécies) encontradas em Annonaceae, Sapotaceae, Malpighiaceae, Fabaceae, Clusiaceae e Combretaceae; Raveneliaceae com seis espécies dos gêneros *Ravenelia* (três espécies), *Sphaerophragmium* (uma espécie), *Diorchidium* (uma espécie) e *Esalque* (uma espécie), todas em hospedeiras da família Fabaceae; Uropyxidaceae com cinco espécies distribuídas nos gêneros *Dasyspora* (uma espécie), *Kimuromyces* (uma espécie), *Mimema* (uma espécie), *Porotenus* (uma espécie) e *Prospodium* (uma espécie), ocorrendo em Annonaceae, Anacardiaceae, Fabaceae e Bignoniaceae; Chaconiaceae com três espécies sendo uma *Aplopsora* e duas em *Chaconia*, , encontradas em Vochysiaceae e Fabaceae;

Pileolariaceae apenas com uma espécie de *Skierka*, parasita em pindaceae. Além disso, foram incluídas uma espécie de *Desmella* sobre Pteridophyta da família Thelypteridaceae, *Cerradoa palmaea* em *Syagrus* (Arecaceae), uma espécie de *Aecidium* e 4 de *Uredo* em plantas das famílias Annonaceae, Lauraceae, Solanaceae e Sapotaceae. A análise filogenética foi realizada com base na região 28S do rDNA por meio de Inferência Bayesiana envolvendo os espécimes coletados e aqueles filogeneticamente relacionados disponíveis no GenBank. Esta é a primeira vez que foi realizado um estudo baseado em análises filogenéticas de Pucciniales do cerrado envolvendo membros de várias famílias. Neste estudo foi esclarecido de forma inédita a caracterização molecular de vários espécimes pertencentes à ordem Pucciniales encontrados em plantas endêmicas e introduzidas no cerrado, enriquecendo o banco de dados do NCBI e contribuindo para o estudo e compreensão da filogenia da ordem em estudos posteriores. De forma geral, os dados obtidos possibilitaram o entendimento do posicionamento filogenético de alguns grupos em níveis de gênero e espécies como o caso de membros da família Phakopsoraceae. No presente estudo a maioria das famílias de Pucciniales como Pucciniaceae, Raveneliaceae, Uropyxidaceae e Phakopsoraceae se mostraram polifiléticas, entretanto, os dados obtidos não foram suficientes para o esclarecimento das relações filogenéticas dos fungos causadores de ferrugens no cerrado quanto à alocação no nível de ordem, havendo a necessidade de aprofundamento das análises.

Palavras chave: Análise Filogenética, Ferrugens, LSU, Micodiversidade, Savana Brasileira

INTRODUÇÃO

Apesar de ser o maior grupo de fungos representados para o Cerrado pouco se sabe sobre a diversidade de Pucciniales neste bioma. As informações que se tem são baseadas quase que exclusivamente em estudos envolvendo a caracterização morfológica, com raros estudos envolvendo a filogenia molecular. Entre as contribuições existentes podem-se citar os trabalhos de Beenken (2012) e Beenken *et al.* (2014) na identificação e caracterização filogenética de fungos causadores de ferrugem em plantas hospedeiras da família Annonaceae sendo algumas espécies de *Xylopi* sp. e *Annona* sp., encontradas em regiões do Cerrado brasileiro nos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo, Tocantins e no Distrito Federal. Beenken *et al.* (2012) e Beenken (2014) separaram espécies de *Dasyscypha* e *Phakopsora*, parasitas de Annonaceae, através da análise conjunta da região ITS (internal transcribed spacer region) e do gene para CO3 (mitochondrial cytochrome oxidase subunit 3).

Recentemente, Souza *et al.* (2015), identificaram molecularmente e morfológicamente uma espécie de *Uromyces*, até então, conhecida apenas em sua fase assexuada (*Aecidium goyazense*). Foi caracterizada a fase teleomórfica, uma espécie de *Uromyces* encontrada causando galhas em uma planta hemiparasita (*Phthirusa stelis* -Loranthaceae) comum no Cerrado. A análise filogenética foi realizada com base na região 28S do rDNA, uma região atualmente recomendada no estudo de fungos que causam ferrugens (Hyde 2014).

Tradicionalmente, a taxonomia dos fungos causadores de ferrugem foi baseada no estudo de caracteres morfológicos (Cummins & Hiratsuka 2003, Hennen *et al.* 2005), entretanto estudos filogenéticos recentes baseados no rDNA e alguns genes nucleares (Maier *et al.* 2003, Wingfield *et al.* 2004, Aime 2006, Bauer *et al.* 2006, van Der Merwe *et al.* 2007, Dixon *et al.* 2010, Zualaga *et al.* 2011, Beenken *et al.* 2012, Beenken 2014, Beenken & Wood

2015), contribuíram para o esclarecimento dessas relações em diversos níveis hierárquicos de classificação taxonômica.

As relações filogenéticas dentro do grupo não estão consolidadas. Um dos primeiros trabalhos sobre filogenia dos fungos causadores de ferrugem (Maier et al. 2003) baseou-se na comparação de sequências da região 28S do rDNA. Nesta análise foram incluídos 52 espécimes pertencentes a várias famílias da ordem por meio da Inferência Bayesiana. Com isso os autores confirmaram a existência de um ancestral comum para os membros dos gêneros *Puccinia*, *Uromyces*, *Endophyllum* e *Cumminsella*. Os Pucciniales autoécios infectando Rosaceae como *Phragmidium*, *Kuehneola*, *Triphragmium* e *Trachyspora* formaram também um grupo monofilético. O gênero *Ochropsora* foi filogeneticamente relacionado com *Tranzschelia*. Pucciniastraceae *sensu* Dietel (1938) se mostrou monofilético e próximo de Pucciniaceae *s.l.* (Dietel 1928). Neste estudo (Maier et al. 2003), previam-se que os gêneros *Chrysomyxa*, *Coleosporium*, *Cronartium*, *Gymnosporangium*, *Melampsora*, *Phragmidium* e *Tranzschelia* seriam monofiléticos, ao contrário de *Puccinia*, *Pucciniastrum*, *Thekopsora* e *Uromyces* de filogenia polifilética.

Estudos envolvendo filogenia da ordem Pucciniales em grande escala foram pioneiramente desenvolvidos por Wingfield et al. (2004) utilizando amostras de vários locais do mundo, mas principalmente de regiões de clima temperado. Este estudo foi baseado em dados da região 18S do rDNA utilizando Máxima Parcimônia e mostrou a evidente divisão entre espécimes com estágios eciais em hospedeiras gimnospermas e aquelas com esta mesma fase em angiospermas. Os dados obtidos, mostraram que famílias taxonomicamente definidas por meio da morfologia estavam de acordo com a taxonomia preestabelecida por Cummins & Hiratsuka (2003), uma vez que, dentro dos clados houveram evidências morfológicas e congruência entre as famílias. Os gêneros *Racospermyces*, *Maravalia*, *Hemileia* e *Caeoma* se mostraram basais para a principal sub-divisão filogenética e, provavelmente, representavam a

forma mais antiga das linhagens de fungos causadores de ferrugem. Usando esses dados de sequências, estimaram que as ferrugens divergiram em torno de seus parentes mais próximos a 150 milhões de anos atrás.

Aime (2006) no sentido de resolver as relações em nível de família dos fungos causadores de ferrugem utilizaram dois genes do rDNA (18S e 28S) para resolver alguns conflitos e estruturar a sistemática. Nesta análise três suborders de ferrugens foram reestabelecidas e das 13 famílias amplamente aceitas pela morfologia, 8 foram suportadas no todo ou parcialmente (Coleosporiaceae, Melampsoraceae, Mikronegeriaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae, Pucciniaceae, Raveneliaceae), 3 foram redundantes (Cronartiaceae, Pucciniastraceae, Puccinosiraceae), e a situação de 2 (Chaconiaceae, Uropyxidaceae) não pôde ser resolvida. A família Mikronegeriaceae e *Caeoma torreyae* se mostraram como basais. Aime (2006) concluiu que a morfologia por si só não possibilita o estabelecimento das relações de Pucciniales em níveis hierárquicos mais elevados como famílias e, por outro lado, a especificidade de hospedeira tem desempenhado um papel significativo na evolução dos fungos causadores de ferrugens.

Zualaga et al. (2008) realizaram uma importante revisão sobre aspectos gerais dos fungos causadores de ferrugem e atentaram sobre a necessidade do estudo desse grupo fúngico em termos filogenéticos, principalmente nas regiões tropicais, consideradas como as maiores em concentração de diversidade de plantas hospedeiras e conseqüentemente espécies fúngicas devido ao clima favorável que contribui para o desenvolvimento de todos os estágios do ciclo de vida.

Zualaga et al. (2011), com base em dados da região 28S (especificamente domínios D1/D2) em análise sob Máxima Parcimônia, fizeram um estudo sobre a relação filogenética de membros de Pucciniales em diferentes regiões da Colômbia e os resultados sustentaram a validade taxonômica das famílias Pucciniaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae,

Pileolariaceae, Mikronegeriaceae, Coleosporiaceae e Cronartiaceae, enquanto Puccinosiraceae representa um grupo redundante com Pucciniaceae. As análises indicaram que Uropyxidaceae, Raveneliaceae, Chaconiaceae e Pucciniastraceae correspondem a famílias polifiléticas. Melampsoraceae formou um grupo basal para os Pucciniales. Eles sugeriram análises adicionais com uma maior quantidade de sequências de fungos causadores de ferrugem tropicais dentro de esforços globais para redefinir a taxonomia da ordem Pucciniales. Além disso, propuseram priorizar estudos filogenéticos de gêneros que incluem um grande número de espécies de fungos causadores de ferrugem nos trópicos como: *Gerwasia*, *Hemileia*, *Phragmidium*, *Prospodium*, *Puccinia* e *Uromyces*.

Conforme já mostrado o estudo da filogenia da ordem Pucciniales para o esclarecimento das relações filogenéticas entre famílias tem sido realizado com o uso de regiões gênicas do rDNA (18S e 28S) por serem mais conservadas, permitindo a comparação entre grupos filogeneticamente distantes.

Se tratando do estudo filogenético para a discriminação em nível de gêneros e espécies, além das regiões mencionadas, são utilizadas também outras regiões com melhor sinal filogenético como β -tubulina, Fator de Elongação, ITS e CO3 do mDNA, permitindo uma separação robusta a nível específico e distinção intraespecífica.

A exemplo temos o trabalho recente de McTaggart et al (2016) que utilizaram, além das regiões 18S e 28S do rDNA, a região CO3 do mDNA para determinar membros de Pucciniales em níveis de família, gêneros e espécies e analisar a co-evolução entre essas taxa com os seus respectivos hospedeiros. Neste trabalho foi observado que a colonização dos fungos causadores de ferrugem em hospedeiras alternativas pode ter contribuído para a especiação de muitos membros de Pucciniales e que a maioria pode ter co-evoluído juntamente com seus hospedeiros.

Maier et al. (2007) e Van Der Merve et al. (2007, 2008) determinaram que os gêneros *Puccinia* e *Uromyces* são polifiléticos com base em sequências parciais das regiões β -tubulina e Fator de Elongação e, além disso, analisaram a co-evolução destes gêneros com seus grupos de hospedeiros considerando a alternância dos mesmos, o que, muitas vezes, dificulta o entendimento desta relação.

Yang et al. (2015) usaram sequências de 28S e de ITS para discriminar e publicar novas espécies de *Thekopsora* em *Cornus* (Cornaceae) na China e Padamsee & Mckenzie (2015) determinaram uma nova espécie, *Pucciniastrum myosotidii* encontrada em *Myosotidium hortensium*, baseados nas regiões 18S e 28S.

Considerando a importância desses fungos não somente por infectar plantas nativas do Cerrado e outros biomas, como também causando grandes problemas em plantas cultivadas, é imprescindível que seja realizado um estudo filogenético dos Pucciniales brasileiros nos moldes do que foi feito por Zualaga *et al.* (2011) para a Colômbia.

Assim, o presente trabalho, se constituiu em uma tentativa de se proceder uma ampla análise filogenética de um grupo de Pucciniales, representativos da ordem no Cerrado.

MATERIAL E MÉTODOS

Todas as plantas com sintomas típicos de ferrugens foram coletadas durante as expedições realizadas em áreas do Cerrado Brasileiro. Os espécimes primeiramente foram caracterizados e identificados morfológicamente (capítulo 1) e somente amostras com DNA de boa qualidade foram utilizadas nas análises filogenéticas.

Um total de 64 espécimes de Pucciniales do Cerrado foram selecionados para compreensão do relacionamento filogenético, incluindo fungos na sua forma assexuada e sexuada distribuídos em seis famílias diferentes (Chaconiaceae, Phakopsoraceae, Pileolariaceae, Pucciniaceae, Raveneliaceae e Uropyxidaceae). Entre os 64 taxa, alguns pertencem a mesma espécie coletada em períodos ou localidades diferentes. No total, 36 espécies distintas foram coletadas nos estados de Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Minas Gerais e no Distrito Federal (Tabela 1).

A Tabela 1 contém as informações (espécie, hospedeira e código de acesso) dos espécimes coletados no Cerrado e os códigos de acesso das sequências da região parcial do 28S do rDNA obtidos no GenBank para a análise filogenética.

A análise foi baseada em Inferência Bayesiana (IB), envolvendo 122 OTUs, sendo 65 taxa de espécimes coletados no Cerrado e 57 cujas sequências foram obtidas do GenBank. A árvore filogenética foi enraizada com *Platygløea disciformis*, um basidiomiceto da ordem Platygløelales (Figura 2).

Tabela 1. Espécies de Pucciniales do Cerrado e todas as outras espécies incluídas neste estudo utilizados na análise filogenética.

Espécies	Hospedeira (Família)	Nº de acessos da CMHUB	Nº de acessos do GenBank (LSU)*	Fonte/País
<i>Aecidium duguetiae</i>	<i>Duguetia furfuracea</i> (Annonaceae)	UB22524	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Aecidium duguetiae</i>	<i>Duguetia furfuracea</i> (Annonaceae)	UB23057	○	Presente estudo/Brasil (MT)
<i>Aecidium kalanchoes</i>	<i>Kalanchoe blossfeldiana</i> (Crassulaceae)	●	AY463163	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Aplopsora hennenii</i>	<i>Qualea multiflora</i> (Vochysiaceae)	UB23329	○	Presente estudo/Brasil (MG)
<i>Aplopsora hennenii</i>	<i>Qualea multiflora</i> (Vochysiaceae)	UB22895	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Batistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona tomentosa</i> (Annonaceae)	●	KF528024	Beenken 2014/Brasil (MG)
<i>Batistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona tomentosa</i> (Annonaceae)	UB22180	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Batistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona tomentosa</i> (Annonaceae)	UB22266	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Batistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona</i> sp. (Annonaceae)	●	DQ354539	Aime 2006/Guiana
<i>Batistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona tomentosa</i> (Annonaceae)	●	KF528021	Beenken 2014/Brasil (MG)
<i>Batistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona tomentosa</i> (Annonaceae)	●	KF528020	Beenken 2014/Brasil (MT)
<i>Batistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona tomentosa</i> (Annonaceae)	●	KF528022	Beenken 2014/Brasil (MG)
<i>Batistopsora pistilla</i>	<i>Annona spraguei</i> (Annonaceae)	●	KF528029	Beenken 2014/Panamá
<i>Catenulopsora henneneae</i>	<i>Pouteria torta</i> (Sapotaceae)	UB22260	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Cerradoa palmaea</i>	<i>Syagrus flexuosa</i> (Arecaceae)	UB23089	○	Presente estudo/Brasil (MT)
<i>Chaconia brasiliensis</i>	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Fabaceae)	UB22333	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Chaconia brasiliensis</i>	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Fabaceae)	UB22270	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Chaconia ingae</i>	<i>Inga sessilis</i> (Fabaceae)	UB22559	○	Presente estudo/Brasil (GO)
<i>Chrysomyxa ledi</i>	<i>Picea abies</i> (Pinaceae)	●	AF426246	Maier <i>et al.</i> 2003/Alemanha

<i>Coleosporium plumeriae</i>	<i>Plumeria rubra</i> (Apocynaceae)	•	KM249866	Mc Taggart <i>et al.</i> 2014/Austrália
<i>Coleosporium solidaginis</i>	<i>Solidago</i> sp. (Asteraceae)	•	DQ354559	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Cronartium ribicola</i>	<i>Ribes</i> sp. (Grossulariaceae)	•	DQ354560	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Crossopora byrsinimatis</i>	<i>Byrsinima pachyphylla</i> (Malpighiaceae)	UB22344	○	Presente estudo/Brasil (MA)
<i>Crossopora byrsinimatis</i>	<i>Byrsinima coccobifolia</i> (Malpighiaceae)	UB22259	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Crossopora byrsinimatis</i>	<i>Byrsinima crassa</i> (Malpighiaceae)	UB22384	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Crossopora byrsinimatis</i>	<i>Byrsinima laxiflora</i> (Malpighiaceae)	UB22202	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Crossopora byrsinimatis</i>	<i>Byrsinima pachyphylla</i> (Malpighiaceae)	UB22345	○	Presente estudo/Brasil (MA)
<i>Crossopora byrsinimatis</i>	<i>Byrsinima verbascifolia</i> (Malpighiaceae)	UB22347	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Crossopora hymenaeae</i>	<i>Hymenaeae stignocarpa</i> (Fabaceae)	UB22262	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Crossopora hymenaeae</i>	<i>Hymenaeae stignocarpa</i> (Fabaceae)	UB22349	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Cumminsiiella mirabilissima</i>	<i>Mahonia aquifolium</i> (Berberidaceae)	•	DQ354531	Aime <i>et al.</i> 2006/Alemanha
<i>Dasympora amazônica</i>	<i>Xylopia amazonica</i> (Annonaceae)	•	JF263460	Beenken <i>et al.</i> 2012/Brasil
<i>Dasympora emarginatae</i>	<i>Xylopia emarginata</i> (Annonaceae)	•	JF263465	Beenken <i>et al.</i> 2012/Brasil
<i>Dasympora gregária</i>	<i>Xylopia cayennensis</i> (Annonaceae)	•	JF263477	Beenken <i>et al.</i> 2012/Guiana Francesa
<i>Dasympora gregaria</i>	<i>Xylopia aromatica</i> (Annonaceae)	UB22371	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Dasympora guianensis</i>	<i>Xylopia benthamii</i> (Annonaceae)	JF263479	JF263479	Beenken <i>et al.</i> 2012/Guiana Francesa
<i>Dasympora mesoamericana</i>	<i>Xylopia frutescens</i> (Annonaceae)	JF263480	JF263480	Beenken <i>et al.</i> 2012/Panamá
<i>Dasympora segregaria</i>	<i>Xylopia aromatica</i> (Annonaceae)	JF263488	JF263488	Beenken <i>et al.</i> 2012/Panamá
<i>Dasympora winteri</i>	<i>Xylopia sericea</i> (Annonaceae)	JF263492	JF263492	Beenken <i>et al.</i> 2012/Brasil
<i>Desmella</i> sp.	<i>Thelypteris</i> sp. (Thelypteridaceae)	UB222553	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Dietelia portoricensis</i>	<i>Mikania micrantha</i> (Asteraceae)	•	DQ354516	Aime 2006/Costa Rica
<i>Diorchidium copaiferae</i>	<i>Copaifera langsdorffii</i> (Fabaceae)	UB22385	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Endoraeicum falciforme</i>	<i>Acacia falciformis</i> (Fabaceae)	•	KJ862307	Mc Taggart <i>et al.</i> 2014/Austrália
<i>Esalque holwayi</i>	<i>Poincianella ferrea</i> (Fabaceae)	UB22286	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Gymnosporangium juniperi-virgini</i>	<i>Malus domestica</i> (Rosaceae)	•	DQ354547	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Hamaspora acutissima</i>	<i>Rubus moluccanus</i> (Rosaceae)	•	KT199398	Mc Taggart <i>et al.</i> 2015/Austrália

<i>Hemileia vastatrix</i>				•	KT199399	McTaggart <i>et al.</i> 2015/Austrália
<i>Kernkampella breyniae</i>	<i>Coffea robusta</i> (Rubiaceae)			•	KJ862346	McTaggart <i>et al.</i> 2015/Austrália
<i>Kimuromyces cerradensis</i>	<i>Breynia cernua</i> (Phyllanthaceae)		UB23337	○		Presente estudo/Brasil (GO)
<i>Kimuromyces cerradensis</i>	<i>Astronium flaxinifolium</i> (Anacardiaceae)		UB23333	○		Presente estudo/Brasil (MG)
<i>Kuehneola uredinis</i>	<i>Astronium flaxinifolium</i> (Anacardiaceae)			•	DQ354551	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Maravalia cryptostegiae</i>	<i>Rubus argutus</i> (Rosaceae)			•	KT199401	McTaggart <i>et al.</i> 2015/Austrália
<i>Melampsora epitea</i>	<i>Cryptostegia grandiflora</i> (Apocynaceae)			•	DQ354564	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Melampsora euphorbiae</i>	<i>Salix</i> sp. (Salicaceae)			•	AF426195	Maier <i>et al.</i> 2003/Alemanha
<i>Melampsoridium betulinum</i>	<i>Euphorbia cyparissias</i> (Euphorbiaceae)			•	DQ354561	Aime 2006/Costa Rica
<i>Mimema venturae</i>	<i>Alnus</i> sp. (Betulaceae)		UB22364	○		Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Mimema venturae</i>	<i>Dalbergia miscolobium</i> (Fabaceae)		UB22323	○		Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Olivea scitula</i>	<i>Dalbergia miscolobium</i> (Fabaceae)			•	DQ354541	Aime 2006/Zambia
<i>Phakopsora argentinensis</i>	<i>Vitex doniana</i> (Lamiaceae)			•	KF528009	Beenken 2014/Brasil (CE)
<i>Phakopsora bluteri</i>	<i>Croton anisodontus</i> (Euphorbiaceae)		UB22529	○		Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Phakopsora bluteri</i>	<i>Kielmeyera coriacea</i> (Clusiaceae)		UB22223	○		Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Phakopsora chavesii</i>	<i>Kielmeyera coriacea</i> (Clusiaceae)		UB22896	○		Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Phakopsora cherimoliae</i>	<i>Terminalia argentea</i> (Combretaceae)			•	KF528012	Beenken 2014/Estados Unidos
<i>Phakopsora coca</i>	<i>Annona cherimola</i> x <i>squamosa</i> (Annonaceae)		UB22224	○		Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Phakopsora pachyrrhizi</i>	<i>Erythroxylum decidiuum</i> (Erythroxylaceae)			•	DQ354537	Aime 2006/Zimbabwe
<i>Phakopsora phyllanthi</i>	<i>Glycine max</i> (Fabaceae)			•	KF528025	Beenken 2014/Brasil (CE)
<i>Phakopsora tecta</i>	<i>Phyllanthus acidus</i> (Phyllanthaceae)			•	DQ354535	Aime 2006/Costa Rica
<i>Phragmidium rubi idaei</i>	<i>Commelina diffusa</i> (Commelinaceae)			•	AF426215	Maier <i>et al.</i> 2003/Alemanha
<i>Porotenus concavus</i>	<i>Rubus idaeus</i> (Rosaceae)		UB32198	○		Presente estudo/Brasil (MT)
<i>Prospodium impolium</i>	<i>Adenocalymma bipinnatum</i> (Bignoniaceae)		UB23334	○		Presente estudo/Brasil (MG)
<i>Prospodium lippiae</i>	<i>Pyrostegia</i> sp. (Bignoniaceae)			•	DQ354555	Aime 2006/Argentina
<i>Puccinia arechavaletae</i>	<i>Aloysia polystachya</i> (Verbenaceae)		UB22227	○		Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia banisteriae</i>	<i>Serjania lethalis</i> (Sapindaceae)		UB22210	○		Presente estudo/Brasil (DF)
	<i>Banisteriopsis gardneriana</i> (Malpighiaceae)			○		

<i>Puccinia barbatula</i>	<i>Heteropterys byrsominifolia</i> (Malpighiaceae)	UB22390	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia barbatula</i>	<i>Heteropterys byrsominifolia</i> (Malpighiaceae)	UB22400	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia coronata</i>	<i>Rhamnus cathartica</i> (Rhamnaceae)	●	DQ354526	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Puccinia graminis</i>	Indeterminado	●	AF522177	Szaro & Bruns 2002/Não publicado
<i>Puccinia graminis</i>	<i>Hordeum</i> sp. (Poaceae)	●	HQ412648	Deadman <i>et al.</i> 2011/Omã
<i>Puccinia hordei</i>	Indeterminado (Poaceae)	●	DQ354527	Aime 2006/ Estados Unidos
<i>Puccinia peperomia</i>	<i>Piper</i> sp. (Piperaceae)	●	EU851146	Zuluaga <i>et al.</i> 2011/Colômbia
<i>Puccinia pipita</i>	<i>Piptocarpha rotundifolia</i> (Asteraceae)	UB22328	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia pipita</i>	<i>Piptocarpha macropoda</i> (Asteraceae)	UB22327	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia pipita</i>	<i>Piptocarpha rotundifolia</i> (Asteraceae)	UB23109	○	Presente estudo/Brasil (MT)
<i>Puccinia pipita</i>	<i>Piptocarpha macropoda</i> (Asteraceae)	UB22343	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia pipita</i>	<i>Piptocarpha rotundifolia</i> (Asteraceae)	UB22395	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	●	KM282154	Machado <i>et al.</i> 2015/Brasil (SC)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eucalyptus</i> sp. (Myrtaceae)	UB22878	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Syzygium malaccense</i> (Myrtaceae)	UB 22460	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Syzygium jambos</i> (Myrtaceae)	●	KT231982	Rodas <i>et al.</i> 2015/Colômbia
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Corymbia ficifolia</i> (Myrtaceae)	UB22876	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eugenia dysenterica</i> (Myrtaceae)	UB23211	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Eugenia florida</i> (Myrtaceae)	UB23336	○	Presente estudo/Brasil (MG)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Myrcia linearifolia</i> (Myrtaceae)	UB22365	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	●	KP863474	Rodas <i>et al.</i> 2015/Colômbia
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	UB22366	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia psidii</i>	<i>Syzygium cumini</i> (Myrtaceae)	UB22462	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Puccinia violae</i>	<i>Viola cucullata</i> (Violaceae)	●	DQ354509	Aime 2006/ Estados Unidos
<i>Puccorchidium popowiae</i>	<i>Monanthotaxis caffra</i> (Annonaceae)	●	JF263495	Aime 2006/África do Sul
<i>Ravenelia geminipora</i>	<i>Plathynemia reticulata</i> (Fabaceae)	UB23328	○	Presente estudo/Brasil (MG)
<i>Ravenelia geminipora</i>	<i>Plathynemia reticulata</i> (Fabaceae)	UB22899	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Ravenelia havanensis</i>	<i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Fabaceae)	●	DQ354557	Aime 2006/Argentina

<i>Ravenelia hieronymii</i>	<i>Acacia farnesiana</i> (Fabaceae)	UB22560	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Ravenelia neocaledoniensis</i>	<i>Vachellia farnesiana</i> (Fabaceae)	●	KJ862348	McTaggart <i>et al.</i> 2015/Austrália
<i>Ravenelia</i> sp.	<i>Eriosema rigidum</i> (Fabaceae)	●	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Roestelia</i> sp.	<i>Photinia nitidkayamensis</i> (Rosaceae)	●	KP308397	Shen <i>et al.</i> 2014 /Taiwan/ Não publicado
<i>Skierka divinopolensis</i>	<i>Cupania rugosa</i> (Sapindaceae)	UB23331	○	Presente estudo/Brasil (MG)
<i>Skierka divinopolensis</i>	<i>Matayba guianensis</i> (Sapindaceae)	UB22373	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Sphaerophragmium acaciae</i>	<i>Albizia lebbek</i> (Fabaceae)	UB22477	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Sphenorhodium xylopiiae</i>	<i>Xylopia aethiopica</i> (Annonaceae)	●	KM217355	Beenken & Wood 2015/Gabon
<i>Tranzschelia discolor</i>	<i>Prunus domestica</i> (Rosaceae)	●	DQ354542	Aime 2006/ Iran
<i>Uredo</i> sp.	<i>Solanum</i> sp. (Solanaceae)	UB22360	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Uredo</i> sp.	<i>Pera glabrata</i> (Peraceae)	UB22281	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Uredo</i> sp.	<i>Pradosia brevipes</i> (Sapotaceae)	UB22481	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Uredo</i> sp.	<i>Solanum</i> sp. (Solanaceae)	UB22345	○	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Uromyces appendiculatus</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fabaceae)	●	AF522182	Szaro & Bruns 2002/ Não publicado
<i>Uromyces appendiculatus</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fabaceae)	●	KM249870	McTaggart <i>et al.</i> 2015/Austrália
<i>Uromyces ari-triphylli</i>	<i>Arisaema triphyllum</i> (Araceae)	●	DQ354529	Aime 2006/Estados Unidos
<i>Uromyces euphorbiae</i>	<i>Euphorbia hirta</i> (Euphorbiaceae)	UB23207	KU133292	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Uromyces euphorbiae</i>	<i>Euphorbia hirta</i> (Euphorbiaceae)	UB22311	KU133293	Presente estudo/Brasil (DF)
<i>Uromyces hawksworthii</i>	<i>Phthirusa stelis</i> (Loranthaceae)	UB22382	KR821139	Souza <i>et al.</i> 2015/Brasil
<i>Uromyces hawksworthii</i>	<i>Phthirusa stelis</i> (Loranthaceae)	UB22875	KR821140	Souza <i>et al.</i> 2015/Brasil
<i>Platygolea disciformis</i> (grupo externo)	Indeterminado	●	AY629314	Matheny & Hibbett /Não publicado

* LSU: Subunidade maior do rDNA

○ Sequências que serão depositadas no GenBank após o aceite do manuscrito

● Espécimes não depositados na Coleção Micológica do Herbário UB (CMHUB)

Extração de DNA

O material fúngico foi retirado das estruturas contidas nos tecidos vegetais frescos ou herborizados por meio de raspagem com bisturi, e transferidos com auxílio de pincéis de pintura e depositados previamente em uma folha de papel. Logo após, as amostras contendo estruturas fúngicas como esporos e espermiócitos, retirados de pínios, écios, urédios ou télios, livres de contaminantes, foram transferidos e armazenados em tubos Eppendorf de 1,5 ml e congelados a -20°C para posterior extração do DNA genômico.

A extração do DNA genômico foi realizada conforme o método CTAB, segundo o protocolo de Doyle & Doyle (1990) adaptado. A modificação foi realizada durante a adição do CTAB pré-aquecido a 65°C ao macerado antes da incubação em banho-maria a mesma temperatura. Também foram realizadas tentativas de extração utilizando o método Fenol-Clorofórmio de Reader & Broda (1985) para algumas amostras.

Para a realização do método de extração CTAB o material fúngico foi macerado em Nitrogênio líquido com o auxílio de micropistilo em tubos de 1,5 mL, ao qual foi adicionado 600 μL de tampão CTAB a 2% (1,4 mol L^{-1} de NaCl, 0,5 mol L^{-1} de EDTA, 2% de CTAB, Polivinilpirrolidona -40 a 1% e 1M de Tris-HCl -pH 8,0) e β -Mercaptoetanol a 1%, previamente aquecido a temperatura de 65°C . A suspensão foi homogeneizada manualmente por 30 segundos e incubada em banho-maria a 65°C por 30 minutos com agitação em intervalos de 10 minutos. Após este processo, foram adicionados às amostras, 600 μL de Clorofórmio/Álcool Isoamílico (24:1) e homogeneizadas por 30 segundos, antes de serem centrifugadas a 12000 rpm por 10 minutos em temperatura ambiente. Após a centrifugação o sobrenadante foi retirado em frações de 200 μL (média de duas vezes) e transferido para outro tubo. Em seguida o DNA contido no volume total adquirido foi precipitado com 54% do volume de Isopropanol gelado por no mínimo 1 hora a temperatura de -20°C .

Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 12000 rpm por 15 minutos e o sobrenadante foi descartado. Ao precipitado foi adicionado 600 µL de Etanol 70%, para lavagem, e centrifugado novamente a 12000 rpm por 10 minutos. Finalmente, o sobrenadante foi descartado e realizou-se uma última lavagem do precipitado com 600 µL de Etanol 95% e centrifugação a 12000 rpm por 10 minutos.

A seguir, o precipitado foi secado em temperatura ambiente por 30 minutos, ressuspendido em 30 µl de água milli-Q autoclavada sem RNase e armazenados à -20° C.

Algumas vezes o precipitado foi secado em *speed vacuum* (Eppendorf Concentrator Plus 2231 Humburg) à temperatura ambiente por 10 minutos e ressuspendido em 30 µl de TE com 0,3 µL de RNase (10 mg/mL), antes de armazenar o material à temperatura de -20° C.

Amplificação e sequenciamento do DNA

As reações de amplificações do DNA foram feitas via PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A reação de PCR inicial foi realizada em um volume final de 25µl, contendo DNA genômico (10 ng/µL), Tampão 1X para a *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen) (10-50 mM TRIS-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl), MgCl₂ (1.5 mM), dNTPs (0,2 mM); Iniciadores (0,4 µM cada), *Taq* DNA Polimerase Platinum (Invitrogen) (0.5 U) e Água Milli-Q esterilizada.

As amplificações foram executadas em um termociclador ESCO Swift™ MaxPro (Singapura). A reação foi submetida a um ciclo de desnaturação inicial do DNA a 94°C por quatro minutos; para a amplificação foram realizados 39 ciclos de desnaturação das fitas a 94°C por um minuto; para anelamento dos iniciadores, estes foram submetidos a temperaturas específicas contidas na Tabela 2, por um minuto e extensão das fitas sob 72°C por um minuto. Subsequentemente, foi procedida uma extensão final a 72°C por cinco minutos.

Para a obtenção de fragmentos com tamanho suficiente, sequenciados pelo método Sanger, para análise filogenética foi necessário a amplificação de fragmentos utilizando quatro iniciadores, dois externos (Rustinv2/LR6) e dois internos (LR0R/RUST1) mostrados na Figura 1.



Figura 1. Localização dos iniciadores utilizados para amplificar uma região parcial do 28S do rDNA.

Conforme pode ser observado também na Tabela 2, as amplificações resultaram em produtos de tamanhos de aproximadamente 1400 pares de base para os iniciadores externos (Rustinv2/LR6) e de 600 pares de bases para os iniciadores internos (LR0R/RUST1) e estes foram preparados para o sequenciamento conforme se segue.

A descrição dos iniciadores utilizados bem como as respectivas temperaturas de anelamento está listada na Tabela 2.

Tabela 2. Iniciadores utilizados para amplificação da região 28S do rDNA de Pucciniales.

Região	Iniciadores	Sequências	Temp. de Anelamento	Tamanho (bp)	Referências	
28S (LSU)	Externos	Rust2inv	GATGAAGAACACAGTGAAA	55° C	1400	Aime (2006)
		LR6	CGCCAGTCTGCTTACC			Vilgalys & Hester (1990)
	Internos	LR0R	ACCCGCTGAACTTAAGC	53° C	600	Moncalvo <i>et al.</i> (1995)
		RUST1	GCTTACTGCCTTCCTCAATC			Kropp <i>et al.</i> (1997)

Sequenciamento

Os produtos de PCR da região 28S do rDNA flanqueada pelos iniciadores Rust2inv/LR6, bem como LR0R/RUST1, foram tratados com Exonuclease I e Shrimp Alkaline Phosphatase (ExoSAP-IT PCR *Product Cleanup*). Para tanto adotou-se o seguinte protocolo: adicionou-se 2 μ L de ExoSAP e 5 μ L do produto de PCR em um microtubo de 0,6 mL, e incubou-se a 37° por 15 minutos no primeiro ciclo e ° C por 15 minutos no segundo ciclo.

Depois deste procedimento, parte do sequenciamento foi feito no Brasil no Centro de Pesquisa René Rachou da Fundação OsWaldo Cruz (FIOCRUZ) em Belo Horizonte, onde se utiliza o sequenciador ABI 3730 da Life Technologies por meio da tecnologia de sequenciamento Sanger, subsidiado pelo projeto *Brazilian Barcode of Life* (BrBOL-<http://brbol.org/pt-br>) financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A outra fração do sequenciamento das amostras foi realizada, também pelo método Sanger, pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda (Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS) utilizando o sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer.

Alinhamento e Análise filogenética

As sequências obtidas foram analisadas e editadas no software BioEdit 7.1.3.0 (Hall 2012) ou Geneious R8 (Kearse *et al.* 2012) realizando a remoção de segmentos com baixa qualidade e conferência e edição das bases de acordo com os eletroferogramas. As sequências foram obtidas a partir da fita consenso resultante do alinhamento das 4 fitas correspondentes aos iniciadores internos e externos da região 28S do rDNA utilizados (Tabela 2), e confirmadas por comparação no GenBank usando a ferramenta Blastn.

Para criação do banco de dados foram utilizadas sequências depositadas no GenBank de taxa filogeneticamente relacionados com os espécimes coletados e espécies-tipo de gêneros e famílias da ordem Pucciniales. Adicionalmente, um grupo externo foi selecionado para o banco de dados.

O alinhamento múltiplo das sequências foi realizado por meio do *software* MEGA 6 (Tamura et al. 2013) com auxílio do programa Muscle (Edgar 2004 a e b), onde ajustes manuais foram realizados e o alinhamento checado. Os espaços vazios (gaps) foram considerados como dados ausentes.

As relações filogenéticas foram realizadas por Inferência Bayesiana usando o Mr Bayes v. 3.2 (Ronquist *et al.* 2012).

A análise por Inferência Bayesiana (BI) foi realizada empregando Cadeias de Markov, método de Monte Carlo (MCMC). Antes de executar a análise de BI, foi determinado o melhor modelo de substituição de nucleotídeos com MrModeltest 2.3 (Posada & Buckley 2004). Uma vez que os valores de verossimilhança foram calculados, os modelos foram selecionados de acordo com o Critério de Informação de Akaike (AIC). O modelo selecionado foi o GTR + I + G.

A análise foi realizada no portal CIPRES (Miller *et al.* 2010) usando MrBayes v. 3.2 (Ronquist & Heulsenbeck 2012). Quatro cadeias MCMC foram executadas simultaneamente, iniciando as árvores aleatoriamente até 10 000 000 gerações. As árvores foram amostradas a cada 1000 gerações, resultando em 10 000 árvores. As primeiras 2500 árvores foram descartadas e a probabilidade posterior foi determinada a partir da árvore consenso gerada por meio das 7500 árvores remanescentes. A árvore foi enraizada com a espécie *Platygløea disciformis*, visualizada pelo programa Figtree (Rambaut 2009) e exportada para programas de edição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A família com o maior número de representantes foi a Pucciniaceae com sete espécies, sendo cinco de *Puccinia* spp. e duas de *Uromyces* spp; tendo como hospedeiras plantas das famílias Annonaceae, Myrtaceae, Malpighiaceae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Sapindaceae e Loranthaceae. A família Phakopsoraceae foi representada por 12 espécimes pertencentes aos quatro gêneros: *Phakopsora*, *Batistopsora*, *Catenulopsora* e *Crossopsora* encontrados em plantas das famílias Annonaceae, Sapotaceae, Malpighiaceae, Fabaceae, Clusiaceae e Combretaceae. Na família Raveneliaceae três espécimes de *Ravenelia*, e um de *Sphaerophragmium*, *Diorchidium* e *Esalque* foram encontrados em hospedeiras da família Fabaceae. Em Uropyxidaceae foram coletadas amostras dos gêneros *Dasyspora*, *Kimuromyces*, *Mimema*, *Porotenus* e *Prospodium* em hospedeiras pertencentes a Annonaceae, Anacardiaceae, Fabaceae e Bignoniaceae. A família Chaconiaceae possui três espécies, sendo uma *Aplopsora* sp. e duas *Chaconia* sp., encontradas em hospedeiras de Vochysiaceae e Fabaceae. Uma *Skierka*, foi a única Pileolariaceae encontrada em uma Sapindaceae indeterminada. Também foram incluídas duas espécies de posicionamento incerto: *Cerradoa palmaea* em folhas de *Syagrus flexuosa* (Arecaceae) e *Desmella* sp. sobre uma Pteridophyta da família Thelypteridaceae, além de cinco formas assexuadas, um *Aecidium* sp. em Annonaceae e quatro *Uredo* spp., em plantas das famílias Lauraceae, Solanaceae e Sapotaceae (Tabela 1).

No total, 122 sequências da região 28S do rDNA (Tabela 1) foram utilizadas na análise filogenética, resultando em 1206 pb alinhadas, das quais 421 foram informativas para parcimônia, 525 foram variáveis e 664 foram conservadas.

A árvore filogenética é mostrada na Figura 2, onde as famílias da ordem Pucciniales são destacadas por cores. Os clados estão enumerados de 1 a 20 e a árvore foi subdividida em 6 setores para a ampliação e para facilitar a visualização (Figuras 3 a 9).

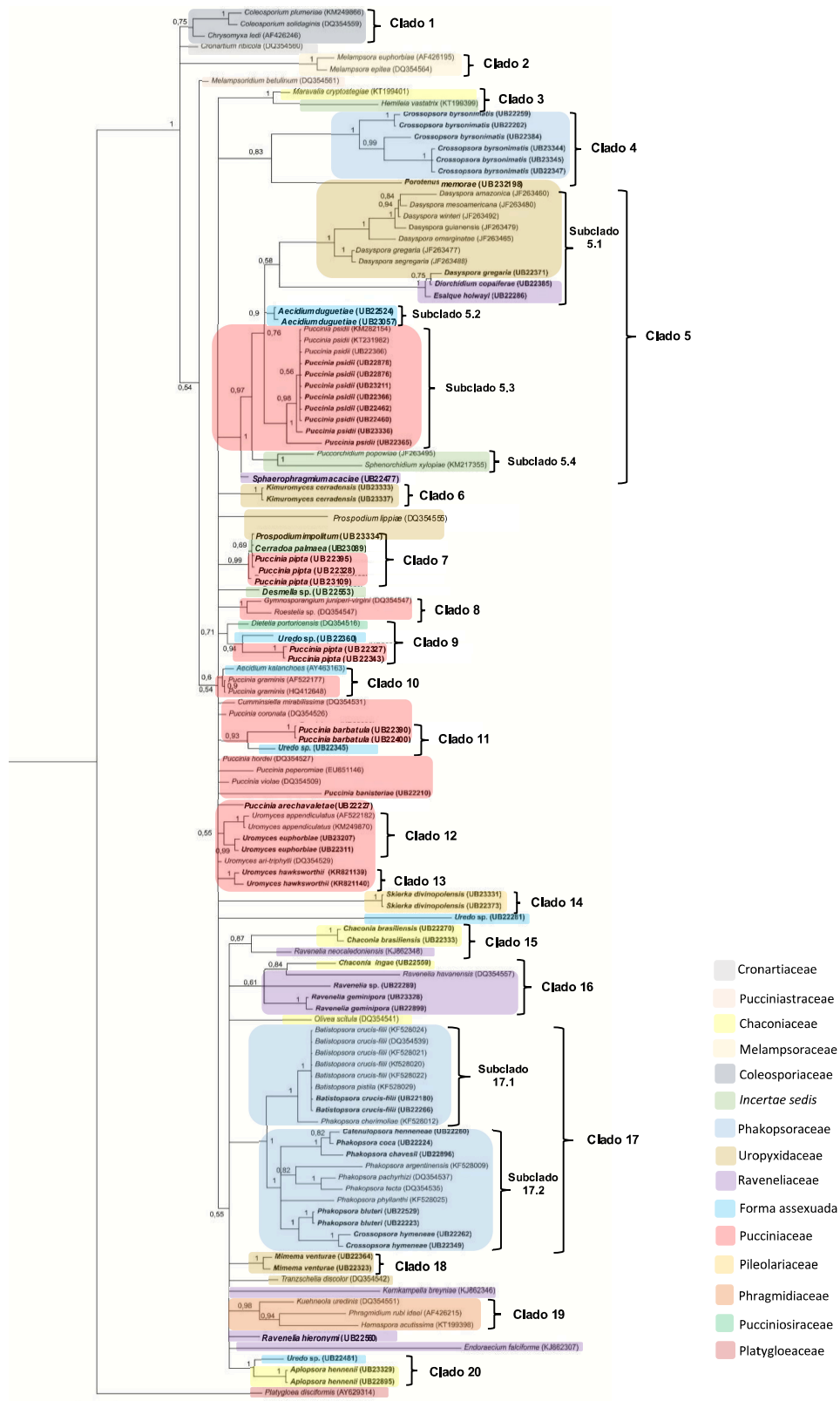


Figura 2. Árvore filogenética inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana com base nas sequências da região 28S do rDNA de representantes da ordem Pucciniales. Os valores de probabilidades posterior acima de 0,50 são indicados nos nós. Os números de acessos dos espécimes depositados na CMHUB e dos acessos depositados no GenBank estão em parênteses. Os espécimes deste estudo são destacados em negrito. A árvore foi enraizada por *Platyglaea disciformis*.

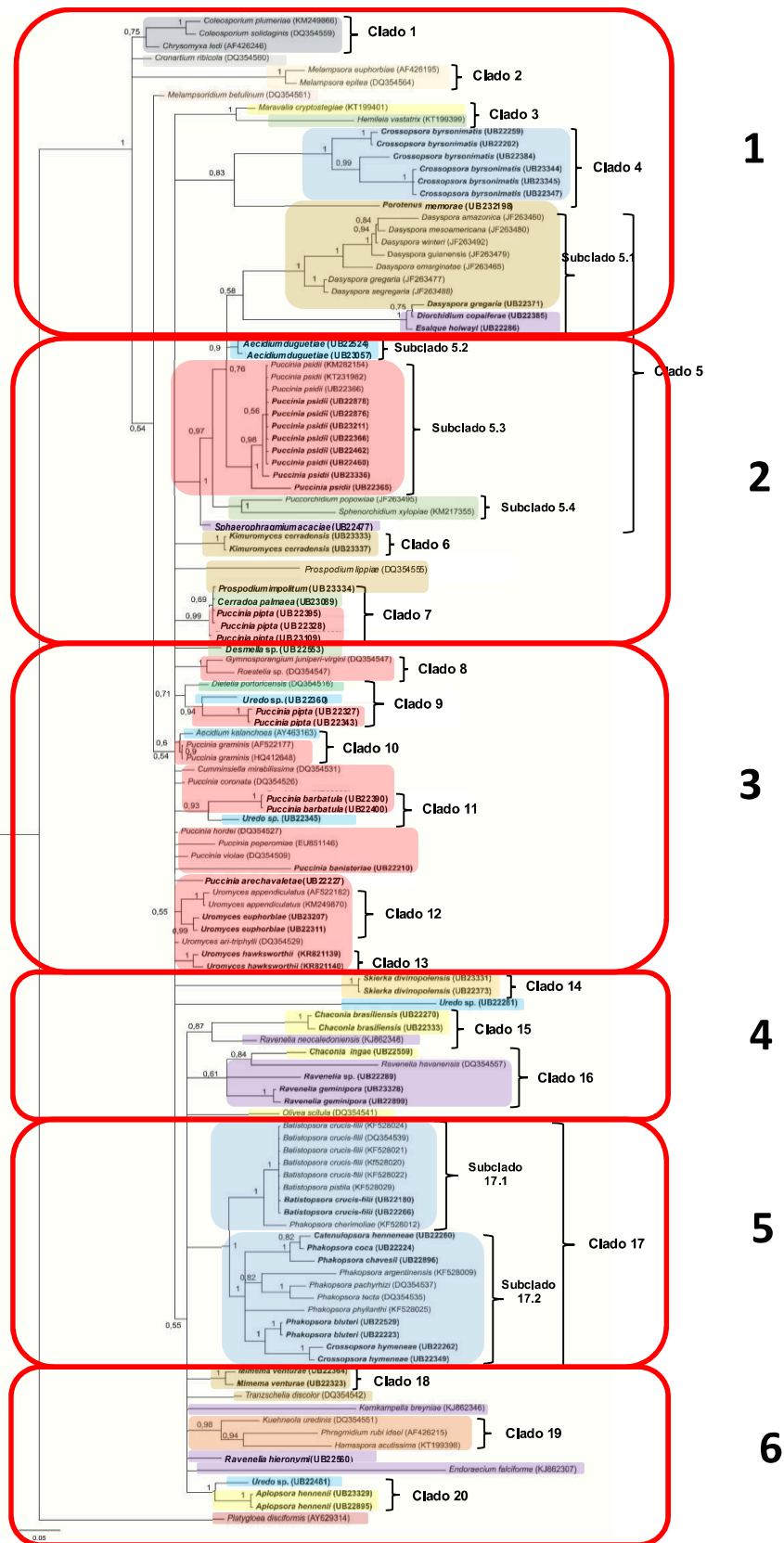


Figura 3. Representação da árvore filogenética de espécies da ordem Pucciniales subdividida em 6 setores.

A ordem Pucciniales dentro do subfilo Pucciniomycotina, apresenta-se em condição monofilética, entretanto as famílias nela contidas são em grande parte polifiléticas, conforme mostrado na presente análise (Figura 2) e em estudos anteriores baseados nas regiões 28S e 18S do rDNA (Aime et al. 2006, Bauer et al. 2006, Aime et al. 2014).

De maneira geral este estudo possibilitou o esclarecimento das relações filogenéticas de alguns grupos de fungos que se apresentaram monofiléticos, como exemplo membros dos clados 4, 5, 6 e 17 (Figura 2) e a presença de gêneros polifiléticos como *Puccinia* (com espécies distribuídas nos clados 5, 7, 9 e 11) e *Uromyces* (com espécies nos clados 12 e 13) da família Pucciniaceae, ou mesmo de espécies com relacionamento filogenético indefinido. Nota-se também, evidentemente, a presença de politomias por toda a árvore. O fato deste estudo ter sido baseado em uma única região gênica (28S do rDNA), apesar de ser altamente recomendada por Hyde et al. (2014) para a discriminação efetiva de membros de fungos causadores de ferrugem, pode ter contribuído para a formação das mesmas. O ideal é que se utilize um maior número de marcadores na tentativa de se obter um melhor suporte e discriminação de taxa, principalmente quando se envolve muitos espécimes.

O relacionamento filogenético gerado a partir de dados da região 28S do rDNA, de forma geral, não reflete a classificação taxonômica baseada na morfologia e desta maneira não seria amplamente recomendado para a discriminação dos membros em nível de família devido a grande quantidade de politomia existente. Porém, para algumas famílias como Phakopsoraceae (Figuras 4 [clado 4] e 8 [clado 17]) e Phragmidiaceae (Figuras 9 [clado 19]) houve um suporte com elevado valor de probabilidade posterior.

A família Coleosporiaceae é aqui apresentada como componente basal (Figuras 2 e 4). Dado também observado por Aime (2006), Zualaga et al. (2011), Maier et al. (2003), Wingfield et al. (2004) e, mais recentemente por McTaggart et al. (2015). Maier et al. (2003) propôs que o gênero *Melampsora* representa uma linhagem primitiva dentro da Ordem Pucciniales.

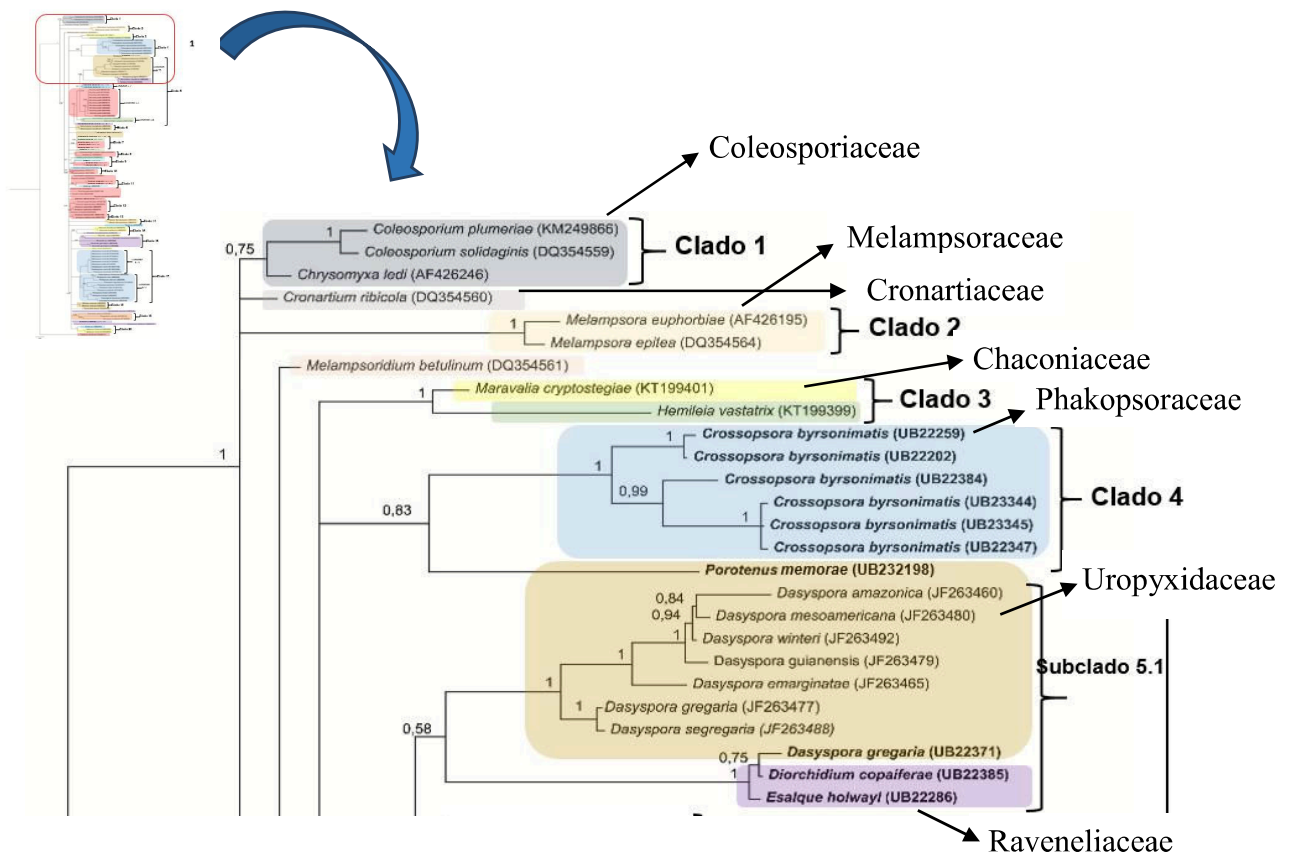


Figura 4. Setor 1 da árvore filogenética mostrando em detalhe os clados de 1 a 4 e o subclado 5.1 do clado 5.

No presente estudo a maioria das famílias de Pucciniales como Pucciniaceae, Raveneliaceae, Uropyxidaceae e Phakopsoraceae se mostraram polifiléticas, posicionadas em clados distintos (situação que pode ter ocorrido graças a politomia da árvore), conforme já observado em literatura por Wingfield et al. (2004) e Beenken (2012) (Figura 2). Van der Merve et al. 2007 e 2008, Dixon et al 2010, também constataram a relação polifilética entre os gêneros *Puccinia* e *Uromyces* dentro da família Pucciniaceae.

Quanto à análise filogenética da família Chaconiaceae, representada pelos gêneros *Maravalia* (Figura 4), *Chaconia*, *Olivea* (Figura 7), e *Aplopsora* (Figura 9), sabe-se que a

família ainda não é suportada filogeneticamente, tornando-se necessário esclarecer ainda a afinidade entre alguns de seus gêneros e o relacionamento dos mesmos com membros da família Mikronegeriaceae (Zualaga et al. 2011). Recentemente confirmado por Aime (2006), que com base na análise de rDNA sugere que *Hemileia*, e pelo menos uma espécie do gênero *Maravalia* (*M. cryptostegiae*) deve ser localizado em Mikronegeriaceae, que de acordo com Aime (2006), também representa um grupo ancestral dentro da ordem dos fungos causadores de ferrugem.

Esta situação é mostrada no clado 3, setor 1 [Figura 4] como também por Zuluaga et al. (2011), onde a análise por Máxima Parcimônia realizada por eles não permitiu estabelecer uma estreita relação entre *H. vastatrix* (agente causal da ferrugem do cafeeiro) e *H. colombiana*, que infecta um membro de Apocynaceae, com outras espécies em Chaconiaceae como *Olivea scitula* e *Maravalia guianensis*. Este fato deve-se ao baixo sinal filogenético apresentado pelo gene correspondente a região 28S do rDNA utilizado no presente estudo e por Zuluaga et al. (2011), havendo a necessidade da inclusão de outros marcadores para um melhor esclarecimento desta relação.

Pela primeira vez analisado filogeneticamente, o gênero *Chaconia*, representado pelas espécies *C. ingae* (clado 16, parte 4) e *C. brasiliensis* (clado 15, setor 4) [Figura 7], a priori, se constitui um gênero polifilético e relacionado com algumas espécies de *Ravenelia*.

Os espécimes de *Aplopsora hennenii* (Clado 20, setor 6) [Figura 9] se mostraram similares e ficaram muito próximos de *Uredo* sp. UB22481 que pode ser a forma assexuada de alguma espécie do gênero *Aplopsora* com urédios fortemente parafisados e urediniósporos reniformes, equinulados e marrons. Por outro lado, os isolados de *C. brasiliensis* e os de *C. ingae* (clados 15 e 16 da Figura 7) se posicionaram próximas às espécies de *Ravenelia* sp. podendo se suspeitar de algum relacionamento filogenético entre os dois gêneros, apesar de não possuir suporte filogenético, fato que merece pesquisa adicional, dadas as diferenças marcantes entre eles em termos morfológicos.

A família Phakopsoraceae mostrou-se polifilética (Figura 2), assim como em estudos anteriores realizados por Wingfield et al. (2004) e foi a que apresentou a melhor resolução da afinidade filogenética entre os seus membros dispostos em dois clados (4 e 17) [Figuras 4 e 8 respectivamente], distantemente posicionados, envolvendo membros dos gêneros *Batistopsora*, *Catenulopsora*, *Crossopsora* e *Phakopsora*.

O clado 4 (setor 1) [Figura 4] está muito bem suportado (probabilidades posteriores =1) e compõem-se de seis espécimes pertencentes a *C. byrsonimatis*, parasitas de diferentes espécies de *Byrsonima* (Malpighiaceae). Os espécimes deste clado, que se mostrou monofilético, são aqui tratados como sendo da mesma espécie por não haver variação morfológica suficiente para separá-los, sendo considerados como espécies crípticas, porém é clara a variação genética intraespecífica entre eles. Os isolados de *C. byrsonimatis*, coletados em *B. coccolobifolia* (UB22259) e *B. laxiflora* (UB22202) ficaram próximos, o isolado de *B. crassa* (UB22384) apresentou-se separado dos demais, enquanto que os isolados de *B. pachyphylla* (UB23344 e UB23345) e *B. verbascifolia* ficaram juntos (Figura 4).

Esse grupo composto por espécimes de *C. byrsonimatis* (Figura 4, clado 4) se mostrou estreitamente relacionado com *Porotenus memoraе*, membro da família Uropyxidaceae. Zualaga et al. 2011 também relataram a proximidade filogenética de uma outra espécie membro de Uropyxidaceae (*Prospodium lippiae*) com a família Phakopsoraceae e é sabido que os teliósporos de *Prospodium* e *Porotenus* são completamente diferentes dos de Phakopsoraceae que são imersos no tecido da hospedeira. Esta relação requer uma análise mais aprofundada com um maior número de representantes do gênero da família Uropyxidaceae.

A discussão sobre a relação de *Crossopsora* com o gênero *Cronartium*, com télios de formato semelhante (colunares em ambos os gêneros), chegando a ser tratados como sinônimos (Index Fungorum 2016), contrariando claras diferenças biológicas em termos de origem geográfica, parasitismo e aspectos básicos de morfologia da fase assexuada. Assim, a presente

análise demonstra claramente a existência de uma ampla distância filogenética entre eles, ora posicionados em clados distintos e distantes entre si. (*Crossopsora byrsonimatis* no clado 4, setor 1 e *Cronartium ribicola* (Cronartiaceae) próximo ao clado 1, setor 1, em posição mais basal (Figura 4).

Espécies de Phakopsoraceae também foram encontradas em outro clado distante deste anteriormente discutido. Neste caso o clado 17 (Subclado 17.1, setor 5) [Figura 8], onde os espécimes de *Batistopsora crucis-fillii*, encontrados em *Annona tomentosa* (Annonaceae), de várias regiões do país se mantiveram unidos, incluindo-se espécimes coletados no cerrado no Distrito Federal (UB22180 e UB22266) e outra espécie, *B. pistila parasita* de outra espécie de *Annona* (*A. spraguei*), próximas de outras espécies de *Phakopsora* e *Crossopsora*.

Recentemente Beenken (2014), através de estudos filogenéticos baseados no mDNA (CO3), recombinau *Batistopsora* em *Phakopsora*. Nossos dados mostram que se trata de dois gêneros próximos filogeneticamente (Figura 7). Entretanto, a espécie *Batistopsora* separa-se claramente de *Phakopsora*, graças ao formato característico dos urédios com paráfises periféricas em paliçada o que não é encontrado em *Phakopsora*.

O clado 17 (setor 5) [Figura 8] também composto por membros da família Phakopsoraceae, se estabeleceu como monofilético e muito bem suportado (probabilidades posteriores =1) subdividido em dois subclados. As relações filogenéticas entre outras espécies (subclado 17.2) encontradas no cerrado como *Catenulopsora henneneae* relatada em *Pouteria torta* (Sapotaceae), *Phakopsora coca* encontrada em *Erythroxylum deciduum* e *P. chavesii* em *Terminalia argenteae* (Combretaceae) não foram determinadas uma vez que apresentaram baixo suporte filogenético (Figura 8 subclado 17.2). Além dessas espécies, é incluída neste clado (subclado 17.2) uma espécie do gênero *Crossopsora* (com membros também posicionados no clado 4), *C. hymeneae* parasita de *Hymenaeae stignocarpa* (Fabaceae) que se mostrou próxima da espécie *P. bluterii* encontrada em folhas de *Kilmeyera coriacea*

(Clusiaceae) com boa resolução apresentando valores de probabilidades posteriores = 1 (Figura 8).

A família Uropyxidaceae, reconhecida como polifilética (Wingfield et al. 2004, Zuluaga et al. 2011, Beenken 2012, Beenken et al. 2014) foi aqui representada por espécies dos gêneros *Dasyspora*, *Kimuromyces*, *Mimema*, *Porotenus* e *Prospodium* distribuídos nos clados 5 (subclado 5.1, setor 1) e 6 (setor 2) [Figura 4].

Conforme já comentado acima, *Porotenus memora* (Figura 4, clado 4) apresentou alguma proximidade com membros da família Phakopsoraceae (*C. byrsonimatis*) e agora também é mostrada situação semelhante em relação a membros de Raveneliaceae. Nesse caso, *Dasyspora gregaria* (UB22371) se agrupou, com baixo suporte filogenético, juntamente com outros dois membros de Raveneliaceae (*Diorchidium copaiferae* e *Esalque holwayi*) em clado basal (Figura 4, subclado 5.1) que deu suporte ao clado composto apenas por espécies de *Dasyspora* (Figura 4). O gênero *Dasyspora* encontrado em espécies hospedeiras pertencentes a Annonaceae, trata-se de um grupo monofilético (Beenken et al. 2012, Beenken 2014), aqui representado por sete espécies: *D. amazonica*, *D. emarginatae*, *D. gregaria* (JF263477), *D. guianensis*, *D. mesoamericana*, *D. segregaria* e *D. winteri* com alto valor de suporte (probabilidades posteriores =1) para o clado. Diante disso, apesar de um dos isolados de *D. gregaria* (UB22371) ter se posicionado fora do clado, ainda assim, considera-se válida aceitar-se a monofilia do gênero, apesar dessa ausência discrepante de suporte estatístico mostrada pela análise filogenética.

No entanto, outros membros de Uropyxidaceae foram alocados no clado 6 (setor 2) com dois espécimes idênticos de *Kimuromyces cerradencis* coletados em *Astronium flaxinifolium* (Anacardiaceae) em Goiás (UB23337) e UB23333 na mesma hospedeira em Minas Gerais (Figura 5). Trata-se de um gênero monotípico, pela primeira vez sequenciado e analisado filogeneticamente.

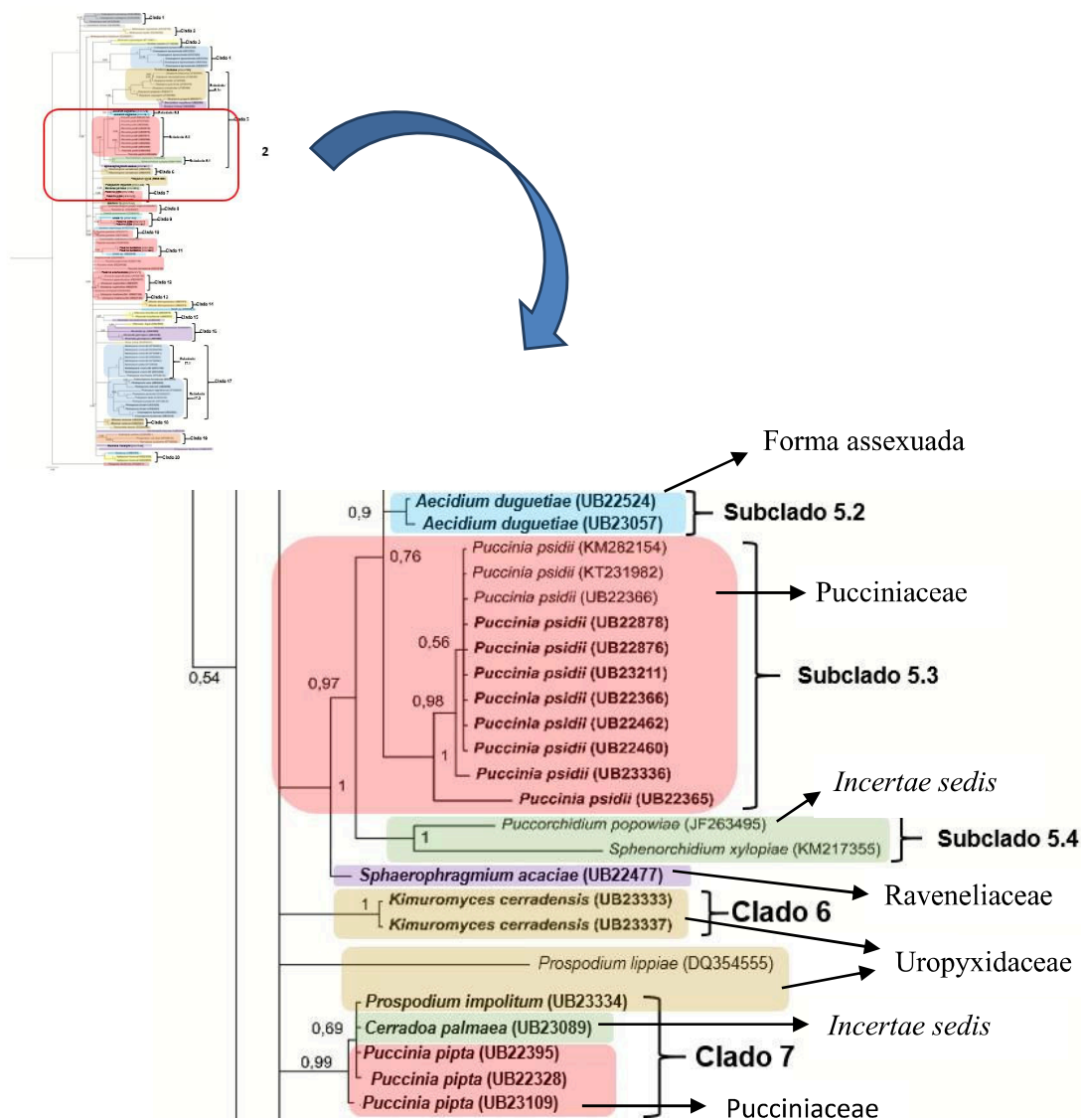


Figura 5. Setor 2 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os subclados 5.2, 5.3 e 5.4 do clado 5. Além disso também são mostrados os clados 6 e 7.

O relacionamento filogenético das espécies de *Prospodium* não ficou claro, uma vez que a espécie *P. lippiae* (acesso obtido do GenBank) encontrado em *Aloysia polystachya* (Verbenaceae) não estabeleceu relação alguma com outros taxa conforme mostrado entre os clados 6 e 7 (setor 2) [Figura 5]. Já, *P. impolitum* (UB23334), parasitando *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae) em Minas Gerais, agrupou-se em um clado formado por membros da família

Pucciniaceae (Figura 5), e, apesar dos dados se apresentarem robustos (probabilidades posteriores=0,99), a situação requer revisão e reanálise, com a inclusão de outros marcadores que possibilitem a necessária discriminação entre os espécimes estudados.

Por outro lado, *Mimema venturae*, pela primeira vez caracterizada molecularmente, foi incluída em um clado (Figura 9, clado 18, setor 6) formado independentemente sem relação com outras taxa e mostrou grande proximidade filogenética entre os isolados possivelmente se tratando da mesma espécie (com o valor de probabilidade posterior =1), coletados em folhas de *Dalbergia miscolobium* no Distrito Federal (Figura 8). Além disso, *Mimema venturae* mostrou-se relativamente próxima de *Tranzchelia discolor* (Uropyxidaceae).

Pucciniaceae, a maior família da ordem Pucciniales (Cummins & Hiratsuka 2003, Aime 2006, Zualaga et al. 2011, Aime et al. 2014), foi representada nesta análise por espécimes dos gêneros *Cumminsiella*, *Gymnosporangium*, *Puccinia*, *Roestelia* e *Uromyces*.

Trata-se de família sabidamente polifilética (Maier et al. 2003, Wingfield et al. 2004, Zualaga et al. 2011, Aime et al. 2014) e seus componentes foram aqui distribuídos em 7 cladogramas (5 [5.3], 7, 8, 9,11, 12,13), com alguns espécimes sem possibilidade de ter sua filogenia esclarecida (Figura 2). No entanto o clado 5 (subclado 5.3, setor 2) [Figura 5] mostrou-se coerente sendo composto exclusivamente por um grupo de materiais de *Puccinia psidii* provenientes de diferentes espécies de Myrtaceae (*Psidium guajava* (KM282154) e (UB22366), *Syzygium jambos* (KT231982), *Eucalyptus* sp. (UB22878), *Corymbia ficifolia* (UB22876), *Eugenia dysenterica* (UB23211), *E. florida* (UB22336), *S. cumini* (UB22462), *S. malaccense* (UB22460) e *Myrcia linearifolia* (UB22365), confirmando a condição monofilética da espécie assim como observado por Machado et al. (2015). O clado está muito bem suportado pelos principais ramos (probabilidades posteriores acima de 0,98) e mostra o espécime que infecta *M. linearifolia* (UB22365) como basal em relação aos outros contidos no clado. Recentemente, Machado et al. (2015) epitipificaram a espécie (isolado incluído nesta análise [KM282154])

com um espécime encontrado em Santa Catarina, local originalmente coletado sobre *Psidium* sp. Buys et al. (2016) tentaram desenvolver um *DNA barcode* para discriminar variantes intraespecíficos de *P. psidii*, parasitas de distintas hospedeiras, sem no entanto, chegar a uma definição.

Beenken & Wood (2015) e McTaggart et al. (2015) em estudo sobre fungos causadores de ferrugens em espécies de hospedeiras em Annonaceae, relacionam *P. psidii* como associada filogeneticamente com espécies de *Dasyscypha* e dois novos gêneros por eles estabelecidos (*Puccorchidium* e *Sphenorchidium*). No presente trabalho essa relação se mostrou apenas para *Puccorchidium* e *Sphenorchidium*, porém espécies de *Dasyscypha* se posicionaram em clados distintos e distantes filogeneticamente (subclado 5.1 do clado 5) [Figura 5].

Esta é a primeira vez que espécimes de *P. psidii* do Cerrado são incluídas em uma análise de filogenia molecular, como é o caso de *E. florida* (UB22336) e *M. linearifolia* (UB22365), bem como aqui se relatou a ocorrência de *P. psidii* em *C. ficifolia* e *S. malaccense*.

Os gêneros *Puccinia* e *Uromyces* como esperado, mostraram-se polifiléticos (Figura 2), conforme indicam van Der Merwe et al. (2007) com base em regiões gênicas β tub e EF, e Maier et al. (2007) baseados em análises de sequências da na região 28S do rDNA.

Os materiais de *P. pipta* em folhas de *Piptocarpha rotundifolia* (UB22328 e UB22395) [Figura 5], ficaram separados dos exemplares da mesma espécie parasita de *Piptocarpha macropoda* (UB22327 e UB22343), com esses últimos com relação relativamente próxima de *Uredo* sp. (UB22360) encontrada sobre *Solanum* sp. (Solanaceae) [Figura 6].

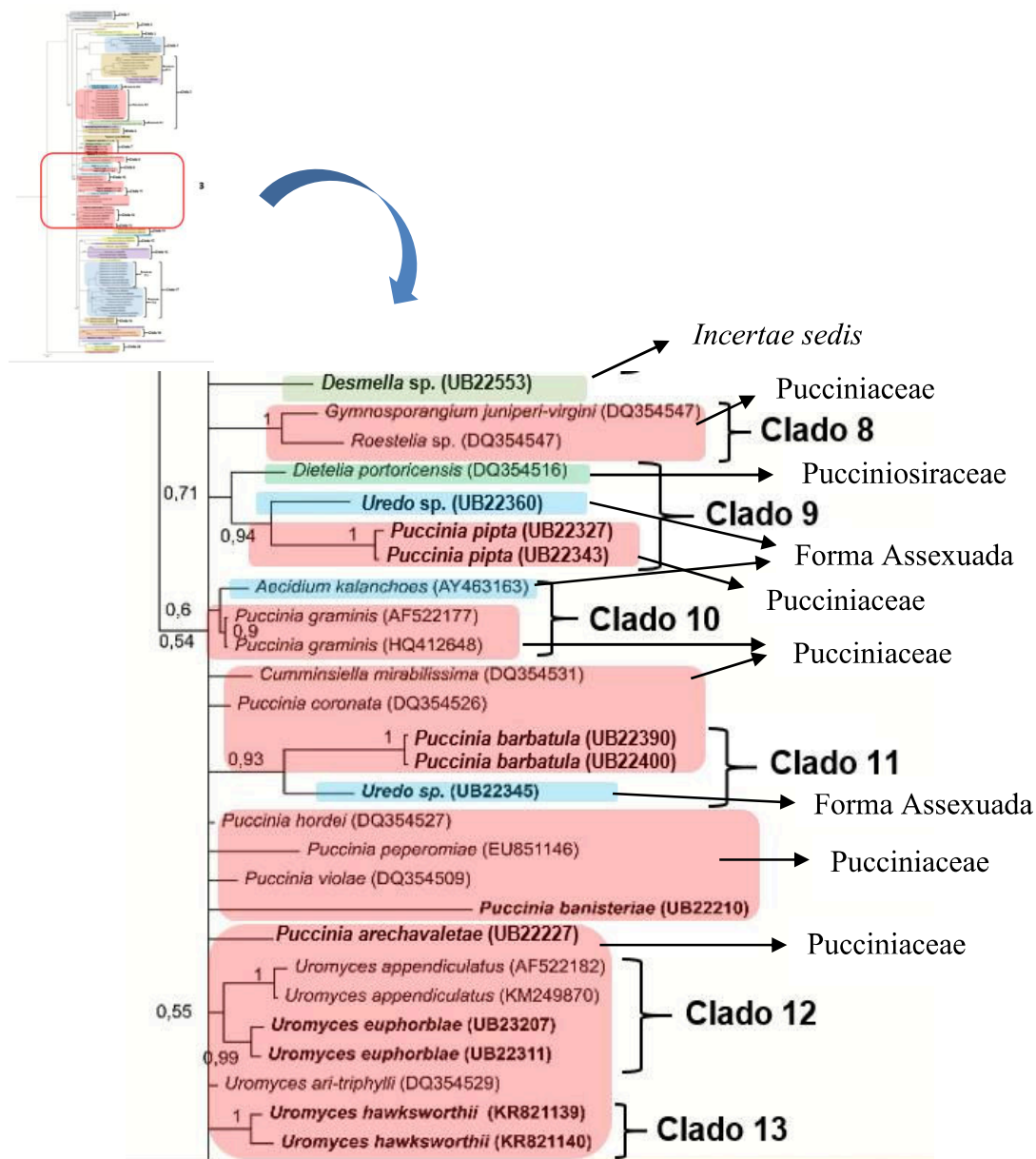


Figura 6. Setor 3 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os clados de 8 a 13.

O clado 8 (setor 3), composto por Pucciniaceae dos gêneros *Gymnosporangium* e *Roestelia* sp. não mostraram proximidade filogenética com os outros taxa usados na análise (Figura 6).

A espécie *P. barbatula* (clado 11) representada pelos isolados (UB22390 e UB22400) encontrados em *Heteropterys byrsonimifolia* (Malpighiaceae) no Distrito Federal, apresentou

estreita relação com *Uredo* sp. (UB22345]) coletados em folhas de *Solanum* sp. no Distrito Federal (Figura 6).

Outras espécies de *Puccinia* coletadas no cerrado e aqui analisadas (próximas ao clado 12, setor 3) são a *P. banisteriae* (UB22210) de folhas de *Banisteriopsis gardneriana* (Malpighiaceae) e *P. arechavaletae* (UB UB22227) parasita de *Serjania lethalis* (Sapindaceae) que mostraram uma relação filogenética indefinida com relação a outros membros incluídos na análise (Figura 6).

Duas espécies de *Uromyces* coletadas no Cerrado foram aqui analisadas. *U. euphorbiae* tanto a fase ecídica (UB2320) como a télica (UB22311) encontradas em *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae), se alocaram próximas aos materiais de *Uromyces appendiculatus* (AF522182 e KM249870), patógeno de *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae). Esta relação mostrou-se bem suportada com probabilidades posteriores =1, conforme mostrada no clado 12, setor 3 (Figura 6). Já o segundo *Uromyces* do Cerrado, *U. hawksworthii* (KR821139 e KR821140), posicionou-se em um clado independente (clado 13, setor 3) porém bem suportado (probabilidades posteriores =1), no qual o seu posicionamento filogenético não foi esclarecido, embora próximo de outras espécies de *Uromyces* presentes na árvore (Figura 6).

A família Raveneliaceae, aqui representada pelos gêneros *Diorchidium*, *Endoraecium*, *Esalque*, *Kernkampella*, *Ravenelia* e *Sphaerophragmium* é comprovadamente polifilética (Maier et al. 2003, Wingfield et al. 2004, Zualaga et al. 2011, Aime et al. 2014).

Os resultados alocaram seus membros em três clados (5, 15 e 16) mostrados nas figuras 4 e 6.

O clado 5 é composto por três raveneliáceos encontrados no cerrado. *Diorchidium copaiiferae* (UB22385) e *Esalque holwayi* (UB22286) ambas em Fabaceae, ficaram agrupados no mesmo subclado (5.1) apresentando bom suporte filogenético (probabilidades posteriores =1) com relação a espécie de *Diorchidium*. Entretanto, apresentaram relação filogenética com uma espécie de *Dasyscypha* (Uropyxidaceae), repetindo o resultado de Beenken et al. (2012). Neste caso um clado contendo *Diorchidium polyalthiae* que se apresentou como suporte para um clado com várias espécies de *Dasyscypha*. Além disso, Aime (2006) encontrou estreito grau de parentesco entre *Prospodium lippiae* (Uropyxidaceae) e espécies do gênero *Ravenelia*, *Endoraecium* e *Racospermyces*.

Outra espécie de Raveneliaceae, *Sphaerophragmium acaciae* (UB22477), alocado no clado 5 (setor 2) é parasita de uma fabácea exótica, *Albysia lebbeck*. Essa espécie apresentou um posicionamento filogenético bem suportado (probabilidades posteriores=1) mostrando-se como base para todo o clado 5 que compõe, além de membros em Raveneliaceae, membros de Pucciniaceae e Phakopsoraceae (Figura 5). Se faz necessário uma análise envolvendo mais espécies de *Sphaerophragmium* para um posicionamento mais seguro do gênero.

Além disso, várias espécies de *Ravenelia* se agruparam próximas das espécies de *Chaconia*. Assim, no clado 16 (setor 4) [Figura 7], por exemplo, podemos observar a relação entre três membros do gênero *Ravenelia* com *Chaconia ingae* (UB22559). *Ravenelia geminipora* representada por dois isolados idênticos (UB23328 e UB22899) coletados em Minas Gerais e Distrito Federal respectivamente, ambas em *Plathynemia reticulata*; *Ravenelia* sp. (UB22289) proveniente da hospedeira *Eriosema rigidum* do Distrito Federal e *R. havensis* (obtida do GenBank, acesso DQ354557) coletada de folhas de *Enterolobium contortisiliquum*, se agruparam em posições próximas com *C. ingae* proveniente de *Inga*

sessilis (Figura 7). Todos esses espécimes possuem hospedeiras em Fabaceae, fator que pode ter contribuído para essa aproximação filogenética.

Espécies como *R. hieronymi* (UB22560) coletada em *Acacia farnansiana* (Fabaceae), espécie exótica proveniente da América Central, *Kernkampella breynie* (KJ862346) proveniente de *Breynia cernua* (Phyllanthaceae) e *Endoraecium falciforme* (KJ862307) de *Acacia falciformis* (Fabaceae) não tiveram um posicionamento de forma a esclarecer a sua relação com outros taxa (Figura 9).

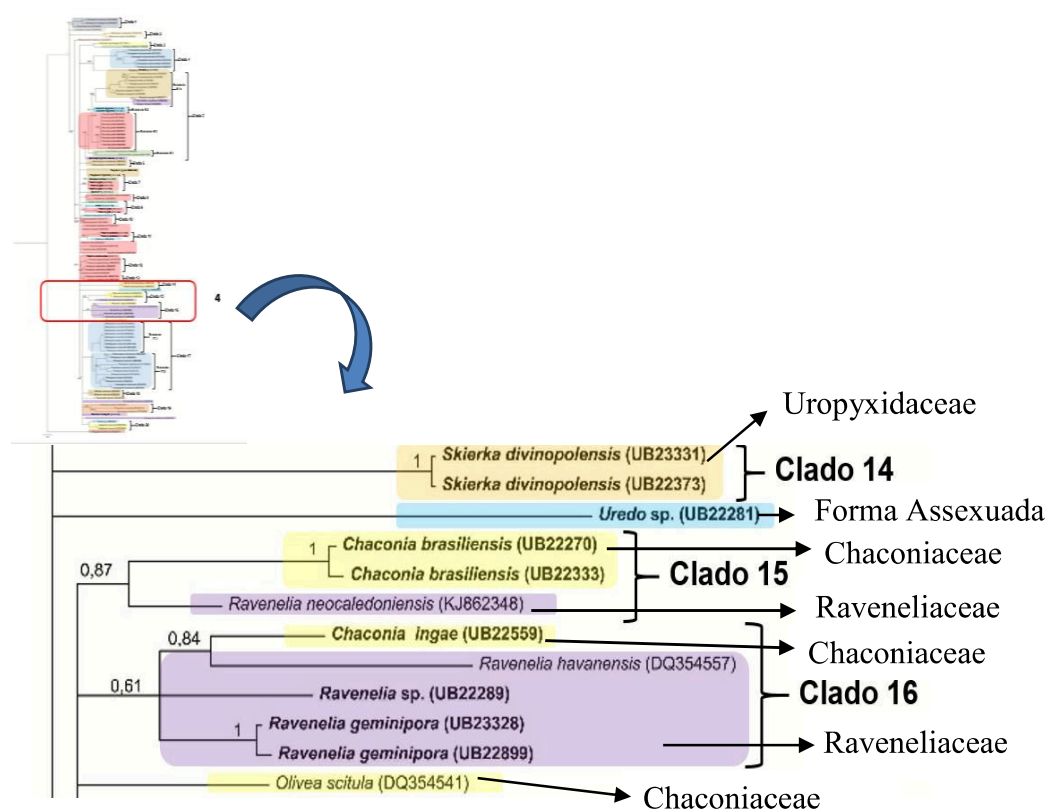


Figura 7. Setor 4 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os clados 14 a 16.

Assim como as outras famílias, Pileolariaceae também se comportou como um grupo polifilético (Aime 2006, Beenken et al. 2012) mostrado na figura 2. Wingfield et al. (2004) observou que espécies do gênero *Uromycladium* (Pileolariaceae) se mostraram como

monofiléticas. A família é aqui representada por uma única espécie, *Skierka divinipolensis* com dois isolados: um (UB23331) encontrado em *Cupania rugosa* em Minas Gerais e outro (UB22373) proveniente de *Matayba guianensis* coletado no Distrito Federal, ambas em Sapindaceae.

A análise com bom suporte filogenético (probabilidades posteriores=1) mostrou que os dois isolados pertencem à mesma espécie, apesar de serem coletados em hospedeiras e locais distintos (Figura 7). Entretanto, não foi possível determinar com clareza o seu posicionamento filogenético em relação a outras taxa.

Foram incluídas nesta análise dois espécimes que não possuem inserção taxonômica bem estabelecida. *Cerradoa palmaea* (UB23089), um membro de Pucciniales encontrado em folhas de *Syagrus flexuosa* coletado no Distrito Federal e outro corresponde a *Desmella* sp. (UB22553) obtido de folhas de uma pteridófito, *Thelypteris* sp. (Thelypteridaceae). O primeiro se agrupou em um clado (clado 7, setor 2) composto por membros da família Pucciniaceae e por *Prospodium impolitum* (Uropyxidaceae), ambos coletados no cerrado (Figura 5). Apesar de atualmente o gênero *Cerradoa*, agora pela primeira vez sequenciado, não estar alocado em nenhuma família definida (Index Fungorum 2016), Cummins & Hiratsuka (2003), ele tem sido aceito como membro de Uropyxidaceae juntamente com membros do gênero *Edythea*. O suporte deste clado (probabilidades posteriores inferiores a 0.9) não foi suficiente para afirmar com clareza as relações filogenéticas dentro do clado.

No caso de *Desmella* sp. (UB22553) a situação não é muito diferente, uma vez que se posicionou de maneira indefinida impossibilitando a definição do seu posicionamento filogenético (Figura 6).

Diante dos dados apresentados, entende-se que há a necessidade de mais pesquisas relacionadas a filogenia de fungos membros da ordem Pucciniales, envolvendo além de análise por Inferência Bayesiana, outras análises como Máxima Parcimônia e

Verossimilhança para efeito de comparação e esclarecimento de quais métodos podem ser mais robustos e expressivos para esclarecer as relações filogenéticas deste grupo fúngico. Além disso outras regiões gênicas e intergênicas podem ser utilizadas na tentativa de melhorar a resolução das relações e posicionamento filogenético.

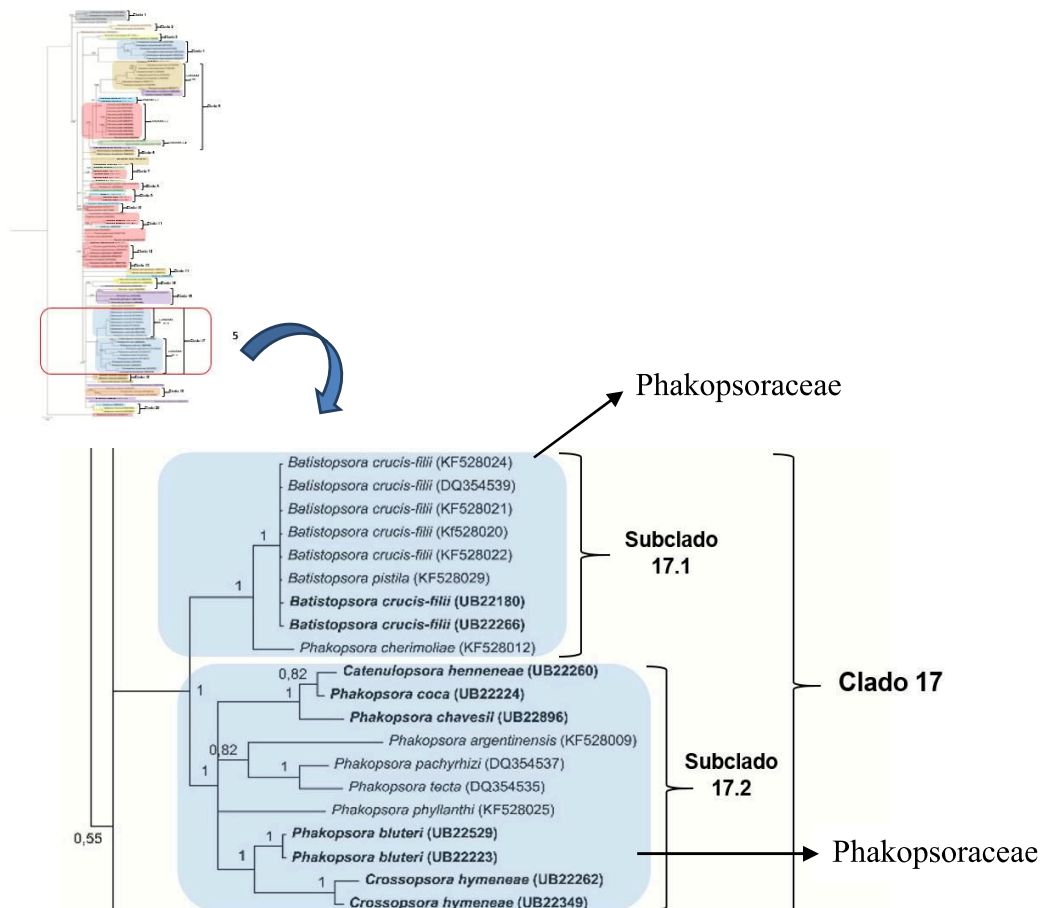


Figura 8. Setor 5 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe o clado 17.

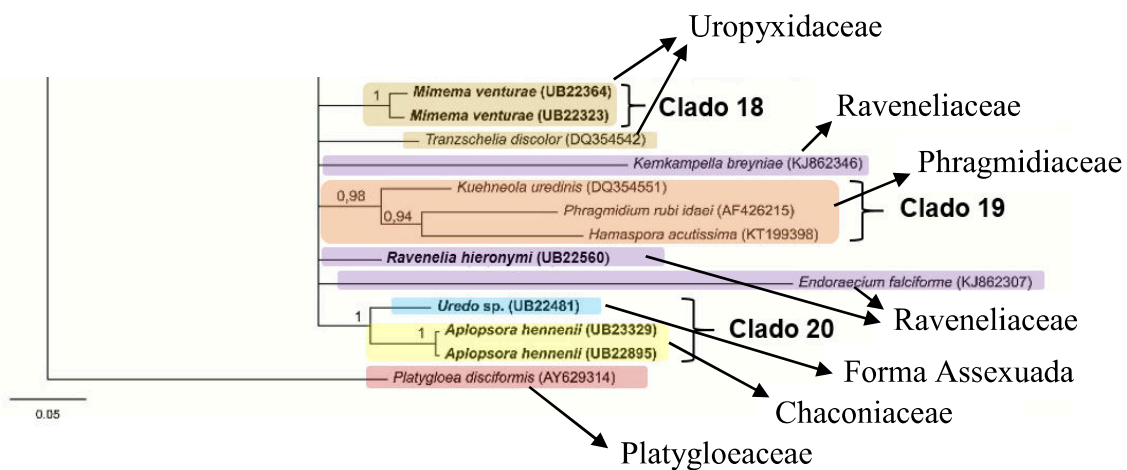
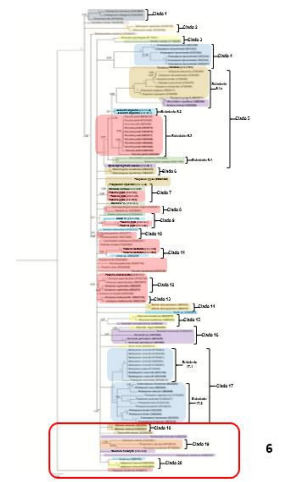


Figura 9. Setor 6 da árvore filogenética ampliado mostrando em detalhe os clados 18 a 20.

REFERÊNCIAS

- Aime MC (2006) Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience*. v.47: 112–122. Aime MC, Toome M, McLaughlin DJ. 2014. Pucciniomycotina. In: McLaughlin DJ, Spatafora JW, eds. *The Mycota, systematics and evolution*, 2 ed, 7A. Berlin, Germany: Springer-Verlag, in press.
- Bauer, R., D. Begerow, J.P. Sampaio, M. Weiß & F. Oberwinkler (2006) The simple-septate basidiomycetes: a synopsis. *Mycological Progress*. 5: 41-66.
- Beenken L, Zoller S, Berndt R (2012) Rust fungi on Annonaceae II: The genus *Dasyscyora*. *Mycologia*. v.104(3):659-681.
- Beenken L. (2014). Pucciniales on *Annona* (Annonaceae) with special focus on the genus *Phakopsora* *Mycological Progress*. v. 13(3):791-809.
- Beenken L, Wood AR (2015) *Puccorchidium* and *Sphenorchidium*, two new genera of Pucciniales on Annonaceae related to *Puccinia psidii* and the genus *Dasyscyora*. *Mycological Progress*. 14 1-13.
- Buys MH, Flint HJ, Miller EM, Yao H, Caird AR, Ganley, RJ (2016) Preparing for the invasion: efficacy of DNA barcoding to discern the host range of myrtle rust (*Puccinia psidii*) among species of Myrtaceae. *Forestry*, 17.
- Cummins GB & Hiratsuka Y (2003) *Illustrated genera of rust fungi*. 3 ed. The American Phytopathological Society, St. Paul. 225p.
- Deadman ML, Al Sadi AM, Al Maqbali YM, Farr DF, Aime MC (2011) Additions to the rust fungi (Pucciniales) from northern Oman. *Sydowia* 63: 155–168.
- Dianese JC, Santos LTP (1999) *Aplopsora hennenii* sp. nov., the first rust fungus recorded from Vochysiaceae. *Mycological Research*. 99:914-916.
- Dixon LJ, Castlebury LA, Aime MC, Glynn NC, Comstock JC (2010) Phylogenetic relationships of sugarcane rust fungi. *Mycological Progress* 9: 459-468.

- Doyle JJ & Doyle JL. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics* 5: 113.
- Hall T (2012) BioEdit v 7.0.9: Biological sequence alignment editor for Win95/98/2K/XP/7.
- Hennen JF, Figueiredo MB, Carvalho Jr. AA, Hennen, PG (2005) Catalogue of plant rust fungi (Uredinales) of Brazil.
- Hyde KD, Nilsson RH, S Alias A, Ariyawansa AH, Blair E et al. (2014) One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014). *Fungal Diversity* 67: 21–125.
- Index Fungorum (2016) Disponível em: www.indexfungorum.org. Acessado em dezembro de 2016.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*.15; 28: 1647-9.
- Kropp BR, Hansen DR, Wolf PG, Flint KM, Thomson SV. (1997) A study on the phylogeny of the dyer's woad rust fungus and other species of *Puccinia* from Crucifers. *Phytopathology* 87: 565-571.
- Machado PDS, Glen M, Pereira OL, Silva AA, Alfenas AC (2015) Epitypification of *Puccinia psidii*, causal agent of guava rust. *Tropical Plant Pathology*. 40: 5-12.
- Maier W, Begerow D, Weiss M, Oberwinkler F (2003) Phylogeny of the rust fungi: an approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany* v. 81: 12-23.
- Maier W, Wingfeld BD, Mennicken M, Wingfeld MJ (2007) Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. *Mycological Research* 111: 176-185.

- McTaggart AR, Geering ADW, Shivas RG (2014) *Uredinopsis pteridis* and *Desmella aneimiae*, the first rust fungi (Pucciniales) reported on ferns (Pteridophyta) in Australia. Australasian Plant Disease Notes 9: 149.
- McTaggart AR, Shivas RG, Nest MA, Roux J, Wingfield BD, Wingfield MJ (2016) Host jumps shaped the diversity of extant rust fungi (Pucciniales). New Phytologist. 209: 1149-1158.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA: 1–8. Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS (1995) Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. Mycologia 87: 223-238.
- Minnis AM, McTaggart AR, Rossman AY, Aime MC (2012) Taxonomy of mayapple rust: the genus *Allodus* resurrected. Mycologia. 104: 942-950.
- Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS (1995) Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. Mycologia 87: 223-238.
- Padamsee M, McKenzie EH. (2014) A new species of rust fungus on the New Zealand endemic plant, *Myosotidium*, from the isolated Chatham Islands. Phytotaxa, 174, 223-230.
- Posada D, Buckley T. (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. Systematic Biology 53: 793–808.
- Rambaut A (2009) FigTree. Version 1.2.3. Edinburgh: Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh.
- Rodas CA, Roux J, Maier W, Granados GM, Bolaños MD, McTaggart AR, Wingfield, MJ. (2015) First report of *Puccinia psidii* on *Corymbia citriodora* and *Eucalyptus* in Colomedgarbia. Forest Pathology. 45: 534-536.

- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Ohna SH, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) Mrbayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *SystBiol* v. 61:539–542.
- Souza ESC, Chaves ZM, Soares WR, Pinho DB & Dianese JC (2015) *Uromyces hawksworthii* nom. nov. for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado. *IMA fungus* 6: 155-162.
- Swofford DL (2002) PAUP*. Phylogenetic Analyses using parsimony (*and other methods), version 4.0. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2013) Mega 6: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* v. 28, n.10, p.2731-2739.
- Thirumalachar MJ, B.B. Mundkur. (1949) Genera of rust ii. ind. *Phytopathol.* 2: 65-101.
- Van Der Merwe MM, Walker J, Ericson L, Burdon JJ (2008) Coevolution with higher taxonomic host groups within the Puccinia/Uromyces rust lineage obscured by host jumps. *Mycological research* 112: 1387-1408.
- Van der Merwe M, Ericson L, Walker J, Thrall PH, Burdon JJ (2007) Evolutionary relationships among species of *Puccinia* and *Uromyces* (Pucciniaceae, Uredinales) inferred from partial protein coding gene phylogenies. *Mycological research* 111, 163-175.
- Vilgalys R, Hester M. (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol.* v. 172:4238-4246.
- Wingfield GD, Ericson L, Szaro T, Burdon JJ (2004) Phylogenetic patterns in the Uredinales. *Australasian Plant Pathology* 33: 327-335.
- Yang T, Tian, CM, Lu HY, Liang YM, Kakishima, M. (2015) Two new rust fungi of *Thekopsora* on *Cornus* (Cornaceae) from western China. *Mycoscience*, 56(5), 461-469.

Zuluaga C, Buriticá P, Marín M (2011) Filogenia de hongos roya (Uredinales) en la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del ADN ribosomal 28S. *Revista de Biología Tropical*. 59: 517-5402011 San José, Costa Rica.

Zuluaga CM, Céspedes PB, Marín-Montoya, M. (2008) Generalidades de los Uredinales (Fungi: Basidiomycota) y de sus relaciones filogenéticas. *Acta Biológica Colombiana*, 14, 41.

CAPÍTULO 3

Este Capítulo consiste na versão em português do trabalho publicado no periódico IMA Fungus, editado pela International Mycological Association, Utrecht, Holanda.

***Uromyces hawksworthii* UM NOVO NOME PARA *Aecidium goyazense* EM *Phthirusa stelis* (LORANTHACEAE) DO CERRADO BRASILEIRO (*)**

Autores: Érica S.C. Souza, Zuleide M. Chaves, William R.O. Soares, Danilo B. Pinho, and José C. Dianese (2105)

Uromyces hawksworthii nom. nov. for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado. IMA Fungus 6: 155-162

(PDF no Anexo 1)

RESUMO

A forma sexual de *Aecidium goyazense* coletada no Cerrado Brasileiro foi morfológicamente caracterizada por Microscopia de luz e por Microscopia Eletrônica de Varredura, e mostrou-se como sendo uma espécie de *Uromyces* o qual foi nomeada de *Uromyces hawksworthii*. A amostra aqui renomeada foi introduzida e designada como o seu epitipo. Este fungo foi comparado morfológicamente com outras espécies de *Uromyces* conhecidas para a família Loranthaceae. O DNA genômico foi recuperado a partir de eciosporos, bem como de teliósporos. As sequências de DNA foram geradas a partir das regiões ITS e 28S (LSU) do rRNA e as reconstruções filogenéticas foram geradas por Inferência Bayesiana para posicionar o táxon, quando comparado com outras espécies relacionadas filogeneticamente. Esta é a segunda espécie de *Uromyces* sp. conhecida infectando o gênero tropical *Phthirusa* (Loranthaceae).

Palavras chave: Basidiomycota, Fungos Neotropicais, Pucciniaceae, Pucciniomycotina

(*) Trabalho já publicado: Souza ESC, Chaves Z, Soares WRO, Pinho DB, Dianese JC (2015) *Uromyces hawksworthii* nom. nov. for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado. IMA Fungus 6: 155-162. (o artigo encontra-se no anexo 1).

INTRODUÇÃO

Hennen e colaboradores em 2005 catalogaram os fungos causadores de ferrugem em Loranthaceae no Brasil, incluindo *Aecidium goyazense* e *Uromyces circunscriptus*, *U. loranthi*, e *U. urbanianus*.

Perdomo-Sánchez & Piepenbring (2014) revisaram as espécies de *Uromyces* conhecidas para Loranthaceae, a saber: *U. euphlebius*, *U. evastigatus*, *U. loranthi*, *U. nilagiricus*, *U. ornatipes*, *U. phthirusae*, *U. socius*, e a adição de dois novos taxa, *U. bahiensis* do Brasil e *U. struthanthi* do Panamá.

O fungo *Aecidium goyazense* era conhecido apenas como uma fase ecial sem uma conexão com uma fase telial. A fase telial comprova morfologicamente que o fungo em questão pertence ao gênero *Uromyces* e esta é descrita e ilustrada aqui.

As duas fases (ecial e telial) também são caracterizadas molecularmente e filogeneticamente a partir de sequências de rDNA como um código de barras para identificação das espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de *Phthirusa stelis* com galhas características de fungos causadores de ferrugem foram coletadas em Brasília, Distrito Federal.

As galhas marrons estavam cobertas de estruturas eciais cilíndricas para cônicas, écios pálidos a amarelados e télias erumpentes castanhas escuras cobertas por uma camada de esporos marrom escuros.

As estruturas ecídica e telial foram submetidas a cortes histológicos de 15–20 mm de espessura com um criomicrotomo modelo Micron[®]. Preparações de lâminas contendo écios, eciosporos e teliósporos das galhas foram examinadas microscopicamente por contraste de interferência diferencial Nomarski sob um microscópio de luz modelo Leica DM 2500[®] acoplado com uma câmera digital Leica DFC 490[®]; captura de imagens e medidas foram feitas com o software Leica QWin V3[®].

Algumas amostras foram coradas com azul de algodão ou com lacto-glicerol e as lâminas seladas com esmalte para unhas.

Um mínimo de 25 repetições de esporos e de células estruturais foram medidas. Porções desidratadas de galhas contendo as fases de écio e de télio foram fixadas em blocos de cobre de 10 milímetros de diâmetro usando fita dupla face de carbono e revestida com ouro 25 mA, 1,10² mbar, durante 2,5 minutos para análise em microscópio eletrônico de varredura Modelo JEOL JSM-700 1F[®].

Os espécimes foram registrados e estão depositados na coleção micológica da Universidade de Brasília (UB).

Extração, Amplificação por PCR e sequenciamento de DNA

Para obter esporos e prevenir a contaminação por outros fungos, soros foram examinados sob um microscópio estereoscópico. Massas contendo eciósporos e teliósporos foram removidas com uma agulha e colocadas separadamente em microtubos de 1,5 ml e armazenados a temperatura de -20° C. As amostras ainda nos microtubos foram congeladas com nitrogênio líquido e maceradas com auxílio de micropistilos até a obtenção de um pó fino.

A extração do DNA foi realizada pelo método CTAB (Cetiltrimetil Brometo de Amônio), procedimento estabelecido por Doyle & Doyle (1990).

As reações de PCRs incluíram os seguintes componentes para cada reação em um volume final de 25 μ L: 0,5 U de Taq DNA polimerase Platinum[®], 0,2 μ M de cada nucleotídeo, 5 mL de Tampão 10X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,4 μ M de cada um dos iniciadores; além de 10 ng/ μ L de DNA genômico e água livre de nuclease para completar o volume total.

Iniciadores ITS4-rust e ITS5-u foram utilizados para amplificar a região espaçadora transcrita interna (ITS) do rRNA (Pfundler *et al.* 2001). A região LSU foi amplificada com iniciadores externos, Rust2inv e LR6 (Aime 2006 Vilgalys & Hester 1990), enquanto que os iniciadores LR0R e Rust1 (Moncalvo *et al.* 1995, Kropp *et al.* 1997) foram utilizados como iniciadores para amplificar a região interna de interesse.

O ciclo térmico consistiu de 94° C durante 4 minutos seguido por 30 ciclos de 94° C durante 1 minuto para a desnaturação, 54° C durante 1 minuto para emparelhamento, 72° C durante 1 minuto para alongação e 72° C durante 5 minutos para a extensão final.

Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1% e corados com brometo de etídio num tampão TAE 1X e visualizados sob luz ultravioleta para verificar a amplificação e a pureza dos amplicons.

Os produtos da PCR foram tratados com as enzimas ExoSAP-IT[®] (USB) e sequenciados em um sequenciador Applied Biosystems Modelo ABI3130xl da Universidade Católica de Brasília.

As sequências de nucleotídeos foram editadas com o software BioEdit (Hall 2012). Todas as sequências foram verificadas manualmente e nucleotídeos com posições ambíguas foram conferidos através de ambas as sequências dos iniciadores.

As novas sequências foram depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank/>) e os acessos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Números de acessos do GenBank de *Uromyces hawkswothii* e de todas as outras espécies incluídas no estudo.

ESPÉCIES	Acessos GenBank (LSU)*	FONTE E PAÍS
<i>Uromyces hawkswothii</i> UB22382	KR821139	Neste estudo, Brasil
<i>Uromyces hawkswothii</i> UB22875	KR821140	Neste estudo, Brasil
<i>Cumminsia mirabilissima</i>	DQ354531	Aime (2006) Alemanha
<i>Cumminsia mirabilissima</i>	AF426206	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Puccinia coronata</i>	DQ354526	Aime (2006) EUA
<i>Puccinia coronata</i>	EU851141	Zuluaga <i>et al.</i> (2011)
<i>Puccinia graminis</i>	AF522177	Bruns <i>et al.</i> (1992)
<i>Puccinia graminis</i>	HQ412648	Deadman <i>et al.</i> (2011)
<i>Puccinia hemerocallidis</i>	GU058020	Dixon <i>et al.</i> (2010) EUA
<i>Puccinia hemerocallidis</i>	DQ354519	Aime (2006) EUA
<i>Puccinia heucherae</i>	DQ359701	Henricot <i>et al.</i> (2007) UK
<i>Puccinia heucherae</i>	DQ359702	Henricot <i>et al.</i> (2007) UK
<i>Puccinia hordei</i>	DQ354527	Aime (2006) EUA
<i>Puccinia melanocephala</i>	KP201838	Wang <i>et al.</i> Não publicado (2014) China
<i>Puccinia melanocephala</i>	KP201839	Wang <i>et al.</i> Não publicado (2014) China
<i>Puccinia nakanishikii</i>	GU058002	Dixon <i>et al.</i> (2010) EUA
<i>Puccinia peperomiae</i>	EU851146	Zuluaga <i>et al.</i> (2011) Colômbia
<i>Uromyces acuminatus</i>	GU109282	Yun <i>et al.</i> (2010) Inglaterra
<i>Uromyces appendiculatus</i>	KM249870	McTaggart (2014) Austrália
<i>Uromyces appendiculatus</i>	AY745704	Matheny <i>et al.</i> Não publicado (2005)
<i>Uromyces ari-triphylli</i>	DQ354529	Aime (2006) EUA
<i>Uromyces ixiae</i>	DQ917738	Maier <i>et al.</i> (2007) África do Sul
<i>Uromyces ixiae</i>	DQ917739	Maier <i>et al.</i> (2007) África do Sul
<i>Uromyces pisi</i>	AF426201	Maier <i>et al.</i> (2003) Europa Central
<i>Uromyces striatus</i>	HQ412652	Deadman <i>et al.</i> (2011) Omã
<i>Uromyces striatus</i>	HQ317512	Liu <i>et al.</i> (2015) Canadá
<i>Uromyces trifoli</i>	GU936634	Zuluaga <i>et al.</i> (2011) Colômbia
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	KJ716343	Padamsee & McKenzie (2014) Nova Zelândia
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	AF426199	Maier <i>et al.</i> (2003) Europa Central
<i>Uromyces vignae</i>	AB115649	Chung <i>et al.</i> (2004) Japão
<i>Melampsora larici-populina</i> (grupo externo)	JQ042250	Busby <i>et al.</i> (2012) EUA

*LSU: rDNA large subunit

Análise Filogenética

As sequências consenso foram comparadas com as sequências do banco de dados do GenBank usando a ferramenta Mega BLAST. Com base nos resultados BLASTn, as sequências foram selecionadas para este estudo de acordo com as de maior similaridade e com os dados de estudos filogenéticos recentes focados em Pucciniaceae (Bruns *et al.* 1992, Maier *et al.* 2003, Chung *et al.* 2004, Aime 2006, Matheney *et al.* 2006, Henricot *et al.* 2007, Maier *et al.* 2007, Yun *et al.* 2010 e Dixon *et al.* 2010, Deadman *et al.* 2011, Zuluaga *et al.* 2011, Busby *et al.* 2012, McTaggart 2014, Padamse & McKenzie 2014, Liu *et al.* 2015).

Após a seleção, as sequências foram baixadas em formato FASTA e alinhadas através do programa de alinhamento de múltipla sequência Muscle® (Edgar 2004) construído no software MEGA v.6 (Tamura *et al.* 2011). Os alinhamentos foram verificados e ajustes manuais foram realizados quando necessário. Os gaps foram tratados como dados ausentes.

O alinhamento resultante foi depositado no TreeBASE (<http://www.treebase.org/>), número de acesso 17667.

A análise por Inferência Bayesiana (BI) foi realizada empregando Cadeias de Markov, método de Monte Carlo (MCMC) apenas com as sequências de LSU. Antes de executar a análise de BI, foi determinado o melhor modelo de substituição de nucleotídeos com MrModeltest 2.3 (Posada & Buckley 2004).

Uma vez que os valores de verossimilhança foram calculados, os modelos foram selecionados de acordo com o Critério de Informação de Akaike (AIC). Foi utilizado o modelo de tempo reversível geral da evolução incluindo estimativa de sítios invariáveis e assumindo uma discreta distribuição gama com seis categorias de tarifa (GTR + I + G).

A análise filogenética do conjunto de dados foi realizada através do portal web CIPRES (Miller *et al.* 2010) usando MrBayes v. 3.2 (Ronquist & Heulsenbeck 2012). Quatro cadeias MCMC foram executadas simultaneamente, começando a partir de árvores aleatórias

para 10 000 000 gerações. Árvores foram amostradas a cada geração de 1000 totalizando em 10 000 árvores.

As primeiras 2500 árvores foram descartadas de cada análise. Probabilidades posteriores foram determinadas a partir de uma árvore consenso gerada com o restante das 7500 árvores. A árvore foi enraizada pela espécie *Melampsora larici-populina* e visualizada por meio do programa Figtree (Rambaut 2009) e exportada para programa de edição.

RESULTADOS

Filogenia

A amplificação e o sequenciamento das regiões LSU e ITS rDNA foram bem-sucedidos para as duas amostras obtidas tanto da fase ecial (UB22382) quanto da telial (UB22875).

A amplificação parcial da região LSU e da região ITS resultou em sequências com 1500 e 450 pb, respectivamente (números de acesso LSU: UB22382 = KR821139, UB22875 = KR821140 e ITS: UB22382 = KR821137, UB22875 = KR821138). As sequências de LSU obtidas a partir de eciosporos e teliósporos mostraram-se idênticas (Figura 1).

A região LSU foi selecionada para a identificação filogenética molecular do fungo uma vez que este marcador molecular é amplamente recomendado para a identificação de gênero e em nível de espécie para os fungos causadores de ferrugem (Hyde *et al.* 2014). As sequências ITS foram depositadas no GenBank e no UNITE (Nilsson *et al.* 2014).

Com base nos resultados a partir da matriz de dados primários de LSU (árvore não mostrada) e no conjunto de dados para fungos que causam ferrugem (árvore não mostrada) de Hyde *et al.* (2014), 31 taxa foram selecionados a partir de toda a amplitude das árvores filogenéticas derivadas de LSU. O conjunto de dados totalizou 1037 bp de posições alinhadas, dos quais 97 foram parcimônia informativos, 211 foram variáveis e 810 foram conservados.

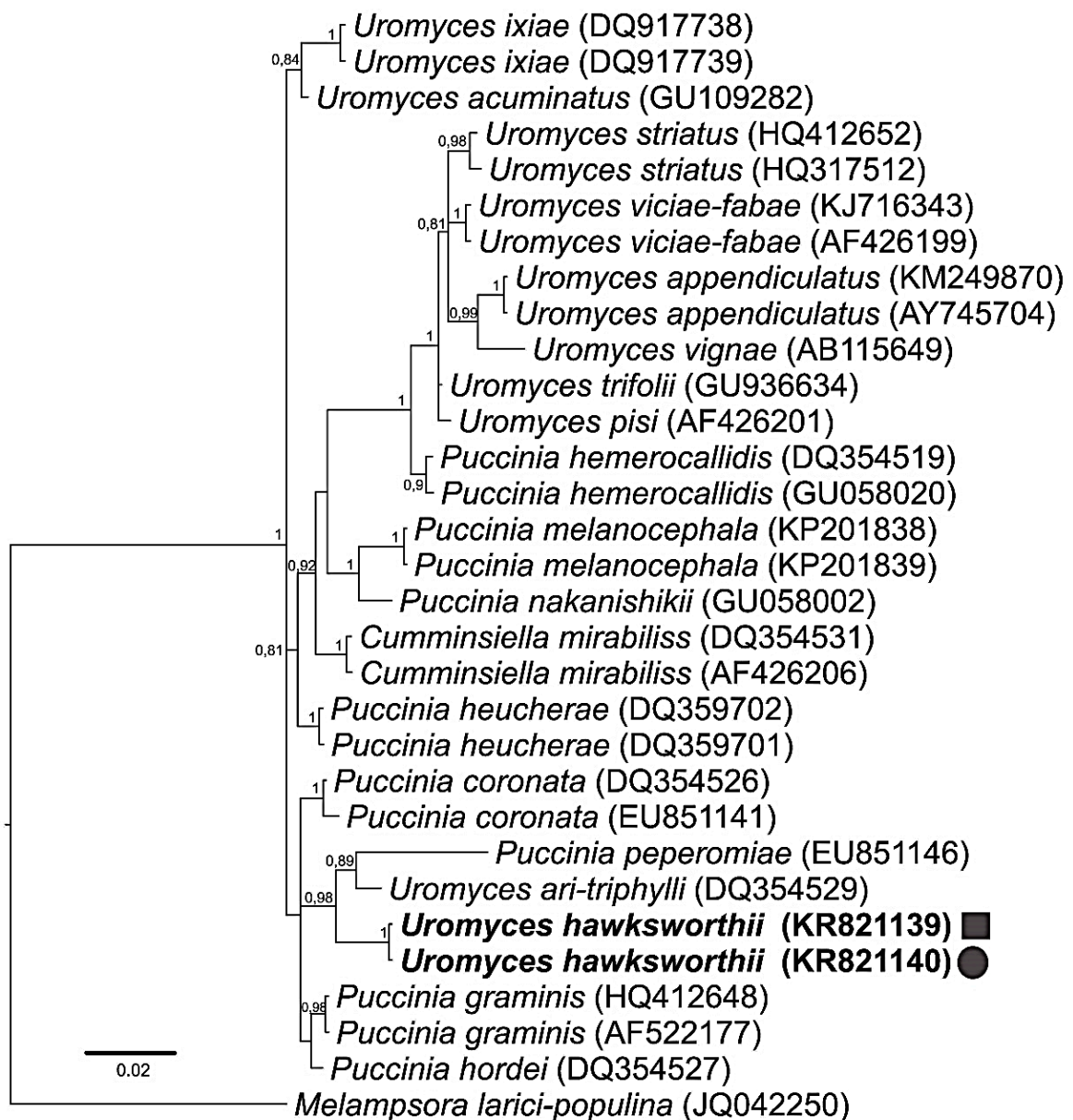


Figura 1. Árvore filogenética inferida a partir da análise Bayesiana com base nas sequências de LSU de *Uromyces* e taxa relacionados. A análise Bayesiana com valores de probabilidades posteriores acima de 0,75 são indicados nos nós. Os números de acesso do GenBank estão em parênteses. Os espécimes neste estudo são destacados em negrito. Quadrados e círculos pretos indicam sequências de DNA obtidas a partir de eciósporos e teliósporos, respectivamente. A árvore foi enraizada com *Melampsora larici-populina*.

Espécime Tipo analisado: Brasil: Goiás, Serra dos Pirineus, em *Phthirusa stelis* (em *Loranthus* sp.), agosto de 1892, Ule 1909 (B 2945 - holótipo); Brasília, Guará I, Associação dos Criadores de Pássaros de Brasília, 15° 48' 42.12 "S × 47° 58' 22.53" W, em folhas de *Phthirusa stelis*, 09 de fevereiro de 2014, J.C. Dianese (UB Mycol. Col. 22875 - epitipo designado aqui, registro de acesso MBT 201.535).

Outros espécimes examinados: (em folhas de *Phthirusa stelis*): Brasil: Brasília, Guará I, Associação dos Criadores de Pássaros de Brasília, 18 de maio de 2014, J.C. Dianese (UB Mycol 22879.); Asa Norte, Campus Universidade de Brasília, próximo ao restaurante universitário, 17 de setembro de 2012, E.S.C. Souza (UB Mycol 22.389.); Parque Olhos D'Água, 12 Setembro 2012, E.S.C. Souza (UB Mycol 22382.); Lago Sul, Brasília Jardim Botânico, 23 de abril de 2012, E.S.C. Souza (UB Mycol. 22184); Asa Norte, Avenida L4, Estação Experimental de Biologia, Universidade de Brasília, 29 de setembro de 2009, M.D.M. Santos (UB Mycol. 21084); Vargem Bonita, Fazenda Água Limpa, Universidade de Brasília, 12 de setembro de 2007, N.M. Toledo Souza (UB Mycol 20651.); Asa Norte, Campus Universidade de Brasília, próximo à Reitoria, 9 de Maio. 2007, Z.M. Chaves (UB Mycol 20569.); Super Quadra Norte 410, próximo ao Bloco N, 18 de agosto de 2003, R.C.P. Carvalho (UB Mycol 19398.); Brasília Parque Nacional, 27 de setembro de 1995, Z.M. Chaves (UB Mycol. 10125).

Descrição: Espermogônios não vistos. Écios 5–6 mm de comprimento x 300–400 µm de largura, anfígenos, principalmente epífilos, gregários, inicialmente subepidermais, erupcentes, cilíndricos, cônicos, amarelo brilhante, agrupados em uma área hemisférica pulvinada castanho clara para marrom de 0,5–1 cm de diâmetro antes da emergência dos écios, atingindo 1,2 cm de diâmetro na maturidade; células peridiaais 30–(36) 21–57 x (22)–35 µm,

oblongo a romboidal, parede exterior áspera, hialina ou levemente amarelada. Eciósporos (24–) 25–29 (–35) x (17–) 21–25 (–27,5) µm, angulares, romboides, subglobosos, ovoides, catenulados, verrugosos, hialinos a amarelos pálidos; paredes 2–3,5 (–4,5) µm. Urédias não vistas. *Télias* 1– (2) –3 mm diam, manchas circulares marrons, anfigenas, subepidermais, erumpentes, pulverulentas, marrom escuras, anfigenas, achatadas a ligeiramente cupulares, aparafisadas, mas mostrando um grande número de pedicelos longos dos teliósporos. *Teliósporos* (34–) 39–43 (–46) x (18–) 22–24 (–26,5) µm, unicelulares, oblongoelipsoides; paredes pálidas a castanhas/marrons, reticuladas em MEV, poros germinativos não observados; parede lateral 2,5–3 (–4) µm grossa, parede apical 5–6 (–7) µm de espessura, pedicelos longos (48–) 84–143(–157) x (4–) 5–6 (–7) µm, raramente persistentes em teliósporos maduros, cilíndricos, flexuosos, lisos, paredes finas e hialinas. As fases, ecídica e telial são ilustradas nas figuras 2 e 3, respectivamente.

Chave de identificação para espécies de *Uromyces* em *Loranthaceae*

1. Teliósporos de parede lisa, 30– 45 x 21– 30 µm, parede distal com 8 µm de espessura..... *U. nilagiricus*.
 - Teliósporos de paredes não lisas 2
 - 2(1). Teliósporos quase sempre inferiores a 40 µm de comprimento..... 3
 - Teliósporos principalmente com mais de 40 um de comprimento 7
 - 3(2). Teliósporos mostrando pedicelos ornamentados por anelações conspícuas..... *U. ornatipes*.
 - Teliósporos com pedicelos não ornamentados por anelações conspícuas 4
 - 4(3). Teliósporos com parede reticulada-estriada ou reticulada 5
 - Teliósporos com parede não como anteriormente 6

- 5(4). Teliósporos com parede apical espessa..... *U. circumscriptus*.
- Teliósporos com parede medindo uniformemente 2 µm de espessura..... *U. bahiensis*.
- 6(4). Teliósporos suaves para ligeiramente verrugosos; urédias parafisadas, urediniósporos equinulados, espinhos abundantes..... *U. loranthi*.
- Teliósporos longitudinalmente estriados; urédias aparafisadas, urediniósporos equinulados *U. socius*.
- 7(2). Teliósporos de pedicelos curtos, pedicelos com 50 µm de comprimento 8
- Teliósporos de pedicelos longos, pedicelos atingindo de 90– 60 µm de comprimento 10
- 8(7). Teliósporos mostrando ornamentações muito finas sobre uma disposição reticulada, urediniósporos grosseiramente reticulados; eciósporos verrugosos, subtuberculados *U. phthiruzae*.
- Teliósporos diferentes dos descritos acima, eciósporos minuciosamente verrugosos para verrugosos..... 9
- 9(8). Teliósporos verrugosos-estriados; eciósporos verrugosos..... *U. urbanianus*.
- Teliósporos reticulados, eciósporos minuciosamente verrugosos..... *U. evastigatus*.
- 10(7). Teliósporos reticulados-foveado; eciósporos equinulados..... *U. struthanthi*.
- Teliósporos, não reticulados-foveado; eciósporos verrugosos..... *U. hawksworthii*.

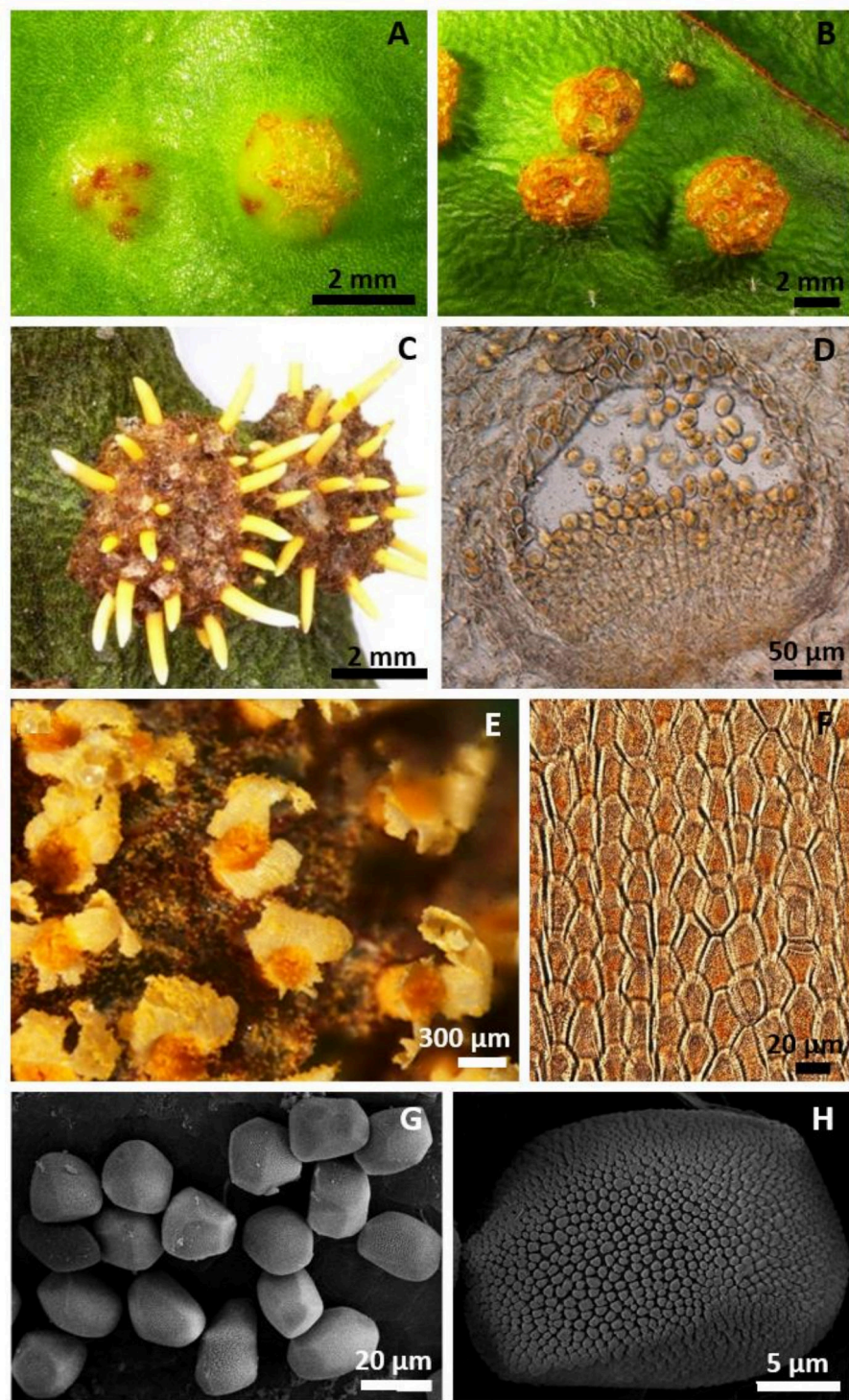


Figura 2. Fase ecídica de *Uromyces hawksworthii* em folhas de *Phthirusa stelis* - Desenvolvimento de galhas ecidiais e morfologia do écio: A. Fase inicial de formação. **B.** Estágio intermediário de duas galhas. **C.** Duas galhas maduras tendo numerosos écios colunares. **D.** Corte transversal de um écio em desenvolvimento. **E.** Écios após o lançamento de eciosporos. **F.** Textura interna da parede do perídio. **G.** Eciosporos. **H.** Detalhe da parede do eciosporo.

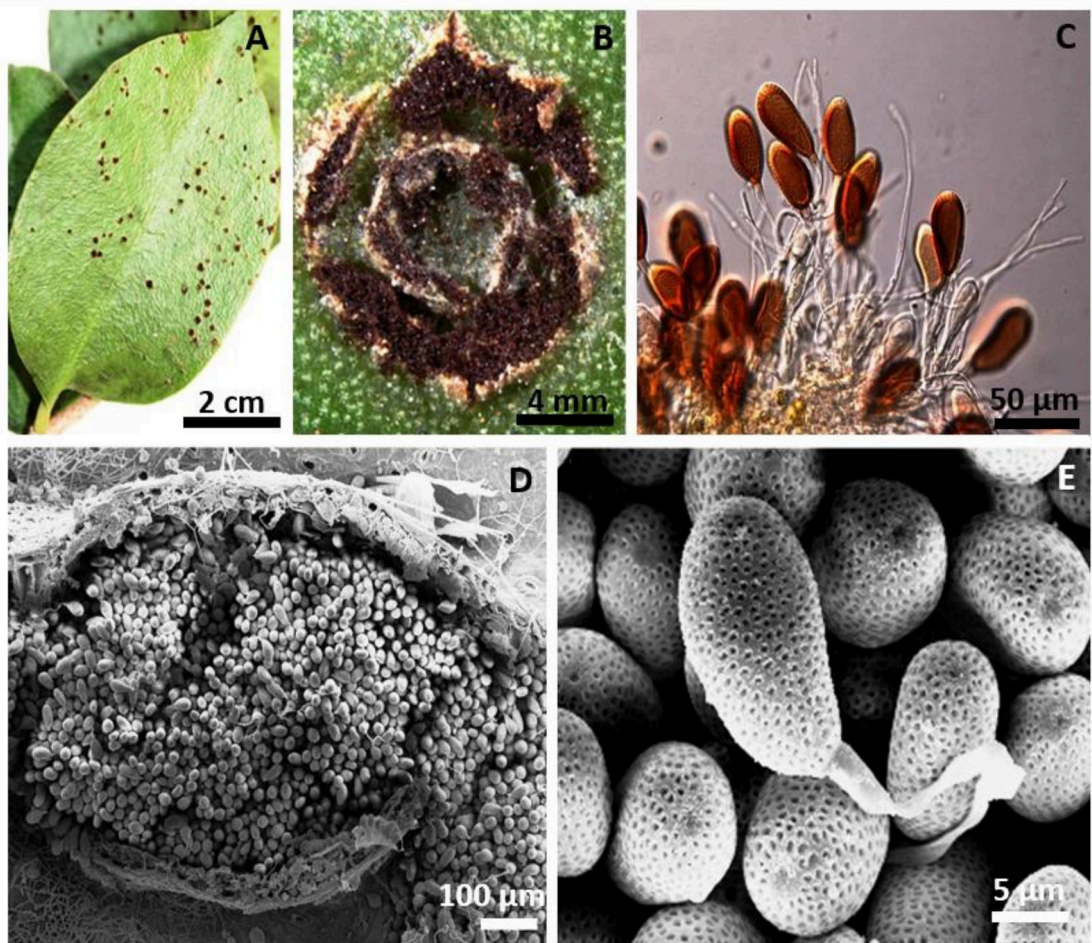


Figura 3. Fase telial de *Uromyces hawksworthii* (UB Mycol Col. 22875.) em folhas de *Phthirusa stelis*: **A.** Télias circulares castanho escuras irregulares na face adaxial. **B.** Detalhe da télia erupente. **C.** Grupo de teliósporos maduros e vários pedicelos longos similares a paráfises. **D.** Télios visto em MEV. **E.** Teliósporos mostrando parede reticulada em MEV.

DISCUSSÃO

Uromyces hawksworthii é morfologicamente diferente das outras espécies relatadas no Brasil em Loranthaceae, pois apresenta écios eretos em forma de colunas cilíndricas a cônicas com 3,5 mm de altura, localizado em discos pulvinados bem definidos ou galhas subglobosas castanhas (Figura 2).

Além disso, *U. hawksworthii* é filogeneticamente distinta dos outros taxa obtidos do GenBank (Figura 1).

Com base na busca comparativa por meio da ferramenta Blastn do GenBank, os isolados mais próximos usando sequência de LSU foram: *Puccinia heucherae* RHS5296/05 (GenBank DQ359702), *U. acuminatus* CT-V080623-3 (GenBank GU109282), *U. ari-triphylli* U637 (GenBank DQ354529), *Puccinia graminis* L-674 (GenBank HQ412648) e *P. hordei* AFTOL ID-1402 (GenBank DQ354527), todas com 98% identidade.

Além disso, tanto a fase ecial como a telial dos espécimes de *Uromyces hawksworthii* examinados neste estudo se mostraram idênticos e formaram um clado robusto (probabilidade posterior = 0,98) juntamente com *Uromyces ari-triphylli* e *Puccinia peperomia* (Figura 1).

Os dois espécimes de *U. hawksworthii* formaram um grupo irmão com outros taxa incluídos. Como os fungos causadores de ferrugem da América do Sul são pouco caracterizados molecularmente, dados adicionais de sequência de DNA serão necessários para esclarecer a filogenia desses fungos dos trópicos.

A forma ecídica deste fungo foi descrita como *Aecidium goyazense* (Hennings 1895), entretanto a fase telial nunca havia sido relatada. O binômio *Uromyces goyazensis* já se encontra ocupado por um fungo Pucciniales encontrado em *Bauhinia* sp. (Hennings 1895), o que significa que o nome *Aecidium goyazense* não pode ser re combinado em *Uromyces* pois isso criaria um homônimo a ser rejeitado (art. 53.1 do Código de Nomenclatura para Plantas,

Algas e Fungos). Consequentemente, foi dado o novo nome *Uromyces hawksworthii* para o fungo aqui estudado em homenagem ao pesquisador David Leslie Hawksworth, presidente honorário da Associação Internacional de Micologia.

Duas chaves de identificação para espécies de *Uromyces* sobre Loranthaceae estão disponíveis (Hennen *et al.* 2005, Perdomo-Sánchez & Piepenbring 2014). Em cada chave as espécies foram separadas pela forma e pela ornamentação dos teliósporos, écios, eciosporos, presença ou ausência da fase uredínica e espécies hospedeiras.

Perdomo-Sánchez & Piepenbring (2014) revisaram e ilustraram por microscopia de luz e por MEV espécimes de *Uromyces* sobre Loranthaceae ao redor do mundo, com exceção de *U. nilagiricus*, uma espécie relatada em *Loranthus* sp. da Índia, para os quais o material tipo não estava disponível. Esta é a única espécie encontrada fora da América Latina distinguida por teliósporos lisos (Ramakrishnam & Ramakrishnam 1950).

Com base em características da parede dos teliósporos, as espécies de *Uromyces* na família Loranthaceae são distribuídas em dois grupos bem definidos. Um tem teliósporos com superfície verrugosa ou marcadamente estriada, incluindo *U. euphlebius*, *U. ornatipes*, *U. loranthi*, *U. phthirusae* e *U. socius* (Sydow 1920, Arthur 1915, 1918, Perdomo-Sánchez & Piepenbring 2014).

O outro grupo possui teliósporos não verrugosos com a superfície foveada, incluindo *U. bahiensis*, *U. circumscriptus*, *U. evastigatus*, *U. loranthi*, *U. phthirusae*, *U. struthanthi*, e *U. urnabianus*. Neste último grupo de espécies, apenas a *U. loranthi* (fase ecídica desconhecida, teliósporos verrugosos) e *U. phthirusae* (teliósporos estriados) têm uma fase uredínica conhecida.

Este trabalho aqui realizado já foi publicado em forma de artigo em 2015 e a publicação original encontra-se no anexo 1.

REFERÊNCIAS

- Aime MC (2006) Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience*. 47: 112-122.
- Arthur JC (1915) New species of Uredineae IX. *Bulletin of Torrey Botanical Club*. 42: 585-593.
- Arthur JC (1918) Uredinales of Guatemala based on collections by WWD. Holway – II. *Aecidiaceae, exclusive of Puccinia and form genera*. *American Journal of Botany*. 5: 420-446.
- Bruns TD, Vilgalys R, Barns SM, Gonzalez D, Hibbett DS, et al. (1992) Evolutionary relationships within the fungi: analyses of nuclear small subunit rRNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 1: 231-241.
- Busby PE, Aime MC, Newcombe G (2012) Foliar pathogens of *Populus angustifolia* are consistent with a hypothesis of Beringian migration into North America. *Fungal Biology*. 116: 792-801.
- Chung WH, Tsukiboshi T, Ono Y, Kakishima M (2004) Morphological and phylogenetic analyses of *Uromyces appendiculatus* and *U. vignae* on legumes in Japan. *Mycoscience*. 45: 233-244.
- Deadman ML, Al Sadi AM, Al Maqbali YM, Farr DF, Aime MC (2011) Additions to the rust fungi (Pucciniales) from northern Oman. *Sydowia*. 63: 155-168.
- Dixon LJ, Castlebury LA, Aime MC, Glynn NC, Comstock JC (2010) Phylogenetic relationships of sugarcane rust fungi. *Mycological Progress*. 9: 459-468.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13-15.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*. 5: 113.
- Hall T (2012) BioEdit v 7.0.9: Biological sequence alignment editor for Win95/98/2K/XP/7.

- Hennen JF, Figueiredo MB, Carvalho Jr. AA, Hennen PG (2005) Catalogue of the species of plant rust fungi (Uredinales) of Brazil. Instituto de Pesquisas, Jardim Botânico do Rio de Janeiro Rio de Janeiro, Brazil.
- Hennings P (1895) Fungi goyazenses. Hedwigia. 34: 88-112.
- Henricot BA, Denton GA, Lane CB (2007) First report of *Puccinia heucherae* on *Heuchera* spp. in the UK. Plant Pathology. 56: 352.
- Hyde KD, Nilsson RH, Alias SA, Ariyawansa AH, Blair E, et al. (2014) One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014). Fungal Diversity. 67: 21-125.
- Kropp BR, Hansen DR, Wolf PG, Flint KM, Thomson SV (1997) A study on the phylogeny of the dyer's woad rust fungus and other species of *Puccinia* from Crucifers. Phytopathology. 87: 565-571.
- Liu M, McCabe E, Chapados JT, Carey J, Wilson SK, et al. (2015) Detection and identification of selected cereal rust pathogens by TaqMan® real-time PCR. Canadian Journal of Plant Pathology. 37: 92-105.
- Maier W, Begerow D, Weiss M, Oberwinkler F (2003) Phylogeny of the rust fungi: an approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. Canadian Journal of Botany. 81: 12-23.
- Maier W, Wingfield BD, Mennicken M, Wingfield MJ (2007) Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. Mycological Research. 111: 176-185.
- Matheny PB, Gossmann JA, Zalar P, Kumar TKA, Hibbett DS (2006) Resolving the phylogenetic position of the Wallemiomycetes: an enigmatic major lineage of Basidiomycota. Canadian Journal of Botany. 84: 1794-1805.
- McTaggart AR, Geering ADW and Shivas RG (2014) *Uredinopsis pteridis* and *Desmella aneimiae*, the first rust fungi (Pucciniales) reported on ferns (Pteridophyta) in Australia. Australasian Plant Disease. Notes 9: 149.

- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA: 1-8.
- Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS (1995) Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia*. 87: 223-238.
- Nilsson RH, Hyde KD, Pawłowska J, Ryberg M, Tedersoo L, et al. (2014) Improving ITS sequence data for identification of plant pathogenic fungi. *Fungal Diversity*. 67: 11-19.
- Padamsee M, McKenzie EHC (2014) A new species of rust fungus on the New Zealand endemic plant, *Myosotidium*, from the isolated Chatham Islands. *Phytotaxa*. 174: 223-230.
- Perdomo-Sánchez O, Piepenbring M (2014) Species of *Uromyces* (Pucciniales, Basidiomycota) on Loranthaceae. *Tropical Plant Pathology*. 39: 141-153.
- Pfunder M, Schürch S, Roy BA (2001) Sequence variation and geographic distribution of pseudoflower-forming rust fungi (*Uromyces pisi* s. lat.) on *Euphorbia cyparissias*. *Mycological Research*. 105: 57-66.
- Posada D, Buckley T (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*. 53: 793-808.
- Ramakrishnam TS, Ramakrishnam K (1950) Additions to fungi of Madras VIII. Proceedings of the Indian Academy of Science. B 3: 102-110.
- Rambaut A (2009) FigTree. Version 1.2.3. Edinburgh: Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. 61: 539-542.
- Sydow HP (1920) Novae fungorum species. *Annales Mycologici*. 18: 154-160.

- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) Mega 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28: 2731-2739.
- Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*. 172: 4238-4246.
- Yun HY, Minnis AM, Dixon LJ, Castlebury LA (2010) First report of *Uromyces acuminatus* on *Honckenya peploides*, the endangered sea beach sandwort. *Plant Disease*. 94: 279.
- Zuluaga C, Buriticá P, Marín M (2011) Filogenia de hongos/roya (Uredinales) em la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del DNA ribosomal 28S. *Revista de Biología Tropical*. 59: 517-540.

CAPÍTULO 4

Esse Capítulo consiste na versão em português do trabalho submetido para publicação no dia 26 de novembro de 2016, no periódico Fungal Biology, editado via Elsevier pela British Mycological Society

INTERAÇÃO ENTRE *Colletotrichum truncatum* E *Uromyces euphorbiae* EM FOLHAS DE *Euphorbia hirta* (*)

AUTORES: Érica S.C. Souza, Helson M.M. Vale, Rita C. Pereira-Carvalho, William R.O. Soares, Robert G.N. Miller, José C. Dianese

(PDF no Anexo 2)

RESUMO

Euphorbia hirta (Euphorbiaceae) ocorre na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo no Brasil, Austrália, Índia e EUA. Em Brasília, plantas infectadas com *Uromyces euphorbiae* mostraram lesões características de pústulas de ferrugem (485–220 µm diâmetro) delimitadas por um centro necrótico e circundada por uma borda marrom-avermelhada contendo urediniósporos e teliósporos. Em 74% das lesões foliares, foram produzidos acérvulos setosos de uma espécie de *Colletotrichum*, exclusivamente dentro da área necrótica e ao redor das pústulas. A caracterização morfológica e molecular confirmaram a espécie *Colletotrichum truncatum*, com conídios tipicamente curvados (31)– 27–23 x 3–4 µm) acérvulos medindo 86–44 µm, formados por uma paliçada de setas negras e longas (até 140 x 5 µm). Acérvulos de *Colletotrichum truncatum* não foram encontrados apenas em 26% das pústulas, e não foram observados nas áreas da folha onde *U. euphorbiae* não ocorre.

Isolamento de áreas saudáveis das folhas e das folhas sem infecção por ferrugem, revelou que o fungo associado tratava-se de uma espécie endofítica. Os sequenciamentos das regiões parciais dos genes ITS, TUB2, GAPDH e HIS3 revelou que os espécimes, endofítico e acervular próximos às pústulas, pertenciam à mesma espécie e são membros do complexo *C. truncatum*. O fungo causador de ferrugem foi pela primeira vez sequenciado (regiões LSU e ITS do rDNA) e ilustrado em Microscopia Eletrônica de Varredura. Pesquisas adicionais são necessárias para esclarecer o aspecto fisiológico da interação entre *U. euphorbiae* e o fungo endofítico *C. truncatum*.

Palavras chave: Fungos Neotropicais, Identificação Morfo-molecular, Pucciniales, Glomerelalles

INTRODUÇÃO

Entre 2011 e 2016, foram encontrados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília plantas da espécie *Euphorbia hirta*, uma erva daninha comum em terrenos baldios e plantios agrícolas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o Brasil, Austrália, Índia e EUA (CABI 2016). As plantas mostraram manchas de folhas contendo pústulas de fungo causador de ferrugem devido a infecção por uma espécie de *Uromyces*, na maioria cercada por acérvulos setosos castanho escuros de uma espécie de *Colletotrichum*.

Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar morfológicamente e molecularmente ambos os fungos e discutir o significado dessa interação.

MATERIAL E MÉTODOS

Morfologia

As lesões foliares contendo espécie de *Colletotrichum* e o fungo causador da ferrugem foram inicialmente estudadas sob um microscópio estereoscópico, seguido por observações de lâminas contendo as estruturas fúngicas e cortes histológicos de 15–20 µm de espessura obtidos utilizando um criomicrotomo Leica®.

As características morfológicas de ambos os fungos foram descritas, mensuradas e fotografadas usando um estereomicroscópio Leica M 206C® e um microscópio de luz Leica DM 2500® juntamente com uma câmera digital Leica DFC 490® acoplada a um computador.

A captura de imagens, edição e mensurações foram feitas usando o software Leica QWIN® V3. Em alguns casos, as amostras foram coradas com lacto-glicerol algodão azul e as lâminas seladas com esmalte para unhas, no entanto a maior parte do trabalho fotográfico foi feito sem coloração utilizando Nomarski óptica.

Um mínimo de 20 repetições de esporos e estruturas celulares foram medidas. Parte de folhas secas que continham acérvulos e pústulas da ferrugem com urediniósporos e teliósporos foram fixados sobre blocos de bronze de 10 mm de diâmetro com fita dupla face de carbono, e tratada com ouro a 25 mA, 1,10-2 mbar, durante 2,5 minutos para o estudo detalhado da morfologia das estruturas fúngicas em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) modelo JEOL JSM-700® 1F.

As amostras de plantas contendo os fungos associados foram herborizadas e depositadas na Coleção Micológica do Herbário UB com os seguintes códigos: UB21591, UB22311, UB23207 e UB23305.

Cultura, Extração de DNA, Amplificação por PCR e Sequenciamento de DNA

Os espécimes de *Colletotrichum* foram diretamente isolados a partir dos acérvulos em torno das lesões da ferrugem, e, também, a partir de áreas assintomáticas das folhas da planta superficialmente desinfestadas por lavagem em série em 2% de hipoclorito, 70% de etanol e água destilada esterilizada para verificar a possível presença do fungo endofítico.

Os isolados foram cultivados em placas de Petri contendo batata-dextrose-ágar (BDA) durante sete dias antes da obtenção de culturas monospóricas utilizadas para os estudos morfológicos, e para a extração do DNA genômico necessária para a caracterização molecular das espécies.

Os isolados obtidos foram armazenados em água destilada esterilizada (Dhingra & Sinclair 1995) com o código de acesso CCUB 29 para o isolado acervular e CCUB 30 para o endofítico.

O DNA genômico da ferrugem foi extraído a partir de pústulas mistas com urediniósporos e teliósporos da ferrugem, e, também separadamente, a partir dos eciósporos. Para todas as amostras de ambas as espécies, *Colletotrichum* e *Uromyces*, a extração do DNA genômico foi feita usando o método CTAB (Brometo de Cetiltrimetil Amônio), seguindo Doyle & Doyle (1990).

Quatro regiões gênicas parciais foram sequenciadas para ambos isolados de *Colletotrichum*: ITS; β -tubulin2 (TUB2); GAPDH e Histona H3 (Tabela 1).

No caso do fungo causador de ferrugem, a região ITS e LSU do rDNA foram sequenciadas usando os iniciadores contidos na Tabela 1.

As PCRs para ambas as espécies de *Uromyces* e de *Colletotrichum* foram realizadas usando os seguintes reagentes para um volume total de 25 μ L por reação: 0,5 U de Taq DNA polimerase Platinum[®], 0,2 mM de cada nucleotídeo, Tampão 10X (10-50 mM de Tris-HCl, pH 8,3, KCl 50 mM), 1,5 mM de MgCl₂, 0,4 μ M de cada um dos iniciadores sensu e anti-

sensu (Tabela 1); além de um máximo de 10 ng / mL de DNA genômico. O ciclo térmico consistiu em 94°C durante 4 min, seguido por 30 ciclos de 94°C durante 1 min (desnaturação), temperatura de anelamento de acordo com a tabela 1 durante 1 min, 72° C durante 1 min (elongação) e 72°C durante 5 min (extensão final).

Tabela 1. Iniciadores e respectivas temperaturas de anelamento utilizadas na PCR.

Espécie fúngica	Região ou gene	Primer	Sequência	Temp. Anelamento	Referências
<i>Colletotrichum truncatum</i>	ITS	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	55° C	White et al. (1990)
		ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		White et al. (1990)
	GAPDH	GDF1	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA	58° C	Templeton et al. (1992)
		GDR1	GGGTGGAGTCGTAAGTGGAGCATGT		Templeton et al. (1992)
	HIS	CYIH3F	AGGTCCACTGGTGGCAAG	58° C	Crous et al. (2004)
		CYIH3R	AGCTGGATGTCCTTGACTG		Crous et al. (2004)
	TUB2	T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	62° C	Glass & Donaldson (1995)
		Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC		O'Donnell & Cigelnik (1997)
<i>Uromyces euphorbiae</i>	ITS	ITS4-rust	CAGATTACAAATTTGGGCT	55° C	Pfunder et al. (2001)
		ITS5-u	AAGGTTTCTGTAGGTG		Pfunder et al. (2001)
		Rust2inv	GATGAAGAACACAGTGAAG	55° C	Aime (2006)
	LSU	LR6	CGCCAGTTCTGCTTACC		Vilgalys & Hester (1990)
		LR0R	ACCCGCTGAACTTAAGC	53° C	Moncalvo et al. (1995)
	Rust1	GCTTACTGCCTTCCTCAATC	Kropp et al. (1997)		

Os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em géis de agarose a 1% corado com brometo de etídio em tampão TAE 1X e visualizados sob luz UV para verificar o tamanho e pureza dos amplicons. Os produtos da PCR foram tratados com ExoSAP-IT® (USB) e sequenciados em um sequenciador da Applied Biosystems (modelo ABI3130xl) do Laboratório de Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília.

Análise Filogenética

As sequências dos nucleotídeos foram editadas usando BioEdit (Hall 2012) e Geneious-R8 (Kearse *et al.* 2012). Todas as sequências foram verificadas manualmente, e os nucleotídeos com posições ambíguas foram esclarecidas usando ambas as sequências dos iniciadores. As novas sequências foram depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e os seus números de acesso estão listados nas Tabelas 2 e 3.

Sequências consenso de todos os segmentos amplificados pertencentes às duas espécies de fungos foram comparados com aqueles do GenBank através da ferramenta BLASTn. Foram selecionadas sequências que mostraram similaridade para as análises filogenéticas enfatizando aquelas que ocorrem em hospedeiras pertencem na família Euphorbiaceae.

No caso do estudo envolvendo *Colletotrichum* também foram considerados estudos filogenéticos recentes centrados em espécies de conídios curvados para a seleção de espécies a serem incluídas nessas análises (Damm *et al.* 2009, Hyde *et al.* 2014, Yang *et al.* 2014).

Após a seleção, as sequências foram baixadas do GenBank em formato FASTA sendo ITS, TUB2, GAPDH e HIS3 de espécies de *Colletotrichum* e apenas ITS e LSU para *Uromyces*. Os alinhamentos foram realizados por Muscle® (Edgar 2004), no MEGA v.6 (Tamura *et al.* 2013), checados e ajustados manualmente quando necessário. Os gaps foram tratados como dados ausentes.

Os alinhamentos referentes a cada marcador utilizado para as análises filogenéticas das espécies de *Colletotrichum* foram analisados separadamente e após concatenados por meio do programa Mesquite v.3.10 (Maddison & Maddison 2016).

Os alinhamentos resultantes da análise das espécies fúngicas foram depositados no TreeBASE (<http://www.treebase.org/>), número de acesso 19554.

As relações filogenéticas para ambas as espécies de fungos foram realizadas sob Máxima Verossimilhança, em inglês Maximum Likelihood (ML) e sob Inferência Bayesiana, em inglês Bayesian Inference (BI) utilizando os softwares PAUP * v. 4.0b10 (Swofford 2002) e Mr. Bayes v. 3.2.1 (Ronquist *et al.* 2012). Antes de lançar o ML e BI, o melhor modelo de substituição dos nucleotídeos foi determinado com MrMODELTEST 2.3 (Posada & Buckley 2004). Uma vez que os valores de probabilidade foram calculados, os modelos foram selecionados de acordo com o Critério de Informação Akaike (AIC).

O método de ML baseou-se no modelo GTR + I + G e a árvore foi desenhada com comprimentos dos ramos sendo mensurados o número de substituições por sítio. A estabilidade dos cladogramas das árvores ML foi calculada por meio de análise de bootstrap com 1000 repetições.

A análise por Inferência Bayesiana (BI) foi realizada empregando Cadeias de Markov, método de Monte Carlo (MCMC). Uma vez que as probabilidades para verossimilhança foram calculadas, os modelos foram selecionados de acordo com o Critério de Informação de Akaike (AIC).

Utilizou-se o modelo de tempo-reversível geral da evolução incluindo estimativa de sítios invariáveis e assumindo uma distribuição gama discreta com seis categorias de tarifa (GTR + I + G). Quatro cadeias MCMC foram executadas simultaneamente, a partir de árvores aleatórias para 10.000.000 gerações. Árvores foram amostradas a cada geração das 1.000th gerando um total de 10.000 árvores. As primeiras 2500 árvores foram descartadas de cada análise. As probabilidades posteriores foram determinadas a partir de uma árvore consenso gerada com as 7500 árvores remanescentes.

As árvores foram enraizadas com as espécies *Colletotrichum lindemuthianum* para análise filogenética das espécies de *Colletotrichum* e *Melampsora larici-populina* para a análise filogenética envolvendo as espécies de *Uromyces*. Em seguida foram visualizadas no

Figtree (Rambaut 2009) e exportadas para programa de edição. Os filogramas gerados pelos métodos (ML e BI) são apresentados nas Figuras 1 e 2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ambos os isolados de *Colletotrichum* associados com as pústulas de ferrugem causada por uma espécie de *Uromyces* sobre *E. hirta*, e ocorrendo como endofítico em folhas saudáveis, foram identificados como sendo a mesma espécie e pertencentes ao complexo *C. truncatum*.

O fungo causador de ferrugem foi identificado como *U. euphorbiae*. A identificação de *C. truncatum* e *U. euphorbiae* infectando *E. hirta* foi baseada em análises moleculares e morfológicas, como se segue.

No caso de *C. truncatum*, amplificação e sequenciamento da região ITS do rDNA, e genes TUB2, GAPDH e HIS3 foram realizados para ambos os isolados (acervular e endofíticos).

A matriz gerada usando os quatro marcadores de forma concatenada para 31 taxa, incluindo aqueles selecionados de GenBank (Tabela 2), resultou em um conjunto de dados de 1277 pb de posições alinhadas, sendo 373 para parcimônia informativos, 400 variáveis e 877 conservados, e usados para as análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana.

Além disso, a análise molecular (Figura 1) mostrou que tanto o isolado acervular e o isolado endofítico são, de fato, membros da mesma espécie, *C. truncatum*.

Tabela 2. Acessos do GenBank de *Colletotrichum truncatum* (Endofítico e Acervular) e todas as outras espécies incluídas neste estudo.

ESPÉCIES	Números de acessos do GenBank				FONTE
	ITS	TUB2	GAPDH	HIS3	
<i>C. truncatum</i> CCUB 2239 (Endofítico)	KT955900	KT955902	KT955906	KT955904	Presente estudo
<i>C. truncatum</i> CCUB 2242 (Acervular)	KT955901	KT955903	KT955907	KT955905	Presente estudo
<i>C. anthrisci</i> CBS 125334	GU227845	GU228139	GU228237	GU228041	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. chlorophyti</i> IMI 103806	GU227894	GU228188	GU228286	GU228090	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. circinans</i> CBS 22181	GU227855	GU228149	GU228247	GU228051	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. dematium</i> CBS 12525	GU227819	GU228113	GU228211	GU228015	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. fructi</i> CBS 34637/CCT 4806	GU227844	GU228138	GU228236	GU228040	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. incanum</i> ATCC 64682a	KC110789	KC110816	KC110807	KC110798	Yang <i>et al.</i> (2014), Tu (1990)
<i>C. incanum</i> IL6A/NRRL 62592/CBS133485	KC110787	KC110814	KC110805	KC110796	Yang <i>et al.</i> (2014)
<i>C. lilii</i> CBS 18630	GU227811	GU228105	GU228203	GU228007	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. lineola</i> CBS 125337	GU227829	GU228123	GU228221	GU228025	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. liriopes</i> CBS 119444	GU227804	GU228098	GU228196	GU228000	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. phaseolorum</i> CBS 15736	GU227896	GU228190	GU228288	GU228092	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. rusci</i> CBS 119206	GU227818	GU228112	GU228210	GU228014	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. spaethianum</i> CBS 16749/BBA 4804	GU227807	GU228101	GU228199	GU228003	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. spinaciae</i> CBS 12857	GU227847	GU228141	GU228239	GU228043	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. tofieldiae</i> CBS 49585	GU227801	GU228095	GU228193	GU227997	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. trichellum</i> CBS 118198	GU227813	GU228107	GU228205	GU228009	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 125328	GU227885	GU228179	GU228277	GU228081	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 15135 (Tipo)	GU227862	GU228156	GU228254	GU228058	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 18252	GU227866	GU228160	GU228258	GU228062	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 19532	GU227865	GU228159	GU228257	GU228061	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 66788	GU227891	GU228185	GU228283	GU228087	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 71070	GU227864	GU228158	GU228256	GU228060	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS34570	GU227867	GU228161	GU228259	GU228063	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> IL15B	KC110790	KC110817	KC110808	KC110799	Yang <i>et al.</i> (2014)
<i>C. truncatum</i> IL16D	KC110791	KC110818	KC110809	KC110800	Yang <i>et al.</i> (2014)
<i>C. verruculosum</i> IMI 45525	GU227806	GU228100	GU228198	GU228002	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. lindemuthianum</i> CBS15128 (grupo externo)	GU227800	GU228094	GU228192	GU227996	Damm <i>et al.</i> (2009)

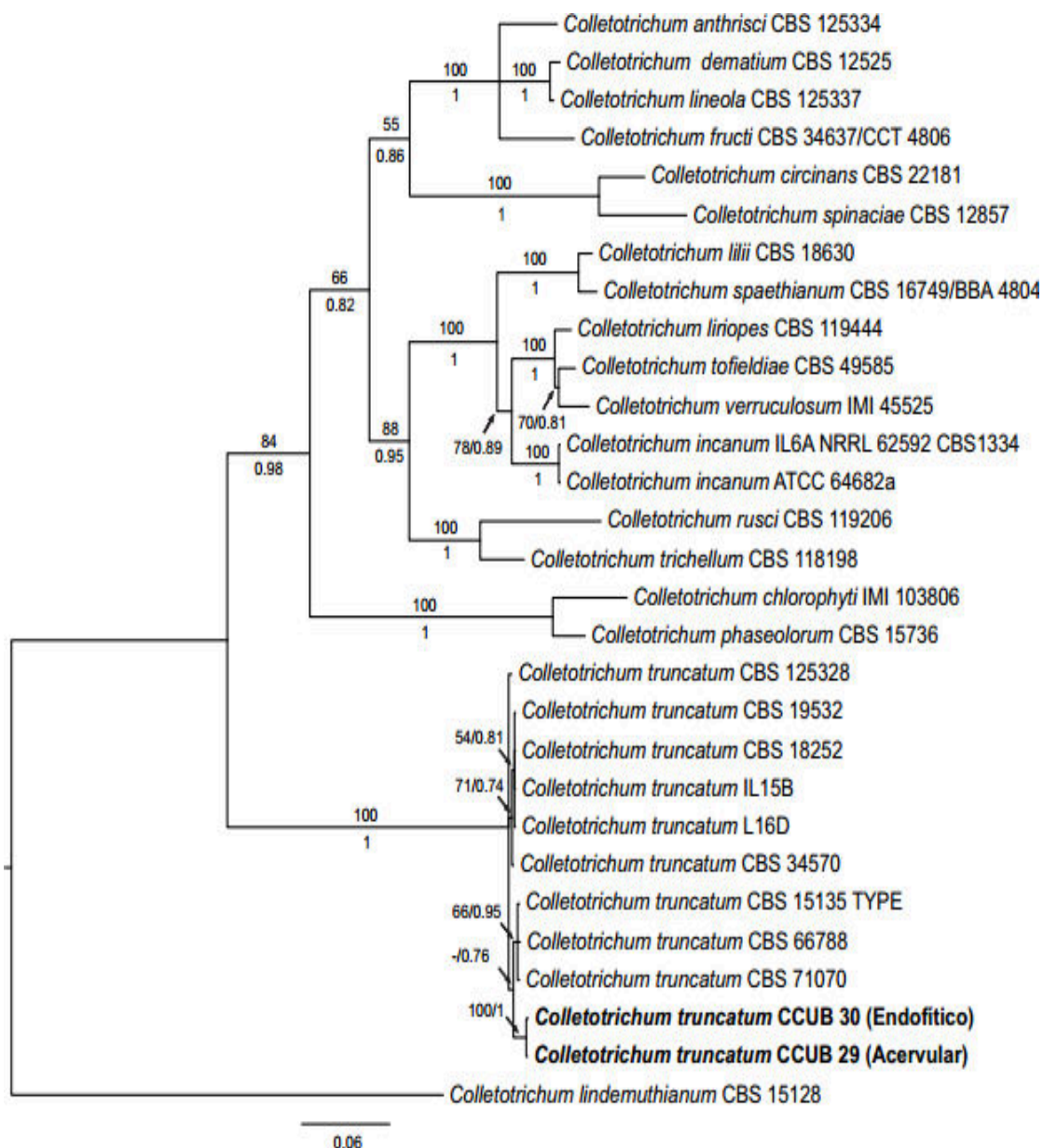


Figura 1. Árvore filogenética inferida a partir da análise de Máxima Verossimilhança e sob Inferência Bayesiana com base nas sequências concatenadas de ITS, TUB2, GAPDH e HIS de espécies do complexo *C. truncatum* e de espécies de *Colletotrichum* com conídios curvados. A análise de Máxima Verossimilhança com os valores de suporte de bootstrap (1000 repetições) acima de 50% são mostrados nos nós. Valores de probabilidades posteriores em Bayesiana acima de 0,75 são indicados nos nós. Códigos de identificação dos isolados estão em parênteses. Os espécimes deste estudo são destacados em negrito. A árvore foi enraizada com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Pela primeira vez, foi realizado o sequenciamento da região ITS e LSU do rDNA de *U. euphorbiae* com sucesso para as duas amostras obtidas a partir dos eciósporos e de pústulas mistas contendo urediniósporos e teliósporos. Com base nos nossos dados moleculares *U. euphorbiae*, número de acesso UB23207 é considerado como espécime de referência.

Outras sequências de LSU de espécies de *Uromyces* foram selecionadas do GenBank e utilizadas para a identificação filogenética molecular do fungo, como extensamente recomendada para identificação em nível de gênero e espécies de fungos causadores de ferrugem (Hyde *et al.* 2014).

Com base nos resultados a partir da matriz de dados da região LSU, 34 taxa (Tabela 3) foram selecionados para as reconstruções filogenéticas. O conjunto de dados totalizou 509 bp de posições alinhadas, dos quais 59 foram parcimônia informativos, 120 foram variáveis e 389 foram conservados, usados para as análises ML e BI.

Os dados mostraram que as sequências de *U. euphorbiae* obtidas a partir de pústulas mistas (contendo teliósporos e urediniósporos) e de pústulas apenas com eciósporos, eram idênticas.

A espécie foi posicionada em um clado juntamente com outros membros patogênicos para Euphorbiaceae ou mesmo para Fabaceae. Os dados da filogenia baseada nas sequências, permitiram, assim, uma caracterização molecular e o posicionamento seguro das espécies claramente separadas dos outros componentes em outros clados (Figura 2).

Tabela 3. Acessos do GenBank de *Uromyces euphorbiae* e de todas as outras espécies incluídas neste estudo.

ESPÉCIES	HOSPEDEIRA (FAMÍLIA)	Número de acessos do GenBank (LSU)*	FONTE E PAÍS
<i>Uromyces euphorbiae</i> UB23207 (Ecial)	<i>Euphorbia hirta</i> (Euphorbiaceae)	KU133292	Neste estudo, Brasil
<i>Uromyces euphorbiae</i> UB22311 (Telial/Uredinial)	<i>Euphorbia hirta</i> (Euphorbiaceae)	KU133293	Neste estudo, Brasil
<i>Cumminsia mirabilissima</i>	<i>Mahonia aquifolium</i> (Berberidaceae)	DQ354531	Aime (2006) Alemanha
<i>Cumminsia mirabilissima</i>	<i>Mahonia aquifolium</i> (Berberidaceae)	AF426206	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Endophyllum euphorbiae-sylvaticae</i>	<i>Euphorbia amygdaloides</i> (Euphorbiaceae)	AF426200	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Puccinia balsamorhizae</i>	<i>Balsamorhiza sagittata</i> (Asteraceae)	JN204182	Bruckart <i>et al.</i> (2012) EUA
<i>Puccinia coronata</i>	<i>Rhamnus cathartica</i> (Rhamnaceae)	DQ354526	Aime (2006) EUA
<i>Puccinia graminis</i>	<i>Hordeum</i> sp. (Poaceae)	HQ412648	Deadman <i>et al.</i> (2011)
<i>Puccinia heucherae</i>	<i>Heuchera</i> sp. (Saxifragaceae)	DQ359702	Henricot <i>et al.</i> (2007) Inglaterra
<i>Puccinia malvacearum</i>	<i>Alcea rosea</i> (Malvaceae)	AF426205	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Puccinia melanocephala</i>	<i>Saccharum</i> sp. (Poaceae)	KP201838	Wang <i>et al.</i> Não publicado (2014)
<i>Puccinia peperomiae</i>	<i>Piper</i> sp. (Piperaceae)	EU851146	Zuluaga <i>et al.</i> (2011) Colômbia
<i>Uromyces acuminatus</i>	<i>Honkenya peploides</i> (Caryophyllaceae)	GU109282	Yun <i>et al.</i> (2010) Inglaterra
<i>Uromyces appendiculatus</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fabaceae)	KM249870	McTaggart (2014) Austrália
<i>Uromyces ari-triphylli</i>	<i>Arisaema triphyllum</i> (Araceae)	DQ354529	Aime (2006) EUA
<i>Uromyces ficariae</i>	<i>Ranunculus ficaria</i> (Ranunculaceae)	AF426204	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Uromyces gageae</i>	<i>Gagea lutea</i> (Liliaceae)	AF426208	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Uromyces galegae</i>	<i>Galega officinalis</i> (Fabaceae)	DQ250133	Aime (2006) EUA
<i>Uromyces ixiae</i>	<i>Babiana tubulosa</i> (Iridaceae)	DQ917738	Maier <i>et al.</i> (2007) África do Sul
<i>Uromyces ixiae</i>	<i>Babiana</i> cf. <i>sambucina</i> (Iridaceae)	DQ917739	Maier <i>et al.</i> (2007) África do Sul
<i>Uromyces junci</i>	<i>Pulicaria dysenterica</i> (Asteraceae)	AF426203	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Uromyces phaseoli</i>	<i>Pisum</i> sp. (Fabaceae)	HQ317516	Não publicado
<i>Uromyces striatus</i>	<i>Medicago</i> sp. (Fabaceae)	HQ412652	Deadman <i>et al.</i> (2011) Omã
<i>Uromyces striatus</i>	<i>Euphorbia</i> sp. (Euphorbiaceae)	HQ317512	Liu <i>et al.</i> (2015) Canadá
<i>Uromyces trifolii</i>	<i>Trifolium repens</i> (Fabaceae)	GU936634	Zuluaga <i>et al.</i> (2011) Colômbia
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	<i>Vicia faba</i> (Fabaceae)	KJ716343	Padamse and McKenzie (2014) Nova Zelândia
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	<i>Vicia pannonica</i> (Fabaceae)	AF426199	Maier <i>et al.</i> (2003) Europa Central
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	Não publicado	AY745695	Matheny & Hibbet Não publicado (2004)
<i>Uromyces vignae</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (Fabaceae)	AB115649	Chung <i>et al.</i> (2004) Japão
<i>Uromyces hawksworthii</i>	<i>Phthirusa stelis</i> (Loranthaceae)	KR821139	Souza <i>et al.</i> (2015) Brasil
<i>Uromyces hawksworthii</i>	<i>Phthirusa stelis</i> (Loranthaceae)	KR821140	Souza <i>et al.</i> (2015) Brasil
<i>Uromyces pisi</i>	<i>Euphorbia cyparissias</i> (Euphorbiaceae)	AF426201	Maier <i>et al.</i> (2003) Europa Central
<i>Uromyces scutellatus</i>	<i>Euphorbia cyparissias</i> (Euphorbiaceae)	DQ917713	Maier <i>et al.</i> (2007) África do Sul
<i>Melampsora larici-populina</i> (grupo externo)	<i>Populus x canadensis</i> (Salicaceae)	JQ042250	Busby <i>et al.</i> (2012) EUA

* LSU: rDNA large subunit

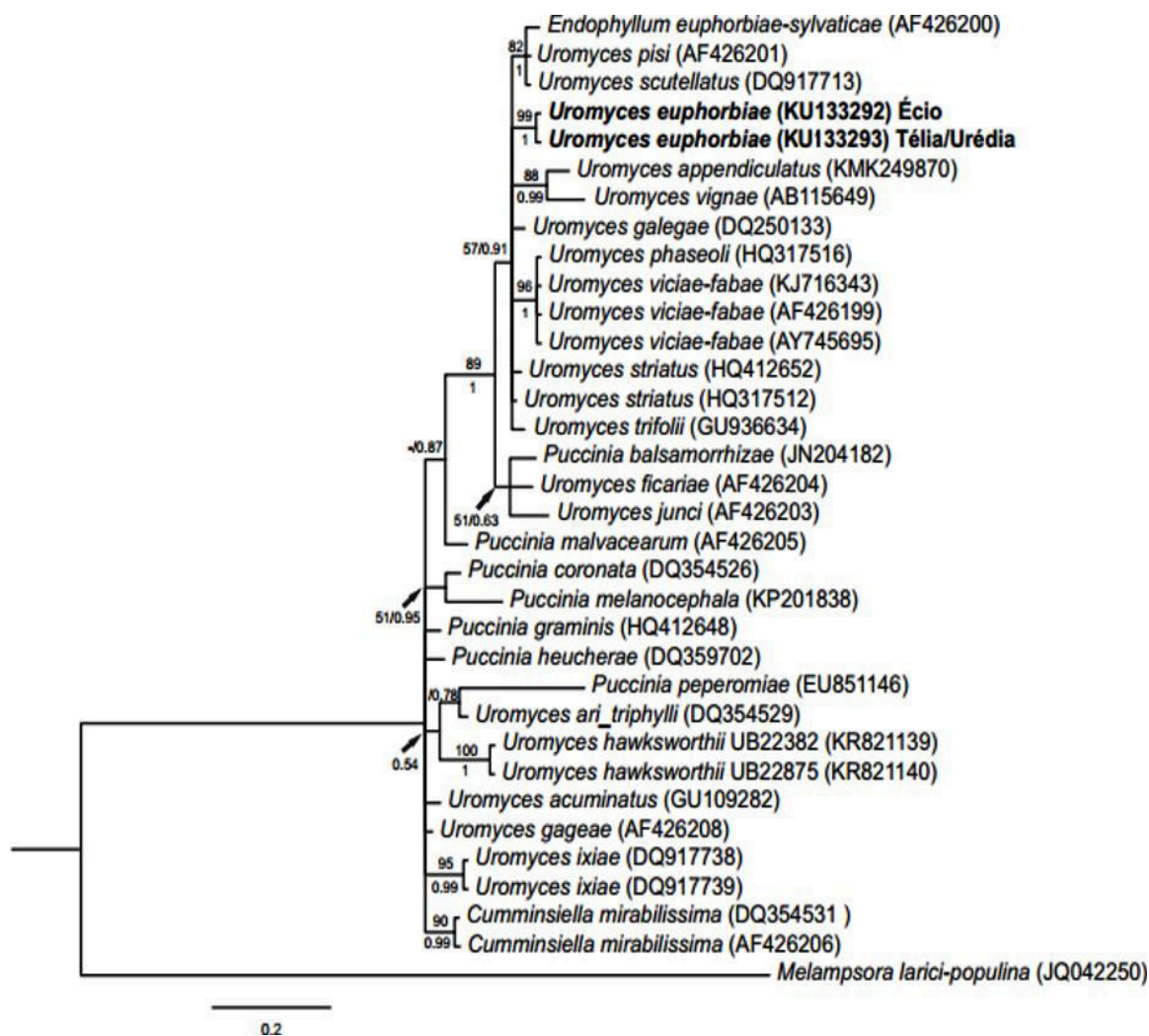


Figura 2. Árvore filogenética inferida a partir da análise de Máxima Verossimilhança e sob Inferência Bayesiana com base nas sequências de LSU de *Uromyces* e taxa relacionados. A análise de Máxima Verossimilhança com os valores de suporte de bootstrap (1000 repetições) acima de 50% são mostrados nos nós. Os valores de probabilidades posteriores em Bayesiana acima de 0,75 são indicados nos nós. Os números de acesso do GenBank estão em parênteses. Os espécimes deste estudo são destacados em negrito. A árvore foi enraizada por *Melampsora larici-populina*.

Damm *et al.* (2009) descreveram *C. truncatum* sobre espécies de *Anthriscus* sp. (Apiaceae) como um típico representante da espécie em uma amostra de herbário. As variações de dimensão entre a amostra em estudo e a espécie descrita por Damm *et al.* (2009) estão dentro dos limites estabelecidos para a espécie. Contudo, mais recentemente Crous *et al.* (2013) relataram a descrição de *C. euphorbiae* Damm & Crous em *Euphorbia* sp., uma espécie não relacionada fora do complexo de *C. truncatum*, mostrando conídios retos não falcados e claramente gutulados em vez de não-gutulados.

Embora o *C. truncatum* seja conhecido em três espécies de *Euphorbia* (*E. maculata*, *E. neriiifolia* e *E. pulcherrima*), este é o primeiro registro do fungo associado a *Euphorbia hirta* (Farr e Rossman, 2016).

Os espécimes de *Colletotrichum* em *Euphorbia hirta* apresentaram morfologia que se enquadra na descrição de *C. truncatum* conforme Damm *et al.* (2009): *Conidiomas* 44–90 µm de diâmetro, setosos, acervulares; *Setas* (até 140 × 5 µm) de comprimento, marrom escuras a negras, lisas, septadas (de 1 a 3 septos), afinando em direção ao ápice ligeiramente agudo com a ponta arredondada, base cilíndrica a cônica; *Conidióforos* 70–81 (76) × 2–4 (3) µm de comprimento, castanho claros, septados, ramificados, densamente agrupados; *Células conidiogênicas* 11–20 (16) × 2–4 (3) µm, enteroblástica, fialídica com aberturas medindo 1–1,5 µm de diâmetro, hialinas a castanho claras, cilíndricas, colarete presente, espessamento periclinal visível; *Conídios* 27–23 (31) × 3–4 µm, hialinos, paredes lisas, asseptados, normalmente falcados, parte central de conídios longa, em geral ligeiramente curvados com paredes paralelas, terminando em ponta redonda e base subtruncada, protoplasma não-gutulados. Além disso, a Figura 3 ilustra a amostra aqui estudada.

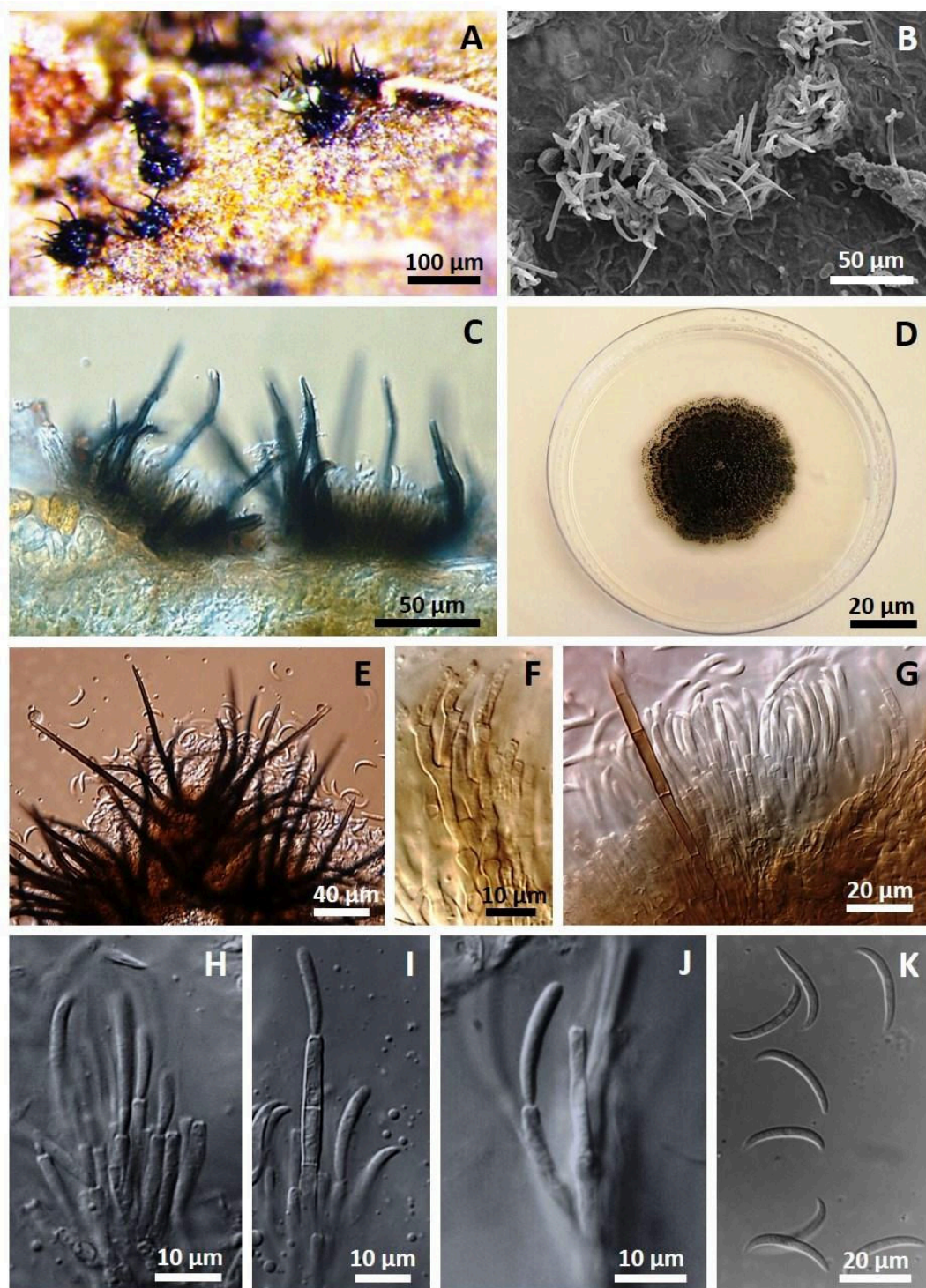


Figura 3. Principais características de *Colletotrichum truncatum* em *Euphorbia hirta*. **A.** Conidiomas setosos, acervulares e negros vistos em microscopia de luz. **B.** Conidiomas setosos acervulares vistos em MEV. **C.** Acérvulos setosos e escuros. **D.** Colônia, em BDA. **E.** Setas e massa de conídios. **F.** Conidióforos ramificados em cultura. **G, H, I e J.** Células conidiogênicas fialídicas com conídios ainda presos. **K.** Conídios hialinos, asseptados e falcados/curvados.

O espécime de *U. euphorbiae* mostrou: *Espermogônios* inconspícuos. *Écios* abaxiais, cilíndricos, campanulares a cupulares, densamente distribuídos, perídio incolor mostrando ápice pouco recurvado, *Células peridiaias* 17,5–30 × 12–20,5 µm, cuboídes, poliédricos, parede de 4–7 µm de espessura, finamente verrugosas. *Eciósporos* 15–20 × 13–17 µm, globoides a elipsoides, catenulados, paredes com 1 µm de espessura, densamente verrugosas, amarelados, pálidos ou incolores, com 2–3 poros germinativos. *Soros* frequentemente mistos contendo teliósporos e urediniósporos; *Urédias* anfígenas, 485– (350) –220 µm de diâmetro, dispersas ou em grupos, geralmente circulares, erumpentes, pulverulentas, coloração canela-marrom; *Urediniósporos* 19–25 × 17–22,5 µm, asseptados, globoides ou amplamente elipsoides; parede 1,5–2 µm, moderadamente a pouco equinulados, marrom-dourados; 3–6 poros germinativos dispersos; *Télias* anfígenas, 485– (350) –220 µm de diâmetro, dispersas ou em grupos, geralmente circulares, erumpentes, escuras de coloração marrom-chocolate; *Teliósporos* 18–27 × 12–19,5 µm, asseptados, obovóides a amplamente elipsoides, papila cônica sobre a poro germinativo, parede com 1,5 µm de espessura, coloração canela-marrom, pouco mais clara, verrugosas, por vezes, dispostos em fileiras circulares; pedicelos curtos, caducos e incolores. A espécie *U. euphorbiae* pela primeira vez é mostrada detalhadamente nas Figuras 4 e 5 vistos em microscopia de luz e em MEV.

Como *U. euphorbiae* não foi anteriormente ilustrada em detalhe, as Figuras 4 e 5 mostram uma vista do fungo em microscopia de luz e em MEV.

A espécie *Uromyces euphorbiae* é relatada infectando mais de sessenta espécies do gênero *Euphorbia*. Distribuída em quase todo o mundo, no Brasil foi encontrada em *Euphorbia heterophylla*, *Euphorbia hirta* e *Euphorbia pilulifera*.

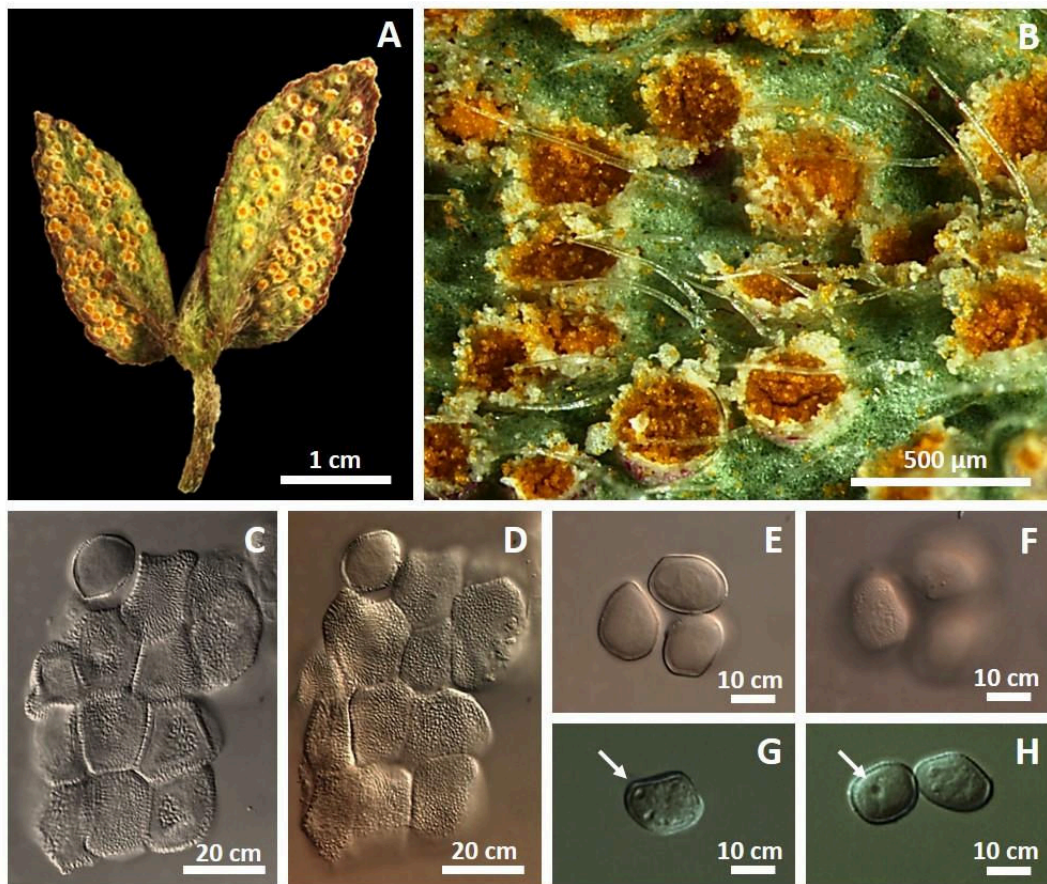


Figura 4. Fase ecial de *Uromyces euphorbie* em folhas de *Euphorbia hirta*. **A** e **B.** Écios densamente distribuídos na face abaxial das folhas da hospedeira. **C** e **D.** Eciósporo e parte do perídio com parede verrugosa em duas profundidades de foco. **E** e **F.** Eciósporos focados em duas profundidades diferentes. **G** e **H.** Eciósporos com poros germinativos (setas).

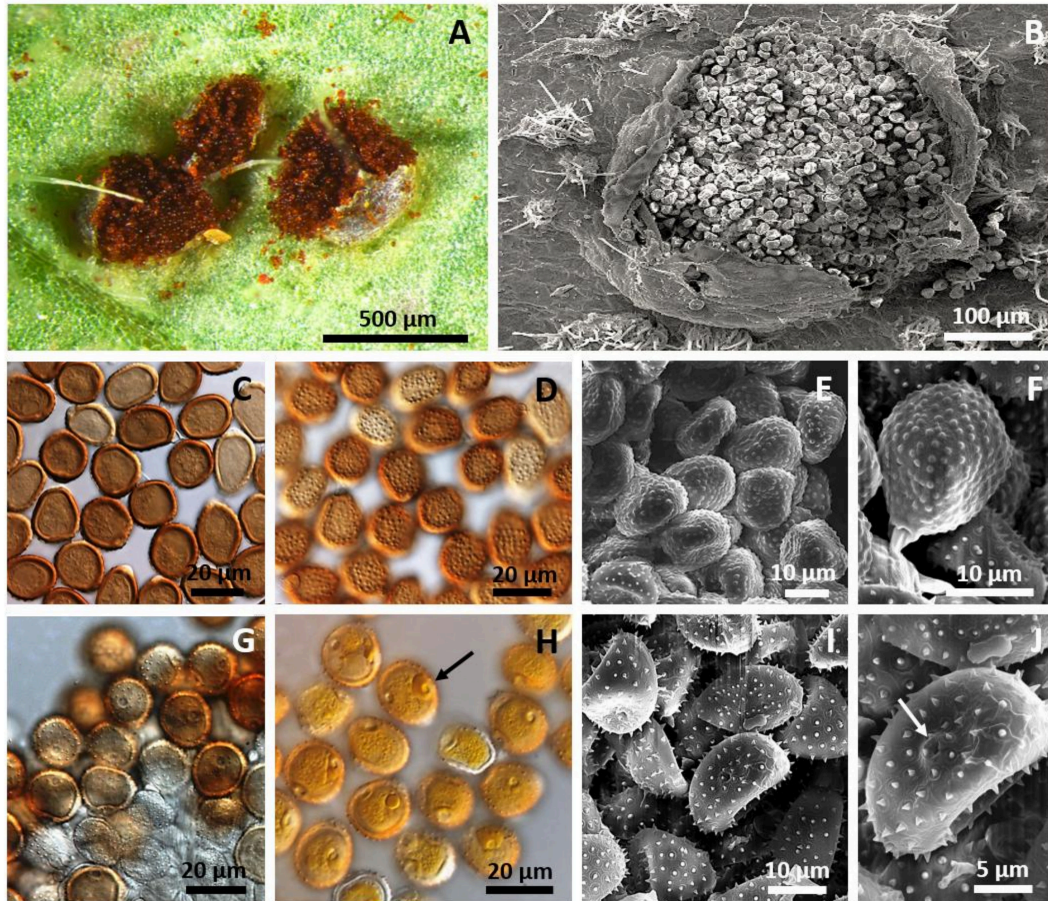


Figura 5. *Uromyces euphorbiae* em folhas de *Euphorbia hirta*. **A.** Pústulas mistas irrompentes contendo teliósporos e urediniósporos. **B.** Pústula mista visualizada em MEV. **C e D.** Teliósporos verrugosos levemente papilados. **E e F.** Detalhe da verrugosidade disposta em linhas circulares dos teliósporos visualizados no MEV. **G.** Urediniósporos. **H.** Detalhe do poro germinativo dos urediniósporos (seta). **I e J.** Superfície equinulada e poro germinativo (seta) dos urediniósporos visualizados no MEV.

Ao considerar a interação entre *C. truncatum* e *U. euphorbiae* em folhas de *E. hirta*, à primeira vista, indicou que 74% das pústulas de ferrugem presente, eram rodeadas por um anel contendo acérvulos setosos escuros de *Colletotrichum*, resultando em manchas foliares anfigenas de bordas avermelhadas a marrons e centros de coloração marrom clara (Figura 6). No entanto, os acérvulos nunca estavam presentes na ausência das pústulas de *U. euphorbiae*.

Isto indica que a infecção da planta pelo fungo da ferrugem promoveu alterações fisiológicas que levaram a uma necrose limitada do tecido foliar ao redor das pústulas, onde se formou a frutificação da espécie de *Colletotrichum*, como fase final da sua condição endofítica.

Espécies de *Colletotrichum* são hemibiotróficas (Munch *et al.* 2008) que carregam um grande número de genes de enzimas-carboidratos-ativas normalmente expressos antes da penetração e após a transição para necrotrofia (O'Connell *et al.* 2012).

Estas espécies apresentam uma fase biotrófica que é assintomática, que ocorre durante o crescimento do fungo endofítico. Pellier *et al.* (2003) indicaram que o interruptor da fase biotrófica para necrotrófica em *C. lindemuthianum* está ligada ao metabolismo de amônia / L-glutamina.

Outros estudiosos (Alkan *et al.* 2013, Miyara *et al.* 2012, Prusky & Yakoby 2003, Shnaiderman *et al.* 2013) sugerem que o sinal para iniciar a fase de necrotrofia está relacionado com a alcalinização devido a secreção de amônia liberada através da atividade de protease e desaminação de aminoácidos.

No presente caso, como a ação necrotrófica de *C. truncatum*, conduziu a uma produção abundante de acérvulos, ocorrendo apenas em torno das pústulas do fungo causador de ferrugem, é necessário investigar as alterações metabólicas ocorridas nessa área específica para esclarecer esse fato.

No entanto, a alta concentração de nutrientes em torno das pústulas de ferrugem está bem documentada como um grande aumento nos fosfatos de glicose, frutose e hexose, devido à atividade da invertase (Voegele et al., 2006, Walters & McRoberts 2006).

Assim, hipoteticamente, isso forneceria os nutrientes necessários para o crescimento micelial e reprodução de *C. truncatum* associado as pústulas de *U. euphorbiae*.

Pesquisas adicionais são necessárias para esclarecer o aspecto fisiológico da interação entre *U. euphorbiae* e o fungo endofítico envolvido, *C. truncatum*.

Este trabalho aqui realizado já foi publicado em forma de resumo em congresso internacional e está em preparação final para submissão como artigo.

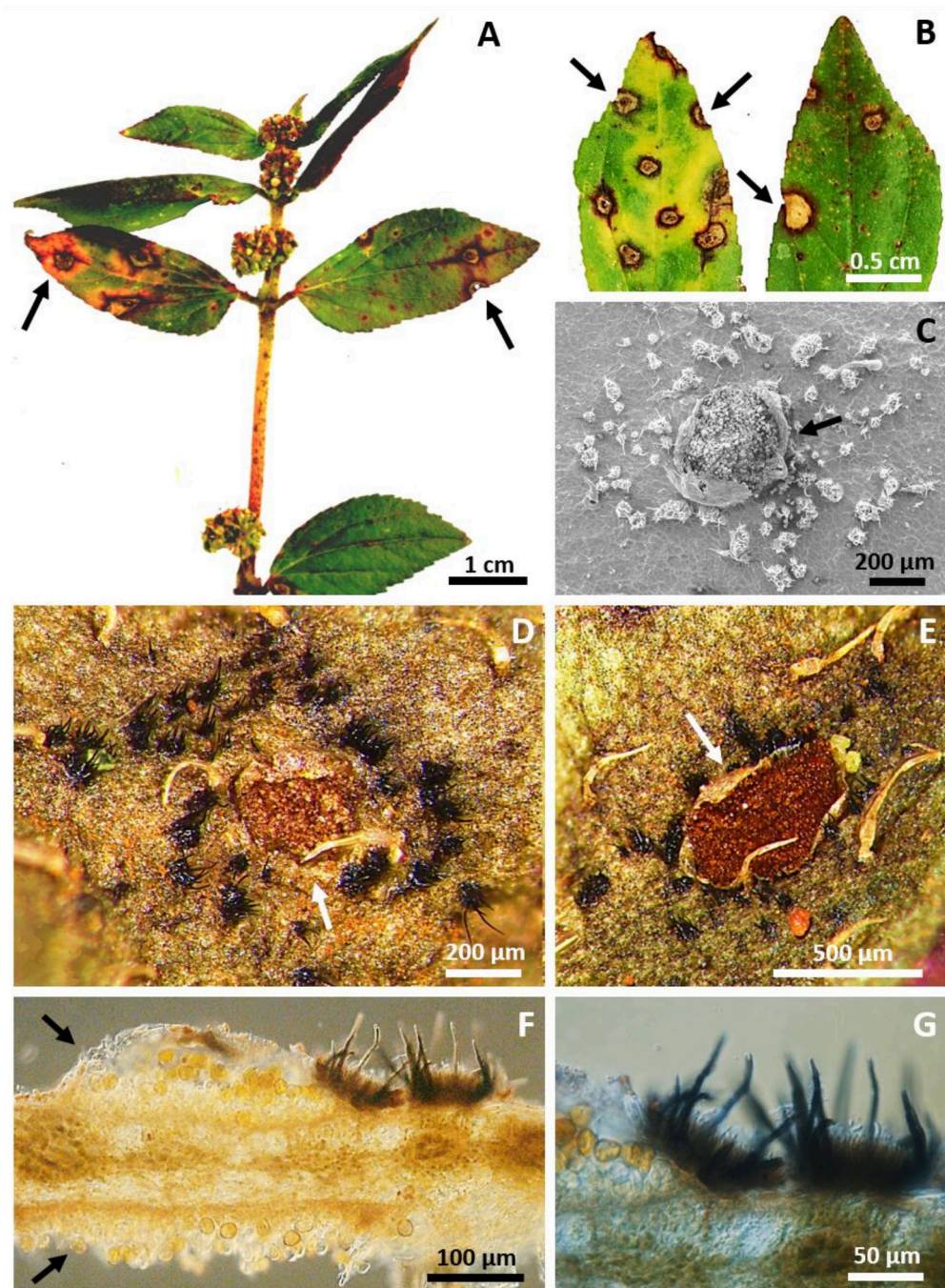


Figura 6. *Colletotrichum truncatum* e *Uromyces euphorbiae* em folhas de *Euphorbia hirta*. A e B. Manchas foliares com bordas marrons avermelhadas e centros de cor castanha clara. C. Disposição dos acérvulos de *C. truncatum* em torno da pústula (seta) de *U. euphorbiae* visualizada em MEV. D e E. Detalhe das pústulas marrons-avermelhadas (setas) de *U. euphorbiae* circundadas por acérvulos setosos de *C. truncatum*. F. Pústulas anfigenas (setas) de *U. euphorbiae* associadas com acérvulos setosos epífilos de *C. truncatum*. G. Detalhe da pústula subepidérmica de *U. euphorbiae* ao lado de acérvulos setosos irrompentes de *C. truncatum*.

REFERÊNCIAS

- Aime MC (2006) Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience*. 47: 112-122.
- Alkan N, Espeso EA, Prusky D (2013) Virulence regulation of phytopathogenic fungi by pH. *Antioxid Redox Signal*. 19:1012-1025.
- Bruckart III WL, Eskandari FM, Berner DK, Aime MC (2012) Comparison of *Puccinia acroptili* from Eurasia and the USA. *Botany*. 90: 465-471.
- Busby PE, Aime MC, Newcombe G (2012) Foliar pathogens of *Populus angustifolia* are consistent with a hypothesis of Beringian migration into North America. *Fungal Biology*. 116: 792-801.
- Chung WH, Tsukiboshi T, Ono Y, Kakishima M (2004) Morphological and phylogenetic analyses of *Uromyces appendiculatus* and *U. vignae* on legumes in Japan. *Mycoscience*. 45: 233-244.
- Crous PW, Groenewald JZ, Risede JM, Hywel-Jones NL (2004a) *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaeropedunculate vesicles. *Studies in Mycology*. 50: 415-430.
- Damm U, Woudenberg JHC, Cannon PF and Crous PW (2009) *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. *Fungal Diversity*. 39: 45-87.
- Deadman ML, Al Sadi AM, Al Maqbali YM, Farr DF, Aime MC (2011) Additions to the rust fungi (Pucciniales) from northern Oman. *Sydowia*. 63: 155-168.
- Dhingra OD, Sinclair JB (1995) *Basic plant pathology methods*. 2th ed. Boca Raton: CRC Press. 434.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12: 13-15.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*. 5: 113.

- Farr DF, Rossman AY (2016) Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Access in July 2016, available at <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- Glass NL, Donaldson GC (1995) Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 1323-1330.
- Hall T (2012) BioEdit v 7.0.9: Biological sequence alignment editor for Win95/98/2K/XP/7.
- Henricot BA, Denton GA, Lane CB (2007) First report of *Puccinia heucherae* on *Heuchera* spp. in the UK. *Plant Pathology*. 56: 352.
- Hyde KD, Nilsson RH, Alias SA, Ariyawansa HA, Blair JE, Cai L, de Cock AWAM, Dissanayake AJ, Glockling SL, Goonasekara ID, Gorczak M, Hahn M, Jayawardena RS, van Kan JAL, Laurence MH, Lévesque CA, Li XH, Liu JK, Maharachchikumbura SSN, Manamgoda DS, Martin FN, McKenzie EHC, McTaggart AR, Mortimer PE, Nair PVR, Pawłowska J, Rintoul TL, Shivas RG, Spies CFJ, Summerell BA, Taylor PWJ, Terhem RB, Udayanga D, Vaghefi N, Walther G, Wilk M, Wrzosek M, Xu JC, Yan JY, Zhou N (2014) One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera: I. Fungal Diversity. 67:21-125.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Mentjies P and Drummond A (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*. 28: 1647-1649.
- Kropp BR, Hansen DR, Wolf PG, Flint KM, Thomson SV (1997) A study on the phylogeny of the dyer's woad rust fungus and other species of *Puccinia* from Crucifers. *Phytopathology*. 87: 565-571.
- Liu M, McCabe E, Chapados JT, Carey J, Wilson SK, Tropiano R, Redhead SA, Lévesque CA, Hambleton S (2015) Detection and identification of selected cereal rust pathogens by TaqMan® real-time PCR. *Can J Plant Pathology*. 37:92-105.
- Maddison WP, Maddison DR (2016) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.10. Acesso em abril de 2016. Disponível em: <http://mesquiteproject.org>.

- Maier W, Begerow D, Weiss M, Oberwinkler F (2003) Phylogeny of the rust fungi: an approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany*. 81: 12-23.
- Maier W, Wingfield BD, Mennicken M, Wingfield MJ (2007) Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. *Mycological Research*. 111: 176-185.
- McTaggart AR, Geering ADW and Shivas RG (2014) *Uredinopsis pteridis* and *Desmella aneimiae*, the first rust fungi (Pucciniales) reported on ferns (Pteridophyta) in Australia. *Australasian Plant Disease Notes*. 9: 149.
- Miyara I, Shnaiderman C, Meng X, Vargas WA, Díaz-Minguez JM, Thon M, Sherman A, Prusky D (2012) Role of nitrogen-metabolism genes expressed during pathogenicity of the alkalizing *Colletotrichum gloeosporioides* and their differential expression in acidifying pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 25:125-163.
- Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS (1995) Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia*. 87: 223-238.
- Munch S, Lingner U, Floss DS, Ludwig N, Sauer N, Deising HB (2008) The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. *Jornal Plant Physiology*. 165:41-51.
- O'Donnell, E. Cigelnik (1997) Two different intragenomics rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics Evolution*. 7:103-116.
- O'Connell RJ, Thon MR, Hacquard S, Amyotte SG, Kleemann J, Torres MF, Damm U, Buiate EA, Epstein L, Alkan N, Altmüller J, Alvarado-Balderrama L, Bauser CA, Becker C, Birren BW, Chen Z, Choi J, Crouch JA, Duvick JP, Farman MA, Gan P, Heiman D, Henrissat B, Howard, M Kabbage, C Koch, B Kracher, Y Kubo, AD Law, M Lebrun, YH Lee RJ, Miyara I, Moore N, Neumann U, Nordström K, Panaccione DG, Panstruga R, Place M, Proctor RH, Prusky D, Rech G, Reinhardt R, Rollins JA, Rounsley S, Schardl CL, Schwartz DC, Shenoy N, Shirasu K, Sikhakolli UR, Stüber K, Sukno SA, Sweigard JA, Takano Y, Takahara H, Trail F, van der Does HC, Voll LM, Will I, Young S, Zeng Q, Zhang J, Zhou S, Dickman MB, Schulze-Lefert P, van

- Themaat EVL, Ma LJ, Vaillancourt LJ (2012) Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature Genetic.* 44:1060-65.
- Padamsee M, McKenzie EHC (2014) A new species of rust fungus on the New Zealand endemic plant, *Myosotidium*, from the isolated Chatham Islands. *Phytotaxa.* 174: 223-230.
- Pellier AL, Lauge R, Veneault-Fourrey C, Langin T (2003) CLNR1, the AREA/NIT2-like global nitrogen regulator of the plant fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum* is required for the infection cycle. *Molecular Microbiology.* 48:639-655.
- Pfunder M, Schürch S, Roy BA (2001) Sequence variation and geographic distribution of pseudoflower-forming rust fungi (*Uromyces pisi* s. lat.) on *Euphorbia cyparissias*. *Mycological Research.* 105: 57-66.
- Posada D, Buckley T (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology.* 53: 793-808.
- Prusky D, Yakoby N (2003) Pathogenic fungi: leading or led by ambient pH? *Molecular Plant Pathology.* 4:509-16.
- Rambaut A (2009) FigTree. Version 1.2.3. Edinburgh: Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) Mrbayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology.* 61: 539-542.
- Shnaiderman C, Miyara I, Kobiler I, Sherman A, Prusky D (2013) Differential activation of ammonium transporters during the accumulation of ammonia by *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on appressoria formation and pathogenicity. *Molecular Plant-Microbe Interaction.* 26:345-355.

- Souza ESC, Chaves ZM, Soares WR, Pinho DB, Dianese JC (2015) *Uromyces hawksworthii* nom. nov. for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado. IMA fungus. 6: 155-162.
- Swofford DL (2002) PAUP*. Phylogenetic Analyses using parsimony (*and other methods), version 4.0. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipiński A, Kumar S (2013) MEGA 6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular biology and evolution. 30: 2725-2729.
- Templeton MD, Rikkerink EH, Solon SL, Crowhurst RN (1992) Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. Gene. 122: 225-230.
- Tu JC (1990) First report of anthracnose caused by *Glomerella cingulata* on white beans in Ontario, Canada. Plant Disease. 74:394.
- Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. Journal of Bacteriology. 172: 4238-4246.
- Voegele RT, Wirsel S, Möll U, Lechner M, Mendgen K (2006) Cloning and characterization of a novel invertase from the obligate biotroph *Uromyces fabae* and analysis of expression patterns of host and pathogen invertases in the course of infection. Molecular Plant-Microbe Interactions. 19: 625-634.
- Walters DR, McRoberts N (2006) Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins? Trends in Plant Sciences. 11: 581-586.
- White TJ, Burns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. PCR protocols: A guide to methods and applications. San Diego (California). Academic Press. 315-322.
- Yang H-C, Haudenschild JS, Hartman GL (2014) *Colletotrichum incanum* sp. nov., a curved-conidial species causing soybean anthracnose in USA. Mycologia. 106: 32-42.

Yun HY, Minnis AM, Dixon LJ, Castlebury LA (2010) First report of *Uromyces acuminatus* on *Honckenya peploides*, the endangered seabeach sandwort. *Plant Disease*. 94: 279.

Zuluaga C, Buriticá P, Marín M (2011) Filogenia de hongos/roya (Uredinales) em la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del ADN ribosomal 28S. *Revista de Biología Tropical*. 59: 517-540.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Este trabalho muito contribuiu para a ampliação do estudo em aspectos morfológicos dos fungos causadores de ferrugens (Pucciniales) ocorrentes em diversas famílias de hospedeiras e locais de ocorrência do bioma cerrado no que diz respeito a atualização nomenclatural, bem como a melhoria das ilustrações das espécies já conhecidas. Além de aumentar as informações sobre as espécies já conhecidas, o trabalho resultou em novos relatos de ocorrência de membros das Pucciniales em nova hospedeiras e novos locais, prováveis espécies novas, relatos de fase ou fases do ciclo de vida até então inéditas e, finalmente, algumas atualizações nomenclaturais e taxonômicas.

Pela primeira vez foi realizado um estudo baseado em análises moleculares filogenéticas de Pucciniales do cerrado numa dimensão ampla, envolvendo membros representantes de várias famílias. Aqui foi apresentada de forma inédita a caracterização molecular de vários espécimes fúngicos pertencentes a ordem Pucciniales encontradas em plantas endêmicas e introduzidas no cerrado que enriquecerá o banco de dados do NCBI e muito contribuirá para o estudo e compreensão da filogenia da ordem em estudos posteriores.

De forma geral, os dados obtidos possibilitaram o entendimento do posicionamento filogenético de apenas alguns grupos em níveis de gênero e espécies como o caso de membros componentes da família Phakopsoraceae. Entretanto, os dados obtidos não foram suficientes para o esclarecimento das relações filogenéticas dos membros causadores de ferrugem do Cerrado em níveis hierárquicos maiores como família dentro da ordem, havendo a necessidade de aprofundamento das análises filogenéticas principalmente com os grupos mais esclarecidos como o caso de exemplares correspondentes a *Crossopora byrsonimatis* e atualização nomenclatural de alguns espécimes com classificação taxonômica indefinida como *Cerradoa* e *Edythea*.

Em primeira instância faz-se necessário a realização de análises filogenéticas das famílias separadamente na tentativa da obtenção de dados robustos que possibilitem um melhor detalhamento e entendimento do relacionamento filogenético dos membros representantes de cada família e esclarecimento do posicionamento filogenético dos gêneros e espécies representantes.

Diante dos dados apresentados, entende-se que há a necessidade de mais pesquisas relacionadas a filogenia de fungos membros da ordem Pucciniales, envolvendo além de análise por Inferência Bayesiana, outras análises como Máxima Parcimônia e Verossimilhança para efeito de comparação e esclarecimento de quais métodos podem ser mais robustos e expressivos para esclarecer as relações filogenéticas deste grupo fúngico. Além disso, outras regiões gênicas como: 18S do Rdna, β -tubulina, Fator de Elongação, e CO3 do mDNA; e regiões intergênicas como ITS podem ser utilizadas na tentativa de melhorar a resolução das relações e posicionamento filogenético dos fungos causadores de ferrugens ocorrentes no bioma Cerrado.

ANEXO 1

Uromyces hawksworthii nom. nov. for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado

Érica S.C. Souza¹, Zuleide M. Chaves¹, William R.O. Soares¹, Danilo B. Pinho¹, and José C. Dianese¹

¹Departamento de Fitopatologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, 70910-900 Brasília, DF, Brazil; corresponding author e-mail: jcarmine@gmail.com

Abstract: The sexual morph of *Aecidium goyazense* collected in the Brazilian Cerrado was morphologically characterized by light microscopy and SEM, and shown to be a species of *Uromyces*, for which the name *Uromyces hawksworthii* nom. nov. is introduced, and designated as its epitype. This is the second *Uromyces* species known to infect the tropical genus *Phthirusa* (Loranthaceae). DNA sequences were generated from the ITS and 28S rRNA (LSU) regions of DNA recovered from aeciospores as well as teliospores. This fungus is compared with other *Uromyces* species known from Loranthaceae.

Key words:

Basidiomycota
Neotropical fungi
Pucciniaceae
Pucciniomycotina
rust fungi
Urediniomycetes

Article info: Submitted: 23 May 2015; Accepted: 3 June 2015; Published: 9 June 2015.

INTRODUCTION

Hennen *et al.* (2005) catalogued the rust fungi on Loranthaceae in Brazil, including *Aecidium goyazense*, *Uromyces circumscriptus*, *U. loranthi*, and *U. urbanianus*. Perdomo-Sánchez & Piepenbring (2014) revised the *Uromyces* species known from Loranthaceae, namely, *U. euphlebius*, *U. evastigatus*, *U. loranthi*, *U. nilagiricus*, *U. ornatipes*, *U. phthirusae*, *U. socius*, and *U. urbanianus*, adding two new taxa, *U. bahiensis* from Brazil, and *U. struthanthi* from Panama. They omitted *A. goyazense* as it was known only as an aecial morph without a connection to a telial stage. The telial stage proves morphologically to belong to *Uromyces*, and this is described and illustrated here, and also characterized by analysis of DNA sequences to provide a barcode for identification of the species.

MATERIALS & METHODS

Leaves of *Phthirusa stelis* with a gall rust were collected in Brasília, Distrito Federal. The brown galls were covered in cylindrical to conical/subulate pale yellow aecia, and erumpent dark brown telia covered by a layer of dark brown spores. Aecidia and telia were sectioned at 15–20 µm thickness with a Micron freezing microtome. Squash preparations of aecia, aeciospores, and teliospores from the galls were examined microscopically by Nomarski differential interference contrast under a Leica DM 2500 microscope coupled with a Leica DFC 490 digital camera; image capture and measurements were made with Leica QWin V3 software. Some samples were stained with lacto-glycerol Cotton blue and the slides sealed with nail polish. A minimum of 25 replicates of spore

and aecial structural cells were measured. Portions of dried galls with aecia and telia were fixed onto 10 mm diam copper stubs using double-sided carbon tape, and coated with gold at 25 mA, 1.10⁻² mbar, for 2.5 min. for examination with a JEOL JSM-700 1F Model scanning electron microscope. Voucher specimens are deposited in the Mycological Collection of the Universidade de Brasília (UB).

DNA extraction, PCR amplification, and DNA sequencing

To obtain spores and prevent contamination by other fungi, sori were examined under a stereomicroscope. Aeciospore and teliospore masses were removed with a needle, and placed separately in micro-centrifuge tubes (1.5 mL) stored at –20°C. Tissue samples were frozen with liquid nitrogen and ground into a fine powder with a micro-centrifuge tube pestle. DNA extraction followed the standard CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) procedure (Doyle & Doyle 1990). PCRs included the following ingredients for each 25 µL reaction volume: 0.5 U Taq DNA Polymerase Platinum, 0.2 µM of each nucleotide, 5 mL 10X buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.4 µM of each of the forward and reverse primers; plus a maximum of 10 ng/µL of genomic DNA; nuclease-free water completed the total volume. Primers ITS4-rust and ITS5-u were used to amplify the internal transcribed spacer region (ITS) of the rRNA (Pfundner *et al.* 2001). The LSU was amplified with a primer pair, Rust2inv and LR6 (Aime 2006, Vilgalys & Hester 1990), while LR0R and Rust1 (Moncalvo *et al.* 1995, Kropp *et al.* 1997) were used as internal sequence primers. The thermal cycle consisted of 94 °C for 4 min, followed by 30 cycles of 94 °C for 1 min (denaturation), 54 °C for 1 min (annealing), 72 °C for 1 min (elongation), and 72 °C for 5 min (final extension). PCR products were analyzed by 1% agarose electrophoresis

© 2015 International Mycological Association

You are free to share - to copy, distribute and transmit the work, under the following conditions:

Attribution: You must attribute the work in the manner specified by the author or licensor (but not in any way that suggests that they endorse you or your use of the work).
Non-commercial: You may not use this work for commercial purposes.
No derivative works: You may not alter, transform, or build upon this work.

For any reuse or distribution, you must make clear to others the license terms of this work, which can be found at <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/legalcode>. Any of the above conditions can be waived if you get permission from the copyright holder. Nothing in this license impairs or restricts the author's moral rights.

Table 1. GenBank accession numbers of *Uromyces hawksworthii*, and of all other species included in the study.

Species	GenBank accession numbers (LSU)*	Source and Country
<i>Uromyces hawksworthii</i> UB22382	KR821139	Present study, Brazil
<i>Uromyces hawksworthii</i> UB22875	KR821140	Present study, Brazil
<i>Cumminsia mirabilissima</i>	DQ354531	Aime (2006) Germany
<i>Cumminsia mirabilissima</i>	AF426206	Maier et al. (2003) Germany
<i>Puccinia coronata</i>	DQ354526	Aime (2006) USA
<i>Puccinia coronata</i>	EU851141	Zuluaga et al. (2011)
<i>Puccinia graminis</i>	AF522177	Bruns et al. (1992)
<i>Puccinia graminis</i>	HQ412648	Deadman et al. (2011)
<i>Puccinia hemerocallidis</i>	GU058020	Dixon et al. (2010) USA
<i>Puccinia hemerocallidis</i>	DQ354519	Aime (2006) USA
<i>Puccinia heucherae</i>	DQ359701	Henricot et al. (2007) UK
<i>Puccinia heucherae</i>	DQ359702	Henricot et al. (2007) UK
<i>Puccinia hordei</i>	DQ354527	Aime (2006) USA
<i>Puccinia melanocephala</i>	KP201838	Wang et al. Unpubl. (2014) China
<i>Puccinia melanocephala</i>	KP201839	Wang et al. Unpubl. (2014) China
<i>Puccinia nakanishikii</i>	GU058002	Dixon et al. (2010) USA
<i>Puccinia peperomiae</i>	EU851146	Zuluaga et al. (2011) Colombia
<i>Uromyces acuminatus</i>	GU109282	Yun et al. (2010) England
<i>Uromyces appendiculatus</i>	KM249870	McTaggart (2014) Australia
<i>Uromyces appendiculatus</i>	AY745704	Matheny et al. Unpubl. (2005)
<i>Uromyces ari-triphylli</i>	DQ354529	Aime (2006) USA
<i>Uromyces ixiae</i>	DQ917738	Maier et al. (2007) South Africa
<i>Uromyces ixiae</i>	DQ917739	Maier et al. (2007) South Africa
<i>Uromyces pisi</i>	AF426201	Maier et al. (2003) Central Eur.
<i>Uromyces striatus</i>	HQ412652	Deadman et al. (2011) Oman
<i>Uromyces striatus</i>	HQ317512	Liu et al. (2015) Canada
<i>Uromyces trifoli</i>	GU936634	Zuluaga et al. (2011) Colombia
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	KJ716343	Padamsee & McKenzie (2014) New Zealand
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	AF426199	Maier et al. (2003) Central Eur.
<i>Uromyces vignae</i>	AB115649	Chung et al. (2004) Japan
<i>Melampsora larici-populina</i> (outgroup)	JQ042250	Busby et al. (2012) USA

* LSU: rDNA large subunit

gels stained with ethidium bromide in a 1X TAE buffer and visualized under UV light to check for amplification size and purity. PCR products were treated using ExoSAP-IT® (USB) and sequenced in an Applied Biosystems (ABI3130xl Model) apparatus at the Catholic University of Brasília.

The nucleotide sequences were edited with BioEdit software (Hall 2012). All sequences were checked manually, and nucleotides with ambiguous positions were clarified by both primer direction sequences. New sequences were deposited in GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Table 1).

PHYLOGENETIC ANALYSIS

Consensus sequences were compared against GenBank's database using Mega BLAST. Based on the BLASTn results, sequences were selected for the greatest similarity, and data from recent phylogenetic studies focused on

Pucciniaceae (Bruns et al. 1992, Maier et al. 2003, Chung et al. 2004, Aime 2006, Matheny et al. 2006, Henricot et al. 2007, Maier et al. 2007, Yun et al. 2010, Dixon et al. 2010, Deadman et al. 2011, Zuluaga et al. 2011, Busby et al. 2012, McTaggart 2014, Padamsee and McKenzie 2014, Liu et al. 2015). After selection, the sequences were downloaded in FASTA format and aligned by the multiple sequence alignment program MUSCLE® (Edgar 2004), built in MEGA v. 6 software (Tamura et al. 2011). Alignments were checked and manual adjustments were made when necessary. Gaps were treated as missing data. The resulting alignment was deposited into TreeBASE (<http://www.treebase.org/>), accession no. 17667. Bayesian inference (BI) analysis employing a Markov Chain Monte Carlo method was performed only with LSU sequences. Before launching the BI, the best nucleotide substitution model was determined with MrMODELTEST 2.3 (Posada & Buckley 2004). Once the likelihood scores were calculated, the models were selected according to the Akaike Information Criterion (AIC).

The general time-reversible model of evolution including estimation of invariable sites and assuming a discrete gamma distribution with six rate categories (GTR+I+G) was used. The phylogenetic analysis of the dataset was performed through the CIPRES web portal (Miller *et al.* 2010) using MrBayes v. 3.2 (Ronquist & Heulsenbeck 2012). Four MCMC chains were run simultaneously, starting from random trees for 10 000 000 generations. Trees were sampled every 1,000th generation for a total of 10 000 trees. The first 2500 trees were discarded as the burn-in phase of each analysis. Posterior probabilities were determined from a majority-rule consensus tree generated with the remaining 7500 trees. Trees rooted to *Melampsora larici-populina* were visualized by FigTree (Rambaut 2009), and exported to graphic programs.

RESULTS

Phylogeny

Amplification and sequencing of the LSU and ITS rDNA regions were successful for two specimens obtained from both the aecidial (UB22382) and telial (UB22875) morphs. The amplification of the partial 28S rDNA and ITS revealed sequences of ca. 1500 and 450 bp, respectively (Accession Numbers, LSU: UB22382=KR821139, UB22875=KR821140 and ITS: UB22382=KR821137, UB22875=KR821138). The LSU and ITS sequences obtained from aeciospores and teliospores were identical. The partial large subunit of rDNA (LSU) was selected for molecular phylogenetic identification of the fungus because this molecular marker is widely recommended for genus and species level identification of all rust fungi (Hyde *et al.* 2014). The ITS sequences were lodged in GenBank and UNITE (Nilsson *et al.* 2014). Based on the results from the primary LSU data matrix (tree not shown) and the dataset for rust fungi (tree not shown) from Hyde *et al.* (2014), 31 taxa were selected from across the breadth of the LSU derived phylogenetic trees. The dataset totaled 1037 bp of aligned positions, 97 of which were parsimony informative, 211 were variable and 810 were conserved.

TAXONOMY

Uromyces hawksworthii E.S.C. Souza, Z.M. Chaves, W.R.O. Soares, D.B. Pinho & Dianese, **nom. nov.**
Mycobank MB812738
(Figs 1–2)

Replaced synonym: *Aecidium goyazense* P. Henn., *Hedwigia* **34**: 101 (1895).

Non *Uromyces goyazensis* P. Henn., *Hedwigia* **34**: 89 (1895)

Etymology: Named after David Leslie Hawksworth, Honorary President of the International Mycological Association.

Diagnosis: A *Uromyces* species on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) with elongate aecidia on the surface of pulvinate corticoid leaf galls up to 1.2 cm diam, and characteristically long-pedicellate teliospores.

Type: **Brazil:** Goiás, Serra dos Pyreneos, on *Phthirusa stelis* [as *Loranthus* sp.], Aug. 1892, *Ule 1909* (B 2945 – holotype); Brasília, Guarã I, Associação dos Criadores de Pássaros de Brasília, 15° 48' 42.12" S × 47° 58' 22.53" W, on leaves of *Phthirusa stelis*, 9 Feb 2014, J. C. Dianese (UB Mycol. Col. 22875 – **epitype designated here**, MBT 201535).

Description: *Spermogonia* not seen. *Aecidia* 5–6 mm long × 300–400 µm wide, amphigenous, mostly epiphyllous, gregarious, initially subepidermal, erumpent, cylindrical, conical/subulate, bright yellow, grouped on a light brown to brown hemispherical to pulvinate area, 0.5–1 cm diam before emergence of the aecidia, to 1.2 cm diam at aecidial maturity; *peridial cells* 30–(36)–57 × 21–(22)–35 µm, oblong to rhomboidal, outer wall rough, hyaline or slightly yellow. *Aecidiospores* (24–)25–29(–35) × (17–)21–25(–27.5) µm, angular, rhomboidal, subglobose, ovoid, catenulate, verrucose, hyaline to pale yellow; *walls* 2–3.5(–4.5) µm. *Uredinia* not seen. *Telia* 1–(2)–3 mm diam, on circular light brown spots, amphigenous, subepidermal, erumpent, pulverulent, dark brown, amphigenous, flattened to slightly domed, paraphysate, but showing large numbers of paraphysis-like long teliospore pedicels. *Teliospores* (34–)39–43(–46) × (18–)22–24 (–26.5) µm, 1-celled, oblong-ellipsoidal; wall pale to chestnut brown, reticulate, pitted in SEM, germ pores not observed; *lateral wall* 2.5–3(–4) µm thick, apical wall 5–6(–7) µm thick, long-pedicellate; *pedicels* (48–)84–143(–157) × (4–)5–6(–7) µm, seldom persistent in mature teliospores, cylindrical, smooth, thin-walled, hyaline, flexuous.

Other specimens examined (on leaves of *Phthirusa stelis*): **Brazil:** Brasília, Guarã I, Associação dos Criadores de Pássaros de Brasília, 18 May 2014, J. C. Dianese (UB Mycol. 22879); Asa Norte, Campus Universidade de Brasília, near University Restaurant, 17 Sep. 2012, E. S. C. de Souza (UB Mycol. 22389); Parque Olhos D'Água, 12 Sep. 2012, E. S. C. de Souza (UB Mycol. 22382); Lago Sul, Brasília Botanical Garden, 23 Apr. 2012, E. S. C. de Souza (UB Mycol. 22184); Asa Norte, L4 Avenue, Estação Experimental de Biologia, Universidade de Brasília, 29 Sep. 2009, M. D. M. dos Santos (UB Mycol. 21084); Vargem Bonita, Fazenda Água Limpa, Universidade de Brasília, 12 Sep. 2007, N. M. Toledo de Souza (UB Mycol. 20762); Planaltina-DF, Estação Ecológica de Águas Emendadas, 11 Jun. 2007, V. R. Rodrigues (UB Mycol. 20651); Asa Norte, Campus Universidade de Brasília, near the Rector's office, 9 May. 2007, Z. M. Chaves (UB Mycol. 20569); Super Quadra Norte 410 near the N Bloc, 18 Aug. 2003, R. C. P. Carvalho (UB Mycol. 19398); Brasília National Park, 27 Sep. 1995, Z. M. Chaves (UB Mycol. 10125).



Fig. 1. A–H. *Uromyces hawksworthii* (UB Mycol. Col. 22875): aecidial gall development and morphology of the aecia, **A.** Early stage of gall formation, **B.** Intermediate stage of two galls, **C.** Two mature galls bearing numerous aecidia, **D.** Cross section through a developing aecidium, **E.** Aecidia after aeciospore release, **F.** Peridium internal texture, **G.** Aeciospores, **H.** Detail view of the aeciospore wall. Bars: A–C = 2 mm, D = 50 μ m, E = 300 μ m, F = 20 μ m, G = 10 μ m, H = 1 μ m.

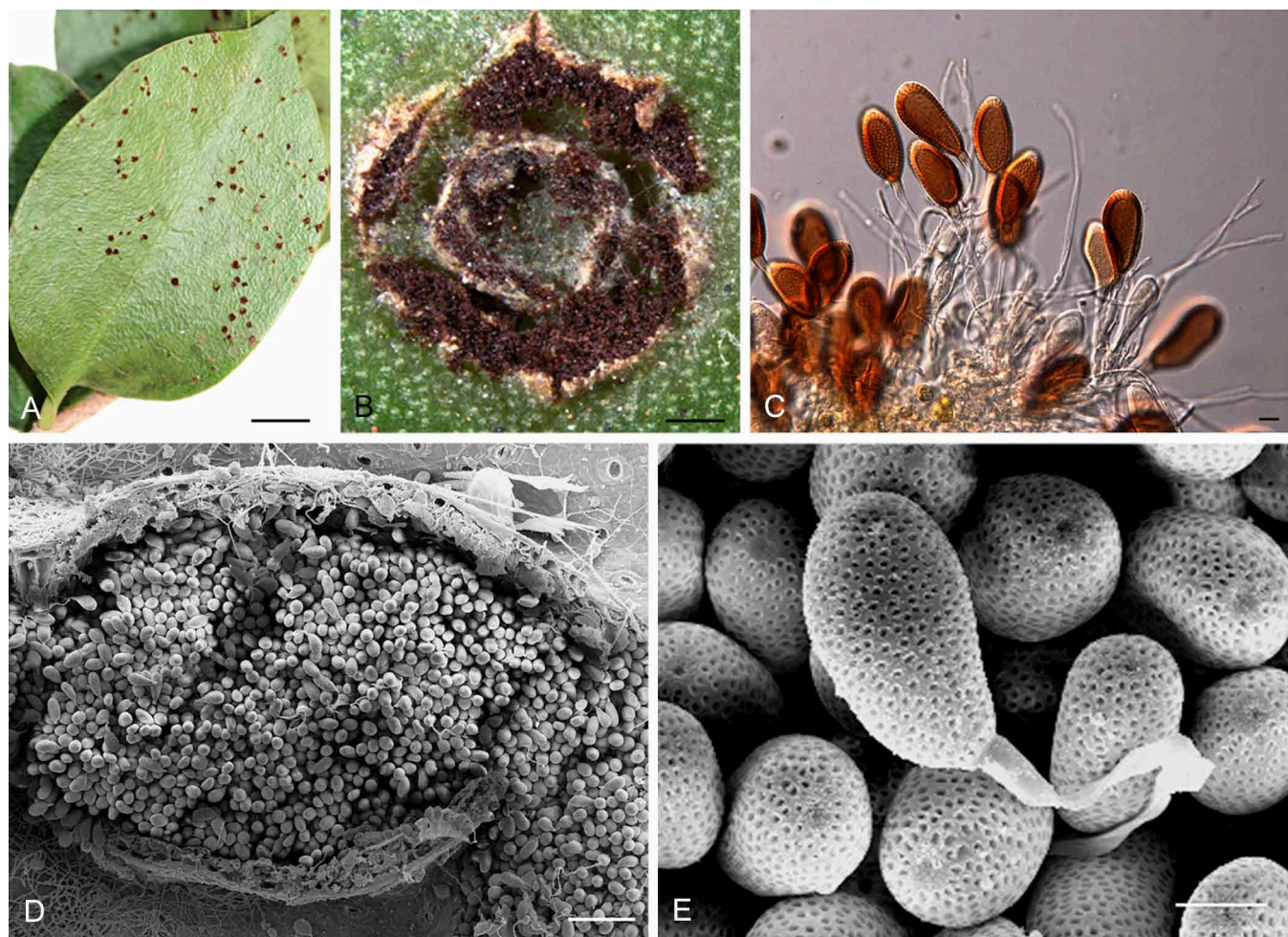


Fig. 2. A–E. *Uromyces hawksworthii* (UB Mycol. Col. 22875): **A.** Circular to irregular dark brown telia on the adaxial face. **B.** Erumpent telium. **C.** A group of mature teliospores and several long paraphysis-like pedicels. **D.** Telium seen in SEM. **E.** Teliospores showing the characteristically pitted wall in SEM. Bars: A = 1 cm, B = 2 mm, C = 10 µm, D = 100 µm, E = 5 µm.

Key to *Uromyces* species on *Loranthaceae*

- 1 Teliospores smooth-walled, 30–45 × 21–30 µm, distal wall to 8 µm thick **U. nilagiricus**
 Teliospores not smooth-walled 2
- 2 (1) Teliospores mostly less than 40 µm long 3
 Teliospores mostly more than 40 µm long 7
- 3 (2) Teliospores showing pedicels ornamented by conspicuous annelations **U. ornatipes**
 Teliospores not as above 4
- 4(3) Teliospore wall reticulate-striate or reticulate 5
 Teliospore wall not as above 6
- 5(4) Teliospore wall apically thickened **U. circumscriptus**
 Teliospore wall evenly 2 µm thick **U. bahiensis**
- 6(4) Teliospores smooth to finely verrucose; uredinia paraphysate, urediniospores echinulate,
 spines abundant **U. loranthi**
 Teliospores longitudinally striate; uredinia aparaphysate, urediniospores echinulate **U. socius**
- 7(2) Teliospores short-pedicellate, pedicels to 50 µm long 8
 Teliospores long-pedicellate, pedicels reaching 90 to 160 µm long 10

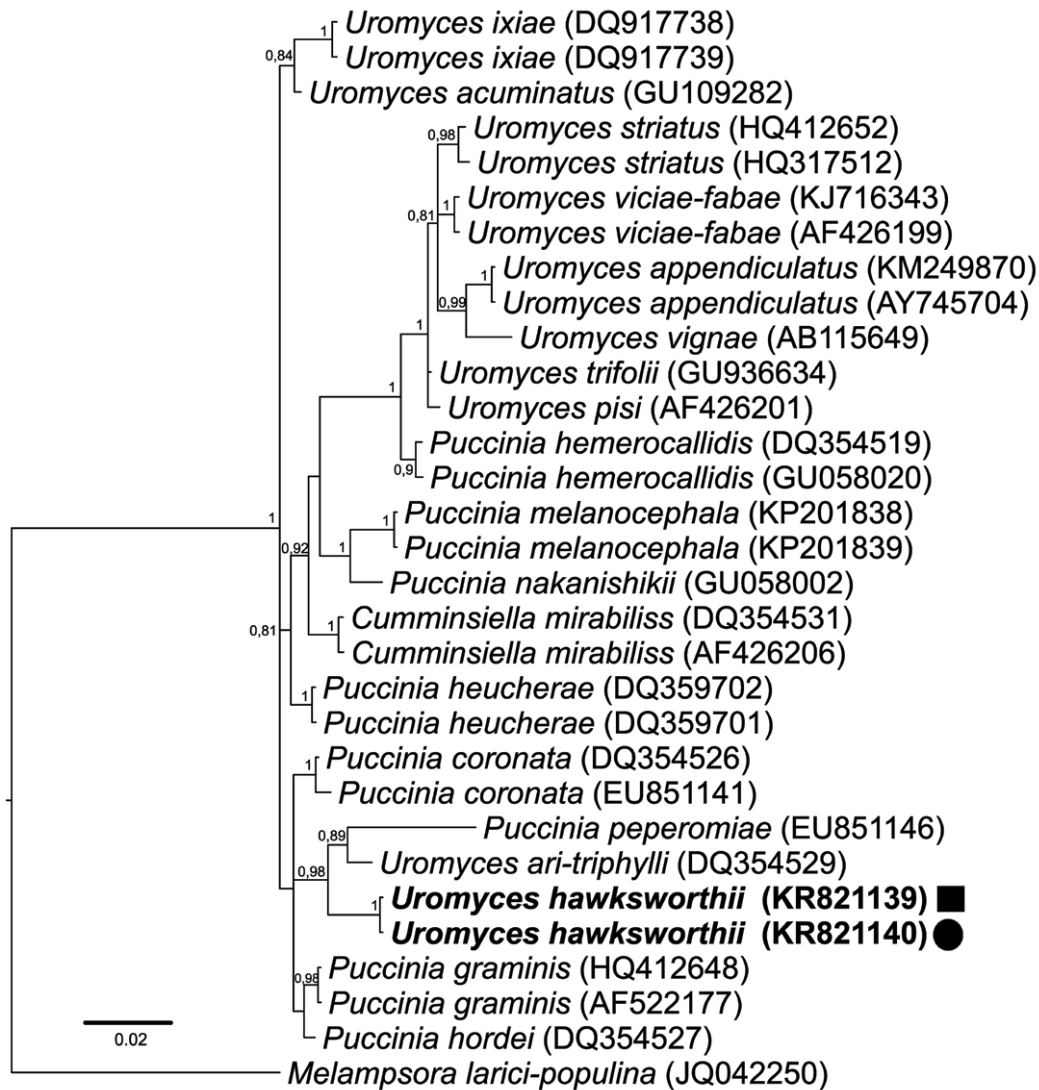


Fig. 3. Phylogenetic tree inferred from the Bayesian analysis based on the LSU sequences of *Uromyces* and related taxa. The Bayesian posterior probability values above 0.75 are indicated at the nodes. GenBank accession numbers are in parentheses. The specimens in this study are highlighted in bold. Black squares and circles indicate DNA sequences obtained from aeciospores and teliospores, respectively. The tree was rooted to *Melampsora larici-populina*.

- 8(7) Teliospores showing very fine ornamentations on a reticulate disposition, urediniospores coarsely reticulate; aecidiospores verrucose, subtuberculate **U. phthiruzae**
 Teliospores not as above, aecidiospores minutely verrucose to verrucose 9
- 9(8) Teliospores verrucose-striate; aecidiospores verrucose **U. urbanianus**
 Teliospores reticulate, aecidiospores minutely verrucose **U. evastigatus**
- 10 (7) Teliospores reticulate-foveate; aecidiospores spinose-echinulate **U. struthanthii**
 Teliospores, non reticulate-foveate; aecidiospores verrucose **U. hawksworthii**

DISCUSSION

Uromyces hawksworthii is morphologically different from other species reported from Brazil on *Loranthaceae*, in that it has erect cylindrical to conical or subulate aecia to 3.5 mm tall, located on well-defined hard pulvinate to subglobose brown galls. Furthermore, *U. hawksworthii* is phylogenetically distinct from the taxa presently

accommodated in GenBank. Based on a megablast search of GenBank, the closest hits using the LSU sequence are *Puccinia heucherae* RHS5296/05 (GenBank DQ359702; Identities (98 %) = 1036/1060), *U. acuminatus* CT-V080623-3 (GenBank GU109282; Identities (98 %) = 1035/1059), *U. ari-triphylli* U637 (GenBank DQ354529; Identities (98 %) = 1034/1057), *Puccinia graminis* U-674 (GenBank HQ412648; Identities (98 %) = 1023/1048, and

P. hordei AFTOL-ID 1402 (GenBank DQ354527; Identities (98 %) = 1017/1043. Additionally, both aecidial and telial specimens of *Uromyces hawksworthii* examined in this study were similar and formed a clade with *Uromyces ari-triphylli* and *Puccinia peperomia* (Fig. 3). Within this strongly supported clade (posterior probability = 0.98), the two specimens of *U. hawksworthii* formed a sister clade with other taxa included. As rust fungi from South America are poorly characterized molecularly, additional DNA sequence data will be needed to further clarify the phylogeny of rust fungi from tropics.

The aecidial morph of this fungus was described as *Aecidium goyazense* (Hennings 1895), but the telial morph has not been previously reported. The binomial *Uromyces goyazensis* is pre-occupied by a rust fungus found on *Bauhinia* (Hennings 1895), which means that the name *Aecidium goyazense* cannot be recombined into *Uromyces* as this would create an homonym to be rejected (Art. 53.1). Consequently, we have given the fungus the new name *Uromyces hawksworthii* here.

Two identification keys for *Uromyces* species on *Loranthaceae* are available (Hennen *et al.* 2005, Perdomo-Sánchez & Piepenbring 2014). In each key the species were separated by the shape and ornamentation of the teliospores, aecia, aeciospores, presence or absence of the uredinial phase, and host species. Perdomo-Sánchez & Piepenbring (2014) revised and illustrated by light microscopy and SEM, the type specimens of *Uromyces* on *Loranthaceae* around the world, except for *U. nilagiricus*, a species reported on *Loranthus* sp. from India, for which type material was not available. This is the only species found outside Latin America distinguished by smooth teliospores (Ramakrishnam & Ramakrishnam 1950). Based on teliospore wall characteristics, the *Uromyces* species on *Loranthaceae* are distributed in two well-defined groups. One has superficially verrucose or markedly striate teliospores, including *U. euphlebius*, *U. ornatipes*, *U. loranthis*, *U. phthirusae*, and *U. socius* (Sydow 1920, Arthur 1915, 1918, Perdomo-Sánchez & Piepenbring 2014). The other group has teliospores with pitted to foveate surfaces, including *U. bahiensis*, *U. circumscriptus*, *U. evastigatus*, *U. loranthis*, *U. phthirusae*, *U. struthanthi*, and *U. urnabianus*. In the latter group of species, only *U. loranthis* (aecidia unknown, teliospore walls verrucose) and *U. phthirusae* (teliospore walls striate) have a known uredinial phase.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Mariza Sanchez, Robert N.G. Miller, and Dirceu Macagnan for support and help. Thanks are also due to CNPq/Brazil for financial support through the PPBIO-Cerrado Project.

REFERENCES

- Aime MC (2006) Toward resolving family-level relationships in rust fungi (*Uredinales*). *Mycoscience* **47**: 112–122.
- Arthur JC (1915) New species of *Uredineae* IX. *Bulletin of Torrey Botanical Club* **42**: 585–593.
- Arthur JC (1918) *Uredinales* of Guatemala based on collections by WWD. Holway – II. *Aecidiaceae*, exclusive of *Puccinia* and form genera. *American Journal of Botany* **5**: 420–446.
- Bruns TD, Vilgalys R, Barns SM, Gonzalez D, Hibbett DS, *et al.* (1992) Evolutionary relationships within the fungi: analyses of nuclear small subunit rRNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **1**: 231–241.
- Busby PE, Aime MC, Newcombe G (2012) Foliar pathogens of *Populus angustifolia* are consistent with a hypothesis of Beringian migration into North America. *Fungal Biology* **116**: 792–801.
- Chung WH, Tsukiboshi T, Ono Y, Kakishima M (2004) Morphological and phylogenetic analyses of *Uromyces appendiculatus* and *U. vignae* on legumes in Japan. *Mycoscience* **45**: 233–244.
- Deadman ML, Al Sadi AM, Al Maqbali YM, Farr DF, Aime MC (2011) Additions to the rust fungi (*Pucciniales*) from northern Oman. *Sydowia* **63**: 155–168.
- Dixon LJ, Castlebury LA, Aime MC, Glynn NC, Comstock JC (2010) Phylogenetic relationships of sugarcane rust fungi. *Mycological Progress* **9**: 459–468.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* **12**: 13–15.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics* **5**: 113.
- Hall T (2012) BioEdit v 7.0.9: Biological sequence alignment editor for Win95/98/2K/XP/7.
- Hennen JF, Figueiredo MB, de Carvalho Jr. AA, Hennen PG (2005) Catalogue of the species of plant rust fungi (*Uredinales*) of Brazil. Instituto de Pesquisas, Jardim Botânico do Rio de Janeiro Rio de Janeiro, Brazil.
- Hennings P (1895) Fungi goyazenses. *Hedwigia* **34**: 88–112.
- Henricot BA, Denton GA, Lane CB (2007) First report of *Puccinia heucherae* on *Heuchera* spp. in the UK. *Plant Pathology* **56**: 352.
- Hyde KD, Nilsson RH, S. Alias A, Ariyawansa AH, Blair E, *et al.* (2014) One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014). *Fungal Diversity* **67**: 21–125.
- Kropp BR, Hansen DR, Wolf PG, Flint KM, Thomson SV (1997) A study on the phylogeny of the dyer's woad rust fungus and other species of *Puccinia* from Crucifers. *Phytopathology* **87**: 565–571.
- Liu M, McCabe E, Chapados JT, Carey J, Wilson SK, *et al.* (2015) Detection and identification of selected cereal rust pathogens by TaqMan® real-time PCR. *Canadian Journal of Plant Pathology* **37**: 92–105.
- Maier W, Begerow D, Weiss M, Oberwinkler F (2003) Phylogeny of the rust fungi: an approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany* **81**: 12–23.
- Maier W, Wingfield BD, Mennicken M, Wingfield MJ (2007) Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. *Mycological Research* **111**: 176–185.
- Matheny PB, Gossmann JA, Zalar P, Kumar TKA, Hibbett DS (2006) Resolving the phylogenetic position of the *Wallemiomycetes*: an enigmatic major lineage of *Basidiomycota*. *Canadian Journal of Botany* **84**: 1794–1805.
- McTaggart AR, Geering ADW and Shivas RG (2014) *Uredinopsis pteridis* and *Desmella aneimiae*, the first rust fungi (*Pucciniales*) reported on ferns (*Pteridophyta*) in Australia. *Australasian Plant Disease Notes* **9**: 149.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA: 1–8.

- Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS (1995) Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia* **87**: 223–238.
- Nilsson RH, Hyde KD, Pawłowska J, Ryberg M, Tedersoo L, et al. (2014) Improving ITS sequence data for identification of plant pathogenic fungi. *Fungal Diversity* **67**: 11–19.
- Padamsee M, McKenzie EHC (2014) A new species of rust fungus on the New Zealand endemic plant, *Myosotidium*, from the isolated Chatham Islands. *Phytotaxa* **174**: 223–230.
- Perdomo-Sánchez O, Piepenbring M (2014) Species of *Uromyces* (*Puccinilaes*, *Basidiomycota*) on *Loranthaceae*. *Tropical Plant Pathology* **39**: 141–153.
- Pfunder M, Schürch S, Roy BA (2001). Sequence variation and geographic distribution of pseudoflower-forming rust fungi (*Uromyces pisi* s. lat.) on *Euphorbia cyparissias*. *Mycological Research* **105**: 57–66.
- Posada D, Buckley T (2004) Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology* **53**: 793–808.
- Ramakrishnam TS, Ramakrishnam K (1950) Additions to fungi of Madras VIII. *Proceedings of the Indian Academy of Science, B* **3**: 102–110.
- Rambaut A (2009) *FigTree*. Version 1.2.3. Edinburgh: Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, et al (2012) Mrbayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**: 539–542.
- Sydow HP (1920) Novae fungorum species. *Annales Mycologici* **18**: 154–160.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) Mega 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* **28**: 2731–2739.
- Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* **172**: 4238–4246.
- Yun HY, Minnis AM, Dixon LJ, Castlebury LA (2010) First report of *Uromyces acuminatus* on *Honckenya peploides*, the endangered seabeach sandwort. *Plant Disease* **94**: 279.
- Zuluaga C, Buriticá P, Marín M (2011) Filogenia de hongos/roya (*Uredinales*) em la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del ADN ribosomal 28S. *Revista de Biología Tropical* **59**: 517–540.

ANEXO 2

Manuscript Number:

Title: Interaction between *Colletotrichum truncatum* and *Uromyces euphorbiae* on leaves of *Euphorbia hirta*

Article Type: Original Research

Keywords: Endophyte/Rust Interaction
Neotropical Fungi
Morfomolecular Identification
Brazil
Pucciniales
Glomerelalles.

Corresponding Author: Professor JOSE Carmine DIANESE, PhD

Corresponding Author's Institution: Universidade de Brasília

First Author: ERICA S SOUZA, MSc, PhD Student

Order of Authors: ERICA S SOUZA, MSc, PhD Student; HELSON M VALE, DSc; RITA C PEREIRA-CARVALHO, DSc; WILLIAM R SOARES, MSc, PhD Student; ROBERT N MILLER, PhD; JOSE Carmine DIANESE, PhD

Abstract: *Euphorbia hirta* (Euphorbiaceae) grows widely in most tropical and subtropical regions of the world including in Brazil, Australia, India, and several states in USA. In Brasilia, plants infected with *Uromyces euphorbiae* characteristically show rust pustules (485-220 μm diam.) delimited by a necrotic band surrounded by a reddish-brown border showing showing epiphyllous sori with both urediniospores and teliospores, and sometimes hypophyllous aecia with aeciospores. In 74% of the leaf lesions, setose acervuli of a *Colletotrichum* species were produced, but exclusively within the necrotic area. Morphological and molecular characterization indicated that *Colletotrichum truncatum* was the species, with typically curved conidia (31-(27)-23 \times 3-4 μm) in acervuli measuring 86-44 μm , bordered by a palisade of long black setae (up to 140 \times 5 μm). *Colletotrichum truncatum* acervuli were not shown in 26% of the pustules, and were never formed in areas of the leaf where *U. euphorbiae* was not present. Isolation from healthy areas of the leaves and from leaves showing no rust infection, revealed that the associated fungus was indeed an endophyte. Sequencing of rDNA segments amplified using ITS, TUB2, GAPDH and HIS3 primers revealed that the endophyte and the pustule-infecting fungus belonged in the same species and are members of the *C. truncatum* complex. The rust fungus was for the first time sequenced (segments LSU and ITS of the rDNA), and SEM illustrated. Phylogenetic analyzes were carried out by Maximum Likelihood and Bayesian Inference for the identification of both fungi. Further research is needed to clarify the physiological aspect of the interaction between *U. euphorbiae* and the endophytic *C. truncatum* involved.

Suggested Reviewers: Mary C Aime PhD
Professor, Botany and Plant Pathology/Arhur Fungarium, Purdue University
maime@purdue.edu

She is an world expert on the taxonomy of rust fungi, and for sure would be able to contribute with a positive criticism of our paper.

PAUL F CANNON PhD

SENIOR MYCOLOGIST, Kew Gardens, UK

p.cannon@kew.org.uk

Senior and corresponding author of a recent classical paper on *Colletotrichum*, published by *Studies in Mycol.* 2012 Sep 15; 73(1): 181-213.

For sure an authority on the genus.

Mary C Aime PhD

Professor, Botany and Plant Pathology/Arthur Fungarium, Purdue University
maime@purdue.edu

She is an world expert on the taxonomy of rust fungi, and for sure would be able to contribute with a positive criticism of our paper.

Paul F CANNON PhD

SENIOR MYCOLOGIST, Kew Gardens, UK

p.cannon@kew.org.uk

Senior author of the classical paper, "*Colletotrichum* - current status and future directions, *IN:Studies in Mycology* (2012) 73(1): 181-213. A well known authority when it comes to *Colletotrichum*."

Robert W. Barreto PhD, Univ. Reading-UK

Professor, FITOPATOLOGIA, UNIV. FEDERAL DE VIÇOSA, MG, BRAZIL

rbarreto@ufv.br

Dr. Barreto is an authority on plant pathogenic fungi with an important contribution to the use of fungi as weed biocontrol tools. For many years engaged in cooperative work with Dr. Harry C. Evans (CABI-UK). Very important Brazilian mycologist/plant pathologist.

To:
Prof. J.W. Spatafora
Senior Editor
FUNGAL BIOLOGY

Dear Prof. Spatafora,

I am submitting for publication in *Fungal Biology* a MS entitled "Interaction between *Colletotrichum truncatum* and *Uromyces euphorbiae* on leaves of *Euphorbia hirta*", where we run a morphological identification of both interacting fungi, and at the same time we had them molecularly identified.

This is part of our effort to always include molecular support to our taxonomic studies, now that we finally have the available tools and materials to do such a job.

In over 40 years working with plant-associated fungi, this is the first time I had the opportunity to observe a clear stimulus to sporulation of hemibiotroph/endophyte by a rust fungus. I consider *Fungal Biology* the right place to publish this paper, and hope that I am correct.

Yours sincerely,

José Carmine Dianese
Universidade de Brasília

Interaction between *Uromyces euphorbiae* and an endophytic *Colletotrichum truncatum* on leaves of *Euphorbia hyrta*

Leaf lesions



Only *U. euphorbiae* sori

26 %



74%

U. euphorbiae sori surrounded by *C. truncatum* setose acervuli



Morphological identification of both fungi was confirmed by phylogenetic analyses using Maximum Likelihood and Bayesian Inference, for the first time in the case of *U. euphorbiae*.

Highlights

- Periphery of *Uromyces euphorbiae* sori was shown to be the only sites of acervular formation by an endophytic *C. truncatum*, on leaves of *Euphorbia hirta*.
- Only in 26% of the rust pustules the acervuli were lacking
- Morphology and molecular identification, and phylogeny of endophytic and acervular *Colletotrichum* specimens in *E. hirta* showed that they were identical and both belong to the species *C. truncatum*. The phylogeny based on Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) analyses, using sequences of four genomic loci of both isolates (ITS; β -tubulin2 gene (TUB2); GAPDH gene, and Histone H3 gene).
- *Uromyces euphorbiae* was for the first time illustrated in detail using both light microscopy and SEM illustration of its telia/uredia and aecia.
- For the first time *U. euphorbiae* had its LSU sequences used for phylogenetic characterization by ML and BI analyses.

Interaction between *Colletotrichum truncatum* and *Uromyces euphorbiae* on leaves of *Euphorbia hirta*

Érica S.C. Souza^a, Helson M.M. Vale^b, Rita C. Pereira-Carvalho^b, William R.O. Soares^b,
Robert N.G. Miller^a, José C. Dianese^b

^aDepartamento de Biologia Celular, Pós-graduação em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, 70910-900 Brasília, Distrito Federal, Brazil.

^bDepartamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, 70910-900 Brasília, Distrito Federal, Brazil.

Corresponding author:

Prof. José Carmine Dianese

Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, 70910-900 Brasília, Distrito Federal, Brazil.

Tel: +55-061-999858695

E-mail: jcarmine@unb.br

Received ii July 2016, Revised ee July 2016, Accepted xx ??? 2016, Available online yy ??? 2016

Abstract

Euphorbia hirta (*Euphorbiaceae*) grows widely in most tropical and subtropical regions of the world including in Brazil, Australia, India, and several states in USA. In Brasilia, plants infected with *Uromyces euphorbiae* characteristically show rust pustules (485-220 μm diam.) delimited by a necrotic band surrounded by a reddish-brown border showing showing epiphyllous sori with both urediniospores and teliospores, and sometimes hypophyllous aecia with aeciospores. In 74% of the leaf lesions, setose acervuli of a *Colletotrichum* species were produced, but exclusively within the necrotic area. Morphological and molecular characterization indicated that *Colletotrichum truncatum* was the species, with typically curved conidia (31–(27)–23 \times 3–4 μm) in acervuli measuring 86–44 μm , bordered by a palisade of long black setae (up to 140 \times 5 μm). *Colletotrichum truncatum* acervuli were not shown in 26% of the pustules, and were never

formed in areas of the leaf where *U. euphorbiae* was not present. Isolation from healthy areas of the leaves and from leaves showing no rust infection, revealed that the associated fungus was indeed an endophyte. Sequencing of rDNA segments amplified using ITS, TUB2, GAPDH and HIS3 primers revealed that the endophyte and the pustule-infecting fungus belonged in the same species and are members of the *C. truncatum* complex. The rust fungus was for the first time sequenced (segments LSU and ITS of the rDNA), and SEM illustrated. Phylogenetic analyzes were carried out by Maximum Likelihood and Bayesian Inference for the identification of both fungi. Further research is needed to clarify the physiological aspect of the interaction between *U. euphorbiae* and the endophytic *C. truncatum* involved.

Keywords:

Endophyte/Rust Interaction, Neotropical Fungi, Morfomolecular Identification, Brazil, Pucciniales, Glomerelalles.

1. Introduction

Between 2011 and 2016, plants of *Euphorbia hirta*, a weed common in wastelands, and associated with cultivated crops throughout the tropical and subtropical regions of the world (CABI 2016), found at the Biological Experiment Station of the University of Brasilia showed leaf spots containing rust pustules due to infection by an *Uromyces* species, mostly surrounded by dark brown setose acevuli of a *Colletotrichum* species. Thus, the aim of this work was to morphologically and molecularly characterize and identify both fungi, and discuss the meaning of such interaction.

2. Materials and Methods

2.1 Morphology

Leaf lesions containing both the *Colletotrichum* species and the rust fungus were initially studied under a stereomicroscope, followed by observations of slides containing squash preparations, or 15–20 µm thick sections obtained using a Leica® freezing microtome. The morphological features of both fungi were described, measured, and documented using both a Leica M 206C® stereomicroscope and a Leica DM 2500® light microscope coupled with a Leica DFC 490® digital camera connected to a microcomputer. Image capture, editing, and structural measurements were done using a Leica QWin® V3

software. In some cases, the samples were stained with lacto-glycerol Cotton Blue and the slides sealed with nail polish, however most of the photographic work was done without staining using Nomarski optics. A minimum of 20 spores and structural cells replicates were measured. Portions of dry leaves that contained acervuli and rust sori with urediniospores and teliospores were fixed on top of 10 mm diam. bronze stubs using double face carbon tape, and treated with gold at 25 mA, 1.10^{-2} mbar, for 2.5 min. for SEM study. A JEOL JSM-700[®] 1F Model scanning electron microscope was used for detailed morphological view of the fungal components. Herbarium vouchers (UB-Mycol. Coll. 21591, UB-Mycol. Coll. 22311, UB-Mycol. Coll. 23207 and UB-Mycol. Coll. 23305) containing both associated fungi were deposited in the Mycological Collection of the Herbarium UB.

2.2 Culturing, DNA extraction, PCR amplification, and DNA sequencing

The *Colletotricum* specimens were directly isolated from the acervuli around the rust lesions, and also from healthy areas of plant leaves superficially disinfested by serially washing in 2% hypochlorite, 70% ethanol and sterile distilled water to verify the possible endophytic presence of the fungus. The isolates were cultured on PDA plates for seven days before obtaining monoconidial cultures used for the morphological studies, and for DNA extraction. The isolates obtained were preserved in sterile distilled water (Dhingra & Sinclair 1995) under accession numbers CCUB 29 for the acervular isolate, and CCUB 30 for the endophyte, both deposited at the Fungal Culture Collection of the Herbarium UB.

Genomic DNA was extracted from a mixture of urediniospores and teliospores present on sori of the rust fungus, and separately from a mass of aeciospores. For all samples of both *Colletotrichum* and *Uromyces* species, genomic DNA extraction followed the CTAB protocol (Doyle & Doyle 1990).

Four genomic loci were sequenced for both *Colletotricum* isolates: ITS; β -tubulin2 gene (TUB2); GAPDH gene, and Histone H3 gene, however in the case of the rust fungus the sequences were limited to the ITS and LSU segments (Table 1).

The PCRs for both *Colletotrichum* and *Uromyces* species, included the following reagents for each 25 μ L reaction volume: 0.5 U Taq DNA Polymerase Platinum[®], 0.2 mM of each nucleotide, 10 \times buffer (10–50 mM TRIS–HCl, pH 8.3, 50 mM KCl), 1.5 mM MgCl₂, 0.4 μ M of each of the forward and reverse primers, plus a maximum of 10 ng/ μ L of genomic DNA. The thermal cycle, for both fungi, consisted of 94 C for 4 min, followed

by 30 cycles of 94 C for 1 min (denaturation), and the respective annealing temperatures, all lasting 1 min are shown in Table 1; elongation was done at 72 C for 1 min, and final extension at 72 C for 5 min.

PCR products were analyzed in 1% agarose electrophoresis with gels stained with ethidium bromide in a 1 × TAE buffer, and visualized under UV light to check for amplicon size and purity. PCR products were treated using ExoSAP-IT[®] (USB) and sequenced in an Applied Biosystems (ABI3130xl Model) apparatus at the Biotechnology Laboratory, of the Catholic University of Brasília.

2.3 Phylogeny

The nucleotide sequences were edited using BioEdit (Hall 2012) and Geneious-R8 (Kearse et al. 2012). All sequences checked manually, and nucleotides with ambiguous positions being clarified using both primer direction sequences. The new sequences of both fungi were deposited in GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) and their accession numbers are listed in Tables 1 and 2, and the phylograms generated are shown in Figures 1 and 2. Consensus sequences of all amplified segments belonging to both fungal species were compared with those in GenBank via BLASTn. In the case of the *Colletotrichum* isolates, sequences belonging to species infecting members of the family Euphorbiaceae were taken from GenBank for the phylogenetic analyses. Also recent phylogenetic studies focusing species with curved conidia were considered in the selection of species to be included in the analyses (Damm et al. 2009, Hyde et al. 2014, Yang et al. 2014). The sequences chosen were downloaded from GenBank in FASTA format being ITS, TUB2, GAPDH and HIS3 for *Colletotrichum* species; and single ones of ITS and LSU for *Uromyces*. The alignments were carried by MUSCLE[®] (Edgar 2004), built in MEGA v. 6 (Tamura et al. 2013), manual adjustments were made when necessary. Gaps were treated as missing data.

The alignments for each of the markers used for the phylogenetic analyses of the *Colletotrichum* sequences were done separately before being concatenated using Mesquite v.3.10 (Maddison & Maddison 2016).

Phylogenetic relationships for both fungal species were carried out under Maximum Likelihood (ML) and Bayesian Inference (BI) using PAUP* v. 4.0b10 (Swofford 2002) and Mr Bayes v. 3.2 (Ronquist et al. 2012). Before launching the ML and BI, the best nucleotide substitution model was determined with MrMODELTEST 2.3 (Posada & Buckley 2004).

The likelihood scores were calculated and the models selected according to the Akaike Information Criterion (AIC). Maximum Likelihood was based on the (GTR+I+G) model, and the phylogenetic trees drawn based on branch lengths, with the number of substitutions per site being shown on a scale. Clade stability resulted from bootstrap analyses with 1,000 replicates.

Bayesian inference analysis employing a Markov Chain Monte Carlo method was performed for all sequences. The general time-reversible model of evolution including estimation of invariable sites and assuming a discrete gamma distribution with six rate categories (GTR+I+G) was used. Four MCMC chains were run simultaneously, starting from random trees for 10,000,000 generations. Trees were sampled every 1,000th generation for a total of 10,000 trees. The first 2500 trees were discarded as the burn-in phase of each analysis. Posterior probabilities were determined from a majority-rule consensus tree generated with the remaining 7500 trees.

Trees were rooted to *C. lindemuthianum* for the *Colletotrichum* species, and to *Melampsora larici-populina* for *Uromyces*, visualized by FigTree (Rambaut 2009), and exported to a graphic's program. The alignments of sequences belonging to both fungi were deposited in TreeBase (<http://www.treebase.org/>) under access number 19554.

3. Results and Discussion

Isolates of *Colletotrichum* species associated with the rust pustules caused by an *Uromyces* species on *E. hirta*, and occurring as endophyte in healthy leaves, were both shown to belong to the same species: *C. truncatum*. The rust fungus present was identified as *U. euphorbiae*.

The identification of *C. truncatum* and *U. euphorbiae* infecting *E. hirta* was based in morphological and molecular analyses, as follows.

In the case of *C. truncatum*, the matrix generated using four markers in a concatenated fashion for 31 taxa including those selected from GenBank (Table 2), resulted in a dataset of 1277 bp of aligned positions, being 373 parsimony informative, 400 variable and 877 conserved, and used for ML and BI analyses.

Amplification and sequencing of a ITS rDNA segment, and genes TUB2, GAPDH and HIS3 were performed for both acervular and endophytic isolates of *C. truncatum*.

In addition, the molecular identification (Figure 1) leaves no doubt that both the acervular and the endophytic isolates are indeed members of the *C. truncatum* species complex.

On the other hand, for the first time, amplification and sequencing of the LSU and ITS rDNA regions of *U. euphorbiae* were successful for samples obtained from an aeciospore mass, and from a mixture of teliospores and urediniospores. Considering our molecular and morphological data, *U. euphorbiae*, access number UB-Mycol. Coll. 23207 is herein accepted as reference specimen.

Other LSU sequences of *Uromyces* species were selected from GenBank, and used for molecular phylogenetic identification of the fungus, as widely recommended for genus and species identification of rust fungi (Hyde et al. 2014).

Based on the results from the primary LSU data matrix and the dataset for rust fungi indicated by Hyde et al. (2014), 34 taxa (Table 3) were selected from across the breadth of LSU derived phylogenetic trees. The dataset used for ML and BI analyses consisted of 509 bp of aligned positions, 59 of which were parsimony informative, 120 were variable and 389 were conserved.

The data showed that sequences of *U. euphorbiae* obtained from mixed pustules (containing teliospores and urediniospores) and from aeciospores, were identical and placed the species in a clade where all other members were either pathogenic to euphorbiaceous or to fabaceous hosts. The sequence data thus allowed for a safe molecular characterization of the species clearly segregated from the other clade components (Figure 2).

Damm et al. (2009) described *C. truncatum* on *Anthriscus* species (*Apiaceae*) as a typical representative of the species on a herbarium voucher. The variations in dimension between our specimen and the one described by Damm et al. (2009) are within the limits set for the species. However, more recently Crous et al. (2013), reported on the description of *C. euphorbiae* Damm & Crous on *Euphorbia* sp., an unrelated species outside of the *C. truncatum* complex, showing conidia straight not falcate, and clearly guttulate instead of non-guttulate.

Although *C. truncatum* is known on three *Euphorbia* species (*E. maculata*, *E. neriifolia*, and *E. pulcherrima*), this is the first record of the fungus associated with *Euphorbia hirta* (Farr and Rossman 2016).

Our *Colletotrichum* specimen showed on the host leaves a morphology that fits the description *C. truncatum* by Damm et al. (2009): *conidiomata* 44–90 µm diam., setose, acervular; *setae* (up to 140 × 5 µm) long, dark brown to black, smooth, 1–3 septate, tapering towards slightly acute to roundish tip, base cylindrical to obconical; *conidiophores* 70–81 (76) × 2–4 (3) µm long pale brown, septate, branched, densely clustered;

conidiogenous cells 11–20 (16) × 2–4 (3) µm, enteroblastic, phialidic with openings measuring 1–1.5 µm diam., hyaline to pale brown, cylindrical, collarete present, periclinal thickenings visible; *conidia* (31–(27)–23 × 3–4 µm, hyaline, smooth-walled, aseptate, typically falcate, long central part of conidia usually slightly curved with parallel walls, ending at round tip, and subtruncate base, non-guttulate protoplasm. Besides that, Figures 3 to 6 illustrate the morphology of both *C. truncatum* and *U. euphorbiae*, starting with the leaf symptoms, and details of the distribution of both fungi on the infected leaves (Figure 3), and morphological details of the both fungi (Figures 4, 5, 6) are shown. Thus, light and SEM microscopic illustration of one of the *C. truncatum* isolates (Figure 4), and of the *U. euphorbiae* specimen (Figures 5, 6) are shown.

The morphology of our specimen of *U. euphorbiae*, agrees with the description shown in Hennen et al. (2005): *spermogonia* inconspicuous; *aecia* mostly abaxial, cylindrical, campanular to cupulate densely distributed, *peridium* showing somewhat recurved apex, *peridial cells* 17.5–30 × 12–20.5 µm, cuboid, polyhedral, wall 4–7 µm thick, finely verrucose; *aeciospores* 15–20 × 13–17 µm, globoid to broadly ellipsoid, catenate, wall ca 1 µm thick, densely verrucose, pale yellow or colorless, with 2–3 germ pores; *sori* frequently mixed showing both teliospores and urediniospores; *uredinia* amphigenous, 485–(350)–220 µm diam., scattered or sometimes in circular or crowded groups, erumpent, powdery, cinnamon-brown; *urediniospores* 19–25 × 17–22.5 µm, aseptate, globoid or broadly ellipsoid; wall 1.5–2 µm, moderately and sparsely echinulate, golden-brown; 3–6 scattered germ pores; *telia* amphigenous, 485–(350)–220 µm diam., scattered or sometimes in circular groups, erumpent, dark chocolate-brown; *teliospores* 18–27 × 12–19.5 µm, aseptate, broadly ellipsoid obovoid, conical papilla over the germ pore, wall ca 1.5 µm thick, cinnamon-brown, with a lighter colored, verrucose with verrucae sometimes arranged in circular rows; pedicel short, colorless, deciduous. Detailed view of *U. euphorbiae* is shown in Figures 5 and 6.

When considering the interaction between *C. truncatum* and *U. euphorbiae* on leaves of *E. hirta*, it must be emphasized that seventy-four percent of the rust pustules present, were encircled by a ring of setose *Colletotrichum* acervuli, resulting in leaf spots showing reddish-brown edges and light brown necrotic centers showing dark hairy acervuli (Figures 4). The distribution of the acervuli around the rust pustules, and the structural characteristics of both fungi are shown in Figures 5. However, the acervuli were never present in the absence of *U. euphorbiae* pustules.

This indicates that the infection by the rust fungus promoted physiological changes that led to a limited necrosis of the leaf tissue around the pustules, where the fructification of the *Colletotrichum* species was formed, as a final phase of its endophytic condition. *Colletotrichum* species are hemibiotrophs (Munch et al. 2008) that carry a large number of carbohydrate-active-enzyme genes usually expressed prior to penetration and following the transition to necrotrophy (O'Connell et al. 2012). These species show a biotrophic phase that is symptomless, that occurs during the endophytic growth of the fungus. Pellier et al. (2003) indicated that the biotrophic to necrotrophic switch in *C. lindemuthianum* is connected to the ammonium/L-glutamine metabolism. Others (Alkan et al. 2013, Miyara et al. 2012, Prusky & Yakoby 2003, Shnaiderman et al. 2013) suggested that the signal to start necrotrophy is related to alkalization due to secretion of ammonia released through protease activity, and amino acid deamination.

In the present case, as *C. truncatum* necrotrophic action leading to abundant acervular production occurred only around the rust pustules, research on the metabolic changes occurring in that specific area are necessary to explain the fact. However, high nutrient concentration around rust pustules is well-documented with major increase in glucose, fructose and hexose phosphates due to invertase activity (Voegelé et al. 2006, Walters & McRoberts 2006). Thus, hypothetically, this would supply the needed nutrients for mycelial growth and reproduction of *C. truncatum* associated with *U. euphorbiae* pustules.

Conflict of Interests

The authors declare that there are no conflicts of interests.

Acknowledgment: The authors thank CAPES-MEC-BRAZIL for a fellowship to the senior author. Also thanks are given to CNPq, and MCTI-CNPq/PPBIO-Fungos do Cerrado for financial support; Prof. Mariza Sanchez (*in memoriam*) for assistance with the herbarium work; and Profs. Paulo E.P.S. Câmara and Danilo B. Pinho, for reviewing the manuscript.

4. References

- Aime MC, 2006. Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience* **47**: 112-122.
- Alkan N, Espeso EA, Prusky D, 2013. Virulence regulation of phytopathogenic fungi by pH. *Antioxid Redox Signal* **19**:1012-1025.
- Bruckart III WL, Eskandari FM, Berner DK, Aime MC, 2012. Comparison of *Puccinia acroptili* from Eurasia and the USA. *Botany* **90**: 465-471.
- Busby PE, Aime MC, Newcombe G, 2012. Foliar pathogens of *Populus angustifolia* are consistent with a hypothesis of Beringian migration into North America. *Fungal Biology* **116**: 792-801.
- CABI, 2016. Invasive Species Compendium. *Euphorbia hirta*. Accessed at <http://www.cabi.org/isc/datasheet/21355>, on November 23, 2016.
- Chung WH, Tsukiboshi T, Ono Y, Kakishima M, 2004. Morphological and phylogenetic analyses of *Uromyces appendiculatus* and *U. vignae* on legumes in Japan. *Mycoscience* **45**: 233-244.
- Crous PW, Wingfield MJ, Guarro J, Cheewangkoon R, van der Bank M, Swart WJ, Stchigel AM, Cano-Lira JF, Roux J, Madrid H, Damm U, Wood AR, Shuttleworth LA, Hodges CS, Munster M, de Jesus Yanez-Morales M, Zuniga-Estrada L, Cruywagen EM, De Hoog GS, Silvera C, Najafzadeh MJ, Davison EM, Davidson PJN, Barrett MD, Barrett RL, Manamgoda DS, Minnis AM, Kleczewski NM, Flory SL, Castlebury LA, Clay K, Hyde KD, 2013. Fungal Planet description sheets: 154-213. *Persoonia* **31**: 188-296.
- Crous PW, Groenewald JZ, Risede JM, Hywel-Jones NL, 2004a. *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaeropedunculate vesicles. *Studies in Mycology* **50**: 415-430.
- Damm U, Woudenberg JHC, Cannon PF and Crous PW, 2009. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. *Fungal Diversity* **39**: 45-87.
- Deadman ML, Al Sadi AM, Al Maqbali YM, Farr DF, Aime MC, 2011. Additions to the rust fungi (Pucciniales) from northern Oman. *Sydowia* **63**: 155-168.

- Dhingra OD, Sinclair JB, 1995. *Basic plant pathology methods*. 2nd edn. CRC Press, Boca Raton.
- Doyle JJ, Doyle JL, 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* **12**: 13-15.
- Edgar RC, 2004. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics* **5**: 113.
- Farr DF, Rossman AY, 2016. *Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA*. Accessed at <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> on November 23, 2016.
- Glass NL, Donaldson GC, 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* **61**: 1323-1330.
- Hall T, 2012. *BioEdit v 7.0.9: Biological sequence alignment editor for Win95/98/2K/XP/7*.
- Henricot BA, Denton GA, Lane CB, 2007. First report of *Puccinia heucherae* on *Heuchera* spp. in the UK. *Plant Pathology* **56**: 352.
- Hyde KD, Nilsson RH, Alias SA, Ariyawansa HA, Blair JE, Cai L, de Cock AWAM, Dissanayake AJ, Glockling SL, Goonasekara ID, Gorczak M, Hahn M, Jayawardena RS, van Kan JAL, Laurence MH, Lévesque CA, Li XH, Liu JK, Maharachchikumbura SSN, Manamgoda DS, Martin FN, McKenzie EHC, McTaggart AR, Mortimer PE, Nair PVR, Pawłowska J, Rintoul TL, Shivas RG, Spies CFJ, Summerell BA, Taylor PWJ, Terhem RB, Udayanga D, Vaghefi N, Walther G, Wilk M, Wrzosek M, Xu JC, Yan JY, Zhou N, 2014. One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera- I. *Fungal Diversity* **67**:21-125.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Mentjies P and Drummond A, 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* **28**: 1647-1649.

- Kropp BR, Hansen DR, Wolf PG, Flint KM, Thomson SV, 1997. A study on the phylogeny of the dyer's wood rust fungus and other species of *Puccinia* from crucifers. *Phytopathology* **87**: 565-571.
- Liu M, McCabe E, Chapados JT, Carey J, Wilson SK, Tropiano R, Redhead SA, Lévesque CA, Hambleton S, 2015. Detection and identification of selected cereal rust pathogens by TaqMan® real-time PCR. *Can J Plant Pathology* **37**:92-105.
- Maddison WP, Maddison DR, 2016. *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.10*. Accessed at <http://mesquiteproject.org>, on April 15, 2016.
- Maier W, Begerow D, Weiss M, Oberwinkler F, 2003. Phylogeny of the rust fungi: an approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany* **81**: 12-23.
- Maier W, Wingfield BD, Mennicken M, Wingfield MJ, 2007. Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. *Mycological Research* **111**: 176-185.
- McTaggart AR, Geering ADW and Shivas RG, 2014. *Uredinopsis pteridis* and *Desmella aneimiae*, the first rust fungi (*Pucciniales*) reported on ferns (*Pteridophyta*) in Australia. *Australasian Plant Disease Notes* **9**: 149.
- Miyara I, Shnaiderman C, Meng X, Vargas WA, Díaz-Minguez JM, Thon M, Sherman A, Prusky D, 2012. Role of nitrogen-metabolism genes expressed during pathogenicity of the alkalinizing *Colletotrichum gloeosporioides* and their differential expression in acidifying pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **25**:125-163.
- Moncalvo JM, Wang HH, Hseu RS, 1995. Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia* **87**: 223-238.
- Munch S, Lingner U, Floss DS, Ludwig N, Sauer N, Deising HB, 2008. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. *Journal of Plant Physiology* **165**:41-51.

- O'Donnell, E. Cigelnik, 1997. Two different intragenomics rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics Evolution* **7**:103-116.
- O'Connell RJ, Thon MR, Hacquard S, Amyotte SG, Kleemann J, Torres MF, Damm U, Buiate EA, Epstein L, Alkan N, Altmüller J, Alvarado-Balderrama L, Bauser CA, Becker C, Birren BW, Chen Z, Choi J, Crouch JA, Duvick JP, Farman MA, Gan P, Heiman D, Henrissat B, Howard, M Kabbage, C Koch, B Kracher, Y Kubo, AD Law, M Lebrun, YH Lee RJ, Miyara I, Moore N, Neumann U, Nordström K, Panaccione DG, Panstruga R, Place M, Proctor RH, Prusky D, Rech G, Reinhardt R, Rollins JA, Rounsley S, Schardl CL, Schwartz DC, Shenoy N, Shirasu K, Sikhakolli UR, Stüber K, Sukno SA, Sweigard JA, Takano Y, Takahara H, Trail F, van der Does HC, Voll LM, Will I, Young S, Zeng Q, Zhang J, Zhou S, Dickman MB, Schulze-Lefert P, van Themaat EVL, Ma LJ, Vaillancourt LJ, 2012. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature Genetics* **44**:1060-65.
- Padamsee M, McKenzie EHC, 2014. A new species of rust fungus on the New Zealand endemic plant, *Myosotidium*, from the isolated Chatham Islands. *Phytotaxa* **174**: 223-230.
- Pellier AL, Lauge R, Veneault-Fourrey C, Langin T, 2003. CLNR1, the AREA/NIT2-like global nitrogen regulator of the plant fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum* is required for the infection cycle. *Molecular Microbiology* **48**:639-655.
- Pfunder M, Schürch S, Roy BA, 2001. Sequence variation and geographic distribution of pseudoflower-forming rust fungi (*Uromyces pisi* s. lat.) on *Euphorbia cyparissias*. *Mycological Research* **105**: 57-66.
- Posada D, Buckley T, 2004. *Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests*. *Systematic Biology*. **53**: 793-808.
- Prusky D, Yakoby N, 2003. Pathogenic fungi: leading or led by ambient pH? *Molecular Plant Pathology* **4**:509-16.

- Rambaut A, 2009. *FigTree*. Version 1.2.3. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP, 2012. Mrbayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**: 539-542.
- Shnaiderman C, Miyara I, Kobiler I, Sherman A, Prusky D, 2013. Differential activation of ammonium transporters during the accumulation of ammonia by *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on appressoria formation and pathogenicity. *Molecular Plant-Microbe Interaction* **26**:345-355.
- Souza ESC, Chaves ZM, Soares WR, Pinho DB, Dianese JC, 2015. *Uromyces hawksworthii* nom. nov. for *Aecidium goyazense*, on *Phthirusa stelis* (Loranthaceae) from the Brazilian Cerrado. *IMA fungus* **6**: 155-162.
- Swofford DL, 2002. *PAUP**. *Phylogenetic Analyses using parsimony (*and other methods)*, version 4.0. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA 6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* **30**: 2725-2729.
- Templeton MD, Rikkerink EH, Solon SL, Crowhurst RN, 1992. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. *Gene* **122**: 225-230.
- Tu JC, 1990. First report of anthracnose caused by *Glomerella cingulata* on white beans in Ontario, Canada. *Plant Disease* **74**:394.
- Vilgalys R, Hester M, 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* **172**: 4238-4246.
- Voegelé RT, Wirsel S, Möll U, Lechner M, Mendgen K, 2006. Cloning and characterization of a novel invertase from the obligate biotroph *Uromyces fabae* and

analysis of expression patterns of host and pathogen invertases in the course of infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **19**: 625-634.

Walters DR, McRoberts N, 2006. Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins? *Trends in Plant Sciences* **11**: 581-586.

White TJ, Burns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, pp. 315-322.

Yang H-C, Haudenshield JS, Hartman GL, 2014. *Colletotrichum incanum* sp. nov., a curved-conidial species causing soybean anthracnose in USA. *Mycologia* **106**: 32-42.

Yun HY, Minnis AM, Dixon LJ, Castlebury LA, 2010. First report of *Uromyces acuminatus* on *Honckenya peploides*, the endangered seabeach sandwort. *Plant Disease* **94**: 279.

Zuluaga C, Buriticá P, Marín M, 2011. Filogenia de hongos/roya (Uredinales) em la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del ADN ribosomal 28S. *Revista de Biología Tropical* **59**: 517-540.

Table 1. Primers and respective annealing temperatures used in the PCR amplification.

Fungal species	Region or gene	Primers	Sequences	Temp. Annealing	References
<i>Colletotrichum truncatum</i>	ITS	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	55° C	White et al. (1990)
		ITS4	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG		White et al. (1990)
	GAPDH	GDF1	GCCGTCACGACCCCTTCATTGA	58° C	Templeton et al. (1992)
		GDR1	GGGTGGAGTCGTAAGTGGAGCATGT		Templeton et al. (1992)
	HIS	CYIH3F	AGGTCCACTGGTGGCAAG	58° C	Crous et al. (2004)
		CYIH3R	AGCTGGATGCCTTGACTG		Crous et al. (2004)
	TUB2	T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	62° C	Glass & Donaldson (1995)
		Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC		O'Donnell & Cigelnik (1997)
<i>Uromyces euphorbiae</i>	ITS	ITS4-rust	CAGATTACAAATTTGGGCT	55° C	Pfunder et al. (2001)
		ITS5-u	AAGGTTTCTGTAGGTG		Pfunder et al. (2001)
		Rust2inv	GATGAAGAACACAGTGAAA	55° C	Aime (2006)
	LSU	LR6	CGCCAGTTCTGCTTACC		Vilgalys & Hester (1990)
		LR0R	ACCCGCTGAACTTAAGC	Moncalvo et al. (1995)	
		Rust1	GCTTACTGCCTTCCTCAATC	53° C	Kropp et al. (1997)

Table 2. GenBank accesses from *Colletotrichum truncatum* (Endophytic and Acervular) and all other species included in this study.

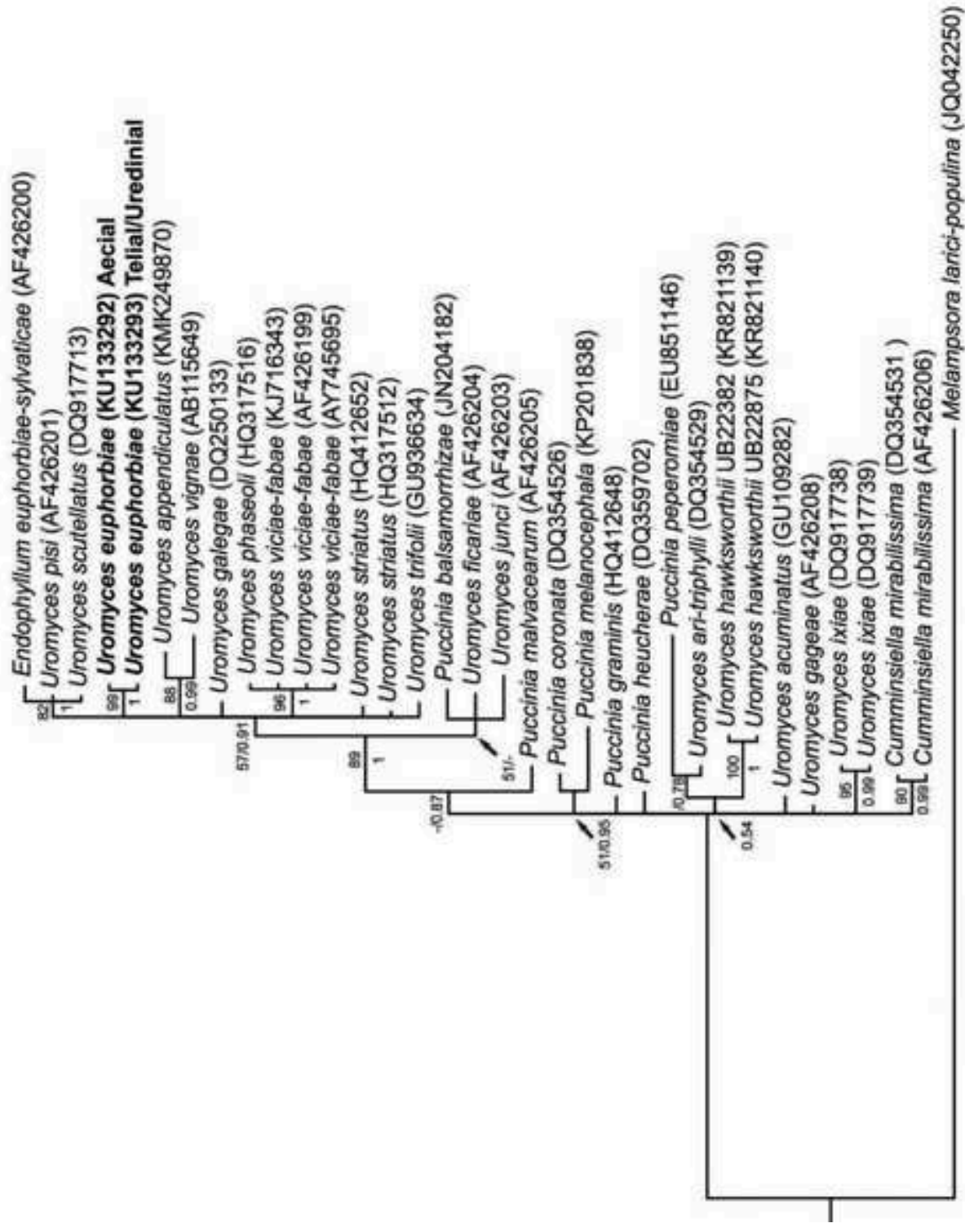
Species	GenBank Access Numbers				Source
	ITS	TUB2	GAPDH	HIS3	
<i>C. truncatum</i> CCUB 2239 (Endophytic)	KT955900	KT955902	KT955906	KT955904	Present study
<i>C. truncatum</i> CCUB 2242 (Acervular)	KT955901	KT955903	KT955907	KT955905	Present study
<i>C. anthrisci</i> CBS 125334	GU227845	GU228139	GU228237	GU228041	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. chlorophyti</i> IMI 103806	GU227894	GU228188	GU228286	GU228090	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. circinans</i> CBS 22181	GU227855	GU228149	GU228247	GU228051	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. dematium</i> CBS 12525	GU227819	GU228113	GU228211	GU228015	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. fructi</i> CBS 34637/CCT 4806	GU227844	GU228138	GU228236	GU228040	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. incanum</i> ATCC 64682a	KC110789	KC110816	KC110807	KC110798	Yang <i>et al.</i> (2014), Tu (1990)
<i>C. incanum</i> IL6A/NRRL 62592/CBS133485	KC110787	KC110814	KC110805	KC110796	Yang <i>et al.</i> (2014)
<i>C. lilii</i> CBS 18630	GU227811	GU228105	GU228203	GU228007	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. lineola</i> CBS 125337	GU227829	GU228123	GU228221	GU228025	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. liriopes</i> CBS 119444	GU227804	GU228098	GU228196	GU228000	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. phaseolorum</i> CBS 15736	GU227896	GU228190	GU228288	GU228092	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. rusci</i> CBS 119206	GU227818	GU228112	GU228210	GU228014	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. spaethianum</i> CBS 16749/BBA 4804	GU227807	GU228101	GU228199	GU228003	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. spinaciae</i> CBS 12857	GU227847	GU228141	GU228239	GU228043	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. tofieldiae</i> CBS 49585	GU227801	GU228095	GU228193	GU227997	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. trichellum</i> CBS 118198	GU227813	GU228107	GU228205	GU228009	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 125328	GU227885	GU228179	GU228277	GU228081	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 15135 (Type)	GU227862	GU228156	GU228254	GU228058	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 18252	GU227866	GU228160	GU228258	GU228062	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 19532	GU227865	GU228159	GU228257	GU228061	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 66788	GU227891	GU228185	GU228283	GU228087	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS 71070	GU227864	GU228158	GU228256	GU228060	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> CBS34570	GU227867	GU228161	GU228259	GU228063	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. truncatum</i> IL15B	KC110790	KC110817	KC110808	KC110799	Yang <i>et al.</i> (2014)
<i>C. truncatum</i> IL16D	KC110791	KC110818	KC110809	KC110800	Yang <i>et al.</i> (2014)
<i>C. verruculosum</i> IMI 45525	GU227806	GU228100	GU228198	GU228002	Damm <i>et al.</i> (2009)
<i>C. lindemuthianum</i> CBS15128 (outgroup)	GU227800	GU228094	GU228192	GU227996	Damm <i>et al.</i> (2009)

Table 3. GenBank accession numbers of *Uromyces euphorbiae*, and of all other species included in this study.

Species	Host (Family)	GenBank Access Numbers (LSU)*	Source and Country
<i>Uromyces euphorbiae</i> UB23207 (Ecial)	<i>Euphorbia hirta</i> (Euphorbiaceae)	KU133292	Present study, Brazil
<i>Uromyces euphorbiae</i> UB22311 (Telial/Uredinial)	<i>Euphorbia hirta</i> (Euphorbiaceae)	KU133293	Present study, Brazil
<i>Cumminsiaella mirabilissima</i>	<i>Mahonia aquifolium</i> (Berberidaceae)	DQ354531	Aime (2006) Germany
<i>Cumminsiaella mirabilissima</i>	<i>Mahonia aquifolium</i> (Berberidaceae)	AF426206	Maier <i>et al.</i> (2003) Germany
<i>Endophyllum euphorbiae-sylvaticae</i>	<i>Euphorbia amygdaloides</i> (Euphorbiaceae)	AF426200	Maier <i>et al.</i> (2003) Germany
<i>Puccinia balsamorhizae</i>	<i>Balsamorhiza sagittata</i> (Asteraceae)	JN204182	Bruckart <i>et al.</i> (2012) USA
<i>Puccinia coronata</i>	<i>Rhamnus cathartica</i> (Rhamnaceae)	DQ354526	Aime (2006) USA
<i>Puccinia graminis</i>	<i>Hordeum</i> sp. (Poaceae)	HQ412648	Deadman <i>et al.</i> (2011)
<i>Puccinia heucherae</i>	<i>Heuchera</i> sp. (Saxifragaceae)	DQ359702	Henricot <i>et al.</i> (2007) England
<i>Puccinia malvacearum</i>	<i>Alcea rosea</i> (Malvaceae)	AF426205	Maier <i>et al.</i> (2003) Germany
<i>Puccinia melanocephala</i>	<i>Saccharum</i> sp. (Poaceae)	KP201838	Wang <i>et al.</i> Unpubl. (2014)
<i>Puccinia peperomiae</i>	<i>Piper</i> sp. (Piperaceae)	EU851146	Zuluaga <i>et al.</i> (2011) Colombia
<i>Uromyces acuminatus</i>	<i>Honkenya peploides</i> (Caryophyllaceae)	GU109282	Yun <i>et al.</i> (2010) England
<i>Uromyces appendiculatus</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fabaceae)	KM249870	McTaggart (2014) Australia
<i>Uromyces ari-triphylly</i>	<i>Arisaema triphyllum</i> (Araceae)	DQ354529	Aime (2006) USA
<i>Uromyces ficariae</i>	<i>Ranunculus ficaria</i> (Ranunculaceae)	AF426204	Maier <i>et al.</i> (2003) Germany
<i>Uromyces gageae</i>	<i>Gagea lutea</i> (Liliaceae)	AF426208	Maier <i>et al.</i> (2003) Alemanha
<i>Uromyces galegae</i>	<i>Galega officinalis</i> (Fabaceae)	DQ250133	Aime (2006) USA
<i>Uromyces ixiae</i>	<i>Babiana tubulosa</i> (Iridaceae)	DQ917738	Maier <i>et al.</i> (2007) South Africa
<i>Uromyces ixiae</i>	<i>Babiana</i> cf. <i>sambucina</i> (Iridaceae)	DQ917739	Maier <i>et al.</i> (2007) South Africa
<i>Uromyces junci</i>	<i>Pulicaria dysenterica</i> (Asteraceae)	AF426203	Maier <i>et al.</i> (2003) Germany
<i>Uromyces phaseoli</i>	<i>Pisum</i> sp. (Fabaceae)	HQ317516	Unpublished
<i>Uromyces striatus</i>	<i>Medicago</i> sp. (Fabaceae)	HQ412652	Deadman <i>et al.</i> (2011) Oman
<i>Uromyces striatus</i>	<i>Euphorbia</i> sp. (Euphorbiaceae)	HQ317512	Liu <i>et al.</i> (2015) Canada
<i>Uromyces trifolii</i>	<i>Trifolium repens</i> (Fabaceae)	GU936634	Zuluaga <i>et al.</i> (2011) Colombia
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	<i>Vicia faba</i> (Fabaceae)	KJ716343	Padamse & McKenzie (2014) New Zealand
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	<i>Vicia pannonica</i> (Fabaceae)	AF426199	Maier <i>et al.</i> (2003) Central Europe
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	Unpublished	AY745695	Matheny & Hibbet Unpubl. (2004)
<i>Uromyces vignae</i>	<i>Vigna unguiculata</i> (Fabaceae)	AB115649	Chung <i>et al.</i> (2004) Japan
<i>Uromyces hawksworthii</i>	<i>Phthirusa stelis</i> (Loranthaceae)	KR821139	Souza <i>et al.</i> (2015) Brazil
<i>Uromyces hawksworthii</i>	<i>Phthirusa stelis</i> (Loranthaceae)	KR821140	Souza <i>et al.</i> (2015) Brazil
<i>Uromyces pisi</i>	<i>Euphorbia cyparissias</i> (Euphorbiaceae)	AF426201	Maier <i>et al.</i> (2003) Central Europe
<i>Uromyces scutellatus</i>	<i>Euphorbia cyparissias</i> (Euphorbiaceae)	DQ917713	Maier <i>et al.</i> (2007) South Africa
<i>Melampsora larici-populina</i> (outgroup)	<i>Populus x canadensis</i> (Salicaceae)	JQ042250	Busby <i>et al.</i> (2012) USA

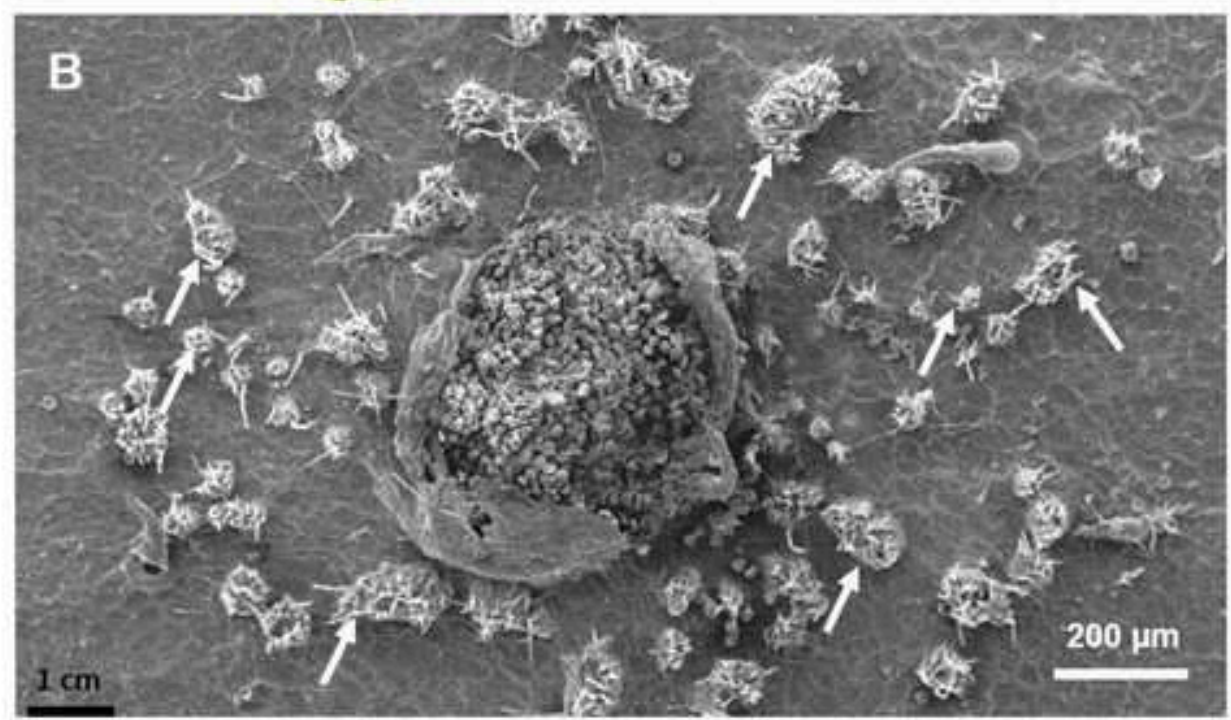
* LSU: rDNA large subunit

Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)

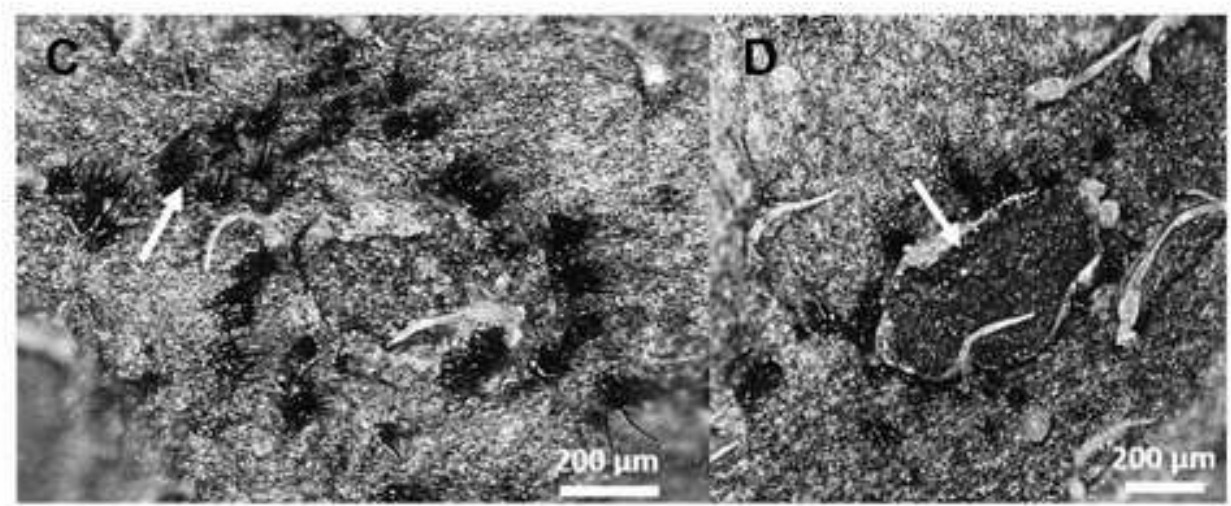
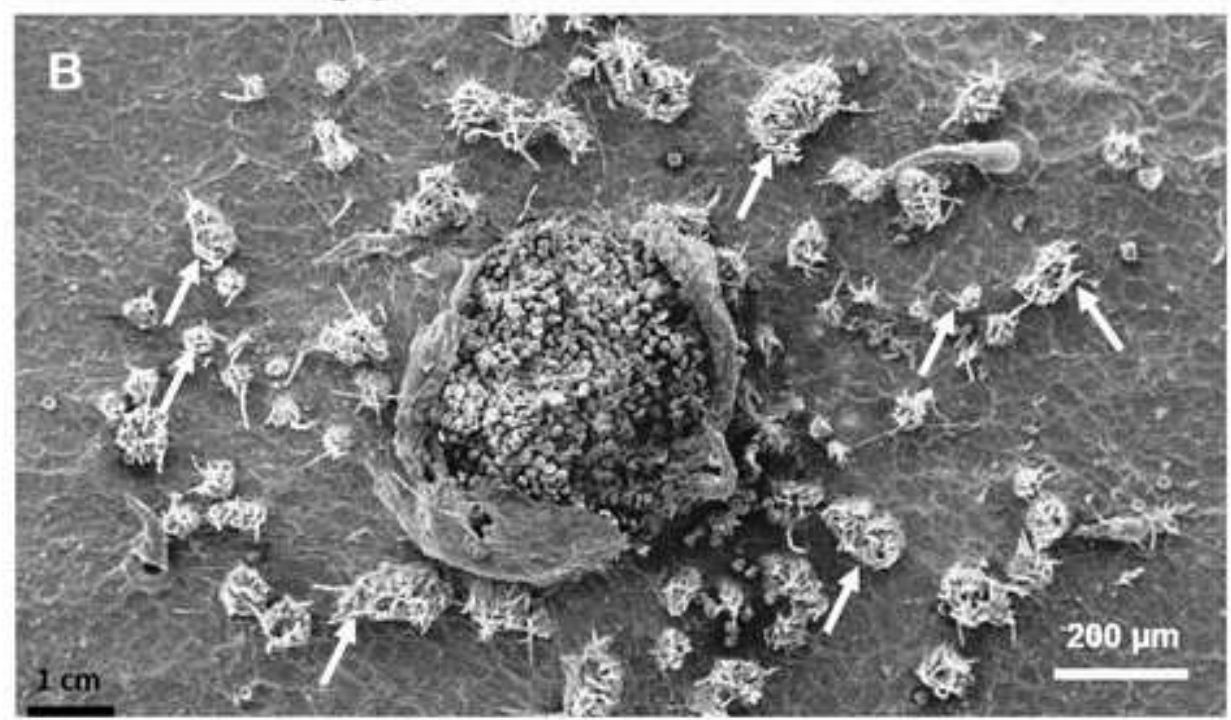


0.2

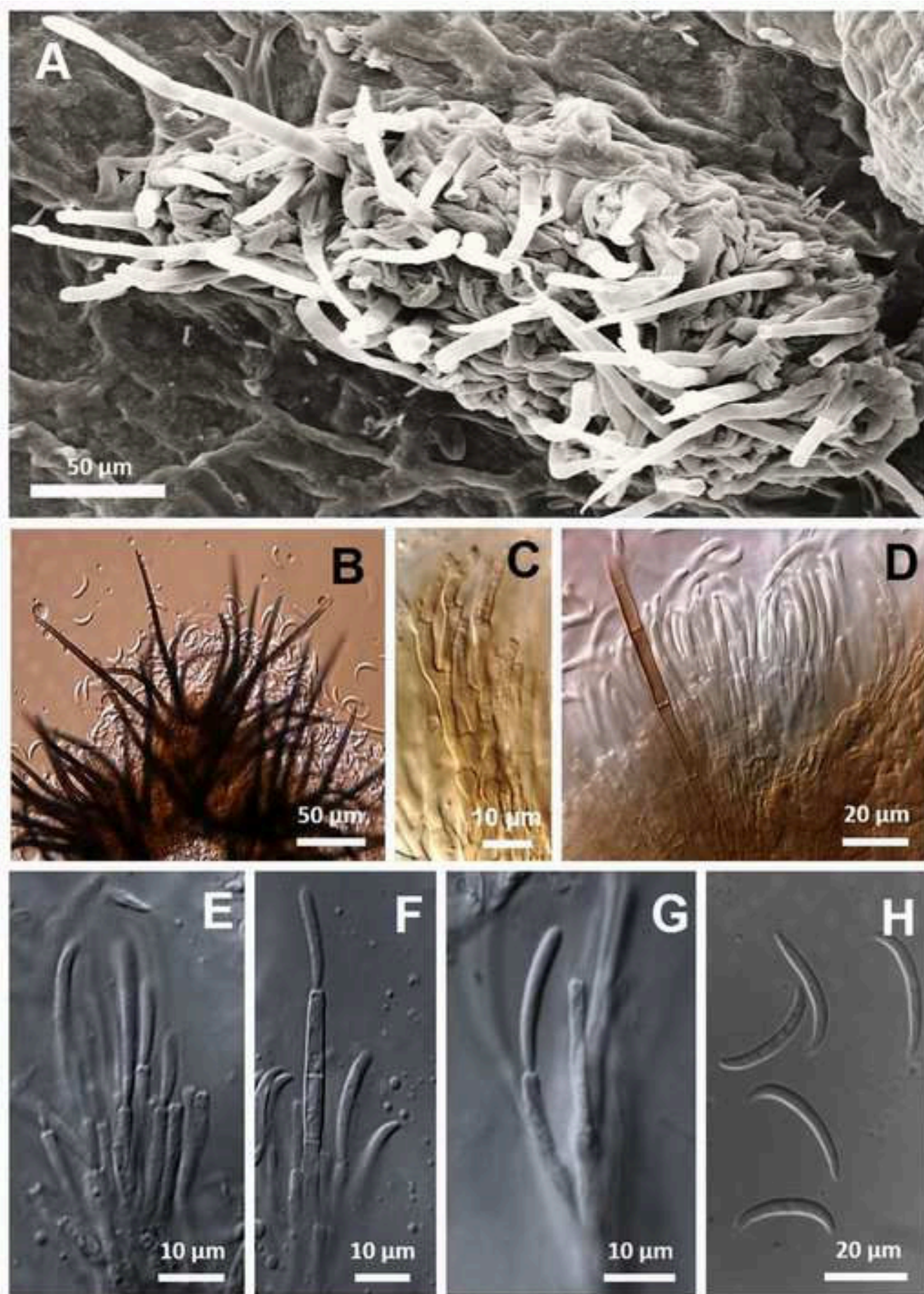
Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)



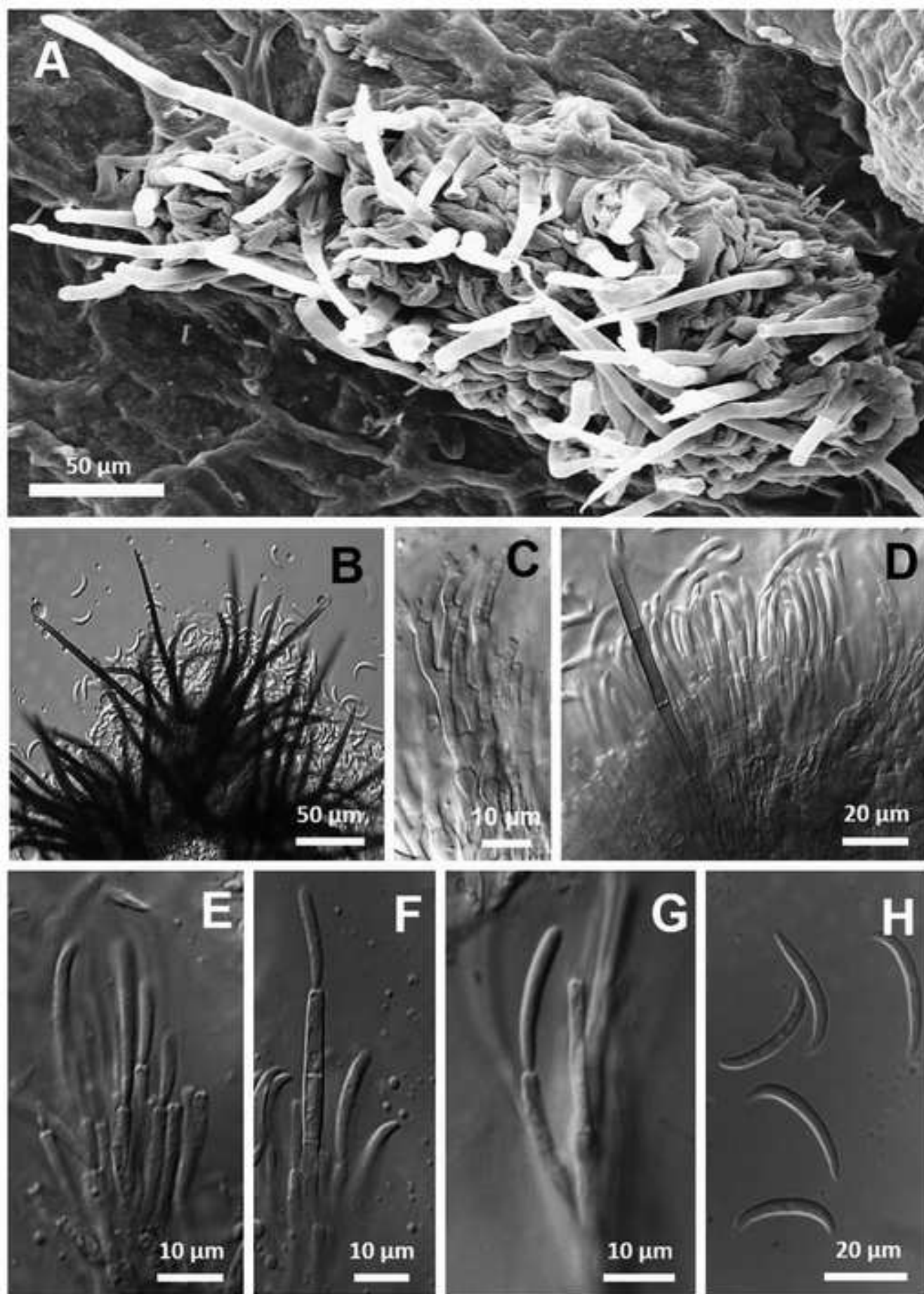
Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)



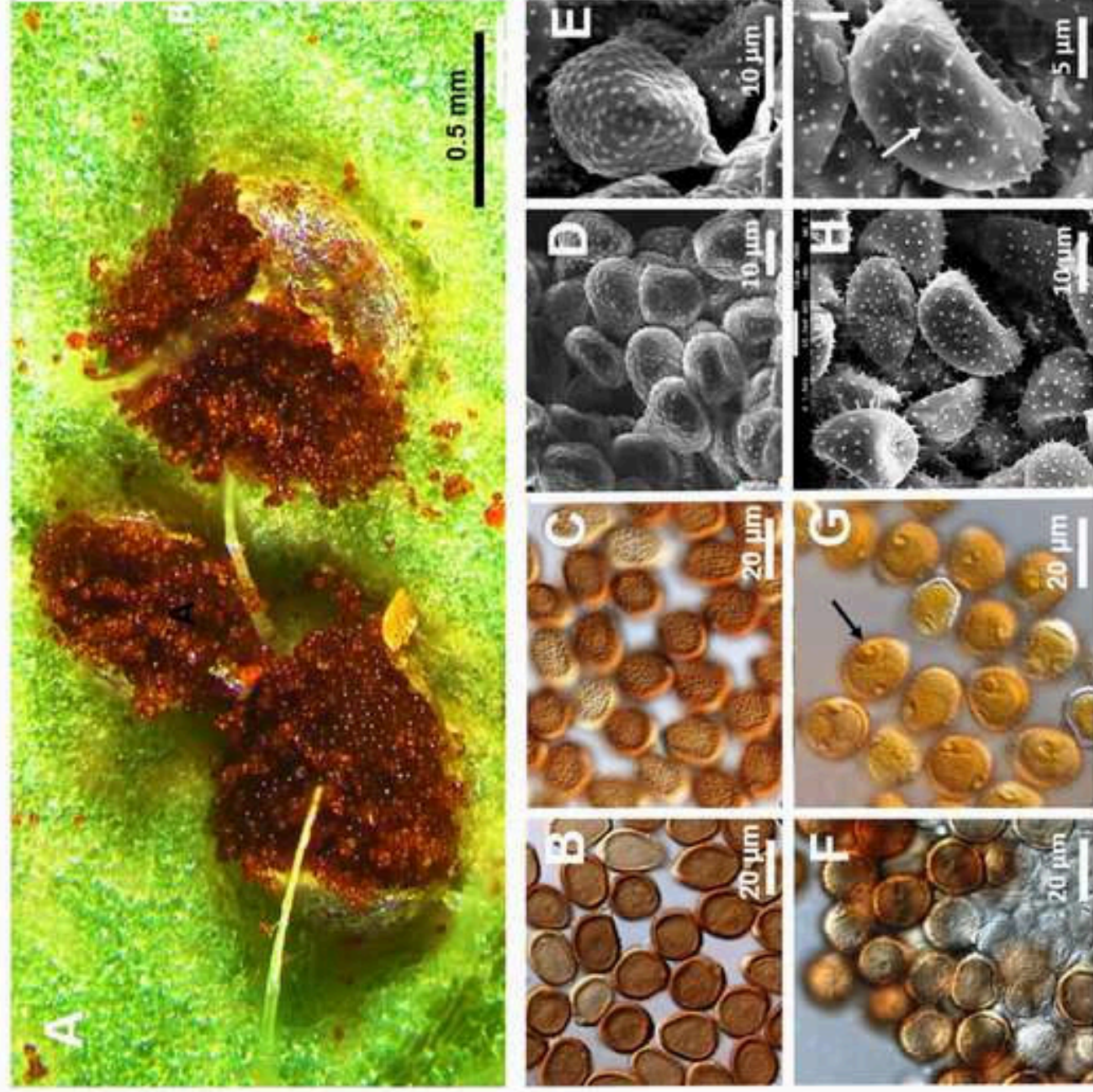
Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)



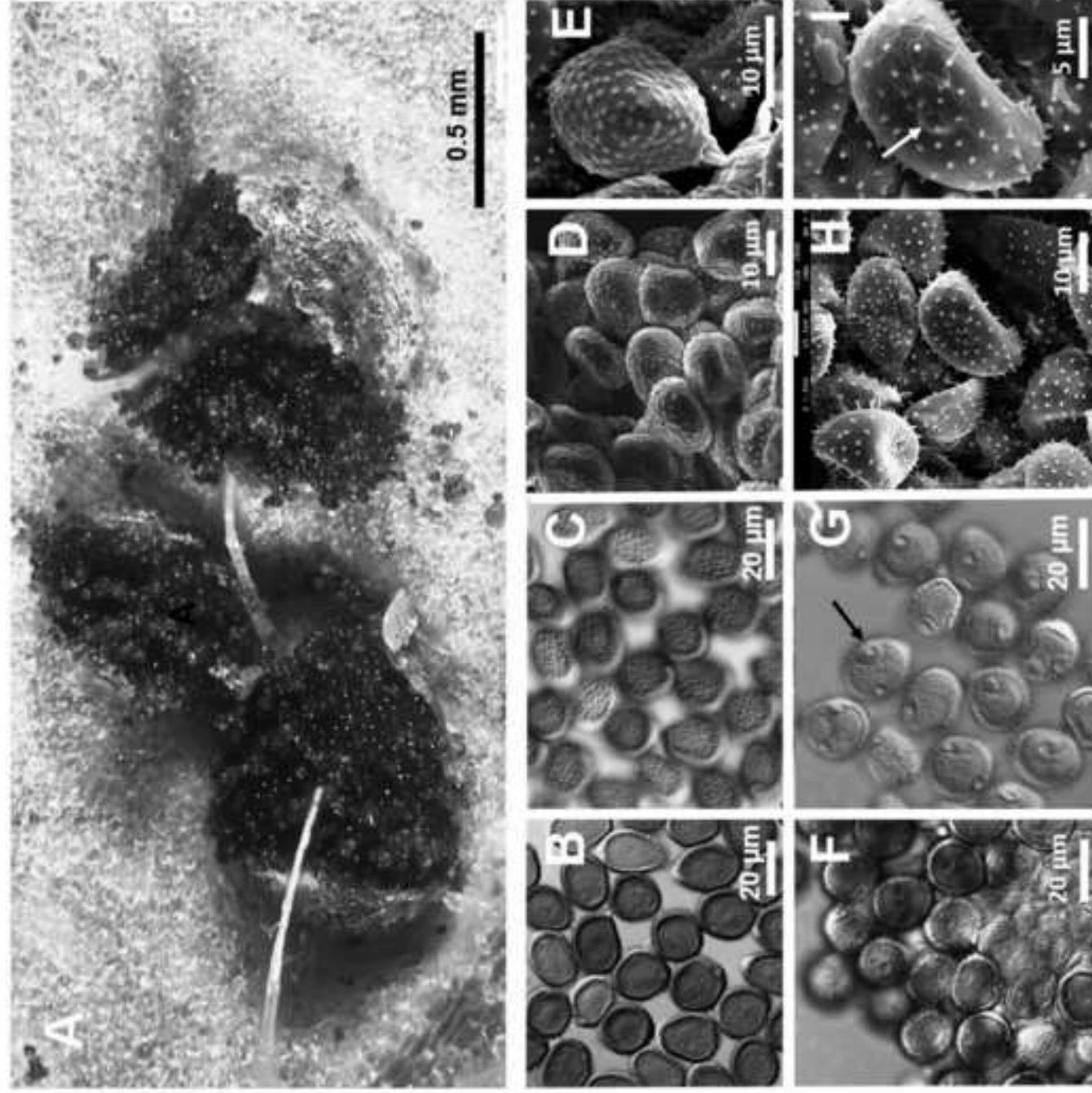
Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)



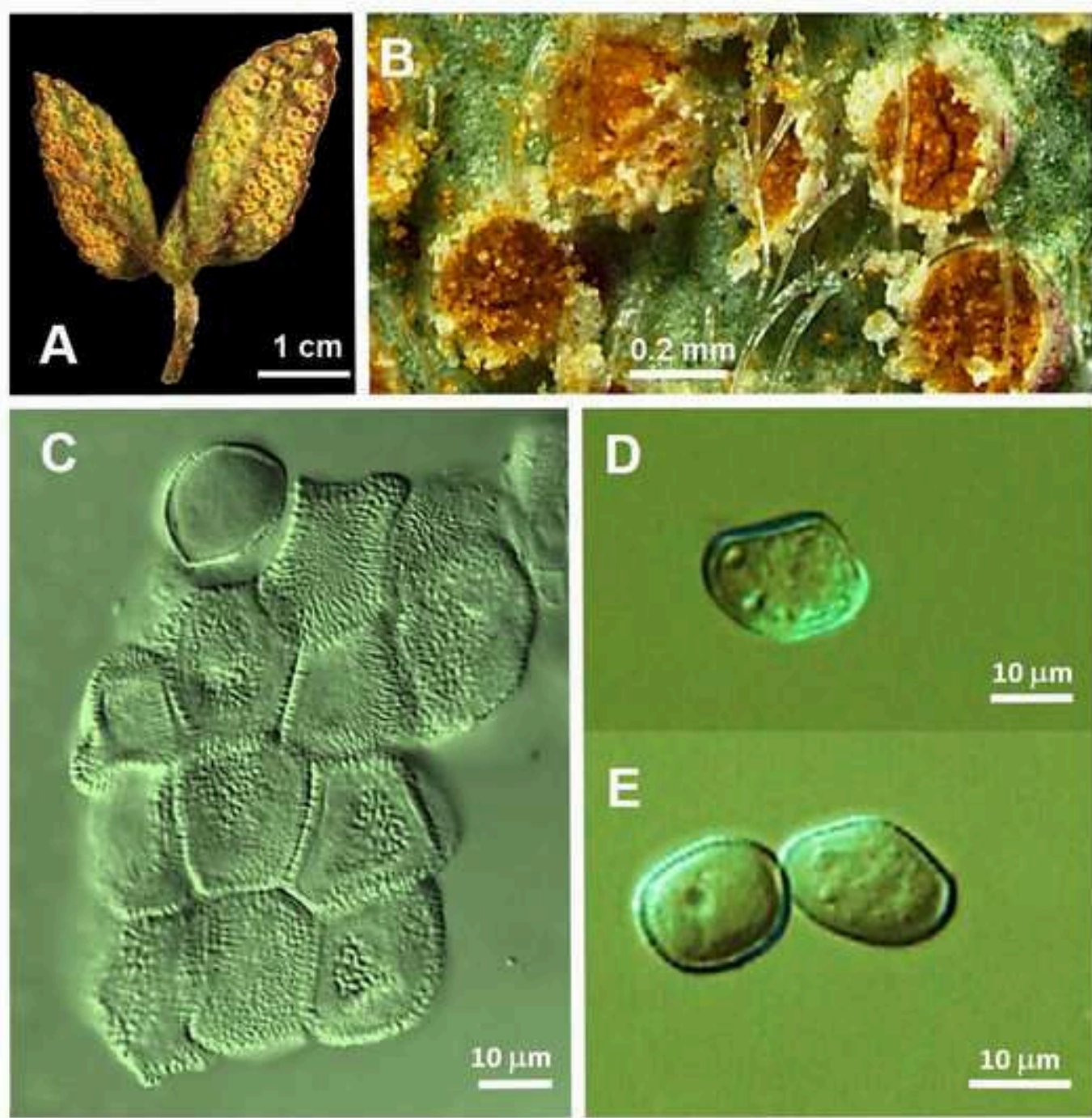
Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)



Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)



Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)



Figure(s)
[Click here to download high resolution image](#)

