



UnB

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

**TAXONOMIA E FILOGENIA MOLECULAR DE FUNGOS FILACOROIDES DO
CERRADO**

DEBORA CERVIERI GUTERRES

BRASÍLIA - DF

2018

DEBORA CERVIERI GUTERRES

**TAXONOMIA E FILOGENIA MOLECULAR DE FUNGOS FILACOROIDES DO
CERRADO**

Tese apresentada à Universidade de Brasília
como requisito parcial para a obtenção do
título de doutora pelo programa de Pós-
Graduação em Fitopatologia.

ORIENTADOR: PROF. JOSÉ CARMINE DIANESE

BRASÍLIA - DF

2018

**TAXONOMIA E FILOGENIA MOLECULAR DE FUNGOS FILACOROIDES DO
CERRADO**

Débora Cervieri Guterres

Tese defendida e aprovada em 28/02/2018

BANCA EXAMINADORA

Orientador:

Prof. José Carmine Dianese, Universidade de Brasília

Examinadores:

Prof. Leonardo S. Boiteux – UnB, Pós-graduação em Fitopatologia

Dra. Betânia Ferraz Quirino – Embrapa Agroenergia

Prof. Ricardo Henrique Krüger – UnB, Pós-graduação em Biologia Microbiana

Suplente:

Dra. Maria Esther de Noronha Fonseca – Embrapa Hortaliças

À Mariza Sanchez, *in memoriam*.

*"Sei que meu trabalho é uma gota no oceano,
mas sem ele, o oceano seria menor"*

(Santa Teresa de Calcutá)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Assis e Adriana, pelo apoio, carinho e segurança que sempre proporcionaram. A todos os meus irmãos: Viviane, Lisiane, César, Ester e Heron e, em especial, ao Egon, que me apoia e incentiva constantemente a estudar.

Ao professor José Carmine Dianese, a quem admiro pela determinação, persistência e dedicação ao trabalho, agradeço pela orientação e ensinamentos preciosos para a vida.

A todos os professores do Departamento de Fitopatologia da Universidade de Brasília, especialmente ao professor Danilo Batista Pinho pela ajuda e orientação em todas as etapas do trabalho. Ao professor Adalberto Correa Café Filho, pelo incentivo e apoio para a conclusão do trabalho. Ao professor Robert Miller, pela disponibilização da infraestrutura do laboratório de Interação Planta-Praga, onde diversas etapas do trabalho foram realizadas. Ao professor Cláudio Lúcio Costa, por compartilhar sua experiência e sabedoria construída ao longo de sua carreira científica.

À Dra. Margarida Fumiko Ito, Curadora do Fungarium Ahmés Pinto Viégas (IACM) do Herbário do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pelo empréstimo dos importantes espécimes estudados por Ahmés Pinto Viégas, usados nessa tese.

À Dra. Zuleide Martins Chaves, amiga queridíssima, grande conselheira e com quem aprendi muito sobre o fascinante mundo dos fungos. À Dra. Denise Dornelo Silva e à Dra. Érica Santos do Carmo de Souza, com quem dividi as alegrias e dificuldades ainda nos primeiros anos do doutorado. Ao Bruno César Pereira de Souza, grande amigo e parceiro nas expedições que realizamos para a coleta de fungos do Cerrado. Aos amigos que fiz ainda na Bahia, durante o mestrado, e com quem aprofundei os laços de amizade: Carina Marina Leite Lopes, Camila de Moraes Rêgo, Bianca Samay Angelino Bonfim e Cristiano da Silva Rodrigues. Aos amigos e colegas da Coleção Micológica do Herbário da Universidade de

Brasília e entusiastas da Micologia: Aline Suelen da Silva, Lincoln Vicente Bizerra, Camila Pereira de Almeida, Jennifer Decloquement e Rildo Alexandre Fernandes.

Em especial à Dra. Maria do Desterro Mendes dos Santos, que iniciou os desafiadores trabalhos de filogenia molecular de Phyllachorales do Cerrado e contribuiu diretamente para a conclusão deste trabalho. Ao MSc. Samuel Galvão Elias, pela ajuda fundamental nas análises filogenéticas e organização do texto e, mais ainda, pela amizade, incentivo e apoio em todos os momentos (especialmente os mais estressantes).

Aos amigos de todos as horas: Justino José Dias Neto, Daniela Rossato Stefanelo, Pollyanne da Silva Hermenegildo e Cleia dos Santos Cabral. Aos amigos Karina Fragoso, Marcelo Renó, Maria Geane Fontes, Dezyane Ferreira, Elenice Barbosa, João Gilberto Villela, Mauricio Rossato e William Soares.

A todos os membros do Grupo de Estudos em Patologia de Plantas (GEPPLANT) da UnB, por tudo que tentamos, pelo que aprendemos e pelo que conseguimos realizar nesses três anos desde a concepção do grupo.

Finalmente, agradeço à Universidade de Brasília e ao Departamento de Fitopatologia e todos os seus membros. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudos. À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF) pela disponibilização dos recursos financeiros para execução da pesquisa.

ÍNDICE DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1. Composição da família Phyllachoraceae: lista de gêneros incluídos entre os anos de 1915 e 2017.	17
---	----

Capítulo I

Tabela 1. Primers utilizados nas reações de amplificação e sequenciamento via reação em cadeia de polimerase (PCR).	50
Tabela 2. Espécimes inclusos na análise filogenética exploratória de Sordariomycetes	53
Tabela 3. Descritores das matrizes nucleotídicas e priors utilizados nas reconstruções filogenéticas de Sordariomycetes.	64
Tabela 4. Descritores das matrizes nucleotídicas e <i>priors</i> utilizados nas reconstruções filogenéticas de Phyllachorales.	72
Tabela 5. Comparação de atributos morfológicos das espécies de <i>Camarotella</i> descritas até o momento.	79
Tabela 6. Comparação de atributos morfológicos das espécies de <i>Cocodiella</i> descritas até o presente momento.	91
Tabela 7. Comparação de atributos morfológicos das espécies de <i>Ophiodotella</i> descritas até o momento.	104
Tabela 8. Comparação de atributos morfológicos das espécies de <i>Telimena</i> descritas até o momento.	121
Tabela 9. Comparação de atributos morfológicos das espécies de <i>Phyllachora</i> descritas em Sapindaceae.	133
Tabela 10. Comparação de atributos morfológicos das espécies de <i>Phyllachora</i> em hospedeiros da família Sapotaceae.	149

Tabela 11. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Phyllachora* em hospedeiros da família Vochysiaceae..... 162

Tabela 12. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Phyllachora* em hospedeiras da família Apocynaceae e Primulaceae. 177

Capítulo II

Tabela 13. Bank accession numbers of materials included in the phylogenetic analyses.....212

Tabela 14. Estimated time for most recent common ancestor (TMRCA) and 95% highest posterior density (HPD) ranges for clades corresponding to families of Diaporthales.221

Capítulo III

Tabela 15. Specimens included in phylogenetic analyses.....262

Tabela 16. Evolutive models for each partition used as priors in Bayesian Inference.....267

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Filograma de Sordariomycetes com base nos marcadores moleculares <i>nrLSU</i> , <i>nrSSU</i> , <i>RPB2</i> e <i>5.8S</i>	66
Figura 2. Filograma de Phyllachorales gerado com base nos marcadores moleculares <i>LSU</i> , <i>SSU</i> , <i>RPB2</i> , <i>TEF1</i> e <i>5.8S</i>	73
Figura 3. Filograma de Phyllachorales com base nos marcadores moleculares <i>LSU</i> , <i>SSU</i> , <i>RPB2</i> e <i>5.8S</i>	74
Figura 4. <i>Camarotella acrocomiae</i> (UB Col. Micol. 23800) em folhas de <i>Cocos nucifera</i> (A–H).....	84
Figura 5. <i>Camarotella</i> sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23443) em folhas de <i>Butia</i> sp.....	87
Figura 6. Cópia de ilustração original de <i>Auerswaldia palmicola</i> por Spegazzini (Arambarri et al. 2017).....	88
Figura 7. <i>Cocodiella peribebuyensis</i> (UB Col. Micol. 23813) em folhas de <i>Miconia chamissois</i>	100
Figura 8. Cópia da ilustração original de <i>Phyllachora peribebuyensis</i> por Spegazzini em 1879 (Arambarri et al. 2017).	101
Figura 9. <i>Ophiodotella</i> sp. 1 (UB Col. Micol. 23468) em folhas de <i>Myrcia tomentosa</i>	116
Figura 10. <i>Ophiodotella</i> sp. 2 (UB Col. Micol. 23588) em folhas de <i>Campomanesia adamantium</i>	118
Figura 11. <i>Telimena salaciae</i> (UB Col. Micol. 23815) em folhas de <i>Salacia crassifolia</i>	129
Figura 12. <i>Telimena</i> sp. 1 (UB Col. Micol. 23680) em folhas de <i>Serjania</i> sp.	131
Figura 13. <i>Catacauma serjaniae</i> (Herbário IAC Fungarium Ahmés Pinto Viégas 5524) em folhas de <i>Serjania</i> sp.	132
Figura 14. <i>Phyllachora cerradensis</i> (UB Col. Micol. 23818) em folhas de <i>Myrcia torta</i>	138

Figura 15. <i>Phyllachora maprouneae</i> (UB Col. Micol. 23708) em folhas de <i>Maprounea guianensis</i>	140
Figura 16. <i>Phyllachora oxyspora</i> (UB Col. Micol. 23607) em folhas de <i>Imperata brasiliensis</i>	144
Figura 17. <i>Phyllachora pouteriae</i> (UB Col. Micol. 21765) em folhas de <i>Pouteria ramiflora</i>	147
Figura 18. Ilustração original de <i>Phyllachora pouteriae</i> por G.E.P. Peres	148
Figura 19. <i>Phyllachora puncta</i> (UB Col. Micol. 23464) em folhas de <i>Dalbergia miscolobium</i>	157
Figura 20. <i>Phyllachora qualeae</i> (UB Col. Micol. 23376) em folhas de <i>Qualea parviflor.</i> ..	161
Figura 21. <i>Phyllachora roupalina</i> (UB Col. Micol. 23375) em folhas de <i>Roupala montana</i>	166
Figura 22. <i>Catacauma rhopalinum</i> (Herbário IACM Fungarium Ahmés Pinto Viégas 1537) em folhas de <i>Roupala</i> sp.....	167
Figura 23. <i>Phyllachora</i> sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23602) em folhas de <i>Protium heptaphyllum</i>	170
Figura 24. Cópia da ilustração original de <i>Phyllachora brasiliensis</i> por Spegazzini em 1881.	171
Figura 25. <i>Phyllachora</i> sp. nov. 2 (UB Col. Micol. 23500) em folhas de <i>Aspidosperma tomentosum</i>	175
Figura 26. Ilustrações originais de <i>Phyllachora quebrachii</i> (A) e <i>P. trivialis</i> (B) por Spegazzini.....	176

Capítulo II

Figure 1. Distribution of <i>Apiosphaeria guaranitica</i> specimens from the Cerrado.....	222
---	-----

Figure 2. Phylogram of 50 % majority-rule consensus tree from Bayesian inference of combined <i>18S</i> , <i>28S</i> , and <i>RPB2</i> sequences representative of Sordariomycetes	223
Figure 3. Phylogram of 50 % majority-rule consensus tree from Bayesian inference of combined <i>28S</i> , <i>ITS</i> , <i>RPB2</i> , and <i>TEF1</i> sequences representative of Diaporthales.	224
Figure 4. Phylogram of 50% majority-rule consensus tree from Bayesian inference of combined <i>28S</i> and <i>ITS</i> sequences representative of Diaporthaceae.	225
Figure 5. Maximum clade credibility tree of Diaporthales	226
Figure 6. Macroscopic and microscopic features of <i>Apiosphaeria guaranitica</i>	227

Capítulo III

Figure 1. The 50% rule-consense tree of Diaporthales from <i>28S</i> , <i>RPB2</i> and <i>TEF1-α</i>	268
Figure 2. <i>Phaeochorella parinarii</i> on leaves of <i>Parinari obtusifolia</i>	269

SUMÁRIO

Resumo geral	4
General abstract	6
Introdução geral	8
Objetivos.....	13
Objetivo Geral	13
Objetivos específicos	13
Revisão de Literatura.....	14
A ordem Phyllachorales.....	14
Polifiletismo em Phyllachoraceae	24
A família Phyllachoraceae e seus principais gêneros	27
Literatura citada	29
Capítulo I. Taxonomia e filogenia de fungos filacoroides do Cerrado.....	39
Resumo	40
Abstract.....	42
Introdução.....	44
Material e Métodos.....	47
Análises morfológicas	47
Extração de ADN, amplificação e sequenciamento	48
Amostragem taxonômica e alinhamento de sequências nucleotídicas	51
Análises filogenéticas	52

Resultados e discussão	63
Análise filogenética exploratória de Phyllachorales em plantas do Cerrado	63
Phyllachorales em plantas do Cerrado.....	68
O gênero <i>Camarotella</i> Theiss. & Syd.	75
<i>Camarotella acrocomiae</i> (Mont.) K.D. Hyde & P.F. Cannon	82
<i>Camarotella</i> sp. nov. 1	85
O gênero <i>Coccodiella</i> Hara	89
<i>Coccodiella peribebuyensis</i> (Speg.) Hino & Katumoto	97
O gênero <i>Ophiodothella</i> (Henn.) Höhn.	102
<i>Ophiodothella</i> sp. nov. 1	114
<i>Ophiodothella</i> sp. nov. 2	117
O gênero <i>Telimena</i> Racib.	119
<i>Telimena salaciae</i> (Henn.) Guterres, Galvão–Elias, Santos e Dianese comb. nov. nom. prov.	124
<i>Telimena</i> sp. nov. 1	130
Espécies de Phyllachorales <i>incertae sedis</i>	134
<i>Phyllachora cerradensis</i> Santos, R.B. Medeiros & Dianese.....	136
<i>Phyllachora maprouneae</i> Henn.....	139
<i>Phyllachora oxyspora</i> Starbäck.....	142
<i>Phyllachora pouteriae</i> Bat. & Perez.....	145
<i>Phyllachora puncta</i> (Cooke) Cooke	150
<i>Phyllachora qualeae</i> (Viégas) Bat. & Peres.....	158
<i>Phyllachora roupalina</i> (Mont.) Sacc.....	163

<i>Phyllachora</i> sp. nov. 1	168
<i>Phyllachora</i> sp. nov. 2	172
Literatura citada	179
Capítulo II. Taxonomy, phylogeny, and divergence time estimation for <i>Apiosphaeria guaranítica</i> , a neotropical parasite on bignoniaceous hosts	191
Abstract.....	203
Introduction	204
Materials and Methods	207
Results	220
Taxonomy.....	229
Discussion.....	233
Literature Cited.....	241
Capítulo III. Phaeochorellaceae: a new family of Diaporthales	254
Abstract.....	256
Introduction	257
Material and Methods.....	260
Results	266
Taxonomy.....	270
Discussion.....	273
Literature Cited.....	275
Conclusões Gerais	277

RESUMO GERAL

GUTERRES, Debora Cervieri. **Taxonomia e filogenia molecular de fungos filacoroides do Cerrado**. 2018. 287 pp. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

A ordem Phyllachorales M.E. Barr (Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Sordariomycetidae) compreende fungos biotróficos crescendo sobre folhas e ramos, ocorrendo principalmente em regiões tropicais e subtropicais, em associação com diversas famílias botânicas. Atualmente, Phyllachorales é composta pelas famílias Phaeochoraceae, Telimenaceae e Phyllachoraceae, esta última com 51 gêneros e 1246 nomes de espécies aceitos, dos quais 942 pertencem ao gênero *Phyllachora*. Inventários da microbiota do Cerrado apontam a ordem Phyllachorales como terceiro grupo mais frequente entre os fungos biotróficos presentes nesse Bioma. Estudos filogenéticos utilizando marcadores moleculares demonstraram o polifiletismo de Phyllachoraceae e de *Phyllachora*, porém, pouco se conhece sobre as relações filogenéticas dos filacoroides encontrados no Cerrado com os demais Phyllachorales, bem como com os Sordariomycetes de maneira geral. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar as relações filogenéticas dos fungos filacoroides com base nos marcadores moleculares nucleares *nrITS* (Espaçador Interno Transcrito), *nrSSU* (Subunidade menor do ribossomo = 18S) e *nrLSU* (subunidade maior do ribossomo = 28S) do DNA ribossomal, e dos genes codificadores de proteínas *RPB2* (segunda subunidade maior da RNA Polimerase II dependente de DNA) e *TEF1- α* (Fator de Extensão da Tradução 1- α). O presente estudo foi organizado em três capítulos: O Capítulo I contém uma análise exploratória incluindo 17 morfo-espécies de fungos filacoroides com representantes dos gêneros *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phaeochorella* e *Phyllachora*, juntamente com outros espécimes representativos de

Sordariomycetes. As análises revelaram que os filacoroides do Cerrado constituem um grupamento polifilético distribuído em duas ordens dentro dos Sordariomycetes: Diaporthales e Phyllachorales. Espécimes pertencentes aos gêneros *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phyllachora* e *Telimena* foram filogeneticamente alocados em Phyllachorales. Já os gêneros *Apiosphaeria* e *Phaeochorella*, representados pelas espécies, *A. guaranitica* e *P. parinari* foram alocados em Diaporthales com alto suporte filogenético. No Capítulo II, confirmou-se, pela primeira vez com base em evidências moleculares, a relação entre as formas sexuada e assexuada de *A. guaranitica*, o agente da crosta marrom em membros da família Bignoniaceae. Adicionalmente, investigou-se a relação filogenética de *A. guaranitica* com os demais membros de Diaporthales e estimou-se o tempo de divergência dos membros de Diaporthales, utilizando-se dados moleculares e a idade estimada para o fóssil *Spataporthe taylorii*. No Capítulo III, *Phaeochorella parinari* é alocada em Diaporthales, posicionando-se, isoladamente e com alto suporte, como um táxon irmão de *Phaeoappendicospora thailandensis*, desse modo permitindo propor-se uma nova família, que seria designada Phaeochorellaceae, para acomodar ambos os gêneros.

Palavras-chave: Ascomycetes; Análise multilocus; *Apiosphaeria*, Diaporthales; *nrITS*; *nrLSU*; *nrSSU*; *Phyllachora*; Phyllachorales; *RPB2*; *TEF1- α* .

GENERAL ABSTRACT

GUTERRES, Debora Cervieri. **Taxonomy and molecular phylogeny of phyllachoroid fungi from Cerrado**. 2018. 287 pp. Thesis (Doctorate in Plant Pathology) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil.

Phyllachorales M.E. Barr (Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Sordariomycetidae) comprise biotrophic fungi that are leaf parasites of broad spectrum, occurring on tropical and sub-tropical regions. The families Phaeochoraceae, Telimenaceae e Phyllachoraceae are currently recognized within the Phyllachorales, the latter with 51 genera and 1246 accepted species names accepted, with 942 of them belonging to the genus *Phyllachora*. Phylogenetic studies using molecular markers have shown that Phyllachoraceae and *Phyllachora* are polyphyletic. Mycological inventories of the Brazilian Cerrado indicated Phyllachorales as the third most frequently group of fungi associated with hosts of a wide range of botanical families in this Biome. However, the phylogenetic relationships within Phyllachorales and Sordariomycetes are yet elusive due to the overall lack of molecular data from the Cerrado. Therefore, the present study aimed investigate the phylogenetic relationships of phyllachoroid fungi based upon partial sequences of the *nrITS* (nuclear ribosomal internal transcribed spacer), *nrSSU* (nuclear ribosomal small subunit) and *nrLSU* (nuclear ribosomal large subunit), and also sequence information of the nuclear protein-coding genes *RPB2* (the second largest subunit of RNA polymerase II) and *TEF1- α* (the elongation factor 1- α). Additionally, based on morphological and molecular data of phyllachoroid, specimens from Cerrado were taxonomically revisited. This work was organized in three chapters: Chapter I contains the phylogenetic analyses of 17 morphospecies of phyllachoroid fungi encompassing the genera *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phaeochorella*, and *Phyllachora*, together with other representative taxa of the

Sordariomycetes. The results, for the first time, revealed that the phyllachoroid from Cerrado is a polyphyletic group, organized into two orders of Sordariomycetes: Diaporthales and Phyllachorales. Specimens belonging to *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phyllachora*, and *Telimena* were phylogenetically placed in Phyllachorales. On the other hand, *Apiosphaeria* and *Phaeochorella*, represented by *A. guaranitica* and *P. parinarii* were allocated in Diaporthales with high phylogenetic support. In Chapter II, the relationship between the sexual and the asexual morphs of *A. guaranitica*, the agent of brown crust disease of several members of the Bignoniaceae, was confirmed for the first time based on molecular evidence. Additionally, the phylogenetic relationship of *A. guaranitica* within Diaporthales was investigated, and the divergence time among the representative members of the order was estimated based on molecular data and fossil evidence, based on *Spataporthe taylorii*. In Chapter III, *Phaeochorella parinarii* was isolated and showing strong phylogenetic support allocated in Diaporthales as a sister taxon of *Phaeoappendicospora thailandensis*, allowing for the proposition of a new family (Phaeochorellaceae) to accommodate both taxa.

Key words:

Ascomycetes; Análise multilocus; *Apiosphaeria*, Diaporthales; *nrITS*; *nrLSU*; *nrSSU*; *Phyllachora*; Phyllachorales; *RPB2*; *TEF1- α* .

INTRODUÇÃO GERAL

A filogenia consiste no estudo das relações evolutivas entre grupos de organismos a partir de dados moleculares e/ou morfológicos (Amorim 2002) e, historicamente, em Micologia, essas relações têm sido inferidas com base na comparação de características morfológicas, citológicas, composição da parede celular, ultraestrutura e, quando possível, em registros fósseis (Kirk et al. 2008). No entanto, a partir de 1970, iniciou-se o uso de ferramentas moleculares em estudos taxonômicos de fungos, possibilitando grandes avanços no conhecimento sobre as relações de parentesco dentro do reino Fungi, resultando em frequentes modificações na classificação desses organismos (Liu & Hall 2004; Miadlikowska et al. 2006; Schoch et al. 2006b; Spatafora et al. 2006; Zhang et al. 2006; Kirk et al. 2008; Hyde et al. 2014).

Embora os maiores filos, Basidiomycota e Ascomycota, tenham forte suporte como clados monofiléticos nos estudos de filogenia molecular dentro do reino Fungi, bem como dentro da maioria de suas classes, o mesmo não acontece em níveis inferiores, como ordens e famílias, as quais têm sofrido atualizações taxonômicas resultado em classificação mais natural desses organismos (Hyde et al. 2014). O aprimoramento das técnicas de extração de DNA, inclusive a partir de material herborizado, mantido em coleções de referência, permitiu que taxa não cultiváveis pudessem ser incluídos nas análises filogenéticas, ampliando, dessa forma, a possibilidade de estudos a partir dos espécimes tipos (Kirk et al. 2008).

A definição de caracteres sinapomorfos está estreitamente relacionada ao uso e análise de um grande número de dados (Amorim 2002). Um número expressivo de dados pode ser obtido via análises moleculares. Por este motivo, marcadores moleculares e informação de sequências gênicas têm sido utilizados de forma crescente em estudos filogenéticos de fungos (Liu et al. 1999; Liu & Hall 2004; Zhang et al 2006; Kirk et al 2008; Schoch et al. 2009), acoplados a dados morfológicos confiáveis. No entanto, uso de dados moleculares

demonstrou que muitos caracteres morfológicos utilizados na classificação tradicional do filo Ascomycota surgiram em diversas ocasiões, provavelmente em resposta a pressões evolutivas comuns e, portanto, não são evidências de ancestralidade comum (Zhang et al. 2006; Schoch et al. 2009). Como resultado, algumas morfo-espécies se apresentam como agregados de táxons com propriedades metabólicas, ecológicas ou patogênicas distintas, e o nível hierárquico taxonômico no qual deveriam ser inseridas torna-se motivo de debate entre autores.

A ontogenia do ascoma e características das estruturas ascas e do desenvolvimento do *centrum* são amplamente utilizados na classificação dos ascomicetos e, em combinação com uma filogenia baseada em dados moleculares bem resolvida, permitem identificar características emergentes em ramos particulares de uma árvore filogenética e então estabelecer quais características são ancestrais e quais são derivadas (Liu & Hall 2004). Um benefício adicional da filogenia molecular é a possibilidade de confirmar as relações entre a forma sexuada e a forma assexuada de um mesmo organismo para, dessa forma, integrar efetivamente os táxons nos sistemas de classificação e contribuir para a adoção de um nome único para cada espécie fúngica (Kirk et al. 2008; Taylor 2011). A adoção obrigatória de um único nome para cada uma das espécies de fungos (*one fungus = one name*), foi aprovada pelo Congresso Internacional de Botânica de 2011 em Melbourne, proposto por Hawksworth et al. (2009). Com isso suprimiu-se o artigo 59 mantido no Código Internacional de Nomenclatura Botânica de 2006 – Código de Viena (McNeill et al. 2006) cujo título também foi alterado para Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Fungos e Plantas – Código de Melbourne (McNeill et al. 2012). Ainda, aprovou-se a aceitação do Inglês como uma alternativa ao Latim para a elaboração de diagnósticos; permissão para publicação eletrônica de nomes; depósito obrigatório de informações nomenclaturais importantes em um repositório credenciado para que a publicação de nomes de fungos seja válida; a interrupção da nomenclatura dupla para fungos pleomórficos (supressão do Art. 59); e esclarecimentos sobre

a tipificação dos nomes sancionados, e aceitação de nomes originalmente publicados com base no código de nomenclatura zoológica (Hawksworth 2011). Um conjunto de regiões genômicas é usado nos estudos filogenéticos de fungos, dentre as quais se destacam os genes ribossomais nucleares e mitocondriais, ou “rDNAs”, uma família de regiões gênicas presente em múltiplas cópias no genoma de fungos e que compreende regiões de DNA com altas taxas evolutivas, flanqueadas por regiões altamente conservadas (Aguileta 2008; Schmitt et al. 2009; Schoch et al. 2009). As regiões *nrSSU* (subunidade menor do ribossomo = 18S), *nrLSU* (subunidade maior do ribossomo = 28S) e *nrITS* (Espaçador Interno Transcrito, que compreende também o gene 5.8S flanqueado pelas regiões *ITS1* e *ITS2*) do rDNA são as mais comumente utilizadas devido à facilidade de amplificação em virtude da existência de múltiplas cópias no genoma, e à disponibilidade de um grande número de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) universais. A maioria dos estudos de taxonomia filogenética de ranks acima de espécie utiliza os primeiros 1100 pares de bases da extremidade 5' do *nrLSU*, que contém três domínios variáveis, D1, D2 e D3 (Vilgalys & Hester 1990; White et al. 1990). Sequências de DNA referentes à região *nrSSU* estão disponíveis em grande número nos bancos de dados públicos e essa região foi considerada a mais adequada para resolver filogenias nos níveis hierárquicos mais elevados, como ordem e classe (Yarza et al. 2017).

A região *nrITS* compreende o gene 5.8S flanqueado pelas sequências intergênicas *ITS1* e *ITS2* (Vilgalys & Hester 1990; White et al. 1990) e considerada a mais promissora para estabelecimento de um *barcode* (= código de barras) para fungos, isto é, a identificação ao nível de espécie com base em uma ou poucas sequências de DNA (Tanabe & Toju 2013). Genes nucleares como *β -tubulina*, *γ -actina*, *ATP sintase* e *RPB2* são cada vez mais utilizados nos estudos filogenéticos de Ascomycota combinando-se múltiplos genes não ligados (Landvik et al. 2001). Fragmentos de genes nucleares que codificam proteínas envolvidas na replicação, transcrição e tradução tem aplicação nos estudos filogenéticos por não terem sofrido transferência horizontal em eucariotos (Liu & Hall 2004). Dentre esses, tem uso

amplo os genes que codificam para as subunidades das RNA polimerases dependentes de DNA I, II e III, as quais têm coexistido desde o primeiro ancestral eucariótico e apresentam uma taxa evolutiva relativamente baixa (Liu et al. 1999; Liu & Hall 2004).

RPB1 (Subunidade Maior da RNA Polimerase II dependente de DNA), *RPB2* (Segunda Maior Subunidade da RNA Polimerase II dependente de DNA) e *TEF1- α* (Fator de Extensão da Tradução 1- α), foram considerados filogeneticamente mais informativos em relação aos marcadores ribossômicos (Schoch et al. 2009), destacando-se o gene *RPB2*, parcialmente devido ao seu tamanho (cerca de 1400 pares de base), embora o gene *RPB1* contenha mais informação por sítio (relação entre “net informativeness” e tamanho do gene). *RPB2* é a enzima que transcreve o pré-mRNA. Suas duas maiores subunidades têm se mostrado úteis em estudos evolucionários de vários organismos eucarióticos (Liu et al. 1999; Liu & Hall 2004).

O gene *RPB2* contém 12 motivos conservados localizados entre regiões altamente variáveis. Uma cópia paróloga foi descoberta em ascomycetos, mas acredita-se que o evento de duplicação tenha ocorrido depois da divergência dos Sordariomycetes (Liu et al. 1999, Liu & Hall 2004). Embora o *TEF1- α* seja considerado inadequado para resolver filogenias em níveis mais elevados em fungos, como ordens (Tanabe et al. 2004), foi apontado como altamente promissor para uso como *barcode* para identificação de espécies em virtude da sua variação infra- e interespecífica (Stielow et al. 2015). A disponibilidade da informação derivada desse gene permite a reconstrução filogenética incluindo diversos marcadores ribossomais nucleares em combinação com diversos genes codificadores de proteínas. Esta combinação permite selecionar marcadores que possibilitam análises mais robustas diminuindo o nível de homoplasia (Schoch et al. 2009; Tanabe & Toju 2013)

A incorporação de evidências moleculares nos estudos filogenéticos de Sordariomycetes, aliada às informações morfológicas e ecológicas sobre os Phyllachorales provocaram a reorganização das famílias e gêneros tradicionalmente reconhecidos como

pertencentes a essa ordem (Mardones et al. 2017). Assim, Kirk et al. (2008) reconhecem duas famílias: Phaeochoraceae K.D. Hyde, P.F. Cannon & M.E. Barr, com quatro gêneros e Phyllachoraceae, com 49 gêneros. Lumbsh & Hundorf (2010), por sua vez, apresentam uma lista de 50 gêneros em Phyllachoraceae e quatro em Phaeochoraceae. Mardones et al. (2017) realizaram o primeiro estudo filogenético abrangente da ordem com base em evidências moleculares utilizando sequências parciais das regiões *nrSSU*, *nrLSU*, *nrITS*, *RPB2* e *TEF1-a*, que resultou na criação de uma nova família a partir da recombinação de diversas espécies de *Phyllachora* em *Telimena*.. Contudo, não existem sequências depositadas para a vasta maioria das espécies de Phyllachorales. No GenBank estão disponíveis 556 sequências nucleotídicas de Phyllachorales, porém poucos gêneros são representados. Dos 942 nomes de espécies válidos reconhecidos em *Phyllachora*, apenas 20 têm pelo menos uma sequência depositada na base de dados, em grande parte devido às recentes contribuições de Santos et al. (2016) e Mardones et al. (2017). Os outros gêneros melhor representados são *Polystigma* (35 acessos) e *Coccodiella* (12 acessos). Em grande parte, os organismos não estão identificados ao nível de espécie, evidenciando-se dessa forma, a necessidade de ampliação do número de taxa amostrados para permitir uma revisão taxonômica detalhada do grupo.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Investigar as relações filogenéticas dos fungos filacoroides com base nos marcadores moleculares *nrITS*, *nrSSU* e *nrLSU* do DNA ribossomal, e dos genes nucleares codificadores de proteínas *RPB2* e *TEF1- α* e contribuir com o conhecimento das espécies de Phyllachorales associadas a plantas do Cerrado.

Objetivos específicos

- Produzir dados moleculares para espécies de fungos filacoroides do Cerrado;
- Identificar e posicionar filogeneticamente os espécimes de fungos filacoroides do Cerrado;
- Com base nos dados moleculares revisar taxonomicamente as espécies de fungos filacoroides do Cerrado;
- Incluir os resultados do sequenciamento de DNA em acervos de dados moleculares de acesso público.

REVISÃO DE LITERATURA

A ordem Phyllachorales

Phyllachorales M.E. Barr (Sordariomycetes) inclui fungos biotróficos, em sua maioria foliares (Barr 1983; Mardones et al. 2017). Embora de distribuição mundial, o maior número de espécies ocorre em regiões tropicais (Cannon & Kirk 2007; Piepenbring 2015). Kirk et al. (2008) reconheceram 1226 espécies pertencentes à ordem, enquanto Cannon (1997) estimou que pelo menos 160.000 ocorram mundialmente. Estes são fungos morfologicamente caracterizados por pseudostroma preto (exceto em espécies de *Polystigma*, cujo pseudostroma tem coloração marrom-amarelada e *Apiosphaeria* com pseudostroma marrom-dourado) desenvolvendo-se no tecido hospedeiro, frequentemente sob um clípeo, com peritécios melanizados, eruptivos ou imersos no pseudoestroma. O hamatécio consiste de paráfises de parede finas, frequentemente deliquescentes; já os ascos são sempre unitunicados, cilíndricos a clavados, com anel apical algumas vezes evidente, porém em geral inconspícuo e não amiloide. Na maioria das espécies os ascósporos variam de globosos a filiformes, hialinos e unicelulares, com apenas alguns gêneros contendo espécies com ascósporos septados e marrons (Parbery 1967; Cannon 1991, 1997; Silva-Hanlin et al. 1998; Piepenbring 2015). A relação entre a forma sexuada e assexuada foi estabelecida para algumas espécies de *Phyllachora* (Parbery & Langdon 1963).

Além dos caracteres morfológicos supracitados, a classificação dos membros de Phyllachorales inclui outros caracteres, tais quais: extensão e aspecto das áreas infectadas (“manchas de piche” no caso de espécies de *Phyllachora*), forma dos apressórios oriundos da germinação dos ascósporos, forma assexuada, inserção e posição do ascoma no tecido foliar, presença ou ausência de paráfises, morfologia dos ascos e dos ascósporos (Cannon 1991). Devido ao modo de nutrição biotrófico assume-se *a priori* alta especificidade em relação às

plantas hospedeiras. Assim, é acatado frequentemente o *conceito ecológico de espécie* para delimitação de espécies de Phyllachorales, baseando-se, parcialmente, no posicionamento filogenético da planta hospedeira. Dessa forma, novas espécies foram descritas e aceitas historicamente com base nos registros em hospedeiras de diferentes gêneros. Contudo, o exame de espécies de Phyllachorales em espécies de Poaceae e Fabaceae demonstrou que os muitas espécies tropicais não se restringem a um único gênero de planta hospedeira, mas podem ocorrer em membros de gêneros relacionados (Parbery 1978; Cannon 1991, 1997). A delimitação de espécies baseada principalmente na identificação da hospedeira pode levar à inflação nomenclatural (Cannon 1997).

A taxonomia da família Phyllachoraceae (Theiss. & P. Syd.) historicamente resulta em opiniões conflitantes de micologistas, sobretudo no que concerne aos caracteres morfológicos delimitadores dos taxa, como presença ou ausência e forma do tecido estromático, aparência do ascoma, ascos e ascósporos (Cannon 1988; Cannon 1991; Wanderlei-Silva et al. 2003). A delimitação inadequada de caracteres morfológicos resultou em esquemas artificiais, evidenciados pelos estudos recentes combinando morfologia e técnicas moleculares (Habibi et al. 2015; Santos et al. 2016; Mardones et al. 2017).

A primeira referência à família Phyllachoraceae aparece no estudo de Theissen & Sydow (1915), intitulado *Die Dothideales*, no qual os gêneros da família eram caracterizados pela localização do pseudoestroma: "*se abaixo da cutícula ou epiderme, se permanentemente coberto por clípeo cuticular ou epidérmico, ou formado por tecido prosenquimático, se dotideoide com hifas irregulares, lóculos inseridos no estroma ou no tecido foliar, com ostíolo fundido ao clípeo ou não*". A profundidade em que o pseudoestroma se insere no tecido da planta hospedeira foi utilizada por Theissen & Sydow (1915), como critério para separação em três subfamílias: (i) Trubutiineae, com estroma entre a cutícula e a epiderme, contendo 11 gêneros; (ii) Scirrhineae, com estroma entre a epiderme e camada paliçádica, com 17 gêneros divididos nas tribos Catacaumineae (dez gêneros) e Eu-Scirrhineae (sete

gêneros) e (iii) Phyllachoriineae, com estroma imerso no mesófilo, com 14 gêneros. Com o decorrer dos anos esse conceito evoluiu, conforme mostra a Tabela 1.

O posicionamento de Phyllachoraceae na ordem Dothideales por Theissen & Sydow (1915) se deu, provavelmente, em função de similaridades superficiais do estroma e ascoma presentes em certos gêneros dessas ordens. É o caso de *Physalospora* (na época pertencente a Phyllachoraceae, atualmente Hyponectriaceae), *Botryosphaeria* e *Glomerella* (com espécies não estromáticas) (Cannon 1991). Dothideales caracterizava-se por ascoma produzido em lóculos sem paredes verdadeiras e ascos bitunicados. Posteriormente, foi demonstrada a existência de parede peritecial verdadeira (de textura pseudoparenquimática) nos membros da família Phyllachoraceae, diferindo também pelos seus ascos unitunicados (Orton 1924; Petrak 1924; Seaver 1928; Luttrell 1951, 1973; Miller 1951, 1954; Arx & Müller 1973).

Estudos conduzidos na década de 1920 com preparações histológicas de *Phyllachora* e outros gêneros próximos em relação aos aspectos do estroma e da parede ascomática, também evidenciaram diferenças significativas com outros membros de Dothideales (Petrak 1924; Cannon 1988; Cannon 1991). Foi nesse período que *Polystigma* passa a ser considerado um gênero próximo de *Phyllachora*, por diferir desta apenas pela coloração clara e brilhante do estroma, embora seja esta também uma característica típica de membros da família Hypocreaceae/Dothideales (Petrak 1924; Cannon 1988; Cannon 1991).

Tabela 1. Composição da família Phyllachoraceae: lista de gêneros incluídos entre os anos de 1915 e 2017.

Theissen e Sydow 1915	Lumbsch e Huhndorf 2010	Maharachchikumbura et al 2015 2016		IndexFungorum 2017
Subfam. Trabutineae	<i>Apiosphaeria</i>	<i>Acervicypeatus</i>	<i>Acervicypeatus</i>	<i>Acervicypeatus</i>
<i>Camarotella</i>	<i>Brobdingnagia</i>	<i>Apiosphaeria</i>	<i>Apiosphaeria</i>	<i>Apiosphaeria</i>
<i>Cocchochora</i>	<i>Coccodiella</i>	<i>Ascovaginospora</i>	<i>Ascovaginospora</i>	<i>Bagnisiopsis</i>
<i>Dermatodohis</i>	<i>Deshpandiella</i>	<i>Brobdingnagia</i>	<i>Brobdingnagia</i>	<i>Brobdingnagia</i>
<i>Euryachora</i>	<i>Diachora</i>	<i>Camarotella</i>	<i>Camarotella</i>	<i>Coccodiella</i>
<i>Munkiodothis</i>	<i>Diatractium</i>	<i>Coccodiella</i>	<i>Coccodiella</i>	<i>Cyclodomus</i>
<i>Omphalospora</i>	<i>Erikssonia</i>	<i>Cyclodomus</i>	<i>Cyclodomus</i>	<i>Deshpandiella</i>
<i>Phaeotrabutiiella</i>	<i>Fremiomyces</i>	<i>Deshpandiella</i>	<i>Deshpandiella</i>	<i>Diachora</i>
<i>Rehmiidothis</i>	? <i>Geminispora</i>	<i>Diachora</i>	<i>Diachora (= Diachorella)</i>	<i>Diachorella</i>
<i>Thyriopsis</i>	<i>Gibellina</i>	<i>Diatractium</i>	<i>Diatractium</i>	<i>Diatractium</i>
<i>Trabutia</i>	<i>Imazekia</i>	<i>Erikssonia</i>	<i>Erikssonia</i>	<i>Erikssonia</i>
<i>Trabutiella</i>	<i>Isothea</i>	<i>Fremiomyces</i>	<i>Fremiomyces</i>	<i>Fremiomyces</i>
	<i>Lichenochora</i>	<i>Geminispora</i>	<i>Geminispora</i>	<i>Geminispora</i>
	<i>Lindauella</i>	<i>Gibellina</i>	<i>Gibellina</i>	<i>Gibellina</i>
	? <i>Lohwagia</i>	<i>Imazekia</i>	<i>Imazekia</i>	<i>Imazekia</i>
	<i>Maculatifrons</i>	<i>Isothea</i>	<i>Isothea</i>	<i>Isothea</i>
Subfam. Scirrhineae	<i>Malthomyces</i>	<i>Lichenochora</i>	<i>Lichenochora</i>	<i>Lichenochora</i>
tribo Catacaumineae	<i>Marinosphaera</i>	<i>Lindauella</i>	<i>Lindauella</i>	<i>Lindauella</i>
<i>Anisochora</i>	<i>Muelleromyces</i>	<i>Linochora</i>	<i>Linochora</i>	<i>Linochora</i>
<i>Catacauma</i>	<i>Neoflageoletia</i>	<i>Lohwagia</i>	<i>Lohwagia</i>	<i>Lohwagia</i>
<i>Catacaumella</i>	<i>Ophiodothella</i>	<i>Maculatifrones</i>	<i>Maculatifrones</i>	<i>Maculatifrones</i>
<i>Phaeochora</i>	<i>Orphnodactylis</i>	<i>Malthomyces</i>	<i>Malthomyces</i>	<i>Malthomyces</i>
<i>Phaeochorella</i>	<i>Oxodeora</i>	<i>Muelleromyces</i>	<i>Muelleromyces</i>	<i>Marinosphaera</i>
<i>Phaeodothiopsis</i>	<i>Parberya</i>	<i>Mycohypallage</i>	<i>Mycohypallage</i>	<i>Muelleromyces</i>
<i>Phragmocaula</i>	? <i>Petrakiella</i>	<i>Neoflageoletia</i>	<i>Neoflageoletia</i>	<i>Mycohypallage</i>
<i>Placostroma</i>	<i>Phaeochorella</i>	<i>Ophiodothella</i>	<i>Ophiodothella</i>	<i>Neoflageoletia</i>
<i>Schizochora</i>	<i>Phycomelaina</i>	<i>Orphnodactylis</i>	<i>Orphnodactylis</i>	<i>Ophiodothella</i>
<i>Scolecodothis</i>	<i>Phyllachora</i>	<i>Oswaldina</i>	<i>Oswaldina</i>	<i>Orphnodactylis</i>
	<i>Phylleutypa</i>	<i>Oxodeora</i>	<i>Oxodeora</i>	<i>Oswaldina</i>
	<i>Phyllocrea</i>	<i>Parberya</i>	<i>Parberya</i>	<i>Oxodeora</i>
	<i>Polystigma</i>	<i>Petrakiella</i>	<i>Petrakiella</i>	<i>Parberya</i>
Subfam. Scirrhineae	<i>Pseudothiella</i>	<i>Phaeochorella</i>	<i>Petrakiella</i>	<i>Phaeochorella</i>
tribo Eu-Scirrhineae	<i>Pterosporidium</i>	<i>Phycomelaina</i>	<i>Phaeochorella</i>	<i>Phycomelaina</i>
<i>Apiospora</i>	<i>Rehmiidothis</i>	<i>Phyllachora</i>	<i>Phycomelaina</i>	<i>Phyllachora</i>
<i>Exarmidium</i>	<i>Retroa</i>	<i>Phylleutypa</i>	<i>Phyllachora</i>	<i>Phylleutypa</i>
<i>Rhopographina</i>	<i>Rikatlia</i>	<i>Phyllocrea</i>	<i>Phylleutypa</i>	<i>Phyllocrea</i>
<i>Rhopographus</i>	<i>Schizochora</i>	<i>Polystigma</i>	<i>Phyllocrea</i>	<i>Polystigma</i>
<i>Scirrhia</i>	<i>Sphaerodothella</i>	<i>Pseudothiella</i>	<i>Polystigma (= Polystigmina)</i>	<i>Polystigmina</i>
<i>Scirrhodothis</i>	<i>Sphaerodothis</i>	<i>Pseudothiopsella</i>	<i>Pseudothiella</i>	<i>Pseudothiella</i>
<i>Scirrhophragma</i>	<i>Stigmochora</i>	<i>Pterosporidium</i>	<i>Pseudothiopsella</i>	<i>Pseudothiopsella</i>
	<i>Stromaster</i>	<i>Rehmiidothis</i>	<i>Pterosporidium</i>	<i>Pterosporidium</i>
	<i>Telimena</i>	<i>Retroa</i>	<i>Rehmiidothis</i>	<i>Rehmiidothis</i>
	<i>Telimenella</i>	<i>Rhodosticta</i>	<i>Retroa</i>	<i>Retroa</i>
Subfam. Phyllachorineae	<i>Telimenochora</i>	<i>Rikatlia</i>	<i>Rhodosticta</i>	<i>Rhodosticta</i>
<i>Clypeostroma</i>	<i>Trabutia</i>	<i>Schizochora</i>	<i>Rikatlia</i>	<i>Rikatlia</i>
<i>Coccochorella</i>	<i>Tribulatia</i>	<i>Sphaerodothella</i>	<i>Schizochora</i>	<i>Schizochora</i>
<i>Dictyochora</i>	<i>Uropolystigma</i>	<i>Sphaerodothis</i>	<i>Sphaerodothella</i>	<i>Sphaerodothella</i>
<i>Dictyochorella</i>	<i>Vitreostroma</i>	<i>Stigmatula</i>	<i>Sphaerodothis</i>	<i>Sphaerodothis</i>
<i>Endodothella</i>	<i>Zimmermanniella</i>	<i>Stigmochora</i>	<i>Stigmatula</i>	<i>Stigmatula</i>
<i>Homostegia</i>		<i>Stromaster</i>	<i>Stigmochora</i>	<i>Stigmochora</i>
<i>Oligostroma</i>		<i>Telimena</i>	<i>Stromaster</i>	<i>Stromaster</i>
<i>Ophiodothella</i>			<i>Telimena</i>	<i>Telimena</i>
<i>Phaeodothis</i>			<i>Telimenella</i>	<i>Telimenella</i>
<i>Phragmocarpella</i>			<i>Telimenochora</i>	<i>Telimenochora</i>
<i>Phyllachora</i>			<i>Trabutia</i>	<i>Uropolystigma</i>
<i>Phyllachorella</i>			<i>Tribulatia</i>	<i>Vitreostroma</i>
<i>Sphaerodothis</i>			<i>Uropolystigma</i>	<i>Zimmermanniella</i>
<i>Stigmochora</i>			<i>Vitreostroma</i>	
<i>Telimena</i>			<i>Zimmermanniella</i>	

Ponto de interrogação (?) antes do nome do gênero indica taxon de posição duvidosa.

No sistema de classificação utilizado na década de 1930, os eu-ascomicetos eram separados em função da ontogenia do ascoma, em que o tipo dito *ascolocular* compreendia aqueles que produzem ascos em lóculos, dentro de um estroma pré-formado (típico de Dothideales), ao contrário do tipo dito *ascohimental*, que compreendia os fungos que formam ascos em um himênio envolto por uma parede distinta, bem definida, como ocorre em Phyllachorales (Nannfeldt 1932). Já no final da década de 1940, a família Phyllachoraceae foi alocada na ordem Sphaeriales/Pyrenomycetes, que compreendia ascomicetos com ascomas periteciais, portanto com um perídio bem definido, abertos por ostíolo ou fenda, ascos formados em himênio e paráfises com ápices livres (Miller 1949).

Luttrell (1951, 1973) a partir da década de 1950 reconheceu a relação entre ontogenia (*sensu* Nannfeldt 1932) e tipo de ascos, ao estabelecer a associação entre desenvolvimento ascolocular e ascos bitunicados, e a ligação entre desenvolvimento ascohimental com ascos unitunicados. Esse critério foi adotado como fundamento das chaves de identificação dos Pyrenomycetes (Müller & Arx 1973), e Loculoascomycetes (Luttrell 1973), ambas contidas em Ainsworth et al. (1973), até o presente útil na identificação de ascomicetos. Ali *Phyllachora* e assemelhados foram incluídos na família Polystigmataceae/Sphaeriales.

Barr (1976) tratou Phyllachoraceae como sinônimo de Melogrammataceae em uma chave de classificação para membros de “Phyllachorales”, com quatro famílias: Melogrammataceae (= Phyllachoraceae), composta por formas parasitárias com ascos mostrando pequenos anéis apicais não amiloides e paráfises finas; Phacidiaceae, com formas apoteciais ou cleistoteciais; Physosporiaceae, que incluía formas saprobióticas e parasíticas, algumas com anel apical amiloide e paráfises largas e deliquescentes; e Porinaceae, com formas liquenizadas de talo crustoso.

A ordem Phyllachorales somente foi oficialmente estabelecida por Barr (1983), quando a autora propôs uma nova classificação dos ascomicetos com ênfase nas características do estroma e do *centrum* dos ascomas, acatando os oito tipos de *centrum*

estabelecidos por Luttrell (1951). Nesse estudo, formas parasíticas, hemibiotróficas e liquenizadas foram incluídas na família Phyllachoraceae, parte da ordem Phyllachorales, dentro da subclasse Edaphomycetidae (caracterizada por *centrum* com paráfises himeniais), próximo de Xylariales, uma vez que *Phyllachora*, *Ophiodothella* e *Catacauma*, gêneros então pertencentes a Phyllachoraceae, apresentam *centrum* tipo “*Xylaria*”, ou seja, na maturidade mostram ascoma peritecial e himênio com ascos cilíndricos e parafisados (Barr 1983).

Na década de 1990, similaridades com relação à estrutura do *centrum*, presença ou ausência e tipo de hamatécio e estrutura do perídio motivaram a redução de Phyllachorales a uma família dentro de Xylariales (Barr 1990). Uma hipótese alternativa considerava que Phyllachorales estaria mais proximamente relacionada à ordem Diaporthales, tendo em vista semelhanças no modo de nutrição, sugerindo-se então a combinação de ambas em uma única ordem (Cannon 1988). Todavia, a proposta não foi bem recebida em função das diferenças na estrutura do *centrum* característico de Diaporthales (tipo “*Diaporthe*”), ou seja, sem paráfises verdadeiras e textura pseudoparenquimática, conforme Luttrell (1951).

Alternativamente à classificação de ascomicetos com ênfase no *centrum*, na década de 1960 foi proposto um sistema com base em características do ápice dos ascos e textura do estroma (Chadefaud 1960) e neste esquema, a ordem Glomerellales, na qual *Phyllachora* e gêneros próximos foram alocados, caracterizava-se por fungos com engrossamento do ápice ascal e ausência de anéis pronunciados. Mais tarde, a ordem foi subdividida em “Eu-Glomerellales”, com espécies sem estroma (*Glomerella* Spauld & Schrenk), ou com pseudoestroma preto não carnoso como em *Phyllachora* e outros; e “Polystigmatales” ou “Glomerellales nectrioides”, abrigando apenas o gênero *Polystigma*, com estroma carnoso, de coloração vermelha a alaranjada, como em Hypocreales (=Nectriales). Todavia, posteriormente sugeriu-se que características do ápice ascal não representavam um bom delimitador em certos gêneros, como *Phyllachora*, devido à ampla variação existente e dificuldades de visualização em preparações histológicas (Swart 1982; Cannon 1991).

Em 1984, os grupos propostos por Chadeaud (1960) foram tentativamente elevados ao nível de ordem, com o estabelecimento de Polystigmatales e Glomerellales (Locquin 1984), porém utilizando como critério delimitador as características do estroma, e não do ápice ascal como originalmente proposto. Em Polystigmatales o estroma seria carnoso e a ordem se limitaria a apenas uma família, Polystigmataceae, com 26 gêneros, entre os quais estaria *Phyllachora*. Polystigmatales continha fungos parasitas de plantas, em sua maioria, com ascomas imersos no tecido da hospedeira, ou em um estroma; ascos com paredes delgadas, com ou sem estruturas apicais refrativas e ascósporos com poro germinativo (Hawksworth et al. 1983). Simultaneamente, a ordem Phyllachorales (Barr 1983) foi estabelecida contendo apenas a família Phyllachoraceae e caracterizada pela presença de ascoma peritecial ostiolado inserido em um estroma ou imerso no substrato, com perídio bem desenvolvido e paráfises.

Em 1990, 27 gêneros foram reconhecidos em Phyllachoraceae (Eriksson e Hawksworth 1990), dentre os quais se destacavam *Glomerella*, compreendendo a forma sexuada de *Colletotrichum* Corda, com importantes espécies fitopatogênicas, e *Phyllachora*, com espécies parasitas foliares, produzindo manchas pretas em grande número de hospedeiras pertencentes a várias famílias botânicas e de distribuição tropical e subtropical (Cannon 1988; Cannon 1991; Silva-Hanlin & Hanlin 1998).

A incorporação de evidências moleculares nos estudos filogenéticos de Sordariomycetes, aliada às informações morfológicas e ecológicas sobre os Phyllachorales provocou a reorganização das famílias e gêneros tradicionalmente reconhecidos como pertencentes a essa ordem. Kirk et al. (2008) reconhecem duas famílias: (i) Phaeochoraceae, com quatro gêneros e; (ii) Phyllachoraceae, com 49 gêneros. Lumbsh & Hundorf (2010), por sua vez, apresentam uma lista de 50 gêneros em Phyllachoraceae (Tabela 1) e quatro em Phaeochoraceae.

Mardones et al. (2017) realizaram o primeiro estudo filogenético abrangente da ordem com base em evidências moleculares e propuseram uma nova família, Telimenaceae Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr., para a qual transferiram diversas espécies de *Phyllachora* re combinadas em *Telimena*.

Dessa forma, segundo Mardones et al. (2017) a ordem Phyllachorales (Fungi, Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Sordariomycetidae) é composta pelas famílias (i) Phaeochoraceae, com quatro gêneros; (ii) Phyllachoraceae, com 49 gêneros e; (iii) Telimenaceae, contendo apenas o gênero *Telimena*, conceituadas a seguir:

(i) **Phaeochoraceae**— compreende fungos em sua maioria biotróficos, parasitas em plantas da família Arecaceae, aparentemente não específicos em termos de gêneros das hospedeiras; com muitas espécies crescendo saprobicamente após a morte do tecido hospedeiro (Hyde & Cannon 1999). Possuem estroma imerso, preto, uni- ou multiloculado, com ostíolos não perifisados. Os ascomas são periteciais, frequentemente fundindo-se e formando uma cavidade única com elementos colunares remanescentes dos perídios. Paráfises de paredes finas, evanescentes. Ascos em forma de saco ou fusiformes, com pedicelo longo, evanescentes. Ascósporos unicelulares, marrons, algumas vezes estriados, podendo apresentar apêndices. Forma assexuada picnidial, presumidamente com função espermial (Cannon & Kirk 2007; Kirk et al. 2008; Maharachchikumbura et al. 2015).

Atualmente, são reconhecidas 19 espécies, distribuídas nos gêneros *Cocoicola* (cinco espécies), *Phaeochora* (cinco espécies), *Phaeochoropsis* (quatro espécies) e *Serenomyces* (cinco espécies), todas associadas a Arecaceae (Hyde et al. 1997). A família foi sempre associada à ordem Phyllachorales com base na semelhança dos estromas (Hyde et al. 1997). No estudo de Mardones et al. (2017), espécies de *Serenomyces* e *Cocoicola* formaram um clado com bom suporte, evidenciando o monofiletismo da família. Contudo, não existem dados moleculares disponíveis para *Phaeochora*, que é o gênero tipo.

(ii) **Phyllachoraceae**– Caracteriza-se por pseudostroma geralmente bem desenvolvido, imerso no tecido da planta hospedeira ou eruptivo, liso, geralmente clipeado, em geral de cor preta, raramente marrom-escura, que pode conter um ou vários ascomas. Ascomas periteciais, normalmente de parede fina, com ostíolos caracteristicamente perfisados; perídio composto de tecido de paredes finas, compactado, hialino ou marrom. Hamatécio formado por paráfises finas, às vezes deliquescentes. Ascos cilíndricos, de paredes finas, persistentes, em geral com um anel ou poro apical inconspícuo, raramente bem visível, não amiloide. Ascósporos frequentemente hialinos e unicelulares, raramente ornamentados, frequentemente circundados por bainha mucilaginosa, globosos, elipsoides, clavados, oblavados a subcilíndricos. Forma assexuada coelomicética, com conidiomas frequentemente estromático-acervulares, achatados ou comprimidos pelo ascoma adjacente, com paredes não diferenciadas, ou picnidiais, formados em lóculos no pseudoestroma; células conidiogênicas cilíndricas, fialídicas ou poliblasticas, agrupadas, formadas em conidióforos curtos; conídios variáveis quanto à forma; geralmente filiformes, finos, recurvados ou baciliformes, quando de função aparentemente espermial, ou elípticos indicando função vegetativa. (Medeiros 1994; Cannon & Kirk 2007; Kirk et al. 2008; Mardones et al. 2017).

Phyllachoraceae tida atualmente como a maior família, possui 51 gêneros (Maharachchikumbura et al. 2015).

Poucas espécies têm reconhecida importância econômica como fitopatógenos. Algumas espécies de *Phyllachora* em poáceas podem causar perda de produtividade, desde que associadas a outras espécies de fungos, incluindo micoparasitas ou colonizadores secundários (Cannon & Kirk 2007). *Phyllachora maydis* Maubl. é uma exceção, sendo responsável pela “mancha de piche” (*tar spot*) do milho, com alta severidade nos Estados Unidos (Ruhl et al. 2016). Piepenbring (2015) lista ainda, como patógenos de importância em regiões tropicais, as espécies *Phyllachora gratissima* Rehm, *P. musicola* C. Booth & D.E. Shaw, *P. ulei* G. Winter e *Phylleutypa dioscoreae* (Wakef.) Petr., causando *tar spots* em

abacate (*Persea americana*), banana (*Musa* sp.), espécies de inhame (*Dioscorea alata*, *D. trifida* e *Dioscorea* sp.), respectivamente. *Polystigma rubrum* (Pers.) DC. e *Po. amygdalum* P.F. Cannon estão associados à desfolha prematura em espécies de Rosaceae (Cannon 1996; Habibi et al. 2015). *Apiosphaeria guaranitica* (Speg.) Höhn., causa a crosta-marrom dos ipês, é uma de suas mais importantes doenças, afetando principalmente plantas dos gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia* (Bignoniaceae) na região neotropical (Spegazzini 1885; Rangel 1921; Batista et al. 1964; Ferreira 1989; Dianese et al. 1994); *Camarotella acrocomiae* (Mont.) K.D. Hyde e P.F. Cannon e *C. torrendiella* (Bat.) J.L. Bezerra e Vitória, causam a lixa-grande e lixa-pequena do coqueiro (*Cocos nucifera*), respectivamente, merecem destaque na América do Sul (Hyde & Cannon 1999; Vitória et al. 2008).

(iii) **Telimenaceae**– Conforme descrição de (Mardones et al. (2017), om espécies produzindo pseudostroma com formas variadas, cobertos por clipeo preto brilhante, cuticular ou epidérmico, muitas vezes limitado à região próxima ao ostíolo, ou pode se estender sobre os ascomas e, em alguns casos, abaixo dos ascomas. Ascomas periteciais, anfígenos, epífilos ou hipófilos, contendo um ou vários lóculos, às vezes confluentes, frequentemente circundados por uma zona de tecido hospedeiro despigmentada. Pseudostroma bem desenvolvido, expandindo-se através do tecido da planta hospedeira. Peritécios subcuticulares, epidérmicos, subepidérmicos ou imersos no tecido hospedeiro, piriformes, globosos, lenticulares ou deformados pelos feixes vasculares, com ostíolo perifisado, perídio hialino ou pigmentado, de *textura intricata*. Paráfises hialinas, de paredes finas, pouco maiores que os ascos, septadas, frequentemente deliquescentes nos ascomas maduros. Ascos unitunicados, clavados ou cilíndricos, em geral contendo oito esporos, raramente com quatro esporos, com anel apical geralmente não amiloide. Ascósporos normalmente hialinos, raramente marrom-claros, em sua maioria cilíndricos, ou globosos a filiformes, de parede fina e lisa, asseptados ou contendo até três septos, algumas vezes circundados por bainha mucilaginosa. Forma assexuada rara, espermogonial, picnidial, células conidiogênicas

cilíndricas, de ápice afilado, de proliferação percorrente, desenvolvendo esporos filiformes, curvados, hialinos, unicelulares, com função presumidamente espermial. Quanto ao hábito, são na maioria biotróficos em diversas famílias de monocotiledôneas e dicotiledôneas.

Telimenaceae é a primeira família de Phyllachorales criada com base em evidências moleculares. Considerando apenas os espécimes incluídos no estudo filogenético de Mardones et al. (2017), seus membros formam estroma subcuticular, epidérmico, subepidérmico ou imerso, enquanto que em Phyllachoraceae o estroma é completamente imerso no tecido hospedeiro, no caso das espécies de *Phyllachora* infectando Poaceae; ou eruptivo a superficial, em outras famílias?????. Neste quesito, os autores enfatizam o hospedeiro, excluindo de Telimenaceae as espécies parasitas em Poaceae, que permaneceram em Phyllachoraceae. Assim, o único gênero de Telimenaceae, *Telimena*, consta de 14 espécies, todas recombinaadas a partir de espécies de *Phyllachora*, com base em dados moleculares (Mardones et al. 2017).

Polifiletismo em Phyllachoraceae

Historicamente fungos filacoráceos constituíam um agrupamento artificial de diferentes espécies. Nos primeiros sistemas de classificação de ascomycetos, a ordem Sphaeriales descrita por Lindau (1897) incluía 25 gêneros e mais de 400 espécies, entre as quais 200 classificadas no gênero *Phyllachora*. Theissen & Sydow (1915) introduziram a família Phyllachoraceae na ordem Dothideales contendo 44 gêneros, entre os quais *Phyllachora* era o maior, com 322 espécies. Além disso, admitiram na mesma família, os gêneros *Catacauma*, *Catacaumella*, *Trabutia*, *Trabutiella* e *Endodothella*, posteriormente reduzidos a sinônimos de *Phyllachora* (Petraik 1927; Barr 1987). A prática de nomear novas espécies a partir do registro de ocorrências de fungos morfologicamente similares, porém em espécies de hospedeiras de gêneros diferentes, também contribuiu para incrementar o número

de espécies reconhecidas atualmente, cerca de 1200 (Kirk et al. 2008; Wijayawardene et al. 2018), com 1513 nomes registrados no Index Fungorum (www.indexfungorum.org).

Gêneros tradicionalmente pertencentes ou associados a Phyllachoraceae foram realocados em diferentes grupos taxonômicos a partir da inclusão de dados moleculares nos estudos filogenéticos. *Colletotrichum* Corda (1831), forma assexuada de *Glomerella* foi, durante muito tempo, considerado membro de Phyllachoraceae (Ainsworth 1971; Hawksworth et al. 1995; Barr 1990), embora diversas características morfológicas e ecológicas fossem apontadas como evidências da distância filogenética entre este gênero e *Phyllachora* (Cannon 1991; Uecker 1994; Cannon et al. 2012). A família Glomerellaceae Locq. ex Seifert & W. Gams foi introduzida Locquin (1984) e posteriormente validada (Zhang et al. 2006) e, finalmente, elevada a ordem Glomerellales com base em análises de sequências de nuc rDNA e RPB2 (Reblová et al. 2011).

Provavelmente em virtude do hábito biotrófico e impossibilidade de isolamento e cultivo em meio artificial para a maioria das espécies de Phyllachorales, um número relativamente pequeno de espécimes foi sequenciado. Wanderlei-Silva et al. (2003) realizaram o primeiro estudo utilizando dados moleculares de Phyllachorales, com base apenas em sequências parciais de *nrSSU* de apenas um espécime representativo de cada um dos gêneros *Phyllachora*, *Cocodiella*, *Ophiodothella* e *Sphaerodothis* e demonstrou o polifiletismo da ordem. Com base nos resultados, os autores sugeriram a transferência de *Ophiodothella* e *Sphaerodothis* para a ordem Xylariales. Todavia, essa realocação dos gêneros não foi incorporada em esquemas de classificação subsequentes (Kirk et al. 2008; Lumbsch & Hurd 2010; Maharachchikumbura 2015; Mardones et al. 2017; Wijayawardene et al. 2018).

Em estudo filogenético com base em sequências de *nrSSU*, *nrITS* e *nrLSU* separadamente demonstrou-se que *Polystigma amygdalum* e *Po. rubrum* (espécie tipo) formam um grupo irmão de Xylariales e Trichosphaeriales e, dessa forma, deveriam ser

alocadas em Xylariomycetidae e não em Sordariomycetidae (Habibi et al. 2015). A transferência do gênero, contudo, foi ignorada nos sistemas de classificação subsequentes (Maharachchikumbura et al. 2015; Wijayawardene et al. 2018). Mardones et al. (2017) verificaram o polifiletismo de *Polystigma*, previamente sugerido por Cannon (1996) com base em evidências morfológicas. Na análise multilocus confirmou-se o posicionamento de *Po. rubrum* e *Po. amygdalinum* próximo a Xylariomycetidae, porém com baixo suporte, ao passo que *Po. pusillum* e uma espécie não determinada, ficaram próximos às espécies de *Phyllachora* caracterizando duas linhagens distintas, uma delas incluindo um espécime de *Phyllachora graminis* (Mardones et al. 2017). Recentemente, Dayarathne et al. (2017) restabeleceram a família Polystigmataceae apenas com base nos marcadores *nrSSU* e *nrITS*, alocando-a na ordem Xylariales e englobando as espécies de *Polystigma* em *Prunus* sp.

Na filogenia de espécies de *Phyllachora* com hospedeiras da família Myrtaceae, baseada em sequências de ITS, evidenciou-se o polifiletismo do gênero, que inclui três grupos notadamente distintos, dois deles de espécies próximas de Sordariales e um, que inclui a espécie tipo, próximo de Xylariales. Os resultados também indicaram que sequências de *nrITS* seriam boas candidatas a *barcode* para identificação de espécies do gênero *Phyllachora* (Santos et al. 2016). Dayarathne et al. (2017) transferiram as espécies de *Phyllachora* parasitas em Myrtaceae no Brasil para o gênero *Neophyllachora*, porém os autores compararam sequências de *SSU* mitocondrial com *SSU* nuclear, assim, tais resultados carecem de confirmação. .

Mardones et al. (2017) publicaram o estudo filogenético mais amplo de Phyllachorales, com 29 espécies e cinco loci gênicos (*nrSSU*, *nrITS*, *nrLSU*, *RPB2* e *TEF1- α*), confirmando o polifiletismo de Phyllachoraceae e de *Phyllachora* e, com relação ao gênero, recombinaaram diversas espécies para *Telimena* e estabeleceram a família Telimenaceae para acomodá-los. Embora abrangente, o estudo incluiu apenas nove espécimes oriundos da América do Sul, porém nenhum do Brasil.

A família Phyllachoraceae e seus principais gêneros

Atualmente são reconhecidos 51 gêneros pertencentes a Phyllachoraceae (Tabela 1), enquanto que o Index Fungorum fornece uma lista de 57 gêneros, dos quais 21 são monoespecíficos, e 1832 nomes de espécies associados à família, dos quais 1246 são nomes atualmente reconhecidos. *Phyllachora* possui o maior número de espécies reconhecidas, sendo associados 942 nomes válidos e reconhecidos (www.indexfungorum.org), seguido pelos gêneros *Lichenochora* (45 espécies), *Ophiodothella* (33 espécies), *Polystigma* (26 espécies), *Linochora* (25 espécies), *Cocodiella* (22 espécies), *Sphaerodopsis* (19 espécies), *Bagnisiopsis* (13 espécies), *Stigmatula*, *Stigmochora* (nove espécies cada), *Rehmiodopsis* (oito espécies), *Phaeochorella* (seis espécies), *Diachora*, *Erikssonia* (cinco espécies cada), *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Isothea* e *Rhodosticta* (quatro espécies cada), *Coccostromopsis*, *Diatractium*, *Lohwagia*, *Phyllocrea*, *Polystigmina*, *Schizochora* (três espécies cada), *Brobdingnagia*, *Deshpandiella*, *Frematomyces*, *Geminispora*, *Gibellina*, *Maculatifrones*, *Malthomyces*, *Mycohypallage*, *Orphnodactylis*, *Phylleutypa*, *Pterosporidium*, *Retroa* (duas espécies cada).

Em fevereiro de 2018, 556 sequências nucleotídicas de Phyllachorales estão disponíveis no GenBank, porém com poucos gêneros são representados. Apenas 20 espécies de *Phyllachora* têm pelo menos uma sequência depositada no GenBank, a maioria por Santos et al. (2016) e Mardones et al. (2017). Outros gêneros representados são *Polystigma* (com 35 acessos depositados) e *Cocodiella* (com 12 acessos depositados), em grande parte de organismos não identificados ao nível de espécie. Assim, além dos caracteres morfológicos e ecológicos são essenciais na classificação natural dos Phyllachorales as análises filogenéticas com base em novas sequências de segmentos de DNA apropriados. Considerando-se os gêneros com maior número de espécies, Farr & Rossman (2017) listam 321 registros de *Phyllachora* spp. com ocorrência no Brasil, dos quais 117 são nomes válidos e reconhecidos atualmente. Registros para o Brasil consistem apenas de uma espécie de *Polystigma* (*P.*

orbiculatum) (Arx & Müller 1954), cinco espécies de *Ophiodothella* (Cannon 1991; Hanlin et al. 1992), três espécies de *Camarotella*, uma espécie de *Cocodiella* (*Cocc. miconiae*) (Seixas et al. 2007), uma de *Apiosphaeria* (*A. guaranitica*), sete de *Sphaerodthis* e três espécies de *Phaeochorella*. (Farr & Rossman 2017).

No Bioma Cerrado, inventários da micobiota relatam a ocorrência dos gêneros *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Catacauma* (=Phyllachora), *Cocodiella*, *Coccochorella*, *Coccostromopsis*, *Ophiodothella*, *Oxydothis*, *Phaeochorella*, *Phyllachora*, *Sphaerodthis* e *Stigmochora* (Viégas 1943a, 1943b, 1943c, 1944a, 1944b, 1946, 1947; Viégas & Teixeira 1945; Batista & Oliveira 1959; Batista & Bezerra 1966; Batista & Peres 1960; Batista et al. 1960a; Batista et al. 1960b; Batista & Peres 1961; Batista & Peres 1962; Batista et al. 1962; Batista et al. 1964a; Batista et al. 1964b; Batista et al. 1964c; Batista et al. 1965; Batista et al. 1966a; Batista et al. 1966b; Batista et al. 1966c; Batista et al. 1966d; Batista et al. 1966e; Batista et al. 1967a; Batista et al. 1967b; Batista et al. 1967c; Batista et al. 1967d; Medeiros 1994; Furlaneto 1995; Sales 2003; Souza 2003; Souza et al. 2008; Santos 2011; Souza 2011; Santos 2013; Santos et al. 2016; Souza 2017). Os gêneros caracterizados no presente trabalho são discutidos em detalhe nos capítulos respectivamente a eles dedicados.

LITERATURA CITADA

- Aguileta G, Marthey S, Chiapello H, Lebrun M-H, Rodolphe F, Fournier E, Gendrault-Jacquemard A, Giraud T. 2008. Assessing the Performance of Single-Copy Genes for Recovering Robust Phylogenies. *Systematics and Biology* 57: 613–627.
- Ainsworth GC, Sparrow FK, Sussman AS (eds). 1973. *The Fungi. An Advanced Treatise. Vol. IVA. A taxonomic review with Keys: Ascomycetes and Fungi Imperfecti.* New York: Academic Press. 621 p.
- Ainsworth GC, Sparrow FK, Sussman AS. 1973. *The Fungi. An advanced treatise. Volume IV A.* New York: Academic Press. 621 p.
- Amorim DS. 2002. *Fundamentos de Sistemática Filogenética.* São Paulo: Holos. 154 p.
- Müller E, Arx JA. 1973. Pyrenomycetes: Meliolales, Coronophorales, Sphaeriales. In Ainsworth, G.C.; Sparrow, F.K.; Sussman, A.S. (eds): *The Fungi. An Advanced Treatise 4A:* 87–132. New York: Academic Press.
- Barr ME. 1976. Perspectives in the Ascomycotina. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 28: 1–8.
- Barr ME. 1983. The ascomycete connection. *Mycologia* 75: 1–13.
- Barr ME. 1990. Prodrômus to nonlichenized, pyrenomycetous members of class Hymenoascomycetes. *Mycotaxon* 39: 43–184.
- Batista AC, Bezerra JL, Peres GEP. 1964. *Ascomycetes da Flora Brasileira. Publicações do Instituto Micologia da Universidade de Pernambuco, Recife* 438: 1–22.
- Cannon PF. 1991. A revision of *Phyllachora* and some similar genera on the host family Leguminosae. *Mycological Papers* 163: 1–302.
- Cannon PF. 1996. Systematics and diversity of the *Phyllachoraceae* associated with *Rosaceae*, with a monograph of *Polystigma*. *Mycological Research* 100: 1409–1427

- Cannon PF. 1988. Proposal to merge the Phyllachorales with the Diaporthales, with a new family structure. *Systema Ascomycetum* 7: 23–43.
- Cannon PF. 1997. Diversity of the Phyllachoraceae with special reference to the tropics. In: Hyde K (ed), *Biodiversity of Tropical Microfungi*: 255–278. Hong Kong University Press, Hong Kong.
- Cannon PF, Kirk PM. 2007. *Fungal families of the world*. Egham, UK: CAB International 456 p.
- Cannon PF, Damm U, Johnston PR, Weir BS. 2012. *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology* 73: 181–213.
- Chadefaud M. 1960. Les Végétaux non Vasculaires (Cryptogamie). In Chadefaud, M.; Emberger, L. (eds), *Traité de Botanique Systématique* 1: 1018 pp. Paris; Masson.
- Clements FE, Shear CL. 1931. *Genera of Fungi*. 2nd ed. I-VII. USA, New York: H.W. Wilson Company. 496 p.
- Cordeiro ACI. 1829. Die Pilze Deutschlands. In Sturm, J. (ed.) *Deutschlands Flora in Abbildungen nach der Natur mit Beschreibungen* 2: 1-136. Nürnberg; Sturm.
- Dayarathne MC, Maharachchikumbura SSN, Jones EBG, Goonasekara ID, Bulgakov TS, Al-Sadi AM, Hyde KD, Lumyong S, McKenzie EHC. 2017. *Neophyllachora* gen nov. (Phyllachorales), three new species of *Phyllachora* from Poaceae and resurrection of *Polystigmataceae* (Xylariales). *Mycosphere* 8: 1598–1625.
- Dianese JC, Tessman DJ, Furlanetto C. 1994. Reinstating *Oswaldina icaraxyensis* as the name of the anamorph of *Apiosphaeria guaranitica*. *Sydowia* 46: 233-237.
- Ericksson O, Hawksworth DL. 1990. Outline of the ascomycetes - 1990. *Systema Ascomycetum* 9: 39–271.
- Ferreira FA. 1989. *Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil*. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais. 570 p.
- Fuckel L. 1867. *Fungi Rhenani*. suppl. fasc. VI (nos 2001-2100).

- Habibi A, Banihashemi Z, Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R. 2015. Phylogenetic analysis of *Polystigma* and its relationship to Phyllachorales. *Phytopathologia Mediterranea* 54: 45–54.
- Hawksworth DL, Crous PW, Redhead SA, Reynolds DR, Samson RA, Seifert KA, Taylor JW, Wingfield MJ, Özlem A, Aime C, Asan A, Bai F-Y, Wilhelm ZB, Begerow D, Berikten D, Boekhout T, Buchanan PK, Burgess T, Buzina W, Cai L, Cannon PF, Crane JL, Damm U, Daniel H-M, Diepeningen AD, Druzhinina I, Dyer PS, Eberhardt U, Fell JW, Frisvad JC, Geiser DM, Geml J, Glienke C, Gräfenhan T, Groenewald JZ, Groenewald M, Gruyter J, Guého-Kellermann E, Guo L-D, Hibbett DS, Hong S-B, Hoog S, Houbraken J, Huhndorf SM, Hyde KD, Ismail A, Johnston PR, Kadaifciler DG, Kirk PM, Kõljalg U, Kurtzman CP, Lagneau P, Lévesque CA, Liu X, Lombard L, Meyer W, Miller A, Minter DW, Najafzadeh MJ, Norvell L, Ozerskaya SM, Öziç R, Pennycook SR, Peterson SW, Pettersson OV, Quaedvlieg W, Robert VA, Ruibal C, Schnürer J, Schroers H, Shivas R, Slippers B, Spierenburg H, Takashima M, Taşkın E, Thines M, Thrane U, Uztan AH, Raak M, Varga J, Vasco A, Verkley G, Videira SIR, Vries RP, Weir BS, Yilmaz N, Yurkov A, Zhang N. 2011. The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. *IMA Fungus* 2: 105–112.
- Hawksworth DL, Crous PW, Dianese JC, Gryzenhout M, Norvell LL, Seifert KA. 2009. Proposals to amend the Code to make it clear that it covers the nomenclature of fungi, and to modify the governance with respect to names of organisms treated as fungi. *Taxon* 58: 658–659; *Mycotaxon* 108: 1–4.
- Hawksworth DL, Sutton BC, Ainsworth GC. 1983. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 7th Edition. 412 pp. UK, Kew; Commonwealth Mycological Institute.
- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DN. 1995. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th edition. 616 pp. UK, Oxfordshire, Wallingford; CAB International.

- Hyde KD, Cannon PF. 1999. Fungi causing tar spots on palms. *Mycological Papers* 175: 50–58.
- Hyde KD, Cannon PF, Barr ME. 1997. Phaeochoraceae, a new ascomycete family from palms. *Systema Ascomycetum* 15: 117–120.
- Hyde KD, Nilsson RH, Alias SA, Ariyawansa HA, Blair JE, Cai L, Cock AWAM, Dissanayake AJ, Glockling SL, Goonasekara ID, Gorczak M, Hahn M, Jayawardena RS, Kan JAL, Laurence MH, Lévesque CA, Li X, 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.
- Jagtap MA. 1968. Spermatisation in *Phyllachora symplodicola* Seshadri. *Mycopathologia et mycologia applicata* 36: 75–80.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. 2008. *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi*. 10th ed. Wallingford, CAB International.
- Landvik S, Eriksson OE, Berbee ML. 2001. Neolecta: a fungal dinosaur? Evidence from β -tubulin amino acid sequences. *Mycologia* 93: 1151–1163.
- Lindau G. 1897. Pyrenomycetinae, Laboulbeniinae. In Engler A, Prantl K (eds). *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Teil. 1: 321–505. Leipzig; Verlag von Wilhelm Engelmann.
- Liu YJ, Hall BD. 2004. Body plan evolution of ascomycetes, as inferred from an RNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* 101: 4507–4512.
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16: 1799–1808.

- Locquin MV. 1984. *Mycologie Générale et Structurale*. Paris: Masson. 551 p.
- Lumbsch HT, Huhndorf SM. 2010. Myconet volume 14 Part One. *Outline of Ascomycota-2009*. *Fieldiana Life Earth Sci.* 1: 1–922.
- Luttrell ES. 1951. *Taxonomy of Pyrenomycetes*. *University of Missouri Studies* 24: 120 p.
- Luttrell ES. 1973. *Loculoascomycetes*. In: Ainsworth GC, Sparrow FK, Sussman AS. 1973. *The Fungi. An advanced treatise. Volume IV A*. New York: Academic Press. 621 p.
- Maharachchikumbura SN, Hyde KD, Jones EBG, McKenzie EHC, Huang SK, Abdel-Wahab MA, Daranagama DA, Dayarathne M, D'souza MJ, Goonasekara ID, Hongsanan S, Jayawardena RS, Kirk PM, Konta S, Liu JK, Liu Z-Y, Norphanphoun C, Pang KL, Perera RH, Senanayake IC, Shang Q, Shenoy BD, Xiao Y, Bahkali AH, Kang J, Somrothipol S, Suetrong S, Wen T, Xu J. 2015. Towards a natural classification and backbone tree for Sordariomycetes. *Fungal Diversity* 72: 199–301.
- Mardones M, Trampe-Jaschik T, Oster S, Elliott M, Urbina H, Schmitt I, Piepenbring M. 2017. Phylogeny of the order Phyllachorales (Ascomycota, Sordariomycetes): among and within order relationships based on five molecular loci. *Persoonia* 39: 74–90.
- McNeill J, Barrie FR, Burdet HM, Demoulin V, Hawksworth DL, Marhold K, Nicolson DH, Prado J, Silva PC, Skog J, Wiersema J, Turland N (eds). 2006. *International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted by the Seventeenth International Botanical Congress, 2005*. [Regnum Vegetabile Vol. 146.] Pp. xviii + 568. Ruggell: A. R. G. Ganter Verlag.
- McNeill J, Barrie FF, Buck WR, Demoulin V, Greuter W, Hawksworth D L, Herendeen PS, Knapp S, Marhold K, Prado J, Prud'homme van Reine WF, Smith GF, Wiersema J, Turland NJ (eds). 2012. *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code)*. [Regnum vegetabile no. 154.] Königstein: Koeltz Scientific Books.

- Miadlikowska J, Kauff F, Hofstetter V, Fraker E, Grube M, Hafellner J, Reeb V, Hodkinson BP, Kukwa M, Lücking R, Hestmark G, Otálora MG, Rauhut A, Büdel B, Scheidegger C, Timdal E, Stenroos S, Brodo IM, Perlmutter GB, Ertz D, Diederich P, Lendemer JC, May PF, Schoch C, Arnold AE, Gueidan C, Tripp E, Yahr R, Robertson C, Lutzoni F. 2006. New insights into classification and evolution of the Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota) from phylogenetic analyses of three ribosomal RNA- and two protein-coding genes. *Mycologia* 98: 1088–1103.
- Miller JH. 1949. A revision of the classification of the Ascomycetes with special emphasis on the Pyrenomycetes. *Mycologia* 41: 99–127.
- Miller JH. 1954. Studies in the Phyllachoraceae II. *Phyllachora lespedezae*. *American Journal of Botany* 41: 825–828.
- Miller JH. 1951. Studies in the Phyllachoraceae. I. *Phyllachora ambrosiae* (Berk. & Curt.) Sacc. *American Journal of Botany* 38: 830–834.
- Müller E, Arx JA. 1973. Chapter 6 : The Pyrenomycetes: Meliolales, Coronophorales, Sphaeriales. In G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow, A. S. Sussman [eds.], *The fungi: an advanced treatise*, vol. IVA, A taxonomic review with keys: Ascomycetes and Fungi Imperfecti. 87–132.
- Nannfeldt JA. 1932. Studien über die Morphologie und Systematik der nichlichenisierten inoperculaten Discomyceten. *Nova Acta Regiae Soc. Scient. Upsaliensis Ser. 8*: 1-368.
- Orton CR. 1924. Studies in the morphology of the ascomycetes I. The stroma and the compound fructification of the Dothideaceae and other groups. *Mycologia* 16: 49–95.
- Parbery DG. 1967. Studies on graminicolous species of *Phyllachora* Nke in Fckl. V. A taxonomic monograph. *Australian Journal of Botany* 15: 271–375.
- Parbery DG. 1975. Studies on the graminicolous species of *Phyllachora* Nke. in Fckl. VI. Addition and corrections to part V. *Australian Journal of Botany* 19: 207–235.

- Parbery DG, Langdon RFN. 1963. The imperfect stage of *Phyllachora quadrospora* Tehon. *Australian Journal of Science* 25: 469-470.
- Petrak F. 1924. Mykologische Notizen. VII. *Annales Mycologici* 22: 1-182.
- Petrak F. 1927. Mycologische Notizen IX. No. 575. Über *Catacaumella gouaniae* Stev. 25: 193–343.
- Piepenbring M. 2015. *Introduction to mycology in the tropics*. Saint Paul: APS. 366 p.
- Rangel E. 1921. Nota sobre dois fungos. *Arquivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária*. Niterói 5: 35–39.
- Réblová M, Gams W, Seifert KA. 2011. *Monilochaetes* and allied genera of the Glomerellales, and a reconsideration of families in the Microascales. *Studies in Mycology* 68: 163–191.
- Ruhl G, Romberg MK, Creswell T, Wise KA. 2016. First Report of Tar Spot on Corn Caused by *Phyllachora maydis* in the United States. *Plant Disease* 100: 1496.
- Santos MDM, Boiteux MENF, Boiteux LS, Câmara PEAS, Dianese JC. 2016. ITS-phylogeny and taxonomy of *Phyllachora* species on native Myrtaceae from the Brazilian Cerrado. *Mycologia* 108: 1141-1164.
- Schmitt I, Crespo A, Divakar PK, Fankhauser JD, Herman-Sackett E, Kalb K, Widhalm T. 2009. New primers for promising single-copy genes in fungal phylogenetics and systematics. *Persoonia* 23: 35–40.
- Schoch CL, Shoemaker RA, Seifert KA, Hambleton S, Spatafora JW, Crous PW. 2006. A multigene phylogeny of the Dothideomycetes using four nuclear loci. *Mycologia* 98: 1041–1052.
- Schoch CL, Crous PW, Groenewald JZ, Boehm EWA, Burgess TI, de Gruyter J, de Hoog GS, Dixon LJ, Grube M, Gueidan C, Harada Y, Hatakeyama S, Hirayama K, Hosoya T, Huhndorf SM, Hyde KD, Jones EGB, Kohlmeyer J, Kruys Å, Li YM, Lücking R, Lumbsch HT, Marvanová L, Mbatchou JS, McVay AH, Miller AN, Mugambi GK,

- Muggia L, Nelsen MP, Nelson P, Owensby CA, Phillips AJL, Phongpaichit S, Pointing SB, Pujade-Renaud V, Raja HA, Plata ER, Robbertse B, Ruibal C, Sakayaroj J, Sano T, Selbmann L, Shearer CA, Shirouzu T, Slippers B, Suetrong S, Tanaka K, VolkmannKohlmeyer B, Wingfield MJ, Wood AR, Woudenberg JHC, Yonezawa H, Zhang Y, Spatafora JW. 2009. A class-wide phylogenetic assessment of Dothideomycetes. *Studies in Mycology* 64: 1–15.
- Seaver FJ. 1928. Studies in tropical ascomycetes. V. Species of Phyllachora. *Mycologia* 20: 214–225.
- Silva-Hanlin DM, Hanlin RT. 1998. The order Phyllachorales: taxonomic review. *Mycoscience* 39: 97–104.
- Spatafora JW, Sung Gi-Ho, Johnson D, Hesse C, O'Rourke B, Serdani M, Spotts R, Lutzoni F, Hofstetter V, Miadlikowska J, Reeb V, Gueidan C, Fraker E, Lumbsch T, Lücking R, Schmitt I, Hosaka K, Aptroot A, Roux C, Miller AN, Geiser DM, Hafellner J, Hestmark G, Arnold AE, Büdel B, Rauhut A, Hewitt D, Untereiner WA, Cole MS, Scheidegger C, Schultz M, Sipman H, Schoch CL. 2006. A five-gene phylogeny of Pezizomycotina. *Mycologia* 98: 1018–1028.
- Spegazzini C. 1885. Fungi Guaranitici. Pugillus I. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 19: 241–265.
- Swart HJ. 1982. Australian Leaf-Inhabiting Fungi XV. *Ophiodothella longispora* sp. nov. *Transactions of Britain Mycological Society* 79: 566–568.
- Stielow JB, Lévesque CA, Seifert KA, Meyer W, Iriny L, Smits D, Renfurm R, Verkley GJM, Groenewald M, Chaduli D, Lomascolo A, Welti S, Lesage-Meessen L, Favel A, Al-Hatmi AMS, Damm U, Yilmaz N, Houbraken J, Lombard L, Quaedvlieg W, Binder M, Vaas LAI, Vu D, Yurkov A, Begerow D, Roehl O, Guerreiro M, Fonseca A, Samerpitak K, Diepeningen AD, Dolatabadi S, Moreno LF, Casaregola S, Mallet S, Jacques N, Roscini L, Egidi E, Bizet C, Garcia-Hermoso D, Martín MP, Deng S,

- Groenewald JZ, Boekhout T, Beer ZW, Barnes I, Duong TA, Wingfield MJ, Hoog GS, Crous PW, Lewis CT, Hambleton S, Moussa TAA, Al-Zahrani HS, Almaghrabi OA, Louis-Seize G, Assabgui R, McCormick W, Omer G, Dukik K, Cardinali G, Eberhardt U, Vries M, Robert V. 2015. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia* 35: 242–263.
- Tanabe Y, Saikawa M, Watanabe MM, Sugiyama J. 2004. Molecular phylogeny of Zygomycota based on EF-1alpha and RPB1 sequences: limitations and utility of alternative markers to rDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 438–449.
- Tanabe AS, Toju H. 2013. Two New Computational Methods for Universal DNA Barcoding: A Benchmark Using Barcode Sequences of Bacteria, Archaea, Animals, Fungi, and Land Plants. *PLoS ONE* 8: e76910.
- Taylor JW. 2011. One Fungus = One Name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR. *IMA Fungus* 2: 113–120.
- Theissen F, Sydow P. 1914. Dothideazeen-studien. *Annales Mycologici* 12: 176–194.
- Theissen F, Sydow P. 1915. Dothideazeen-Studien II. *Annales Mycologici* 12: 268–281.
- Uecker FA. 1994. Ontogeny of the ascoma of *Glomerella cingulata*. *Mycologia* 86: 82–88.
- 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.
- Vitoria NS, Bezerra JL, Gramacho KP e Luz EDMN. 2008. *Camarotella torrendiella* comb. nov. and *C. acrocomiae*: etiologic agents of black leaf spot diseases on the coconut tree. *Trop. plant pathol.* [online] 33: 295-301.
- Wanderlei-Silva D, Neto E, Hanlin RT. 2003. Molecular systematics of the Phyllachorales (Ascomycota, Fungi) based on 18S ribosomal DNA sequences. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 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. Academic, San Diego. 315–322.
- Wijayawardene NN, Hyde KD, Lumbsch HT, Liu JK, Maharachchikumbura SSN, Ekanayaka AH, Tian Q, Phookamsak R. 2018. Outline of Ascomycota: 2017. Fungal Diversity 88: 167–263.
- Yarza P, Yilmaz P, Panzer K, Glöckner FO, Reich M. 2017. A phylogenetic framework for the kingdom Fungi based on 18S rRNA gene sequences. Marine Genomics: article in press. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28578827>).
- Zhang N, Castlebury LA, Miller AN, Huhndorf SM, Schoch CL, Seifert KA, Sung GH. 2006. An overview of the systematics of the Sordariomycetes based on a four-gene phylogeny. Mycologia 98: 1076–1087.

**CAPÍTULO I. TAXONOMIA E FILOGENIA DE FUNGOS FILACOROIDES DO
CERRADO**

RESUMO

Phyllachorales contém as famílias Phaeochoraceae, Telimenaceae e Phyllachoraceae, esta última com 51 gêneros e 1246 nomes de espécies mostrados no Index Fungorum, dos quais 942 pertencem ao gênero *Phyllachora*. Inventários da micobiota do Cerrado apontam a ordem Phyllachorales como terceiro grupo mais frequente entre os fungos biotróficos parasitas de plantas. Estudos filogenéticos utilizando marcadores moleculares demonstraram o polifiletismo de Phyllachoraceae e de *Phyllachora*, porém, pouco se conhece sobre as relações filogenéticas dos filacoroides encontrados no Cerrado com o demais Phyllachorales, bem como com os Sordariomycetes de maneira geral. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar as relações filogenéticas dos fungos filacoroides com base nos marcadores moleculares *nrSSU* (Subunidade menor do ribossomo), *nrLSU* (Subunidade maior do ribossomo) e *nrITS* (Espaçador Interno Transcrito) do DNA ribossomal, e dos genes nucleares codificadores de proteínas *RPB2* (Segunda maior subunidade da RNA Polimerase II) e *TEF1- α* (Fator de Extensão da tradução 1- α). Neste capítulo realizou-se uma análise exploratória incluindo 17 morfo-espécies de fungos filacoroides com representantes dos gêneros *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phaeochorella* e *Phyllachora* presentes no Cerrado, e um conjunto de espécimes representativo de toda a classe Sordariomycetes. As análises revelaram que os filacoroides do Cerrado constituem um grupamento polifilético distribuído em duas ordens de Sordariomycetes: Diaporthales e Phyllachorales. Espécimes pertencentes aos gêneros *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phyllachora* e *Telimena* foram filogeneticamente alocados em Phyllachorales. Já os gêneros *Apiosphaeria* e *Phaeochorella*, representados por membros de suas espécies tipos, *A. guaranitica* e *Ph. parinari*, foram alocados em Diaporthales com alto suporte filogenético. O gênero *Phyllachora* se mostrou polifilético, com espécies pertencentes às famílias Telimenaceae e Phyllachoraceae *sensu lato*. *Phyllachora salaciae* (Henn.) Höhn. foi

alocada em Telimenaceae e deverá ser recombinação para *Telimena salaciae* (Henn.) Guterres, Galvão-Elias & Dianese *comb. nov.* Seis prováveis novas espécies pertencentes à ordem Phyllachorales foram descritas e alocadas nos gêneros *Camarotella* (uma espécie), *Ophiodothella* (duas espécies), *Phyllachora* (duas espécies) e *Telimena* (uma espécie), a partir de exemplares coletados em diversos pontos do Domínio Cerrado. Adicionalmente, epitipificações são propostas para dez espécies atualmente reconhecidas e pertencentes aos gêneros *Apiosphaeria*, *Cocodiella*, *Phaeochorella*, *Phyllachora* e *Telimena* após as análises combinando sequências nucleotídicas e descrições morfológicas.

Palavras chave: Análise multilocus; *Camarotella*; *Cocodiella*; *nrITS*; *nrLSU*; *nrSSU*; *Ophiodothella*; *Phyllachorales*; *Phyllachora*; *RPB2*; *TEF1- α* ; *Telimena*.

ABSTRACT

The order Phyllachorales contains the families Phaeochoraceae, Telimenaceae and Phyllachoraceae, the latter with 51 genera and 1246 species names shown in Index Fungorum, of which 942 belong to the genus *Phyllachora*. Inventories of the mycobiota indicated that Phyllachorales is the third most frequent group of biotrophic leaf-parasitic fungi from the Cerrado. Phylogenetic studies using molecular markers have demonstrated the polyphyletic nature of Phyllachoraceae and *Phyllachora*; however, little is known about the phylogenetic relationships of the phyllachoroid fungi from Cerrado within the remaining members of the Phyllachorales, as well as their positions within the Class Sordariomycetes. Thus, the present study aimed to investigate the phylogenetic relationships of phyllachoroid fungi based upon partial sequences of the nrITS (nuclear ribosomal Internal Transcribed Spacer), nrSSU (nuclear ribosomal small subunit) and nrLSU (nuclear ribosomal large subunit), and also employing sequence information of the nuclear protein-coding genes *RPB2* (second largest subunit of RNA polymerase II) and *TEF1- α* (translation elongation factor 1- α). In this chapter, an exploratory analysis is shown including 17 morphospecies of phyllachoroid fungi with representatives of *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phaeochorella*, and *Phyllachora* together with specimens representing the class Sordariomycetes. The analyses revealed that phyllachoroid specimens from Cerrado constitute a polyphyletic group distributed in two orders of Sordariomycetes: Diaporthales and Phyllachorales. Specimens belonging to the genera *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phyllachora*, and *Telimenia* were phylogenetically allocated in Phyllachorales. The genera *Apiosphaeria* and *Phaeochorella*, represented by members of their type species, *A. guaranitica* and *Ph. parinari*, were allocated in Diaporthales with high phylogenetic

support. The genus *Phyllachora* was found to be polyphyletic, with species presently included in families Telimenaceae and Phyllachoraceae *sensu lato*. *Phyllachora salaciae* (Henn.) Höhn. was allocated in Telimenaceae and should be combined into *Telimena salaciae* (Henn.) Guterres, Galvão-Elias & Dianese *comb. nov.* Six new species belonging to the order Phyllachorales were described and placed in the genera *Camarotella* (one species), *Ophiodothella* (two species), *Phyllachora* (two species), and *Telimena* (one species), based upon specimens collected in several points of the Cerrado Domain. In addition, epitypes were proposed for ten species currently recognized as belonging to *Apiosphaeria*, *Cocodiella*, *Phaeochorella*, *Phyllachora*, and *Telimena*, after combining nucleotide sequence analyses and detailed morphological descriptions.

Key words: *Camarotella*; *Cocodiella*; multilocus analyses; *nrITS*; *nrLSU*; *nrSSU*; *Ophiodothella*; Phyllachorales; *Phyllachora*; *RPB2*; *TEF1- α* ; *Telimena*.

INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma Neotropical, ocupando uma área com cerca de 2 milhões de km² que corresponde a cerca de 22% do território nacional, sendo reconhecido internacionalmente como um *hotspot* de biodiversidade (Myers et al. 2000). No Cerrado são encontradas as formações savânicas (cerrado *sensu stricto*, parque de cerrado, veredas e palmeirais), as formações campestres (campos limpos, campos sujos e campos rupestres) e as formações florestais (matas de galeria inundáveis e não inundáveis, matas ciliares, matas secas, decíduas, semi-decíduas e sempre-verdes, e cerradão) que abrigam mais de 12 mil espécies de plantas vasculares (Mendonça et al. 2008; Werneck et al. 2011). A distribuição e heterogeneidade das formações do Cerrado resultam da interação entre as condições físico-química do solo, presença de fogo, interação com domínios fitogeográficos circundantes e clima (Oliveira & Marquis 2002; Simon & Pennington 2012; Carvalho & Batalha 2013; Souza-neto et al. 2015), em que as duas primeiras são as principais responsáveis pela manutenção das fisionomias e as demais pela produção e manutenção da diversidade.

Inventários da micobiota do Cerrado apontam Phyllachorales como o terceiro grupo entre os fungos biotróficos parasitas foliares (Dianese et al. 1997), tendo sido relatadas espécies de *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Cocodiella*, *Coccostromopsis*, *Ophiodothella*, *Phaeochorella* e *Phyllachora* em diversas hospedeiras. Historicamente, destacam-se as contribuições clássicas de Hennings, Spegazzini, Viégas e Batista e colaboradores para o conhecimento das espécies de filacoroides do Cerrado (Dianese et al. 1997).

Farr (???) lista XXXX espécies apenas de *Phyllachora*, descritas por Spegazzini, um grande número delas provenientes do Brasil, muitas do Cerrado. Viégas descreveu 15 novas espécies de filacoroides, dos gêneros *Bagnisiopsis*, *Catacauma* (= *Phyllachora*), *Trabutia* (= *Phyllachora*) e *Tolediella*, além de três recombinações de espécies (Viégas 1943a, 1943b, 1943c, 1944a, 1944b, 1946, 1947; Viégas e Teixeira 1945). Por sua vez, Batista e

colaboradores descreveram 40 espécies de filacoroides em plantas coletadas em regiões do Domínio Cerrado pertencentes aos gêneros *Apiosphaeria*, *Catacauma*, *Coccochorella*, *Coccostroma*, *Ophiodothella*, *Oxydothis*, *Phaeochorella*, *Phyllachora*, *Sphaerodothis*, *Stigmochora* e *Trabutia* (Batista & Oliveira 1959; Batista & Peres 1960; Batista et al. 1960a; Batista et al. 1960b; Batista & Peres 1961; Batista & Peres 1962; Batista et al. 1962; Batista et al. 1964a; Batista et al. 1964b; Batista et al. 1964c; Batista et al. 1965; Batista e Bezerra 1966; Batista et al. 1966a; Batista et al. 1966b; Batista et al. 1966c; Batista et al. 1966d; Batista et al. 1966e; Batista et al. 1967a; Batista et al. 1967b; Batista, et al. 1967c; Batista et al. 1967d).

Estudos taxonômicos desenvolvidos na Universidade de Brasília entre 1993 e 2017 registraram 80 espécimes de filacoroides coletados no Cerrado e pertencentes aos gêneros *Camarotella*, *Coccostromopsis*, *Phaeochora*, *Phaeochoropsis*, *Polystigma* e *Phyllachora* em diferentes famílias botânicas (Anacardiaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Asteraceae, Dilleniaceae, Fabaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Sapindaceae, Tilaceae e Verbenaceae) relatadas em sete dissertações de mestrado e uma tese de doutorado. Desse total, acredita-se que 22 possam representar espécies ainda não descritas na literatura (Medeiros 1994; Furlanetto 1995; Souza 2003; Sales 2003; Santos 2011; Souza 2011; Santos 2013; Souza 2017). Embora fornecendo importantes contribuições para o conhecimento desse grupo taxonômico, esses registros não representam publicações válidas de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura de Algas, Fungos e Plantas. No entanto algumas foram efetivamente publicadas, como é o caso de *Camarotella brasiliensis* sobre *Syagrus schizophylla* (Arecaceae) (Souza et al. 2008), além de *Phyllachora cerradensis*, *P. furnasensis*, *P. ermidensis* e *P. myrciariae* em hospedeiras da família Myrtaceae (Santos et al. 2016). Essas últimas foram as primeiras espécies de filacoroides provenientes do Cerrado com sequências de DNA depositadas em acervos públicos.

Devido à falta de dados moleculares de filacoroides do Cerrado, pouco se conhece sobre a relação filogenética destes com os demais Phyllachorales, bem como com os

Sordariomycetes de maneira geral. Dessa forma, no presente capítulo investigou-se as relações filogenéticas dos fungos filacoroides com base nos marcadores moleculares *nrITS* (Espaçador Interno Transcrito), *nrSSU* (Subunidade menor do ribossomo = 18S) e *nrLSU* (Subunidade maior do ribossomo = 28S) do DNA ribossomal, e informação de sequência dos genes nucleares codificadores de proteínas *RPB2* (Segunda maior subunidade da RNA Polimerase II dependente de DNA) e *TEF1- α* (Fator de extensão da tradução 1- α). Foram estudadas 17 morfo-espécies de fungos filacoroides pertencentes a *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phaeochorella*, *Phyllachora* e *Telimena*, coletados em localidades do Domínio Cerrado. Com isso, considerando também os dados moleculares, foi possível uma revisão taxonômica das espécies envolvidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Análises morfológicas

Exsicatas de espécimes previamente identificados como membros de Phyllachorales disponíveis na Coleção Micológica do Herbário da Universidade de Brasília (Herbário UB Col. Micol.) foram caracterizados macro- e micro-morfológicamente para comparação com as descrições originais das espécies. As análises macroscópicas foram realizadas em microscópio estereoscópico (Leica 205C, lentes Leica 10450028) com câmera acoplada (Leica DFC 295) para caracterização das lesões (forma, dimensões, textura, coloração e disposição das lesões e pseudoestromas). Na caracterização microscópica, porções dos espécimes estudados foram seccionadas manualmente ou em crio-micrótomo (Leica CM 1850), com espessura variando entre 20–30 μm para descrição de características do ascoma/picnídio/acérvulo (tipo, forma, dimensões, espessura e textura de parede, presença/ausência do ostíolo, presença/ausência e características do tecido hamatecial), asco (tipo, forma, dimensões, presença/ausência e características do aparato apical, número e disposição dos ascósporos, presença/ausência e características do pedicelo) e esporos sexuais e/ou assexuais (coloração, forma, septação, ornamentação e características de parede, presença/ausência e número de gúttulas, presença/ausência de bainha mucilaginosa). As imagens utilizadas na montagem de pranchas foram obtidas por microscopia de luz com contraste diferencial de interferência (microscopia por ótica Nomarski), utilizando-se microscópio Leica DM 2500 com câmera acoplada (Leica DFC 490) a um microcomputador portando o software LEICAWIN 3.0. Medidas de estruturas macro- e microscópicas e regiões anatômicas foram replicadas em 20 vezes quando possível, para descrição da amplitude morfológica natural de cada estrutura do espécime estudado. Medidas e descrições aqui tomadas em nota foram comparadas com descrições

originais das espécies para confirmação da identidade taxonômica de cada exemplar examinado.

Extração de ADN, amplificação e sequenciamento

A extração do ADN genômico total foi realizada com kit de extração Promega com coluna de sílica (Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit, Madison, WI, USA), seguindo-se as recomendações indicadas pelo fabricante. As extrações foram feitas a partir de excisões dos centros dos ascomas e/ou porções do cirro extrusado através dos ostíolos de espécimes frescos.

No presente estudo foram utilizados cinco sequências parciais ou totais de marcadores moleculares localizados no genoma nuclear, sendo três pertencentes ao RNA ribossômico [*rDNA nrLSU (large subunit of the ribosomal DNA)*, *rDNA nrSSU (small subunit of the ribosomal DNA)* e *rDNA nrITS (internal transcribed spacer of ribosomal DNA)*] e duas codificadoras de proteínas envolvidas na tradução [*TEF1- α (translation elongation factor 1- α)* e *RPB2 (second largest subunit of RNA polymerase II)*]. Os *primers* empregados nas reações de amplificação e sequenciamento via Reações em Cadeia de Polimerase (PCR), assim como as respectivas temperaturas utilizadas no processo de termociclagem são descritos na Tabela 0-1. O sucesso das reações de PCR foi verificado por eletroforese em gel de agarose 1,0 %. Após confirmação, os produtos da reação foram purificados com kit ExoSAP-IT[®] PCR Product Cleanup e enviados para sequenciamento via terminação de cadeia pelo método Sanger na empresa Macrogen Inc. (<http://www.macrogen.com>). Eletroferogramas gerados foram individualmente analisados no software Geneious 9.0.5 (Kearse et al. 2012) pela verificação e correção de ambiguidades, posições heterozigotas, possíveis erros de sequenciamento ou erros de leitura de software. Sequências consenso foram geradas pelo pareamento dos cromatogramas produzidos utilizando-se os *primers* direto (*forward*) e reverso (*reverse*). Para garantir a identidade das sequências geradas foi realizada a

comparação com sequências nucleotídicas mantidas no GenBank, através do algoritmo Blastn (Stephen et al. 1997), ambos hospedados no National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Tabela 1. *Primers* utilizados nas reações de amplificação e sequenciamento via reação em cadeia de polimerase (PCR).

MARCADOR / <i>Primers</i>	Referência Primer	Desnat. Inicial	Desnat. Secundária	Anelamento	Extensão	Extensão Final	Final
<i>ITS</i>				35x			
ITS1F 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'	White et al. (1990)	95° / 1'	95° / 20'	53° / 45"	72° / 45"	72° / 5'	10° / 00
ITS4R 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC3'	Gardes & Bruns (1993)						
<i>ITS / LSU</i>				35x			
V9GF 5' TTACGTCCCTGCCCTTTGTA 3'	Hoog & van den Ende (1998)						
*LR0R 5' ACCCGCTGAACTTAAGC 3'	Vilgalys & Hester (1990)	95° / 1'	95° / 20'	53° / 45"	72° / 45"	72° / 5'	10° / 00
*ITS4R 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'	Gardes & Bruns (1993)						
LR5 5' TCCTGAGGGAACTTCG 3'	Vilgalys & Hester (1990)						
<i>SSU</i>				35x			
NS1 5' GTAGTCATATCGTTGTCTC 3'	White et al. (1990)	95° / 1'	95° / 20'	53° / 45"	72° / 45"	72° / 5'	10° / 00
NS4 5' CTTCCGTCAATTCCTTTAAG 3'	White et al. (1990)						
<i>TEF1-α</i>				35x			
EF1-983F 5' GCYCCYGGHCAYCGTGAYTTYAT 3'	Rehner & Buckley (2005)	95° / 1'	95° / 20'	56° / 45"	72° / 45"	72° / 5'	10° / 00
EF1-2218R 5' ATGACACCRCRGCRCRGTGTG 3'	Rehner & Buckley (2005)						
<i>RPB2</i>				35x			
5F2 5' GGGGWGAYCAGAAGAAGGC 3'	Sung et al. (2007)	95° / 1'	95° / 20'	54°-57° / 45"	72° / 45"	72° / 5'	10° / 00
7cR 5' CCCATRGCTTGYYTTRCCC AT 3'	Liu et al. (1999)						

* primers utilizados apenas nas reações de sequenciamento.

Amostragem taxonômica e alinhamento de sequências nucleotídicas

Considerando a ampla circunscrição morfológica e ecológica dos Phyllachorales, o elevado número de espécies hoje descritas, e o fato de inúmeras espécies do grupo terem sido historicamente vinculadas a diversos taxa de ascomycetos periteciais, foi construída uma matriz nucleotídica inicial contendo representantes dos grandes grupos de Sordariomycetes. A matriz foi utilizada na construção de uma árvore filogenética exploratória para servir de base a análises subsequentes mais específicas. A seleção dos taxa componentes da matriz foi baseada nas publicações de Mardones et al. (2017) e Senanayake et al. (2017), desse modo, sequências de 171 espécimes, representativos de 145 espécies, 89 gêneros e 17 ordens de Sordariomycetes foram obtidos no Genbank e alinhadas às novas sequências geradas neste trabalho, utilizando-se algoritmos apropriados às características de cada marcador molecular. *Leotia lubrica* foi selecionada como grupo externo para reconstrução filogenética de Sordariomycetes, conforme Mardones et al. (2017) (Tabela 0-2).

Baseando-se nos resultados das análises exploratórias, novas matrizes nucleotídicas foram construídas, restringindo-se a amostragem taxonômica e molecular aos grupos identificados como melhores representantes dos espécimes de fungos filacoroides do Cerrado. A amostragem taxonômica e molecular utilizada nas análises filogenéticas subsequentes são descritas nos estudos referentes a cada grupo taxonômico.

O alinhamento das regiões ribossômicas nrSSU, nrLSU e nrITS foi realizado utilizando-se o software Mafft 7.305 (Kato & Standley 2013), com a estratégia E-INS-i para regiões com múltiplos domínios conservados e longos *gaps*. Considerando a natureza codante dos marcadores *TEF1- α* e *RPB2* e a ausência de *introns* nas regiões sequenciadas de ambos marcadores, foi utilizado o algoritmo de alinhamento orientado para *codons*, usando o software Macse (Ranwez et al. 2011). A correta combinação dos nucleotídios em *codons* foi confirmada pela tradução das sequências nucleotídicas em aminoácidos, a ausência de *stop-*

codons e a comparação com sequências de referência anotadas e depositadas no Genbank, usando-se *Trichoderma reesei* Z23012 (Nakari et al. 1993) para *TEF1- α* , *Neurospora crassa* AF107789, *Podospora anserina* AF107790 e *Chaetomium elatum* AF107791 para *RPB2* (Liu et al. 1999). Em todas as análises os *TEF1- α* e *RPB2* foram particionados em 1ª, 2ª e 3ª posição de acordo com a disposição dos *codons*.

Análises filogenéticas

As árvores filogenéticas foram construídas por análises de Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). Na análise de MV utilizou-se o software RAxML 8.2.9 (Stamatakis 2014), com a busca pela árvore de maior representatividade dos dados feita pelo método ‘*randomized stepwise addition parsimony tree*’, modelo GTR+GAMMA. O suporte filogenético dos ramos foi calculado com base em 1000 randomizações por Bootstrap, modelo GTR+GAMMA. A reconstrução por IB implementada no software MrBayes 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) foi executada no modo 4by4. Para cada análise foram executadas duas corridas com quatro cadeias independentes cada, sendo executadas por 20.000.000 de gerações e amostragem a cada 1.000 gerações, podendo variar de acordo com o banco de dados em análise (Tabelas I-2, II-13 e III-15). A taxa de variação ao longo da matriz nucleotídica foi aproximada utilizando a distribuição *gamma* com quatro categorias discretas. A convergência das Cadeias de Markov foi avaliada através do ASDSF (*Average Standard Deviation of Split Frequencies*), em que valores inferiores a 0.01 foram considerados satisfatórios. Após descarte das árvores iniciais (árvores descartadas por *burn-in*), as remanescentes foram utilizadas no cálculo das probabilidades-posteriores dos ramos (PP). Os modelos evolutivos utilizados como *priors* na IB foram selecionados através do software jModelTest 2.1.6 (Guindon & Gascuel 2003; Darriba et al. 2012). As análises de MV, IB e a seleção dos modelos evolutivos através do jModelTest foram executadas na plataforma Cipres 3.1 (Miller et al. 2010).

Tabela 2. Datalhamento dos espécimes empregados na análise filogenética exploratória de Sordariomycetes e seus respectivos códigos de depósito no GenBank.

Grupo Taxonômico Taxa Voucher	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
Hypocreomycetidae, Coronophorales							
<i>Chaetosphaerella phaeostroma</i> SMH 4257			AY695264			FJ968940	
Hypocreomycetidae, Falcocladales							
<i>Falcocladium multivesiculatum</i> CBS 120386			JF831932	JF831928			
<i>Falcocladium sphaeropedunculatum</i> CBS 111292			JF831933	JF831929			
Hypocreomycetidae, Glomerellales							
<i>Glomerella cingulata</i> CBS 114054			AF543786	AF543762		DQ522441	
<i>Kylindria peruamazonensis</i> CBS 838.91			GU180638	GU180609		GU180656	
<i>Monilochaetes infuscans</i> CBS 869.96			GU180639	GU180620		GU180657	
<i>Verticillium dahliae</i> ATCC 16535			DQ470945	AY489705		DQ522468	
Hypocreomycetidae, Hypocreales							
<i>Balansia henningsiana</i> AEG96 27a			AY489715	AY489683		DQ522413	
<i>Bionectria ochroleuca</i> AFTOL ID 187			DQ862027	DQ862044		DQ862013	
<i>Cordyceps cardinalis</i> OSC 93610			AY184963	AY184974		EF469106	
<i>Hypocrea lutea</i> ATCC 208838			AF543791	AF543768		DQ522446	
<i>Ophiocordyceps irangiensis</i> OSC 128578			DQ518770	DQ522556		DQ522445	
<i>Roumegueriella rufula</i> GJS 91 164			EF469082	EF469129		EF469116	
<i>Sphaerostilbella berkeleyana</i> CBS 102308			U00756	AF543770		DQ522465	
<i>Tolypocladium capitatum</i> OSC 71233			AY489721	AY489689		DQ522421	
<i>Tolypocladium japonicum</i> OSC 110991			DQ518761	DQ522547		DQ522428	
Hypocreomycetidae, Melanosporales							
<i>Melanospora tiffanii</i> ATCC 15515			AY015630	AY015619		AY015637	
<i>Melanospora zamiae</i> ATCC 12340			AY046579	AY046578		AY046580	
Hypocreomycetidae, Microascales							
<i>Aniptodera chesapeakeensis</i> ATCC 32818			U46882	U46870		DQ470896	
<i>Graphium penicillioides</i> CBS 506.86			AF027384	DQ471038		DQ470938	
<i>Halosphaeria appendiculata</i> CBS 197.60			U46885	U46872			
<i>Microascus trigonosporus</i>							

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Taxa</i> Voucher							
CBS 218.31			DQ470958	DQ471006		DQ470908	
Leotiomycetidae, Helotiales							
<i>Leotia lubrica</i> Spat 03 012			NG027596				
Sordariomycetidae, Boliniales							
<i>Camarops amorphia</i> SMH 1450			AY780054			AY780156	
<i>Camarops microspora</i> CBS 649 92			AY083821	DQ471036		DQ470937	
<i>Camarops tubulina</i> SMH 4614			AY346266			AY780157	
<i>Camarops ustulinooides</i> DEH 2164			DQ470941	DQ470989		DQ470882	
Sordariomycetidae, Calosphaeriales							
<i>Calosphaeria africana</i> STEU 6182			EU367455		NR_135945		
<i>Calosphaeria pulchella</i> CBS 115999		<i>Prunus sp</i>	AY761075	AY761071	EU367451	GU180661	
<i>Jattaea mucronata</i> MFLUCC 160534	Thailand	Rhizophora mucronata	KY034451		KY034452	KY039317	
Sordariomycetidae, Cordanales							
<i>Papulosa amerospora</i> JK 5547F			DQ470950	DQ470998		DQ470901	
Sordariomycetidae, Diaporthales							
<i>Alnecium auctum</i> CBS 124263	Austria	<i>Alnus glutinosa</i>	KF570154		KF570154	KF570170	KF570200
<i>Ambarignomonium petiolorum</i> CBS 116866	USA: Tennessee	<i>Liquidambar styraciflua</i>	AY818963		EU199193	EU199151	
CBS 121227	USA: VA	<i>Liquidambar styraciflua</i>	EU255070		EU254748	EU219307	EU221898
<i>Amphiportha hranicensis</i> CBS 119289	Austria	<i>Tilia platyphyllos</i>	EU199122		EU199178	EU199137	
<i>Apiognomonium errabunda</i> AR 2813	Switzerland	<i>Fagus sylvatica</i>	NG027592		DQ313525	DQ862014	DQ313565
<i>Apiognomonium veneta</i> CBS 89779	Switzerland	<i>Platanus orientalis</i>	EU255195			EU219259	EU221910
● <i>Apiosphaeria guaranítica</i>							
CDUB247	Brazil	<i>Handroanthus serratifolius</i>	MG573327		MG573327	MG573309	MG573318
CDUB247asx	Brazil	<i>Handroanthus serratifolius</i>	MG573328		MG573328		
UB22757	Brazil	<i>Handroanthus serratifolius</i>	MG573335			MG573311	MG573319
UB22757asx	Brazil	<i>Handroanthus serratifolius</i>	MG573336				
UB23393	Brazil	<i>Handroanthus ochraceus</i>	MG573329		MG573329	MG573312	MG573320
UB23518	Brazil	<i>Handroanthus ochraceus</i>	MG573330		MG573330	MG573313	MG573322

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Taxa</i> Voucher							
UB23561	Brazil	<i>Handroanthus ochraceus</i>	MG573331		MG573331	MG573314	MG573323
UB23561asx	Brazil	<i>Handroanthus ochraceus</i>	MG573332		MG573332		
UB23750	Brazil	<i>Handroanthus ochraceus</i>				MG573315	MG573324
UB23795	Brazil	<i>Handroanthus ochraceus</i>	MG573333		MG573333	MG573316	MG573325
UB23801	Brazil	<i>Handroanthus ochraceus</i>	MG573334		MG573334	MG573317	MG573326
<i>Celoporthe dispersa</i> CMW 9978	South Africa	<i>Syzygium cordatum</i>	HQ730854		AY214316		HQ730841
<i>Celoporthe eucalypti</i> CMW 26913	China	<i>Eucalyptus EC48 clone</i>	HQ730865		HQ730839		HQ730852
<i>Chaetoconis polygoni</i> MFLU 170965	Germany	<i>Rumex acetosa</i>	MF190063				
<i>Chiangraiomycetes bauhiniae</i> MFLUCC 17 1669	Thailand	<i>Bauhinia sp</i>	MF190064		MF190119	MF377603	MF377598
MFLUCC 17 1670	Thailand	<i>Bauhinia sp</i>	MF190065		MF190118	MF377604	MF377599
<i>Chromendothia citrina</i> AR 3445	Russia	<i>Quercus mongolica</i>	EU255074			EU219342	EU222013
<i>Chrysoporthe cubensis</i> CBS 101281	Colombia	<i>Eucalyptus sp</i>	JN940856		JN942342		GQ290137
CMW 14394			AF408338	DQ862047		DQ862016	
<i>Coniella africana</i> CBS 114133	South Africa	<i>Eucalyptus nitens</i>	AY339293		AY339344	KX833421	KX833600
<i>Coniella australiensis</i> IMI 261318	South Africa	Leaf litter	AF408336		AF408336	KX833497	KX833692
<i>Coniella fragariae</i> CBS 110394	Peru: Iquitos	Forest soil	KJ710441		KJ710463	KX833499	KX833695
<i>Coniella koreana</i> CBS 14397	South Korea		AF408378		KX833584	KX833490	KX833684
<i>Coniella straminea</i> CBS 14922	USA	<i>Fragaria sp</i>	AY339296		AY339348	KX833506	AY339366
<i>Coniella tibouchinae</i> CPC 18511	Brazil: Minas Gerais	<i>Tibouchina granulosa</i>	JQ281776		JQ281774	KX833507	JQ281778
<i>Coniella wangiensis</i> CPC 19397	Australia	<i>Eucalyptus sp</i>	JX069857		JX069873	KX833509	KX833705
<i>Corynyn arausiaca</i> MFLUCC 13 0658	Italy	<i>Quercus sp</i>	MF190066		MF190120	MF377609	MF377574
MFLUCC 15 1110	Italy	<i>Quercus sp</i>	MF190067		MF190121	MF377610	MF377575
<i>Cryphonectria parasitica</i> ATCC 38755			NG027589	DQ862048		DQ862017	
<i>Cryptodiaporthe aesculi</i> AR 3580	Austria	<i>Aesculus hippocastanum</i>	AF408342		EU199179	EU199138	
<i>Cryptosporrella hypodermia</i> CBS 116866	Austria	<i>Ulmus minor</i>	AF408346		EU199181	EU199140	

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Cryptosporella suffusa</i>			DQ862028	DQ862049		DQ862018	
CBS 171.69							
CBS 121077	Austria	<i>Alnus incana</i>	EU199124		EU199184	EU199142	
<i>Cytospora carbonacea</i>							
CFCC 50056	China: Development Zone, Yulin, Shaanxi	<i>Ulmus pumila</i>	KP310809		KP281263		KP310852
<i>Cytospora centrivillosa</i>							
MFLUCC 16 1206	Italy	<i>Sorbus domestica</i>	MF190068		MF190122	MF377600	
MFLUCC 17 1660	Italy	<i>Sorbus domestica</i>	MF190069		MF190123	MF377601	
<i>Cytospora chrysosperma</i>							
CFCC 89630	China: Yulin, Shaanxi	<i>Salix psammophila</i>	KF765690		KF765674	KF765706	
<i>Cytospora hippophaes</i>							
CFCC 89640	China: Gannan, Gansu	<i>Hippophae rhamnoides</i>	KF765698		KF765682	KF765714	KP310865
<i>Cytospora junipericola</i>							
BBH 42444	Italy	<i>Juniperus communis</i>	MF190071		MF190126		MF377579
MFLU 17 0882	Italy	<i>Juniperus communis</i>	MF190072		MF190125		MF377580
<i>Cytospora nivea</i>							
CFCC 89643	China: Yulin, Shaanxi	<i>Salix psammophila</i>	KF765701		KF765685	KF765717	
<i>Cytospora sacculus</i>							
CFCC 89625	China: Gansu Province	<i>Juglans regia</i>	KR045725		KR045646		KP310861
<i>Diaporthe cassines</i>							
CBS 136440	South Africa: Western Cape Province	<i>Cassine peragua</i>	KF777208		KF777155		KF777244
<i>Diaporthe eres</i>							
CBS 109767			AF408350	DQ471015		DQ470919	
MFLUCC 14 0862	Russia	<i>Catalpa bignonioides</i>	MF190082		MF190135		MF377596
MFLUCC 17 1661	Russia	<i>Catalpa bignonioides</i>	MF190083		MF190136		MF377597
MFLUCC 17 1667	Russia	<i>Fraxinus pennsylvanica</i>	MF190080		MF190137		MF377594
MFLUCC 17 1668	Russia	<i>Fraxinus pennsylvanica</i>	MF190081		MF190138		MF377595
<i>Diaporthe rudis</i>							
IT 1526	Italy	<i>Acer campestre</i>	MF190088		MF190141		MF377576
MFLU 17 0895	Italy	<i>Acer campestre</i>	MF190089		MF190142		MF377577
<i>Discula destructiva</i>							
CBS 109771	USA	<i>Cornus nuttallii</i>	AF408359		EU199186	EU199144	
<i>Ditopella biseptata</i>							
MFLU 17 0884	Italy	<i>Alnus glutinosa</i>	MF190090		MF190148	MF377617	
MFLU 17 0884B	Italy	<i>Alnus glutinosa</i>	MF190091		MF190147	MF377616	
<i>Ditopella ditopa</i>							
CBS 109748	Austria	<i>Alnus glutinosa</i>	EU199126		DQ323526	EU199145	

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Ditopellopsis sp.</i>							
CBS 121471	USA: NC	<i>Clethra alnifolia</i>	EU255088		EU254763	EU219254	EU221936
<i>Gnomonia gnomon</i>							
CBS 199.53	Italy	<i>Corylus avellana</i>	AF408361		DQ491518	EU219295	EU221885
<i>Gnomoniopsis racemula</i>							
AR 3892			AF408361	DQ471019		DQ470922	
<i>Hyaliappendispora galii</i>							
MFLUCC 161208	USA: MN	<i>Epilobium angustifolium</i>	EU255122		EU254841	EU219241	EU221889
<i>Juglanconis juglandina</i>							
AR 3860	Austria	<i>Juglanconis juglandina</i>			KY427149	KY427199	KY427218
CBS 121083	Austria	<i>Juglans regia</i>	KY427148		KY427148	KY427198	KY427217
D 96	Austria	<i>Juglans regia</i>	KY427145		KY427145	KY427195	KY427214
<i>Juglanconis oblonga</i>							
MAFF 410216	Japan	<i>Juglans ailanthifolia</i>	KY427153		KY427153	KY427203	KY427222
MAFF 410217	Japan	<i>Juglans ailanthifolia</i>	KY427154		KY427154	KY427204	KY427223
<i>Juglanconis pterocaryae</i>							
MAFF 410079	Japan	<i>Pterocarya rhoifolia</i>	KY427155		KY427155	KY427205	KY427224
<i>Lamproconium desmazieri</i>							
MFLUCC 14 1047	Russia	<i>Tilia cordata</i>	KX430133		KX430132		MF377592
MFLUCC 15 0870	Russia	<i>Tilia tomentosa</i>	KX430135		KX430134	MF377605	MF377591
MFLUCC 15 0872	Russia	<i>Tilia cordata</i>	AF408372		KX430139	MF377606	MF377593
<i>Mazzantia napelli</i>							
AR 3498	Austria	<i>Aconitum lycoctonum</i>	AF408368			EU219345	EU222017
<i>Melanconiella chrysoelanconium</i>							
MFLU 17 0879	Italy	<i>Carpinus betulus</i>	MF190113		MF190167	MF377619	
<i>Melanconiella ellisii</i>							
BPI 878343		<i>Carpinus caroliniana</i>			JQ926271	JQ926339	JQ926406
<i>Melanconis alni</i>							
AR 3500	Austria	<i>Alnus viridis</i>	AF408371			EU219300	EU221896
AR 3748	Austria	<i>Alnus viridis</i>	EU199130		EU199195	EU199153	
<i>Melanconis marginalis</i>							
AR 3442	Canada	<i>Alnus rubra</i>	AF408373		EU199197	EU219301	EU221991
<i>Microascospora rubi</i>							
BBH 42448	Italy	<i>Rubus ulmifolia</i>	MF190099		MF190153	MF377612	MF377582
MFLU 17 0886	Italy	<i>Rubus ulmifolia</i>	MF190098		MF190154	MF377611	MF377581
<i>Occultocarpon ailaoshanense</i>							
LCM 52201	China: Yunnan	<i>Alnus nepalensis</i>	JF779852		JF779848	JF779857	JF779862
LCM 52401	China: Yunnan	<i>Alnus nepalensis</i>	JF779853		JF779849	JF779856	
<i>Ophiodiaporthe cyatheae</i>							
YMJ 1364	Taiwan	<i>Cyathea lepifera</i>	JX570891		JX570889	JX570893	KC465406
<i>Ophiognomonia melanostyla</i>							
LCM 38901	Germany:	<i>Tilia cordata</i>	JF779854		JF779850	JF779858	

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Taxa</i> Voucher							
	Hesse						
<i>Ophiognomonium vasiljevae</i>							
AR 4298	USA: TN	<i>Juglans nigra</i>	EU255162		EU254977	EU219331	EU221999
<i>Phaeoappendispora thailandensis</i>							
MFLUCC 13 0161	Italy	<i>Quercus sp</i>	MF190102		MF190157	MF377613	
MFLUCC 17 1762	Italy	<i>Quercus sp</i>	MF190103		MF190158	MF377614	
• <i>Phaeochorella parinari</i>							
UB 23270	Brazil	<i>Parinari obtusifolia</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23808	Brazil	<i>Parinari obtusifolia</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Phaeocytostroma ambiguum</i>							
CPC 17077	South Africa	<i>Zea mays</i>	FR748100		FR748041		FR748073
<i>Pleuroceras oregonense</i>							
AR 4333	Canada: BC	<i>Salix sitchensis</i>	EU255196		EU255060	EU219313	EU221931
<i>Pleuroceras pleurostylum</i>							
CBS 90679	Switzerland	<i>Salix helvetica</i>	EU255197		EU255061	EU219311	EU221962
<i>Pleuroceras tenellum</i>							
CBS 121082	USA: North Carolina	<i>Acer rubrum</i>	EU255202		EU199199	EU199155	EU221907
<i>Pseudoplagiostoma eucalypti</i>							
CBS 124807	Venezuela	<i>Eucalyptus urophylla</i>	GU973606		GU973512		GU973542
CPC 14161	Viet Nam	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	GU973604		GU973510		GU973540
<i>Pseudoplagiostoma oldii</i>							
CBS 115722	Australia	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	GU973610		GU973535		GU973565
CBS 124808	Australia	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	GU973609		GU973534		GU973564
<i>Pseudoplagiostoma variabile</i>							
CBS 113067	Uruguay	<i>Eucalyptus globulus</i>	GU973611		GU973536		GU973566
<i>Sirococcus tsugae</i>							
AR 4010	USA: Oregon	<i>Cedrus deodara</i>	EU255207		EF512478	EU219289	EU221928
CBS 119626	USA: Alaska	<i>Tsuga mertensiana</i>	EU199136		EU199203	EU199159	EF512534
<i>Sordaria fimicola</i>							
CBS 50850		Dung	AY681160		AY681188	DQ368647	
<i>Stegonsporium acerophilum</i>							
CBS 117025	USA	<i>Acer saccharum</i>	EU039993		EU039982	KF570173	EU040027
<i>Stilbospora macrosperma</i>							
CBS 121883	Austria: Leithenbachtal	<i>Carpinus betulus</i>	JX517299		JX517290	KF570196	
<i>Valsa ambiens</i>							
AR 3516			AF362564	DQ862056		DQ862025	
<i>Valsella salicis</i>							
AR 3514	Italy	<i>Salix fragilis</i>	EU255210			EU219346	EU222018
Sordariomycetidae, Incertae sedis							
<i>Myrmecridium montsecurinum</i>							
JF 13180		<i>Fraxinus excelsior</i>	KT991664		KT991674	KT991654	
Sordariomycetidae, Magnaporthales							

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Taxa</i> Voucher							
Buergenerula spartinae							
ATCC 22848			DQ341492	DQ341471			
Ophioceras dolichostomum							
CBS 114926			JX134689	JX134663			
Ophioceras leptosporum							
CBS 894.70			JX134690	JX134664			
Pseudohalonectria lignicola							
M 95			JX134691	JX134665			
Sordariomycetidae, Ophiostomatales							
Ophiostoma piliferum							
CBS 158.74			DQ470955	DQ471003		DQ470905	
Ophiostoma stenoceras							
CBS 139.51			DQ836904	DQ836897		DQ836891	
Sordariomycetidae, Phyllachorales							
● Camarotella acrocomiae							
UB 23800	Brazil	<i>Cocos nucifera</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23803	Brazil	<i>Cocos nucifera</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● Camarotella sp. nov. 1							
UB 23443	Brazil	<i>Butia sp.</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Camarotella costaricensis							
MM 149	Panama	<i>Acrocomia aculeata</i>	KX430484	KX451863	KX451913	KX451954	KX451982
MM 21	Panama	<i>Acrocomia aculeata</i>	KX430490	KX451851	KX451900	KX451963	KX451988
Camarotella sp.							
MM 27	Panama	Unknown	KX430492	KX451852	KX451901		
Cocodiella melastomatum							
CMU 78543	Venezuela	<i>Miconia sp</i>		U78543			
Cocodiella miconiae							
ppMP 1342	Panama	<i>Miconia sp</i>	KX430506	KX451871			
Cocodiella miconicola							
TH 571	Panama	<i>Ossaea micrantha</i>	KX430512	KX451880			
Cocodiella sp.							
MM 165	Ecuador	Unknown	KX430488	KX451865	KX451917	KX451957	KX451986
Cocodiella toledoii							
Unknown	Venezuela	<i>Miconia sp</i>		U78544			
Cocoicola californica							
F 59034	USA	<i>Washingtonia robusta</i>	KX430468	KX451866	KX451918	KX451958	KX451995
F 59038	USA	<i>Washingtonia robusta</i>	KX430469	KX451867	KX451919	KX451959	KX451996
Ophiodothella vaccinii							
ATCC 36333				U78777			
● Ophiodotella sp. nov. 1							
UB 23468	Brazil	<i>Myrcia tomentosa</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● Ophiodotella sp. nov. 2							
UB 23588	Brazil	<i>Campomanesia adamantium</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● Phyllachora sp. nov. 1							
UB 23602	Brazil	<i>Protium heptaphyllum</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Phyllachora cerradensis</i>							
UB 23818	Brazil	<i>Myrcia torta</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Phyllachora graminis</i>							
DAOM 240981	Canada	grass			HQ317550		
MM 166	Germany	<i>Hordelymus europaeus</i>		KX451869	KX451920	KX451962	KX452001
RoKi 3084	Germany	<i>Arrhenatherum elatius</i>		KX451872			
TH 544	Panama	<i>Dichantherium viscidellum</i>	KX430508	KX451873			
UME 31349	Sweden				AF064051		
n.d.					AF257111		
● <i>Phyllachora</i> sp.nov. 2							
UB 23500	Brazil	<i>Aspidosperma tomentosum</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● <i>Phyllachora maprouneae</i>							
UB 23708	Brazil	<i>Maprounea guianensis</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● <i>Phyllachora oxyspora</i>							
UB 23607	Brazil	<i>Imperata brasiliensis</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● <i>Phyllachora pouteriae</i>							
UB 21765	Brazil	<i>Pouteria ramiflora</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● <i>Phyllachora puncta</i>							
UB 23464	Brazil	<i>Dalbergia miscolobium</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23494	Brazil	<i>Dalbergia miscolobium</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23575	Brazil	<i>Dalbergia miscolobium</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23378	Brazil	<i>Machaerium opacum</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● <i>Phyllachora qualeae</i>							
UB 23376	Brazil	<i>Qualea parviflora</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23377	Brazil	<i>Qualea parviflora</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
● <i>Phyllachora roupalina</i>							
UB 21303	Brazil	<i>Roupala montana</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23375	Brazil	<i>Roupala montana</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Phyllachora maydis</i>							
BPI 893231	USA	<i>Zea mays</i>			KU184459		
<i>Phyllachora</i> sp. 1							
MM 130	Thailand	Unknown		KX451883		KX451949	KX451976
<i>Phyllachora</i> sp. 2							
MM 128	Thailand	Bamboo		KX451859	KX451908	KX451964	KX451973
MM 129	Thailand	Bamboo		KX451860	KX451909	KX451948	KX451974
<i>Phyllachora</i> sp. 3							
MM 134	Costa Rica	<i>Chusquea longifolia</i>	KX430479	KX451884		KX451968	

Grupo Taxonômico	Localidade	Hospedeiro	nrLSU	nrSSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Taxa</i> Voucher							
MM 135	Costa Rica	<i>Chusquea longifolia</i>		KX451885		KX451951	KX451978
MM 78	Costa Rica	<i>Chusquea sp</i>		KX451853		KX451942	KX451990
MM 98	Costa Rica	<i>Chusquea longifolia</i>	KX430502	KX451856		KX451945	KX451994
SO 07	Ecuador	<i>Chusquea sp</i>		KX451890			KX452009
<i>Phyllachora sp. 4</i>							
RMB 1061	Benin	<i>Panicum maximum</i>		KX451870	KX451921		KX452002
<i>Polystigma amygdalinum</i>							
EA 1			KM111540	KM111539			
<i>Polystigma pusillum</i>							
MM 113	Costa Rica	<i>Andira inermis</i>	KX430474	KX451858	KX451907	KX451947	KX451972
MM 147	Costa Rica	<i>Andira inermis</i>		KX451862			KX451981
MM 19	Panama	<i>Andira inermis</i>	KX430489	KX451850	KX451899	KX451941	KX451987
<i>Polystigma sp.</i>							
MM 163	Ecuador	<i>Paspalum sp</i>	KX430487	KX451864	KX451916		KX451985
<i>Serenomyces phoenicis</i>							
PLM 314	USA	<i>Phoenix canariensis</i>		KX451868	KX451928	KX451960	KX451997
PLM 315	USA	<i>Phoenix canariensis</i>	KX430505	KX451886		KX451961	KX451998
<i>Sphaerodothis acrocomiae</i>							
n.d.		Cocos nucifera		U76340			
<i>Telimena aequatoriensis</i>							
SO 05	Ecuador	<i>Monnina hirta</i>		KX451889			KX452008
<i>Telimena bicincta</i>							
MM 108	Costa Rica	<i>Picramnia antidesma</i>		KX451857	KX451906	KX451946	KX451971
MM 133	Costa Rica	<i>Picramnia antidesma</i>	KX430478	KX451861	KX451910	KX451950	KX451977
<i>Telimena canafistulae</i>							
MM 13	Panama	<i>Cassia fistula</i>	KX430477	KX451849	KX451898		KX451975
<i>Telimena engleri</i>							
MM 153	Ecuador	<i>Anthurium sp</i>		KX451888	KX451914	KX451955	KX451983
MM 159	Ecuador	<i>Anthurium sp</i>			KX451915	KX451956	KX451984
SO 09	Ecuador	<i>Anthurium cf. triphyllum</i>			KX451934		KX452010
TH 551	Panama	<i>Anthurium concinatum</i>	KX430511	KX451875	KX451895	KX451939	KX451969
<i>Telimena leae</i>							
TH 549	Panama	<i>Cissus trianae</i>	KX430509	KX451874			
<i>Telimena picramniae</i>							
MM 05	Panama	<i>Picramnia sp</i>	KX430470	KX451848	KX451896	KX451940	KX451970
• <i>Telimena salaciae</i>							
UB 23815	Brazil	<i>Salacia crassifolia</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
• <i>Telimena sp. nov. 1</i>							
UB 23680	Brazil	<i>Serjania sp.</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Telimena sp. 1</i>							
MM 143	Panama	<i>Eugenia acapulcensis</i>		KX451887	KX451911	KX451952	KX451979

Grupo Taxonômico								
<i>Taxa</i>	Localidade	Hospedeiro	<i>nrLSU</i>	<i>nrSSU</i>	<i>nrITS</i>	<i>RPB2</i>	<i>TEF1</i>	
Voucher								
MM 144	Panama	<i>Eugenia acapulcensis</i>			KX451912	KX451953	KX451980	
<i>Telimena sp. 2</i>								
MM 92	Costa Rica	<i>Eugenia sp</i>	KX430501	KX451855	KX451905	KX451944	KX451993	
<i>Telimena sp. 3</i>								
MM 88	Costa Rica	<i>Symplocos panamensis</i>	KX430499	KX451854	KX451904	KX451943	KX451991	
<i>Telimena sp. 4</i>								
MM 47	Costa Rica	<i>Rinorea sp</i>			KX451902		KX451989	
<i>Telimena sp. 5</i>								
SO 14	Ecuador	<i>Wettinia sp</i>		KX451892	KX451936			
SO 21	Ecuador	<i>Wettinia sp</i>		KX451893	KX451937		KX452012	
SO 22	Ecuador	Unknown		KX451894	KX451938		KX452013	
<i>Telimena ulei</i>								
SO 12	Ecuador	<i>Dioscorea meridensis</i>		KX451891	KX451935		KX452011	
TH 574	Panama	<i>Dioscorea urophylla</i>		KX451877				
<i>Telimena zanthoxylicola</i>								
TH 550	Panama	<i>Zanthoxylum scheryi</i>	KX430510	KX451879				
Sordariomycetidae, Sordariales								
<i>Bombardia bombardia</i>								
SMH 3391			DQ470970	DQ471021		DQ470923		
<i>Cercophora coprophila</i>								
SMH 3794			AY780058			AY780162		
<i>Gelasinospora tetrasperma</i>								
CBS 178.33			DQ470980	DQ471032		DQ470932		
<i>Lasiosphaeria ovina</i>								
CBS 958.72			AY587946	AY083799		AY600286		
<i>Sordaria fimicola</i>								
CBS 15.5973			AY545728	AY545724		AY780194		
<i>Sordaria macrospora</i>								
AFTOL ID 393			AY346301	AY641007		AY641074		
Sordariomycetidae, Togniniales								
<i>Phaeoacremonium vibratilis</i>								
CBS 117115	France	<i>Fagus sylvatica</i>	DQ649065		KF764573	HQ878611	KF764645	
<i>Togninia vibratilis</i>								
CBS 117115			DQ649065			HQ878611		
Xylariomycetidae, Xylariales								
<i>Diatrype disciformis</i>								
CBS 197.49			DQ470964	DQ471012		DQ470915		
<i>Eutypa lata</i>								
CBS 208.87			DQ836903	DQ836896		DQ836889		
<i>Eutypella sp.</i>								
MFLUCC 16 1215	Italy	<i>Alnus cordata</i>	MF190112		MF190165	MF377618	MF377578	
<i>Xylaria acuta</i>								
ATCC 56487			AY544676	AY544719		DQ247797		

• Espécimes sequenciados no presente estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foram incluídas 17 morfo-espécies de fungos filacoroides representando os gêneros *Apiosphaeria*, *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phaeochorella*, *Phyllachora* e *Telimena*, para os quais foram sequenciadas as regiões genômicas *nrSSU*, *nrLSU* e *nrITS* do *rDNA*, *RPB2* e *TEF1- α* (Tabela 0-2). As análises filogenéticas somadas aos estudos morfológicos permitiram a descrição de novas espécies de *Camarotella*, *Ophiodothella*, *Phyllachora* e *Telimena*, a partir de holótipos coletados em diversos Estados pertencentes ao Domínio Cerrado. Além disso, epitipificações são aqui propostas para dez espécies atualmente reconhecidas e pertencentes aos gêneros *Apiosphaeria*, *Cocodiella*, *Phaeochorella*, *Phyllachora* e *Telimena*. Adicionalmente, vouchers emprestados do Fungarium Ahmés Pinto Viégas (pertencentes ao Herbário do Instituto Agronômico de Campinas – IACM), foram analisados e utilizados nas comparações com os novos taxa identificados e descritos.

Análise filogenética exploratória de Phyllachorales em plantas do Cerrado

A matriz exploratória de Sordariomycetes incluiu os marcadores moleculares *nrLSU*, *nrSSU*, *RPB2* e a região *5.8S* do *nrITS*, que após alinhados compuseram a matriz final contendo 4743 nucleotídeos utilizados nas análises filogenéticas posteriores. Separadamente, as matrizes nucleotídicas contêm 1602 caracteres com 827 variáveis e 577 parcimônio-informativos (70% dos sítios variáveis) para o *nrLSU*, 1489 caracteres com 836 variáveis e 513 parcimônio-informativos (61% dos sítios variáveis) para o *nrSSU*, 1464 caracteres com 1054 variáveis e 913 parcimônio-informativos (87% dos sítios variáveis) para o *RPB2* e 188 caracteres com 140 variáveis e 99 parcimônio-informativos (71% dos sítios variáveis) para o *5.8S*. Os modelos evolutivos de melhor ajuste, selecionados através do software jModelTestm e usados como *priors* na IB, são listados na Tabela 0-3.

Tabela 3. Descritores das matrizes nucleotídicas e *priors* utilizados nas reconstruções filogenéticas de Sordariomycetes.

Parâmetro	Partição					
	<i>nrLSU</i>	<i>nrSSU</i>	<i>rpb2 1^a</i>	<i>rpb2 2^a</i>	<i>rpb2 3^a</i>	<i>5.8S</i>
Comprimento da matriz	1602	1489		1464		188
Sítios variáveis	827	836		1054		140
Parcimonio informativos	577	513		913		99
Modelo Evolutivo	GTR+I+G	GTR+G	TIM2+G	TPM3uf+I+G	TIM2+I+G	TIM3+G
Valor Verossimilhança	-25474.86	-16538.01	-12415.14	-9054.29	-34233.41	-3279.40
Frequência das bases	-	-	-	-	-	-
Freq. A	0.216	0.260	0.248	0.296	0.158	0.324
Freq. C	0.238	0.221	0.288	0.256	0.315	0.239
Freq. G	0.322	0.283	0.303	0.239	0.308	0.202
Freq. T	0.224	0.236	0.161	0.209	0.219	0.235
Taxa de transição	-	-	-	-	-	-
R (AC)	1.084	0.983	1.945	1.959	1.626	0.599
R (AG)	3.006	2.054	1.936	2.073	5.833	1.782
R (AT)	1.560	1.135	1.945	1.000	1.626	1.000
R (CG)	0.841	0.821	1.000	1.959	1.000	0.599
R (CT)	7.733	4.373	4.272	2.073	7.104	3.410
R (GT)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Proporção de sítios invariáveis	0.067	-	-	0.052	0.003	-
Gamma	0.540	0.730	0.713	0.653	2.594	0.360

A análise filogenética exploratória revelou que os fungos filacoroides do Cerrado constituem um grupamento polifilético distribuídos em duas ordens de Sordariomycetes: Diaporthales e Phyllachorales (Figura 0–1). Espécimes pertencentes aos gêneros *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella* e *Phyllachora* foram filogeneticamente alocados em Phyllachorales, a qual formou um clado filogeneticamente com elevados valores de suporte (BS = 95; BPP = 1). Apesar do alto valor de sustentação da hipótese de monofiletismo de Phyllachorales, representantes das ordens Sordariales (por exemplo, *Sordaria fimicola*, *S. macrospora*, *Gelasinospora tetrasperma*, *Bombardia bombardia*, *Lasiosphaeria ovina* e *Cercophora coprophila*) e Boliniales (por exemplo, *Camarops amorpha*, *C. microspora*, *C. tubulina* e *C. ustulinoides*) agruparam-se nesse clado, assim, optou-se por realizar novas análises filogenéticas restringindo-se a amostragem taxonômica a Phyllachorales, utilizando Boliniales como grupo externo (Figura 0–2, Figura 0–3).

Já os gêneros *Apiosphaeria* e *Phaeochorella* – aqui representados pelas espécies tipo dos respectivos gêneros, *Apiosphaeria guaranitica* e *Phaeochorella parinari* – foram alocados em Diaporthales, formando um clado com alto suporte filogenético (BPP= 1.00; BS = 81) e, portanto, serão tratados separadamente nos capítulos II e III.

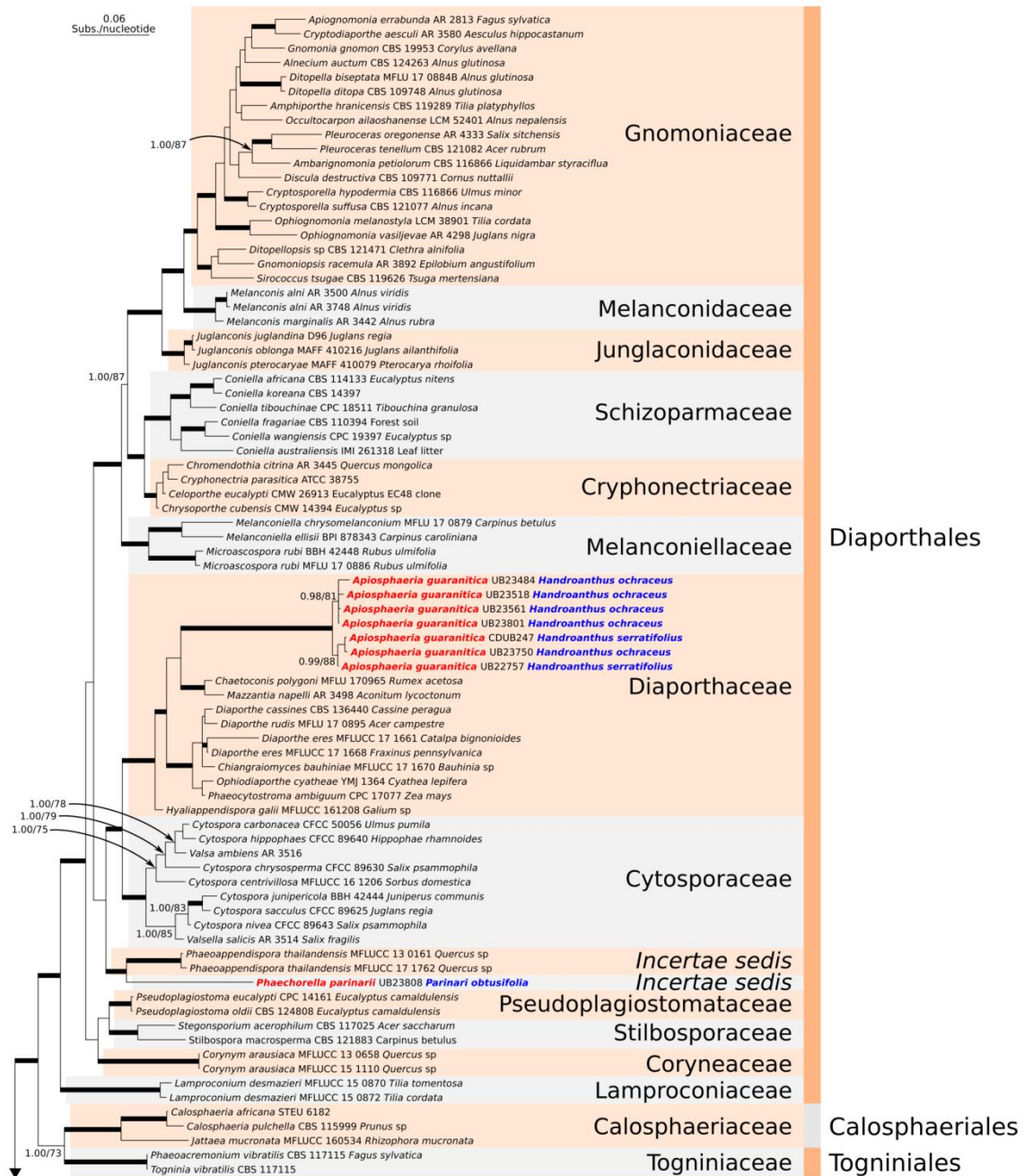


Figura 1. Filograma de Sordariomycetes gerado através da análise de Inferência Bayesiana com base nos marcadores moleculares *nrLSU*, *nrSSU*, *RPB2* e *5.8S*. Ramos terminais destacados em vermelho representam os espécimes sequenciados no presente estudo. Valores separados por barra transversal localizados nos ramos internos do diagrama representam os valores de suporte gerados pelas análises de Inferência Bayesiana (BPP) e Máxima Verossimilhança (BS), respectivamente. Ramos internos engrossados representam hipóteses de monofiletismo que receberam sustentação acima de 0,98 (BPP) e 95 (BS), respectivamente.

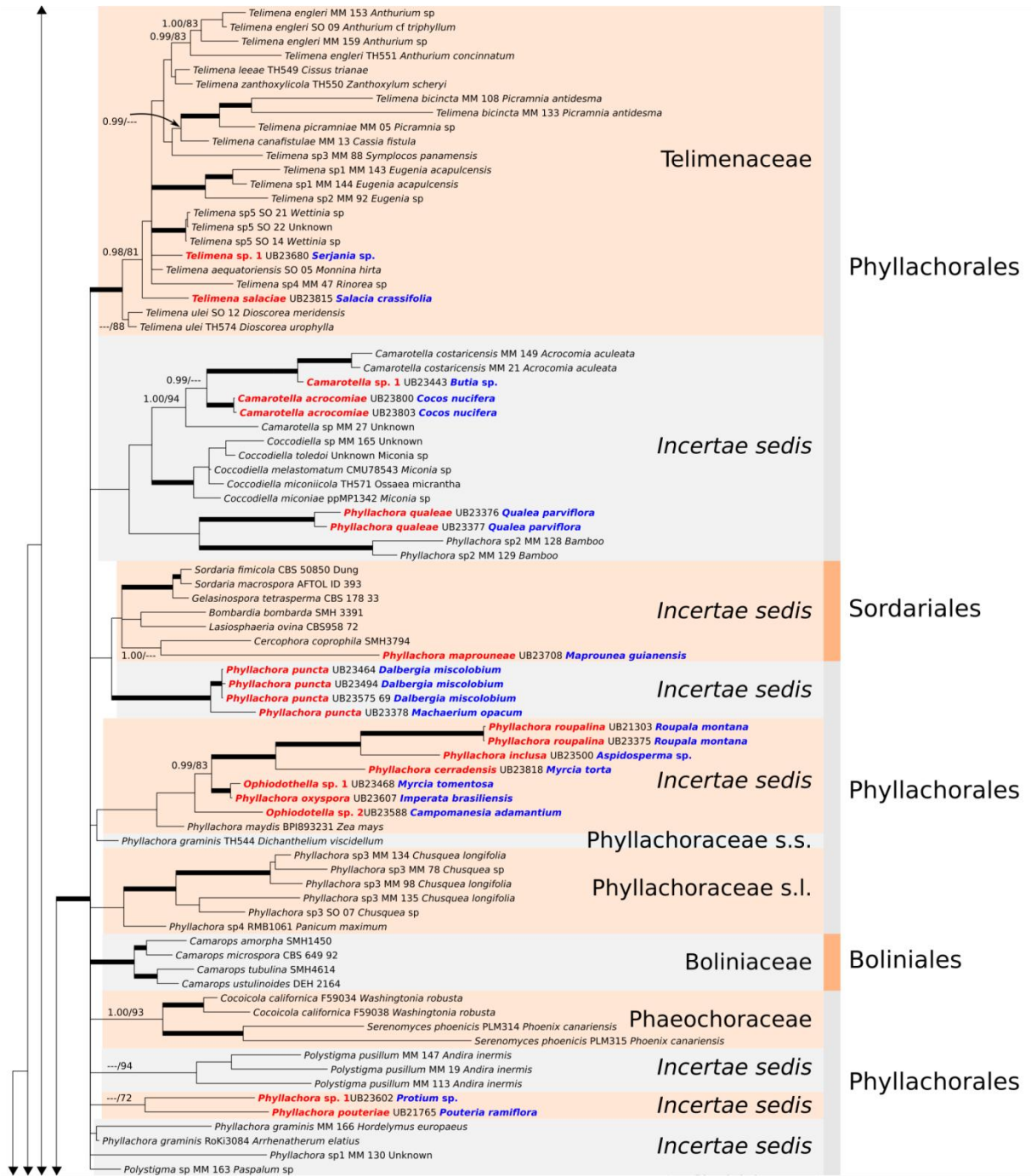


Figura 1. Continuação.

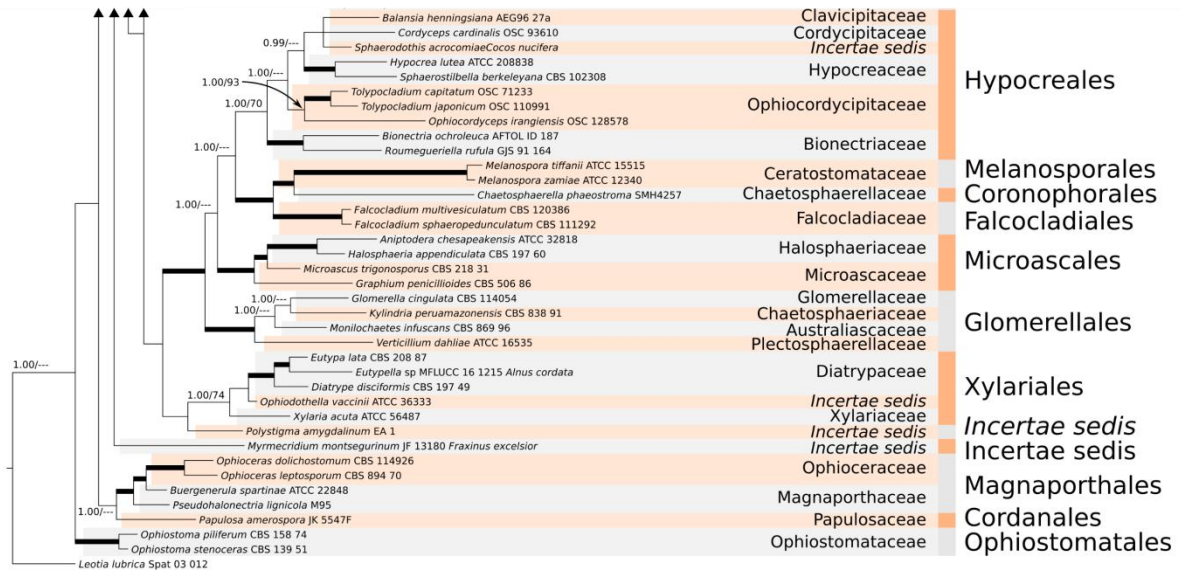


Figura 1. Continuação.

Phyllachorales em plantas do Cerrado

Amostragem taxonômica e molecular - Baseando-se nos resultados das análises filogenéticas exploratórias, em que os gêneros *Camarotella*, *Coccodiella*, *Ophiodothella* e *Phyllachora* aparecem acomodados em Phyllachorales, a amostragem taxonômica foi reduzida a membros dessa ordem, utilizando como grupo externo espécimes de Boliniales de acordo com Mardones et al. (2017). Em relação à amostragem molecular, a região *TEF1-α* mostrou-se altamente divergente entre os taxa amostrados na matriz de Phyllachorales. Esse fato pôde ser observado pelo pareamento com a sequência referência de *Trichoderma reesei* Z23012 (Nakari et al 1993), o qual evidenciou inúmeros *indels* na maioria das sequências, impossibilitando o pareamento por homologia global dos nucleotídios. *TEF1-α* não é um marcador molecular adequado para resolução de taxa filogeneticamente muito abrangentes (por exemplo, filo, classe e ordem) (Tanabe et al. 2004). Desse modo, as análises moleculares foram realizadas considerando a inclusão e exclusão de *TEF1-α* da matriz concatenada com *nrLSU*, *nrSSU*, *nr5.8S* e *RPB2* (Figura 0–2 e Figura 0–3, respectivamente). Os descritores

das matrizes moleculares utilizadas em ambas as análises e os *priors* utilizados nas inferências são descritos na Tabela 0-4.

Relações confamiliares em Phyllachorales – A inclusão das sequências de *TEF1- α* na matriz concatenada resultou em topologia diferente, em que monofiletismo da ordem foi recuperado com alto valor de suporte nas análises com *TEF1- α* (BPP= 0.98; BS = 100). Porém, o mesmo não foi observado quando da exclusão do marcador (BPP= 0.92; BS = 86). Em termos de família taxonômica, tratando-se de Telimenaceae, o oposto foi observado. Aqui, a inclusão do mesmo marcador resultou em hipóteses com baixo suporte filogenético (BPP= 0.82; BS = 86), em relação à matriz alternativa (BPP= 1.00; BS = 98). Já para Phaeochoraceae, ambas as situações resultaram em valores de suporte estatisticamente significativos (com *TEF1- α* , BPP= 1.00; BS = 98 e sem *TEF1- α* , BPP= 1.00; BS = 86). Por outro lado, o monofiletismo de Phyllachoraceae não foi confirmado, assim, optou-se por tratar como Phyllachoraceae *sensu stricto* apenas *Phyllachora graminis* TH544 e Phyllachoraceae *sensu lato* o grupo formado pelas espécies de *Phyllachora* incluídas no estudo de Mardones et al. (2017) (Figura 0-2 e Figura 0-3).

Fungos filacoroides do Cerrado e Phyllachorales – como observado na análise exploratória de Sordariomycetes (Figura 0-1) e Phyllachorales (Figura 0-2 e Figura 0-3) os espécimes do Cerrado agruparam-se em diferentes grupos de Phyllachorales. *Phyllachora salaciae* (UB Col. Micol. 23815) sobre *Salacia crassifolia* e *Phyllachora* sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23680) sobre *Serjania* sp. agruparam-se em Telimenaceae, e devem ser re combinadas para *Telimena salaciae* e *Telimena* sp. nov. 1, respectivamente. Espécimes previamente determinados como *Camarotella acrocomiae* (UB Col. Micol. 23800 e UB Col. Micol. 23803) parasitando *Cocos nucifera* e *Camarotella* sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23443) sobre *Butia* sp. agruparam-se com *Camarotella costaricensis* (MM 149 e MM 21) e *Camarotella* sp. (MM 27) nas análises contendo sequências de *TEF1- α* (BPP = 1.00; BS = 87), e sem as de *TEF1- α* (BPP = 1.00; BS = 98), corroborando os achados de Mardones et al. (2017). O

espécime de *Cocodiella peribebuyensis* (UB Col. Micol. 23813) sobre *Miconia chamissois* (Melastomataceae) agrupou-se com *Cocodiella* spp., nas análises com (BPP = 1.00; BS = 100) e sem sequências de *TEF1- α* (BPP = 1.00; BS = 99).

Os demais espécimes do Cerrado permanecem sem um posicionamento genérico definido com base molecular, desse modo, foram adotados os conceitos morfológicos e ecológicos de espécie na determinação nomenclatural dos taxa, assim, seu posicionamento filogenético foi discutido nos próximos parágrafos, e a arguição de sua alocação genérica e específica, assim defendidas:

Phyllachora roupalina (UB Col. Micol. 21303 e UB Col. Micol. 23375) sobre *Roupala montana*, *P. inclusa* (UB Col. Micol. 23500) sobre *Aspidosperma tomentosum* e *P. cerradensis* (UB Col. Micol. 23818) sobre *Myrcia torta*, formaram um clado composto exclusivamente por espécimes do Cerrado e bem suportado nas análises sem sequências de *TEF1- α* (BPP = 1.00; BS = 99), e fracamente suportado nas análises com este marcador (BPP = 0.82; BS = 85).

O monofiletismo de *P. oxyspora* (UB Col. Micol. 23607) sobre *Imperata brasiliensis* e *Ophiodothella* sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23468) sobre *Myrcia tomentosa* foi confirmado em todas as análises (BPP = 1.00; BS = 99 com *TEF1- α* ; BPP = 1.00; BS = 98 sem *TEF1- α*).

A posição filogenética de *Phyllachora* sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23602) em folhas de *Protium heptaphyllum*, *Ophiodothella* sp. nov. 2 (UB Col. Micol. 23588) sobre *Campomanesia adamantium* e *Phyllachora pouteriae* (UB Col. Micol. 21765) sobre *Pouteria ramiflora*, não pôde ser precisamente determinada em nenhuma das análises aqui realizadas.

Espécimes de *Phyllachora puncta* (UB Col. Micol. 23464, UB Col. Micol. 23494, UB Col. Micol. 23575 e UB Col. Micol. 23378) parasitando *Dalbergia miscolobium* e *Machaerium acutifolium* formaram um clado com alto suporte filogenético em todas as análises (BPP = 1.00; BS = 100 com *TEF1- α* ; BPP = 1.00; BS = 100 sem *TEF1- α*). Apesar do alto valor de suporte, a inclusão de sequências de *TEF1- α* nas análises resultou na inclusão

incongruente de *Phyllachora maprouneae* (UB Col. Micol. 23708) sobre *Maprounea guianensis* no clado dos espécimes supracitado. Diante de tais resultados, *P. maprouneae* será tratada separadamente de *P. puncta* nas discussões taxonômicas das próximas seções.

Tabela 4. Descritores das matrizes nucleotídicas e *priors* utilizados nas reconstruções filogenéticas de Phyllachorales.

Parâmetro	Partição								
	<i>nrLSU</i>	<i>nrSSU</i>	<i>rpb2 1^a</i>	<i>rpb2 2^a</i>	<i>rpb2 3^a</i>	<i>5.8S</i>	<i>tef1 1^a</i>	<i>tef 2^a</i>	<i>tef 3^a</i>
Modelo Evolutivo	TIM2+G	TrN+G	TIM1+I+G	TPM3+G	TPM1uf+I+G	K80+G	TIM1+G	TVMef+G	TPM2uf+G
Comprimento da matriz	986	1285		1257		186		1026	
Sítios variáveis	554	678		1004		128		812	
Parcimonio informativos	390	383		863		90		590	
Valor Verossimilhança	-9601.92	-10439.58	-5360.27	-4825.32	-8785.58	-2261.63	-4405.72	-4051.67	-8863.76
Frequência das bases	-	-	-	equal	-	equal	-	equal	-
Freq. A	0.240	0.254	0.276	-	0.156	-	0.274	-	0.142
Freq. C	0.223	0.216	0.246	-	0.339	-	0.245	-	0.337
Freq. G	0.317	0.268	0.282	-	0.315	-	0.325	-	0.308
Freq. T	0.221	0.263	0.197	-	0.190	-	0.156	-	0.214
Taxa de transição	-	-	-	-	-	equal	-	-	-
R (AC)	1.220	1.000	1.000	1.800	1.000	-	1.000	1.070	1.782
R (AG)	2.911	1.987	1.132	1.846	2.751	-	0.717	1.249	4.551
R (AT)	1.220	1.000	0.793	1.000	0.461	-	0.771	0.571	1.782
R (CG)	1.000	1.000	0.793	1.800	0.461	-	0.771	1.656	1.000
R (CT)	8.920	3.824	1.727	1.846	2.751	-	1.651	1.249	4.551
R (GT)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	1.000	1.000	1.000
Proporção de sítios invariáveis	-	-	0.071	-	0.013	-	-	-	-
Gamma	0.495	0.895	1.320	0.738	4.150	0.512	1.218	1.408	3.421

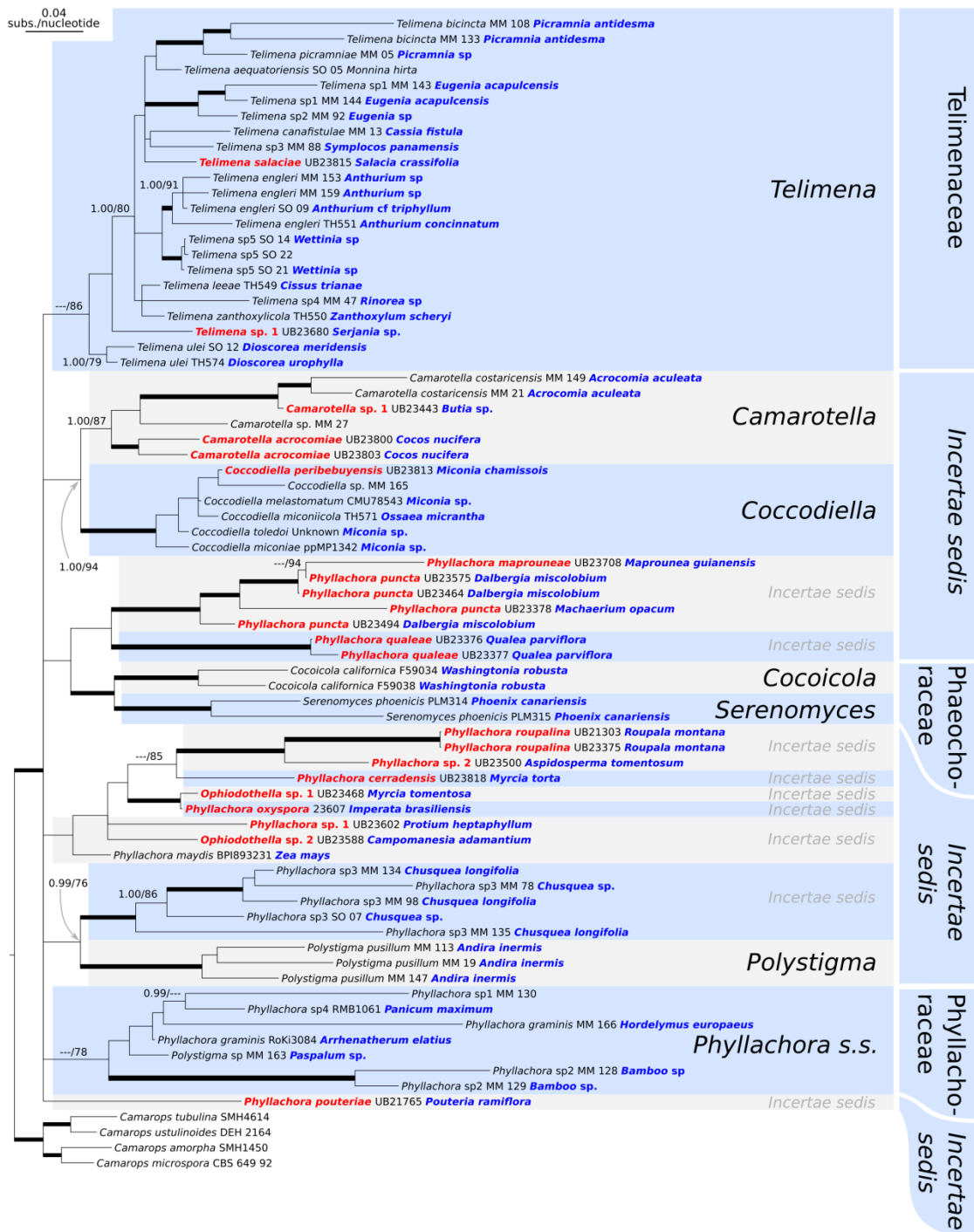


Figura 2. Filograma de Phyllachorales gerado através da análise de Inferência Bayesiana com base nos marcadores moleculares *LSU*, *SSU*, *RPB2*, *TEF1* e *5.8S*. Ramos terminais destacados em vermelho representam novos espécimes sequenciados no presente estudo. Valores separados por barra transversal localizados nos ramos internos do diagrama representam os valores de suporte gerados pelas análises de Inferência Bayesiana (BPP) e Máxima Verossimilhança (BS), respectivamente. Ramos internos engrossados representam hipóteses de monofiletismo que receberam sustentação acima de 0,98 (BPP) e 95 (BS), respectivamente.

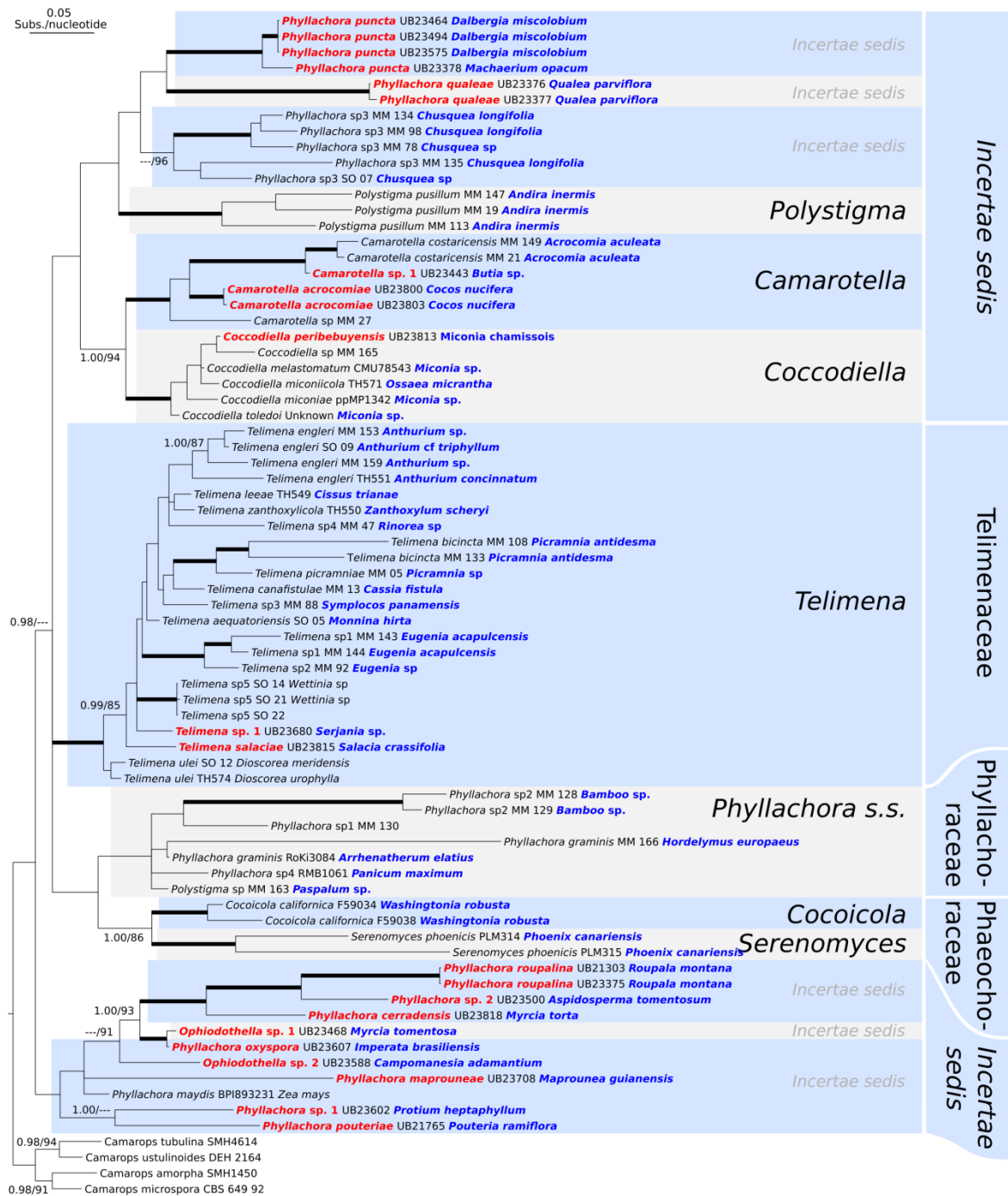


Figura 3. Filograma de Phyllachorales gerado através da análise de Inferência Bayesiana com base nos marcadores moleculares *LSU*, *SSU*, *RPB2* e *5.8S*. Ramos terminais destacados em vermelho representam os espécimes sequenciados no presente estudo. Valores separados por barra transversal localizados nos ramos internos do diagrama representam os valores de suporte gerados pelas análises de Inferência Bayesiana (BPP) e Máxima Verossimilhança (BS), respectivamente. Ramos internos engrossados representam hipóteses de monofiletismo que receberam sustentação acima de 0,98 (BPP) e 95 (BS), respectivamente.

O gênero *Camarotella* Theiss. & Syd.

Camarotella Theiss. & Syd. é um gênero de parasitas foliares de distribuição tropical com oito espécies presentemente reconhecidas: *Camarotella acrocomiae* (Mont.) K.D. Hyde & P.F. Cannon, *C. astrocaryae* (Rehm) Theiss. & Syd., *C. brasiliensis* C.A.P. Souza, Vitória, J.L. Bezerra, Inácio & Dianese, *C. colombiana* Gómez-Zapata & Salazar-Yepes, *C. costaricensis* (F. Stevens) K.D. Hyde & P.F. Cannon, *C. symploci* T.S. Ramakr. & K. Ramakr., *C. torrendiella* (Bat.) J.L. Bezerra & Vitoria, e *C. triphasiae* Syd.

Kirk et al. (2008) tratam como sinônimos de *Cocodiella* os gêneros *Camarotella*, *Coccostroma* e *Coccostromopsis* e fazem referência ao trabalho de Hyde & Cannon (1999), porém estes autores mantêm os gêneros *Camarotella* e *Coccostromopsis* separados por considerarem que *Cocodiella* tem uma circunscrição muito abrangente. Assim, Hyde & Cannon (1999) preferem separar as espécies parasitas de Arecaceae nos gêneros *Coccostromopsis* e *Camarotella*. Essa separação é corroborada por estudos posteriores utilizando dados moleculares, que reforçam que os gêneros *Camarotella* e *Cocodiella*, embora formem um clado bem suportado, são distintos. Contudo, deve-se ressaltar que até o momento não existem sequências disponíveis da espécie tipo de *Cocodiella*, *C. arundinaeriae* Hara, encontrada em hospedeiras de gêneros da família Poaceae (*Arundinaria*, *Dendrocalamus*, *Phyllostachys*, *Pleioblastus*, *Pseudosasa* e *Sasa*) (Katamoto 1968). Assim, a diferença observada nas análises filogenéticas pode ou não refletir a especificidade em relação aos hospedeiros, pois espécimes de *Cocodiella* têm como hospedeiras, na maioria das vezes, espécies de Melastomataceae, enquanto *Camarotella* ocorre em Arecaceae (Hyde & Cannon 1999), com exceção de *C. triphasiae*, encontrada em *Triphasia trifoliata*, pertencente à família Rutaceae (Sydow 1925b). Morfologicamente, *Camarotella* distingue-se por apresentar estroma de formato pulvinado e textura coriácea em comparação ao estroma achatado, carnoso, de aparência gelatinosa e com base constricta de *Cocodiella* (Cannon 1996). Os ascósporos de *Cocodiella* não apresentam bainha mucilaginosa e a forma assexuada do

gênero é desconhecida, ao contrário de várias espécies de *Camarotella* (Hyde & Cannon 1999).

Outros gêneros considerados próximos de *Camarotella* são *Sphaerodothis* (Sacc. & P. Syd.) Shear, *Oxodeora* K.D. Hyde & P.F. Cannon e *Coccostromopsis* Plunkett (1924). *Sphaerodothis* diferencia-se por nunca apresentar estroma eruptivo, ascósporos esféricos marrons e ascos curto-cilíndricos. *Oxodeora* tem pseudoestroma semelhante ao de *Camarotella*, porém os ascósporos são ornamentados, apresentando sulcos irregulares. *Coccostromopsis*, por sua vez, tem pseudoestromas superficiais, pulvinados, multiloculares, com estrutura gelatinosa e uma camada externa amarelada quando jovens (Hyde & Cannon 1999).

A circunscrição original do gênero *Camarotella* incluía fungos com estroma semelhante ao encontrado em *Trabutia* (desenvolvendo-se entre a cutícula e a epiderme da hospedeira), hipostroma epidérmico, hipotécio preto, ascos parafisados e ascósporos hialinos (Theissen & Sydow 1915). A espécie tipo, *C. astrocarye* (Rehm) Theiss. & Syd. (= *Montagnella astrocaryae* Rehm) caracteriza-se por apresentar estroma epífilo, gregário, com manchas circulares brilhantes visíveis em ambos os lados da folha (1–1,5 mm diâm.), achatadas na periferia e elevadas centralmente, atingindo cerca de 200 µm de altura, com um lóculo central, muitas vezes formando crostas em várias direções, desenvolvendo-se entre a cutícula e a epiderme. No meio do estroma, as hifas penetram as células epidérmicas, formando um hipostroma compacto preto carbonáceo e, mais profundamente, penetram as células do mesófilo (Theissen & Sydow 1915). Na descrição dada por Rehm (1897), *M. astrocaryae* tem ascósporos cilíndricos a oblongos, septados e hialinos, com quatro células. Müller & Arx (1954) sinonimizaram *M. astrocaryae* a *Coccostroma palmicola*. Hyde & Cannon (1999), por sua vez, tratam *Coccostroma palmicola* como sinônimo de *Coccostromopsis palmicola* e *M. astrocaryae* de *Camarotella acrocomiae*. Porém, a circunscrição atual de *Camarotella* inclui ascósporos unicelulares, e, dessa forma, não

comportaria a espécie originalmente designada como tipo, *Camarotella astrocaryae* (= *M. astrocaryae*) (Rehm 1897; Theissen & Sydow 1915). Todavia, Petrak (1940) reexaminou o tipo e recombinau *Camarotella astrocaryae* para *Bagnisiopsis astrocaryae* (Rehm) Petr., enfatizando não ter encontrado ascósporos com três septos, mas sim unicelulares e hialinos em estromas eruptivos, geralmente uniloculares e, portanto, concluiu que Rehm (1897) e Theissen & Sydow (1915) classificaram erroneamente o fungo, alocando-o em *Bagnisiopsis* seção *Phoenicostroma* (Syd.) Petr., diferindo de *Bagnisiopsis palmicola* apenas por apresentar ascósporos com extremidades mais arredondadas.

Sydow (1925b) descreveu a espécie *Camarotella triphasia* Syd. sobre folhas vivas de *Triphasia trifoliolata* (Rutaceae), que também apresentava ascósporos com quatro células, porém sem constrição nos septos. Hyde & Cannon (1999) não tiveram acesso ao tipo ou à descrição da espécie. Na referência indicada por eles em *Index of Fungi*, IndexFungorum e Mycobank, o fungo estaria descrito à página 315 de “Fungi in itinere Costaricensi collecti. Pars prima” constante do volume 23 dos *Annales Mycologici* (Sydow 1925a), porém, na verdade, a espécie encontra-se descrita no artigo “Fungi from the province of Sorsogon” na página 3126 (Sydow 1925b), indicando assim que Hyde & Cannon (1999) aparentemente não viram sequer a descrição da espécie.

Hyde & Cannon (1999), baseados exclusivamente na descrição e ilustração originais de *Camarotella symploci* (Ramakrishnan & Ramakrishnan 1950) consideraram que a espécie pertence a Dothideales, e enfatizaram que “ascósporos com quatro células e constrictos nos septos não são, de maneira alguma, típicos de Phyllachoraceae” (Hyde & Cannon 1999). Dessa forma, os autores reduziram o gênero a apenas duas espécies: *Camarotella acrocomiae* e *C. costaricensis*. Posteriormente, foram introduzidas as espécies *C. brasiliensis*, em *Syagrus schyzophyllum* no Brasil (Souza et al. 2008), *C. colombiana* (Gómez-Zapata & Salazar-Yepes 2017) e *C. torrendiella*, a partir de *Catacauma torrendiella* (Vitória et al. 2008). A Tabela 0-5 mostra as características principais das espécies de *Camarotella*. Os espécimes examinados

presentemente são exemplares de *Camarotella acrocomia* e uma espécie nova de *Camarotella*, tratada como *Camarotella* sp. nov. 1 conforme se segue.

Tabela 5. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Camarotella* descritas até o momento.

Ascoma	Ascospores	Ascósporos	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
<i>Camarotella acrocomiae</i> (Mont.) KD Hyde & PF Cannon									
260–480 × 180–400, subglobosos, eruptivos	80–110 × 20–26, clavados, curto-pedicelados, com engrossamento apical	20–29 × 7,5-10	fusiformes, asseptados, hialinos ou amarelados, gutulados	bainha mucilaginosa	filiformes, até 5 µm de espess.	presente	<i>Acrocomia aculeata</i> , <i>A sclerocarpa</i> , <i>A yatai</i> , <i>Acrocomia</i> sp., <i>Astrocaryum</i> sp., <i>Attalea geraensis</i> , <i>Butia yatay</i> , <i>Cocos nucifera</i> , <i>Cocos</i> sp., <i>Jubaea chilensis</i> , <i>Roystonea regia</i> , <i>Syagrus picrophylla</i> (Arecaceae)	Brasil, Chile, Cuba, Guiana Francesa, Paraguai	Hyde & Cannon (1999)
<i>Camarotella acrocomiae</i> (Mont.) KD Hyde & PF Cannon									
Globosos	124–180 × 28–34, cilíndrico a clavados, pedicelados	17,5–25 × 7,5–12,5	elípticos, com extremidades arredondadas, asseptados, castanhos, gutulados	sem bainha mucilaginosa	presente	presente	<i>Cocos nucifera</i> (Arecaceae)	Brasil	Vitória et al. (2008)
<i>Camarotella brasiliensis</i> C.A.P Souza, Vitória, J.L. Bezerra, Inácio & Dianese									
171–427 × 209–684, subglobosos a elípticos	72–168 × 14–48, clavados, curto-pedicelados	36–60 × 5–7	Alongado-fusiformes, asseptados, hialinos a marrom-claros, gutulados	bainha mucilaginosa larga e irregular	Filiformes, 1,6–2,7 µm de espess, septadas, ramificadas	presente	<i>Syagrus schizophylla</i> (Arecaceae)	Brasil	Souza et al. (2008)

Ascoma	Ascos	Ascósporos							
Dimensões (µm), forma	Dimensões (µm), forma	Dimensões (µm)	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
<i>Camarotella colombiana</i> Gómez-Zapata & Salazar-Yepes									
337,5–675 × 250– 637,5, globosos a subglobosos	32,5–182,5 × 15–30, cilíndricos, inopecurlados	22,5–30 × 12,5–15	fusiformes a elípticos, lisos, asseptados, hialino a marrom- castanho, gutulados	Bainha mucilaginosa de 2,5–5 µm	filiformes, septadas, hialinas, diâm. menor que 2,5 µm	–	<i>Ceroxylon quindiense</i> (Arecaceae)	Colômbia	Gómez-Zapata & Salazar-Yepes (2017)
<i>Camarotella costaricensis</i> (F. Stevens) KD Hyde & PH Cannon									
350–400 × 200– 300, subglobosos a elípticos	126–164 × 17– 20, cilíndrico, curto- estipitado, sem estruturas apicais	15–18,5 × 9–10	fusiformes, lisos, paredes finas, asseptados, hialinos, às vezes tornando-se marrons	bainha mucilaginosa espessa	filiformes, septadas, até 5,5 µm de espess., em matriz gelatinosa	presente	<i>Acrocomia aculeata</i> (Arecaceae)	Costa Rica, Trinidad	Hyde & Cannon (1999)
<i>Camarotella torrendiella</i> (Bat.) J.L. Bezerra & Vitória									
450–1000 × 315– 705, subglobosos a dimidiados	110–150 × 16– 32, clavados, curto- pedicelados	17,5–27,5 × 7,5–9	fusiformes a elípticos, com extremidades agudas, asseptados, hialinos, gutulados	bainha mucilaginosa	presente	presente	<i>Cocos nucifera</i> (Arecaceae)	Brasil	Vitória et al. (2008)
<i>Camarotella acrocomiae</i> UB23800									
320–350 × 230– 280, globosos	115–170 × 17– 35, cilíndrico a clavados,curto- pedicelados	18–24 × 8–11,5	fusiformes, asseptados, Marrom-claro, gutulados	bainha mucilaginosa 1,8–2,4 de espess.	ausentes	presente	<i>Cocos nucifera</i> (Arecaceae)	Rio Largo, Alagos, Brasil	Presente estudo
<i>Camarotella acrocomiae</i> UB23803									
70–98 × 60–95, globosos	cilíndrico a clavados,curto- pedicelados	19–26 × 5–7	fusiformes, asseptados, marrom-claro, gutulados	bainha mucilaginosa	ausentes	ausente	<i>Cocos nucifera</i> (Arecaceae)	Rio Largo, Alagos, Brasil	Presente estudo

Ascoma	Ascospores	Ascospores			Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), forma	Dimensões (µm), forma	Dimensões (µm)	Descrição	Apêndices					
<i>Camarotella</i> sp. nov. 1 UB23443									
350–550 × 210–280, elípticos a globosos	95–135 × 13–19, cilíndricos a clavados	21–29 × 8–11	unicelulares, marrons a marrons-escuro, elípticos alongados a clavados, gutulados	–	hialinas, filiformes, 1–2 µm de espessura	–	<i>Butia</i> sp. (Arecaceae)	Brasil	Presente estudo

Camarotella acrocomiae (Mont.) K.D. Hyde & P.F. Cannon

Figura 4

MYCOBANK MB#446676

=*Bagnisiopsis roystoneae* (J.R. Johnst. & Bruner) Cif., Quaderno Ist. Bot. Univ. Pavia 19: 214 (1961)

=*Sphaerodothis acrocomiae* (Mont.) Arx & E. Müll., Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz 11 (1): 246 (1954)

=*Phyllachora roystoneae* J.R. Johnst. & Bruner, Mycologia 10(1): 43 (1918)

=*Phaeochora acrocomiae* (Mont.) Theiss. & Syd., Annales Mycologici 13 (3-4): 402 (1915)

=*Hysterodothis rimosa* (Speg.) Höhn., Sber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturw. Kl., Abt. 1 118: 1513 [53 repr.] (1909)

=*Sphaerodothis rimosa* (Speg.) Shear, Mycologia 1(4): 162 (1909)

=*Phyllachora cocoicola* Henn., Hedwigia 34: 110 (1895)

=*Auerswaldia rimosa* Speg., Anal. Soc. cient. argent. 26(1): 43 (1888)

=*Phyllachora acrocomiae* (Mont.) Sacc., Sylloge Fungorum 2: 606 (1883)

=*Dothidea acrocomiae* Mont., Syll. gen. sp. crypt. (Paris): 223 (1856)

=*Dothidea acrocomiae* Mont., Annales des Sciences Naturelles Botanique 3: 125 (1855)

Descrição: Lesões irregulares, às vezes formando agregados lineares de estromas ao longo das nervuras da folha. *Estromas* anfígenos, mais frequentemente hipófilos, eruptivos, gregários, raramente solitários, marrom-escuros a pretos, coriáceos, uniloculares. *Ascomas* periteciais, globosos a elípticos (270–350 × 180–280 µm), eruptivos no estroma, com pescoço curto terminando em ostíolo conspícuo. Perídio 20–40 µm de espessura, formado por células fortemente comprimidas de textura indistinta. *Ascospores* clavados a cilíndricos (110–170 × 15–35 µm), de paredes finas, com base mais estreita que a parte superior, sem estruturas apicais

visíveis, pedicelados, parafisados, contendo oito ascósporos em arranjo uni- ou bisseriado, às vezes sobrepostos. *Paráfises* filiformes, hialinas, deliquescentes. *Ascósporos* unicelulares, hialinos tornando-se marrom-claros a marrom-escuros, elípticos a oblongo-elípticos ($18-24 \times 8-11,5 \mu\text{m}$), com ambas as extremidades arredondadas, envolvidos por bainha mucilaginosa irregular ($1,5-2,5 \mu\text{m}$). Forma assexuada não observada.

Comentários: *Camarotella acrocomiae* é reconhecida como importante fitopatógeno responsável pela lixa grande do coqueiro (*Cocos nucifera*). Os espécimes presentemente examinados diferem do exemplar de Vitória et al. (2008) apenas pela presença de bainha mucilaginosa nos ascósporos (Tabela 5) (Tabela 0-5). Além da forma sexuada acima descrita, ocorre uma fase conidial, descrita por Hyde & Cannon (1999) e Vitória et al. (2008), mostrando: *Conidioma* anfigino, associado ao mesmo estroma da forma sexuada, irregularmente achatado a esférico, frequentemente distorcido pela pressão do ascoma em desenvolvimento; parede superior contínua à da forma sexuada. *Células conidiogênicas* cilíndricas ($10-17 \times 2 \mu\text{m}$) afinando em direção ao ápice, sobre conidióforos curtos, ramificados, de proliferação percorrente. *Conídios* filiformes ($12-23 \times 1 \mu\text{m}$) com base mais larga, afinando em direção a ambas as extremidades e, às vezes atenuadas abruptamente na porção apical, frequentemente helicoidais ou sigmoides, hialinos, unicelulares, aparentemente com parede lisa (Hyde & Cannon 1999).

Espécimes examinados: BRASIL, ALAGOAS, Rio Largo, $9^{\circ} 28' 28.6''$ S, $35^{\circ} 50' 24.2''$ O, sobre folhas vivas de *Cocos nucifera* (Arecaceae), 10 Mai 17, R Ramos s.n. (UB Col. Micol. 23800); *ibid* Rio Largo, $9^{\circ} 28' 28.6''$ S, $35^{\circ} 50' 24.2''$ O, sobre folhas vivas de *Cocos nucifera* (Arecaceae), 10 Mai 17, R Ramos s.n. (UB Col. Micol. 23803).

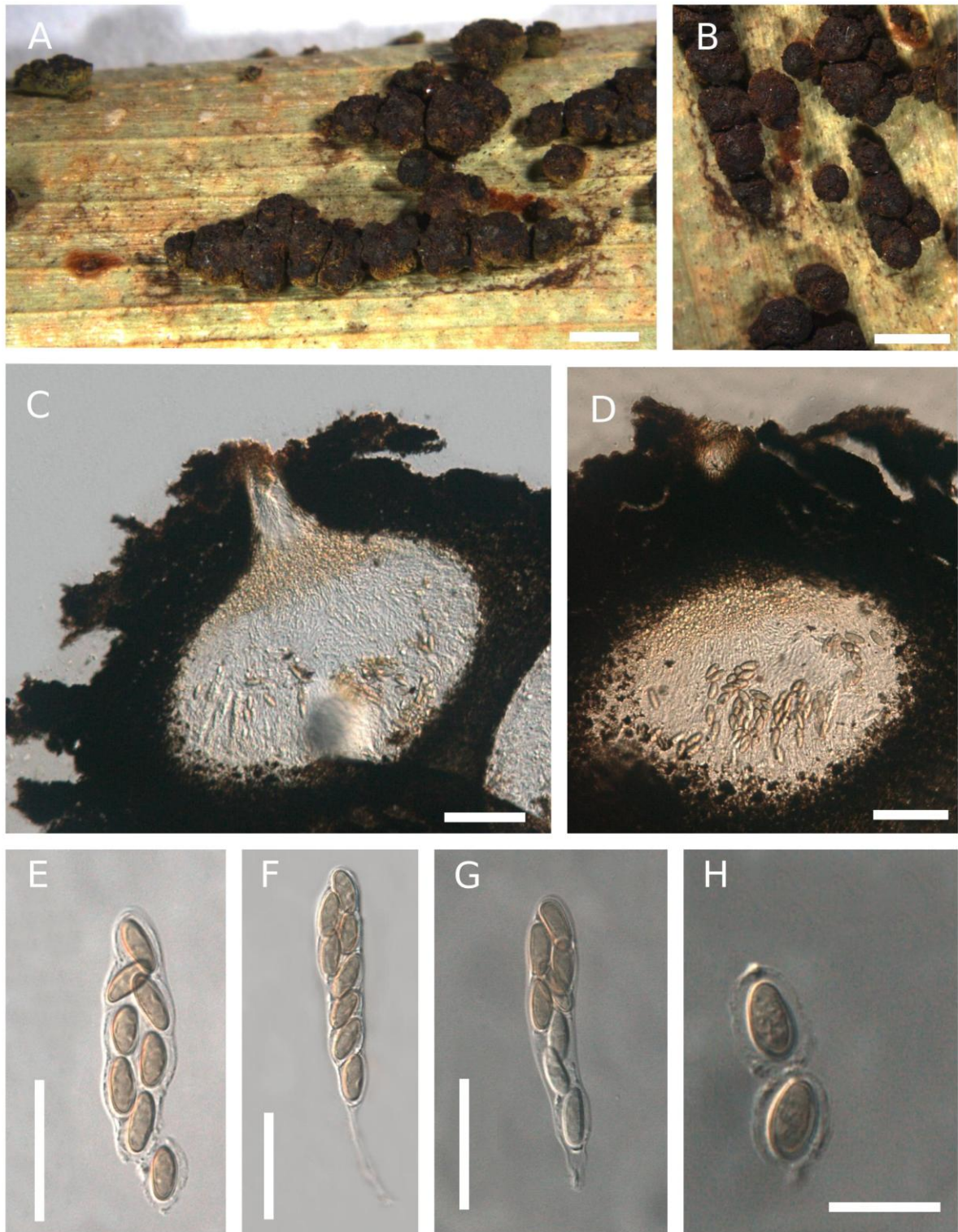


Figura 4. *Camarotella acrocomiae* (UB Col. Micol. 23800) em folhas de *Cocos nucifera* (A–H). A–B. Estromas epífilos. C–D. Corte transversal do peritécio imerso no pseudoestroma. E–G. Ascósporos. H. Ascósporos envolvidos por bainha mucilaginosa. Barras: A–B = 2 mm, C–D = 100 μ m, E–H = 20 μ m.

Camarotella sp. nov. 1

Figura 5

Tipificação: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Planaltina, Reserva do Instituto Federal de Brasília, 15° 39' 25.43" S × 47° 41' 39.48" O, sobre folhas vivas de *Butia* sp. (Arecaceae), 20 Ago 15, DC Guterres s.n. (**holótipo** UB Col. Micol. 23443).

Descrição: *Estromas* marrom-amarelados a marrom-escuros, pulvinados, medindo 1–2,5 mm de largura e 400–600 µm de altura, epífilos, facilmente destacáveis da superfície foliar, solitários a agregados, quando agregados formando lesões lineares, frequentemente multiloculares, raramente uniloculares. *Ascomas* periteciais, elípticos a globosos (350–550 × 210–280 µm) comprimidos lateralmente, com pescoço curto perifisado, ostiolados. *Períffises* filiformes, abundantes, por toda a extensão do pescoço. *Ascós* unitunicados, cilíndricos a clavados (95–135 × 13–19 µm), pedicelados, sem estruturas apicais visíveis, contendo 8 ascósporos em arranjo unisseriado, às vezes bisseriado, parafisados. *Paráfises* hialinas, filiformes, 1–2 µm de espessura. *Ascósporos* unicelulares, marrons a marrom-escuros, elípticos alongados a clavados (21–29 × 8–11 µm), gutulados (2–4 gúttulas).

Comentário: Morfologicamente a espécie mais próxima do espécime em estudo é *Coccostromopsis palmicola* (Speg.) KD Hyde & PH Cannon (= *Auerswaldia palmicola* Speg. Figura 0–6), diferindo da descrição e ilustrações originais de Spegazzini (1885) por apresentar maiores dimensões para os *ascomas* (100–130 de diâmetro em *A. palmicola*; e 350–550 × 210–280 µm em *Camarotella* sp. nov. 1) e *ascósporos* (15 × 6–7 µm em *A. palmicola* e 21–29 × 8–11 µm em *Camarotella* sp. nov. 1, respectivamente). Além disso, Spegazzini ilustrou alguns *ascósporos* com bainha mucilaginosa irregular, o que não ocorre em *Camarotella* sp. nov. 1. Hyde & Cannon (1999), por outro lado, descrevem *ascósporos* com disposição irregular dentro do *asco*, enquanto que Spegazzini (1885) os descreve como unisseriados a bisseriados. *Auerwaldia palmicola* foi transferida para o gênero *Sphaerodothis* (espécie tipo

Sphaerodothis neowashingtoniae Shear) por Shear (1909). Theissen & Sydow (1915) a recombinaaram a *Dothidina palmicola* (Speg.) Theiss. & Syd., Petrak (1928) incluiu a espécie em *Bagnisiopsis* e Arx & Müller (1954) recombinaaram-na em *Coccostroma palmicola* (Speg.) Arx e E. Müll.. Katumoto (1968) sinonimizou, apenas com base na literatura, entre outros, os gêneros *Coccostroma*, *Bagnisiopsis* e *Dothidina* em *Coccodiella*, considerando ser este o nome mais antigo e, portanto, com prioridade sobre os demais. Hyde & Cannon (1999) consideraram a circunscrição de *Coccodiella* dada por Katumoto (1968) muito ampla e reestabeleceram *Camarotella* e *Coccostromopsis* para acomodar as espécies com hospedeiras da família Arecaceae.

Assim, *Coccostromopsis palmicola* é uma espécie atualmente reconhecida, porém não existem sequências de DNA desse taxon disponíveis para comparação até o momento. As análises filogenéticas realizadas no presente trabalho alocaram o espécime em estudo no clado formando por espécies de *Camarotella* e, por isso, o espécime é tratado aqui como *Camarotella* sp. nov. 1. Contudo, ressalta-se que a ampliação do número de sequências disponíveis poderá esclarecer a relação entre os gêneros *Camarotella* e *Coccostromopsis*, que morfológicamente distinguem-se por características do estroma. Em *Coccostromopsis*, o estroma é sempre superficial, pulvinado, contendo vários lóculos que ocupam quase toda a extensão do estroma, com aparência gelatinosa e uma camada externa amarelada quando jovens, já em *Camarotella* os estromas são fortemente eruptivos e pretos.

Espécimes examinados: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Arboreto da Universidade de Brasília, Asa Norte, 15° 44' 41.3" S, 47° 55' 9.5" O, sobre folhas vivas de *Syagrus* sp. (Arecaceae), 1 Out 09, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol. 21146).

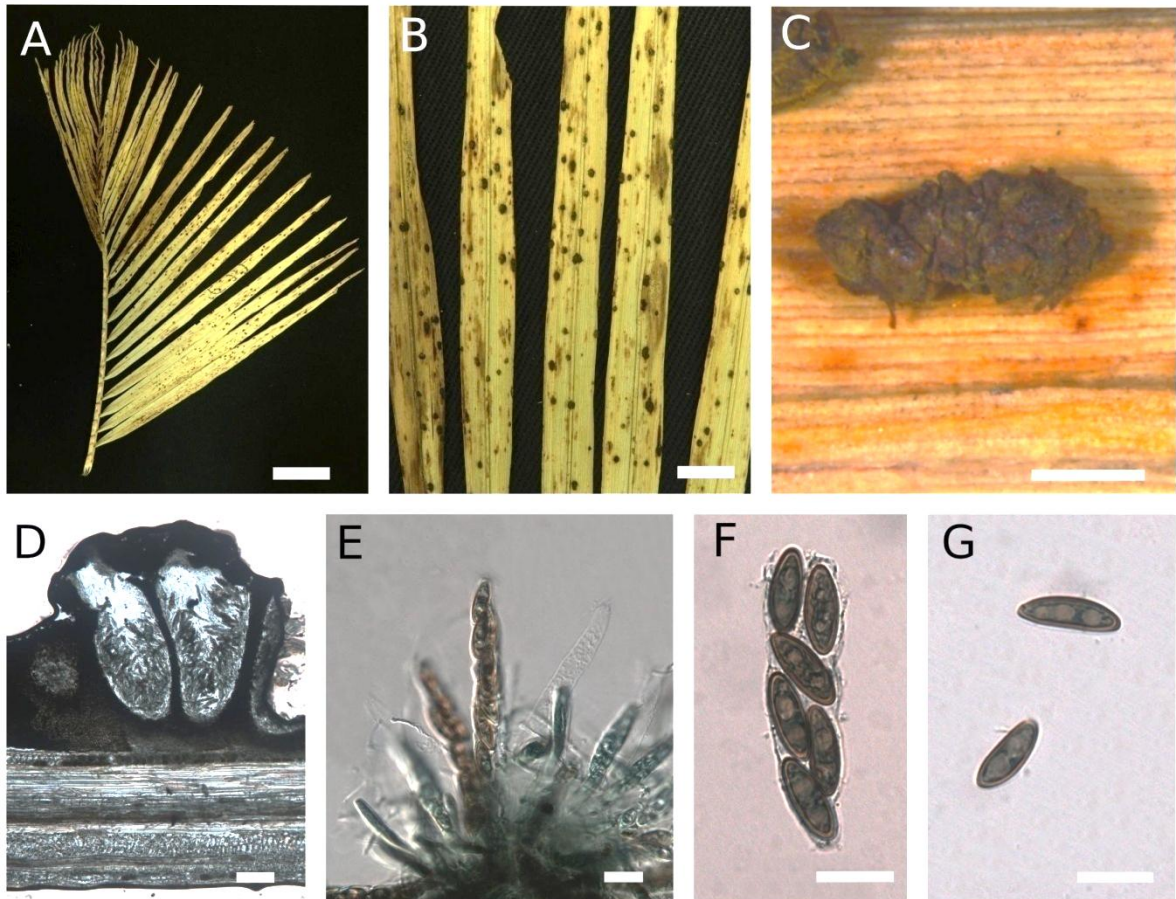


Figura 5. *Camarotella* sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23443) em folhas de *Butia* sp. (A–G). A–B. Estromas epífilos. C. Vista superior do estroma em microscópio estereoscópico. D. Corte transversal do peritécio. E–F. Ascós. H. Ascósporos. Barras: A–B = 2 mm, C–D = 100 μ m, E–H = 20 μ m.

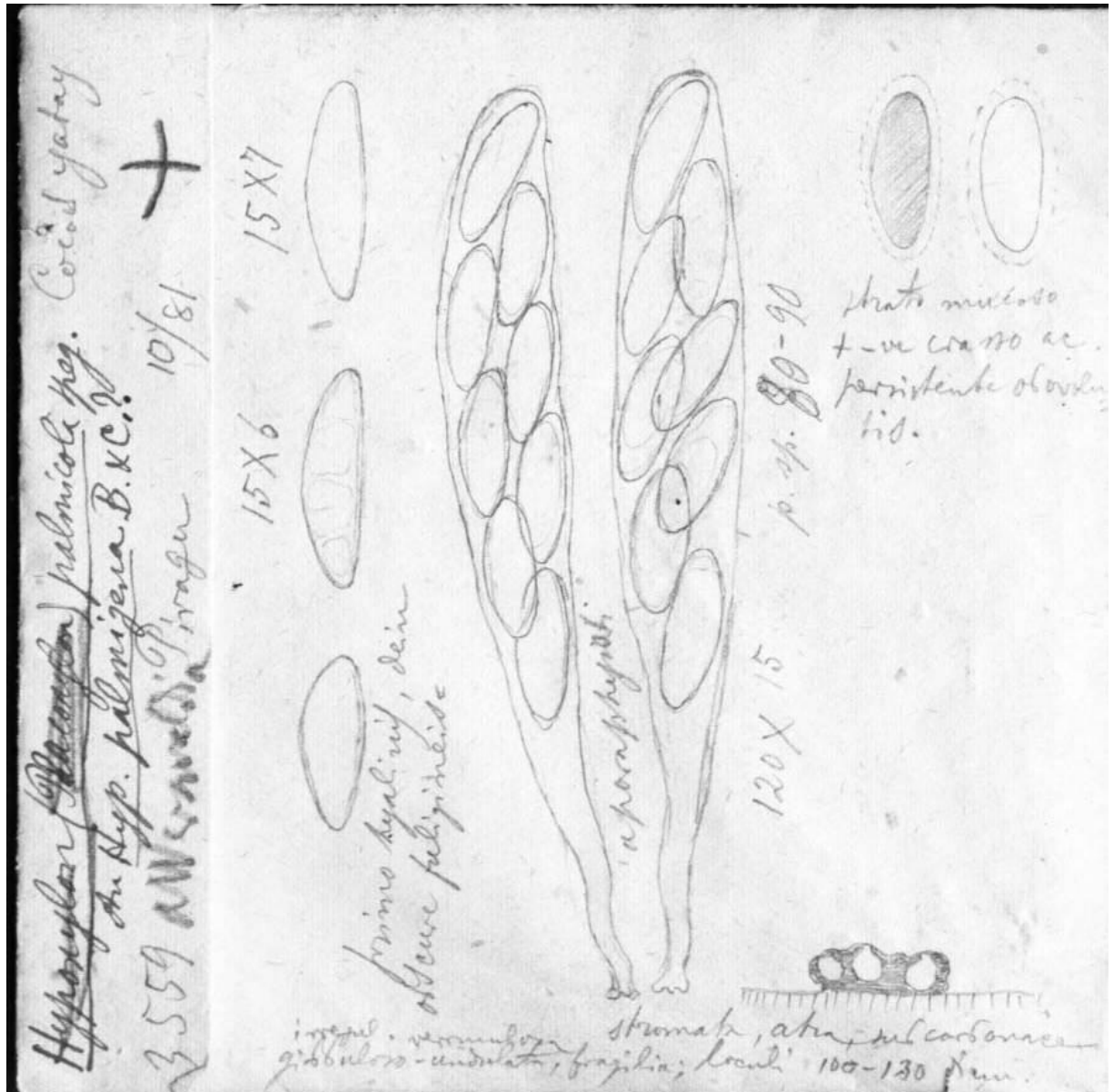


Figura 6. Cópia de ilustração original de *Auerswaldia palmicola* por Spegazzini (Arambarri et al. 2017).

O gênero *Cocodiella* Hara

O gênero *Cocodiella* foi primeiramente descrito por Hara (1911) no Japão com base na espécie *Cocodiella arundinaria* e incluía fungos com estroma preto disciforme, plano-convexo na parte superior e com um apêndice central em forma de estipe na parte inferior do estroma (hipostroma), contendo peritécios imersos, globosos, ostiolados, ascos cilíndricos, parafisados, contendo oito esporos elípticos, hialinos e com dois septos. Pouco depois, o autor corrigiu a descrição original da espécie tipo, descrevendo os ascósporos como unicelulares (Hara 1913). Porém a descrição corrigida foi ignorada durante muito tempo por autores ocidentais e o gênero permaneceu monotípico até o estudo de Katumoto (1968), que sinonimizou os gêneros *Bagnisiopsis* Theiss. & Syd., *Causalis* Theiss., *Cocodiopsis* Hara, *Coccostroma* Theiss. & Syd., *Dothidina* Theiss. & Syd., *Haplostroma* Syd., *Phoenicostroma* Syd. e *Succinaria* Syd. a *Cocodiella*, devido à prioridade de publicação. Simultaneamente, recombinau em *Cocodiella* 23 espécies de fungos oriundos principalmente da América do Sul e Central.

Katumoto (1968) reconheceu que *Cocodiella arundinaria*, embora seja a espécie tipo, apresenta marcada distinção das demais espécies com relação à morfologia, gama de hospedeiras e distribuição geográfica, ocorrendo apenas na China, Japão e Taiwan sobre plantas da família Poacea, enquanto as demais espécies ocorrem na ecorregião neotropical em hospedeiras de diversas famílias (Tabela 0-6).

Atualmente são reconhecidas 21 espécies no gênero *Cocodiella* (Tabela 0-6), das quais 10 são parasitas de espécies de Melastomataceae e 8 ocorrem em *Miconia* spp., com as quais comparou-se o material em estudo e determinou-se que os espécimes estudados são exemplares de *Cocodiella peribebuyensis* Speg.. No Brasil, ocorrem cerca de 60 gêneros e 1000 espécies de Melastomataceae, uma das principais famílias da flora brasileira, e diversas espécies têm reconhecida importância econômica como espécies ornamentais, mas também como invasora extra-continental, como é o caso de *M. calvescens* (Alves et al. 2010).

Miconia é o maior gênero da família Melastomataceae e suas espécies são comuns em áreas florestais e em cerrados, ocorrendo desde o sul do México até a Argentina. No Brasil está presente nas restingas ao nível do mar, na Mata Atlântica e no Domínio Cerrado (Souza & Lorenzi 2012).

Tabela 6. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Cocodiella* descritas até o presente momento.

Ascoma		Ascospores		Ascospores			Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Cor					
<i>Cocodiella advena</i> (Syd. ex Chardón & Toro) I. Hino & Katum.											
300–450 × 170–300	piriformes a globosos irregulares	60–80 × 16–30	–	16–25 × 10–12	oblongos a oblongo- elípticos, arredondados	hialinos a marrom- oliváceos ou marrom- acinzentados	Filiformes, 2– 3 espess., mucosas	–	<i>Gynoxidis</i> sp. (Asteraceae)	Colômbia	Chardon & Toro (1930)
<i>Cocodiella andicola</i> (Petr.) I. Hino & Katum.											
250–450 Ø	globosos a ovoides, achatados ou irregulares	100–125 × 13–25	cilíndricos,	17–25 × 10–15	elípticos a ovoides	Hialinos	filiformes, numerosas	–	<i>Verbesina</i> sp. (Asteraceae)	Equador	Petrak (1950)
<i>Cocodiella arundinariae</i> Hara (tipo)											
–	globosos a irregulares, paredes de textura angularis pouco diferenciada do estroma, ostíolos inconspícuos	78–107 × 9–10,5	Cilíndrico- clavados, curto- pedicelados, ápice arredondado quase truncado, anel apical com 3 µm diâm. e 1 µm espess.	14,5–22,5 × 4-5	Fusiforme- elípticos a cilíndricos- elipsoidais, levemente curvados	hialinos	–	–	Various bamboos; recorded from Arundinaria simonii (Hara 1911), <i>Dendrocalamus</i> <i>latiflorus</i> , <i>Phyllostachys</i> sp., <i>Pleioblastus</i> <i>simonii</i> and <i>Sasa</i> sp.	China, Japão, Taiwan	Hara (1911); (Eriksson & Yue, 1990); Cannon (1996).

Ascoma		Ascos		Ascósporos			Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Cor					
<i>Coccidiella banksiae</i> (Hansf.) H.J. Swart											
300×270	conoides a ampuliformes	120 × 18	Cilíndricos, ápice arredondado, subsésseis a curto-pedicelados, evanescentes	17–20 × 13–15	elípticos	hialinos	Ausentes	–	<i>Banksia marginata</i> (Proteaceae)	Australia	Hansford (1954)
<i>Coccidiella bullosa</i> (Rehm) I. Hino & Katum.											
–	globosos, imersos	120 × 10	cilíndricos	12–15 × 6–7	oblongos	hialinos	filiformes	–	<i>Miconia sp.</i> (Melastomataceae)	Brasil	Rehm (1897)
<i>Coccidiella capparidis</i> (Mundk. & S. Ahmad) I. Hino & Katum.											
245–330 × 126–165	globosos a globoso-achatados lateralmente, ostíolo papilado	86,5 × 10,5	clavados a cilíndricos, pedicelados	10–14 × 6–7	elípticos	Marrom-escuros	presentes, numerosas	–	<i>Capparidis aphylla</i> (Capparaceae)	Índia	Mundkur & Ahmad (1946)
<i>Coccidiella depressa</i> (Syd. & P. Syd.) I. Hino & Katum.											
350–500 × 250–320	globosos a achatados	100–135 × 10–12	cilíndricos, ápice obtuso	14–16 × 8–10	elípticos, extremidades arredondadas	Marrom-claros	filiformes, numerosas, não ramificadas, 1–1,5 µm espess.	–	<i>Miconia sp.</i> (Melastomataceae)	Brasil	Sydow e Sydow (1916)
<i>Coccidiella leandrae</i> (Syd. & P. Syd.) I. Hino & Katum.											
180–240	globosos a ovóides	95–120 × 6–8	Cilíndricos, curto-pedicelados	13–16 × 4–6	Ovóides a oblongos, extremidades arredondadas,	Hialinos tornando-se marrons, conteúdo granuloso	filiformes, flexuosas	–	<i>Leandra cordifoliae</i> (Melastomataceae)	Brasil	Sydow e Sydow (1901)

Ascoma		Ascospores		Ascospores			Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Cor					
<i>Cocodiella machaerii</i> (Henn.) I. Hino & Katum.											
–	–	85–105 × 7–9	cilíndricos a clavados	12–15 × 4,5–6	oblongos, extremidades obtuso-arredondadas	hialinos	Ausentes	–	<i>Machaerium</i> sp. (Fabaceae)	Brasil	Hennings (1893)
<i>Cocodiella melastomatum</i> (Lév.) I. Hino & Katum.											
180–450	globosos	80–110 × 8–11	cilíndricos, ápice arredondado	11–18 × 6–10	elípticos, em arranjo uniseriado	hialinos	filiformes, numerosas	–	Melastomatacea	Bolívia	Arx & Müller (1954)
<i>Cocodiella miconiae</i> (Duby) I. Hino & Katum.											
180–300	globosos, ostíolo perfisado	60–80 × 8–11	cilíndricos a clavados, ápice arredondado, pedicelados	7,5–11 × 6–9	elípticos a esféricos, extremidades arredondados, às vezes assimétricos	hialinos, tornando-se oliváceos a marrom-escuros	Filiformes, numerosas, não ramificadas, 1,5–2 µm espess., deliquescentes	–	<i>Miconia calvescens</i> (Melastomataceae)	Brasil	Petrak (1928); Arx & Müller (1954)
<i>Cocodiella miconiicola</i> (Garcés) I. Hino & Katum.											
320 × 290–600 × 500	globosos	230–260 × 18,5–19,5	cilíndricos, ápice arredondado, longo-pedicelados	18–21 × 9–10	elípticos, ambas extremidades agudas, paredes espessas	hialinos, com um ligeiro tom azul esverdeado	Filiformes, abundantes	–	<i>Miconia squamulosa</i> (Melastomataceae)	Colômbia	Orejuela (1944); Arx & Müller (1954)

Ascoma		Ascos		Ascósporos			Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Cor					
<i>Cocodiella minuta</i> (Syd.) I. Hino & Katum.											
140–200	globosos a ovoides irregulares, achatados	66–75 × 9–11	cilíndricos, ápice arredondado, base atenuada, longo-pedicelados	8–10 × 6,5–7,5	ovoides a elípticos, arredondados	hialinos	filiformes, numerosas, não ramificadas	–	<i>Miconia thomasi</i> (Melastomataceae)	Costa Rica	Sydow (1925)
<i>Cocodiella myrtacearum</i> (Rick) I. Hino & Katum.											
200–320 × 300–380	–	190 × 20	cilíndricos, ápice arredondado, curto-pedicelados	20–30 × 10–15	oblongos, extremidades agudas, gutulados	hialinos	filiformes, deliquescentes	–	Myrtaceae	Brasil	Rick (1906)
<i>Cocodiella neurophila</i> (Theiss.) I. Hino & Katum.											
–	–	130–150 × 12	cilíndricos a clavados, longo-pedicelados	18–20 × 8–10	oblongos, extremidades arredondadas, quase truncadas	hialinos	–	–	<i>Miconia furfuraceae</i> (Melastomataceae)	Costa Rica	Sydow (1925)
<i>Cocodiella nuda</i> (F. Stevens) I. Hino & Katum.											
–	raramente com setas no estroma	140–160 × 9	–	14–18 × 7–9	Oblongos	hialinos a esverdeados	filiformes	p	<i>Cibotium chamissoi</i> (Cibotiaceae)	Hawai (EUA)	Stevens (1925)

Ascoma		Ascos		Ascósporos			Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Cor					
<i>Coccodiella peribebuyensis</i> (Speg.) I. Hino & Katum.											
150–250	globosos a globoso-achatados	80–90 × 9–11	cilíndricos, ápice arredondado, base atenuada, longo-pedicelados	15–18 × 6–8	elípticos, extremidades agudas arredondadas, conteúdo granuloso	hialinos a oliváceos	filiformes, não ramificadas	–	Melastomatacea	Paraguai	Spegazzini (1887)
<i>Coccodiella polymorpha</i> (Lyon ex F. Stevens) I. Hino & Katum.											
–	setas no estroma	140–160 × 9	–	14–18 × 7–9	oblongos	hialinos a esverdeados	filiformes	P	<i>Cibotium menziensis</i> (Cibotiaceae)	Hawai (EUA)	Stevens (1925)
<i>Coccodiella puttemansii</i> (Henn.) I. Hino & Katum.											
–	subglobosos	120–150 × 17–25	clavados a subfusoides, ápice obtuso a subagudo, base atenuada	16–22 × 12–14	ovoides a elípticos	hialinos	filiformes, 3–4 um espess.	–	<i>Lauraceae</i> ; <i>Alibertia concolor</i> (= <i>Cordia concolor</i> ; Rubiaceae)	Brasil	Hennings (1902; 1908)
<i>Coccodiella toledo</i> (Chardón) I. Hino & Katum.											
200–235 × 143–230	globosos a irregulares, sem parede bem definida	100–140 × 10–11	cilíndricos, longo-pedicelados	10–12,5 × 6,5–8,5	elípticos	hialinos	filiformes	–	<i>Miconia macrophylla</i> (Melastomataceae)	Venezuela	Chardón (1934)
<i>Coccodiella translucens</i> (J.H. Mill. & Burton) I. Hino & Katum.											
–	globosos a angulares, com ostíolo conoide imerso	76–130 × 10–12	cilíndricos, longo-pedicelados	11,4–19 × 7,6–9,5	elípticos a oblongo-elípticos, extremidades arredondadas	hialinos a marrom-claros	parafisoides	–	<i>Miconia</i> sp. (Melastomataceae)	Venezuela	

Ascoma		Ascospores		Ascósporos			Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Cor					
<i>Cocodiella peribebuyensis</i> UB Col. Micol. 23813											
312–375 × 95–215	globosos a lenticulares	155–165 × 10,5–13,5	cilíndricos, sésseis, de paredes finas, ápice arredondado, raramente truncado, sem estruturas apicais conspícuas	15,5–27 × 7–10,5	elípticos a fusiformes	inicialmente hialinos, depois marrom- claros a escuras, com conteúdo granular	filiformes, 2,5–3 µm espess., não ramificadas, septadas	não encontrada	<i>Miconia chamissois</i> (Melastomataceae)	Brasil	Presente estudo

Cocodiella peribebuyensis (Speg.) Hino & Katumoto

Figura 7

MYCOBANK MB#532452

=*Coccostroma peribebuyense* (Speg.) Arx & E. Müll., Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz 11 (1): 262 (1954)

=*Coccostroma peribebuyensis* (Speg.) Arx & E. Müll., Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz 11 (1): 262 (1954)

=*Dothidina peribebuyensis* (Speg.) Chardón, Mycologia 13 (6): 289 (1921)

=*Bagnisiopsis peribebuyensis* (Speg.) Theiss. & Syd., Annales Mycologici 13 (3-4): 292 (1915)

=*Phyllachora peribebuyensis* Speg., Anales de la Sociedad Científica Argentina 19 (6): 243 (1885)

Tipificação: PARAGUAI, CORDILLERA, Peribebuy, sobre folhas vivas de Melastomataceae, entre os anos de 1879-83 (**provável holótipo 1** 3479); *ibid*, PARAGUARÍ, Carapeguá, sobre folhas vivas de Melastomataceae, entre os anos de 1879-83 (**provável holótipo 2** 3894); BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, 15° 37' 0,55" S × 47° 43' 8,44" O, sobre folhas vivas de *Miconia chamissois* (Melastomataceae), 16 Oct 15, ZM Chaves s.n. (**epítipo** UB Col. Micol 23813).

Descrição: Lesões circulares de coloração creme a marrom-clara, com estroma na posição central, às vezes circundadas por halo marrom-avermelhado. *Estromas* superficiais, hipófilos, pulvinados (900–1500 × 415–550 µm) com base constricta, solitários ou gregários, pretos, brilhantes, multiloculados (3–6 lóculos). *Ascomas* periteciais, globosos a lenticulares (95–215 µm diâm. × 312–375 µm de altura), ostiolados. *Ascospores* cilíndricos (155–165 × 10,5–13,5 µm), sésseis, de paredes finas, ápice arredondado, raramente truncado, sem estruturas

apicais conspícuas, parafisados. *Paráfises* filiformes (2,5–3 μm espess.), não ramificadas, septadas. *Ascósporos* unicelulares, elípticos a fusiformes (15,5–27 \times 7–10,5 μm), inicialmente hialinos, marrom-claros a escuros, com conteúdo granular. Forma assexuada não encontrada.

Comentário: Morfologicamente, a espécie mais próxima do material estudado é *Cocodiella peribebuyensis* (Speg) Hino e Katumoto, diferindo por apresentar coloração dos ascósporos mais variável, conforme Tabela 0-6 (hialinos a oliváceos em *C. peribebuyensis* e variando de hialinos a marrom-escuro nos materiais presentemente examinados). Com relação aos ascósporos, observou-se também grande variação quanto às dimensões, forma e coloração no material em estudo (Figura 0–7), o que também é observado em outras espécies, e.g. *C. advena*, *C. leandrae* e *C. miconiae*. *Cocodiella miconiae*, importante agente de controle biológico de *Miconia calvescens* (Seixas et al. 2007; Alves et al. 2010), difere do espécime em estudo por apresentar ascos e ascósporos notadamente menores (60–80 \times 8–11 μm ; 7,5–11 \times 6–9 μm , respectivamente) e ascomas periteciais com ostíolo perfisado, enquanto que no material estudado presentemente não se observou perífises.

Cocodiella peribebuyensis foi descrita originalmente como *Phyllachora peribebuyensis* por Spegazzini (1886) em folhas de espécie não determinada de Melastomataceae encontrada no Paraguai. Seaver (1928) relatou a espécie parasitando *Miconia laevigata*, *M. prasina*, *M. sintenisii*. Theissen e Sydow (1915) recombinaaram a espécie a *Bagnisiopsis peribebuyensis*, posteriormente transferida para gênero *Coccostroma* Theiss. & Syd. como *Coccostroma peribebuyensis* (Arx & Müller 1954). Katumoto (1968) revisou o gênero *Cocodiella*, sinonimizando os gêneros *Bagnisiopsis*, *Causalis*, *Cocoidiopsis*, *Coccostroma*, *Dothidina*, *Haplostroma*, *Phoenicostroma* e *Succinaria* e recombinaou 23 espécies, entre as quais *Cocodiella peribebuyensis* (Speg) Hino e Katumoto. Chardón reexaminou o tipo e encontrou ascósporos variando entre 18–24,5 \times 9–11 μm , portanto maiores que a descrição original de Spegazzini (Chardón & Toro 1934), e mais próximos do material presentemente estudado.

Espécimes examinados: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Lago Sul, Jardim Botânico de Brasília, 15° 51' 7,7" S × 47° 47' 58,2" O, sobre folhas vivas de *Miconia* sp. (Melastomataceae), 24 Oct 16, DC Guterres s.n. (UB Col. Micol 23814).

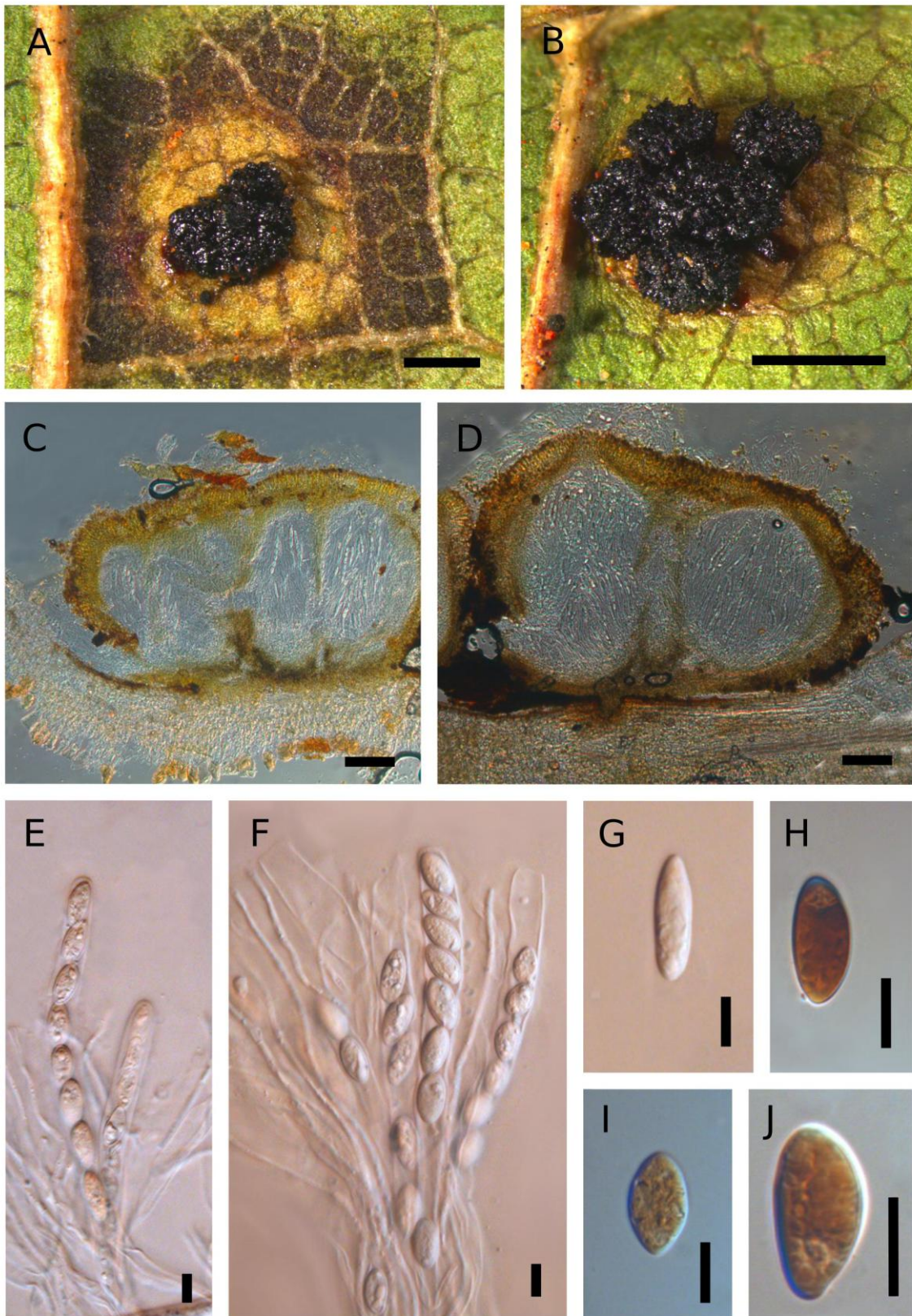


Figura 7. *Coccidiella peribebuyensis* (UB Col. Micol. 23813) em folhas de *Miconia chamissois* (A–J). A–B. Sintomas foliares. C–D. Corte transversal do peritécio imerso no pseudoestroma. E–F. Ascósporos envolvidos por bainha mucilaginosa. Barras: A = 500 μ m, B = 1 mm, C–D = 100 μ m, E–H = 10 μ m.

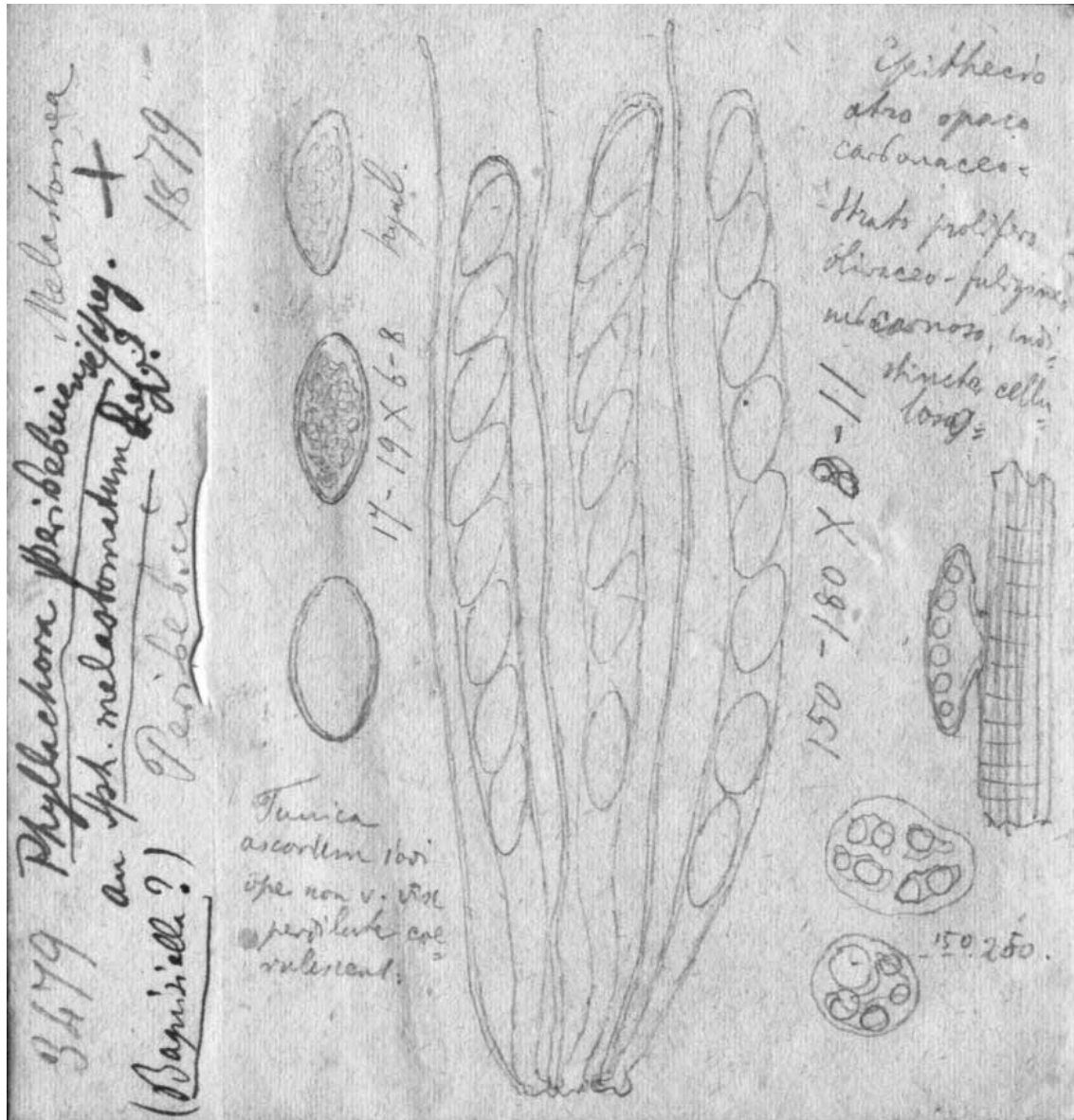


Figura 8. Cópia da ilustração original de *Phyllachora peribebuyensis* por Spengazzini em 1879 (Arambarri et al. 2017).

O gênero *Ophiodothella* (Henn.) Höhn.

Ophiodothella (Henn.) Hönn. compreende fungos fitopatogênicos biotróficos de distribuição tropical e subtropical, com característicos ascósporos filiformes ou cilíndricos-estreitos, ascos unitunicados em ascomas periteciais imersos em um pseudoestroma capaz de tomar todo o mesófilo da planta hospedeira. É considerado um gênero muito próximo a *Phyllachora*, distinguindo-se pela forma dos ascósporos. Höhnel (1910) elevou o subgênero *Ophiodothella* de *Ophiodothis*, à categoria de gênero a partir da combinação de *Ophiodothis atromaculans*, estabelecendo *Ophiodothella atromaculans* como espécie tipo do novo gênero e caracterizando-o como fungos com “estroma phyllacoroide, ocupando toda a espessura da folha, não eruptivos, uniloculares ou com poucos lóculos; ascos cilíndricos ou clavados, sem estruturas apicais conspícuas; paráfises escassas ou ausentes; ascósporos hialinos, filiformes ou raramente cilíndricos”. Além da espécie tipo, Höhnel (1910) recombinau cinco outras espécies no novo gênero: *Ophiodothella tarda* (Harkn.) Höhn.; *O. paraguariensis* (Speg.) Höhn.; *O. balansae* (Speg.) Höhn.; *O. leptospora* (Speg.) Höhn. e; *O. edax* (B. et Br.) Höhn.

Cannon (1991) considerou *Ophiodothella atromaculans* um taxon de posição duvidosa, uma vez que esta espécie apresenta ascósporos fusóide-oblongos, não verdadeiramente filiformes, numa relação comprimento:largura de apenas 12:1. O autor não examinou o tipo, presumivelmente depositado no Herbario Berolinense (Herbarium B) do Jardim e Museu Botânico Berlin-Dahlem e provavelmente perdido durante a II Guerra Mundial e, dessa forma, designou como lectótipo (S 870103) um espécime coletado no Brasil sobre folhas de espécie não determinada de *Lonchocarpus*.

Ophiodothella foi acomodada na família Phyllachoraceae ordem Dothideales por Theissen & Sydow (1915) e mantida assim em esquemas de classificação posteriores (Clemens & Shear 1931). Boyd (1934) descreveu detalhadamente o desenvolvimento de *Ophiodothella vaccini* e confirmou a existência de ascoma com parede verdadeira, transferindo o gênero para a família Clypeosphaeriaceae, ordem Sphaeriales. *Ophiodothella*

foi considerada membro de Diaporthaceae (Miller 1949), Polystigmataceae (Müller & Arx 1973), Melogrammataceae (Barr 1976) e Phyllachoraceae nos sistemas de classificação posteriores (Barr 1983; Kirk et al. 2008; Lumbsch & Hunndorf 2010; Maharachchikumbura et al. 2015).

Atualmente são reconhecidas 34 espécies, sendo a espécie de maior importância como fitopatógeno *Ophiodothella angustissima* (= *O. vaccini*), agente causal de manchas foliares em *Vaccinium arboreum* (Hanlin et al. 2013). No Brasil, foram relatadas sete espécies: *Ophiodothella atromaculans*, *O. balansiae*, *O. bignonacearum*, *O. circularis*, *O. leptospora*, *O. orchidearum* e *O. ulei* (Hanlin et al. 1992) (Tabela 0-7).

Atualmente, existem sequências de *nrSSU* apenas de *Ophiodothella vaccini* (= *O. angustissima*) disponíveis no GenBank e vários autores advogam o posicionamento desta espécie na ordem Xylariales com base em evidências moleculares (Wanderlei-Silva et al. 2003; Mardones et al. 2017; Maharachchikumbura et al. 2015).

Tabela 7. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Ophiodotella* descritas até o momento.

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência	
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)	Descrição	Apêndices				
<i>Ophiodotella annonae</i> Bezerra, F. Freire & D.M. Andrade								
137–214 × 239–289, subglobosos a subpiriformes	68–80 × 11,2–12, fusiformes, curto-pedicelados, evanescentes	30–40 × 4–5	fusiformes, levemente curvados, afilados nas extremidades, com concentração de citoplasma na parte mediana, hialinos, asseptados, bigutulados	–	filiformes, ramificadas, septadas, 0,7–10 µm	presente no mesmo pseudoestroma	<i>Annona squamosa</i> (Annonaceae) Brasil	Bezerra et al. (2006)
<i>Ophiodotella arengae</i> W.H. Hsieh, Chi Y. Chen & Sivan.								
lenticulares a globoso-achatados	62,5–90 × 7,5–10, curto-pedicelado	27,5–62,5 × 2,5–5	em fascículos, levemente retorcidos e inflados nas extremidades e na porção mediana, hialinos, asseptados, gutulados	ausentes	filiformes, septadas, até 2 um espess., com cobertura gelatinosa	–	<i>Arenga engleri</i> (Arecaceae) Taiwan	Hyde & Cannon (1999)
<i>Ophiodotella atromaculans</i> (Henn.) Höhn. (Tipo)								
250–300 Ø, subgloboso	50–70 × 5–8, fusóide	50–70 × 1,5–2	filiformes, paralelos no asco, do mesmo comprimento que o asco, hialinos, asseptados a vários septos, multigutulados	–	filiformes, esparsas	–	<i>Lonchocarpus</i> sp. (Fabaceae) Brasil	Cannon (1996)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiodothella balansae</i> (Speg.) Höhn.									
200–300 Ø, globoso-lenticulares	65 × 10, obclavados, ápice atenuados e truncados, base estreitas, curto-pedicelados	35–40 × 2,5	aciculados, ápices atenuados e agudos, levemente curvados, com conteúdo granular, hialinos, 1 mediano não-constricto, gutulados	–	Ausentes	–	Bignoniaceae não determinada	Brasil	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella bignoniacearum</i> Chardón									
220–300 × 180–126, globoso a globoso-achatado	72–85 × 8–9, cilíndricos, curto pedicelados	–	filiformes, muito comprimidos no asco, hialinos, asseptados	–	presentes, inconspícuas na maturidade	–	Bignoniaceae não determinada	Brasil	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella calamicola</i> (T.S. Ramakr. & K. Ramakr.) K.D. Hyde & P.F. Cannon									
350–2000 × 250–1200	96–126 × 11–14, clavado-estreitos, pedicelo afilado, paredes finas, ápice obtuso, anel apical inconspícuo, com 4 a 8 ascósporos	39–47,5 × 3,5–4,5	cilíndricos, levemente atenuado em direção a uma das extremidades e a outra truncada, parede lisa e fina, hialinos, asseptados, gutulados	apêndice mucoso pulvinado na extremidade truncada	até 4 um espess., simples, afilando gradualmente	–	<i>Calamus pseudotenius</i> (Arecaceae)	India	Hyde & Cannon (1999)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiidothella caseariae</i> Hanlin, M.C. González, Tortolero & Renaud									
304–364 × 224–306, subglobosos a obpiriformes, uni- ou biostiolados	84,5–106,5 × 15–19, elipsóides com ápice arredondado, com anel refrativo	53–67 × 3,3–3,7	cilíndricos a levemente afilados em direção às extremidades arredondadas, curvados e lisos, hialinos, asseptados	–	Presentes	picnidial	<i>Casearia tremula</i> (Flacourtiaceae)	Venezuela	Hanlin et al. (2002)
<i>Ophiidothella circularis</i> (Theiss. & Syd.) Petr.									
360–450 × 300–320, globosos ou cuboides	105 × 18–22, filiformes, base e ápice afilados, curto-pedicelado, J-	56–66 × 4–5	retos ou curvos, paralelos no asco, asseptados	–	-	–	<i>Myrsines</i> sp. (Myrsinaceae)	Brasil	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiidothella cuervoi</i> Chardón									
globoso-achatados	clavados, pedicelados	–	cilíndricos, ambas as extremidades agudas, asseptados	–	Presentes	–	<i>Vaccinium caracasenum</i> (Ericaceae)	Colômbia	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiidothella cyclobalanopsidis</i> W.H. Hsieh, Chi Y. Chen & Sivan.									
300–350 × 300–400, subglobosos	150–175 × 5–7, cilíndricos, curto-pedicelado, sem estruturas apicais	150–170 × 1,2–2,5	filiformes, asseptados	ausente	filiformes, simples, asseptadas, mucosas, até 2 µm espess.	–	<i>Cyclobalanopsidis</i> sp (= <i>Quercus</i>) (Fagaceae)	taiwan	Sivanesen et al. (1998)
<i>Ophiidothella edax</i> (Berk. & Broome) Höhn.									
150–250 × 150–200, globosos a globoso-achatados	70–80 × 10–13, clavado-elípticos	45–60 × 3–3,3	retos ou curvos, afilados em direção às extremidades que são truncadas, asseptados	–	Ausentes	Gloeosporium-like (von Hohnel 1910)	<i>Tephrosia elongata</i> ; <i>T. suberosa</i> (Fabaceae)	Sri-Lanka e África do Sul	Hanlin et al. (1992)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiodothella ferruginea</i> (Ellis & G. Martin) M.E. Barr									
150 Ø, subglobosos	75–80 × 7, cilíndricos, sésseis	33–54 × 1,5–2	filiformes, extremidades agudas, de coloração amarelada	–	abundantes, filiformes	–	<i>Andromeda ferruginea</i> (Ericaceae)	Florida, EUA	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella fici</i> E.A. Bessey									
400–450 × 300–500	105–175 × 12–16, fusiforme-alongados, afileando gradualmente para a base, abruptamente afileados em direção ao ápice, ápice arredondado	77–87 × 4,7–6,2	filiformes a levemente clavados, granulados, com vacúolo central, de coloração marrom-claro, asseptados	–	filiformes, septadas, mesmo comprimento que o asco	107urea107ios presentes na camada estromática superiores, aparecendo antes do peritécio	<i>Ficus 107urea</i> (Moraceae)	Florida, EUA	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella floridana</i> Chardón									
250–350 × 200–280, globosos a elípticos	80–112 × 11–13, cilíndrico-clavados	56–64 × 4	filiformes, hialinos, asseptados	–	Presentes	–	<i>Ficus</i> sp. (Moraceae)	Porto Rico e Florida, EUA	Hanlin et al. (1992)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiodothella galophila</i> Syd.									
250–350 Ø, globoso-achatados	95–130 × 10–12, cilíndrico-fusififormes ou clavados	75–95 × 2,5–3,2	filiformes, curvados, raramente retos, levemente atenuados em ambas as extremidades, paralelos no asco, com conteúdo granular, 3–4 septos, gutulados	–	filiformes, ápice afilado, tornando-se mucilaginosas, 5–7 µm espess.	Linochora galophila	<i>Ficus jimenezius</i> (Moraceae)		Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella leptospora</i> (Speg.) Höhn.									
120–150 Ø, globosos a angulares	50–60 × 10–22, elípticos ou ovoides, ápice arredondado, curto-pedicelados	40 × 4–5	cilíndricos, atenuados e arredondados nas extremidades, retos ou curvos, hialinos, asseptados	–	Ausentes	–	planta não identificada	Brasil	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella leucospila</i> (Berk. & M.A. Curtis) J.H. Mill. & G.E. Thomps.									
–	80–100 × 4,6, cilíndricos	80–100 × 1	filiformes	–	presentes, mas inconspícuas na maturidade	–	<i>Platanus occidentalis</i> (Platanaceae)	Georgia, South Carolina, EUA	Hanlin et al. (1992)

Ascoma	Ascospores	Ascósporos	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiodothella liebenbergii</i> Doidge									
160–250 × 150–180, subglobosos ou irregulares	65–75 × 10–15, elípticos, ápice arredondado, 109ésseis, retos ou curvados	50–62,5 × 2,5–3	filiformes, paralelos mas retorcidos no asco, sinuosos, base arredondada ou truncada e extremidade superior afilada, asseptados	–	presentes, esparsas	–	<i>Pchna pulchra</i> (Ochnaceae)	África do Sul	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella longispora</i> H.J. Swart									
600 Ø	180–220 × 23–27	150–200 × 4–6	curvados, extremidades arredondadas, hialinos, asseptados	c/ bainha mucilagínosa	septadas	–	<i>Eucalyptus goniocalycis</i> (Myrtaceae)	Victoria, Australia	Swart HJ. (1982)
<i>Ophiodothella longispora</i> H.J. Swart									
320 × 260, globosos	168–261 × 22,5–42, obclavados, curto-pedicelados, ápice afilado com anel conspícuo	156–240 × 4–7	longo-filiformes, região mediana alargada em forma de barril, hialinos	–	2 µm espess. Hialinas, sem constrição nos septos, afilando em direção às extremidades, simples apex, no branching seen	–	<i>Eucalyptus goniocalyx</i> (Myrtaceae)	Victoria, Australia	Pearce e Hyde (1993)
<i>Ophiodothella neurophila</i> Syd.									
250–350 Ø, globosos, ovoides ou elípticos	70–90 × 15–25, clavados, base atenuada, subsésseis ou curto-pedicelado	40–60 × 3–5	fusoide-alongados, extremidades atenuadas e arredondadas, curvados, hialinos	–	filiformes, simples, numerosas	–	<i>Streptocaulon baunis</i> (Periplocaceae)	Filipinas	Hanlin et al. (1992)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiodothella orchidearum</i> E.K. Cash & A.M.J. Watson									
300–500 × 200–300, lenticulares a globoso-achatados	65–95 × 6–9, cilíndrico-fusoides, arqueados ou retos, abruptamente afilados em direção à base, curto-pedicelados, suavemente afilados em direção ao ápice arredondado	55–66 × 1,8–3	filiformes, retos ou retorcidos em espiral no asco, constrictos a cerca de um terço do comprimento a partir das extremidades, de coloração hialino a esverdeado, 3–12, multigutulados	–	filiformes, flexuosas, gutuladas, hialinas, 1–1,5 µm espess.	–	<i>Cattleya mossiae</i> , <i>Cattleya sp.</i> , <i>Laelia superbiens</i> , <i>Laelia sp.</i> , <i>Odontoglossum uroskinneri</i> , <i>Oncidium bicallosum</i> , <i>O. cavendishianum</i> , <i>O. leucochilum</i> , <i>O. splendidum</i> , <i>Phalaenopsis schilleriana</i> , <i>Sobralia xantholeuca</i> , <i>Sobralia sp.</i> (Orchidaceae)	Brasil, Colômbia, Guatemala (tipo), México, Filipinas, Venezuela	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella palmicola</i> Bat. & Peres									
690–900 × 75–160, oblongo-achatado	200–240 × 10–13, cilíndricos ou fusiformes, sésses ou curto-pedicelados	22–25 × 2–2,5	fusoide-alongados ou filiformes, retos ou curvos, hialinos, asseptados	–	filiformes, asseptadas, hialinas, 0,1–0,2 µm espess.	–	Arecaceae não identificada	Guyana	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella panamensis</i> F. Stevens									
230 Ø, globosos	72 × 7, longo-cilíndricos, estreitos, pedicelados, surgindo em todas as partes da parede peritecial	61–65 × 1,5	filiformes, curvados, obtusos, hialinos	–	ausentes	–	<i>Cordia heterophylla</i> (Ehretiaceae)	Panama	Hanlin et al. (1992)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiodothella paraguariensis</i> (Speg.) Höhn.									
80–220 Ø	50–60 × 7–9, fusoides a fusoide-subclavados, ápice truncado e de parede grossa, base atenuada, pedicelados	40–45 × 2–2,5	fusoide-aciculares, ápices agudos arredondados, retos ou levemente curvados, multigutulados	–	–	–	<i>Rollinia emarginata</i> (Annonaceae)	Paraguai	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiodothella syzygii</i> C.A. Pearce & K.D. Hyde									
280–400 × 240–320, globosos a subglobosos	140–225 × 12,5–21, cilíndricos a cilíndrico-clavados, pedicelados, sem aparato apical	112–166 × 2,5–4	filiformes, hialinos, asseptados	pólos com apêndices mamilares	–	–	<i>Syzygium suborbiculare</i> (Myrtaceae)	Queensland, Austrália	Pearce e Hyde (1993)
<i>Ophiodothella sydowii</i> Petr.									
350–500 Ø, globosos ou elípticos	120–150 × 17–24, fusiformes ou clavado-fusiformes, parte basal mais atenuada, curto-pedicelado	75–95 × 5–6	alongado-fusiformes, gradualmente atenuados em direção às extremidades, curvados, raramente retos, hialinos, asseptados	–	–	–	<i>Cavendishia</i> sp. (Ericaceae)	Equador	Hanlin et al. (1992)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiidothella tarda</i> (Harkn.) Höhn.									
–	57 × 9, cilíndricos, abruptamente contraído, curvado e bulboso à base	42 × 2	filiformes, multigutulados	–	–	–	<i>Rhus diversiloba</i> (Anacardiaceae)	California, EUA	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiidothella tithoniae</i> Chardón									
200–350 × 160–200, lenticulares achatados	62–82 × 9,5–11, cilíndricos a clavados	45–54 × 1,5–2,7	filiformes, fortemente compactados no asco, arqueados quando livres, hialinos, asseptados	–	ausentes	–	<i>Tithonia rotundifolia</i> (Asteraceae)	Venezuela	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiidothella trichocarpa</i> Syd.									
2/3 a 3/4 da espessura da folhahospedeira × 250–400 largura	70–80 × 3–4, cilíndricos, curto-pedicelados, delicados	70–80 × 0,75	filiformes, em arranjo paralelo no asco, hialinos	–	ausentes	–	<i>Dracontomelon cumingianum</i> (Anacardiaceae)	Filipinas	Hanlin et al. (1992)
<i>Ophiidothella ulei</i> (Rehm) Höhn.									
200–230 × 160–185	85–100 × 6–8, cilíndricos, sésseis	75–85 × 1–1,5	filiformes, paralelos no asco, hialinos, asseptados, gutulados	–	ausentes	–	Fabaceae não identificada	Brasil	Hanlin et al. (1992)

Ascoma	Ascospores	Ascospores	Descrição	Apêndices	Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)							
<i>Ophiodothella vaccinii</i> Boyd									
120–150 × 134–192, ovais a obpiriformes	100–130 × 12–24, cilíndricos, base afilada, levemente espesso no ápice, curvado, poro amiloide	72–116 × 2–4	filiformes, levemente curvados, hialinos, asseptados, gutulados	–	filiformes, septadas, ramificadas, 79–112 × 3–4 µm espess.	<i>Acerviclypeatus poriformans</i>	Ericaceae não identificada	Arkansas, California, Florida, Georgia (Type), Illinois, Mississippi, North Carolina, South Carolina, Texas, EUA	Boyd (1934)
<i>Ophiodothella</i> sp. nov. 1									
150–465 × 125–295, piriformes, frequentemente biostiolados	110–165 × 12–15, cilíndricos a subclavados, revestindo toda a cavidade do ascoma, aparato apical inconspícuo.	82–140 × 2,5–6	filiformes, hialinos, asseptados	–	Filiformes, simples, 1,5–3 µm espess.	–	<i>Myrcia tomentosa</i> (Myrtaceae)	Minas Gerais, Brasil	Presente estudo
<i>Ophiodothella</i> sp. nov. 2									
275–346 × 340–575, globosos a ampuliformes	115–160 × 10–18, cilíndricos	59–85 × 3–6	unicelulares, hialinos, filiformes, multigutulados	basal filiforme	numerosas, filiformes, septadas, hialinas	não encontrada	<i>Campomanesia adamantium</i> (Myrtaceae)	Minas Gerais, Brasil	Presente estudo

***Ophiodothella* sp. nov. 1**

Figura 9

Tipificação: BRASIL, MINAS GERAIS, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 58' 18,3" S × 45° 24' 32" O, sobre folhas vivas de *Myrcia tomentosa* (Myrtaceae), 29 Jul 15, DB Pinho s.n. (**holótipo** UB Col. Micol 23468).

Descrição: *Pseudoestromas* anfégenos, pretos, carbonáceos, circulares a oblongos (0,8–1,8 cm diâm.), isolados, às vezes confluentes, subepidérmicos, multiloculados (6–15 lóculos), pseudoparenquimáticos, textura prismática. *Ascomas* periteciais piriformes (150–465 × 125–295 µm), frequentemente bi-ostiolados quando anfégenos e conectados pelas bases, perifisados. *Ascós* unitunicados, cilíndricos a subclavados (110–165 × 12–15 µm), revestindo toda a cavidade do ascoma, aparato apical inconspícuo, contendo 8 esporos. *Paráfises* filiformes (1,5–3 µm espess.), septadas. *Ascósporos* filiformes (82–140 × 2,5–6 µm) ou cilíndrico-estreitos, unicelulares, com extremidades arredondadas, de parede fina e lisa, com gútula mediana. *Conidiomas* globosos, localizados no mesmo pseudoestroma da forma sexuada, espermaciais, ostiolados. *Lóculos* 97–157 µm de diâmetro. *Ostiolos* inconspícuos. *Células conidiogênicas* 7–12 × 1–2 µm, fialídicas, hialinas, revestindo toda a cavidade do conidioma. *Espermácias* 15–48 × 1 µm, filiformes, unicelulares, hialinos, com parede lisa.

Comentário: Em hospedeiras da família Myrtaceae são conhecidas as espécies *Ophiodothella longispora* Swart, que ocorre em *Eucalyptus goniocalycis*, e *O. syzygii* Pearce & Hyde, em *Syzygium suborbiculare*, ambas com ocorrência restrita à Austrália (Swart 1982; Pearce & Hyde 1993). Santos (2013) descreveu duas possíveis novas espécies em *Myrcia tomentosa* e *Campomanesia adamantium* no Cerrado do Distrito Federal. O espécime em estudo é idêntico ao espécime descrito por Santos e colaboradores (Santos 2013; Santos et al. 2013) em *M. tomentosa*, porém coletado em Minas Gerais. Morfologicamente o espécime em

estudo é claramente distinto das espécies conhecidas (Tabela 0-7), a começar pelo ascoma peritecial piriforme e bi-ostiolado no espécime em estudo, e globoso a subgloboso em *O. longispora* e em *O. syzygii*. Com relação aos ascósporos, *O. longispora* apresenta ascósporos maiores ($156\text{--}240 \times 4\text{--}7 \mu\text{m}$) envolvidos por bainha mucilaginosa e com a porção mediana alargada em relação às extremidades, e *O. syzygi* tem ascósporos maiores ($112\text{--}166 \times 2,5\text{--}4 \mu\text{m}$) e com característicos apêndices polares mamiliformes, enquanto *Ophiodothella* sp. nov 1 possui ascósporos menores ($82\text{--}140 \times 2,5\text{--}6 \mu\text{m}$) com extremidades arredondadas.

Outros espécimes examinados: BRASIL, MINAS GERAIS, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, $19^{\circ} 58' 18,3'' \text{ S} \times 45^{\circ} 24' 32'' \text{ O}$, sobre folhas vivas de *Myrcia tomentosa* (Myrtaceae), 29 Jul 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23536); *ibid*, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, $19^{\circ} 58' 18,3'' \text{ S} \times 45^{\circ} 24' 32'' \text{ O}$, sobre folhas vivas de *Myrcia tomentosa* (Myrtaceae), 29 Jul 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23423); *ibid*, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Jardim Botânico de Brasília, $15^{\circ} 86' 74'' 47'' \text{ S} \times 82' 75,6'' \text{ O}$, sobre folhas vivas de *Myrcia tomentosa* (Myrtaceae), 1 Jun 10, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol 21776); *ibid*, Lago Sul, Parque Ecológico Ermida Dom Bosco, $15^{\circ} 47' 44,7'' \text{ S} \times 47^{\circ} 48' 32,3'' \text{ O}$, sobre folhas vivas de *Myrcia tomentosa* (Myrtaceae), 4 Mai 17, *DC Guterres s.n.* (UB Col. Micol 23811).

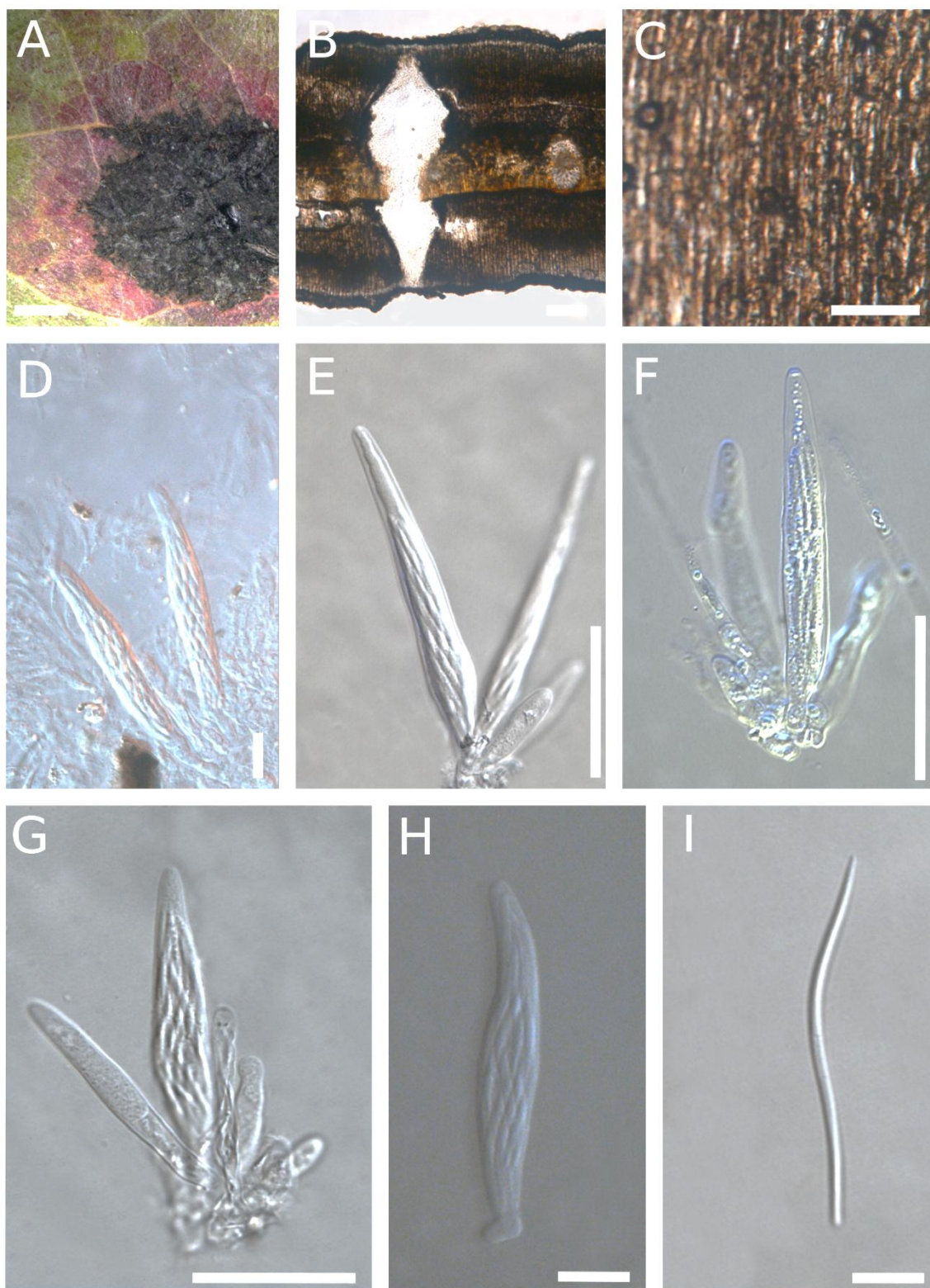


Figura 9. *Ophiidotella* sp. 1 (UB Col. Micol. 23468) em folhas de *Myrcia tomentosa* (A–I).
 A. Sintomas foliares. B. Corte transversal do peritécio imerso no pseudoestroma biostiolado. C. Textura do pseudoestroma. D–H. Ascis. I. Ascósporo filiforme.
 Barras: A = 2 mm, B = 100 μm , C = 15 μm , D = 20 μm , E–G = 50 μm , H–I = 20 μm .

Ophiodothella sp. nov. 2

Figura 10

Tipificação: BRASIL, MINAS GERAIS, Santo Antônio do Monte, Fazenda Rancho das Grotadas, 19° 57' 16,9" S × 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), 2 Ago 15, DB Pinho s.n. (**holótipo** UB Col. Micol 23588).

Descrição: *Pseudoestromas* anfígenos, circulares a irregulares (1–2,5 cm), solitários, pretos, carbonáceos, intraepidérmicos a subepidérmicos, anfígenos, ocupando toda a extensão do mesófilo, frequentemente atingindo a superfície abaxial, multiloculares (10–15 lóculos). *Ascomas* periteciais, anfígenos, globosos a ampuliformes (275–346 × 340–575 µm). *Ascos* unitunicados, cilíndricos (115–160 × 10–18 µm), sésseis, sem estruturas apicais conspícuas. *Paráfises* numerosas, filiformes, septadas, hialinas. *Ascósporos* unicelulares, hialinos, filiformes (59–85 × 3–6 µm), multigutulados, em arranjo paralelo ou helicoidal no asco, com apêndice basal filiforme. Forma assexuada não encontrada.

Comentário: Os espécimes presentemente estudados são morfologicamente distintos das espécies de *Ophiodothella* parasitas de Myrtaceae atualmente reconhecidas por apresentar ascomas biostilados, características encontradas apenas em *O. vaccinii* e em *Ophiodothella* sp. nov. 1 (Tabela 0-7). Adicionalmente *O. syzigii* apresenta ascósporos com apêndice mamiliformes e *O. longispora* ascósporos curvados, com extremidades arredondadas e envoltos por bainha mucilaginosa, enquanto *Ophiodothella* sp. nov. 2 tem ascósporos filiformes, multigutulados com apêndice celular terminal filiforme. Morfologicamente *Ophiodothella* sp. nov. 2 difere de *Ophiodothella* sp. nov. 1 por apresentar ascósporos multigutulados com apêndice terminal, enquanto *Ophiodothella* sp. nov. 1 tem ascósporos com gútula mediana e não possuem apêndices. Adicionalmente, as análises filogenéticas no presente estudo evidenciaram a separação das espécies, com *Ophiodothella* sp. nov. 1 alocada

sempre próxima a *Phyllachora oxyspora*, enquanto *Ophiodotella* sp. nov. 2 sem posição definida dentro de *Phyllachorales*.

Outro espécime examinado: BRASIL, MATO GROSSO DO SUL, Campo Grande, 19° 57' 16,9" S × 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), 2 jul 1993, *JC Dianese* 1026 (UB Col. Micol. 4384).

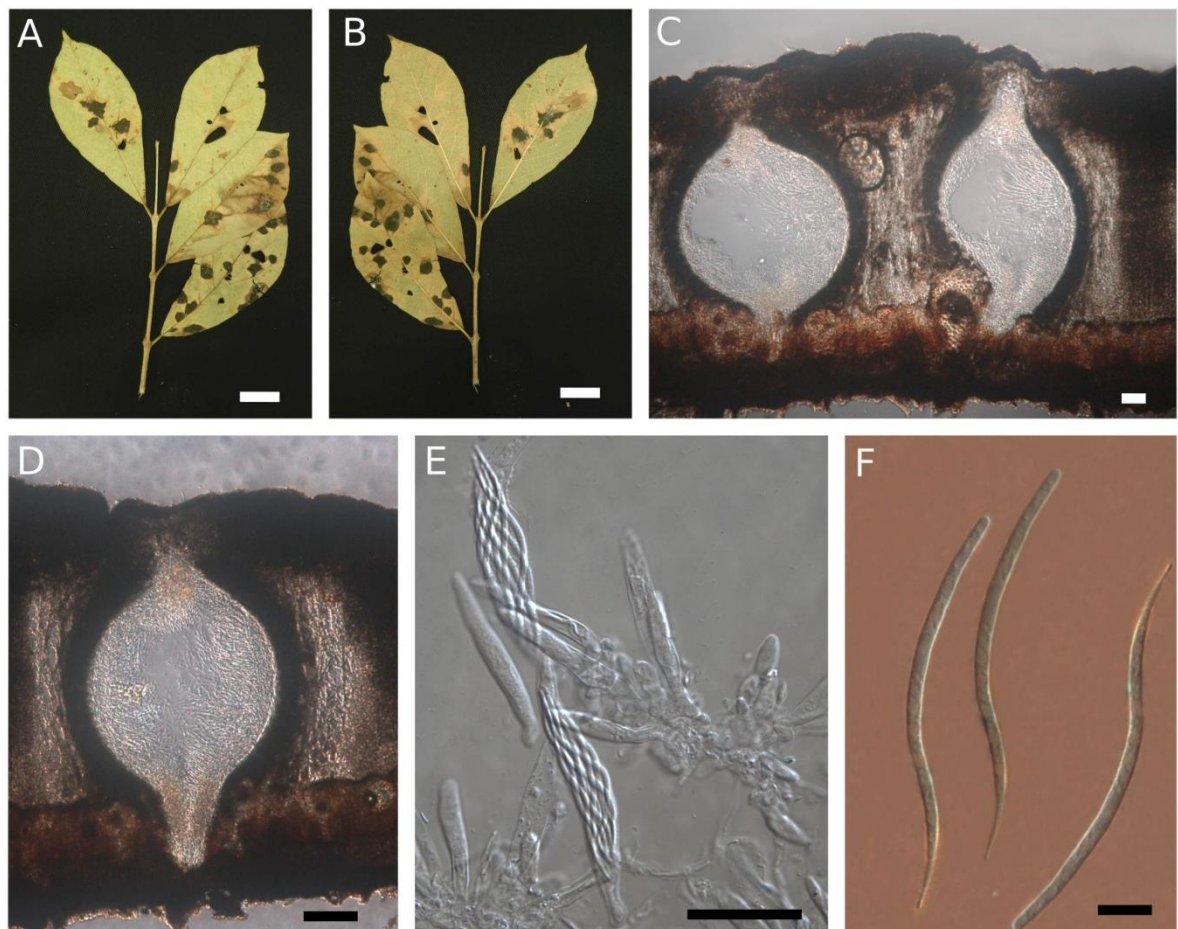


Figura 10. *Ophiodotella* sp. 2 (UB Col. Micol. 23588) em folhas de *Campomanesia adamantium* (A–F). A–B. Sintomas foliares. C–D Corte transversal do peritécio imerso no pseudoestroma biostiolado. E. Ascospores e ascósporos. F. Ascósporo filiforme com apêndice basal. Barras: A–B = 1 cm, C = 50 μ m, D = 100 μ m, E = 50 μ m, F = 10 μ m.

O gênero *Telimena* Racib.

Telimena Racib. inclui fungos filacoroides biotróficos parasitas em diversas famílias botânicas (Mardones et al. 2017). Foi originalmente descrito por Raciborski (1900) contendo espécies com ascósporos asseptados ou com até três septos. Theissen & Sydow (1915) incluíram o gênero em Phyllachoraceae subfamília Phylacorineae com base na similiaridade do estroma subepidérmico, podendo expandir-se e ocupar o mesófilo. Posteriormente, foi considerado relacionado à *Telimenopsis*, *Telimenella* e *Telimenochora* (Petraik 1931; Müller 1975; Barr 1977). Lumbsch & Huhndorf (2010) listaram *Telimena* entre os membros de Phyllachoraceae, mas o gênero não aparece nas relações publicadas nos anos subsequentes (Maharachchikumbura et al. 2015, 2016). Mardones et al. (2017), baseados em evidências morfológicas e moleculares, restabeleceram o gênero e fizeram uma emenda à descrição original a fim de acomodar 14 espécies previamente reconhecidas como *Phyllachora* (Tabela 0-8) e propuseram um espécime de *T. bicincta* recentemente coletado como epítipo. Assim, de acordo com a nova circunscrição, *Telimena* caracteriza-se por lesões escuras sobre folhas vivas ou mortas, ascomas solitários ou gregários, subcuticulares, epidérmicos, subepidérmicos ou imersos no tecido da hospedeira, anfígenos, epífilos ou hipófilos, clipeados, uni- ou multiloculares, ostiolados; subcuticulares ou epidérmicos; pseudoestromas fortemente desenvolvidos; hamatécio com perfíses no ostíolo e paráfises evanescentes; ascos unitunicados, cilíndricos a elipsoides, com anel apical não amiloide, e contendo 8 esporos; ascósporos hialinos a marrom-claros na maturidade, globosos a filiformes, retos ou curvados, lisos, 0–3 septados.

A família Telimenaceae Mardones, Trampe & M. Piepenbr (Phyllachorales) foi recentemente criada (Mardones et al. 2017) para acomodar espécies anteriormente reconhecidas como *Phyllachora* em diversas hospedeiras de diferentes famílias botânicas que são filogeneticamente distintas do *core group* formado por *Phyllachora graminis* e espécies próximas. A separação morfológica entre Phyllachoraceae e Telimenaceae é sutil e várias

espécies ainda reconhecidas como *Phyllachora* e para as quais não existem dados moleculares enquadram-se nas circunscrições de ambas as famílias.

Na análise exploratória aqui apresentada, utilizando sequências de *nrSSU*, *nrLSU*, *nrITS*, *RPB2* e *TEF1* os espécimes formaram um clado com alto suporte filogenético (BS = 95; BPP = 1) na família monogenérica Telimenaceae (Phyllachorales). A inclusão da sequência parcial do *TEF1*, no presente trabalho, resultou em topologia distinta da mostrada por Mardones et al. (2017), porém a posição de *Phyllachora salaciae* e de *Phyllachora* sp. nov. 1 em Telimenaceae foi mantida em ambas as análises, com ou sem sequências de *TEF1*. Estas espécies, embora filogeneticamente alocadas em *Telimena*, são distintas das demais, considerando-se tanto os caracteres morfológicos (Tabela 0-8) quanto os moleculares. As análises subsequentes reafirmaram a posição das espécies na família Telimenaceae, gênero *Telimena*. Em consequência, é necessária a recombinação da espécie *Phyllachora salaciae* em *Telimena salaciae* e a descrição de um nova taxon, *Telimena* sp. nov. 1 em função dos dados moleculares obtidos.

Tabela 8. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Telimena* descritas até o momento.

Ascoma		Ascospores		Ascospores		Paráfises	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Ascospores	Forma	Dimensões (µm)	Forma				
<i>Telimena aequatoriensis</i> (Theiss. & Syd.) Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr.									
170–300 × 150–190	–	70–80 × 9– 12	cilíndricos, curto– pedicelados	10–12 × 7–9	elípticos ou ovais	presentes	<i>Monnina sp.</i> , <i>Monnina hirta</i> (Polygalaceae)	Equador	Theissen e Sydow (1915)
<i>Telimena bicincta</i> (E. Bommer & M. Rousseau) Theiss. & Syd.									
–	–	90–96 × 12– 15	fusoideis v. claviformibus, sessilibus	–	–	–	<i>Picramnia antidesma</i> (Picramniaceae)	Costa Rica	Saccardo (1899); Theissen e Sydow (1915)
<i>Telimena canafistulae</i> (F. Stevens & Dalbey) Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr.									
155–170	globosos	72–99 × 16– 20	Cilíndricos	13–16 × 6–8	oval a elipseide	Filiformes	<i>Cassia fistula</i> (Fabaceae)	Porto Rico	F. Stevens e Dalbey (1919)
<i>Telimena engleri</i> (Speg.) Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr.									
120–140	lenticulares, conoides	56–60 × 6–7	cilíndricos, ápice truncado, curto– pedicelado	10–13 × 3–4	elíptico a elíptico– navicular, protoplasma granuloso, bigutulado, hialino	presentes	<i>Anthurium sp.</i> , <i>Anthurium concinatum</i> , <i>Spathicarpa lanceolata</i> (Araceae)	Paraguai	Spegazzini (1885)
<i>Telimena leae</i> (Koord.) Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr.									
–	subglobosos	100–140 × 10–15	Cilíndricos	12–15 × 7–8	elipsoideis	Filiformes, não–septadas	<i>Cissus trianae</i> (Vitaceae), <i>Zanthoxylum schery</i> (Rutaceae)	Java	Saccardo (1913)

Ascoma		Ascos		Ascósporos		Paráfises	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Ascos	Forma	Dimensões (µm)	Forma				
<i>Telimena picramnia</i> (Syd. & P. Syd.) Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr.									
185–246 × 150–231	globoso- achatados	93 × 11	cilíndricos, curto- pedicelados	21–25 × 5	oblongos afilando levemente em direção às extremidades	–	<i>Picramnia sp.</i> (<i>Picramniaceae</i>)	Costa Rica	Stevens (1927)
<i>Telimena sp 1 MM 143</i>									
–	–	–	–	–	–	–	<i>Eugenia acapulsensis</i> (<i>Myrtaceae</i>)	–	Mardones et al. (2017)
<i>Telimena sp 1 MM 144</i>									
–	–	–	–	–	–	–	<i>Eugenia acapulsensis</i> (<i>Myrtaceae</i>)	–	Mardones et al. (2017)
<i>Telimena sp 5 SO 14</i>									
–	–	–	–	–	–	–	<i>Wetnnia sp.</i> (<i>Arecaceae</i>)	Equador	Mardones et al. (2017)
<i>Telimena sp 5 SO 21</i>									
–	–	–	–	–	–	–	<i>Wetnnia sp.</i> (<i>Arecaceae</i>)	Equador	Mardones et al. (2017)
<i>Telimena sp 5 SO 22</i>									
–	–	–	–	–	–	–	Arecaceae	Equador	Mardones et al. (2017)
<i>Telimena sp 3 MM88</i>									
–	–	–	–	–	–	–	<i>Symplocos panamensis</i> (<i>Symplocaceae</i>)	Costa Rica	Mardones et al. (2017)

Ascoma		Ascos		Ascósporos		Paráfises	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Ascos	Forma	Dimensões (µm)	Forma				
<i>Telimenia ulei</i> SO 12									
–	–	–	–	–	–	–	<i>Dioscorea meridensis</i> (Dioscoreaceae)	Equador	Mardones et al. (2017)
<i>Telimenia ulei</i> (G. Winter) Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr.									
–	–	90–106 × 12,5	oblongo–cilíndrico, base atenuada, ápice truncado, curto–pedicelado	18–20 × 5,5	oblongo, extremidade afiladas	filiformes, mucosas	<i>Espécie indetrminada na descrição original; Dioscorea urophylla</i> (Dioscoreaceae)	Brasil	Winter (1887); Mardones et al. (2017)
<i>Telimenia zanthoxylicola</i> (Seaver) Mardones, T. Trampe & M. Piepenbr									
–	–	–	Clavados	30 × 7–8	fusoides alongados	–	<i>Zanthoxylum insulare</i> (Rutaceae)	Jamaica	Seaver (1928)
<i>Telimenia salaciae</i> UB Col. Micol 23815									
114–195	subglobosos, cônicos ou piriformes	69–89 × 10–15,5	cilíndricos a subclavados	9–13 × 3–5	fusoides, gutulados	Filiformes, septadas, medindo 1–3,5 µm de espessura	<i>Salacia crassifolia</i> (Celastraceae)	Brasil	presente estudo
<i>Telimenia</i> sp. nov. 1 UB Col. Micol 23680									
210–285 × 160–205	globosos a piriformes ostiolados, com pescoço curto, perifisado	75–95 × 10,5–13	cilíndricos, curto–pedicelados, aparato apical inconspícuo	14–17 × 5–6	Elípticos	Filiformes, 3 um espess.	<i>Serjania</i> sp. (Sapindaceae)	Brasil	presente estudo

Telimena salaciae (Henn.) Guterres, Galvão–Elias, Santos & Dianese comb. nov. nom. prov.

Figura 11

MYCOBANK MB# (n.d.)

Basiônimo: *Sirentyloma salaciae* Henn., Hedwigia 34: 319 (1895)

=*Phyllachora salaciae* (Henn.) Höhn., Sber. Akad. Wiss. Wien, Math.–naturw. Kl., Abt. 1 119: 931 [55 repr.] (1910)

Tipificação: BRASIL, GOIÁS, Corumbá, Rio Corumbá, sobre folhas vivas de *Salacia* sp. (Celastraceae), Out 1892, E. Ule (**holótipo** 1936); *ibid*, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília, 11° 44' 11,1" S 47° 52' 58,5" O, sobre folhas vivas de *Salacia crassifolia* (Celastraceae), 22 Aug 2007, M Sanchez s.n. (**epítipo** UB Col. Micol 23815).

Descrição: Lesões anfigenas, pretas, medindo até 7 cm de diâmetro, ocupando grande parte do limbo foliar. *Pseudostromas* marrom-escuros a pretos, ocupando todo o mesófilo. *Micélio* interno bem desenvolvido, inter e intracelular, composto de hifas septadas, melanizadas, de paredes espessas, toruloides ou poliédricas (6–8 µm). *Ascomas* raros, periteciais, subglobosos, cônicos ou piriformes (114–195 µm diâm.), com pescoço curto, perfisados, imersos no pseudostroma, ostiolados. *Ascós* unitunicados, de paredes finas, cilíndricos a clavados (69–89 × 10–15,5 µm), com ápice arredondado, aparelho apical inconspícuo, parafisados, contendo oito ascósporos em arranjo unisseriado, raramente bisseriado. *Paráfises* hialinas, filiformes (1–3,5 µm de espessura), septadas. *Ascósporos* unicelulares, hialinos, fusiformes (9–13 × 3–5 µm), gutulados. *Forma assexuada* não encontrada.

Comentário: *Phyllachora salaciae* (Henn.) Höhn. foi descrita primeiramente como um carvão do grupo “Ustilaginee” segundo Hennings (Hennings 1895), designada como *Sirentyloma salaciae* Henn.. Na descrição do fungo, o autor interpretou o estroma formado por um sistema de hifas toruloides e pigmentadas como esporos fúngicos. Saccardo & Sydow (1902), por sua vez, consideraram a espécie como um hifomiceto, e posteriormente Höhnel (1910), ao considerar o peritécio como sendo filacoroide, bem como a forma de ascos e ascósporos, alocou a espécie no gênero *Phyllachora* como *P. salaciae* (= *Sirentyloma salaciae*). Höhnel (1910) descreve os peritécios como imersos em estroma formado por hifas com células marrons, de parede espessa, poliédricas (6–8 µm), envolvendo quase todas as células do hospedeiro, da epiderme superior à inferior, peritécios hipófilos, globosos ou cônicos, com pescoço curto, perfisados e abertos por ostíolo circular, ascos e ascósporos típicos de *Phyllachora* e paráfises filiformes com cerca de 1 µm de espessura, o que coincide perfeitamente com os espécimes em estudo. Porém Höhnel (1910) ainda afirma que nem todos os peritécios encontravam-se maduros no material por ele examinado e que as características do estroma aproximariam o fungo de *Euryachora sedi* (Link) Fuckl (Dothideomycetes).

Entre as hospedeiras de *Phyllachora* spp. da família Celastraceae, são relatadas espécies do gênero *Celastrus* e *Salacia*. Além de *Telimena salaciae* comb. nov. três espécies de *Phyllachora* foram relatadas em hospedeiras da família Celastraceae: *P. amphididyma* Penz. & Sacc. (= *P. amphidima* variante ortográfica) em *Salacia brunneriana*, *P. celastri* R.K. Verma & Kamal em *Celastrus paniculatus* e *P. punctifaciens* Petr em *Salacia* sp., as duas primeiras na Índia e a última no Brasil (Kamat et al. 1978).

Há um único registro de *P. celastri* em *Celastrus paniculatus*, na Índia (Verma & Kamal 1989). A hospedeira tem ampla distribuição global ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais da Índia, Myanmar, China, Malasia, Srilanka, Filipinas e América do Norte,

porém não há registros de sua ocorrência no Brasil (GBIF.org, acesso em 02 de novembro de 2017).

Considerando-se para comparação as espécies que ocorrem em *Salacia*, o espécime ora recombinação difere de *P. amphidyma*, que apresenta ascomas maiores (300 µm diâm.), ascos ligeiramente maiores e mais estreitos (100–125 × 7–8 µm) e ascósporos maiores (14–16 × 6 µm), e foi registrada apenas em *Salacia brunneriana* (Penzig & Saccardo 1898). *Phyllachora punctifaciens*, por sua vez, apresenta ascomas maiores (350–500 µm diâm.) e ascos notadamente menores (38–50 × 4,5–6 µm). Porém, *Phyllachora amphidyma* possui pseudoestroma esparso ou agrupado, imerso, epífilo, circular a elíptico (até 1 cm diâm.), convexo–achatado, preto–brilhante, com 2–3 lóculos. Assim, completamente diferente do pseudostroma invasivo ocupando todo o mesófilo, no caso de *T. salaciae* comb. nov. Além disso, *P. amphidyma* mostra ascomas periteciais globosos (300 µm diâm), com ostíolo papilado; ascos cilíndricos (100–125 × 7–8 µm), com pedicelo curto, ápice arredondado, paráfises filiformes, contendo oito esporos; ascósporos unicelulares, hialinos, oblongo a elípticos (14–16 × 6 µm), com duas gútuas.

Phyllachora punctifaciens foi originalmente descrita como *Physalospora manaosensis* por Hennings (1905) sobre folhas de textura coriácea em espécie não identificada, a qual o autor suspeitava ser da família Lauraceae coletada em 1901 em Manaus (AM). Caracteriza-se por apresentar *lesões* negras, esparsas ou agregadas, circulares, rugosas, com 1–3 mm de diâm.; *pseudoestromas* uni- ou multiloculares; *ascomas* periteciais epífilos, imersos no pseudostroma, ostiolados, punctiformes (ostíolo papilado), eruptivos, pretos. *Ascós* subfasciculares, clavados (40–45 × 8–12 µm), com ápice arredondado, contendo 8 esporos, paráfises filiformes, hialinas. *Ascósporos* hialinos, unicelulares, ovoides a elípticos (8–10 × 4–5 µm), com parede interna granulada.

Theissen (1917) criou o gênero *Plectosphaera* (Xylariaceae) com base em *Phyllachora bersamae* Lingelsh. e recombinação *Physalospora manaosensis* Henn. em

Plectosphaeria manaosensis. *Plectosphaera* inclui fungos sem estroma, com *peritécio* permanentemente imerso em uma matriz fibrosa de hifas, *perídio* formado por hifas de paredes finas. *Ascós* formados na base do peritécio, convergentes ao centro, parafisados, cilíndricos a fusoides, com ápice não amiloide. *Ascósporos* unicelulares, hialinos. Mais tarde, Petrak (1934) estudou o material descrito por Hennings (1905), descrevendo-o detalhadamente e destacando consideráveis diferenças da descrição de Theissen (1917), entre elas a presença de clípeo muito reduzido, e conclui tratar-se de um genuíno exemplar de *Phyllachora*, e nomeou a espécie de *Phyllachora punctifaciens*, uma vez que Hennings já havia descrito outra *Phyllachora manaosensis*, diferente do espécime em questão.

Phyllachora punctifaciens, como mostra a descrição feita por Petrak (1934), difere consideravelmente do material em estudo pelo estroma pouco desenvolvido. *Phyllachora punctifaciens*, caracterizando-se por *lesões* mais ou menos extensas, irregulares, esparsas, circulares ou elípticas, às vezes angulares, com cerca de 1–2,5 mm de diâm., geralmente coalescentes. Na superfície abaxial aparecem marcas levemente descoloridas, enquanto na superfície adaxial há várias pontuações minúsculas, observadas sob lente de aumento, circundadas por uma zona enrugada marrom-avermelhada. *Estromas* pouco desenvolvidos, consistindo de uma matriz de hifas delicadas (1,5–3 µm diâm.), de paredes finas, ramificadas, não compactadas, que ocupa o tecido hospedeiro residual e forma pequenos agregados celulares. *Ascomas* periteciais solitários ou gregários (2–3), mesofílicos, epífilos, ocupando todo o espaço entre as epidermes de ambos os lados, globoso-depressos ou elipsoidais, frequentemente irregulares (350–500 × 150–250 µm), com ostíolo papilado e perfisado. *Perídio* de textura membranosa, quase carnosa, entremeado por resíduo do tecido do hospedeiro, com borda não definida, 15–25 µm de espessura, com numerosas camadas de células arredondadas a angulares (2,5–5 µm diâm.) de paredes finas, quase hialinas. *Ostíolo* formado por tecido marrom, opaco, papilado, ao redor do qual se forma um clípeo rudimentar, pseudoparenquimático, formado por células de paredes grossas, marrons, opacas, angulares

(3–5 μm). *Clípeo* em geral confinado inteiramente ao ostíolo, raramente expandindo-se pela epiderme, circular (150 μm diâm.) ou elíptico (180–250 \times 100–180 μm), com bordas bem delimitadas. *Ascos* numerosos, cilíndricos a clavados (38–50 \times 12–20 μm), com paredes finas, ápice arredondado, com pedicelo curto, contendo 8 esporos. *Ascósporos* hialinos, unicelulares, oblongos ou elípticos (10–16 \times 4–6 μm), com ambas as extremidades arredondadas ou afilando em uma das extremidades, levemente curvados, textura levemente granulada. *Paráfises* numerosas, na maioria simples (2–3 μm diâm.), de paredes muito finas, frequentemente enoveladas e mucilaginosas (Pettrak 1934).

Santos (2011) encontrou aparentemente o mesmo fungo, com ascomas e ascósporos ligeiramente maiores (110–180 μm diâm.; 12–17 \times 4–7 μm , respectivamente). A autora sugeriu tratar-se de um novo gênero pertencente a Phyllachoraceae, dada a ausência de ostíolo clipeado característico de muitas *Phyllachora* spp., o aspecto fosco da lesão, e o material estromático bem desenvolvido no mesófilo, formado por células muito melanizadas e não compactadas (Santos 2011). Souza (2017) estudou espécime similar, diferindo ligeiramente na amplitude das medidas de ascoma, ascos e ascósporos e sugeriu tratar-se de nova espécie de *Phyllachora*. Considerando-se que os espécimes foram coletados em locais próximos (Brasil, Distrito Federal) e sobre a mesma espécie hospedeira, as pequenas divergências observadas refletem apenas a variabilidade fenotípica da espécie, sendo todos exemplares de *P. salaciae*. Além disso, não há dados moleculares para comparação com espécimes estudados pelos autores supracitados.

Espécime examinado: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Lago Sul, Reserva Ecológica IBGE – RECOR, 15° 57' 3,4" S 47° 52' 20,8" O, sobre folhas vivas de *Salacia crassifolia* (Celastraceae), 16 Oct 16, DC Guterres s.n. (UB Col. Micol 23805).

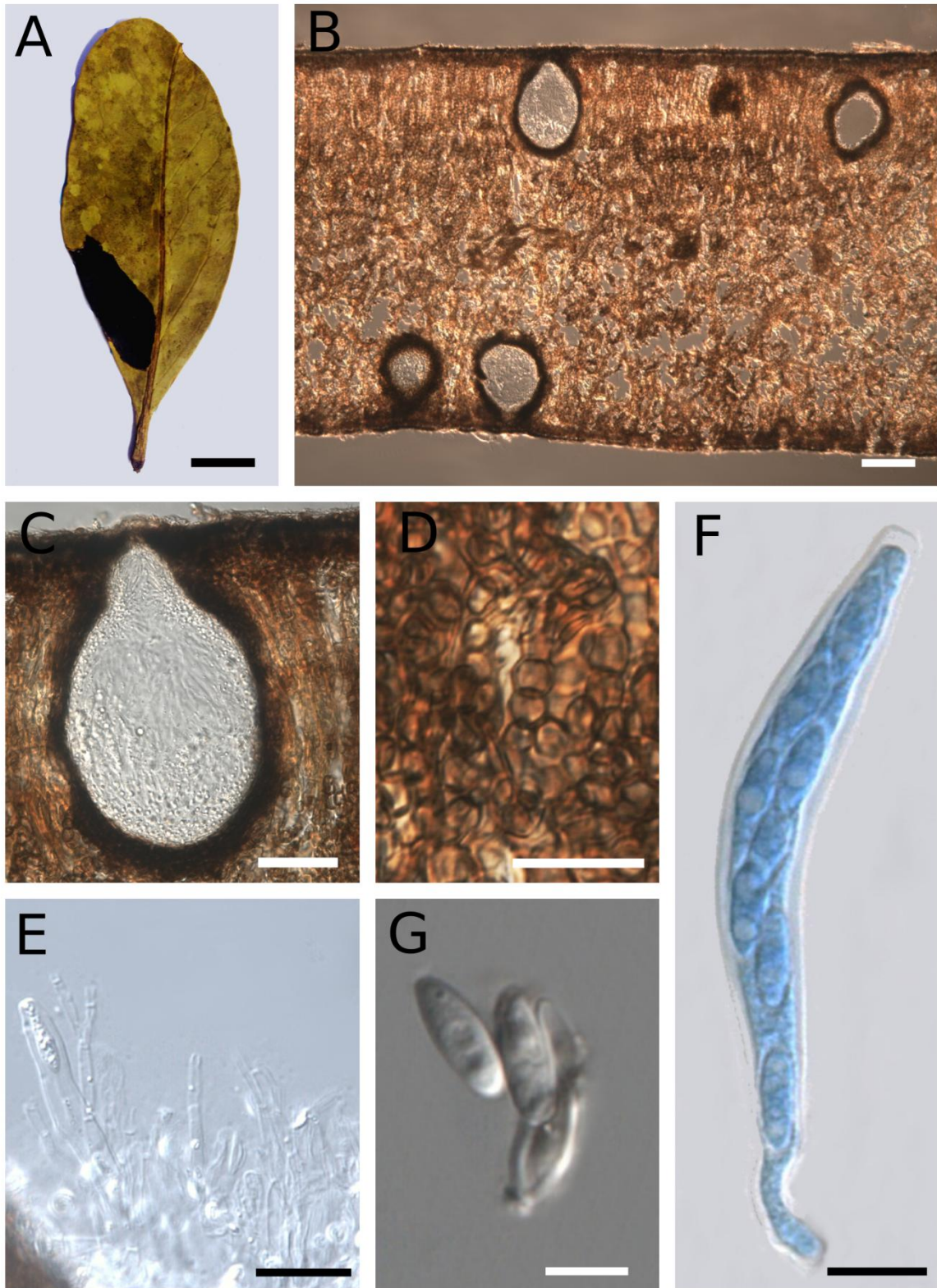


Figura 11. *Telimena salaciae* (UB Col. Micol. 23815) em folhas de *Salacia crassifolia* (A–I).

A. Sintomas foliares. B–C. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. D. Micélio interno do pseudoestroma formando células toruloides. E. Paráfises hialinas, septadas e ramificadas. F.. Asco. G. Ascósporos. Barras: A = 1 cm, B–C = 50 μm , D–E = 25 μm , F–G = 10 μm .

***Telimena* sp. nov. 1**

Figura 12

Tipificação: BRASIL, MARANHÃO, Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 7° 6' 53,5" S 47° 17' 13" O, sobre folhas vivas de *Serjania* sp. (Sapindaceae), 29 Oct 15, DB Pinho s.n. (**ho lótipo** UB Col. Micol 23680).

Descrição: *Pseudoestromas* anfígenos, orbiculares a irregulares (1–2 × 1,5–2,5 mm), pretos, brilhantes, multiloculares, lóculos papilados. *Ascomas* periteciais, globosos a piriformes (210–285 × 160–205), ostiolados, com pescoço curto, perfisado. *Ascós* unitunicados, de paredes finas, cilíndricos (75–95 × 10,5–11,5 µm), com pedicelo curto, aparato apical inconspícuo, contendo oito ascósporos em arranjo uniseriado, parafisados. *Paráfises* filiformes (3 µm espess.), septadas, não ramificadas. *Ascósporos* unicelulares, hialinos, de parede fina, fusoides (14–16,5 × 5,5–6 µm) conteúdo granuloso, sem bainha mucilaginosa. *Forma assexuada* não encontrada.

Comentário: Comparou-se o material em estudo com as descrições e ilustrações de espécies de *Phyllachora* parasitas de Sapindaceae (Tabela 0-9) disponíveis na literatura e com todas as espécies de *Telimena* atualmente reconhecidas (Tabela 0-8). Além disso, examinou-se os vouchers de *Catacauma serjaniae* (Speg.) Chardón (= *Phyllachora serjaniae*) estudados por Viégas (Figura 0–13) gentilmente emprestados pelo Herbário do Instituto Agronômico de Campinas.

Outro espécime examinado: BRASIL, SÃO PAULO, Águas de Prata, 21° 55' 2" S 48° 41' 37,2" O, sobre folhas vivas de *Serjania* sp. (Sapindaceae), 5 Oct 44, L Cardoso s.n. (IACM 5524).

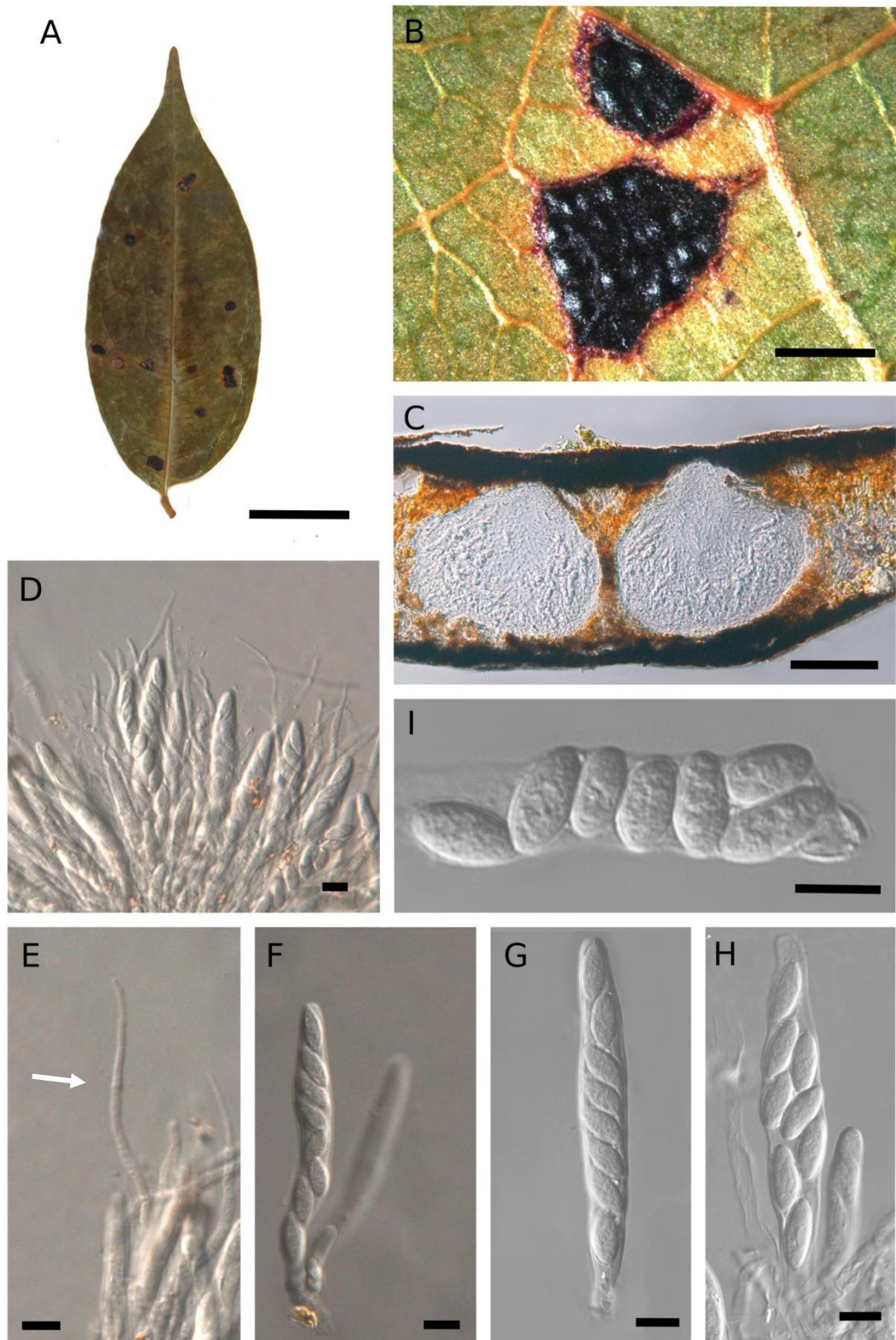


Figura 12. *Telimena* sp. 1 (UB Col. Micol. 23680) em folhas de *Serjania* sp. (A–I). A–B. Sintomas foliares. C. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. D. Himênio e Hamatécio. E. Paráfises hialinas e septadas (seta indica septo). F–H. Ascósporos. I. Ascósporos. Barras: A–B = 1 cm, C = 100 μm , D–I = 10 μm .

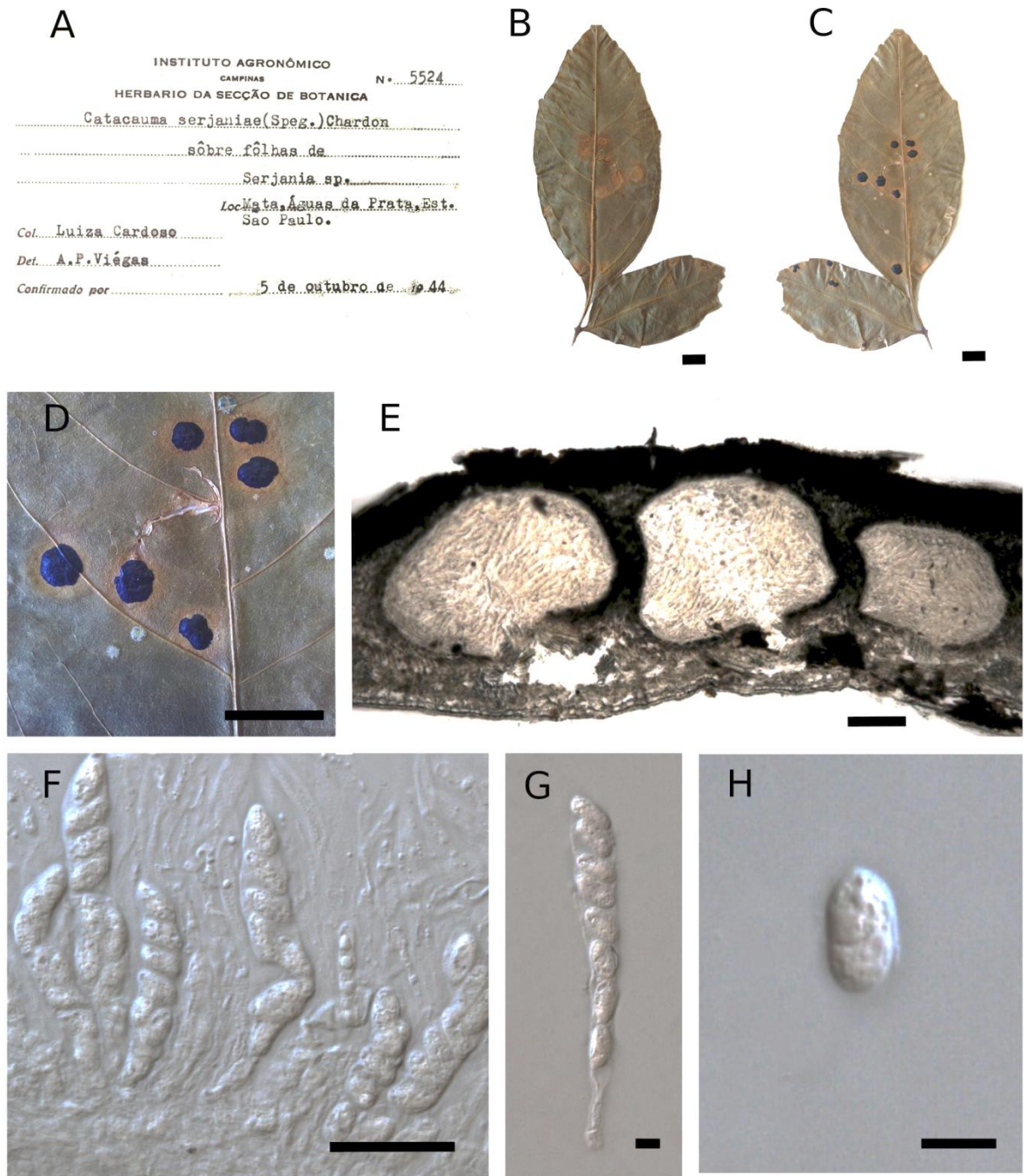


Figura 13. *Catacauma serjaniae* (Herbário IAC Fungarium Ahmés Pinto Viégas 5524) em folhas de *Serjania* sp. (A–I). Fotografia da etiqueta original do espécime coletado por Luisa Cardoso. B–D. Sintomas foliares. E. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. F–G. Ascos. H. Ascósporo. Barras: B–D = 1 cm, E = 100 μ m, F = 50 μ m, G–H = 10 μ m.

Tabela 9. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Phyllachora* descritas em Sapindaceae.

Ascoma	Ascos	Ascósporos		Paráfises	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm), Forma	Dimensões (µm)	Descrição				
<i>Phyllachora alamoii</i> Chardón							
190–410 × 90–285, elípticos, achatados	60–65 × 9–10,5, cilíndricos	9–12 × 5–6	hialinos, unicelular, elípticos, com extremidades truncados	filiformes	<i>Serjania atrolineata</i>	Venezuela, Miranda	Chardon (1934)
<i>Phyllachora duplex</i> Rehm							
300–500 Ø, globosos	120–15, cilíndricos	18 × 10	elípticos, 2-gutulas grandes	filiformes, ramificadas, 3 µm espess.	<i>Serjania sp.</i>	Brasil, Rio Grande do Sul: São Leopoldo	Rehm (1909)
<i>Phyllachora galavisii</i> Chardón							
215–260 × 135–152	70–85 × 12–17,5, clavados, cilíndrico ou cilíndrico-clavados	11–13,5 × 7–8,5 / 8,5–11,5 × 7– 7,5	hialinos, unicelulares, elíptico, circundado por báñha hialina	filiformes	<i>Serjania sp.</i>	Venezuela, Yaracuy	Chardon (1934)
<i>Phyllachora insueta</i> Syd.							
200–350 Ø, globosos	75–85 × 8–10, cilíndricos, raramente subclavados, subsesseis ou curto- pedicelado	13–17 × 5–7,5	oblongos, elipsoides a oblongo-ovais	2-3 µm espess., mucosas	<i>Serjaniae caracasanae</i>	Grecia	Sydow (1925)
<i>Phyllachora sapindacearum</i> Stevens							
120 a 340 Ø	70 × 11	11 × 7	hialinos, unicelulares, oblongos	filiformes	<i>Serjania mexicana</i>	Panamua: France Field	Stevens (1927)
<i>Phyllachora serjaniicola</i> Chardón							
180–300 Ø, globosos a irregulares	63–75 × 12–18, cilíndricos	10–13 × 6–8	elípticos	presentes	<i>Serjania polyphylla</i>	Porto Rico, Penuelas	Chardon (1921)
<i>Telimena</i> sp. nov. 1. (UB Col. Micol. 23680)							
210–285 × 160–205, globosos a piriformes, ostiolados, com pesçoço curto, perifisados	75–95 × 10,5–13, cilíndricos	14–17 × 5–6	fusoides	filiformes, 3 µm espess.	<i>Serjania sp.</i>	Brasil, Maranhão: Sete Irmãos	Presente estudo

Espécies de Phyllachorales *incertae sedis*

Como observado na análise exploratória incluindo membros de Sordariomycetes (Figura 0–1) e as subsequentes análises incluindo somente membros reconhecidos como pertencentes à Phyllachorales (Figura 0–2, Figura 0–3), diversas sequências dos fungos filacoroides do Cerrado foram alocados em Phyllachorales, entretanto os mesmo não agruparam em nenhuma das três famílias atualmente reconhecidas para a ordem (e.g. Phaeochoraceae, Telimenaceae e Phyllachoraceae). Assim, a identidade dos táxons foi determinada com base em caracteres morfológicos e ecológicos. Nessa seção serão tratados como Phyllachorales *incertae sedis* em termos de família e *Phyllachora* em relação ao seu posicionamento genérico.

O gênero tipo da família Phyllachoraceae, é *Phyllachora* Nitsche ex Fuckel (1867), incluído na série de exsicatas “Fungi Rhenanii” contendo apenas a espécie *P. agrosti* Fuckel por Fuckel (1867). Mais tarde, *P. graminis* (Pers.) Nitschke foi designada como lectótipo do gênero por Clements & Shear (1931), adotando o conceito segundo o qual as espécies do gênero *Phyllachora* possuem ascoma imerso em pseudoestroma preto, recoberto pela epiderme da hospedeira, algumas vezes com clipeos pretos e com um ostíolo conspícuo ou inconspícuo, eruptivo, perfisado e ascósporos hialinos asseptados em ascos parafisados, seguido por Müller & Arx (1973) e Cannon (1991). O pseudoestroma poderia se apresentar reduzido a um clipeo ao redor do ostíolo ou ser um estroma bem desenvolvido, subcuticular ou subepidérmico, capaz de ocupar completamente o mesófilo. Os ascomas seriam epífilos, hipófilos ou hológenos, com um ostíolo inconspícuo ou ostiolados com perfíses e paráfises bem desenvolvidas. Ascospores cilíndricos, clavados ou elipsoides, com ou sem anel subapical e sempre contendo oito esporos. Quanto à forma, os ascósporos podem ser elípticos, fusoides ou lunados, e com relação à coloração, são sempre hialinos e, raramente, podem tornar-se marrom-claros na maturidade; algumas espécies apresentam bainha gelatinosa envolvendo os ascósporos (Cannon 1991).

Dentre as espécies de *Phyllachora* com forma assexuada conhecida, na maioria das vezes esta tem função espermacial, com exceção de *P. quadraspora* Tehon, cuja germinação conidial foi relatada quando inoculada em hospedeira da família Poaceae. O mesmo estudo estabeleceu a relação entre forma sexuada e assexuada com base na proximidade das estruturas em um mesmo pseudoestroma, ligadas por um mesmo micélio (Parbery & Langdon 1963). Em estudo posterior, observou-se a conjugação do tricógino com a espermácia de *P. symplocicola* Sesh (Jagtap 1968).

Os critérios morfo-taxonômicos normalmente utilizados para delimitação de espécies de *Phyllachora* são o tipo de pseudoestroma (multilocular ou unilocular), forma, tamanho e posição do pseudoestroma (anfígeno, epígeno ou hipógino), tamanho e forma dos ascos, presença ou ausência de forma assexuada, tamanho e forma dos ascósporos e espécie hospedeira (Cannon 1991).

Atualmente existem 942 nomes válidos para *Phyllachora*, para a determinação da identidade taxonômica, os espécimes aqui apresentados foram comparados com taxa válidos (e seus sinônimos) descritos em hospedeiros taxonomicamente relacionados (e.g. hospedeiros confamiliares ou congênericos).

***Phyllachora cerradensis* Santos, R.B. Medeiros & Dianese**

Figura 14

MYCOBANK MB#813647

≡*Neophyllachora cerradensis* (Santos, R.B. Medeiros & Dianese) Dayar. & K.D. Hyde, Mycosphere 8 (10): 1617 (2017)

Descrição: *Pseudoestromas* orbiculares (2–4 mm diâm.), intraepidérmicos a subepidérmicos, ocupando a camada paliçada do mesófilo, solitários ou gregários, às vezes confluentes, uni- ou multiloculares (2–5 lóculos), exclusivamente epífilos, lisos, pretos, brilhantes. *Ascomas* periteciais, globosos a piriformes (260–365 × 165–265 µm), com clipeo espesso (65–95 µm espess.), com ostíolos perifisados. *Perídio* bem definido (17–21 µm espess.) formado por três ou mais camadas de células melanizadas compactas. *Ascospores* unitunicados, fusiformes (70–92 × 17–30 µm), com ápice obtuso, sem estruturas apicais conspícuas, curto-pedicelados, parafisados, contendo 8 esporos em arranjo bisseriado. *Paráfises* numerosas, filiformes (1,5–3 µm diâm.), hialinas, septadas, ramificadas. *Ascósporos* unicelulares, hialinos, elípticos a oblongos (15–22 × 6–10 µm), gutulados, circundados por bainha mucilaginosa. *Forma assexuada:* *Conidiomas* hemisféricos a subglobosos, inseridos no mesmo pseudoestroma que a forma sexuada; lóculos 298–400 × 112–126 µm, elípticos. *Células conidiogênicas* fialídicas, distribuídas na região inferior dos conidiomas. *Conídios* 5–7 × 1.5–2.5 µm, hialinos, lisos, elípticos, às vezes oblongos.

Comentário: O espécime apresenta apenas pequenas variações com relação às medidas de ascomas e ascos da espécie tipo descrita por Santos et al. (2016), que descreveram também a forma assexuada mais detalhadamente e caracterizada por conidiomas, frequentemente imersos em uma área distinta do tecido pseudoestromático, com lóculos globosos a ampuliformes, medindo 89–175 × 46–100 µm, parafisados. Células conidiogênicas

hialinas, fialídicas, lageniformes, com extremidades afiladas (10–12 × 15–2,5 µm). Conídios unicelulares, hialinos, em sua maioria clavados, ou elípticos a fusiformes (3–5 6 × 1.5–2) e lisos. Recentemente as espécies descritas por Santos et al. (2016) foram transferidas para o gênero *Neophyllachora* com base em análise filogenética usando os loci *ITS* e *SSU* (Dayarathne et al. 2017), porém a matriz apresentada pelos autores possui sequências de rDNA mitocondrial tratados como se fossem rDNA nuclear, tornando os resultados pouco confiáveis e, dessa forma, optou-se por não considerar a sinonização até que novas evidências moleculares corroborem a separação das espécies parasitas de Myrtaceae como um gênero válido.

Espécimes examinados: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Parque Ecológico Ermida Dom Bosco, 15° 47' 44,7" S 47° 48' 32,3" O, sobre folhas vivas de *Myrcia torta* (Myrtaceae), 3 Out 17, DC Guterres s.n. (UB Col. Micol 23818); *ibid*, Brasília, Reserva Ecológica do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 15° 57' 3,4" S 47° 52' 20,8" O, sobre folhas vivas de *Myrcia torta* (Myrtaceae), 2 Ago 16, DC Guterres s.n. (UB Col. Micol 23819).

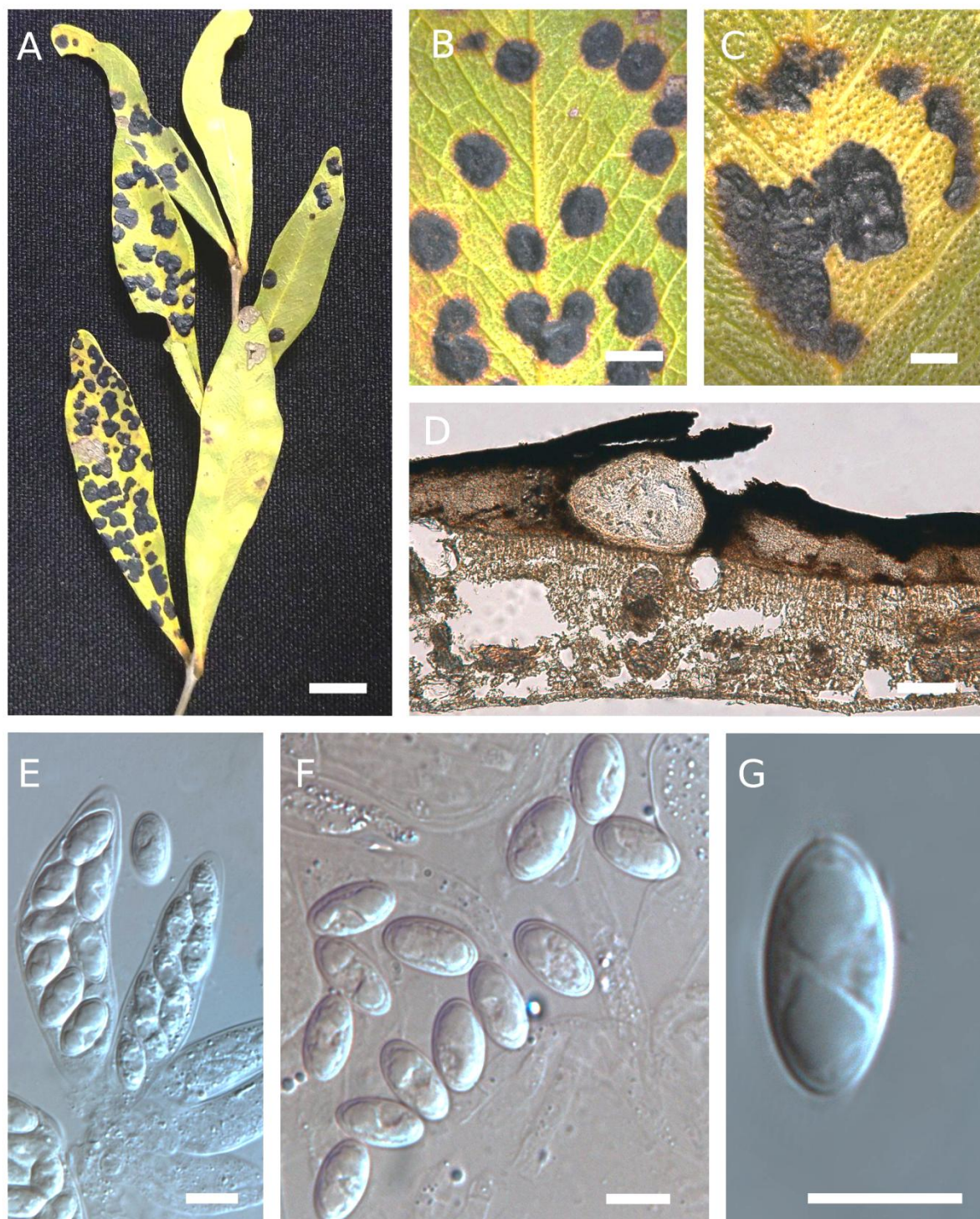


Figura 14. *Phyllachora cerradensis* (UB Col. Micol. 23818) em folhas de *Myrcia torta* (A–G). A–C. Sintomas foliares. D. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. E. Ascos. F–G. Ascósporos. Barras: A = 1 cm, B = 2 mm, C = 2 mm, D = 100 μ m, E–G = 10 μ m.

***Phyllachora maprouneae* Henn.**

Figura 15

MYCOBANK MB#157460

Tipificação: PERU, HUALLAGA, Tarapoto, sobre folhas vivas de *Maprounea surinamensis* (Euphorbiaceae), Set 1902/Mar 1903 (**holótipo** 3286, 3300); BRASIL, MARANHÃO, Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 7° 18' 41" S 46° 52' 41" O, sobre folhas vivas de *Maprounea guianensis* (Euphorbiaceae), 31 Oct 15, *DB Pinho s.n.* (**epítipo** UB Col. Micol 23708).

Descrição: *Lesões* formando halos claros a violáceos em volta dos pseudoestromas. *Pseudoestromas* anfígenos, gregários ou solitários, pulvinados, arredondados (0,5 mm de diâm.). *Ascosporas* cilíndricas a clavadas (60–100 × 8–20 µm), pediceladas, com ápice arredondado e levemente espessado, poro apical inconspícuo, parafisados, com 8 esporos. *Paráfises* filiformes (1-2 µm de espess.). *Ascósporas* unicelulares, hialinos, elípticos (7,5–12 × 5,5–9 µm), frequentemente em arranjo unisseriado, raramente bisseriado. *Forma assexuada* não observada.

Comentário: A espécie foi descrita em *Maprounea surinamensis* coletada no Peru (Hennings 1904). Medeiros (1994) examinou espécime similar em *M. brasiliensis* coletada no Brasil e constatou tratar-se do mesmo fungo, ampliando-se assim a gama de hospedeiras.

Espécimes examinados: BRASIL, MARANHÃO, Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 8° 6' 58" S 48° 21' 22" O, sobre folhas vivas de *Maprounea guianensis* (Euphorbiaceae), 29 Oct 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23661); *ibid*, Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 7° 9' 24" S 47° 18' 12" O, sobre folhas vivas de *Maprounea guianensis* (Euphorbiaceae), 29 Oct 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23685); *ibid*, Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 7° 9' 48" S 47° 13' 45" O, sobre folhas vivas

de *Maprounea guianensis* (Euphorbiaceae), 2 Nov 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23730); *ibid*, DISTRITO FEDERAL, Lago Sul, Parque Ecológico Ermida Dom Bosco, 15° 47' 44,7" S 47° 48' 32,3" O, sobre folhas vivas de *Maprounea guianensis* (Euphorbiaceae), 16 Oct 16, *DC Guterres s.n.* (UB Col. Micol 23810).

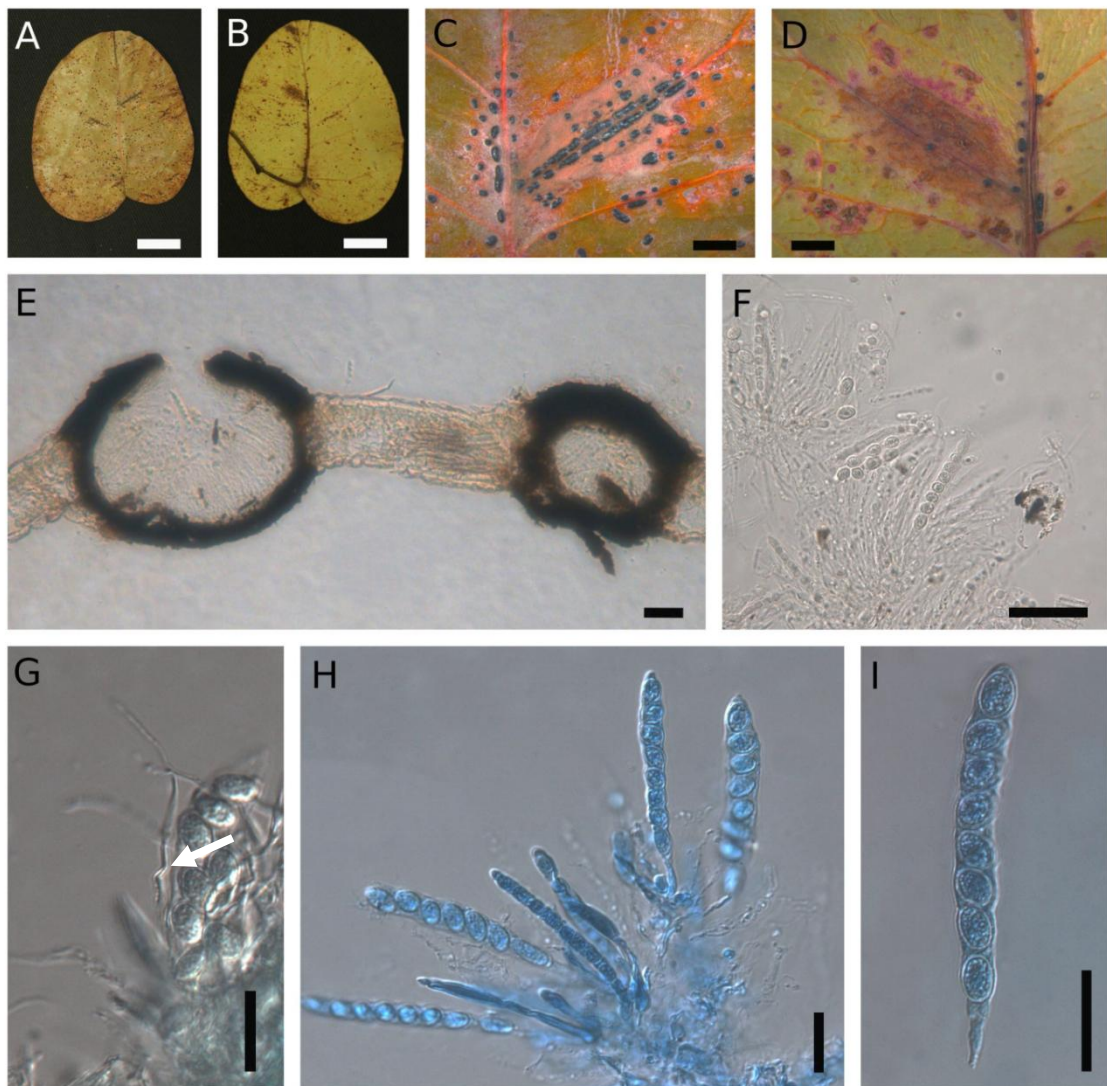


Figura 15. *Phyllachora maprouneae* (UB Col. Micol. 23708) em folhas de *Maprounea guianensis* (A–I). Sintomas foliares. E. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. F–H. Himênio e amatécio (seta indica paráfise filiforme). I. Asco e ascósporos. Barras: A–B = 1 cm, C–D = 2 mm, E–F = 50 μ m, G–I = 20 μ m.

Phyllachora oxyspora Starbäck

Figura 16

MYCOBANK MB#224636

=*Phyllachora antioquensis* Chardón, Boln Real Soc. Españ. Hist. Nat., Biologica 28: 118 (1928)

=*Phyllachora imperatae* Syd. & P. Syd., Annl. mycol. 15(3/4): 226 (1917)

=*Phyllachora sorghastri* Chardón, J. Dept. Agric. Porto Rico 16: 177 (1932)

Tipificação: BRASIL, RIO GRANDE DO SUL, Santo Angelo, sobre folhas vivas de *Imperata brasiliensis* (Poaceae), 30 Jan 1893, Lindman s.n. (**holótipo** Swedish Museum of Natural History 226); *ibid*, MINAS GERAIS, Divinópolis, Fazenda Barrinha, 19° 57' 16,9" S 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Imperata brasiliensis* (Poaceae), 4 Aug 2015, DB Pinho s.n. (**epítipo** UB Col. Micol 23607).

Descrição: Lesões pretas, irregulares a lineares, 1–2,5 mm de comprimento. *Pseudoestromas* anfígenos, pretos, brilhantes, imersos a eruptivos, uni- a multiloculares, solitários a confluentes. *Ascomas* periteciais globosos a piriformes (240–380 × 240–280 µm), com pescoço curto terminando em ostíolo, perifisado. *Perífises* filiformes. *Ascospores* unitunicados, cilíndricos a clavados (80–95 × 12–15,5 µm), estruturas apicais inconspícuas, curto-pedicelados, contendo 8 ascóspores em arranjo uni- ou bisseriados, parafisados. *Paráfises* filiformes, hialinas, septadas, abundantes, com 2–3 um de espessura. *Ascóspores* unicelulares, hialinos, elíptico-alongados (12–16 × 6–9 µm), com extremidades arredondadas, lisos. *Forma assexuada* picnídica, imersa no pseudoestroma. *Picnídios* globosos a irregulares. *Conidióforos* curtos, cilíndricos, distribuídos por toda a cavidade do conidioma. *Células conidiogênicas* fialídicas lageniformes (15–20 × 8–10 µm). *Conídios* unicelulares, hialinos, curvados (17–21 × 1,5–2 µm), presumidamente com função espermática.

Comentário: *Phyllachora oxyspora* foi descrita por Starback (1902) sobre folhas vivas de *Imperata cylindrica* proveniente do Rio Grande do Sul (Brasil). Orton (1944) considerou como sinônimos de *P. oxyspora* as espécies *P. cyperi* var. *obtusata* Starb., *P. imperatae* Syd., *P. antioquensis* Chard. e *P. sorghastri* Chard.. Parbery (1967) revisou as espécies de *Phyllachora* parasitas de gramíneas e reduziu o número de 278 espécies válidas na época para 95, mantendo as sinonimizações feitas por Orton (1944). Parbery (1967) reexaminou o tipo e identificou a planta hospedeira como *Imperata brasiliensis*, além de outros materiais oriundos do Brasil, Filipinas e Austrália e ressaltou que alguns espécimes oriundos do Brasil apresentavam ascósporos distintamente maiores ($21-30 \times 7-10 \mu\text{m}$; $17-23 \times 7-9 \mu\text{m}$) que os demais e ainda sugeriu existirem duas espécies ou variedades no Brasil, dadas as diferenças encontradas nos materiais por ele examinados. Os espécimes presentemente examinados diferem da descrição disponível na literatura apenas com relação ao conídio 1-septado na descrição fornecida por Parbery (1967), enquanto os materiais presentemente examinados apresentam sempre conídios unicelulares. Contudo, a descrição original (Starback 1902) não menciona fase assexuada.

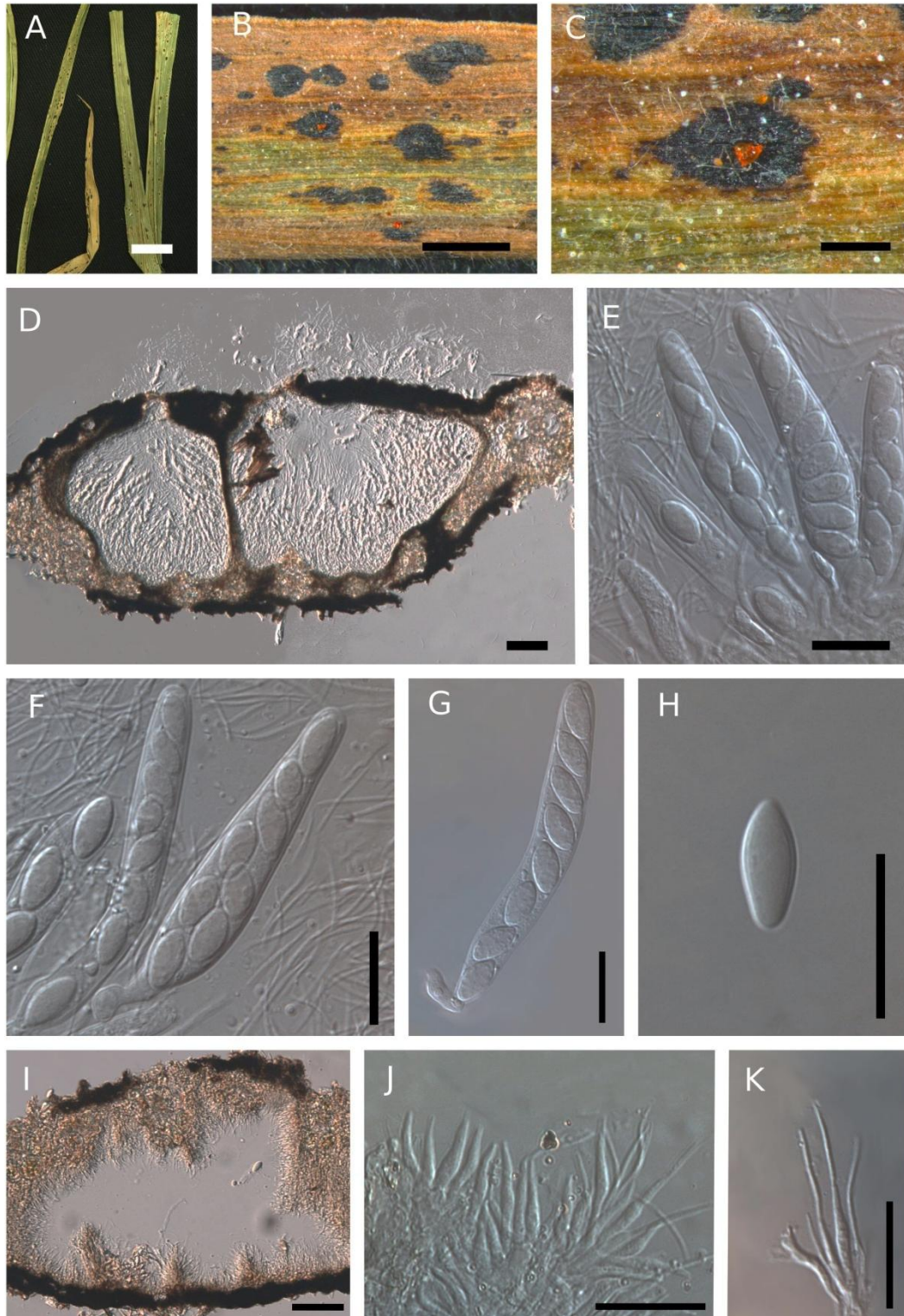


Figura 16. *Phyllachora oxyspora* (UB Col. Micol. 23607) em folhas de *Imperata brasiliensis* (A–K). A–C Sintomas foliares. D. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. E–F. Himênio e hamatécio. G. Asco. H. Ascósporo. I. Corte transversal do conidioma. E–F. células conidiogênicas fialídicas lageniformes. Barras: A = 1 cm, B = 2 mm, C = 500 μm, D, I = 60 μm, E–H, J–K = 20 μm.

Phyllachora pouteriae Bat. & Perez

Figura 17

MYCOBANK MB#336685

Tipiticação: BRASIL, GOIÁS, Paracatu, Margem da Rodovia entre Brasília e Paracatu, 16° 38' 32,6" S 47° 43' 44,3" O, sobre folhas vivas de *Pouteria ovalifolia* (Sapotaceae) associado a *Phyllosticta lucumae*, 7 Jul 1963, Leg. Dr. E. P. Heringer (**holótipo** IMUFPe 43897); *ibid*, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Jardim Botânico de Brasília, 15° 86' 19,9" S 47° 82' 83,5" O, sobre folhas vivas de *Pouteria ramiflora* (Sapotaceae), 1 Jun 10, MDM Santos s.n. (**epítipo** UB Col. Micol 21765).

Descrição: Lesões halos marrom-claros em volta dos pseudoestromas. *Pseudoestromas* anfígenos, circulares a elípticos (570–1420 µm), multiloculares. *Ascomas* periteciais subpiriformes (140–245 × 105–185 µm). *Ascós* cilíndricos (85–124 × 8,5–15 µm), pedicelados, contendo 8 ascósporos em arranjo unisseriado, parafisados. *Paráfises* filiformes (1–1,5 µm diâm.), hialinas, septadas. *Ascósporos* unicelulares, hialinos, elípticos a oblongos (10–17 × 6–7 µm), gutulados.

Comentário: *Phyllachora pouteriae* Bat. & Peres foi originalmente descrita parasitando folhas vivas de *Pouteria ovalifolia* coletada às margens da rodovia que liga Brasília (DF) a Paracatu (MG), ainda em Goiás, e caracteriza-se por apresentar pseudoestromas anfígenos, marrons, subplanos, orbiculares (572–1430 µm de diâm.), situados no centro de máculas marrom-claras, circundadas de marrom escuro; clipeo subcuticular, marrom, com 10,5–21 µm de espessura; *ascomas* periteciais, um em cada estroma, subconoides a subpiriformes (140–245 µm de diâm. × 105–164,5 µm de altura), de paredes quase indistintas, hialinas; *ascos* unitunicados, cilíndricos (85–124 × 8,5–15 µm), pedicelados, suboperculados, com 8 esporos, parafisados; *paráfises* filiformes (1–1,5 µm de diâm), hialinas, septadas; *ascósporos* unicelulares, elipsoides a oblongos (10–17 × 6–7 µm), hialinos,

gutulados (Batista et al. 1967). Os espécimes presentemente estudados diferem levemente da descrição original de Batista et al. (1967) por apresentarem pseudoestromas frequentemente multiloculares enquanto tipo possui pseudoestromas uniloculares (Figura 0–18). Encontraram-se, ainda, pequenas divergências quanto à forma dos ascósporos, em sua maioria fusiformes a elípticos no material em estudo e elípsoides a oblongos na descrição original. Contudo, das pequenas diferenças enunciadas, considerou-se o material em estudo como exemplares de *P. pouteriae* e propõe-se aqui que a epitificação da espécie.

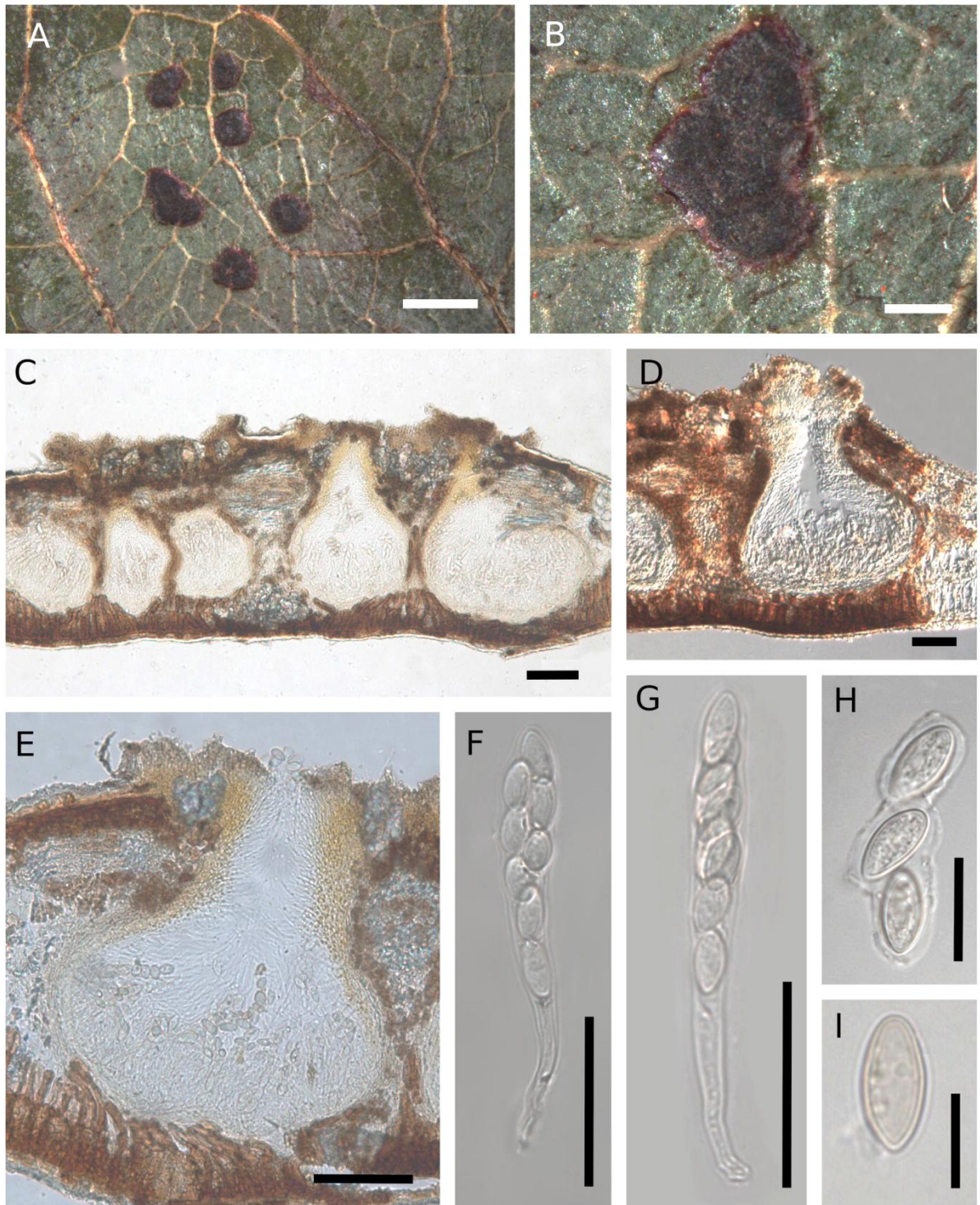


Figura 17. *Phyllachora pouteriae* (UB Col. Micol. 21765) em folhas de *Pouteria ramiflora* (A–I). A–B. Sintomas foliares. C–E. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. F–G. Ascós. H–I. Ascósporos. Barras: A = 2 mm, B = 500 μ m, C–E = 100 μ m, F–G = 50 μ m, H = 20 μ m, I = 10 μ m.

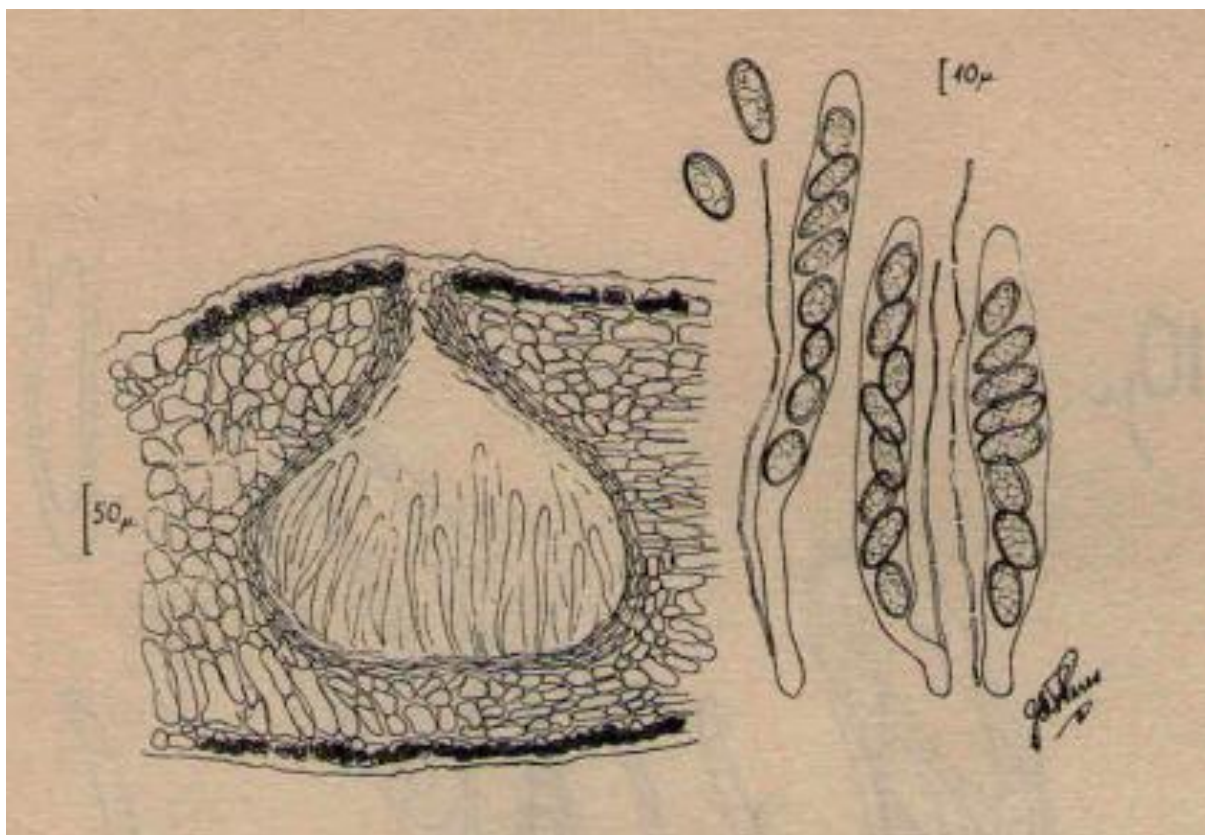


Figura 18. Ilustração original de *Phyllachora pouteriae* por G.E.P. Peres (Batista et al. 1967).

Tabela 10. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Phyllachora* em hospedeiros da família Sapotaceae.

Ascoma		Ascospores		Ascósporos		Cor	Bainha mucilaginosa	Paráfises	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma						
<i>Phyllachora pouteriae</i> Bat. & Peres											
140–245 × 105–164,5	subconoides ou subpiriformes	85–124 × 8,5–15	cilíndricos, pedicelados, suboperculados	10–17 × 6–7 × 6–7	elípticos a oblongos, gutulados	hialinos	–	filiformes, septadas, 1–1,5 µm de diâm.	<i>Pouteria ovalifolia</i>	Brasil	Batista et al.(1967)
<i>Phyllachora pulchra</i> Speg											
150–180	Globoso- achatados	75–80 × 12- 16	clavados, ápice agudo, longo- pedicelados	16–18 × 8	elípticos a romboide- elípticos, extremidades arredondadas	hialinos	presente	filiformes, hialinas, algumas	Sapotaceae	Paraguai	Spegazzini (1885)
<i>Phyllachora advena</i> Syd.											
300–500	Globoso- achatados	85–100 × 15–20	clavado- fusiformes, base atenuada, ápice arredondado a obtuso, subsésseis a curto- pedicelados	21–27 × 7–10	oblongo- elípticos, fusiformes com extremidades atenuadas	subhialino a amarelo- rúseo	–	Numerosas, 2- 3 µm espess., mucilaginosas	<i>Lucuma mammosa</i>	Costa Rica	Sydow (1925)
<i>Phyllachora pouteriae</i> Bat. & Peres UB Col. Micol. 21765											
140–245 × 105–185	periteciais conoides a subpiriformes	85–125 × 8,5–15	cilíndricos a fusiformes, pedicelados	10–19 × 6–9	Fusiformes a elíptico- oblongos, gutulados	hialinos	presente, irregular, 2–3 µm espess.	filiformes, 1–1,5 µm diâm.	<i>Pouteria ramiflora</i>	Brasil	presente estudo

Phyllachora puncta (Cooke) Cooke

Figura 19

MYCOBANK MB#289555

- =*Parodiella puncta* (Cooke) Sacc., Syll. fung. (Abellini) 1: 718 (1882)
- =*Phyllachora puncta* subsp. *clemensiana* P.F. Cannon, Mycol. Pap. 163: 159 (1991)
- =*Phyllachora puncta* subsp. *dalbergiicola* (Henn.) P.F. Cannon, Mycol. Pap. 163: 161 (1991)
- =*Phyllachora puncta* subsp. *lonchocarpi* (Har. & Pat.) P.F. Cannon, Mycol. Pap. 163: 164 (1991)
- =*Phyllachora puncta* subsp. *puiggarii* (Speg.) P.F. Cannon, Mycol. Pap. 163: 165 (1991)
- =*Phyllachora tephrosiarum* Petr., Sydowia 10(1–6): 296 (1957) [1956]
- =*Catacauma tephrosiae* Chardón, Mycologia 32(2): 188 (1940)
- =*Catacauma puiggarii* (Speg.) Chardón, J. Dept. Agric. Porto Rico 16: 171 (1932)
- =*Catacauma dalbergiicola* f. *conidiifera* Theiss. & Syd., in Sydow, Fungi exotici exsiccati (nos 451–550): no. 518 (1923)
- =*Puiggarina puiggarii* (Speg.) Speg., Boln Acad. nac. Cienc. Córdoba 23(3–4): 486 (1919) [1918]
- =*Catacauma punctum* (Cooke) Theiss. & Syd., Annls mycol. 15(1/2): 141 (1917)
- =*Catacauma centrolobiicola* (Henn.) Syd., Annls mycol. 13(3/4): 389 (1915)
- =*Catacauma dalbergiicola* (Henn.) Theiss. & Syd., Annls mycol. 13(3/4): 388 (1915)
- =*Catacauma dalbergiicola* f. *dalbergiicola* (Henn.) Theiss. & Syd., Annls mycol. 13(3/4): 388 (1915)
- =*Catacauma dalbergiicola* var. *dalbergiicola* (Henn.) Theiss. & Syd., Annls mycol. 13(3/4): 388 (1915)
- =*Catacauma hammarii* (Henn.) Theiss. & Syd. [as 'Hammari'], Annls mycol. 13(3/4): 389 (1915)

- =*Catacauma paolense* (Rehm) Theiss. & Syd. [as 'paulense'], *Annls mycol.* 13(3/4): 388 (1915)
- =*Phyllachora dalbergiicola* f. *leguminum* Rehm, *Leafl. of Philipp. Bot.* 6(no. 103): 2219 (1914)
- =*Phyllachora apuleiae* Speg., *Anal. Mus. nac. Hist. nat. B. Aires* 23(6): 90 (1912)
- =*Phyllachora lonchocarp* Har. & Pat., *Bull. Mus. Hist. Nat., Paris* 17(5): 367 (1911)
- =*Phyllachora paolensis* Rehm, *Annls mycol.* 5(6): 471 (1907)
- =*Aplosporella centrolobiicola* Henn., *Hedwigia* 43(4): 251 (1904)
- =*Phyllachora centrolobiicola* Henn., *Hedwigia* 43(4): 251 (1904)
- =*Phyllachora hammarii* Henn. [as 'hammari'], *Hedwigia* 41: 110 (1902)
- =*Phyllachora dalbergiicola* Henn., *Hedwigia* 36(4): 224 (1897)
- =*Phyllachora dalbergiicola* f. *dalbergiicola* Henn., *Hedwigia* 36(4): 224 (1897)
- =*Phyllachora dalbergiicola* var. *dalbergiicola* Henn., *Hedwigia* 36(4): 224 (1897)
- =*Phyllachora dalbergiae* var. *macrasca* Sacc., *Syll. fung. (Abellini)* 9: 1007 (1891)
- =*Phyllachora puiggarii* Speg., *Boln Acad. nac. Cienc. Córdoba* 11(4): 543 (1889)
- =*Phyllachora puncta* subsp. *puncta* (Cooke) Cooke, *Grevillea* 13(no. 67): 70 (1885)
- =*Dothidea puncta* Cooke, *Grevillea* 10 (no. 56): 128 (1882)

Tipificação: BRASIL, MATO GROSSO, Buriti, Serra da Chapeda, sobre folhas de *Dalbergia* sp. (Fabaceae), 26 Jun 1984, A Malme (**lectótipo** 1730b); *ibid*, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Estrada para Poção, Jardim botânico, 15° 52' 25,6" S 47° 50' 46,7" O, sobre folhas vivas de *Dalbergia miscolobium* (Fabaceae), 1 Jun 15, DD Silva s.n. (**epítipo** UB Col. Micol 23464).

Descrição: Lesões não são diferenciadas nos primeiros estágios de desenvolvimento ou, eventualmente, tornam-se amareladas em uma área com cerca de 8–20 mm de diâm. em

volta do pseudoestroma. *Pseudostromas* epífilos, subcuticulares, pretos, foscos, com 0,4–7 mm de diâm., de forma irregular, ocasionalmente crescendo ao longo das nervuras, frequentemente multiloculares, levemente arredondados, crustosos, com ostíolos conspícuos, não papilados ou deprimidos. *Ascomas* periteciais inseridos entre a epiderme e o mesófilo, frequentemente ocupando todo o espaço entre as epidermes adaxial e abaxial, globosos a piriformes, 300–450 diâm., parafisados. *Paráfises* 2–4 μm espess., de paredes finas, às vezes deliquescentes na maturidade, septadas. *Ascós* 60–98 \times 12–15 μm , clavados, de paredes finas, estruturas apicais inconspícuas, com 8 ascósporos. *Ascósporos* normalmente em arranjo bisseriado, 7–13,5 \times 5–9 μm , ovóides a elípticos, de paredes finas, hialinos, unicelulares.

Comentário: Inicialmente, os espécimes presentemente estudados foram identificados como variantes da espécie *Phyllachora machaeriicola*, mas posteriormente comparados aos estudados por Viégas percebeu-se tratar-se do mesmo fungo identificado por ele como *Catacauma hammari* e posteriormente sinomizado por Cannon (1991) a *Phyllachora puncta* subsp. *dalbergiicola*.

Catacauma hammarii foi descrita originalmente como *Phyllachora hammarii* por Hennings (1902) sobre folhas de *Machaerium* sp. coletado em São Paulo (Brasil) e recombinação em *C. hammarii* por Theissen & Sydow (1915). Petrak (1927) sinonimizou todo o gênero *Catacauma* a *Phyllachora* com base em *Catacaumella gouaniae* F. Stevens. Viégas (1944) estudou o fungo em folhas de *Machaerium nigrum* e *Centrolobium tomentosum*, e considerou *P. centrolobiicola* e *P. hammarii* como sinônimos (sob o nome genérico *Catacauma*), porém Cannon (1991) tratou *P. hammarii* como sinônimo de *P. puncta* subsp. *dalbergiicola* e *P. centrolobiicola* como sinônimo de *P. puncta* subsp. *puiggarii*, porém sugere que esta última seja apenas uma variação de *P. puncta* subsp. *dalbergiicola*.

Cannon (1991) revisou as espécies de *Phyllachora* parasitas de Fabaceae e, de acordo com o autor há quatro espécies de *Phyllachora* em plantas do gênero *Dalbergia* (Fabaceae) como hospedeiras (e.g. *P. lactea* Theiss. & Syd., *P. puncta* (Cooke) Cooke, *P. viventis*

(Cooke) Sacc. e *P. spissa* Syd. & P Syd.) e quatro espécies parasitas de espécies de *Machaerium* (*P. puiggarii* Speg., *P. conica* (Chardón) Pet., *P. machaeriicola* (Henn) Theiss. & Syd. e *P. manaosensis* Henn.), diferenciadas com base em características dos ascos e ascósporos e distribuição geográfica.

Phyllachora puncta (Cooke) Cooke (1885) é a única espécie que ocorre na América do Sul, além da África do Sul e Filipinas. Cannon (1991) lista cinco subespécies associadas a *Dalbergia* sp.

Phyllachora puncta subsp. *puncta* tem como hospedeira *Dalbergia armata* e ocorre na África. Caracteriza-se por áreas infectadas não bem delimitadas, ocasionalmente as regiões enegrecidas são circundadas por áreas de tecido foliar de cor marrom. O pseudoestroma tem forma irregular, com aproximadamente 0,45–1,5 mm de diâm., ocasionalmente coalescente, preto, brilhante, levemente verrucoso, abobadado, contendo 1 a 6 lóculos, com ascomas facilmente visualizados com ostíolos conspícuos.

Phyllachora puncta subsp. *dalbergiicola* ocorre na América do Sul e Central sobre folhas de *Apuleia leocarpa*, *D. frutescens*, *D. miscolobium*, *Machaerium nigrum*, *M. scleroxylum*, *Tipuana tipu* e *Tephrosia* sp. Essa subespécie é bastante similar a subsp. *puiggarii*, que por sua vez tem como hospedeiro conhecido apenas espécies do gênero *Centrolobium* e apresenta pseudostromas geralmente uniloculares e ascomas menores. Cannon (1991) sugere que as diferenças morfológicas entre as subespécies estejam relacionadas ao tamanho da folha hospedeira. Os gêneros de plantas hospedeiras mais frequentemente encontrados para a subespécie *dalbergiicola* são *Dalbergia* e *Machaerium*, enquanto a subsp. *puiggarii* tem como único gênero hospedeiro conhecido *Centrolobium*, todos pertencentes à família Fabaceae e considerados filogeneticamente próximos. *Phyllachora puncta* subsp. *dalbergiicola* (= *Phyllachora puiggarii*) tem ascósporos variando de 14–23 × 8–11 µm, elípticos a ovoides e frequentemente bisseriados no asco.

Phyllachora puncta subsp. *puiggarii* foi descrita por Spegazzini como *P. puiggarii* em leguminosa não identificada, cuja descrição do fungo e características do hospedeiro são idênticas à de *P. centrolobiicola* Henn. O número de lóculos no pseudostroma foi utilizado como critério para a criação do gênero *Puiggarina* por Spegazzini (1919), caracterizado por ser similar a *Phyllachora*, porém com pseudostromas uniloculares, e que incluía apenas a espécie *Puiggarina puiggarii* (= *Phyllachora puiggarii* Speg).

Cannon (1991) não encontrou diferenças significativas para separar morfologicamente *P. puncta* subsp. *dalbergiicola* das espécies *P. hammarii*, sobre *Machaerium* spp., *P. paolensis*, and *P. apuleiae* e considerou-as sinônimas. Segundo o mesmo autor, *P. viventis* (= *P. dalbergiae*) difere de *P. puncta* subsp. *dalbergiicola* por apresentar pseudoestromas lisos e ascósporos menores e lateralmente simétricos.

A diferenciação entre *P. puncta* subsp. *dalbergiicola* e subsp. *clemensiana* por caracteres morfológicas é sutil, porém na segunda é comum encontrar a forma assexuada, com conídios cilíndricos, diferentemente da maioria das espécies de *Phyllachora* com fase assexuada conhecida, que em geral apresentam conídios filiformes. Além dessa característica, a distribuição geográfica e as espécies hospedeiras são importantes caracteres delimitadores da subespécie, que foi relatada sobre folhas de *D. ferruginea* proveniente das Filipinas.

Phyllachora manaosensis apresenta pseudostromas uniloculares isolados, dispersos, com áreas infectadas mal definidas, ascósporos $9,5\text{--}12 \times 6\text{--}8 \mu\text{m}$, elípticos a ovoides.

Phyllachora lactea Theiss. & Syd. (1915) é facilmente distinta das demais espécies por apresentar normalmente ascos com apenas 4 ascósporos. A maior parte dos registros é sobre folhas de *Dalbergia lacteae*, *D. rufa*, *D. saxatilis* e *Dalbergia* sp. proveniente da África, à exceção de Stevens (1930), que relatou a espécie sobre folhas de *Cassia* sp. proveniente da Costa Rica. Morfologicamente, *P. lactea* é muito similar a *P. spissa*, todavia apresenta ascósporos menores e de parede mais fina em ascomas menores inseridos em pseudostroma normalmente unilocular.

Phyllachora viventis (Cooke) Sacc. (1883) caracteriza-se por apresentar grandes áreas infectadas, frequentemente cobrindo toda a superfície foliar. Foi relatada em *D. ferruginea*, *D. horrida*, *D. latifolia*, *D. melanoxyton*, *D. nitidula*, *D. paniculata*, *D. sissoo*, *D. spinosa*, *D. stipulacea* e diversos espécimens identificados apenas ao nível de gênero, provenientes de Burma (Myanmar), Índia, Tanzânia e Zâmbia.

Phyllachora spissa Sydow (1911) morfologicamente aproxima-se de *P. viventis*, por ocupar grandes porções do tecido do hospedeiro, porém apresenta ascósporos mais curtos e largos. Essa espécie foi relatada parasitando folhas de *D. ferruginea*, *D. latifolia*, *D. sissoo* e diversas *Dalbergia* sp. provenientes da Índia e Filipinas (Cannon 1991).

Espécimes examinados: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, 15° 36' 31" S 47° 43' 6" O, sobre folhas vivas de *Machaerium* sp. (Fabaceae), 25 Jun 15, *BCP Souza s.n.* (UB Col. Micol 23378); *ibid*, MINAS GERAIS, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 58' 58,24" S 45° 24' 33" O, sobre folhas vivas de *Dalbergia miscolobium* (Fabaceae), 30 Jul 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23494); *ibid*, Santo Antônio do Monte, Reserva do Tio Juca do Bié, 19° 57' 16,9" S 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Dalbergia* sp. (Fabaceae), 2 Aug 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23575); *ibid*, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 58' 18,3" S 45° 24' 32" O, sobre folhas vivas de *Machaerium* sp. (Fabaceae), 29 Jul 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23474); *ibid*, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 57' 16,9" S 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Machaerium* sp. (Fabaceae), 1 Aug 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23554) ; *ibid*, Santo Antônio do Monte, Fazenda Rancho das Grotadas, 19° 57' 16,9" S 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Machaerium* sp. (Fabaceae), 3 Aug 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23597) ; *ibid*, Santo Antônio do Monte, Reserva do Tio Juca do Bié, 19° 57' 16,9" S 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Machaerium acutifolium* (Fabaceae), 2 Aug 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23577).

Outros espécimes examinados: BRASIL, SÃO PAULO, Sorocaba, sobre folhas vivas de *Machaerium nigrum* (Fabaceae), 25 Jun 1934, A Oswald (IACM 175); *ibid*, Campinas, sobre folhas vivas de *Machaerium* sp. (Fabaceae), 12 Abr 1942, AP Viégas s.n. (IACM 1989).

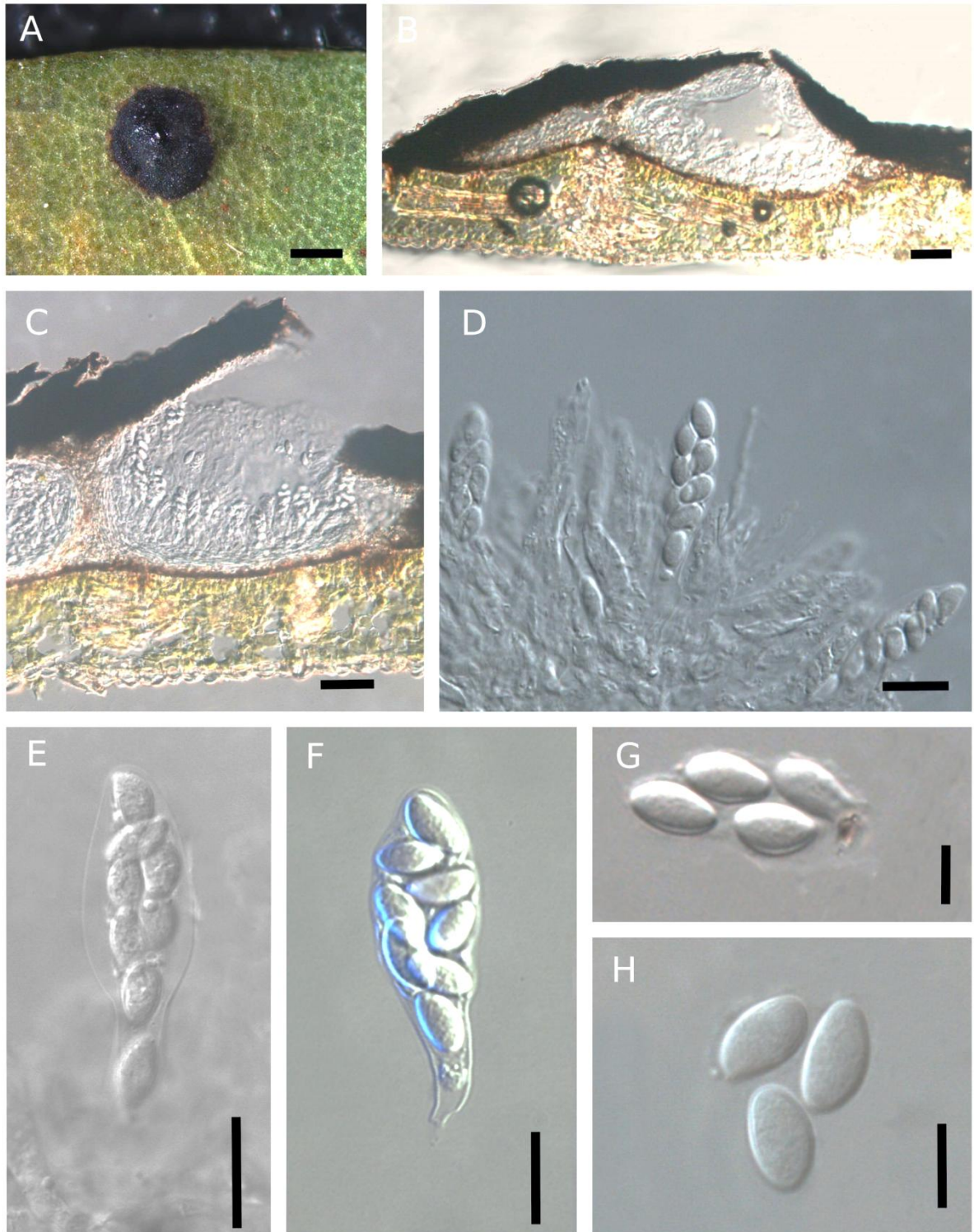


Figura 19. *Phyllachora puncta* (UB Col. Micol. 23464) em folhas de *Dalbergia miscolobium* (A-I). A. Sintoma foliar. B-C. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. D-G. Ascós. H. Ascósporos. Barras: A = 500 μm , B-C = 50 μm , D-F = 20 μm , G-H = 10 μm .

Phyllachora qualeae (Viégas) Bat. & Peres

Figura 20

MYCOBANK MB#336686

=*Catacauma qualeae* Viégas, Bragantia 4(1–6): 141 (1944)

Tipificação: BRASIL, MINAS GERAIS, Lagoa Santa, sobre folhas vivas de *Qualea* sp. (Vochysiaceae), 8 Abr 1936, GP Viégas, H Mello Barreto & HP Krug (**holótipo** IACM 1922); *ibid*, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, 15° 36' 31" S 47° 43' 6" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 25 Jun 15, BCP Souza s.n. (**epítipo** UB Col. Micol 23376).

Descrição: *Pseudoestromas* epífilos, circulares (1–4 mm diâm.), pretos, brilhantes, isolados ou gregários. *Ascomas* periteciais (57–317 × 211–376 µm), globosos, subepidérmicos, imersos no mesófilo do hospedeiro, com pescoço curto, ostíolos conspícuos, perfisados. *Ascospores* unitunicados, cilíndricos (88–155 × 7,5–9 µm), com pedicelo longo, ápices arredondados, poro apical conspícuo, contendo oito ascóspores em arranjo uniseriado. *Paráfises* filiformes (1–3 µm de espessura), hialinas, ramificadas. *Ascóspores* unicelulares, hialinos, gutulados, elípticos a reniformes (9,5–13 × 5–6 µm). *Forma assexuada* não observada.

Comentário: O espécime em estudo foi comparado com outras espécies de *Phyllachora* encontradas em plantas da família Vochysiaceae (Tabela 0-11). Adicionalmente, os espécimes presentemente estudados foram comparados com o isótipo de *Catacauma qualeae* (IACM 5136) cedido pelo Fungarium Ahmés Pinto Viégas (Herbário IACM). Constatou-se que o espécime presentemente estudado se trata de *P. qualeae* (Viégas) Bat. & Peres, apresentando dimensões das estruturas fúngicas muito próximas do material de Viégas, sendo a hospedeira do mesmo gênero. Essa espécie originalmente descrita como *Catacauma*

qualeae por Viégas (1944) foi recombinação em *Phyllachora qualeae* com base no trabalho de Petrak (1927) (Batista et al. 1967). A descrição detalhada dada pelos autores, entretanto, aponta que o fungo teria ascos bitunicados (Batista et al. 1967) e, embora esses espécimes não tenham sido examinados no presente trabalho, presume-se que os autores tenham interpretado o espessamento na região apical do asco como indicativo de que os ascos seriam bitunicados. O exame do tipo, por outro lado, não deixa dúvidas quanto a identificação do material presentemente estudado o qual sugere-se como epítipo da espécie.

Espécimes examinados: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, 15° 36' 31" S 47° 43' 6" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 25 Jun 15, *BCP Souza s.n.* (UB Col. Micol 23377); *ibid*, Brasília, Centro Olímpico da Universidade de Brasília (CO–UnB) Asa Norte, 15° 43' 2,3" S 47° 57' 24,1" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 8 Oct 09, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol 21150); *ibid*, Brasília, Centro Olímpico da Universidade de Brasília (CO–UnB) Asa Norte, 15° 43' 2,3" S 47° 57' 24,1" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 8 Oct 09, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol 21155); *ibid*, Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, 15° 37' 0,55" S 47° 43' 8,44" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 3 Mar 17, *BCP Souza s.n.* (UB Col. Micol 23812); *ibid*, Brasília, Arboreto da Universidade de Brasília, Asa Norte, 15° 44' 41,3" S 47° 55' 9,5" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 1 Oct 09, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol 21145); *ibid*, Brasília, Arboreto da Universidade de Brasília, Asa Norte, 15° 44' 41,3" S 47° 55' 9,5" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 1 Oct 09, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol 21142); *ibid*, Brasília, Parque Nacional de Brasília na trilha do Cristal, 15° 43' 59,3" S 47° 56' 66,9" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 1 Feb 10, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol 21306); *ibid*, Lago Sul, Brasília., 15° 47' 35,2" S 47° 48' 21,3" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 8 Mar 17, *DC Guterres s.n.* (UB Col. Micol 23797); *ibid*, MARANHÃO, Carolina, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 7°

7' 34" S 47° 22' 40" O, sobre folhas vivas de *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae), 29 Oct 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23642); *ibid*, Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 7° 9' 24" S 47° 18' 12" O, sobre folhas vivas de *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae), 29 Oct 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23687); *ibid*, Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, 7° 9' 48" S 47° 13' 45" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 2 Nov 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23724); *ibid*, MATO GROSSO, Vila Bela da Santíssima Trindade, Parque Estadual Serra Ricardo Franco, na Fazenda Pelicano, 14° 49' 9" S 60° 9' 31" O, sobre folhas vivas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), 21 Fev 14, *WRO Soares s.n.* (UB Col. Micol 22792).

Outro espécime examinado: BRASIL, MINAS GERAIS, Lagoa Santa, sobre folhas vivas de *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae), 8 Abr 1936, *GP Viégas, H Mello Barreto & HP Krug (isótipo IAC 5136)*.

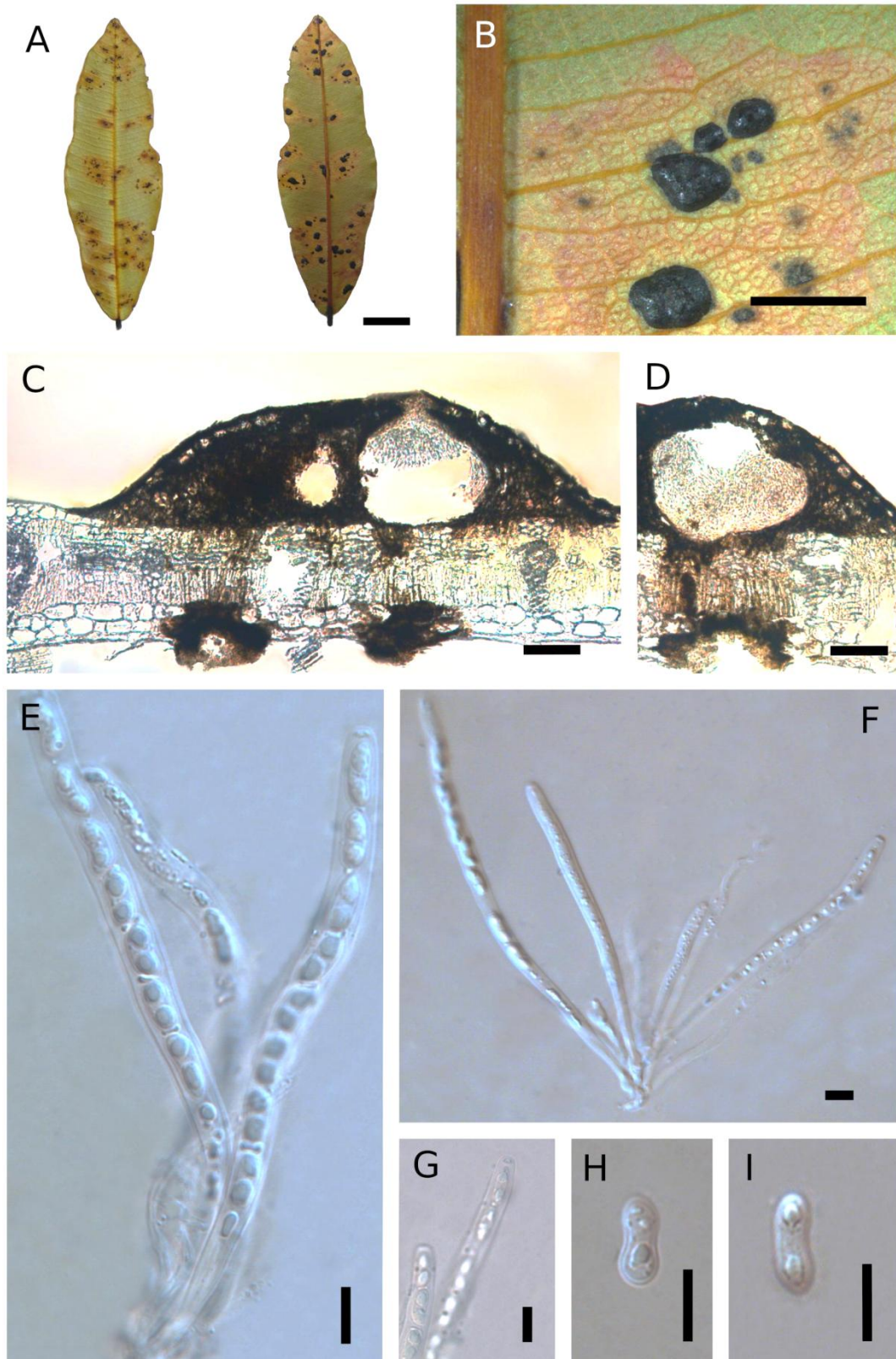


Figura 20. *Phyllachora qualeae* (UB Col. Micol. 23376) em folhas de *Qualea parviflora* (A–I). A–B. Sintomas foliares. C–D. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. E–F. Ascós. G. Detalhe do ápice ascá. H–I. Ascósporos. Barras: A = 1 cm, B = 2mm, C–D = 100 μ m, E–I = 10 μ m.

Tabela 11. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Phyllachora* em hospedeiros da família Vochysiaceae.

Ascoma		Ascus		Ascósporos		Paráfises	Forma Assexuada	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma					
<i>P. congregata</i> Theiss. & Syd.										
200-280 Ø	piriformes	70-90 × 12-15	cilíndricos	15-18 × 5-6	oblongos, levemente afilados nas extremidades arredondadas, uni ou bisseriados, hialinos	presentes	presente	<i>Vochysia elliptica</i>	Brasil	
<i>Phyllachora granulosa</i> (Lév.) Sacc.										
280-320 Ø	globosos a piriformes, ocupando ¾ da espessura da folha	80-90 × 11-14	cilíndricos	9-14 x 5-6,5	oblongos a esféricos, hialinos	numerosas	-	<i>Vochysia</i> sp.	Brasil	Theissen e Sydow (1915)
<i>Phyllachora lehmanniana</i> Henn.										
-	subglobosos	95-120 × 12-16	cilíndrico-clavados, pedicelados, ápice arredondado	17-22 × 5-6	elípticos, extremidades arredondadas e afiladas, bigutulados, hialinos	filiformes	-	<i>Vochysia lehmanni</i>	Colômbia	Hennings (1897)
<i>Phyllachora qualeae</i> (Viégas) Bat. & Peres										
125-360 × 93-336		80-100 × 5-7	-	8,5-11 × 4-5			-	<i>Qualea parviflora</i>		Batista et al. (1967)
<i>Phyllachora vochysiae</i> Henn.										
300-340 Ø	-	80-90 × 15-18	cilíndricos	15-18 × 9	oblongo-elípticos, extremidades arredondadas, uni ou bisseriados, hialinos	presentes	-	<i>Vochysia haenkeana</i>	Brasil	Hennings (1905)
<i>Phyllachora qualeae</i> (Viégas) Bat. & Peres UB Col. Micol. 23377										
57-317 × 211-376	globosos	88-155 × 7,5-9		9,5-13 × 5-6	Hialinos		-	<i>Qualea parviflora</i>	Brasil	presente estudo

Phyllachora roupalina (Mont.) Sacc.

Figura 21

MYCOBANK MB#100610

=*Phyllachora roupalina* var. *macrospora* Bat. & Peres, in Batista, Peres & Maia, Atas Inst. Micol. Univ. Recife 4: 68 (1967)

=*Catacauma roupalinum* var. *macrosporum* Bat. & Peres, in Batista, Peres & Maia, Atas Inst. Micol. Univ. Recife 4: 68 (1967)

=*Catacauma roupalinum* (Mont.) Theiss. & Syd., Annales Mycologici 13 (3–4): 385 (1915)

=*Catacauma rhopalinum* (Mont.) Theiss. & Syd., Annales Mycologici 13 (3–4): 385 (1915)

=*Catacauma roupalinum* var. *roupalinum* (Mont.) Theiss. & Syd., Annls mycol. 13(3/4): 385 (1915)

=*Phyllachora roupalina* var. *roupalina* (Mont.) Sacc., Syll. fung. (Abellini) 2: 595 (1883)

=*Phyllachora rhopalina* (Mont.) Sacc., Sylloge Fungorum 2: 595 (1883)

=*Dothidea roupalina* Mont., Annales des Sciences Naturelles Botanique 14: 327 (1840)

=*Dothidea rhopalina* Mont. (1840)

=*Dothidea ropalina* Mont. (1840)

Tipificação: GUIANA FRANCESA, Caiena, sobre folhas vivas de *Roupala guianensis* (Proteaceae), Lepr. Coll. 441 (**holótipo desconhecido**); BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, 15° 36' 31" S 47° 43' 6" O, sobre folhas vivas de *Roupala montana* (Proteaceae), 25 Jun 15, BCP Souza s.n. (**epítipo** UB Col. Micol 23375).

Descrição: *Pseudoestromas* anfígenos, mais frequentemente epífilos, pretos, brilhantes, circulares a irregulares (1–5 mm diâm.), salientes (166–428 µm de altura), isolados ou gregários a confluentes, multiloculares; *clípeo* subepidermal (38–103 µm espess.), preto,

opaco. *Ascomas* periteciais imersos no pseudoestroma, que ocupa toda a extensão do mesófilo, marrom-escuros a pretos, carbonáceos, parede de textura intrincada; peritécios situados sob o clípeo, piriformes ($259\text{--}415 \times 157\text{--}315 \mu\text{m}$), com ostíolos perfisados, parede basal com $4\text{--}7 \mu\text{m}$ de espessura. *Ascós* cilíndricos a subclavados ($83\text{--}94 \times 10\text{--}13 \mu\text{m}$), pedicelados, com ápice truncado, abrindo por um anel conspícuo bilobado, parafisados, contendo 8 esporos. *Paráfises* filiformes ($1,5\text{--}3,5 \mu\text{m}$ espess.), septadas, de ápice espatulado, simples, hialinas. *Ascósporos* lunados a elipsoides ($13\text{--}18 \times 4,5\text{--}6,5 \mu\text{m}$), unicelulares, hialinos, lisos. *Forma assexuada* não observada.

Comentário: *Phyllachora roupalina* foi descrita originalmente como *Dothidea rupalina* (Montagne 1840) sobre folhas de *Roupala guianensis* (Proteaceae), apresentando estroma epífilo, de forma circular ou alongada, solitário, preto, brilhante, epidérmico, eruptivo; na face abaxial, ocorrem manchas marrom-pálidas; ascos de paredes finas, clavados, deliquescentes; ascósporos unicelulares, oblongos e hialinos. O autor considera *Sphaeria cayennensi* Fr. espécie próxima, porém Saccardo (1883) combinou *Dothidea rupalina* a *Phyllachora rupalina* (Mont.) Sacc.. Rehm (1900) descreveu um fungo com as mesmas características sobre *Roupala* sp. e nomeou a espécie como *Phyllachora rupalae* e, posteriormente, Hennings (1908) descreveu *Phyllachora rhopalae* sobre folhas de *Roupala brasiliensis*. Mais tarde, Theissen & Sydow (1915) transferiram *Phyllachora rupalina*, *P. rupalae* e *P. rhopalae* para o gênero *Catacauma*, sob o nome *Catacauma rupalinum*. Viégas (1944) encontrou o fungo sobre folhas de *Roupala* sp. e *R. tomentosa* (esta última atualmente sinonimizada a *R. montana* var. *paraensis*) na região de Minas Gerais, que confirmou-se ser a mesma morfo-espécie (Figura 0–22).

Batista et al. (1967) descreveram a variedade *macrospora* de *P. rupalina* sobre *Roupala montana* (= *R. brasiliensis*) que apresentava ascomas ($357\text{--}415 \mu\text{m}$ alt.) e ascósporos ($15\text{--}28 \times 11\text{--}13 \mu\text{m}$), maiores do que os da espécie tipo, porém atualmente tratada como sinônima de *Phyllachora rupalina* (www.indexfungorum.org 2017).

Viégas (1961) lista como hospedeiras do fungo as espécies *R. montana* (= *R. martii*), *R. guyanensis* e *R. montana* var. *paraensis* (= *R. brasiliensis*; = *R. tomentosa*). Além de *Phyllachora roupalina*, há 9 espécies do gênero com hospedeiras pertencentes à família Proteaceae: *P. amplexicaulis*, *P. banksiae*, *P. grevilleae*, *P. hakeae*, *P. hakeicola*, *P. kylei*, *P. tjapukaiensis*, *P. velatispora* e *P. victoriensis*. Contudo, nenhuma foi registrada no Brasil (Farr & Rossman 2017).

Espécimes examinados: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Parque Nacional de Brasília na trilha do Cristal, 15° 43' 59.3" S 47° 56' 66.9" O, sobre folhas vivas de *Roupala montana* (Proteaceae), 1 Feb 10, *MDM Santos s.n.* (UB Col. Micol 21303); *ibid*, Lago Sul, Parque Ecológico Ermida Dom Bosco, 15° 47' 44.7" S 47° 48' 32.3" O, sobre folhas vivas de *Roupala montana* (Proteaceae), 3 Aug 17, *DC Guterres s.n.* (UB Col. Micol 23802); *ibid*, Lago Sul, Reserva Ecologica IBGE – RECOR, 15° 57' 3.4" S 47° 52' 20.8" O, sobre folhas vivas de *Roupala montana* (Proteaceae), 3 Oct 17, *DC Guterres s.n.* (UB Col. Micol 23809); *ibid*, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 58' 18.3" S 45° 24' 32" O, sobre folhas vivas de *Roupala montana* (Proteaceae), 29 Jul 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23477); *ibid*, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 58' 58.24" S 45° 24' 33" O, sobre folhas vivas de *Roupala montana* (Protaceae), 30 Jul 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23480); *ibid*, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 57' 0.1" S 45° 23' 41.5" O, sobre folhas vivas de *Roupala montana* (Protaceae), 31 Jul 15, *DB Pinho s.n.* (UB Col. Micol 23513).

Outros espécimes examinados: BRASIL, MINAS GERAIS, Lagoa Santa, Próximo ao túmulo de Peter Wilhelm Lund, 19° 39' 50" S 43° 54' 38,7" O, sobre folhas vivas de *Roupala* sp. (Proteaceae), 8 Abr 1936, *HP Krug & GP Viégas s.n.* (IACM 1537).

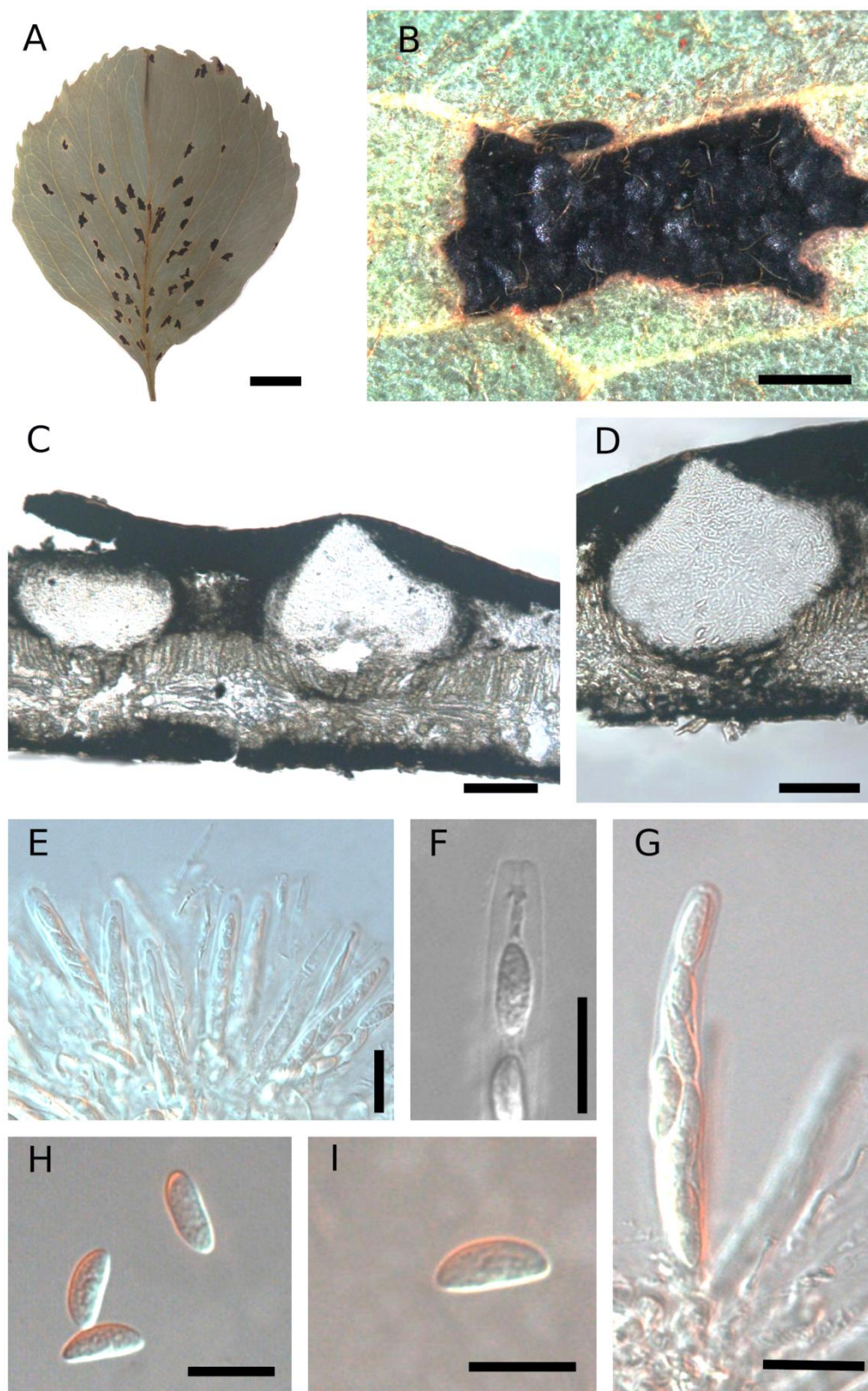


Figura 21. *Phyllachora roupalina* (UB Col. Micol. 23375) em folhas de *Roupala montana* (A–I). A–B. Sintomas foliares. C–D. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. E,G. Ascós. F. Detalhe do ápice ascá. H–I. Ascósporos. Barras: A = 1 cm, B = 1 mm, C–D = 100 μ m, E–I = 20 μ m.

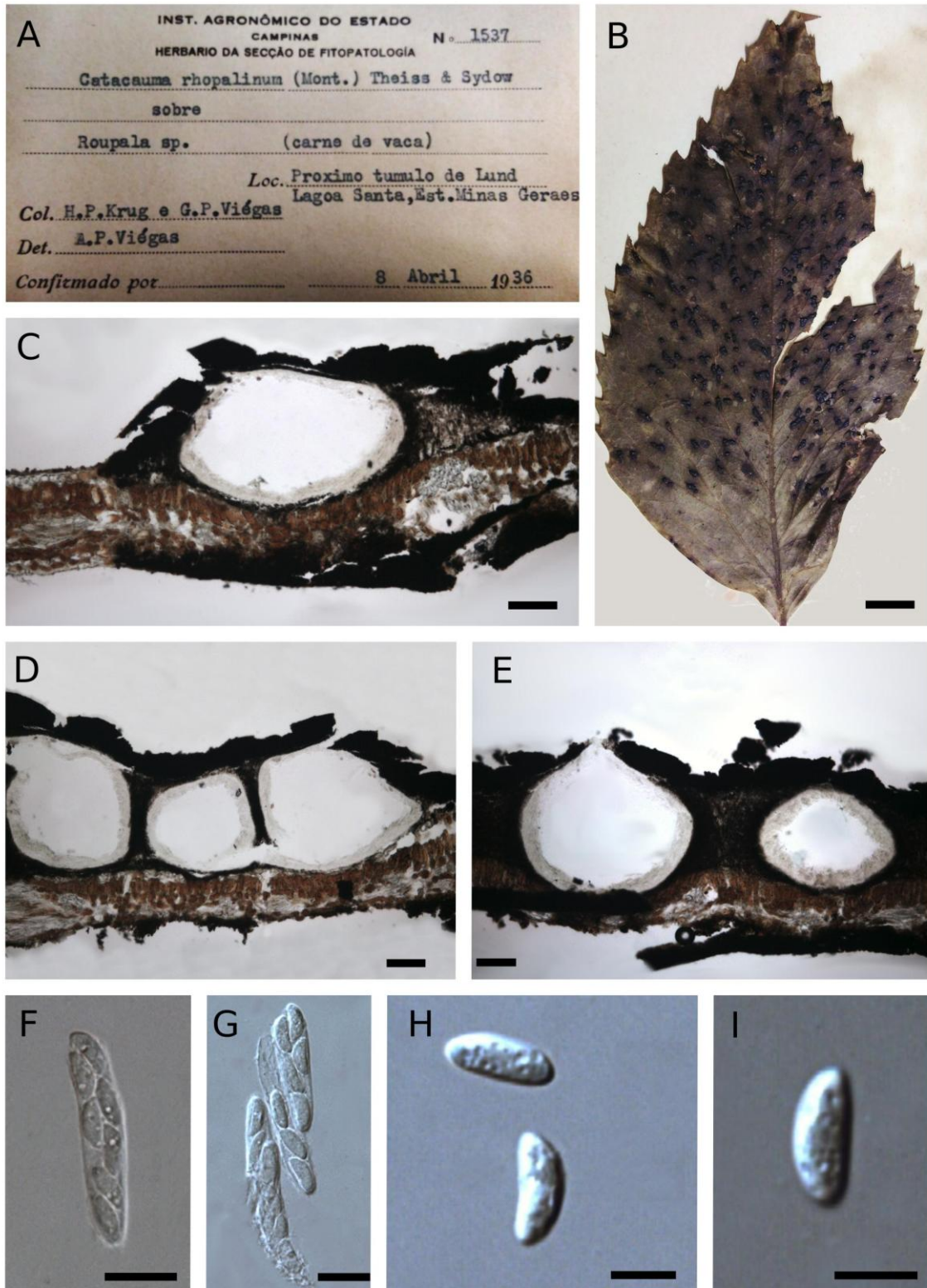


Figura 22. *Catacauma rhopalinum* (Herbário IACM Fungarium Ahmés Pinto Viégas 1537) em folhas de *Roupala* sp. (A–I). A. Fotografia da etiqueta original do espécime coletado por H.P Krug & G.P Viégas. B. Sintomas foliares. C–E. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. F–G. Ascos. H–I. Barras: B = 1 cm, C–E = 100 μ m, F–G = 25 μ m, H–I = 10 μ m.

Phyllachora sp. nov. 1

Figura 23

MYCOBNAK MB# (n.d.)

Tipificação: BRASIL, MINAS GERAIS, Santo Antônio do Monte, Fazenda Rancho das Grotadas, 19° 57' 16,9" S 45° 25' 10,2" O, sobre folhas vivas de *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), 3 Aug 15, DB Pinho s.n. (**holótipo** UB Col. Micol 23602).

Descrição: Lesões pretas, epífilas, circulares (0,8–1,4 × 0,5–0,8 cm). *Pseudostromas* circulares a elípticos, irregulares (0,2–0,6 × 1,4–2,6 mm), eruptivos, multiloculares, solitários a confluentes, de coloração marrom a preta, carbonáceos, opacos, pseudoparenquimáticos. *Ascomas* periteciais, piriformes (200–218 × 245–250 µm), perídio de textura angularis, com ostíolo perfurado. *Ascós* cilíndricos a fusiformes (130–144,5 × 9–11 µm), de paredes finas, com pedicelo longo, contendo 8 esporos, parafisados. Paráfises filiformes (1,6–3,5 µm diâm.), hialinas, septadas, abundantes. *Ascósporos* hialinos, unicelulares, fusiformes a clavados (13–17 × 9–11 µm). *Forma assexuada* não observada.

Comentário: Há duas espécies de *Phyllachora* em hospedeiras da família Burseraceae: descritas formalmente até o presente momento: *Phyllachora canarii* e *P. sikkimensis*, ambas registradas em hospedeiro do gênero *Canarium*, o qual possui distribuição tropical restrito às eco-regiões Indo-Malaya e Afrotropical (GBIF.org, acesso em 15 nov 2017). Medeiros (1994) examinou espécimes semelhantes ao do presente estudo, e concluiu tratar-se de *Phyllachora brasiliensis*. O holótipo de *P. brasiliensis* foi reexaminado por Chardón (1932) que concluiu que o hospedeiro previamente descrito por Spegazzini simplesmente como "folhas não coriáceas", se tratava de um membro de Rutaceae, e não Burseraceae.

Adicionalmente, o exame da ilustração original produzida por Spegazzini (Figura 0–24), revela consideráveis diferenças na morfologia dos ascos e ascósporos em relação ao

espécime aqui descrito (Figura 0–23). *Phyllachora brasiliensis* apresenta ascos tipicamente clavados, curto-pedicelados e com espessamento na região apical medindo 70–80 μm de comprimento por 25–30, μm de largura e aparafisados, ao passo que, *Phyllachora* sp. nov. 1 possui ascos cilíndricos, longo-pedicelados, medindo 130–144,5 μm de comprimento por 9–11 μm de largura e longas paráfises filiformes. Os ascósporos de *P. brasiliensis* são elípticos a obovoides e envoltos por bainha mucilaginosa, já *Phyllachora* sp. nov. 1 possui esporos fusiformes a clavados, e não se observou bainha mucilaginosa envolvendo os ascósporos. Dessa forma, conclui-se que o material ora estudado pertence a uma nova espécie de *Phyllachora*.

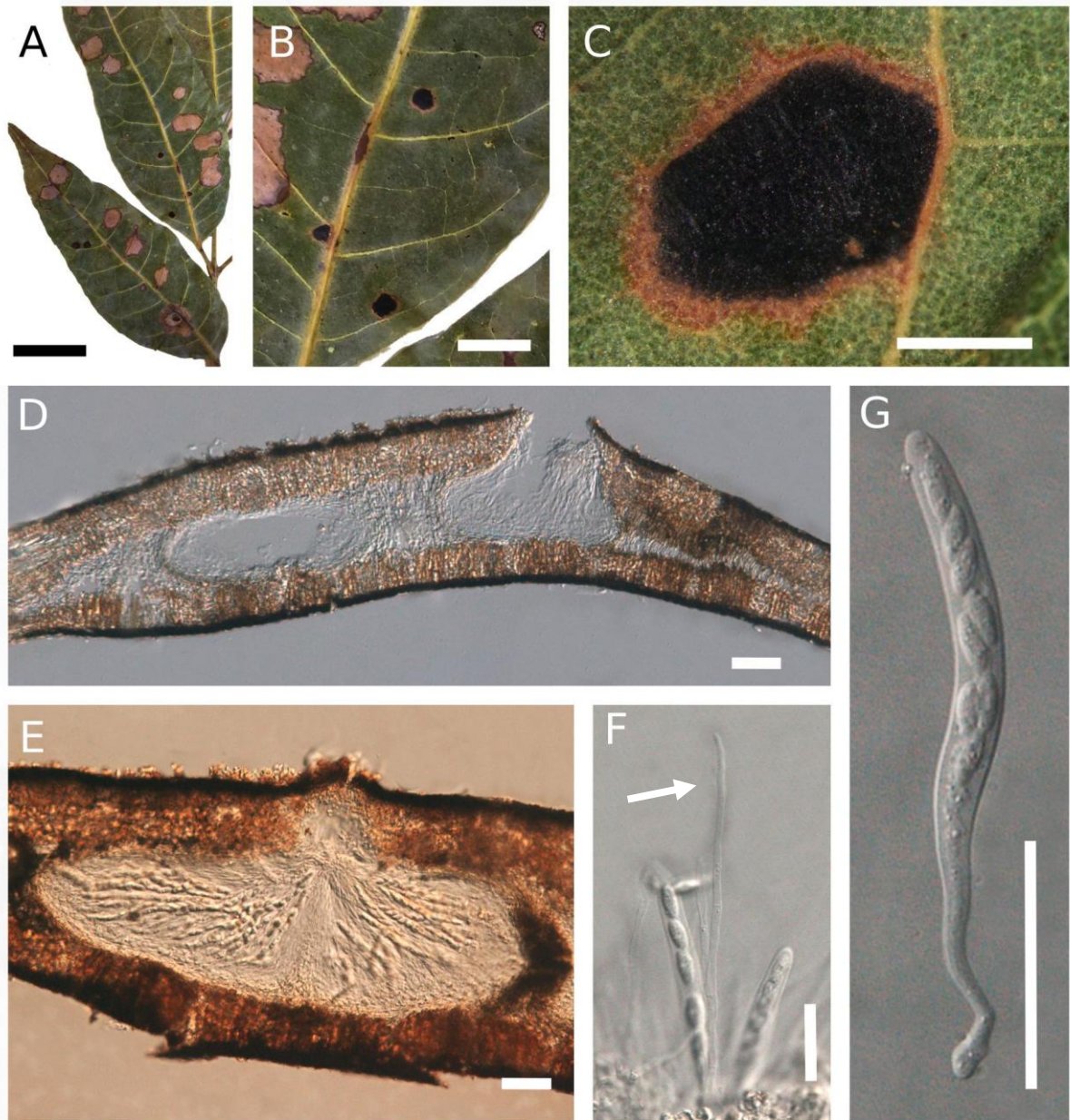


Figura 23. *Phyllachora* sp. nov. 1 (UB Col. Micol. 23602) em folhas de *Protium heptaphyllum* (A–I). A–C. Sintomas foliares. D–E. Corte transversal dos peritécios imersos no pseudoestroma. F–G. Ascósporos (seta indica paráfise filiforme, septada, levemente constricta nos septos, *ver descrição*). Barras: A = 1 cm, B = 0,5 cm, C = 1 mm, D = 100 μ m, E–G = 50 μ m.

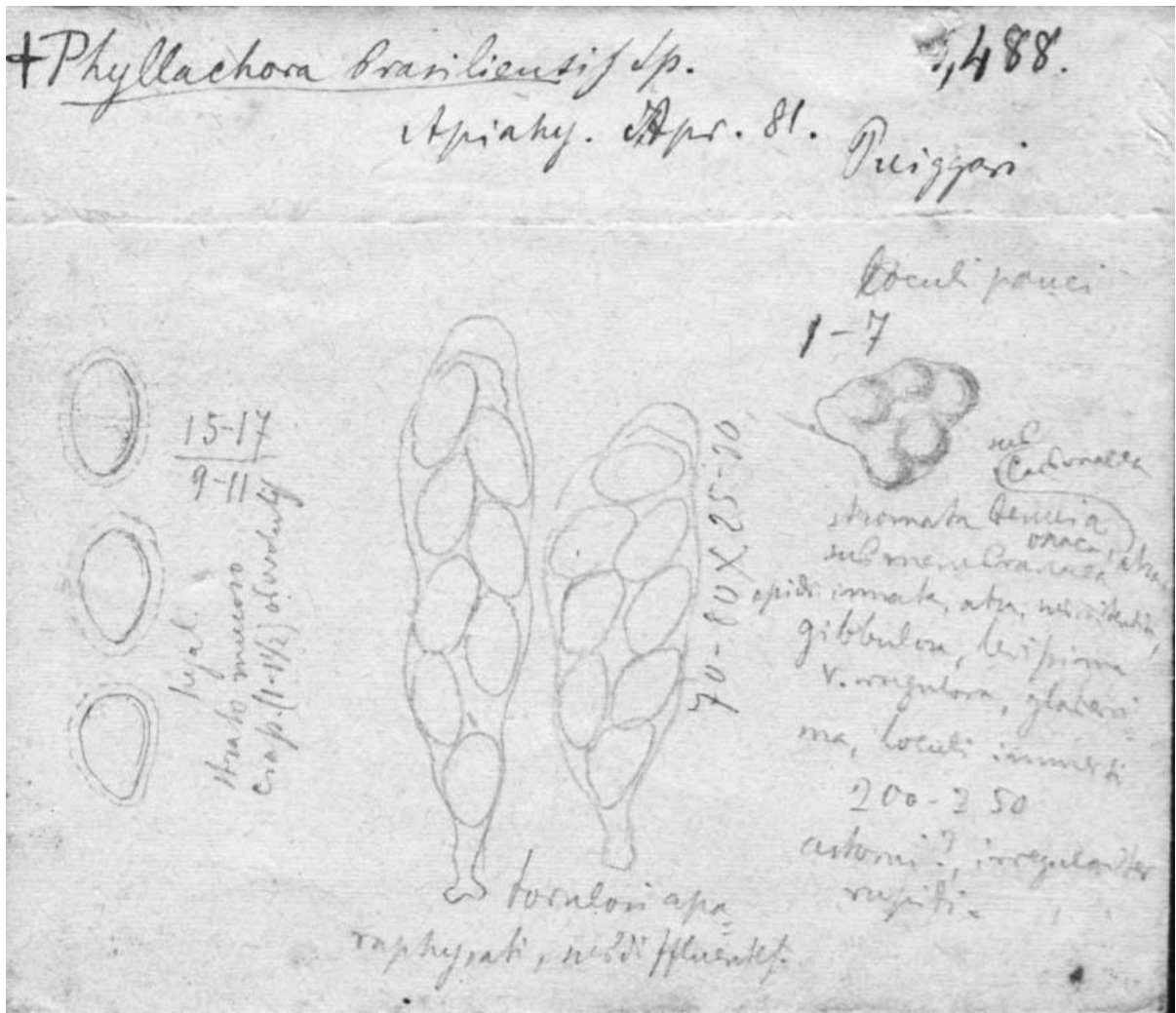


Figura 24. Cópia da ilustração original de *Phyllachora brasiliensis* por Spegazzini em 1881 (Arambarri et al. 2017).

Phyllachora sp. nov. 2

Figura 25

MYCOBNAK MB# (n.d.)

Tipificação: BRASIL, MINAS GERAIS, Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, 19° 58' 58,24" S 45° 24' 33" O, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 30 Jul 15, DB Pinho s.n. (**holótipo** UB Col. Micol 23500).

Descrição: *Pseudoestromas* 0,5–3 mm, esféricos, anfígenos, crustosos, uni- ou biloculares, solitários ou confluentes, subepidérmicos, ocupando o mesófilo da hospedeira. *Ascomas* periteciais globosos (154–298 × 145–285 µm), clipeo presente, perídio de 29–67 µm de espessura, textura globulosa, ostíolo conspícuo. *Ascós* cilíndricos (91–125 × 14–17 µm), curto-pedicelados, com ápice arredondado, restrito à camada basal do himênio, sem estruturas apicais conspícuas, com 8 esporos. *Paráfises* filiformes (157–198 × 1,5–2,5 µm), septadas, hialinas. *Ascósporos* hialinos, unicelulares, cilíndricos a elípticos (19–26 × 5–7 µm), gutulados, dísticos, com parede lisa e delicada. *Forma assexuada* não observada.

Comentário: Atualmente são reconhecidas apenas duas espécies de *Phyllachora* em Apocynaceae: *P. inclusa* e *P. trivialis*. A primeira possui descrição incompleta, não permitindo a comparação com *Phyllachora* sp. nov. 2. Três outras espécies foram descritas e sinonimizadas em *P. inclusa*: *P. jacquiniae*, em folhas de *Jacquinia aurantia* (Primulaceae), *P. aspidospermatis* e *P. quebrachii*, em *Aspidosperma quebracho* (Apocynaceae). *Phyllachora* sp. nov. 2 (Figura 0–25, Tabela 0-12) possui ascósporos de dimensões distintamente maiores que *P. inclusa* e seus sinônimos supracitados. Além de que, em *P. jacquiniae* e *P. quebrachii* os ascósporos são envolvidos por bainha mucilaginosa. *Phyllachora aspidospermatis* e *P. quebrachii* – ambas em *Aspidosperma quebracho* – foram descritas a partir de espécimes coletados no Paraguai, já *P. inclusa* e *P. jacquiniae* a partir de

coletas feitas na Nicarágua e Guatemala, respectivamente. A segunda espécie atualmente aceita e descrita sobre folhas de uma apocynacea não determinada, e coletada no Brasil, *P. trivialis*, difere de *Phyllachora* sp. nov. 2 por produzir ascósporos menores ($16-20 \times 5-7$ e $19-26 \times 5-7$, respectivamente) e ascos maiores ($140-150 \times 10-12$ e $91-125 \times 14-17$, respectivamente) (Tabela 0-12). Considerou-se, dessa forma, que o espécime em estudo pertence a uma nova espécie do gênero.

Espécimes examinados: BRASIL, DISTRITO FEDERAL, Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, $15^{\circ} 37' 0,55''$ S $47^{\circ} 43' 8,44''$ O, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 25 Jun 15, *BCP Souza s.n.* (UB Col. Micol 23807); *ibid*, Brasília, Parque Nacional de Brasília, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 21 Set 1995, *ZM Chavez 193* (UB Col. Micol 10102); *ibid*, Brasília, PAD-DF, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 18 Mar 1993, *JC Dianese 775* (UB Col. Micol 3321); *ibid*, Planaltina, Estação Ecológico Águas Emendadas, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 19 Fev 1994, *JC Dianese 1668* (UB Col. Micol 5962); *ibid*, Planaltina, Estação Ecológico Águas Emendadas, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 13 Ago 1997, *CAP Souza 90* (UB Col. Micol 15201); *ibid*, Planaltina, Estação Ecológico Águas Emendadas, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 10 Jun 1992, *RB Medeiros 67* (UB Col. Micol 1146); *ibid*, Planaltina, Parque Ecológico Águas Emendadas, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 19 Fev 1994, *JC Dianese 1668* (UB Col. Micol 5947); *ibid*, MATO GROSSO, Chapada dos Guimarães, às margens da BR070, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 14 Abr 1996, *JC Dianese 2623* (UB Col. Micol 11756); *ibid*, MATO GROSSO DO SUL, Campo Grande, Parque dos Poderes, sobre folhas vivas de *Aspidosperma macrocarpon* (Apocynaceae), 18 Ago 1996, *JC Dianese 2770* (UB Col. Micol 12266); *ibid*, Campo Grande, Parque dos Poderes, sobre folhas vivas de *Aspidosperma macrocarpon* (Apocynaceae), 18 Ago 1996, *M Sanchez 1978* (UB Col. Micol

12378); *ibid*, Campo Grande, BR163 entrada para o CINDACTA, sobre folhas vivas de *Aspidosperma macrocarpon* (Apocynaceae), 22 Ago 1996, *JC Dianese* 2920 (UB Col. Micol 12820); *ibid*, Campo Grande, Reserva Ecológica da Embrapa, sobre folhas vivas de *Aspidosperma macrocarpon* (Apocynaceae), 16 Ago 1996, *JC Dianese* 2704 (UB Col. Micol 12058); *ibid*, Campo Grande, sobre folhas vivas de *Aspidosperma macrocarpon* (Apocynaceae), 22 Jul 1993, *JC Dianese s.n.* (UB Col. Micol 4393); *ibid*, Campo Grande, sobre folhas vivas de *Aspidosperma macrocarpon* (Apocynaceae), 22 Jul 1993, *JC Dianese s.n.* (UB Col. Micol 4394); *ibid*, MINAS GERAIS, Buritis, Fazenda Pedra Grande, sobre folhas vivas de *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae), 8 Maio 1993, *JC Dianese* 898 (UB Col. Micol 3974).

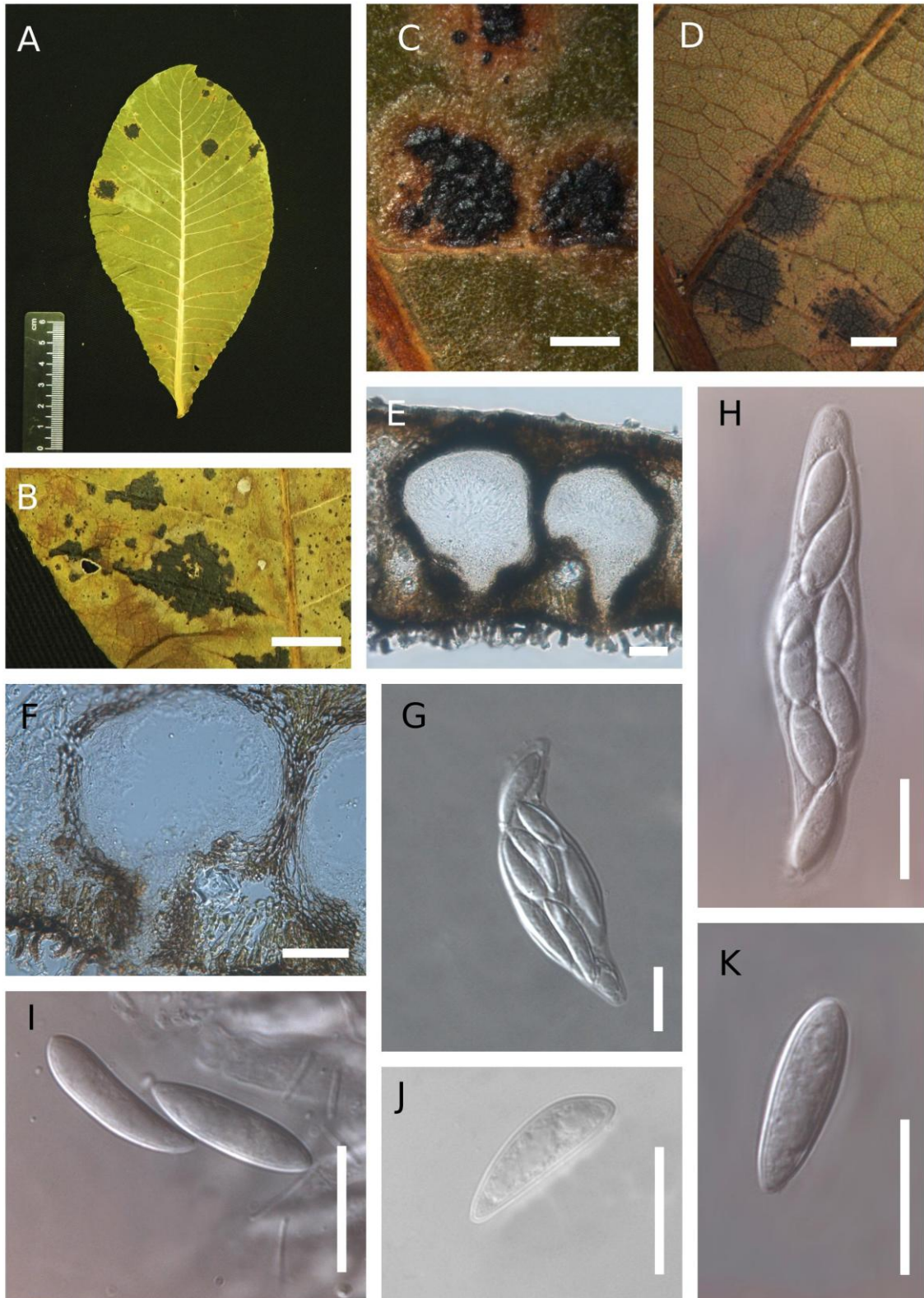


Figura 25. *Phyllachora* sp. nov. 2 (UB Col. Micol. 23500) em folhas de *Aspidosperma tomentosum* (A–I). A–D. Sintomas foliares. E–F. Corte transversal do peritécio imerso no pseudoestroma. G–H. Ascis. I–K. Ascósporos. Barras: B = 1 cm, C–D = 2 mm, E–F = 50 μ m, H–K = 20 μ m.

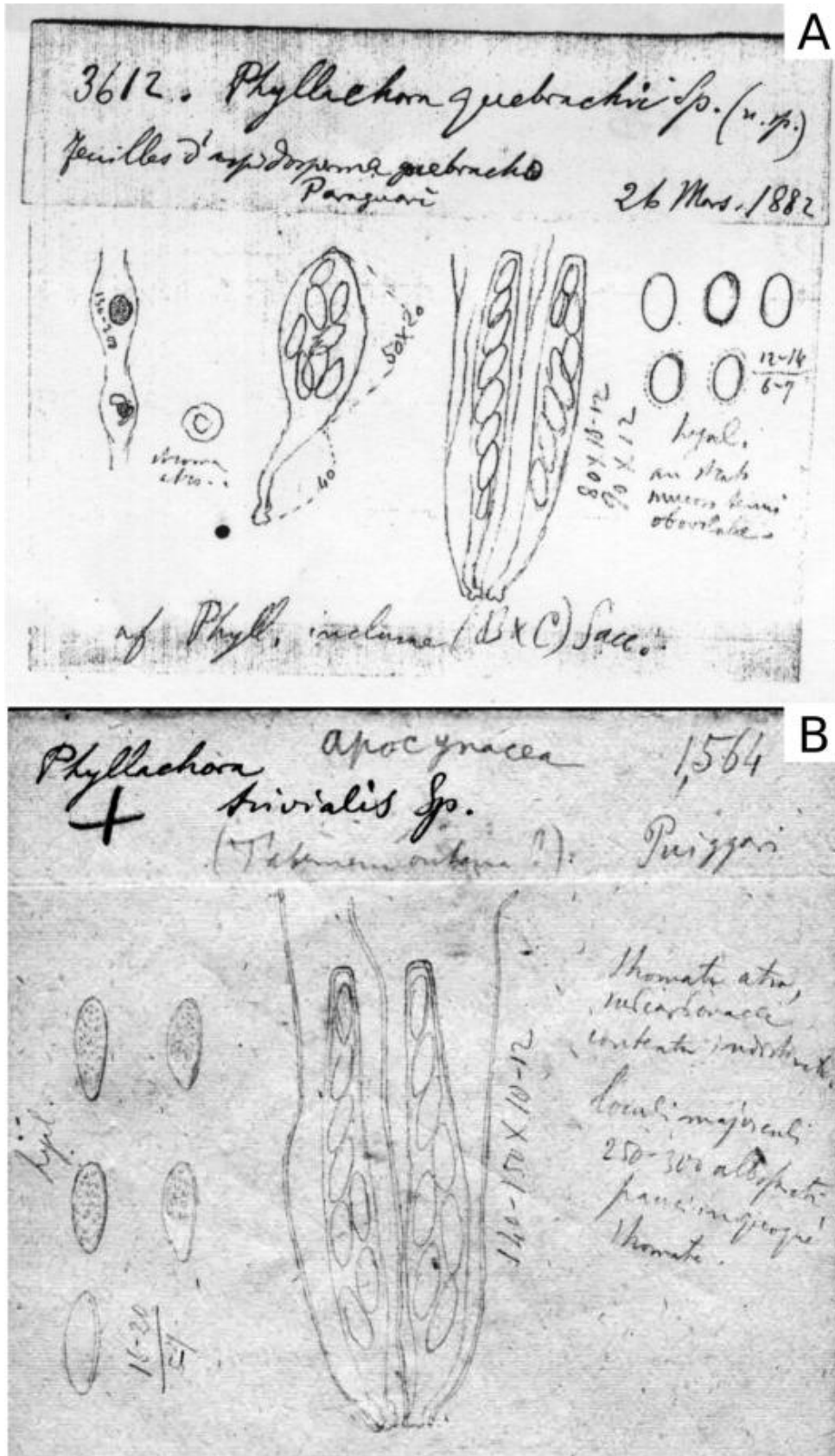


Figura 26. Ilustrações originais de *Phyllachora quebrachii* (A) e *P. trivialis* (B) por Spegazzini (Arambarri et al. 2017).

Tabela 12. Comparação de atributos morfológicos das espécies de *Phyllachora* em hospedeiras da família Apocynaceae e Primulaceae.

Ascoma		Ascospores		Ascósporos		Paráfises	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma				
<i>Phyllachora aspidospermatis</i> Rehm (= <i>P. inclusa</i>)									
–	–	75 × 15	fusiformes	12 × 6	oblongos, arredondados, unicelulares, hialinos	filiformes	<i>Aspidosperma quebracho</i> (Apocynaceae)	Paraguai	Rehm (1897)
<i>Phyllachora inclusa</i> (Berk. & M.A. Curtis) Sacc.									
–	–	–	–	–	elípticos a fusiformes, unicelulares, hialinos	–	<i>Jacquinia</i> sp. (Primulaceae)	Nicaragua	Saccardo (1883); Berkeley & Curtis (1860) como <i>Dothidea inclusa</i>
<i>Phyllachora jacquiniae</i> Rehm (= <i>P. inclusa</i>)									
–	globosos	100 × 14–18	cilíndricos, ápice arredondado	14–15 × 8–9	elípticos, extremidades arredondadas, hialinos, unicelulares, bainha mucilagínosa tenue, arranjo bisseriado	2–3 µm de espessura, filiformes, septadas	<i>Jacquinia aurantia</i> (Primulaceae)	Guatemala	Kellerman (1908)

Ascoma		Ascos		Ascósporos		Paráfises	Hospedeira	Local	Referência
Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma	Dimensões (µm)	Forma				
<i>Phyllachora quebrachii</i> Speg. (= <i>P. inclusa</i>)									
150–200 Ø	globosos	80–90 × 10–12	cilíndricos a clavados, ápice truncado	12–14 × 6–7	elípticos a fusiformes, unicelulares, hialinos, com bainha mucilagínosa	filiformes, ramificadas	<i>Aspidosperma quebracho</i> (Apocynaceae)	Paraguai	Spegazzini (1891)
<i>Phyllachora trivialis</i> Speg.									
200–300 Ø	Subglobos e achatado	140–150 × 10–12	obclavados com ápice arredondados, base truncada, curto-pedicelados	16–20 × 5–7	elípticos a obovóides, com extremidades afiladas, ápices arredondados, unicelulares, hialinos	filiformes	Asclepiadeae (Apocynaceae)	Brasil	Spegazzini (1887)
<i>Phyllachora</i> sp. UB Col. Micol 23807									
154–298 × 145–285	globosos	91–125 × 14–17	cilíndricos, ápice arredondado	19–26 × 5–7	cilíndricos a elípticos, unicelulares, hialinos, gutulados	filiformes, septadas 157–198 × 1,5–2,5	<i>Aspidosperma tomentosii</i> (Apocynaceae)	Brasil	Presente estudo

LITERATURA CITADA

-
- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389-3402.
- Alves JL, Barreto RW, Pereira OL, Soares DJ. 2010. Additions to the mycobiota of the invasive weed *Miconia calvescens*(Melastomataceae). *Mycologia* 102: 69–82.
- Arambarri AM, Minter TJ, Cabello MN, Minter DW. 2017. Spegazzini's Drawings of Fungi, a Digitized Library. [www.cybertruffle.org.uk/spegazzini, website accessed: 13/12/2017].
- Arx JA, Müller E. 1954. Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. *Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz* 11: 1-434.
- Barr ME. 1976. Perspectives in the Ascomycotina. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 28: 1–8.
- Barr ME. 1977. *Magnaporthe*, *Telimenella*, and *Hyponectria* (Physosporrellaceae). *Mycologia* 69: 952-66.
- Barr ME. 1983. The ascomycete connection. *Mycologia* 75: 1–13.
- Batista AC, Peres GEP, Maia HS. 1967. Alguns *Phyllachora* dos ‘cerrados’ e de outras áreas fisiográficas brasileiras. *Atas do Instituto de Micologia Recife* 4: 63–81.
- Berkeley MJ, Curtis MA. 1860. Characters of new fungi, collected in the North Pacific Exploring Expedition by Charles Wright. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences* 4: 111-130.
- Bezerra JL, Freire FCO, Andrade D. 2006. A new *Ophiodothella* species associated with leaf spots on *Annona squamosa* in Brazil. *Fitopatol. bras.* [online] 31: 592-594.
- Boyd S. 1934. A developmental study of a new species of *Ophiodothella*. *Mycologia* 26: 456–468.

- Cannon PF. 1991. A revision of *Phyllachora* and some similar genera on the host family Leguminosae. *Mycological Papers* 163: 1–302.
- Cannon PF. 1996. Systematics and diversity of the Phyllachoraceae associated with Rosaceae, with a monograph of *Polystigma*. *Mycological Research* 100: 1409–1427.
- Carvalho GH, Batalha MA. 2013. The drivers of woody species richness and density in a Neotropical savannah. *Biology Letters* 9: 20130412.
- Chardón C, Toro R. 1930. Mycological explorations of Colombia. *J Dep Agric Porto Rico* 14:195–369.
- Chardón CE, Toro RA. 1934. Mycological Explorations of Venezuela. Monographs of the University of Puerto Rico. *Physical and Biological Sciences* 2: 1–353.
- Chardón CE. 1921. A contribution to our knowledge of the pyrenomycetes of Porto Rico. *Mycologia* 13: 279–300.
- Chardón CE. 1932. New or interesting tropical Dothideales - III. *Journal of the Department of Agriculture of Porto Rico*. 16: 167-192.
- Clements FE, Shear CL. 1931. *Genera of Fungi*. 2nd ed. I-VII. USA, New York: H.W. Wilson Company. 496 p.
- Cooke MC. 1885. Synopsis pyrenomycetum. *Grevillea*. 13: 61-72.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.
- Dayarathne MC, Maharachchikumbura SSN, Jones EBG, Goonasekara ID, Bulgakov TS, Al-Sadi AM, Hyde KD, Lumyong S, McKenzie EHC. 2017. *Neophyllachora* gen nov. (Phyllachorales), three new species of *Phyllachora* from Poaceae and resurrection of *Polystigmataceae* (Xylariales). *Mycosphere* 8: 1598–1625.
- Dianese JC, Medeiros RB, Santos LTP. 1997. Biodiversity of microfungi found on native plants of the Brazilian cerrado. In: *Biodiversity of tropical microfungi*. (pp. 36-417) . Hong Kong Uni Press.

- Ericksson O, Hawksworth DL. 1990. Outline of the ascomycetes - 1990. *Systema Ascomycetum* 9: 39–271.
- Farr DF, Rossman AY. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved December 5, 2017, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- Gardes M, Bruns TD. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113-118.
- Gómez-Zapata PA, Salazar-Yepes M. 2017. *Camarotella colombiana* sp. nov. (Phyllachoraceae) on *Ceroxylon quindiuense* (Arecaceae) from Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 88: 275–279.
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology* 52: 696-704.
- Hanlin RT, Goh T-K, Scarshaug AJ. 1992. A key to and descriptions of species assigned to *Ophiodothella*, based on the literature. *Mycotaxon* 44: 103-126.
- Hanlin RT, González MC, Tortolero O, Renaud J. 2002. A new species of *Ophiodothella* on *Casearia* from Venezuela. *Mycoscience* 43: 321–325.
- Hanlin RT, González MC. 2013. *Ophiodothella angustissima* comb. nov., a new name for *Acervicylpeatus poriformans* and *O. vaccinii*. *Mycotaxon* 123: 327–334.
- Hansford CG. 1954. Australian fungi. II. New records and revisions. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 79: 97-141.
- Hara K. 1911. New genus of fungus on *Arundinaria simoni*. *Botanical Magazine Tokyo* 25:222–225
- Hara K. 1913. Fungi on Japanese bamboo. II. *Botanical Magazine Tokyo*. 27: 245-256.
- Hennings P. 1895. Fungi Goyazensis. *Hedwigia* 34: 88–112.
- Hennings PC. 1893. Fungi Brasilienses II. *Engler's Botanisches Jahrbücher* 17: 523–526.

- Hennings PC. 1897. Beiträge zur Pilzflora Südamerikas II: Contributions to the fungus flora of South America 2. *Hedwigia* 36: 190–246.
- Hennings PC. 1902. Fungi S. Paulenses I. a cl. Puttemans collecti. *Hedwigia* 41: 104–118.
- Hennings PC. 1904. Fungi Amazonici a cl. Ernesto Ule collecti. II. *Hedwigia* 43: 242–273.
- Hennings PC. 1905. Fungi Amazonici IV a cl. Ernesto Ule collecti (Appendix). *Hedwigia* 44: 57–71.
- Hennings PC. 1908. Fungi S. Paulenses IV. a cl. Puttemans collecti. *Hedwigia* 48: 1–20.
- Höhnelt F. 1910. Fragment zur Mykologie. XII. Mitteilung (Nr. 574 bis 641). *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften Math.-naturw. Klasse Abt. I.* 119: 877–958.
- Hoog GS de, van den Ende AHG. 1998. Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous Basidiomycetes. *Mycoses* 41: 183–189.
- Hsieh WH, Chen CY, Sivanesan A. 1998. Six new ascomycetes from Taiwan. *Mycological Research* 102: 228–234.
- Hyde KD, Cannon PF. 1999. Fungi causing tar spots on palms. *Mycological Papers* 175: 50–58.
- Kamat MN, Seshadri VS, Pande AA. 1978. A monographic study of Indian species of *Phyllachora*. *Univ. Agric. Sci., Hebbal Monogr.* 4: 1–100.
- Katoh K, Standley DM. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780.
- Katamoto K. 1968. On the genus *Cocodiella* Hara. *J Jpn Bot* 43:277–284.
- 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* 28: 1647–1649.

- Kellerman W. 1908. Dr. Rehm's First Report on Guatemalan Ascomycetae. *The Journal of Mycology* 14: 3-7.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. 2008. *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi*. 10th ed. Wallingford, CAB International.
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16: 1799–1808.
- Lumbsch HT, Huhndorf SM. 2010. Myconet volume 14 Part One. *Outline of Ascomycota-2009*. *Fieldiana Life Earth Sci.* 1: 1–922.
- Maharachchikumbura SN, Hyde KD, Jones EBG, McKenzie EHC, Huang SK, Abdel-Wahab MA, Daranagama DA, Dayarathne M, D'souza MJ, Goonasekara ID, Hongsanan S, Jayawardena RS, Kirk PM, Konta S, Liu JK, Liu Z-Y, Norphanphoun C, Pang KL, Perera RH, Senanayake IC, Shang Q, Shenoy BD, Xiao Y, Bahkali AH, Kang J, Somrothipol S, Suetrong S, Wen T, Xu J. 2015. Towards a natural classification and backbone tree for Sordariomycetes. *Fungal Diversity* 72: 199–301.
- Maharachchikumbura SSN, Hyde KD, Jones EBG, McKenzie EHC, Bhat JD, Dayarathne MC, Huang SK, Norphanphoun C, Senanayake IC, Perera RH, Shang QJ, Xiao Y, D'souza MJ, Hongsanan S, Jayawardena RS, Daranagama DA, Konta S, Goonasekara ID, Zhuang WY, Jeewon R, Phillips AJL, Abdel-Wahab MA, Al-Sadi AM, Bahkali AH, Boonmee S, Boonyuen N, Cheewangkoon R, Dissanayake AJ, Kang J, Li, QR, Liu JK, Liu XZ, Liu ZY, Luangsa-ard JJ, Pang KL, Phookamsak R, Promputtha I, Suetrong S, Stadler M, Wen T, Wijayawardene NN. 2016. Families of Sordariomycetes. *Fungal Diversity* 79: 1–317.
- Mardones M, Trampe-Jaschik T, Oster S, Elliott M, Urbina H, Schmitt I, Piepenbring M. 2017. Phylogeny of the order Phyllachorales (Ascomycota, Sordariomycetes): among and within order relationships based on five molecular loci. *Persoonia* 39: 74–90.

- Medeiros RM. 1994. Fungos Phyllachorales associados a plantas nativas do Cerrado. Dissertação de mestrado em Fitopatologia. Universidade de Brasília. Brasília. 150 p.
- Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva Junior MC, Filgueiras TS, Nogueira PE, Fagg CW. 2008. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. Pp. 423-1279. In: S.M. Sano; Almeida, S.P. & J.F. Ribeiro (eds.). Cerrado: ecologia e flora. v. 2. Brasília, Embrapa Informação e Tecnologia.
- Miller JH. 1949. A revision of the classification of the Ascomycetes with special emphasis on the Pyrenomycetes. *Mycologia* 41: 99–127.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010. “Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees,” in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, 1–8.
- Montagne JPFC. 1840. Séconde centurie de plantes cellulaires exotiques nouvelles, Décades VI, VII et VIII. *Annales des Sciences Naturelles Botanique* 14: 321-350.
- Müller E, Arx JA. 1973. Chapter 6 : The Pyrenomycetes: Meliolales, Coronophorales, Sphaeriales. In G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow, A. S. Sussman [eds.], *The fungi: an advanced treatise*, vol. IVA, A taxonomic review with keys: Ascomycetes and Fungi Imperfecti. 87–132.
- Müller E. 1975. Über die Gattung *Telimena* Raciborski (Ascomycetes). *Sydowia* 27: 74–77.
- Mundkur BB, Ahmad S. 1946. Revisions and additions to Indian fungi. II. *Mycol Pap* 18: 1–11.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–58.
- Nakari T, Alatalo E, Penttilä ME. 1993. Isolation of *Trichoderma reesei* genes highly expressed on glucose-containing media: characterization of the *tef1* gene encoding translation elongation factor 1 alpha. *Gene* 136: 313–318.

- Oliveira PS, Marquis RJ. 2002. The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna. Columbia University Press 1-368.
- Orejuela CG. 1944. New or heretofore unreported species of the higher ascomycetes from Colombia and Venezuela. *Mycologia* 36: 429–459.
- Pearce CA, Hyde KD. 1993. The genus *Ophiodothella* from Australia. *Mycol Res* 97: 1272–1276.
- Penzig AGO, Saccardo PA. 1897 (publ. 1898). Diagnoses fungorum novorum in insula Java collectorum. Ser. II. *Malpighia* 11: 491–530.
- Petrak F. 1927. Mycologische Notizen IX. No. 575. Über *Catacaumella gouaniae* Stev. 25: 193–343.
- Petrak F. 1928. Über *Bagnisiopsis* und verwandte Gattungen. *Hedwigia* 68: 251–290.
- Petrak F. 1931. Mykologische Notizen IX. *Annales Mycologici* 29: 339–397.
- Petrak F. 1934. Mykologische Notizen XII. *Annales Mycologici* 32: 317–447.
- Petrak F. 1950. Beiträge zur Pilzflora von Ekuador. *Sydowia* 4: 450–587.
- Plunkett OA, Young PA, Ryan RW. 1924. More new genera of fungi; with corrections and additions to “A systematic presentation of new genera of fungi”. *University of Urbana* 3: 7 p.
- Raciborski M. 1900. Parasitische Algen und Pilze Java's 1: 1–39.
- Ramakrishnan TS, Ramakrishnan K. 1950. Additions to the fungi of Madras. VII. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences Section B* 32: 67–79.
- Ranwez V, Harispe S, Delsuc F, Douzery EJ. 2011. MACSE: Multiple Alignment of Coding SEquences accounting for frameshifts and stop codons. *PLoS One* 6(9):e22594.
- Rehm H. 1897. Beiträge zur Pilzflora von Südamerika III. *Dothideaceae* Gesammelt von Herrn E. Ule in Brasilien. *Hedwigia* 36: 366–380.
- Rehm HJ. 1900. Beiträge zur Pilzflora von Südamerika. VIII. *Discomycetes* (Nachtrag). IX. *Hypocreaceae*. X. *Dothideaceae*. *Hedwigia* 39: 209–234.

- Rehm HJ. 1909. Ascomycetes novi. III. *Annales Mycologici* 7: 531–542.
- Rehner SA, Buckley E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 97: 84–89.
- Rick JE. 1906. Pilze aus Rio Grande do Sul. *Brotéria* 5: 1–53.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3 Bayesian Phylogenetic Inference under Mixed Models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Saccardo PA, Sydow P. 1902. *Sylloge Fungorum XVI*: i-viii, 1-1291. Italy, Patavii: P.A. Saccardo.
- Saccardo PA. 1913. *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Vol 22. Padova: P. A. Saccardo;
- Saccardo PA. 1883. *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Vol 2. Padova: P. A. Saccardo;
- Saccardo PA. 1899. *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Vol 14. Padova: P. A. Saccardo;
- Santos LTP. *Micobiota foliícola de Salacia crassifolia*. 2011. 116 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade de Brasília. Brasília.
- Santos MDM, Boiteux MENF, Boiteux LS, Câmara PEAS, Dianese JC. 2016. ITS-phylogeny and taxonomy of *Phyllachora* species on native Myrtaceae from the Brazilian Cerrado. *Mycologia* 108: 1141-1164.
- Santos MDM, Fonseca MEN, Boiteux LS, Dianese JC. 2013. Two new *Ophiidothella* species on two host genera of the myrtaceae from the brazilian cerrado. In: APS-MSA Joint Meeting, 2013, Austin, Texas. Resumos...
- Santos MDM. 2013. Morfotaxonomia e filogenia molecular de espécies dos gêneros *Phyllachora* e *Ophiidothella* em hospedeiras da família Myrtaceae nativas do cerrado. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. Brasília.

- Seaver FJ. 1928. Studies in tropical ascomycetes. V. Species of *Phyllachora*. *Mycologia* 20: 214–225.
- Seixas CDS, Barreto RW, Killgore E. 2007. Fungal pathogens of *Miconia calvescens* (Melastomataceae) from Brazil, with reference to classical biological control. *Mycologia* 99: 99–111.
- Senanayake IC, Crous PW, Groenewald JZ, Maharachchikumbura SSN, Jeewon J, Phillips AJL, Bhat JD, Perera RH, Li QR, Li WJ, Tangthirasunun N. 2017. Families of Diaporthales based on morphological and phylogenetic evidence. *Studies in Mycology* 86: 217–296.
- Shear CL. 1909. *Sphaerodothis*, a new genus of dothideaceous fungi. *Mycologia* 1: 161–163.
- Simon MF, Pennington RT. 2012. Evidence for Adaptation to Fire Regimes in the Tropical Savannas of the Brazilian Cerrado. *International Journal of Plant Sciences* 173: 711–23.
- Souza BCP. 2017. Ascomicetos associados a plantas da reserva natural da Embrapa Cerrados, Distrito Federal. xiii, 129 f., il. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia. Universidade de Brasília. Brasília.
- Souza CAP, Vitória ND, 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 VC, Lorenzi H. 2012. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado na APG III. 3ª ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 768p.
- Souza-Neto AC, Cianciaruso MV, Collevatti RG. 2016. Habitat shifts shaping the diversity of a biodiversity hotspot through time: Insights from the phylogenetic structure of Caesalpinioideae in the Brazilian Cerrado. *Journal of Biogeography* 43: 340–50.

- Spegazzini C. 1885. Fungi Guaranitici. Pugillus I. Anales de la Sociedad Científica Argentina 19: 241–265.
- Spegazzini CL. 1889. Fungi Puiggariani. Pugillus 1. Boletín de la Academia Nacional de Ciencias Córdoba 11: 381-622.
- Spegazzini CL. 1919. Reliquiae mycologicae tropicae et fungi Costaricenses nonnulli. Boletín de la Academia Nacional de Ciencias Córdoba 23: 365-609.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. Bioinformatics 30: 1312–1313.
- Stevens FL, Dalbey NE. 1919. Some Phyllachoras from Porto Rico. Botanical Gazette 68: 54–59.
- Stevens FL. 1925. Hawaiian Fungi. Bulletin of the Bernice P. Bishop Museum, Honolulu, Hawaii 19: 1–39.
- Stevens FL. 1927. Fungi from Costa Rica and Panama. Illinois Biological Monographs 11: 157-255.
- Stevens FL. 1930. Parasitic fungi of British Guiana, Trinidad and Costa Rica. Annales Mycologici 28: 364-371.
- Sung GH, Sung JM, Hywel-Jones NL, Spatafora JW. 2007. A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. Molecular Phylogenetics and Evolution 44: 1204–1223.
- Swart HJ. 1982. Australian Leaf-Inhabiting Fungi XV. Ophiodothella Longispora sp. nov. Transactions of Britain Mycological Society 79: 566–568.
- Sydow H, Sydow P, Butler EJ. 1911. Fungi Indiae orientalis. Pars III [Fungi of eastern India]. Annales Mycologici 9: 372-421.
- Sydow H, Sydow P. 1901. Fungi novi brasilienses a cl. Ule lecti. Bulletin de l'Herbier Boissier Sér. 2 1: 77-85.

- Sydow H, Sydow P. 1916. Fungi Amazonici a. cl. E. Ule. lecti. *Ann Mycol* 14: 65–97.
- Sydow H. 1925a. Fungi in itinere Costaricensi collecti. Pars prima. *Annales Mycologici* 23: 308-429.
- Sydow H. 1925b. Fungi from the province of Sorsogon. *Leaflets of Philippine Botany*. 9: 3113-3138.
- Tanabe Y, Saikawa M, Watanabe MM, Sugiyama J. 2004. Molecular phylogeny of Zygomycota based on EF-1 α and RPB1 sequences: limitations and utility of alternative markers to rDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 438-449.
- Theissen F, Sydow P. 1915. Dothideazeen-Studien II. *Annales Mycologici* 12: 268–281.
- Theissen F. 1916, publ. 1917. Beiträge zur Systematic der Ascomyzeten. *Annales Mycologici* 14: 401-439.
- Verma RK, Kamal-Rai AN. 1989. Studies on foliicolous ascomycotina - IV, New species of *Aphanostigme* and *Phyllachora*. *Indian Phytopathology* 42: 561–565.
- Viégas AP. 1944. Alguns fungos do Brasil II. *Ascomycetos*. *Bragantia* 4: 1– 392.
- Viégas AP. 1961. Índice de fungos da América do Sul. Instituto Agronômico de Campinas, São Paulo. 921p.
- 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.
- Vitoria NS, Bezerra JL, Gramacho KP e Luz EDMN. 2008. *Camarotella torrendiella* comb. nov. and *C. acrocomiae*: etiologic agents of black leaf spot diseases on the coconut tree. *Trop. plant pathol.* [online] 33: 295-301.
- Wanderlei-Silva D, Neto E, Hanlin RT. 2003. Molecular systematics of the Phyllachorales (Ascomycota, Fungi) based on 18S ribosomal DNA sequences. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46: 315–322.

- Werneck FP, Costa GC, Colli GR, Prado DE, Sites Jr JW. 2011. Revisiting the historical distribution of Seasonally Dry Tropical Forests: New insights based on palaeodistribution modelling and palynological evidence. *Global Ecology and Biogeography* 20(2): 272–88.
- 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*. Academic, San Diego. 315–322.
- Winter G. 1884-1887. *Die Pilze, Rabenhorsts Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*, 2. Aufl., 1(2), 928 pp.

**CAPÍTULO II. TAXONOMY, PHYLOGENY, AND DIVERGENCE TIME
ESTIMATION FOR *APIOSPHERIA GUARANITICA*, A NEOTROPICAL
PARASITE ON BIGNONIACEOUS HOSTS**

Nota: O conteúdo do presente capítulo foi aceito para publicação no periódico Mycologia, pertencente à Mycological Society of America, editado por Taylor & Francis, tendo a versão revisada já sido submetida, conforme documentação que se segue.

Ref.: Ms. No. mycologia-D-17-00245

Taxonomy, phylogeny, and divergence time estimation for *Apiosphaeria guaranitica*, a Neotropical parasite on bignoniaceous hosts.

Mycologia

Dear Dr. JOSE DIANESE,

Your manuscript entitled "Taxonomy, phylogeny, and divergence time estimation for *Apiosphaeria guaranitica*, a Neotropical parasite on bignoniaceous hosts.", which you submitted to Mycologia, has been reviewed. The reviewer comments are included at the bottom of this letter along with some remarks by the Associate and Executive editors.

The reviews are in general favorable and suggest that, **subject to minor revisions**, your paper could be suitable for publication. Please consider these suggestions, and I look forward to receiving your revision.

To submit a revision, go to <https://mycologia.editorialmanager.com/> and log in as an Author. You will see a menu item call Submission Needing Revision, where you will find your submission.

Because we are trying to facilitate timely publication of manuscripts submitted to Mycologia, your revised manuscript should be uploaded by Jun 05, 2018. If it is not possible for you to submit your revision by this date, we may have to consider your paper as a new submission.

Once again, thank you for submitting your manuscript to *Mycologia* and I look forward to receiving your revision.

Best regards,
Keith A. Seifert
Executive Editor
Mycologia

Associate editor's comments:

This is a careful and detailed reevaluation of the systematic position of *Apiosphaeria*, based on *Apiosphaeria guaranítica*, the type for the genus. Please consider the reviewers' comments in preparing a revision. In particular, reviewer 1 remarks concerning typification.

Mycologia prefers that phylogenetic trees be formatted without color. Trees in the on-line version can have color, but please provide grayscale or B&W versions for print that illustrate the relevant points, and be careful then not to indicate colors in the figure legends that won't be evident in the printed version (i.e., don't say, e.g., "the red text indicates...."). We now have one free color plate per paper, so your Fig. 5 will be fine as it is.

Reviewer's comments:

Reviewer 1: Remarks for Authors: This paper for the first time provides a phylogenetic placement for *Apiosphaeria guaranítica*. Overall it's well-written and thorough. I would suggest that the authors show the initial tree showing the placement of the fungus in the Diaporthales as since this is the major reason for the paper it should be a focus. The subsequent trees don't really "prove" this point and I was unable to view the supplementary tree referred to. A statement of which herbaria were queried for type material would be helpful and if a holotype is not available and no specimen or illustration to choose a lectotype

from, it would seem a neotype is more appropriate than an epitype. My understanding of the ICBN indicates that the designation of an epitype is not possible unless the holotype or other designated type is cited as well. As the authors indicate no type material was available, it would seem that designating a neotype would be more appropriate.

I do have concerns about the length of the branch connecting the *Apiosphaeria* species to *Diaporthe* in that the relationship has perhaps been forced by the choices of outgroups. In my view the relationship with *Diaporthe* is less "news" than the placement in the Diaporthales. I also have concerns about the use of ITS data across the diversity of the Diaporthales. It would seem rpb2 or another similar gene would be more appropriate with ITS used only for the mostly closely related taxa at the family level or below. In the results section line 213 the authors state a close relationship with the Diaporthales was shown, not placement within. Since I'm left uncertain as to the appropriate placement of the genus in or out of the Diaporthales I can't really comment on the molecular clock analysis and results.

The morphological descriptions are thorough and well done.

Reviewer 2: What software and method are used to evaluate the nucleotide substitution model in phylogenetic analyses? 28S, ITS, RPB2, and TEF1 were used for Diaporthales, while 28S and ITS were used for Diaporthaceae? Why not include RPB2 and TEF1 for Diaporthaceae? They are also phylogenetic informative at generic level. In addition to concatenated gene analysis, individual phylogenetic trees should be reconstructed, and their topologies should be compared to each other to test the congruence or conflict among them. In molecular clock test, what was the criterion used to choose the representative taxa within Diaporthales? In taxonomy, detailed comparison between the type and epitype is needed if an epitype is proposed here. Is there any update for generic concept of *Apiosphaeria*? What is the generic definition currently? What are synonyms of this genus? Distribution of *Apiosphaeria guaranitica* in Brazil was described. But, what is its geographic distribution in the world?

What is the distribution of other Apiosphaeria? The descriptions of *Apiosphaeria topographica*, *A. indica*, and *A. nipponica* are redundant because there is neither specimen re-examined nor concept updated. Discussion needs more work. When comparing the names *Apiosphaeria* and *Oswaldina*, both type species should be included and discussed. Link between sexual and asexual states of *Apiosphaeria guaranitica* was made using molecular data. However, more evidence is needed. All materials were from "cirrus of the asexual morph". Were they identified morphologically? Did they fit well with *Oswaldina icarahyensis*? Suggest using the boldface for those newly generated sequences in Table 1. What do the thickened branches mean in Figure 3? Why were 0.98 and 95% chosen as BIPP and MLBP cutoff values respectively?

RESPOSTA AOS REVISORES

Answering Reviewer's Comments:

Reviewer 1: Remarks for Authors: This paper for the first time provides a phylogenetic placement for *Apiosphaeria guaranitica*. Overall it's well-written and thorough. I would suggest that the authors show the initial tree showing the placement of the fungus in the Diaporthales as since this is the major reason for the paper it should be a focus. The subsequent trees don't really "prove" this point and I was unable to view the supplementary tree referred to.

*As suggested by Reviewer 1, we added a tree (Figure 2) including representative members of Sordariomycetes. Initially, this tree was referred as **supplementary data** and thus, not shown as a figure. Besides that the tree and alignments were included in TreeBase (<http://purl.org/phylo/treebase/phyloWS/study/TB2:S21934?x-access-code=10dc1c0950441d65f8a1648383a4d470&format=html>)*

A statement of which herbaria were queried for type material would be helpful and if a holotype is not available and no specimen or illustration to choose a lectotype from, it would seem a neotype is more appropriate than an epitype. My understanding of the ICBN indicates that the designation of an epitype is not possible unless the holotype or other designated type is cited as well. As the authors indicate no type material was available, it would seem that designating a neotype would be more appropriate.

We included the localization of the holotype (deposited as Munkiella guaranitica LPS 340, at Instituto Spegazzini, La Plata, Argentina, in the topic Typification. We also added detailed comparisons of the type with the specimens collected in the Brazilian Cerrado within the topic comment, in the Results/Taxonomy section. Presently we propose one of our recently collected specimen (MCHUB 23795) as epitype considering that Apiosphaeria guaranitica is a biotrophic fungus and several tentatives of cultivation in artificial media proved to be unsuccessful. Additionatly, although the holotype is well preserved and there is a detailed illustration provided by Spegazzini and available at Cybertruffle.org by Arambarri et al. (2017) (which has a value equivalent to a type), considering that the process of DNA extraction and sequencing is destructive and it would not be possible to use the holotype deposited in LPS.

I do have concerns about the length of the branch connecting the Apiosphaeria species to Diaporthe in that the relationship has perhaps been forced by the choices of outgroups.

We think that the inclusion of the Sordariomycetes phylogenetic tree might (the new Figure 2) be sufficient to attend this concern.

In my view the relationship with *Diaporthe* is less "news" than the placement in the Diaporthales. I also have concerns about the use of ITS data across the diversity of the

Diaporthales. It would seem RPB2 or another similar gene would be more appropriate with ITS used only for the mostly closely related taxa at the family level or below.

We used RPB2, ITS, 28S and TEF1 for Diaporthales following a recently published paper entitled “Families of Diaporthales” by Senanayake et al. (2017). We used ITS and 28S in the Diaporthaceae phylogenetic analyses because there is an overall lack of sequences of different molecular markers encompassing all or most members of Diaporthaceae (an exception is Diaporthe).

In the results section line 213 the authors state a close relationship with the Diaporthales was shown, not placement within. Since I am left uncertain as to the appropriate placement of the genus in or out of the Diaporthales I can't really comment on the molecular clock analysis and results.

We rewrote the sentence, and we have no doubt that the natural placement of A. guaranitica is within Diaporthales.

The morphological descriptions are thorough and well done.

Reviewer 2: What software and method are used to evaluate the nucleotide substitution model in phylogenetic analyses? 28S, ITS, RPB2, and TEF1 were used for Diaporthales, while 28S and ITS were used for Diaporthaceae? Why not include RPB2 and TEF1 for Diaporthaceae? They are also phylogenetic informative at generic level.

We used RPB2, ITS, 28S and TEF1 for Diaporthales following Senanayake et al. (2017). We used ITS and 28S in the Diaporthaceae phylogenetic analyses because there is an overall lack of sequences of different molecular markers encompassing all or most members of Diaporthaceae (an exception is Diaporthe).

In addition to concatenated gene analysis, individual phylogenetic trees should be reconstructed, and their topologies should be compared to each other to test the congruence or conflict among them. In molecular clock test, what was the criterion used to choose the representative taxa within Diaporthales?

This kind of analysis requires unique representatives of each species in order to avoid oversampling. Therefore, we selected representatives of Diaporthales with sequences of RPB2, ITS, 28S and TEF1, again following Senanayake et al. (2017). Also, to avoid over estimation of the evolutive rates we applied the calibration strategy to stem groups following Budd & Jensen (2000).

In taxonomy, detailed comparison between the type and epitype is needed if an epitype is proposed here.

*We added detailed comparisons of the type with the specimens collected in the Brazilian Cerrado within the topic Comment, in the Results/Taxonomy section. Presently we propose one of our recently collected specimens (MCHUB 23795) as epitype considering that *Apiosphaeria guaranitica* is a biotrophic fungus and several efforts to cultivate the fungus in artificial media proved to be unsuccessful.*

Is there any update for generic concept of *Apiosphaeria*? What is the generic definition currently? What are synonyms of this genus?

We added this information in the topic Comment in the Taxonomy section.

Distribution of *Apiosphaeria guaranitica* in Brazil was described. But, what is its geographic distribution in the world? What is the distribution of other *Apiosphaeria*?

*We provided this information in line 282: *Apiosphaeria guaranitica* occurs also in Venezuela and Colombia, but all other species are known only from their respective type locations.*

The descriptions of *Apiosphaeria topographica*, *A. indica*, and *A. nipponica* are redundant because there is neither specimen re-examined nor concept updated.

We excluded these descriptions.

Discussion needs more work. When comparing the names *Apiosphaeria* and *Oswaldina*, both type species should be included and discussed.

See the expanded topic Comment in the Taxonomy section.

Link between sexual and asexual states of *Apiosphaeria guaranitica* was made using molecular data. However, more evidence is needed. All materials were from "cirrus of the asexual morph"?. Were they identified morphologically? Did they fit well with *Oswaldina icarahyensis*?

We added information in the topic Comment, in the Taxonomy section. The link between sexual and asexual states is well documented in past studies by Rangel (1921), Sydow (1935) and Dianese et al. (1994) based on morphological characteristics. We extracted and molecularly analyzed material from sexual state (content of ascomata = hamatecium, asci and ascospores-hymenium) and, separately, from asexual state (from cirri expelled by the picnidia, which generates masses of spermatia).

Suggest using the boldface for those newly generated sequences in Table 1.

OK.

What do the thickened branches mean in Figure 3? Why were 0.98 and 95% chosen as BIPP and MLBP cutoff values respectively?

We used high values of cutoff to avoid the selection of overestimated support values of branches. Some papers (How Meaningful Are Bayesian Support Values? and Comparison of Bayesian and Maximum Likelihood Bootstrap Measures of Phylogenetic Reliability) has shown this "overestimation effect" of Bayesian analysis in comparison with other methods. In this way we prefer keep a high cutoff value to both methods.

Mycologia

Taxonomy, phylogeny, and divergence time estimation for *Apiosphaeria guaranitica*, a Neotropical parasite on bignoniaceous hosts.

–Manuscript Draft–

Manuscript Number:	
Article Type:	Original Research
Manuscript Classifications:	Genetics/Molecular Biology; Plant Pathogens; Systematics
Full Title:	Taxonomy, phylogeny, and divergence time estimation for <i>Apiosphaeria guaranitica</i> , a Neotropical parasite on bignoniaceous hosts.
Corresponding Author:	JOSE CARMINE DIANESE, Ph.D. Universidade de Brasília BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL BRAZIL
Other Authors:	DEBORA CERVIERI GUTERRES, Msc SAMUEL GALVÃO-ELIAS, Msc MARIA DESTERRO MENDES DOS SANTOS, Dr. Sci. BRUNO CEZAR PEREIRA DE SOUZA, MSc DANILO BATISTA PINHO, D. Sci. ROBERT NEIL GERARD MILLER, PhD
Abstract:	<i>Apiosphaeria guaranitica</i> , the causal agent of brown crust disease of several bignoniaceous hosts, among them <i>Handroanthus</i> and <i>Tabebuia</i> species, has been traditionally placed in <i>Phyllachoraceae</i> , based exclusively on morphological studies, without any supporting molecular evidence. Here we provide molecular data for the link between sexual and asexual forms of the fungus, elucidated through phylogenetic analysis of <i>A. guaranitica</i> , based on a multilocus analysis using nuclear small subunit ribosomal DNA (nuc 18S rDNA), nuclear large subunit ribosomal DNA (nuc 28S rDNA), nuclear internal transcribed spacer ribosomal DNA (nuc ITS rDNA), second largest subunit of RNA polymerase II (RPB2) and translation elongation factor 1 (TEF1) genome loci. Furthermore, a divergence time estimate of this lineage was made on the basis of both fossil-calibration (FC) and secondary calibration (SC) strategies. Our results showed a natural phylogenetic placement of <i>Apiosphaeria</i> within <i>Diaporthaceae</i> (<i>Diaporthales</i>), where it represents an ancient lineage of the crown-group of <i>Diaporthaceae</i> , diverging during the late Paleocene at 61.16 (FC) and 60.63 (SC) MYA. This is a pioneering study on the divergence time estimate within the <i>Diaporthales</i> based on <i>Spataporthes tafloni</i> , a <i>diaporthaceous</i> fossil.
Keywords:	Bignoniaceae; Brown Crust Disease; Cerrado; Fossil Calibration; Molecular Clock; Microfungi; Multilocus Analysis.
Author Comments:	To the <i>Mycologia</i> Senior Editor Dear sir/madam, This paper is the result of major effort developed at the <i>Mycological</i> Collection of the Herbarium UB, that is trying to upgrade its publications to always include molecular data. The stimulus received from <i>Mycology</i> previous reviewers have a lot to do with our progress. Sincerely, J.C. Dianese

Title: **Taxonomy, phylogeny, and divergence time estimation for *Apiosphaeria guaranitica*, a Neotropical parasite on bignoniaceous hosts.**

Debora Cervieri Guterres

Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Samuel Galvão-Elias

Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil

Bruno César Pereira de Souza

Danilo Batista Pinho

Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Maria do Desterro Mendes dos Santos

Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Robert Neil Gerard Miller

José Carmine Dianese

Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Corresponding author: jcarmine@gmail.com

ABSTRACT

Apiosphaeria guaranítica, the causal agent of brown crust disease of several bignoniaceous hosts, among them *Handroanthus* and *Tabebuia* species, has been traditionally placed in Phyllachoraceae, based exclusively on morphological studies, without any supporting molecular evidence. Here we provide molecular data for the link between sexual and asexual states of the fungus, elucidated through phylogenetic analysis of *A. guaranítica*, based on a multilocus analysis using nuclear small subunit ribosomal DNA (*nuc 18S* rDNA), nuclear large subunit ribosomal DNA (*nuc 28S* rDNA), nuclear internal transcribed spacer ribosomal DNA (*nuc ITS* rDNA), second largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*) and translation elongation factor 1 (*TEF1*) genome loci. Furthermore, a divergence time of this lineage was estimated on the basis of both, fossil-calibration (FC) and secondary calibration (SC) strategies. Our results showed a natural phylogenetic placement of *Apiosphaeria* within Diaporthaceae (Diaporthales), where it represents an ancient lineage of the crown-group of Diaporthaceae, diverging during the late Paleocene at 61.15 (FC) and 60.63 (SC) MYA. This is a pioneering but reliable study on the divergence time estimate within the Diaporthales based on *Spataporthe taylori*, a diaporthaceous fossil.

Key words: Bignoniaceae, Brown Crust Disease, Cerrado, Fossil Calibration, Microfungi, Molecular Clock, Multilocus Phylogeny, Neotropica.

INTRODUCTION

Apiosphaeria guaranitica, traditionally recognized as belonging to the Phyllachoraceae, causes the brown crust disease, that seriously affects trees in the Bignoniaceae family, among them *Handroanthus* and *Tabebuia* species and others (Spegazzini 1885; Viégas 1943; Batista et al. 1964; Ferreira 1989; Dianese et al. 1994). This group of arboreal species shows considerable economic importance in South America, widely used as timber and as alternative medicinal resources. They are in general hardwood species that are mainly employed in house roofs, furniture and musical instrument manufacturing, and often used in urban landscaping due to their characteristically beautiful flowers (Lorenzi, 1998).

In addition to the type-species *A. guaranitica*, the genus *Apiosphaeria* comprises three other species: *A. topographica* (Speg.) Arx on *Ficus* sp. (Moraceae) (Spegazzini 1885; von Höhnel 1909), *A. indica* S. K. Bose on several species of Arecaceae (Bose 1975), and *A. nipponica* I. Hino and Katum. on *Sasa nipponica* (Poaceae) (Hino and Katumoto 1966).

Höhnel (1909) established the genus based on *Munkiella guaranitica* Speg. which was found on living leaves of a *Tecoma* species. Then, the species was considered as a hyponectriaceous rather than a sordariaceous species, and treated as closely related to *Lambro* Racib. and *Dubitatio* Speg. Rangel (1921) provided the first description of the complete fungus, naming *Oswaldia icarahyensis* the sexual state, and *Oswaldina icarahyensis* the asexual phase of the fungus. Sydow (1930) considered *O. icarahyensis* a synonym of *A. guaranitica*, but indicated that the asexual state of the fungus belonged to *Rhodosticta*. Later, Clements and Shear (1931) considered the asexual state to be a *Hemidothis* Syd. species. The study of conidial ontogeny proved that the *A. guaranitica* asexual state is phialidic, as noted by Rangel (1921) in his original description of *Oswaldina*, distinct from *Rhodosticta*,

Hemidothis, and *Polystigmina* (*sensu* Ferreira 1989), as later confirmed by Dianese et al. (1994).

Sydow (1930) re-described *Apiosphaeria* and suggested a morphological relationship with *Phyllachora*, *Physalosporina* and *Polystigma*. Nannfeldt (1932) studied what he designated as the order *Sphaeriales* and placed *Phyllachora* in the Polystigmataceae, but without mention of *Apiosphaeria*. Nevertheless, in a study on the Ascomycetes some years later, Miller (1949) recognized only the genus *Phyllachora* in the Phyllachoraceae. Later, Viégas (1943) placed *Apiosphaeria* in Phyllachoraceae *sensu* Miller (1941), based on the similarities of the ascomata development in *A. guaranitica* and *Polystigma rubrum*, following Petrak (1924).

Subsequent classification schemes have included *Apiosphaeria* along with phyllachoraceous fungi in the Polystigmataceae (Müller and Arx 1962, 1973), or in the Phyllachoraceae (Hawksworth et al. 1983; Hawksworth et al. 1995; Lumbsch and Huhndorf 2007; Kirk et al. 2008; Lumbsch and Huhndorf 2010; Maharachchikumbura et al. 2015; Wijayawardene et al. 2017). The current classification systems have maintained the traditional placement of *Apiosphaeria* within the Phyllachoraceae (Phyllachorales, Sordariomycetes), mainly due to the lack of molecular data available for a re-evaluation of this relationship (Lumbsch and Huhndorf 2010; Maharachchikumbura et al. 2015, 2016; Mardones et al. 2017).

Molecular data has contributed to the rearrangement of several taxa among the Sordariomycetes, including members within the family Phyllachoraceae. *Glomerella* Spauld. and H. Schrenk and its asexual state *Colletotrichum* Corda, for example, were excluded based on molecular studies, although both had long been considered to be outliers within the Phyllachoraceae due to their non-stromatic nature (Cannon 1991). Their phylogenetic position within the Hypocreomycetidae and separation at the ordinal rank were confirmed based on molecular data (Zhang et al. 2006; Reblová et al. 2011; Cannon et al. 2012). The type genus

of the Phyllachoraceae (*Phyllachora*) and *Polystigma* proved both to be polyphyletic (Santos et al. 2016; Habibi et al. 2015; Mardones et al. 2017), reinforcing previous morphological studies (Cannon 1996, 1997; Pearce and Hyde 2006).

As traditional rank delimitation can be somewhat arbitrary, it is therefore desirable to adopt a standardized, objective and biologically informative criterion for taxonomic delimitation (Hennig 1966; Avise and Johns 1999). Hence, several authors have employed divergence time estimates and the study of lineage evolutionary history as criteria to minimize the effects of arbitrary taxonomic systems (Gueidan et al. 2011; Prieto and Wedin 2013; Beimforde et al. 2014; Takamatsu et al. 2015; Pérez-Ortega et al. 2016; Zhao et al. 2016; Hongsanan et al. 2017; Hyde et al. 2017). In this context, the main objective of this study was to elucidate the phylogenetic position of *A. guaranitica*, reinforced by the estimation of its divergence time using a molecular clock approach.

MATERIALS AND METHODS

Morphological studies – Examined exsiccates of *A. guaranítica* from seven Brazilian States (FIG. 1, Supplementary Table 1) are part of the Mycological Collection sustained by the Herbarium Universidade de Brasília (MCHUB) Brasília, Distrito Federal, Brazil. For morphological characterization, specimens were initially observed using a Leica 205C model stereomicroscope. Selected material sectioned using a Leica CM 1850 freezing microtome, yielded 20–30 µm thick sections to be placed on slides containing colorless lactoglycerol and visualized on a Leica DM 2500 microscope coupled to a Leica DFC 490 digital camera, using Nomarski interference microscopy. Size estimations for all structural components were based on at least 20 measurements when possible. Comparisons with type descriptions were conducted using Spegazzini's original drawings which has a equivalent value to the type of *A. guaranítica*, as reproduced by Arambarri et al (2017), given the unavailability of type specimens defined in the author's original description (Spegazzini 1885).

DNA extraction, amplification and sequencing – Genomic DNA extraction was performed from material in the ascomata, and from cirri extruded by the asexual state, using a Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA), following the manufacturer's instructions. DNA quality analysis and quantification was conducted by comparison to a Low DNA Mass Ladder (Invitrogen, CA, USA) following electrophoresis in 1% agarose gels. PCR amplifications were performed on a DNA Engine (PTC-200) Peltier Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, CA, USA).

Five partial nuclear gene sequences (three ribosomal and two protein-coding genes) were amplified and sequenced: the nuclear small subunit ribosomal DNA (*nuc 18S rDNA*), amplified with primers NS1 and NS4 (White et al. 1990); the nuclear large subunit ribosomal DNA (*nuc 28S rDNA*) and the nuclear internal transcribed spacer (*nuc ITS1–5.8S–ITS2 rDNA*), amplified with primers V9G (de Hoog and van den Ende 1998), LR5 (Vilgalys and

Hester 1990) and ITS4 (White et al. 1990); the second largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*), amplified with primers 5F2 (Sung et al. 2007) and 7cR (Liu et al. 1999); and the translation elongation factor 1 (*TEF1*), amplified with primers EF1–938F and EF1–2218R (Rehner and Buckley 2005).

PCR thermocycling was performed following DNA denaturation at 94 C for 1 min 30 s; 35 cycles of DNA denaturation at 94 C for 30 s, primer annealing 53 C (*18S*, *28S* and *ITS*), 56 C (*TEF1*) and 57 C (*RPB2*) for 30 s and extension at 72 C for 45 s, and a final extension at 72 C for 5 min, followed by storage at 10 C. PCR products were checked on 1.0 % agarose gels and purified with ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup (Affymetrix Inc.).

Sequencing was performed at Macrogen Inc. USA (<http://www.macrogen.com>). Eletropherograms were manually checked and ambiguous positions were clarified considering forward and reverse sequences. Newly generated sequences were assembled and annotated using the program GENEIOUS 9.0.5 (Kearse et al. 2012) and deposited in GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Table 1).

Taxa sampling and alignment – The phylogenetic position of *Apiosphaeria* was investigated in three steps. An initial exploratory analysis using the dataset of Mardones et al. (2017) served as a guide-tree to further phylogenetic reconstructions. This set includes *18S*, *28S* and *RPB2* sequences for sixty four taxa of Sordariomycetes. A second analysis utilized a four gene sequence matrix of *28S*, *ITS*, *RPB2* and *TEF1* for specimens of *A. guaranitica* and sixty-seven specimens representing the Diaporthales (Senanayake et al. 2017). A third step was conducted using a reduced matrix containing *28S* and *ITS* sequences for forty-four specimens, constructed in order to reveal the generic position of *Apiosphaeria*. In the three cases the sequences were obtained from GenBank, except for our new ones from *Apiosphaeria*.

Nucleotide sequences of ribosomal markers were aligned using the E-INS-i method (built in MAFFT 7.305, Katoh and Standley 2013) and manually checked in ALIVIEW (Larsson 2014). Coding sequences of *RPB2* and *TEF1* were aligned with Multiple Alignment of

Coding Sequences (MASCE) (Ranwez et al. 2011). Assignment of codon position was confirmed by translating nucleotide sequences into predicted amino acids, checking for the absence of stop-codons and comparison with annotated *RPB2* reference sequences of *Neurospora crassa* AF107789, *Podospira anserina* AF107790, and *Chaetomium elatum* AF107791 (Liu et al. 1999), and for *TEF1* sequences belonging to *Trichoderma reesei* Z23012 (Nakari et al 1993).

Leotia lubrica was selected as outgroup for the exploratory analysis, following Mardones et al. (2017). *Calosphaeria africana*, *C. pulchella*, *Jaataea mucronata* and *Phaeoacremonium vibratilis* were selected as outgroups for the normal matrix (Senanayake et al. 2017) and *Cytospora nivea* and *C. centrivillosa* as outgroups in the analyses with reduced matrix. All sequences downloaded from Genbank, together with newly generated sequences are shown in Table 1. For all other analyses, a matrix of ITS was partitioned in *ITS1*–*5.8S*–*ITS2*, and matrices of *RPB2* and *TEF1* were partitioned in 1st, 2nd and 3rd codon positions.

Phylogenetic analysis – Maximum Likelihood (ML) analysis was performed using RAXML 8.2.9 (Stamatakis 2014), starting with a randomized stepwise addition parsimony tree under a GTR+GAMMA model. Branch support values were calculated using 1000 bootstrapping (BS) replicates under the same model. Bayesian Inference (BI) was performed using MRBAYES 3.2.6 (Ronquist and Huelsenbeck 2003), using the 4by4 mode of the GTR model for all partitions. Two independent chains were run, each one initiating from random trees and four simultaneous independent chains at 1×10^6 generations. Trees were sampled every 1000th generation. Four rate categories were used to approximate the gamma distribution. Average standard deviation of split frequencies (ASDSF) were checked as a chain convergence criterion. A total of 25% of all sampled trees were discarded as burn-in, while the remaining 75% employed to estimate the Bayesian Posterior Probabilities (BPP) for branches. Both MRBAYES and RAXML were conducted using the CIPRES Science Gateway 3.1 (Miller et al. 2010).

Diverging time estimates – The concatenated dataset of *28S*, *ITS*, *RPB2* and *TEF1* sequences was used to estimate the divergence time of the Diaporthales lineages. Branch ages were modeled using the uncorrelated lognormal relaxed clock (Drummond et al. 2006; Lepage et al. 2007), specifying a gamma distribution for the *ulcd.mean* parameter with a shape of 1.0, scale of 0.003, and offset of 0.0, with unlinked rates for Clock and Substitution models. The reversible jump algorithm (Green 1995) was selected to estimate the substitution rates. Divergence times were estimated using BEAST2 2.4 (Bouckaert et al. 2014). All .xml files were generated on BEAUTI (Drummond et al. 2012).

Molecular clock ages for the Diaporthales nodes were estimated using two calibration strategies. The first of these comprised fossil-calibration (FC) estimates based on the Canadian perithecial ascomycete *Spataporthe taylori*, which represents the oldest record of Diaporthales, originating 136 million years ago (MYA) during the early Cretaceous period (Bronson et al. 2013). This fossil shows characteristic traits of Diaporthales as immersed perithecia with a complex wall structure, well-defined hymenium, and paraphysate persistent inoperculate asci which become detached from the hymenium to float freely in the perithecia. We specified the gamma distribution as prior for stems of Diaporthales using the soft bound approach (scale of 50) and offset age of 136 MYA. The second calibration strategy comprised a secondary-calibration (SC) based on the split age of Calosphaeriales, Diaporthales, Jobellisiales, and Togniniales, estimated at between 130–188 MYA (Hyde et al. 2017). Here, we specified a uniform distribution (hard bound) with 130 and 188 MYA as minimum and maximum ages, respectively, for the Diaporthales stem.

Independent Monte Carlo Markov Chains were run (4 and 6 chains for Uniform and Gamma priors respectively), with 5×10^6 generations, logging every 1000 generations. Adequacy of effective sample sizes were evaluated using TRACER 1.6 (Rambaut et al. 2014). A summary of ultrametric maximum clade credibility (MCC) was performed using TREEANNOTATOR 2.4 (Bouckaert et al. 2014). A total of 15% of sampled trees were discarded

as burn-in, and only branches that received high phylogenetic support (posterior ≥ 0.99) were included in the credible interval of node age estimation (95% HPD). The .xml data files are available as supplementary files 1 and 2.

Tabela 13. GenBank accession numbers of materials included in the phylogenetic analyses of Sordariomycetes, Diaporthales, and Diaporthaceae phylogenetic analyses and divergente time estimations.

ORDER Specimen (analysis)	Voucher/strain	Host (Locality)	<i>nrSSU</i>	<i>nrITS</i>	<i>nrLSU</i>	<i>RPB2</i>	<i>TEF1-α</i>
BOLINIALES							
<i>Camarops microspora</i> (a)	CBS 64992		DQ471036		AY083821	DQ470937	
<i>Camarops ustulinoides</i> (a)	DEH 2164		DQ470989		DQ470941	DQ470882	
CALOSPHERIALES							
<i>Calosphaeria africana</i> (b,d)	STEU 6182			NR_135945	EU367455		
<i>Calosphaeria pulchella</i> (a,b,d)	CBS 115999	<i>Prunus</i> sp.		EU367451	AY761075	GU180661	
<i>Jattaea mucronata</i> (b,d)	MFLUCC 160534	<i>Rhizophora mucronata</i> (Thailand)		KY034452	KY034451	KY039317	
CORDANALES							
<i>Papulosa amerospora</i> (a)	JK 5547F		DQ470998		DQ470950	DQ470901	
DIAPORTHALES							
<i>Alnecium auctum</i> (b,d)	CBS 124263	<i>Alnus glutinosa</i> (Austria)		KF570154	KF570154	KF570170	KF570200
<i>Ambarignomonium petiolorum</i> (b,d)	CBS 121227	<i>Liquidambar styraciflua</i> (USA: VA)		EU254748	EU255070	EU219307	EU221898
<i>Amphiporthe hranicensis</i> (b,d)	CBS 119289	<i>Tilia platyphyllos</i> (Austria)		EU199178	EU199122	EU199137	
<i>Apiognomonium errabunda</i> (b,d)	AR 2813	<i>Fagus sylvatica</i> (Switzerland)		DQ313525	NG027592	DQ862014	DQ313565
• <i>Apiosphaeria guaranitica</i> (a,b,c,d)	UB23795	<i>Handroanthus ochraceus</i> (Brazil)	MG584635	MG573333	MG573333	MG573316	MG573325
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (a,b,c)	CDUB247	<i>Handroanthus serratifolius</i> (Brazil)	MG584629	MG573327	MG573327	MG573309	MG573318
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (b,c)	CDUB247 asx	<i>Handroanthus serratifolius</i> (Brazil)		MG573328	MG573328		
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (a,b,c)	UB22757	<i>Handroanthus serratifolius</i> (Brazil)	MG584631		MG573335	MG573311	MG573319
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (b,c)	UB22757 asx	<i>Handroanthus serratifolius</i> (Brazil)			MG573336		
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (a,b,c,d)	UB23393	<i>Handroanthus</i>	MG584632	MG573329	MG573329	MG573312	MG573320

ORDER Specimen (analysis)	Voucher/strain	Host (Locality)	<i>nrSSU</i>	<i>nrITS</i>	<i>nrLSU</i>	<i>RPB2</i>	<i>TEF1-α</i>
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (b,c)	UB23518	<i>ochraceus</i> (Brazil) <i>Handroanthus</i>		MG573330	MG573330	MG573313	MG573322
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (a,b,c)	UB23561	<i>ochraceus</i> (Brazil) <i>Handroanthus</i>	MG584633	MG573331	MG573331	MG573314	MG573323
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (b,c)	UB23561 asx	<i>ochraceus</i> (Brazil) <i>Handroanthus</i>		MG573332	MG573332		
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (a,c)	UB23750	<i>ochraceus</i> (Brazil) <i>Handroanthus</i>	MG584634			MG573315	MG573324
<i>Apiosphaeria guaranitica</i> (a,b,c)	UB23801	<i>ochraceus</i> (Brazil) <i>Handroanthus</i>	MG584636	MG573334	MG573334	MG573317	MG573326
<i>Celoporthe dispersa</i> (b,d)	CMW 9978	<i>Syzygium cordatum</i> (South Africa)		AY214316	HQ730854		HQ730841
<i>Celoporthe eucalypti</i> (b,d)	CMW 26913	<i>Eucalyptus EC48 clone</i> (China)		HQ730839	HQ730865		HQ730852
<i>Chaetoconis polygoni</i> (c)	CBS 405.95	<i>Polygonum</i> <i>sachalinense</i> (Netherlands)			EU754141		
<i>Chaetoconis polygoni</i> (b,c,d)	MFLU 170965	<i>Rumex acetosa</i> (Germany)			MF190063		
<i>Chiangraiomyces bauhiniae</i> (b,c,d)	MFLUCC 17 1669	<i>Bauhinia</i> sp. (Thailand)		MF190119	MF190064	MF377603	MF377598
<i>Chiangraiomyces bauhiniae</i> (c)	MFLUCC 17 1670	<i>Bauhinia</i> sp. (Thailand)		MF190118	MF190065	MF377604	MF377599
<i>Chromendothia citrina</i> (b,d)	AR 3445	<i>Quercus mongolica</i> (Russia)			EU255074	EU219342	EU222013
<i>Chrysoporthe cubensis</i> (b,d)	CMW 14394	<i>Eucalyptus</i> sp. (Colombia)		JN942342	JN940856		GQ290137
<i>Coniella africana</i> (b,d)	CBS 114133	<i>Eucalyptus nitens</i> (South Africa)		AY339344	AY339293	KX833421	KX833600
<i>Coniella koreana</i> (b,d)	CBS 14397	unknown (South Korea)		KX833584		KX833490	KX833684
<i>Coniella australiensis</i> (b,d)	IMI 261318	<i>Leaf litter</i> (South Africa)		AF408336	AF408336	KX833497	KX833692
<i>Coniella fragariae</i> (b,d)	CBS 110394	<i>Forest soil</i> (Peru)		KJ710463	KJ710441	KX833499	KX833695
<i>Coniella straminea</i> (b,d)	CBS 14922	<i>Fragaria</i> sp. (USA)		AY339348	AY339296	KX833506	AY339366
<i>Coniella tibouchinae</i> (b,d)	CPC 18511	<i>Tibouchina granulosa</i> (Brazil)		JQ281774	JQ281776	KX833507	JQ281778
<i>Coniella wangiensis</i> (b,d)	CPC 19397	<i>Eucalyptus</i> sp.		JX069873	JX069857	KX833509	KX833705

ORDER Specimen (analysis)	Voucher/strain	Host (Locality)	<i>nrSSU</i>	<i>nrITS</i>	<i>nrLSU</i>	<i>RPB2</i>	<i>TEF1-α</i>
<i>Coryneum arausiaca</i> (b,d)	MFLUCC 15 1110	(Australia) <i>Quercus</i> sp. (Italy)		MF190121	MF190067	MF377610	MF377575
<i>Cryphonectria parasitica</i> (a)	ATCC 38755		L42441		EU199123		
<i>Cryptodiaporthe aesculi</i> (b,d)	AR 3580	<i>Aesculus</i> <i>hippocastanum</i> (Austria)		EU199179	AF408342	EU199138	
<i>Cryptosporella hypodermia</i> (b,d)	CBS 116866	<i>Ulmus minor</i> (Austria)		EU199181	AF408346	EU199140	
<i>Cryptosporella suffusa</i> (b,d)	CBS 121077	<i>Alnus incana</i> (Austria)		EU199184	EU199124	EU199142	
<i>Cytospora centrivillosa</i> (b,c,d)	MFLUCC 17 1660	<i>Sorbus domestica</i> (Italy)		MF190123	MF190069	MF377601	
<i>Cytospora chrysosperma</i> (b,d)	CFCC 89630	<i>Salix psammophila</i> (China)		KF765674	KF765690	KF765706	
<i>Cytospora hippophaes</i> (b,d)	CFCC 89640	<i>Hippophae rhamnoides</i> (China)		KF765682	KF765698	KF765714	KP310865
<i>Cytospora junipericola</i> (b,d)	BBH 42444	<i>Juniperus communis</i> (Italy)		MF190126	MF190071		MF377579
<i>Cytospora nivea</i> (b,c,d)	CFCC 89643	<i>Salix psammophila</i> (China)		KF765685	KF765701	KF765717	
<i>Cytospora sacculus</i> (b,d)	CFCC 89625	<i>Juglans regia</i> (China)		KR045646	KR045725		KP310861
<i>Diaporthe cynaroidis</i> (c)	CBS 122676	<i>Protea cynaroides</i> (South Africa)		KC343058	EU552122		
<i>Diaporthe cassines</i> (b,c,d)	CBS 136440	<i>Cassine peragua</i> (South Africa)		KF777155	KF777208	KF777244	
<i>Diaporthe decedens</i> (c)	CBS 114281	<i>Corylus avellana</i> (Sweden)		KC343060			
<i>Diaporthe eres</i> (b,d)	MFLUCC 14 0862	<i>Catalpa bignonioides</i> (Russia)		MF190135	MF190082		MF377596
<i>Diaporthe eres</i> (c)	MFLUCC 17 1667	<i>Fraxinus pennsylvanica</i> (Russia)		MF190137	MF190080		MF377594
<i>Diaporthe eres</i> (b,c,d)	MFLUCC 17 1668	<i>Fraxinus pennsylvanica</i> (Russia)		MF190138	MF190081		MF377595
<i>Diaporthe eres</i> (c)	PS57	<i>Glycine max</i> (Serbia)		JF430494	JF704176		
<i>Diaporthe litoricola</i> (c)	GJ 242	unknown (United Kingdom)		MF190139	MF190086		

ORDER	Voucher/strain	Host (Locality)	nrSSU	nrITS	nrLSU	RPB2	TEF1-α
Specimen (analysis)							
<i>Diaporthe litoricola</i> (c)	MFLU 17-0874	unknown (United Kingdom)		MF190140	MF190087		
<i>Diaporthe maytenicola</i> (c)	CPC 21896	<i>Maytenus acuminatavar. acuminata</i> (South Africa)		KF777157	KF777210		
<i>Diaporthe rudis</i> (c)	CBS 113201	<i>Vitis vinifera</i> (Portugal)		KC343234			
<i>Diaporthe rudis</i> (c)	GJ 301	unknown (United Kingdom)		MF190143	MF190084		
<i>Diaporthe rudis</i> (b,c,d)	IT 1526	<i>Acer campestre</i> (Italy)		MF190141	MF190088		MF377576
<i>Diaporthe rudis</i> (c)	MFLU 17 0895	<i>Acer campestre</i> (Italy)		MF190142	MF190089		MF377577
<i>Diaporthe rudis</i> (c)	MFLU 17-0895	unknown (United Kingdom)		MF190144	MF190085		
<i>Discula destructiva</i> (b,d)	CBS 109771	<i>Cornus nuttallii</i> (USA)		EU199186	AF408359	EU199144	
<i>Ditopella biseptata</i> (b,d)	MFLU 17 0884	<i>Alnus glutinosa</i> (Italy)		MF190148	MF190090	MF377617	
<i>Ditopella ditopa</i> (b,d)	CBS 109748	<i>Alnus glutinosa</i> (Austria)		DQ323526	EU199126	EU199145	
<i>Ditopellopsis sp.</i> (b,d)	CBS 121471	<i>Clethra alnifolia</i> (USA)		EU254763	EU255088	EU219254	EU221936
<i>Gnomonia gnomon</i> (b,d)	CBS 19953	<i>Corylus avellana</i> (Italy)		DQ491518	AF408361	EU219295	EU221885
<i>Gnomoniopsis racemula</i> (b,d)	AR 3892	<i>Epilobium angustifolium</i> (USA)		EU254841	EU255122	EU219241	EU221889
<i>Hyaliappendispora galii</i> (c)	IT 2925	<i>Galium</i> (Italy)		MF190149	MF190094		
<i>Hyaliappendispora galii</i> (b,c,d)	MFLUCC 161208	<i>Galium sp.</i> (Italy)		MF190150	MF190095		
<i>Juglanconis juglandina</i> (b,d)	D96	<i>Juglans regia</i> (Austria)		KY427145	KY427145	KY427195	KY427214
<i>Juglanconis oblonga</i> (b,d)	MAFF 410216	<i>Juglans ailanthifolia</i> (Japan)		KY427153	KY427153	KY427203	KY427222
<i>Juglanconis pterocaryae</i> (b,d)	MAFF 410079	<i>Pterocarya rhoifolia</i> (Japan)		KY427155	KY427155	KY427205	KY427224
<i>Lamproconium desmazieri</i> (b)	MFLUCC 15 0870	<i>Tilia sp.</i> (Russia)		KX430134	KX430135	MF377605	MF377591
<i>Mazzantia napelli</i> (b,c,d)	AR 3498	<i>Aconitum lycoctonum</i> (Austria)			AF408368	EU219345	EU222017
<i>Melanconiella chrysomelanconium</i> (b,d)	MFLU 17 0879	<i>Carpinus betulus</i> (Italy)		MF190167	MF190113	MF377619	
<i>Melanconiella ellisii</i> (b,d)	BPI 878343	<i>Carpinus caroliniana</i>		JQ926271		JQ926339	JQ926406

ORDER	Voucher/strain	Host (Locality)	<i>nrSSU</i>	<i>nrITS</i>	<i>nrLSU</i>	<i>RPB2</i>	<i>TEF1-α</i>
Specimen (analysis)							
<i>Melanconis alni</i> (b,d)	AR 3500	<i>Alnus viridis</i> (Austria)			AF408371	EU219300	EU221896
<i>Melanconis marginalis</i> (b,d)	AR 3442	<i>Alnus rubra</i> (Canada)		EU199197	AF408373	EU219301	EU221991
<i>Microascospora rubi</i> (b,d)	MFLU 17 0886	<i>Rubus ulmifolia</i> (Italy)		MF190154	MF190098	MF377611	MF377581
<i>Microascus trigonosporus</i> (a)	CBS 218.31	unknown (Puerto Rico)			JQ434679		
<i>Occultocarpon ailaoshanense</i> (b,d)	LCM 52201	<i>Alnus nepalensis</i> (China)		JF779848	JF779852	JF779857	JF779862
<i>Ophiodiaporthe cyatheae</i> (b,c,d)	YMJ 1364	<i>Cyathea lepifera</i> (Taiwan)		JX570889	JX570891	JX570893	KC465406
<i>Ophiognomonium melanostyla</i> (b,d)	LCM 38901	<i>Tilia cordata</i> (Germany)		JF779850	JF779854	JF779858	
<i>Ophiognomonium vasiljevae</i> (b,d)	AR 4298	<i>Juglans nigra</i> (USA)		EU254977	EU255162	EU219331	EU221999
<i>Paradiaporthe artemisiae</i> (c)	IT 1982	<i>Artemisia</i> (Italy)		MF190155	MF190100		
<i>Paradiaporthe artemisiae</i> (c)	MFLU 17-0886	<i>Artemisia</i> (Italy)		MF190156	MF190101		
<i>Phaeoappendicospora thailandensis</i> (b,d)	MFLUCC 17 1762	<i>Quercus</i> sp. (Italy)		MF190158	MF190103	MF377614	
<i>Phaeocytophthora ambiguum</i> (b,c,d)	CPC 17077	<i>Zea mays</i> (South Africa)		FR748041	FR748100		FR748073
<i>Phaeocytophthora ambiguum</i> (c)	CPC:17078	<i>Zea mays</i> (South Africa)		FR748044	FR748101		
<i>Phaeodiaporthe appendiculata</i> (c)	D76	<i>Acer campestre</i> (Austria)		KF570155	KF570155		
<i>Phaeodiaporthe appendiculata</i> (c)	D77	<i>Acer campestre</i> (Austria)		KF570156	KF570156		
<i>Pleuroceras pleurostylum</i> (b,d)	CBS 90679	<i>Salix helvetica</i> (Switzerland)		EU255061	EU255197	EU219311	EU221962
<i>Pleuroceras tenellum</i> (b,d)	CBS 121082	<i>Acer rubrum</i> (USA)		EU199199	EU255202	EU199155	EU221907
<i>Pseudoplagiostoma eucalypti</i> (b,d)	CPC 14161	<i>Eucalyptus</i> <i>camaldulensis</i> (Vietnam)		GU973510	GU973604		GU973540
<i>Pseudoplagiostoma oldii</i> (b,d)	CBS 115722	<i>Eucalyptus</i> <i>camaldulensis</i> (Australia)		GU973535	GU973610		GU973565
<i>Pseudoplagiostoma variabile</i> (b,d)	CBS 113067	<i>Eucalyptus globulus</i> (Uruguay)		GU973536	GU973611		GU973566
<i>Pustulomyces bambusicola</i> (c)	MFLUCC 11-0436	<i>Bamboo</i> (Thailand)		KF806752	KF806753		

ORDER	Voucher/strain	Host (Locality)	nrSSU	nrITS	nrLSU	RPB2	TEF1-α
Specimen (analysis)							
<i>Sirococcus tsugae</i> (b,d)	AR 4010	<i>Cedrus deodara</i> (USA)		EF512478	EU255207	EU219289	EU221928
<i>Stegonsporium acerophilum</i> (b,d)	CBS 117025	<i>Acer saccharum</i> (USA)		EU039982	EU039993	KF570173	EU040027
<i>Stenocarpella macrospora</i> (c)	CBS 117560	<i>Zea mays</i> (South Africa)		FR748048	EU754219		
<i>Stenocarpella maydis</i> (c)	CBS 117559	<i>Zea mays</i> (South Africa)		FR748052	DQ377937		
<i>Stilbospora macrosperma</i> (b,d)	CBS 121883	<i>Carpinus betulus</i> (Austria)		JX517290	JX517299	KF570196	
<i>Valsa ambiens</i> (a)	AR 3516	<i>Fagus sylvatica</i> (Austria)			EU255208	EU219347	
<i>Valsella salicis</i> (b,d)	AR 3514	<i>Salix fragilis</i> (Italy)			EU255210	EU219346	EU222018
FALCOCLADIALES							
<i>Falcocladium multivesiculatum</i> (a)	CBS 120.386		JF831928		JF831932		
<i>Falcocladium sphaeropedunculatum</i> (a)	CBS 111.292		JF831933		JF831929		
GLOMERELLALES							
<i>Glomerella cingulata</i> (a)	CBS 114.054		AF543762		AF543786	DQ522441	
<i>Kylindria peruamazonensis</i> (a)	CBS 838.91		GU180609		GU180638	GU180656	
<i>Monilochaetes infuscans</i> (a)	CBS 869.96		GU180620		GU180639	GU180657	
<i>Verticillium dahliae</i> (a)	ATCC 165.35		AY489705		DQ470945	DQ522468	
HYPOCREALES							
<i>Balansia henningsiana</i> (a)	AEG96 27a		AY489683		AY489715	DQ522413	
<i>Bionectria ochroleuca</i> (a)	AFTOL ID187		DQ862044		DQ862027	DQ862013	
<i>Cordyceps cardinalis</i> (a)	OSC 93610		AY184974		AY184963	EF469106	
<i>Hypocrea lutea</i> (a)	ATCC 208.838		AF543768		AF543791	DQ522446	
<i>Ophiocordyceps irangiensis</i> (a)	OSC 128578		DQ522556		DQ518770	DQ522445	
<i>Roumegueriella rufula</i> (a)	GJS 91-164		EF469129		EF469082	EF469116	
<i>Sphaerodothis acrocomiae</i> (a)			AF543770		U00756	DQ522465	
<i>Sphaerostilbella berkeleyana</i> (a)	CBS 102.308		AF543770		U00756	DQ522465	
<i>Tolypocladium capitatum</i> (a)	OSC 71233		AY489689		AY489721	DQ522421	
<i>Tolypocladium japonica</i> (a)	OSC 110991		DQ522547		DQ518761	DQ522428	
INCERTAE SEDIS							
<i>Polystigma amygdalinum</i> (a)	EAI		KM111539		KM111540		
LEOTIALES							

ORDER	Voucher/strain	Host (Locality)	nrSSU	nrITS	nrLSU	RPB2	TEF1-α
Specimen (analysis)							
<i>Leotia lubrica</i> (a)	Spat 03 012				NG027596		
MAGNAPORTHALES							
<i>Buergenerula spartinae</i> (a)	ATCC 22848		DQ341471		DQ341492		
<i>Ophioceras dolichostomum</i> (a)	CBS 114926		JX134663		JX134689		
<i>Ophioceras leptosporum</i> (a)	CBS 89470		JX134664		JX134690		
<i>Pseudohalonectria lignicola</i> (a)	M95		JX134665		JX134691		
MELANOSPORALES							
<i>Melanospora tiffanii</i> (a)	ATCC 155.15		AY015619		AY015630	AY015637	
<i>Melanospora zamiae</i> (a)	ATCC 123.40		AY046578		AY046579	AY046580	
MICROASCALES							
<i>Aniptodera chesapeakeensis</i> (a)	ATCC 328.18		U46870		U46882	DQ470896	
<i>Graphium penicillioides</i> (a)	CBS 506.86		DQ471038		AF027384	DQ470938	
<i>Halosphaeria appendiculata</i> (a)	CBS 197.60		U46872		U46885		
OPHIOSTOMATALES							
<i>Ophiostoma piliferum</i> (a)	CBS 15874		DQ471003		DQ470955	DQ470905	
<i>Ophiostoma stenoceras</i> (a)	CBS 13951		DQ836897		DQ836904	DQ836891	
PHYLLACHORALES							
<i>Camarotella costaricensis</i> (a)	MM 149	<i>Acrocomia aculeata</i> (Panama)	KX451863		KX430484	KX451954	
<i>Cocoicola californica</i> (a)	F59038	<i>Washingtonia robusta</i> (USA)	KX451866		KX430468	KX451958	
<i>Phyllachora graminis</i> (a)	MM 166	<i>Hordelymus europaeus</i> (Germany)	KX451869			KX451962	
<i>Phyllachora graminis</i> (a)	TH544	<i>Dichantherium viscidellum</i> (Panama)	KX451873		KX430508		
<i>Serenomyces phoenicis</i> (a)	PLM315	<i>Phoenix canariensis</i> (USA)	KX451868			KX451960	
<i>Serenomyces phoenicis</i> (a)	PLM314	<i>Phoenix canariensis</i> (USA)	KX451886		KX430505	KX451961	
<i>Telimena bicincta</i> (a)	MM 133		KX451861		KX430478	KX451950	
SORDARIALES							
<i>Bombardia bombardia</i> (a)	SMH 3391		DQ470970		DQ471021	DQ470923	
<i>Gelasinospora tetrasperma</i> (a)	CBS 17833		DQ471032		DQ470980	DQ470932	
<i>Lasiosphaeria ovina</i> (a)	CBS 95872		AY083799		AY587946	AY600286	

ORDER	Voucher/strain	Host (Locality)	<i>nrSSU</i>	<i>nrITS</i>	<i>nrLSU</i>	<i>RPB2</i>	<i>TEF1-a</i>
Specimen (analysis)							
<i>Sordaria fimicola</i> (a)	CBS 155973		AY545724		AY545728	AY780194	
<i>Sordaria macrospora</i> (a)	AFTOL ID393		AY641007		AY346301	AY641074	
TOGNINIALES							
<i>Phaeoacremonium vibratile</i> (b,d)	CBS 117115	<i>Fagus sylvatica</i> (France)		KF764573	DQ649065	HQ878611	KF764645
XYLARIALES							
<i>Diatrype disciformis</i> (a)	CBS 197.49		DQ471012		DQ470964	DQ470915	
<i>Eutypa lata</i> (a)	CBS 208.87		DQ836896		DQ836903	DQ836889	
<i>Ophiodothella vaccinii</i> (a)	ATCC 363.33						
<i>Xylaria acuta</i> (a)	ATCC 564.87		AY544719		AY544676	DQ247797	

Letters within parentheses indicate the analysis that the specimen was included: **a**, Sordariomycetes. **b**, Diaporthales. **c**, Diaporthaceae. **d**, Molecular clock. Dot (●) highlights the specimen here designated as epitype of *A. guaranitica*. Suffix "asx" denotes sequences generated from cirrus of asexual state of *A. guaranitica*.

RESULTS

Nucleotide matrix descriptions – The nucleotide matrix of Sordariomycetes including 28S, ITS, and RPB2 and TEF1 contained 3292 aligned positions, including gaps, with 1845 variable sites, of which 1279 were parsimony informative (69.3% of variable positions). The Diaporthales nucleotide matrix contained 3974 aligned positions, including gaps, with a total of 1650 variable sites. Here, 1295 were parsimony informative (78.5%). A concatenated matrix of 28S and ITS sequences for the Diaporthaceae contained 1544 aligned positions, with 403 variable and 352 parsimony informative (87.3% of variable sites).

Phylogenetic analyses – The exploratory analysis of the Sordariomycetes revealed the natural placement of *Apiosphaeria* within Diaporthales (FIG. 2). In the phylogenetic analysis including representatives of all families of Diaporthales (FIG. 3), *A. guaranitica* was resolved as monophyletic in both ML and BI analysis (BS: 100, BPP: 1.00), forming a well-supported clade with members of the Diaporthaceae (BS: 100, BPP: 1.00). Although our results identified the common ancestor of *Apiosphaeria* within the Diaporthaceae, the generic position of the *Apiosphaeria* lineage remains unclear. Our analysis including only diaporthaceous members (FIG. 4) did not support the congeneric proximity of *Apiosphaeria* with other sequenced genus representatives. The nucleotide matrix and phylogenetic trees of the Sordariomycetes, Diaporthales and Diaporthaceae are available in TreeBASE (<http://purl.org/phylo/treebase/phyloids/study/TB2:S21934>): study accession number TB#21934.

Molecular clock analyses – Effective sample size of prior, likelihood and posterior probability received adequate values for FC (227, 11192 and 7760, respectively) and for SC analysis (2002, 7534 and 4286, respectively). The MCC trees generated in both analyses showed similar results for topological relationship and TMRCA of Diaporthales internal nodes, and were combined in FIG. 5. The mean ages for TMRCA of Diaporthales calibration

points of FC and SC analyses were 155.38 MYA (95% HPD: 137 and 203 MYA) and 156.92 MYA (95% HPD: 130 and 184 MYA), respectively (FIG. 5).

Tabela 14. Estimated time for most recent common ancestor (TMRCA) and 95% highest posterior density (HPD) ranges for clades corresponding to families of Diaporthales.

Order/Family	Fossil calibration (gamma prior)		Secondary calibration (uniform prior)	
	TMRCA crown groups (mean)	TMRCA crown groups (95% HPD)	TMRCA crown groups (mean)	TMRCA crown groups (95% HPD)
Diaporthales				
Coryneaceae	-	-	-	-
Cryphonectriaceae	30.36	(11.6 – 49.2)	29.56	(13.7 – 50.0)
Cystosporaceae	35.98	(15.6 – 56.4)	35.10	(18.8 – 57.6)
Diaporthaceae	61.15	(29.7 – 89.9)	60.63	(34.8 – 91.7)
Gnomoniaceae	43.64	(22.9 – 61.1)	43.15	(27.1 – 62.4)
*Junglaconidaceae	4.73	(1.2 – 8.9)	4.32	(1.4 – 9.3)
Lamproconiaceae	-	-	-	-
*Melanconidaceae	8.15	(1.3 – 16.6)	7.08	(1.7 – 16.6)
Melanconiellaceae	45.75	(17.7 – 71.9)	43.89	(19.8 – 74.4)
*Pseudoplagiostomataceae	3.04	(0.5 – 6.5)	2.67	(0.6 – 6.5)
Schizoparmaceae	32.73	(14.6 – 49.9)	31.87	(17.1 – 50.3)
Stilbosporaceae	38.48	(9.4 – 71.2)	36.36	(10.8 – 75.3)
Calosphaeriales				
Calosphaeriaceae	52.84	(19.8 – 84.3)	51.18	(23.3 – 86.8)
Togniniales				
Togniniaceae	-	-	-	-

* monogeneric families.

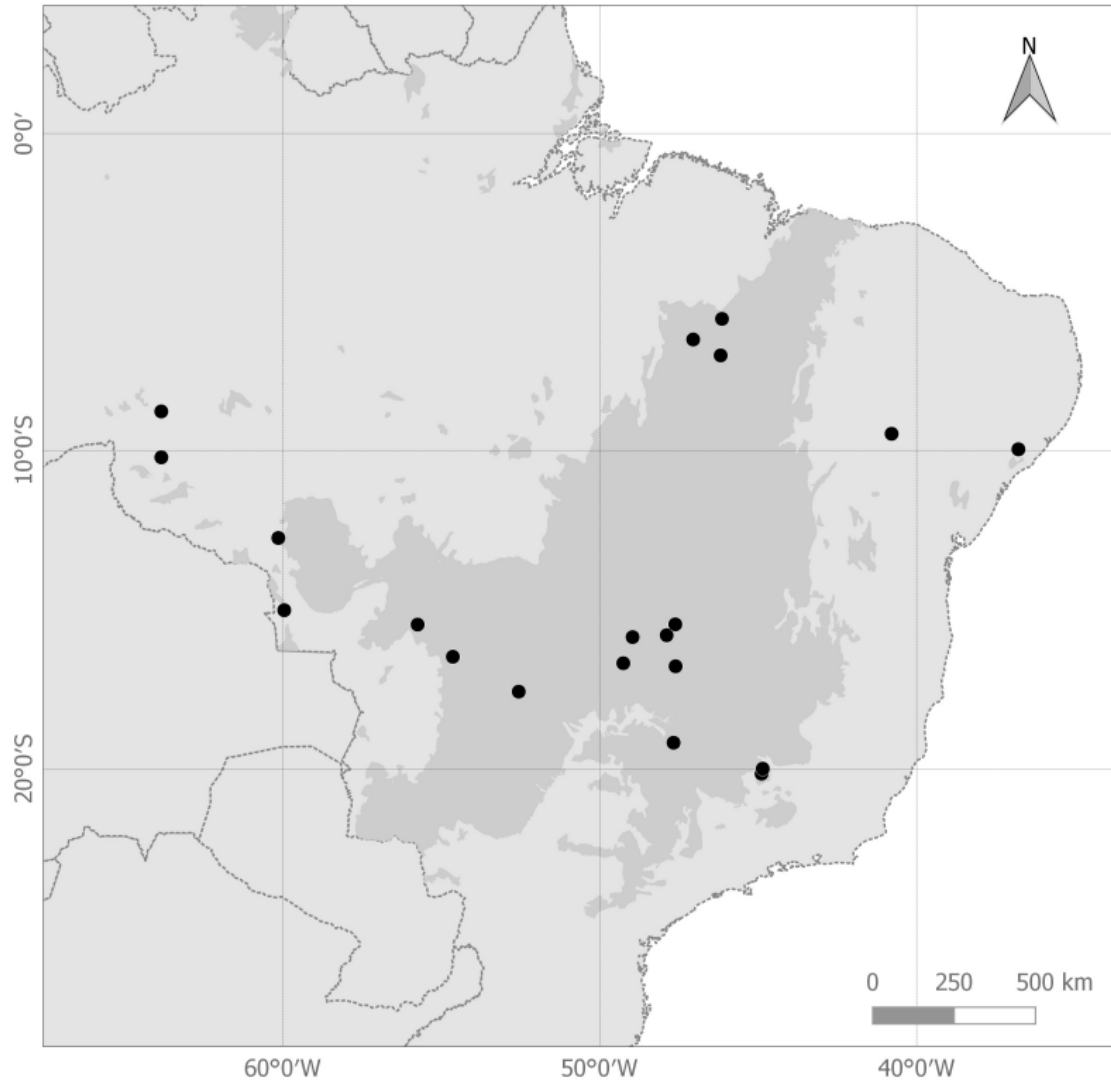


Figure 1. Distribution of *Apiosphaeria guaranítica* specimens from the Cerrado Domain, deposited in the Mycological Collection of Herbarium UB (MCHUB).

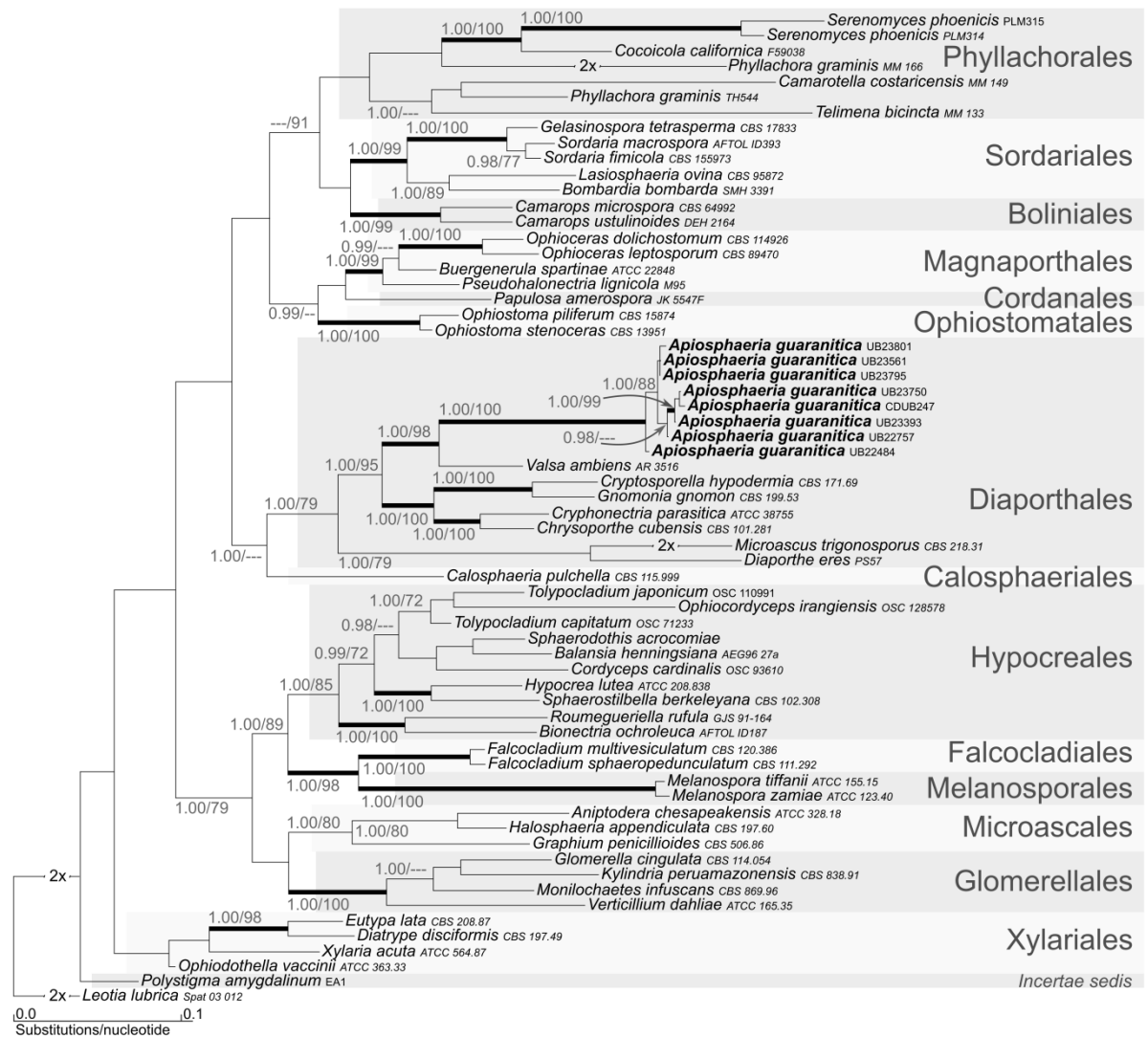


Figure 2. Phylogram of 50 % majority-rule consensus tree from Bayesian inference of combined *18S*, *28S*, and *RPB2* sequences representative of Sordariomycetes. Values at the branches represent Bayesian posterior probability (BPP) and bootstrap support (BS) respectively. Thickened branches denote BPP ≥ 0.98 and BS $\geq 95\%$.

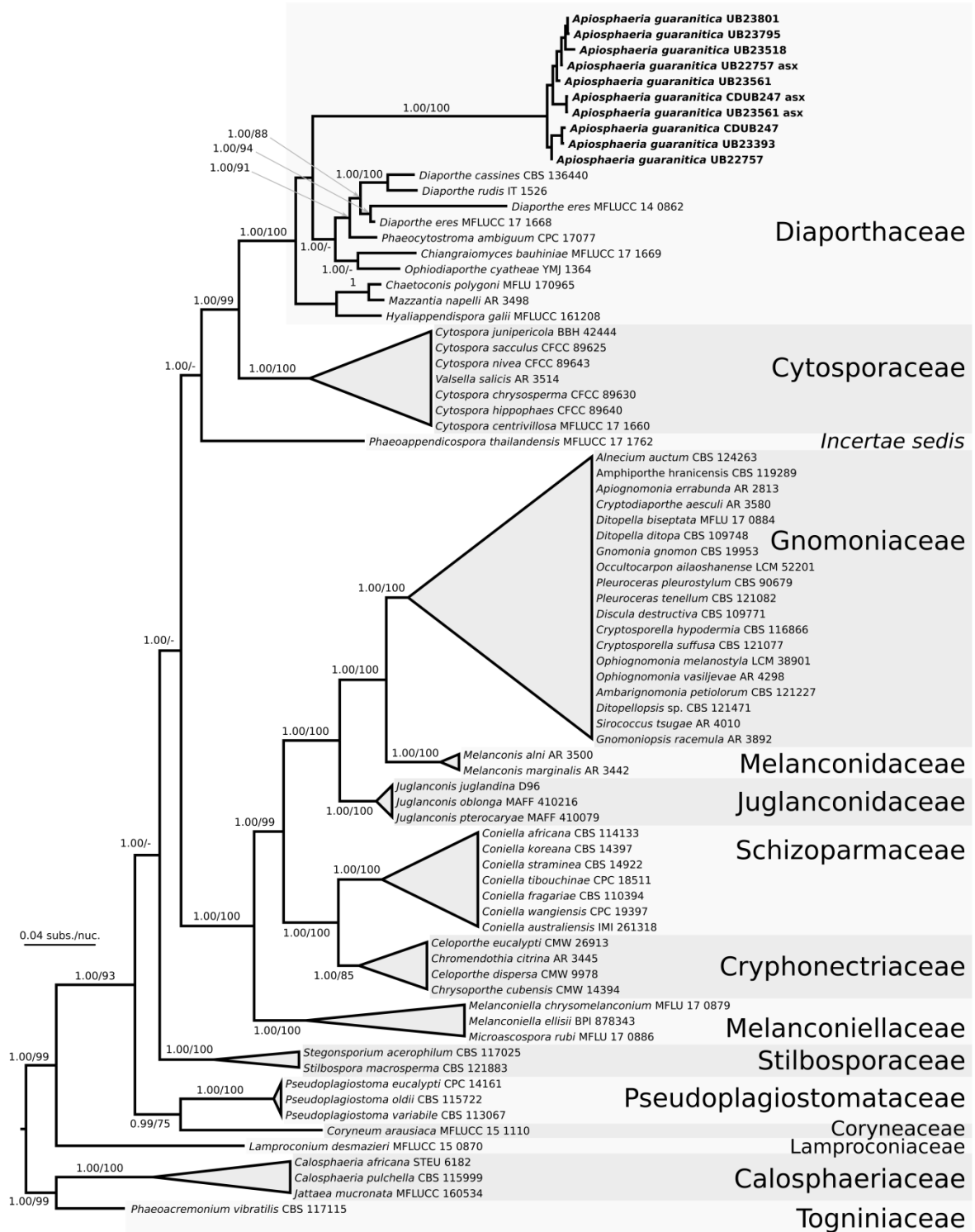


Figure 3. Phylogram of 50 % majority-rule consensus tree from Bayesian inference of combined 28S, ITS, RPB2, and TEF1 sequences representative of Diaporthales. Values at the branches represent Bayesian posterior probability (BPP) and bootstrap support (BS) respectively. Except for the Diaporthaceae, nodes corresponding to other families of Diaporthales were collapsed.

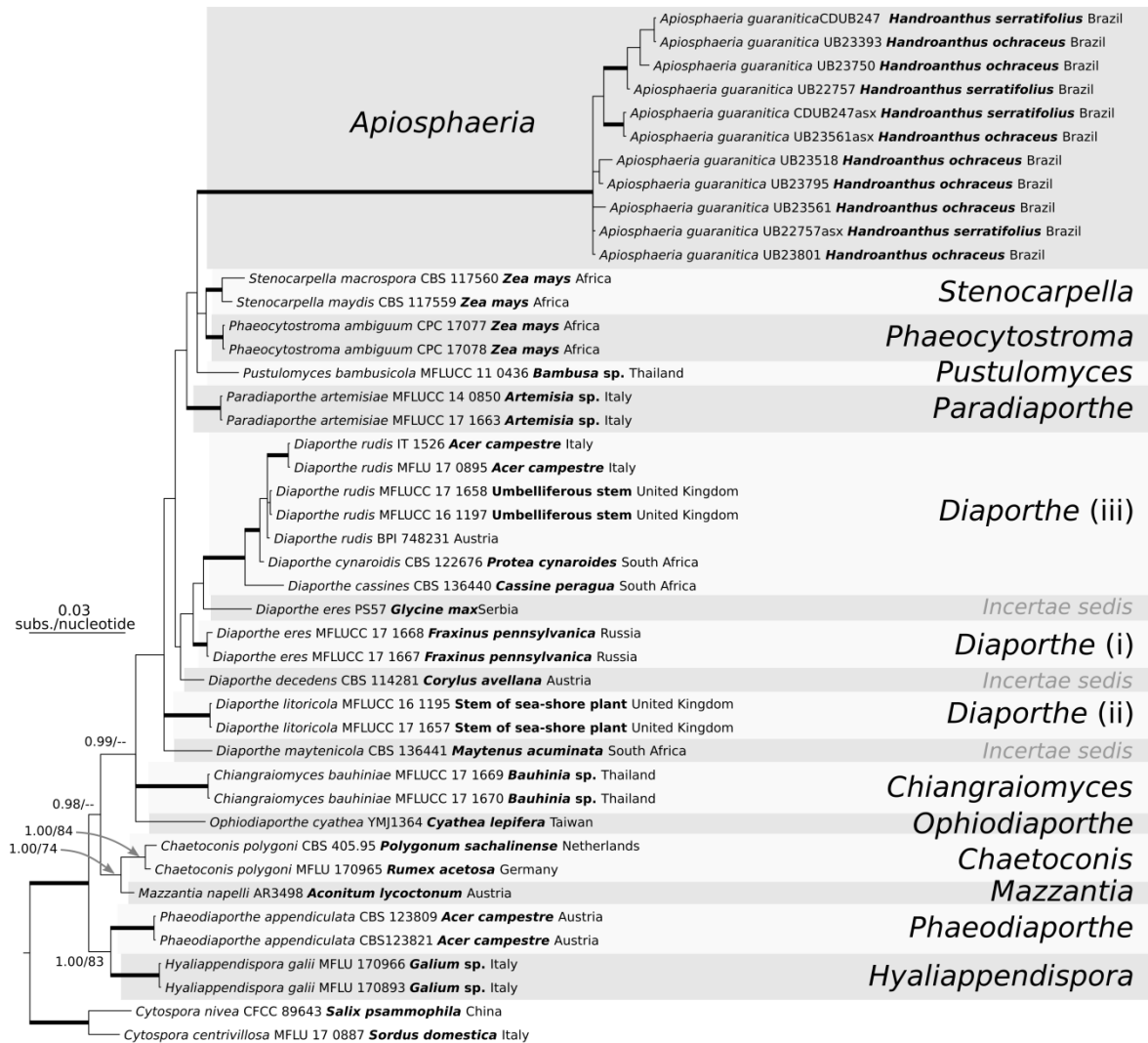


Figure 4. Phylogram of 50% majority-rule consensus tree from Bayesian inference of combined 28S and ITS sequences representative of Diaporthaceae. Values at the branches represent Bayesian posterior probability (BPP) and bootstrap support (BS) respectively. Thickened branches denote BPP ≥ 0.98 and BS $\geq 95\%$.

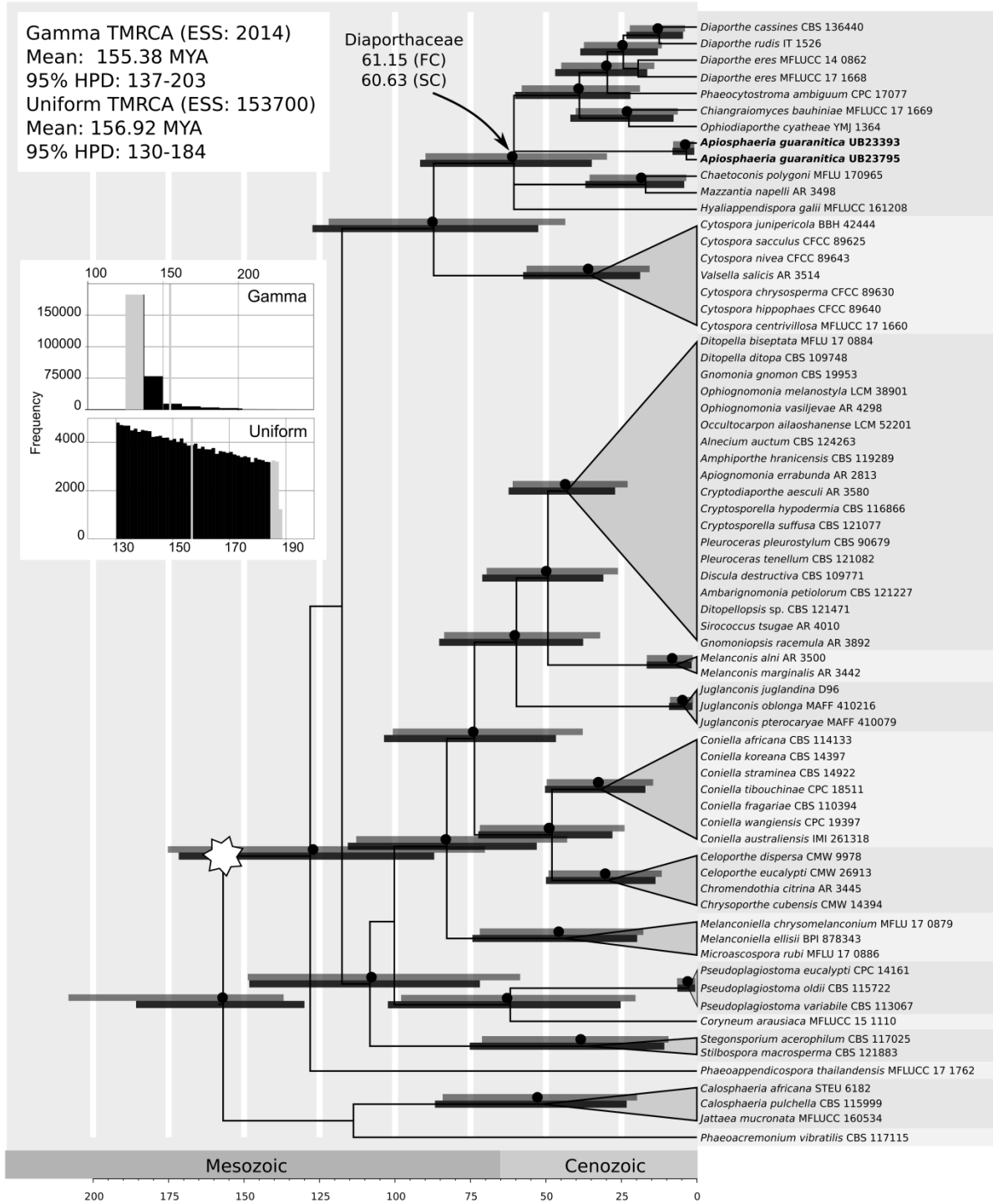


Figure 5. Maximum clade credibility tree of Diaporthales obtained from Bayesian inference under the secondary-calibration (SC) model. The 95% highest posterior density (HPD) values obtained from fossil-calibration (FC) model (red) and SC model (blue). Black dots on upper grayish bars indicate the estimated mean time for most recent common ancestor (TMRCA) of node under FC model, and lower black bars under SC model. Star highlights the stem group of Diaporthales used to calibrate the tree. Scale in millions of years. ESC = Effective sample sizes.

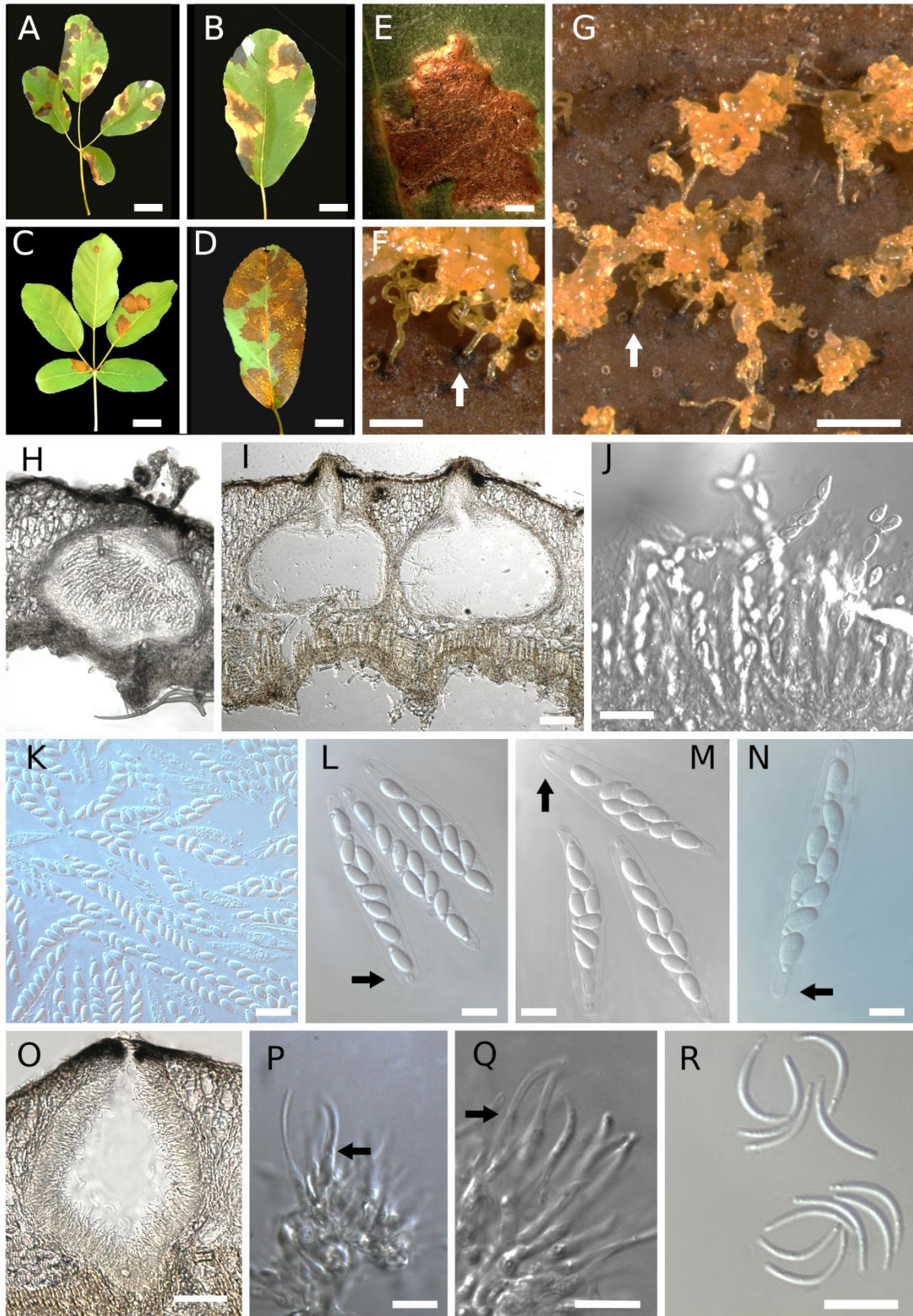


Figure 6. Macroscopic (A–G) and microscopic (H–R) features of *Apiosphaeria guaranítica*. A–E. General view of brown crust on *Handroanthus* leaves. F–G Cirri (mass of conidia) expelled through ostioles (arrow) of pycnidia. H. Transversal section of

perithecium at the early stage of development. I. Mature perithecia. J. Hamathecium of perithecium.. K–N. Asci with bicelular apiospores, arrows indicate apical ring (L, M) and short pedicel (N). O. Pycnidium immersed in pseudostroma. P–Q. Phialidic conidiogenic cells (arrow). R. Conidia filiform with blunt ends. Bars: A = 7.5 cm, B = 2.5 cm, C = 5 cm, D = 2.5 cm, E = 2 mm, F = 100 μm , G = 300 μm , H = 100 μm , I = 200 μm , J = 30 μm , K = 20 μm , L–N = 10 μm , O = 30 μm , P–R = 10 μm .

TAXONOMY

Apiosphaeria guaranítica (Speg.) Höhn., Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften Math.-naturw. Klasse Abt. I 118: 1218 (1909) FIG. 6.

MycoBank: MB122587

≡ *Munkiella guaranítica* Speg., Anal. Soc. cient. argent. 19(6): 249 (1885)

≡ *Munkiella guaranítica* var. *guaranítica* Speg., Anal. Soc. cient. argent. 19(6): 249 (1885)

= *Munkiella guaranítica* var. *major* Speg., Anal. Soc. cient. argent. 19(6): 249 (1885)

= *Oswaldia icarahyensis* Rangel, Archivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinaria, Nictheroy, Rio de Janeiro 5: 37 (1921)

= *Oswaldina icarahyensis* Rangel, Archivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinaria, Nictheroy, Rio de Janeiro 5: 37 (1921)

= *Anisochora tabebuiae* F. Stevens, Illinois Biol. Monogr. (Urbana) 8(no. 3): 16 (1924)

= *Gnomonia ospinae* Chardón, Boln Real Soc. Españ. Hist. Nat., Biologica 28: 120 (1928)

= *Hypospilina ospinae* (Chardón) Chardón, Mycol. Explor. Venez., Monogr. Univ. Puerto Rico, Ser. B 2: 192 (1934)

= *Apiosphaeria ospinae* (Chardón) Petr., Sydowia 9(1–6): 542 (1955)

Typification: PARAGUAY. PERIBEBUY, on living leaves of *Tecoma* sp. (Bignoniaceae), May 1883, Spegazzini 3816, Pugillus I, as *Munkiella guaranítica* Speg. **holotype** deposited at Instituto Spegazzini, La Plata, Argentina, access number LPS 340 (*Munkiella guaranítica* Speg.). BRAZIL. DISTRITO FEDERAL: Brasília, Dom Bosco Chapel (–15.7859722, –47.8026111), on living leaves of *Handroanthus ochraceus* (Bignoniaceae), 17 May 2017, D.C. Guterres 478 (**epitype here designated:** MCHUB 23795). GenBank: *ITS* = MG573327; *28S* = MG573327; *RPB2* = MG573309; *TEF1* = MG573318.

Epitype description.— *Pseudostromata* thick, light brown to dark-brown, superficial, epiphyllous, multilocular, up to 1 cm wide and over 360 μm deep, occupying major extensions of the foliar surface. *Ascomata* perithecial, 390–534 μm diameter, ostiolate, immersed in the pseudostromata, round to ovoid, with a distinct immersed periphysate neck, ostiolate; *ostiole* surrounded by a brown clypeus. *Asci* cylindrical to subclavate, 54–94 \times 10–13 μm , thin-walled, bluntly rounded at the apex, opening by a bilobate ring, with eight ascospores mostly in uniseriate arrangement, sometimes overlapping each other, seldom biseriate. *Ascospores* 2-celled, apiosporic, hyaline, clavate, upper cells 11.5–8.5 \times 5–7 μm , lower cells 2.5–3.5 \times 2–3 μm . *Asexual state*: pycnidial, often found in the same pseudostroma as the sexual state, immersed, occupying all the space between upper and lower epidermis of the leaf, pyriform, 110–200 \times 160–350 μm , ostiolate; *ostiole* at the top of a periphysate short neck that may expel yellow cirri containing conidial masses; *peridium* 8–10 μm thick, distinct and delicate. *Conidiophores* distributed on the internal surface of the wall, hyaline, branched, septate. *Conidiogenous cells* phialidic. *Conidia* 15–28 \times 2–4 μm , filiform, mostly falcate, hyaline, with blunt ends.

Comment.— The genus *Apiosphaeria*, originally described as *Munkiella* Speg., currently accommodates four different species, although none of these have been studied to date in terms of molecular phylogeny. The type species *Apiosphaeria guaranitica* and *Apiosphaeria topographica* are Neotropical species found on dicotyledonous hosts belonging to the families Bignoniaceae and Moraceae, respectively. These differ from the Indo-Malayan *A. indica* and the Palearctic *A. nipponica*, both of which are associated with monocotyledonous species (Arecaceae and Poaceae, respectively). Analysis of specimens deposited in the MCHUB from 1991–2017 shows that *A. guaranitica* is widely distributed throughout the Cerrado domain (FIG. 1), while other species are known only from their respective types. The asexual state is known only for *A. guaranitica*.

The holotype of *A. guaranitica* (LPS 340, as *Munkiella guaranitica*) is deposited at Instituto Spegazzini (La Plata, Argentina) is well preserved and is accompanied by the original and detailed illustration by the author. All the examined specimens here presented fit the morphological characteristics described by Spegazzini for the sexual state. The asexual state was only later described by Rangel (1921), as *Oswaldina icarayensis* in the same pseudostroma of the sexual state named *Oswaldia icarayensis*. Sydow (1935) synonymized *Oswaldia icarayensis* to *A. guaranitica* and *Oswaldina icarayensis* to *Rhodosticta* Woronich, which was recognized as the asexual state of *A. guaranitica* at the time. Later Dianese et al. (1994) reinstated *Oswaldina icarayensis* as the asexual state of *A. guaranitica*. Since the exclusion of the Article 59 of the International Code of Botany Nomenclature (McNeill et al. 2006) the mandatory adoption of an unique name for each species (*one fungus = one name*), *Oswaldina* and *Oswaldia* are synonyms of *Apiosphaeria*. Also the specimens here studied presented the asexual state corresponding to described by above cited authors.

Specimens examined.— BRAZIL. DISTRITO FEDERAL: Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, -15.6168194, -47.7190111, on leaves of *H. ochraceus*, 3 March 2016, BCP Souza 124, (MCHUB 23393). *ibid.* MARANHÃO: Sete Irmãos, Parque Nacional da Chapada das Mesas, -7.2761111, -47.1430555, on leaves of *H. ochraceus*, 3 Nov 2015, DB Pinho 48 (MCHUB 23795). *ibid.* MATO GROSSO: Vila Bela da Santíssima Trindade, Parque Estadual Serra Ricardo Franco, Fazenda Pelicano, -15.6168194, -47.7190111, on leaves of *H. serratifolius*, 21 Feb 2014, ZM Chaves 697 (MCHUB 22757). *ibid.* MINAS GERAIS: Lagoa da Prata, Rancho Fundo das Grotadas, -19.9546944, -45.4195, on leaves of *H. ochraceus*, 1 Aug 2015, DB Pinho (MCHUB 23561). *ibid.*, -19.9500277, -45.3948611, on leaves of *H. ochraceus*, 31 Jul 2015, DB Pinho 86 (MCHUB 23518).

Key to *Apiosphaeria* species

1. Paraphyses absent or present in younger perithecium, deliquescing at maturity 2

1. Paraphyses filiform present in mature perithecium, on leaves of species belonging to the family Moraceae *A. topographica*
2. Pseudostromata dark-brown, asexual state absent 3
2. Pseudostromata brown turning dark-brown to black as it ages, containing both sexual and asexual states, conidia filiform expelled on a yellow cirrus, on leaves of species of Bignoniaceae *A. guaranitica*
3. Perithecium more than 150 μm wide, asci cylindric $80\text{--}95 \times 6\text{--}8$, apiospores $12\text{--}16.5 \times 4\text{--}5$ μm with the upper cell 8x larger than the lower cell, mucilaginous sheath present or absent, on leaves and petioles of species of Arecaceae *A. indica*
3. Perithecium less than 150 μm wide, asci cylindrical, with $28\text{--}31 \times 9\text{--}10$ μm apiosporic ascospores with the upper cell 3x larger than the lower cell, on Poaceae *A. nipponica*

DISCUSSION

Phylogenetic position of Apiosphaeria. – Previous classification schemes placed *Apiosphaeria* within the Polystigmataceae (Müller and Arx 1962, 1973) and Phyllachoraceae (Hawksworth et al. 1983; Hawksworth et al. 1995; Lumbsch and Huhndorf 2007; Kirk et al. 2008; Lumbsch and Huhndorf 2010; Maharachchikumbura et al. 2015; Wijayawardene et al. 2017). Presently, our results show that the natural phylogenetic placement of *Apiosphaeria* is within Diaporthaceae, a cosmopolitan group composed by pathogenic, endophytic or saprobic fungi (Rossman et al. 2007).

The first evidence of a relationship between *Apiosphaeria* and Phyllachoraceae, was shown by Viégas (1943), when studying Brazilian specimens. The author highlighted important traits shared between the *Apiosphaeria* and members of the Phyllachoraceae, as defined by Miller (1941), such as the presence of the phyllachoroid stroma, with a perithecium opening by a periphysate neck under a clypiate ostiole. This circumscription of Phyllachoraceae also included characteristics such the presence of "true" paraphyses as diagnostic. Nevertheless, the presence of such structures were absent in the type material of *A. guaranitica*, originally studied by Spegazzini (1885), and later by Höhnelt (1909), and Viégas (1943) himself. More recently, Petrak (1955) considered the species described by Chárdon (1928), named *Gnomonia ospinae*, on *H. chrysanthus* subsp. *meridionalis* (= *Tecoma spectabilis*) in Colombia, as a synonym of *A. guaranitica*, then increasing the species circumscription to include paraphysated specimens. Batista *et al.* (1964) also reported *A. guaranitica* on *Tecoma* sp. in Brazil as having paraphyses. However, our material studied and listed never showed real paraphyses, agreeing with the original description by Spegazzini (1885).

The difference in ascomata development was one of the characteristics emphasized by Barr (1983) in the circumscription of the Phyllachorales, which has a "Xylaria type" *centrum*

(paraphyses present), in contrast to a “Diaporthe type” (paraphyses absent) in the Diaporthales, as defined by Luttrell (1951). This hypothesis was followed by Cannon (1991) and Silva-Hanlin and Hanlin (1998), emphasizing the paraphysate *centrum* as a characteristic of the Phyllachoraceae.

Nevertheless, the presence of a paraphysate *centrum* is not a shared trait among all members of the Phyllachoraceae (Theissen and Sydow 1915). Likewise, this characteristic also occurs, although rarely, in the Diaporthales. This happens especially in the early ontogenetic stages of the ascomata, occurring in genera *Anisogramma* (Gottwald and Cameron 1980), *Gaeumannomyces* (currently Magnaporthales) (Jones 1926; Barr 1978), *Gnomonia* (Huang and Luttrell 1982), *Hercospora* (Petraik 1923), *Macrodiaporthe* (Wehmeyer 1937), *Melanconis* (Petraik 1923; Wehmeyer 1941), *Prosthecium* (Wehmeyer 1941), *Pseudovalsa* (Petraik 1923; Wehmeyer 1941), *Cytospora* (= *Valsa*) (Höhnelt 1918) and even *Diaporthe* (Jensen 1983; Uecker 1989).

The modern circumscription of Diaporthales (Senanayake et al. 2017) includes hamathecium aparamphysate or with a few broad cellular, filiform to cylindrical, septate to aseptate, branched to unbranched hyaline paraphyses and occasional parenchymatous cells attached at the base of the asci. This description therefore indicates that for the Diaporthales as an order, the presence of paraphyses is a not valuable taxonomic characteristic.

Shared morphological features of the *Apiosphaeria* and Diaporthales *sensu* Senanayake et al. (2017) includes: well-developed pseudostromata or ascostromata, immersed or erumpent, solitary to gregarious, yellowish orange, pale brown, dark brown to black, coriaceous. Ascomata perithecial, scattered, solitary or gregarious, immersed to erumpent, globose to subglobose, ostiolate; sometimes with plate-like ornamentation around the ostiole that can be papillate with hyaline paraphyses. Peridium thin hyaline, flattened cells. Asci generally 2–32-spored, unitunicate, cylindrical, clavate, oblong-clavate, short pedicellate, apex blunt, J- refractive ring. Ascospores overlapping uniseriate, ellipsoid, aseptate to multi-

septate, constricted or not at the septa, hyaline, smooth, mostly rounded. Appendages absent. Asexual state: coelomycetous. stromatic, amphigenous pycnidial, immersed, opening by irregular rupture, globose, subglobose, solitary to gregarious, brown to dark brown, loculate., sometimes pyriform in section, subepidermal. Conidiogenous cells enteroblastic, phialidic, hyaline, smooth, subcylindrical, simple. Conidia filiform or falcate.

In terms of nutrition habit, most genera of the Diaporthales (FIG. 3–4) are saprobic (Rossman et al. 2007) while *Apiosphaeria* consists of biotrophic parasites of leaves (Spegazzini 1885; Viégas 1943; Lima 1975). The fungus–host relationship is an important feature for species delimitation within the *Apiosphaeria*, which is clearly host specific. *Apiosphaeria guaranitica* has a wide host range, however only associated with species of the family Bignoniaceae. It was recorded infecting *Handroanthus serratifolius* (= *Tabebuia serratifolia*), *H. impetiginosus*, *H. ochraceus* (= *T. ochracea*), *Ekmanianthe longiflora* (= *Tecoma longiflora*), *Tabebuia* sp., *Tecoma* sp., and *Zeyheria* sp. in Brazil; *H. chrysanthus* in Colombia; *H. capitatus* in Trinidad and Tobago and West Indies; and *T. heterophylla* in Panama (Chárdon 1928; Viégas 1943; Batista et al. 1964; Dianese et al. 1994; Mendes et al. 1998); *Apiosphaeria topographica*, a species represented for only one collection from Paraguay (South America), was found on living leaves of *Ficus* sp. (Moraceae); *Apiosphaeria nipponica* was described on leaves of *Sasa nipponica* (Poaceae), a common plant in Japan; and *Apiosphaeria indica* was described on leaves and along the petioles of date palm *Phoenix humilis* in District Almora (India), and as *A. guaranitica*, this taxon has several host species in the family Arecaceae, such as *Daemonorops oxycarpa*, *Licuala* sp., *Calamus thysanolepis* and *Daemonorops jenkinsiana* (= *Daemonorops margaritae*) from Brunei and Hong Kong (Hyde et al. 1998).

The number of recognized genera in the Diaporthaceae has increased recently, due in part to inclusion of molecular data. Whilst Castlebury et al. (2002) listed only *Diaportha* (= *Phomopsis*) and *Mazzantia*, Lumbsch and Hunhdorf (2010) added *Apioporthella* and

Leucodiaporthe to the family, with Lamprecht et al. (2011) and Udayanga et al. (2011) also accepting *Stenocarpella* and *Phaeocystostroma*. *Ophiodiaporthe* was later introduced by Fu et al. (2013). Presently, Diaporthaceae comprises ten genera: *Allantoportha*, *Apioporthella*, *Clypeoporthella*, *Diaporthe*, *Diaporthella*, *Leucodiaporthe*, *Mazzantia*, *Mazzantiella*, *Ophiodiaporthe* and *Pustulomyces* (Maharachchikumbura et al. 2015). Herein we include *Apiosphaeria* as the eleventh member of the family Diaporthaceae, as shown by our morpho-molecular evidences.

Among the described species of this family, *Apiosphaeria* represents the second taxon that parasitises *Handroanthus*. The presumably asexual state of *Diaporthe tecomae* Sacc. and P. Syd. (= *D. interrupta* Niessl) (Gomes et al. 2013), named *Phomopsis tecomae*, is morphologically similar to the asexual state of *A. guaranitica*. However, the specimen studied by Gomes et al. (2013) is saprobic and was isolated from a young branch of an undetermined species of *Tabebuia*, while specimens here studied were exclusively found on characteristic brown-crust disease lesions on living leaves of several *Tabebuia* species. Additionally, the specimens studied by Gomes et al (2013) did not present the sexual state, and the link between *D. tecomae* and *P. tecomae* remains to be proven, precluding morphological comparison with *A. guaranitica*. On the other hand, the molecular comparison of ITS sequences of *D. tecomae* and both sexual and asexual states of *A. guaranitica* (data not shown) clearly provide evidence that they constitute two distinct species.

A recently published list of Ascomycota genera treated *Oswaldina* as Ascomycota genera *incertae sedis* (Wijayawardene et al. 2017). In this study, we provided molecular evidence of the link between the sexual and asexual states of *A. guaranitica* (FIG. 3–4). Since the changes in the International Code of Nomenclature (ICN) for algae, fungi and plant (McNeill et al. 2012), the use of two or more names for different states of the same species is no longer permitted. As such, we suggest the maintenance of the name *Apiosphaeria* over *Oswaldina*, considering that the former was described earlier (Höhnelt 1909), and is used more

frequently. Additionally, *Apiosphaeria guaranitica* is the recognized name for an important disease (Ferreira 1989; Dianese et al. 1994) and is the only species of the genus with known asexual and sexual states. Finally, *Apiosphaeria* figures among the generic names recommended for protection (Kirk et al. 2013).

Molecular clock – Our time calibrated phylogeny revealed the ancient origin of the neotropical taxon *A. guaranitica* at the base of the crown group Diaporthaceae (FIG. 5), with split supported as occurring during the Paleogene period at 61.15 MYA (FC) and 60.63 MYA (SC) (TABLE 2). The long branch of this lineage indicates an unshared evolutionary history with other members of the Diaporthaceae, possibly correlated to the notably distinct nutritional mode and host specificity of *A. guaranitica* in relation to other members of the Diaporthales, which are mostly saprobic.

Our study is also the first investigation of divergence time estimates within the Diaporthales supported by the analysis of a diaporthaceous fossil, *Spataporthe taylori* (Bronson et al. 2013). Previous studies of divergence time in the Ascomycota have all aimed to resolve higher taxa and have either not included the Diaporthales (Gueidan et al. 2011; Prieto and Wedin 2013), or included only a reduced taxa sampling of the order (Beimforde et al. 2014; Pérez-Ortega et al. 2016). Studies by Hongsanan et al. (2017) and Hyde et al. (2017) included a more detailed taxa sampling of the Diaporthales and were here used in comparison of clade ages.

According to the most recent revision, the Diaporthales comprises 21 families and 155 genera (Senanayake et al. 2017), of which 12 families and 37 genera were included in our time-calibrated phylogeny. The inclusion of *Apiosphaeria* reveals the Diaporthaceae as the oldest family within the order, diverging at 61.15 MYA (FC) and 60.63 MYA (SC). The diversification of the sister lineage, the crown group Cytosporaceae, was estimated at 35.97 MYA (FC) and 35.10 MYA (SC). In addition to the current six genera recognized in the Cytosporaceae, here we included *Cytospora* and *Valsella*. The stem group of Cytosporaceae-

Diaporthaceae as supported in our analysis have occurred at 87.66 MYA (FC) and 87.20 MYA (SC).

Gnomoniaceae (Chadefaud 1960) is the second largest family of the order, currently comprising 31 genera. Our analyses included a total of 15 of the member genera. The crown group Gnomoniaceae split at 43.64 MYA (FC) and 43.15 MYA (SC). The sister clade, crown group Melanconidaceae, was estimated at 8.15 MYA (FC) and 7.08 MYA (SC). The stem age of the Gnomoniaceae-Melanconidaceae occurred at 49.92 MYA (FC) and 49.36 MYA (SC). Hyde et al. (2017) estimated the crown age of Melanconidaceae to have occurred at 15.6 MYA, with the stem age of Gnomoniaceae-Melanconidaceae at 52 MYA. Based on analysis by Hyde et al. (2017), Hongsanan et al. (2017) synonymized Melanconidaceae to Gnomoniaceae, following the criterion of minimum bound to family status of 50 MYA.

The crown group Juglanconidaceae, a monogeneric family recently described to accommodate species of *Melanconis* associated to Juglandaceae host species (Voglmayr et al. 2017), was estimated to occur at 4.76 MYA (FC) and 4.32 MYA (SC). The stem age of Juglanconidaceae and Gnomoniaceae-Melanconidaceae was here estimated at 60.37 MYA (FC) and 59.78 MYA (SC). Given the aforementioned minimum bound criterion for family delimitation, Juglanconidaceae could also be synonymized to Gnomoniaceae.

Schizoparmaceae (Rossman et al 2007), currently comprising only *Coniella*, was recovered with crown age of 32.73 MYA (FC) and 31.87 MYA (SC). Crown group Cryphonectriaceae (Gryzenhout et al. 2006) diverged at 30.36 MYA (FC) and 29.56 MYA (SC). Stem age of Schizoparmaceae-Cryphonectriaceae was estimated at 48.94 MYA (FC) and 48.01 MYA (SC). Both families, along with Harknesiaceae (Crous et al. 2012) (not included in our analyses), were synonymized to Cryphonectriaceae by Hyde et al. (2017). Schizoparmaceae, Cryphonectriaceae and Harknesiaceae are treated as distinct families on phylogenetic and morphological study of Senanayake et al. (2017), although together they form a monophyletic group, each family did not receive significant support to be considered

as a separated clade. The authors probably kept this decision based on morphological arguments. In the other hand, Hyde et al. (2017) did not provide details on their phylogenetic reconstruction and support values to the aforementioned clades, but our results corroborates their decision on synonymize these families given the minimum bound to family status of 50 MYA.

The crown group Melanconiellaceae, here represented by *Melanconiella* and *Microascospora*, two of five recognized genera, diverged at 45.75 MYA (FC) and 43.89 MYA (SC), with stem age of 83.21 MYA (FC) and 82.85 MYA (SC). Pseudoplagiostomataceae, created to accommodate *Pseudoplagiostoma* (Cheewangkoon et al. 2010), diverged at 3.04 MYA (FC) and 2.67 MYA (SC). The stem age of Pseudoplagiostomataceae-Coryneaceae occurred at 62.89 MYA (FC) and 61.81 MYA (SC).

The family Stilbosporaceae Voglmayr and Jaklitsch (Voglmayr and Jaklitsch 2014) is composed of three genera, with two represented here. The crown group Stilbosporaceae, estimated to diverge at 38.48 MYA (FC) and 36.36 MYA (SC), had a ancient origin within the Diaporthales, with stem age of 107.87 MYA (FC) and 108.31 MYA (SC). Although the position of Stilbosporaceae as a basal lineage of the Gnomoniaceae, Melanconidaceae, Juglanconidaceae, Schizoparmaceae, Cryphonectriaceae, Melanconiellaceae, Pseudoplagiostomataceae and Coryneaceae was well resolved in our chronogram, the results obtained by BI and ML analyses did not support this hypothesis, as observed in previous phylogenetic studies (Hongsanan et al. 2017, Senanayake et al. 2017).

The phylogenetic position of *Phaeoappendicospora thailandensis* remains unresolved and consequently we were unable to precisely estimate the divergence time of this taxon. Hyde et al (2017) and Hongsanan et al. (2017) do not include *P. thailandensis* in their analyses. Senanayake et al. (2017) also do not provide a supported phylogenetic position to this taxa, thus treated as Diaporthales *incertae sedis*.

In general, the ages of the clades included in our analyses were older than those reported by Hyde et al. (2017). Thus, this discrepancy can be attributed to various reasons, such as parameter settings, unequal taxa sampling, choice of molecular marker, selection of the fossils employed, accurate taxonomic identification and also their placement to specific nodes (Taylor and Berbee 2006; Berbee and Taylor 2010; Prieto and Wedin 2013; Beimforde et al. 2014). Hyde et al. (2017) did not use fossil information in age estimation for the Sordariomycetes lineages. Instead, the authors used a set of adjusted ages given by the median Ascomycota divergence time obtained by Gueidan et al. (2011), Prieto and Wedin (2013), Beimforde et al. (2014) and Pérez-Ortega et al. (2016). The use of secondary information as the unique source of data can represent biased practice on dating phylogenies (Schenk 2016), a fact here minimized by the use of the fossil information. With this we hope to have added precision to the divergence time estimates for the Diaporthales/Sordariomycetes.

In conclusion, we provide the updated phylogenetic position of *A. guaranitica* within the Diaporthaceae, where it represents an ancient lineage of the group, diverging during the late Paleogene and with a remarkable unshared evolutionary history. Whether this high molecular divergence is attributed to the lack of molecular data, or if it represents the true evolutionary history of the taxon, are questions that will be resolved as further studies encompassing the neotropical mycodiversity are performed.

Acknowledgments

We thank CNPq for a PhD fellowship to the first author, CAPES for a PhD fellowship to the second author, CNPq for a research fellowship for the penultimate author, and research grant to the last co-author through PPBIO-Cerrado.

LITERATURE CITED

- Avise JC, Johns GC. 1999. Proposal for a standardized temporal scheme of biological classification for extant species. *Proceedings of National Academy of Science* 96: 7358–7363.
- Barr ME. 1978. The Diaporthales in North America, with emphasis on *Gnomonia* and its segregates. *Mycologia Memoir* 7: 1–232.
- Barr ME. 1983. The Ascomycota connection. *Mycologia* 75: 1–13.
- Batista AC, Bezerra JL, Peres GEP. 1964. Ascomycetes da Flora Brasilica. *Publicações do Instituto Micologia da Universidade de Pernambuco, Recife* 438: 1–22.
- Beimforde C, Feldberg K, Nylinder S, Rikkinen J, Tuovila H, Dorfelt H, Gube M, Jackson DJ, Reitner J, Seyfullah LJ, Schmidt AR. 2014. Estimating the phanerozoic history of the Ascomycota lineages: combining fossil and molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 78: 386–398.
- Berbee ML, Taylor JW. 2010. Dating the molecular clock in fungi – how close are we? *Fungal Biology Reviews* 24: 1–16.
- Bose SK. 1975. A leaf spot disease of the dwarf hill date palm *Phoenix humilis* caused by *Apiosphaeria indica* sp.nov. *Indian Phytopathology* 28: 574–575.
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu CH, Xie D, Suchard MA, Rambaut A, Drummond A J. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Computational Biology* 10: e1003537.
- Bronson AW, Klymiuk AA, Stockey RA, Tomescu AMF. 2013. A Perithecial Sordariomycete (Ascomycota, Diaporthales) from the Lower Cretaceous of Vancouver Island, British Columbia, Canada. *International Journal of Plant Sciences* 174: 278–292.

- Cannon PF. 1988. Proposal to merge the Phyllachorales with the Diaporthales, with a new family structure. *Systema Ascomycetum* 7: 23–43.
- Cannon PF. 1991. A revision of *Phyllachora* and some similar genera on the host family Leguminosae. *Mycological Papers* 163: 1–302.
- Cannon PF. 1996. Systematics and diversity of the Phyllachoraceae associated with Rosaceae, with a monograph of *Polystigma*. *Mycological Research* 100: 1409–1427.
- Cannon PF. 1997. Diversity of the Phyllachoraceae with special reference to the tropics. In: Hyde K (ed), *Biodiversity of Tropical Microfungi*: 255–278. Hong Kong University Press, Hong Kong
- Castlebury LA, Rossman AY, Jaklitsch WJ, Vasilyeva L. 2002. A preliminary overview of the Diaporthales based on large subunit nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 94: 1017–1031.
- Chadefaud M. 1960. Les Végétaux non Vasculaires (Cryptogamie). In Chadefaud, M.; Emberger, L. (eds), *Traité de Botanique Systématique* 1: 1018 pp. Paris; Masson.
- Chardón CE. 1928. Contribucion al estudio de la flora micológica de Colombia. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 28: 111–124.
- Cheewangkoon R, Groenewald JZ, Verkley GJM, Hyde KD, Wingfield MJ, Gryzenhout M, Summerell BA, Denman S, Toanun C, Crous PW. 2010. Re-evaluation of *Cryptosporiopsis eucalypti* and *Cryptosporiopsis*-like species occurring on *Eucalyptus* leaves *Fungal Diversity* 44: 89–105.
- Clements FE, Shear CL. 1931. *Genera of Fungi*. 2nd ed. I-VII. USA, New York: H.W. Wilson Company. 496 p.
- Crous PW, Summerell BA, Shivas RG, Carnegie AJ, Groenewald JZ. 2012. A re-appraisal of *Harknessia* (Diaporthales), and the introduction of *Harknessiaceae* fam. nov. *Persoonia*: 28: 49–65.

- Cyberliber, an Electronic Library for Mycology. [www.cybertruffle.org.uk/cyberliber, website accessed: November 30, 2017].
- Dianese JC, Tessman DJ, Furlanetto C. 1994. Reinstating *Oswaldina icarahyensis* as the name of the anamorph of *Apiosphaeria guaranitica*. *Sydowia* 46: 233–237.
- Drummond AJ, Ho SY, Phillips MJ, Rambaut A. 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology* 4: e88.
- Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*. 29: 1969–73.
- Ferreira FA. 1989. Patogologia florestal: principais doenças florestais no Brasil. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais. 570 p.
- Fu CH, Hsieh HM, Chen CY, Chang TT, Huang YM, Ju YM. 2013. *Ophiodiaporthe cyatheae* gen. et sp. nov., a diaporthean pathogen causing a devastating wilt disease of *Cyathea lepifera* in Taiwan. *Mycologia* 105: 861–872.
- Gomes RR, Glienke C, Videira SIR, Lombard L, Groenewald JZ, Crous PW. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia* 31: 1–41.
- Gottwald TR, Cameron HR. 1980. Studies in the morphology and life history of *Anisogramma anomala*. *Mycologia* 71: 1107–1126.
- Green JP. 1995. Reversible Jump Markov Chain Monte Carlo Computation and Bayesian Model Determination. *Biometrika* 82: 711–732.
- Gryzenhout M, Myburg H, Wingfield BD, Wingfield MJ. 2006. Cryphonectriaceae (Diaporthales), a new family including *Cryphonectria*, *Chrysoporthe*, *Endothia* and allied genera. *Mycologia*. 98:239-249
- Gueidan C, Ruibal C, de Hoog GS, Schneider H. 2011. Rock inhabiting fungi originated during periods of dry climate in the late Devonian and middle Triassic. *Fungal Biology* 115: 987–996.

- Habibi A, Banihashemi Z, Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R. 2015. Phylogenetic analysis of *Polystigma* and its relationship to Phyllachorales. *Phytopathologia Mediterranea* 54: 45–54.
- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DN. 1995. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 8th edition. Wallingford: CAB International. 616 p.
- Hawksworth DL, Sutton BC, Ainsworth GC. 1983. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 7th Edition. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 412 p.
- Hennig W. 1966. Phylogenetic systematics. Urbana: University of Illinois Press. 263p.
- Hino I, Katumoto K. 1966. Notes on bambusicolous fungi. 2. *Journal of Japanese Botany* 41: 292–297.
- Höhnelt F von. 1909. Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften in Wien Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe, Abt. 1 118: 1157–1246.
- Höhnelt FXR von. 1918. Mycologische Fragmente CCLXII. Über die allantoid-sporigen Sphaeriaceen. *Annales Mycologici* 16: 127–132.
- Hongsanan S, Maharachchikumbura SSN, KD Hyde, Samarakoon MC, Jeewon R, Zhao Q, Al-Sadi AM, Bahkali AH. 2017. An updated phylogeny of Sordariomycetes based on phylogenetic and molecular clock evidence. *Fungal Diversity* 84: 25–41.
- Hoog GS de, van den Ende AHG. 1998. Molecular diagnostics of clinical strains of filamentous Basidiomycetes. *Mycoses* 41: 183–189.
- Huang LH, Luttrell ES. 1982. Development of the perithecium in *Gnomonia comari* (Diaporthaceae). *American Journal of Botany* 69: 424–431.
- Hyde KD, Fröhlich J, Taylor JE. 1998. Fungi from palms. XXXVI. Reflections on unitunicate ascomycetes with apiospores. *Sydowia* 50: 21–80.
- Hyde KD, Maharachchikumbura SSN, Hongsanan S, Samarakoon MC, Lücking R, Pem D, Harishchandra D, Jeewon R, Zhao R, Xu J, Liu J, Al-Sadi AM, Bahkali AH, Elgorban

- AM. 2017. The ranking of fungi: a tribute to David L. Hawksworth on his 70th birthday. *Fungal Diversity* 84: 1–23.
- Jensen JD. 1983. The development of *Diaporthe phaseolorum* variety *sojae* in culture. *Mycologia* 75: 1074–1091.
- Jones SG. 1926. The development of the perithecium of *Ophiobolus graminis* Sacc. *Annals of Botany London* 40: 607–629.
- Katoh K, Standley DM. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780.
- 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* 28: 1647–1649.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. 2008. *Dictionary of the fungi*, 10th Edition. Wallingford: CAB International. 771 p
- Kirk PM, Stalpers JA, Braun U, Crous PW, Hansen K, Hawksworth DL, Hyde KD, Lücking R, Lumbsch TH, Rossman AY, Seifert KA, Stadler M. 2013. A without-prejudice list of generic names of fungi for protection under the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants. *IMA Fungus* 4: 381–443.
- Lamprecht SC, Crous PW, Groenewald JZ, Tewoldemedhin YT, Marasas WF. 2011. *Diaporthaceae* associated with root and crown rot of maize. *IMA Fungus* 2: 13–24.
- Larsson A. 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics* 30: 3276–3278.
- Lepage T, Bryant D, Philippe H, Lartillot N. 2007. A general comparison of relaxed molecular clock models. *Molecular Biology and Evolution* 24: 2669–2680.

- Lima DMM. 1975. Etiologia e histopatologia da mancha foliar de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols, ipê amarelo, causada por *Apiosphaeria guaranitica* (Speg.) von Hohnel. Viçosa, UFV. 35 p.
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16: 1799–1808.
- Lorenzi H. 1998. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil v 2. Nova Odessa: Plantarum. 352p.
- Lumbsch HT, Huhndorf SM. 2007. Outline of Ascomycota 2007. *Myconet* 13: 1–58.
- Lumbsch HT, Huhndorf SM. 2010. Part One. Outline of Ascomycota 2009. *Myconet* 1: 1–64.
- Luttrell ES. 1951. Taxonomy of the Pyrenomycetes. *University of Missouri Studies* 24: 1–120.
- Maharachchikumbura SN, Hyde KD, Jones EBG, McKenzie EHC, Huang SK, Abdel-Wahab MA, Daranagama DA, Dayarathne M, D'souza MJ, Goonasekara ID, Hongsanan S, Jayawardena RS, Kirk PM, Konta S, Liu JK, Liu Z-Y, Norphanphoun C, Pang KL, Perera RH, Senanayake IC, Shang Q, Shenoy BD, Xiao Y, Bahkali AH, Kang J, Somrothipol S, Suetrong S, Wen T, Xu J. 2015. Towards a natural classification and backbone tree for Sordariomycetes. *Fungal Diversity* 72: 199–301.
- Maharachchikumbura SSN, Hyde KD, Gareth Jones EB, McKenzie EHC, Bhat JD, Dayarathne MC, and Huang S, Norphanphoun C, Senanayake IC, Perera RH, Shang Q, Xiao Y, D'souza MJ, Hongsanan S, Jayawardena RS, Daranagama DA, Konta S, Goonasekara ID, Zhuang W, Jeewon R, Phillips AJL, Abdel-Wahab MA, Al-Sadi AM, Bahkali AH, Boonmee S, Boonyuen N, Cheewangkoon R, Dissanayake AJ, Kang J, Li Q, Liu JK, Liu XZ, Liu Z, Luangsa-ard JJ, Pang K, Phookamsak R, Promputtha I, Suetrong S, Stadler M, Wen T, Wijayawardene NN. 2016. Families of Sordariomycetes. *Fungal Diversity* 79: 1–317.

- Mardones M, Trampe-Jaschik T, Oster S, Elliot M, Urbina H, Schmitt I, Piepenbring M. 2017. Phylogeny of the order Phyllachorales (Ascomycota, Sordariomycetes): among and within order relationships based on five molecular loci. *Persoonia* 39: 74–90.
- 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). (Regnum Vegetabile, 154). Available on <http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php>.
- Mendes MAS, Silva VL, Dianese JC, Ferreira MASV, Santos CEN, Gomes Neto, E, Urban AF, Castro C. 1998. Fungos em Plantas no Brasil. Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasilia, 555 p.
- Miller JH. 1941. The Ascomycetes of Georgia. *Plant Disease Reporter*, U. S. D. A. Supplement 131. 93 p.
- Miller JH. 1949. A revision of the classification of the ascomycetes with special emphasis on the pyrenomycetes. *Myologia* 2: 99–127.
- 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)*, New Orleans, LA: 1–8 p.
- Müller E, Arx JA. 1973. Pyrenomycetes: Meliolales, Coronophorales, Sphaeriales. In Ainsworth GC, Sparrow FK, Sussman AS, eds. *The Fungi. An Advanced Treatise* 4A. New York, NY: Academic Press. p. 87–132.
- Müller E, Arx JA. 1962. Die Gattungen der didymosporen Pyrenomyceten. *Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz* 11: 1–922.
- Nakari T, Alatalo E, Penttilä ME. 1993. Isolation of *Trichoderma reesei* genes highly expressed on glucose-containing media: characterization of the *tef1* gene encoding translation elongation factor 1 alpha. *Gene* 136: 313–318.

- Nannfeldt JA. 1932. Studien über die Morphologie und Systematik der nichlichenisierten inoperculaten Discomyceten. *Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis Series 8*: 1–368.
- Pearce CA, Hyde KD. 2006. *Phyllachoraceae of Australia*. Fungal Diversity Press, Hong Kong.
- Pérez-Ortega S, Garrido-Benavent I, Grube M, Olmo R, de los Ríos A. 2016. Hidden diversity of marine borderline lichens and a new order of fungi: Collemopsidiales (Dothideomyceta). *Fungal Diversity* 80: 285–300.
- Petrak F. 1923. Mycologische Notizen V. No. 200. Über der Pseudosphariaceen v. H. und ihre Bedeutung für die spezielle Systematik der Pyrenomyzeten. *Annales Mycologici* 21: 30–69.
- Petrak F. 1924. Mycologische Notizen VII. No. 301. Über die phylogenetischen Beziehungen der Gattung *Phyllachora* Nit. Und ihre Bedeutung für das System der dothidealen Pilze. *Annales Mycologici* 22: 1–10.
- Petrak F. 1925. Mykologische Notizen. VIII [nos 401-501]. *Annales Mycologici* 23: 1–143.
- Petrak F. 1955. *Fungi Beltsvillenses*. VI. *Sydowia* 9: 542–546.
- Prieto M, Wedin M. 2013. Dating the diversification of the major lineages of Ascomycota (Fungi). *PloS ONE* 8:e65576.
- Rambaut A, Suchard MA, Xie D, Drummond AJ. 2014. Tracer v1.6, Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>.
- Rangel E. 1921. Nota sobre dois fungos. *Arquivos da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinária*. Niteroi 5: 35–39.
- Ranwez V, Harispe S, Delsuc F, Douzery EJP. 2011. MACSE: Multiple Alignment of Coding SEquences Accounting for Frameshifts and Stop Codons. *PLoS ONE* 6(9): e22594.

- Réblová M, Gams W, Seifert K. 2011. Monilochaetes and allied genera of the Glomerellales, and a reconsideration of families in the Microascales. *Studies in Mycology* 68: 163–191.
- Rehner SA, Buckley E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 97: 84–89.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3 Bayesian Phylogenetic Inference under Mixed Models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Rossman AY, Farr DF, Castlebury LA. 2007. A review of the phylogeny and biology of the Diaporthales. *Mycoscience* 48: 135–144.
- Santos MDM, Fonseca MEN, Boiteux LS, Câmara PEAS, Dianese JC. 2016. ITS phylogeny and taxonomy of *Phyllachora* species on native Myrtaceae from the Brazilian Cerrado, *Mycologia* 108: 1141–1164.
- Schenk JJ. 2016. Consequences of Secondary Calibrations on Divergence Time Estimates. *PLOS ONE* 11: e0148228.
- Senanayake IC, Crous PW, Groenewald JZ, Maharachchikumbura SSN, Jeewon J, Phillips AJL, Bhat JD, Perera RH, Li QR, Li WJ, Tangthirasunun N. 2017. Families of Diaporthales based on morphological and phylogenetic evidence. *Studies in Mycology* 86: 217–296.
- Silva-Hanlin DM, Hanlin RT. 1998. The order Phyllachorales: taxonomic review. *Mycoscience* 39: 97–104.
- Spegazzini C. 1885. Fungi Guaranitici. Pugillus I. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 19: 241–265.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312–1313.

- Stevens FL. 1923. Parasitic fungi from British Guiana and Trinidad. Illinois Biology Monographs. 8:173-242.
- Sung GH, Sung JM, Hywel-Jones NL, Spatafora JW. 2007. A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 1204–1223.
- Sydow H. 1930. Fungi Venezuelani. *Annales Mycologici* 28: 29–224.
- Takamatsu S, Ito H, Shiroya YY, Kiss L, Heluta V. 2015. First comprehensive phylogenetic analysis of the genus *Erysiphe* (Erysiphales, Erysiphaceae) II: the *Uncinula* lineage, *Mycologia*: 107: 903–914.
- Taylor JW, Berbee ML. 2006. Dating divergences in the Fungal Tree of Life: review and new analyses. *Mycologia* 98: 838–849.
- Theissen F, Sydow H. 1915. Die Dothideales. Kritisch-systematisch Originaluntersuchungen. *Annales Mycologici* 13:147–746.
- Udayanga D, Xingzhong L, McKenzie EHC, Chukeatirote E, Bahkali A, Hyde KD. 2011. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common pathogens. *Fungal Diversity* 50: 189–225.
- Uecker FA. 1989. A timed sequence of development of *Diaporthe phaseolorum* (Diaporthaceae) from *Stokesia laevis*. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 49: 38–50.
- Viégas AP. 1943. Alguns fungos do cerrado. *Bragantia* 3: 49–72.
- 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.
- Voglmayr H, Castlebury LA, Jaklitsch WM. 2017. *Juglanconis* gen. nov. on Juglandaceae, and the new family Juglanconidaceae (Diaporthales). *Persoonia* 38: 136–155.

- Voglmayr H, Jaklitsch WM. 2014. Stilbosporaceae resurrected: generic reclassification and speciation. *Persoonia* 33: 61–82.
- Wehmeyer LE. 1937. Cultural life histories of *Melanconis* and *Pseudovalsia* III. The genus *Prosthecium* Fres. Emend. Petrak. *Papers of the Michigan Academy of Science, Arts and Letters* 23: 233–242.
- Wehmeyer LE. 1941. A revision of *Melanconis*, *Pseudovalsia*, *Prosthecium* and *Titania*. *University of Michigan Studies, Scientific series* 14: 1–161.
- 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*. Academic, San Diego. 315–322.
- Wijayawardene NN, Hyde KD, Rajeshkumar KC, Hawksworth DL, Madrid H, Kirk PM, Braun U, Singh RV, Crous PW, Kukwa M, Lücking R, Kurtzman CP, Yurkov A, Haelewaters D, Aptroot A, Lumbsch HT, Timdal E, Ertz D, Etayo J, Phillips AJL, Groenewald JZ, Papizadeh M, Selbmann L, Dayarathne MC, Weerakoon G, Gareth Jones EB, Suetrong S, Tian Q, Castañeda-Ruiz RF, Bahkali AH, Pang K, Tanaka K, Dai DQ, Sakayaroj J, Hujšlová M, Lombard L, Shenoy BD, Suija A, Maharachchikumbura SSN, Thambugala KM, Wanasinghe DN, Sharma BO, Gaikwad S, Pandit G, Zucconi L, Onofri S, Egidio E, Raja HA, Kodsueb R, Cáceres MES, Pérez-Ortega S, Fiuza PO, Monteiro JS, Vasilyeva LN, Shivas RG, Prieto M, Wedin M, Olariaga I, Lateef AA, Agrawal Y, Fazeli SAS, Amoozegar MA, Zhao GZ, Pfliegler WP, Sharma G, Oset M, Abdel-Wahab MA, Takamatsu S, Bensch K, Silva NI, Kesel AD. 2017. Notes for genera: Ascomycota. *Fungal Diversity* 86: 1–594.
- Zhang N, Castlebury LA, Miller AN, Huhndorf SM, Schoch CL, Seifert KA, Sung GH. 2006. An overview of the systematics of the Sordariomycetes based on a four-gene phylogeny. *Mycologia* 98: 1076–1087.

Zhao RL, Zhou JL, Chen J, Margaritecu S, Sánchez-Ramírez S, Hyde KD, Callac P, Parra LA, Li G, Moncalvo J. 2016. Towards standardizing taxonomic ranks using divergence times – a case study for reconstruction of the *Agaricus* taxonomic system. *Fungal Diversity* 78: 239-292.

CAPÍTULO III. PHAECHORELLACEAE: A NEW FAMILY OF DIAPORTHALES

Title: **Phaeochorellaceae a new tropical family of Diaporthales.**

Debora Cervieri Guterres

Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Samuel Galvão-Elias

Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF,

Brazil

Bruno César Pereira de Souza

Camila Pereira de Almeida

Danilo Batista Pinho

Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Maria do Desterro Mendes dos Santos

Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

José Carmine Dianese

Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, 70910-900, Brasília, DF, Brazil.

Corresponding author: jcarmine@gmail.com

ABSTRACT

Phaeochorella is a genus of biotrophic leaf parasites with a tropical distribution. Traditionally the genus was treated as a member of the family Phyllachoraceae based exclusively on morphological studies. We herein present molecular evidences elucidating the relationships of *Phaeochorella* with Phyllachorales and other Sordariomycetes, based on a multilocus analysis using rDNA nuclear sequences (nuclear small subunit nuc *18S*, nuclear large subunit nuc *28S* and nuclear internal transcribed spacer nuc *ITS*), the second largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*) and the translation elongation factor 1 (*TEF1*) genomic loci. The results showed the real positioning of *Phaeochorella* in Diaporthales, and not in Phyllachorales. *Phaeochorella parinari*, the type species, also present in native plant hosts from the Brazilian Cerrado, formed a clade with high support with *Phaeoappendicospora* species. Thus, a new family Phaeochorellaceae, including both genera, is proposed. Additionally, a dichotomous key is presented for identification of genera and species related to *Phaeochorella*, based on morphological characteristics.

Key Words: Cerrado; Multilocus Phylogeny; Neotropical Microfungi.

INTRODUCTION

Phaeochorella (Henn.) Theiss. & Syd. species are biotrophic leaf parasites traditionally included in family Phyllachoraceae, with six known species from the Tropics: *Phaeochorella artocarp* T.S. Ramakr. & K. Ramakr; *Ph. ciliata* Bat. & J.L. Bezerra; *Ph. clypeata* (G. Winter) Theiss. & Syd.; *Ph. machaerii* Bat. & Peres; *Ph. zonata* Petr., and the type species, *Ph. parinarii* (Henn.) Theiss. & Syd. (Theissen & Sydow 1915; Petrak 1947; Ramakrishnan & Ramakrishnan 1948; Batista & Peres 1960; Batista & Bezerra 1961; Kirk et al. 2008; www.indexfungorum.org 2017).

Phaeochorella parinarii was originally described by Hennings (1901) as *Cocconia parinarii* Henn. on living leaves of *Parinari mobola*, in South Africa. Based on *C. parinarii*, the genus *Phaeochorella* Theissen & Sydow, was established and then allocated in the family Phyllachoraceae, subfamily Scirrhinieae, tribe Catacaumineae, that also included the genera *Catacauma* Theissen & Sydow, *Catacaumella* Theiss. & Syd., *Schizochora* Syd. & P. Syd., *Phaeochora* Höhn., *Anisochora* Theiss. & Syd., *Placostroma* Theiss. & Syd., *Phaeodothiopsis* Theiss. & Syd., *Phragmocauma* Theiss. & Syd., and *Scolecodothis* Theiss. & Syd. (Theissen & Sydow 1915). *Phaeochora*, was considered the closest genus in relation to *Phaeochorella* because it also had brown 1-celled ascospores but in paraphysate asci. In addition to the type species, Theissen and Sydow (1915) included *Phaeochorella clypeata* (G. Winter) Theiss. & Syd. (= *Auerswaldia clypeata* G. Winter) within the genus.

In the description of Theissen & Sydow (1915), *Ph. Parinarii* was characterized by presenting a more or less thickened epiphyllous stroma covering the leaves, circular or irregular (1.5–4 mm diam.), arched (400–450 µm in height), black, shiny, sub-epidermal, on a flattened cell base, covered by epidermal clypeus, with a light brown, multi-loculate context. *Ascomata* perithecial, pyriform (300–400 µm diam.), with indistinct paraphysate neck. *Asci* cylindrical, 85–100 × 11–15 µm, paraphysate, with delicate hyphal paraphyses. *Ascospores*

single-celled, elliptic to oblong, $12\text{--}17 \times 8\text{--}9 \mu\text{m}$, with rounded ends, reddish to brown with a medium hyaline band, in a uniseriate arrangement.

The diagnosis of the genus given by Theissen & Sydow (1915) described *Phaeochorella* as similar to *Catacauma*, thus, with a stroma considered to be phyllachoroid, brown 1-celled spores; and paraphyses present, indicating that as *Catacauma* species, the fungus development occurred between the cuticle and the palisade layer of the host leaf. Doidge (1942, 1950) reports the fungus as very common in *Parinari* species in South Africa and differentiates it from *Phyllachora* only by the brown coloration of ascospores. Among the species with pigmented ascospores, *Phaeochorella* has smaller ascospores with a paler and lighter coloration than those of *Phaeochora*; and differs from *Sphaerodothis* by the form of ascospores, oblong to elliptical in *Phaeochorella* and globose in *Sphaerodothis* (Doidge 1942, 1950).

Petrak (1947) added the species *Phaeochorella zonata* and made an amendment to the genus description. He considered the genus as leaf parasites with bright, irregularly-shaped black foliar stroma, developing below the epidermis, on the subepidermal layers of the mesophyll. In this stroma one or more perithecia appeared immersed on top of a basal layer of olive-brown prosenchymatous tissue, under a black carbonaceous pseudoparenchymatous layer corresponding to an epidermal clypeus. Perithecia were described as papillate with numerous asci. The asci were shown to be cylindrical or cylindrical-cuneiform; and ascospores oval or elliptical, straight, rarely asymmetrical, dark brown with a subhyaline transverse band. Paraphyses numerous or sparse, delicate, sometimes twisted.

In the following years, however, four new species were described: *Phaeochorella artocarpii* on leaves of *Artocarpus lacucha*, *Ph. machaerii*, and *Ph. ciliata*, that together with *Ph. clypeata* did not fit in Petrak's (1947) concept of the genus, as none of them showed ascospores with median subhyaline transverse band, they all had simply brown ascospores. Thus, accepting the circumscription of *Phaeochorella* by Petrak (1947), we assume the genus

as being comprised of only two species: *Ph. parinarii* and *Ph. zonata*. The remaining species will deserve future attention whenever it becomes possible to have access to materials for reexamination and sequencing.

Phaeochorella parinarii is the species with the highest number of records and, as the epithet indicates, always in hosts of the genus *Parinari*: starting with the description of the type species on *Parinari capense* and *P. mobola* Oliv. (= *P. curatellifolia* (Oliv.) R. Grah.) in South Africa, and also present in Republic of Congo (Doidge 1950; Arx and Müller 1954). With new reports in Malaysia (Wiehe 1953; Peregrine & Siddiqi 1972), and finally found on *Parinari obtusifolia* in Brazil (Mendes et al. 1998).

Phaeochorella sphaerospora Chardón was found on leaves of *Machaerium angustifolium* in Colombia (Chardón & Toro 1930; Denis 1970), but the species was later synonymized to *Phyllachora conica* by Cannon (1991), who considered the coloration of the ascospore without taxonomic value to differentiate the two species, although the author did not examine the Chardón's holotype because it was presumably lost. Currently, there are no molecular data available for any of the species of the genus, whose species are defined exclusively by morphological characters. Thus, the present study aims to perform the phylogenetic positioning of *Phaeochorella parinarii* represented by material collected from the Cerrado on leaves of *Parinari obtusifolia*

MATERIAL AND METHODS

Morphological studies – Macromorphological examination of herbarium and fresh specimens were performed using stereomicroscope Leica model 205C and sectioned using a Leica CM 1850 freezing microtomet for visualization in light microscopy. Thin 20–30 μm sections were mounted on slides containing colorless lactoglycerol and visualized on a Leica DM 2500 microscope coupled to a Leica DFC 490 digital camera, using Nomarski interference microscopy. Size estimations for all structural components were based on at least 20 measurements when possible.

DNA extraction, amplification and sequencing – Genomic DNA extraction was performed from content material of ascomata and cirri of the asexual morph using a Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA) following the manufacturer's instructions. DNA quantification was conducted by comparison to a Low DNA Mass Ladder (Invitrogen, CA, USA) following electrophoresis in 1% agarose gels. PCR amplifications were performed on a DNA Engine (PTC-200) Peltier Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, CA, USA).

Four partial nuclear gene sequences (two ribosomal and two protein-coding genes) were amplified and sequenced: the nuclear large subunit ribosomal DNA (*nuc 28S rDNA*) and the nuclear internal transcribed spacer (*nuc ITS1–5.8S–ITS2 rDNA*), amplified with primers V9G (Hoog & van den Ende 1998), LR5 (Vilgalys & Hester 1990) and ITS4 (White et al. 1990); the second largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*), amplified with primers 5F2 (Sung et al. 2007) and 7cR (Liu et al. 1999); and the translation elongation factor 1 (*TEF1*), amplified with primers EF1–938F and EF1–2218R (Rehner & Buckley 2005).

PCR thermocycling was performed following DNA denaturation at 94 C for 1 min 30 s; 35 cycles of DNA denaturation at 94 C for 30 s, primer annealing 53 C (*18S*, *28S* and *ITS*), 56 C (*TEF1*) and 57 C (*RPB2*) for 30 s and extension at 72 C for 45 s, and a final extension at

72 C for 5 min, followed by storage at 10 C. PCR products were checked on 1.0 % agarose gels and purified with ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup.

Sequencing was performed at Macrogen Inc. USA (<http://www.macrogen.com>). Eletropherograms were manually checked and ambiguous positions were clarified considering forward and reverse sequences. Newly generated sequences were assembled and annotated using the software GENEIOUS 9.0.5 (Kearse et al. 2012) and deposited in GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Tabela 0-15).

Taxa sampling and alignment – To approximate the phylogenetic position of *P. parinari*, an exploratory analysis (data not shown) was performed including members of Sordariomycetes. Based on these results our taxa sampling was restricted to Diaporthales. The partial dataset of Senanayake et al. (2017) was used to construct a four gene matrix of *28S*, *ITS*, *RPB2* and *TEF1* containing 97 taxa, including our new generated sequences of *P. parinari* and outgroups.

Nucleotide sequences of ribosomal markers were aligned using the method E-INS-i (build in MAFFT 7.305, Katoh and Standley 2013) and manually checked in ALIVIEW (Larsson 2014). Coding sequences of *RPB2* and *TEF1* were aligned with Multiple Alignment of Coding Sequences (MASCE) (Ranwez et al. 2011). Assignment of codon position was confirmed by translating nucleotide sequences into predicted amino acids, checking for the absence of stop-codons and comparison with annotated *RPB2* reference sequences of *Neurospora crassa* AF107789, *Podospora anserina* AF107790, and *Chaetomium elatum* AF107791 (Liu et al. 1999), and for *TEF1* sequences in *Trichoderma reesei* Z23012 (Nakari et al 1993). All sequences downloaded from Genbank, together with the newly generated sequences are shown in Tabela 0-15. For all other analyses, a matrix of *ITS* was partitioned in *ITS1–5.8S–ITS2*, and matrices of *RPB2* and *TEF1* were partitioned in 1st, 2nd and 3rd codon positions.

Phylogenetic analysis – Maximum Likelihood (ML) analysis was performed using RAXML 8.2.9 (Stamatakis 2014), starting with a randomized stepwise addition parsimony tree under a GTR+GAMMA model. Branch support values were calculated using 1000 bootstrapping (BS) replicates under the same model. Bayesian Inference (BI) was performed using MRBAYES 3.2.6 (Ronquist and Huelsenbeck 2003), using the 4by4 mode of the GTR model for all partitions. Two independent chains were run, each one initiating from random trees and four simultaneous independent chains at 1×10^6 generations. Trees were sampled every 1000th generation. Four rate categories were used to approximate the gamma distribution. Average standard deviation of split frequencies (ASDSF) were checked as a chain convergence criterion. A total of 25% of all sampled trees were discarded as burn-in, while the remaining 75% were employed to estimate the Bayesian Posterior Probabilities (BPP) for branches. Both MRBAYES and RAXML were conducted using the CIPRES Science Gateway 3.1 (Miller et al. 2010).

Tabela 15. Specimens included in phylogenetic analyses.

Taxonomic group <i>Taxa</i> Voucher	Locality	Host / Substrate	nrLSU	nrITS	RPB2	TEF1
Sordariomycetidae, Calosphaerales						
<i>Calosphaeria africana</i>						
STEU 6182			EU367455	NR_135945		
<i>Calosphaeria pulchella</i>						
CBS 115999		<i>Prunus</i> sp.	AY761075	EU367451	GU180661	
<i>Jattaea</i> sp.						
MFLUCC 160534	Thailand	<i>Rhizophora mucronata</i>	KY034451	KY034452	KY039317	
Sordariomycetidae, Togniniales						
<i>Phaeoacremonium vibratile</i>						
CBS 117115	France	<i>Fagus sylvatica</i>	DQ649065	KF764573	HQ878611	KF764645
Sordariomycetidae, Diaporthales						
<i>Alneccium auctum</i>						
CBS 124263	Austria	<i>Alnus glutinosa</i>	KF570154	KF570154	KF570170	KF570200
<i>Ambarignomonium petiolorum</i>						
CBS 121227	USA: VA	<i>Liquidambar styraciflua</i>	EU255070	EU254748	EU219307	EU221898
<i>Amphiporthe hranicensis</i>						
CBS 119289	Austria	<i>Tilia platyphyllos</i>	EU199122	EU199178	EU199137	
<i>Apiognomonium errabunda</i>						

Taxonomic group <i>Taxa</i> Voucher	Locality	Host / Substrate	nrLSU	nrITS	RPB2	TEF1
AR 2813 <i>Celoporthe dispersa</i>	Switzerland	<i>Fagus sylvatica</i>	NG027592	DQ313525	DQ862014	DQ313565
CMW 9978 <i>Celoporthe eucalypti</i>	South Africa	<i>Syzygium cordatum</i>	HQ730854	AY214316		HQ730841
CMW 26913 <i>Celoporthe polygoni</i>	China	<i>Eucalyptus EC48 clone</i>	HQ730865	HQ730839		HQ730852
MFLU 170965 <i>Chiangraiomyces bauhiniae</i>	Germany	<i>Rumex acetosa</i>	MF190063			
MFLUCC 17 1669 <i>Chromendothia citrina</i>	Thailand	<i>Bauhinia sp.</i>	MF190064	MF190119	MF377603	MF377598
MFLUCC 17 1670 <i>Chrysoporthe cubensis</i>	Thailand	<i>Bauhinia sp.</i>	MF190065	MF190118	MF377604	MF377599
AR 3445 <i>Coniella africana</i>	Russia	<i>Quercus mongolica</i>	EU255074		EU219342	EU222013
CMW 14394 <i>Coniella australiensis</i>	Colombia	<i>Eucalyptus sp.</i>	JN940856	JN942342		GQ290137
CBS 114133 <i>Coniella fragariae</i>	South Africa	<i>Eucalyptus nitens</i>	AY339293	AY339344	KX833421	KX833600
IMI 261318 <i>Coniella straminea</i>	South Africa	Leaf litter	AF408336	AF408336	KX833497	KX833692
CBS 110394 <i>Coniella tibouchinae</i>	Peru: Iquitos	Forest soil	KJ710441	KJ710463	KX833499	KX833695
CBS 14922 <i>Coniella wangiensis</i>	USA	<i>Fragaria sp.</i>	AY339296	AY339348	KX833506	AY339366
CPC 18511 <i>Coryneum arausiaca</i>	Brazil: Minas Gerais	<i>Tibouchina granulosa</i>	JQ281776	JQ281774	KX833507	JQ281778
CPC 19397 <i>Cryptodiaporthe aesculi</i>	Australia	<i>Eucalyptus sp.</i>	JX069857	JX069873	KX833509	KX833705
MFLUCC 15 1110 <i>Cryptosporella hypodermia</i>	Italy	<i>Quercus sp.</i>	MF190067	MF190121	MF377610	MF377575
AR 3580 <i>Cryptosporella suffusa</i>	Austria	<i>Aesculus hippocastanum</i>	AF408342	EU199179	EU199138	
CBS 116866 <i>Cytospora centrivillosa</i>	Austria	<i>Ulmus minor</i>	AF408346	EU199181	EU199140	
CBS 121077 <i>Cytospora chrysoasperma</i>	Austria	<i>Alnus incana</i>	EU199124	EU199184	EU199142	
MFLUCC 17 1660 <i>Cytospora hippophaes</i>	Italy	<i>Sorbus domestica</i>	MF190069	MF190123	MF377601	
CFCC 89630 <i>Cytospora junipericola</i>	China: Yulin, Shaanxi	<i>Salix psammophila</i>	KF765690	KF765674	KF765706	
CFCC 89640 <i>Cytospora nivea</i>	China: Gannan, Gansu	<i>Hippophae rhamnoides</i>	KF765698	KF765682	KF765714	KP310865
BBH 42444 <i>Cytospora sacculus</i>	Italy	<i>Juniperus communis</i>	MF190071	MF190126		MF377579
CFCC 89643	China: Yulin, Shaanxi	<i>Salix psammophila</i>	KF765701	KF765685	KF765717	

Taxonomic group <i>Taxa</i> Voucher	Locality	Host / Substrat	nrLSU	nrITS	RPB2	TEF1
CFCC 89625	China: Gansu Province	<i>Juglans regia</i>	KR045725	KR045646		KP310861
<i>Diaporthe cassines</i> CBS 136440	South Africa: Western Cape Province	<i>Cassine peragua</i>	KF777208	KF777155	KF777244	
<i>Diaporthe eres</i> MFLUCC 14 0862	Russia	<i>Catalpa bignonioides</i>	MF190082	MF190135		MF377596
MFLUCC 17 1661	Russia	<i>Catalpa bignonioides</i>	MF190083	MF190136		MF377597
MFLUCC 17 1667	Russia	<i>Fraxinus pennsylvanica</i>	MF190080	MF190137		MF377594
MFLUCC 17 1668	Russia	<i>Fraxinus pennsylvanica</i>	MF190081	MF190138		MF377595
<i>Diaporthe rudis</i> IT 1526	Italy	<i>Acer campestre</i>	MF190088	MF190141		MF377576
MFLU 17 0895	Italy	<i>Acer campestre</i>	MF190089	MF190142		MF377577
<i>Discula destructiva</i> CBS 109771	USA	<i>Cornus nuttallii</i>	AF408359	EU199186	EU199144	
<i>Ditopella biseptata</i> MFLU 17 0884	Italy	<i>Alnus glutinosa</i>	MF190090	MF190148	MF377617	
<i>Ditopella ditopa</i> CBS 109748	Austria	<i>Alnus glutinosa</i>	EU199126	DQ323526	EU199145	
<i>Ditopellopsis sp.</i> CBS 121471	USA: NC	<i>Clethra alnifolia</i>	EU255088	EU254763	EU219254	EU221936
<i>Gnomonia gnomon</i> CBS 19953	Italy	<i>Corylus avellana</i>	AF408361	DQ491518	EU219295	EU221885
<i>Gnomoniopsis racemula</i> AR 3892	USA: MN	<i>Epilobium angustifolium</i>	EU255122	EU254841	EU219241	EU221889
<i>Hyaliappendispora galii</i> MFLUCC 161208	Italy	<i>Galium sp.</i>	MF190095	MF190150		
<i>Juglanconis juglandina</i> D96	Austria	<i>Juglans regia</i>	KY427145	KY427145	KY427195	KY427214
<i>Juglanconis oblonga</i> MAFF 410216	Japan	<i>Juglans ailanthifolia</i>	KY427153	KY427153	KY427203	KY427222
<i>Juglanconis pterocaryae</i> MAFF 410079	Japan	<i>Pterocarya rhoifolia</i>	KY427155	KY427155	KY427205	KY427224
<i>Lamproconium desmazieri</i> MFLUCC 15 0870	Russia	<i>Tilia sp.</i>	KX430135	KX430134	MF377605	MF377591
<i>Mazzantia napelli</i> AR 3498	Austria	<i>Aconitum lycoctonum</i>	AF408368		EU219345	EU222017
<i>Melanconiella chrysmelanconium</i> MFLU 17 0879	Italy	<i>Carpinus betulus</i>	MF190113	MF190167	MF377619	
<i>Melanconiella ellisii</i> BPI 878343		<i>Carpinus caroliniana</i>		JQ926271	JQ926339	JQ926406
<i>Melanconis alni</i> AR 3500	Austria	<i>Alnus viridis</i>	AF408371		EU219300	EU221896

Taxonomic group <i>Taxa</i> Voucher	Locality	Host / Substrate	nrLSU	nrITS	RPB2	TEF1
<i>Melanconis marginalis</i> AR 3442	Canada	<i>Alnus rubra</i>	AF408373	EU199197	EU219301	EU221991
<i>Microascospora rubi</i> MFLU 17 0886	Italy	<i>Rubus ulmifolia</i>	MF190098	MF190154	MF377611	MF377581
<i>Occultocarpon ailaoshanense</i> LCM 52201	China: Yunnan	<i>Alnus nepalensis</i>	JF779852	JF779848	JF779857	JF779862
<i>Ophioportha cyatheae</i> YMJ 1364	Taiwan	<i>Cyathea lepifera</i>	JX570891	JX570889	JX570893	KC465406
<i>Ophiognomonina melanostyla</i> LCM 38901	Germany: Hesse	<i>Tilia cordata</i>	JF779854	JF779850	JF779858	
<i>Ophiognomonina vasiljevae</i> AR 4298	USA: TN	<i>Juglans nigra</i>	EU255162	EU254977	EU219331	EU221999
• <i>Phaeochorella parinari</i> UB 23270	Brazil	<i>Parinari obtusifolia</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
UB 23808	Brazil	<i>Parinari obtusifolia</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Phaeocytostroma ambiguum</i> CPC 17077	South Africa	<i>Zea mays</i>	FR748100	FR748041		FR748073
<i>Pleuroceras pleurostylum</i> CBS 90679	Switzerland	<i>Salix helvetica</i>	EU255197	EU255061	EU219311	EU221962
<i>Pleuroceras tenellum</i> CBS 121082	USA: North Carolina	<i>Acer rubrum</i>	EU255202	EU199199	EU199155	EU221907
<i>Pseudoplagiostoma eucalypti</i> CPC 14161	Viet Nam	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	GU973604	GU973510		GU973540
<i>Pseudoplagiostoma oldii</i> CBS 115722	Australia	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	GU973610	GU973535		GU973565
<i>Pseudoplagiostoma variabile</i> CBS 113067	Uruguay	<i>Eucalyptus globulus</i>	GU973611	GU973536		GU973566
<i>Sirococcus tsugae</i> AR 4010	USA: Oregon	<i>Cedrus deodara</i>	EU255207	EF512478	EU219289	EU221928
<i>Stegosporium acerophilum</i> CBS 117025	USA	<i>Acer saccharum</i>	EU039993	EU039982	KF570173	EU040027
<i>Stilbospora macrosperma</i> CBS 121883	Austria: Leithenbachtal	<i>Carpinus betulus</i>	JX517299	JX517290	KF570196	

RESULTS

Nucleotide matrix description – nucleotide matrix of Diaporthales and outgroups including the three partial genes *28S*, *RPB2* and *TEF1* comprise a total of 3183 aligned sites, including gaps. Individual matrices contain respectively 1,326, 1,134 and 723 aligned positions, with 314, 605 and 222, variable sites, and 249, 585 and 168 parsimony informative. The evolutionary models selected for each locus are presented in Tabela 0-16.

Phylogenetic analyses – our results reveal that specimens of *P. parinari* form a full resolved monophyletic lineage in both BI and ML analyses (BPP = 1.00; BS = 100, respectively) within Diaporthales (BPP = 1.00; BS = 93) (Figure 0–1). *Phaeoappendicospora thailandensis* was resolved as a sister lineage of *Ph. parinari*, also receiving high phylogenetic support (BPP = 1.00; BS = 97).

Tabela 16. Evolutive models for each partition used as priors in Bayesian Inference.

Parameter	Partition						
	28S	<i>rpb2</i> 1 st	<i>rpb2</i> 2 nd	<i>rpb2</i> 3 rd	<i>tef1</i> 1 st	<i>tef1</i> 2 nd	<i>tef1</i> 3 rd
Matrix length	1326		1134			723	
Variable sites	314		605			222	
Parsimony informative	249		585			168	
Evolutionary model	GTR+I+G	TIM2+G	TPM3uf+I+G	TPM2uf+I+G	TPM2uf+G	F81+G	GTR+G
Likelihood	-6481.479	-2950.077	-1924.635	-12637.475	-747.340	-680.548	-1510.791
Base frequencies	-	-	-	-	-	-	-
Freq. A	0.261	0.270	0.366	0.152	0.304	0.329	0.013
Freq. C	0.234	0.263	0.207	0.330	0.181	0.253	0.565
Freq. G	0.287	0.343	0.172	0.287	0.381	0.172	0.275
Freq. T	0.219	0.125	0.255	0.231	0.135	0.246	0.147
Transition rates	-	-	-	-	-	equal	-
R (AC)	1.176	1.896	2.960	2.006	2.368	-	77.050
R (AG)	4.009	1.691	3.250	9.717	1.143	-	113.226
R (AT)	2.414	1.896	1.000	2.006	2.368	-	0.022
R (CG)	1.064	1.000	2.960	1.000	1.000	-	0.022
R (CT)	11.140	7.128	3.250	9.717	1.143	-	14.860
R (GT)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	-	1.000
Prop. Invariable sites	0.561	-	0.544	0.030	-	-	-
Gamma	0.646	0.269	0.746	3.002	0.113	0.084	0.768

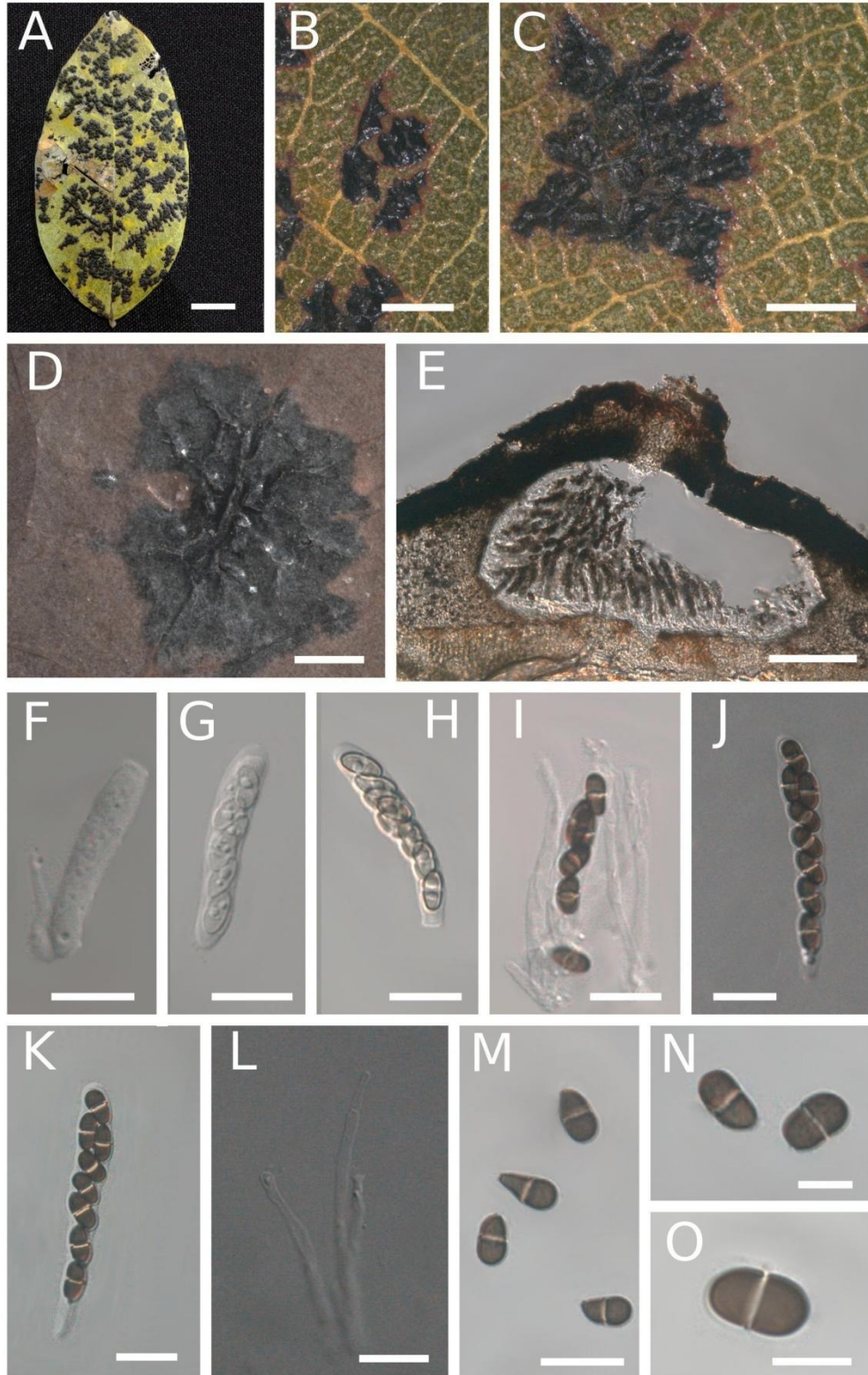


Figure 2. *Phaeochorella parinari* on leaves of *Parinari obtusifolia* (A–O). A–D. General view of pseudostromata. E. Transversal section of perithecium. F–K. Asci under different ontogenetic stages. L. Septate paraphysis. M–O. Ascospores. Bars: A = 1 cm, B–D = 2 cm, E = 100 μm, F–M = 20 μm, N–O = 10 μm.

TAXONOMY

Here we establish the new family *Phaeochorellaceae* based on two genera (*Phaeochorella* and *Phaeoappendicospora*).

Phaeochorellaceae Guterres, Galvão-Elias, Dianese, fam. nov.

MycoBank MB (not available)

Type genus: *Phaeochorella* Theiss. & Syd., Anns mycol. 13(3/4): 405 (1915)

MYCOBANK MB3899

Descriptions: Saprophytes or biotrophic in branches and leaves. Black pseudostromata, subepidermal, immersed or erumpent. *Ascomata* spheric, globular, subglobous or pyriform perithecia, opening by a peryphysed ostiole. *Peryphysis* filiform, delicate. *Asci* unitunicate, thin-walled, cylindrical, subclavate or elliptic, paraphysate. *Paraphyses* filiforms. *Ascospores* elliptic to cylindrical, dark brown, 0 to 1-septate.

Type species: *Phaeochorella parinarii* (Henn.) Theiss. & Syd., Anns mycol. 13(3/4): 405 (1915).

MYCOBANK MB187577

≡ *Cocconia parinari* P. Henn. Engl. Bot Jahrb. XXX. 1901, p. 257; Syll. F. XVIII, p. 159.

= *Phomachorella parinarii* Petr., Sydowia 1 (1-3): 126 (1947)

Descriptions: *Biotrophs* on living leaves. *Pseudostromata* 2–4 mm wide, epiphyllous, circular or irregular, solitary or gregarious, black, shiny, subepidermal, clypeate, multiloculate. *Ascomata* 158–350 µm diam., immersed in the pseudostromata, globose to ovoid, with a short periphysate neck. *Asci* 75–96 × 10–13 µm, cylindrical to subclavate, rounded at the apex, thin-walled, without conspicuous apical structures, 8-spored, paraphysate. *Paraphyses* 1.5–4 µm thick, hyaline, simple. *Ascospores* 10–13 × 4.5–7.5 µm, 1-

celled, uniseriate, seldom biseriate, elliptical, with rounded apices, brown with a hyaline median band.

Comment: Theissen & Sydow (1915) described the type species *P. parinarii* (Syn. *Cocconia parinari*) as follows:

“*Stromata epiphyllous, more or less densely covering the leaves, irregularly rounded, 1.5–4 mm in diameter, ovate, shiny, black, with a tuberculate surface, 400–450 μm high, subepidermal, without stratified cells, sitting on a flat base, covered by an epidermal clypeus; context light brown, vertical, prosenchymatic. Ascumata numerous, pear-shaped, 300–400 μm wide, with indistinctly periphysed neck. Asci cylindrical, 85–100 μm, 8-spored, paraphysate. Paraphyses slender, filamentous, hyaline. Ascospores mostly uniseriate, elliptic to oblong, rounded on both ends, reddish-brown, unicellular, with medium hyaline narrow transverse band, 12–17 × 8–9 μm*”.

The genus *Phaeochorella* Theiss. & Syd. (type species *Phaeochorella parinarii* (Henn.) Theiss. & Syd.) based on *Cocconia parinari* Henn. (Theissen & Sydow 1915), was found in Africa on *Parinari curatellifolia* (Oliv.) R. Grah. subsp. *mobola* (Syn. *P. mobola* Oliv.) (Hennings 1901).

Specimen examined: BRAZIL. FEDERAL DISTRICT. Brasília: Campus Darcy Ribeiro University of Brasilia, -15.772778 -47.865556, on living leaves of *Parinari obtusifolia*, May 7 2015, DC Guterres 114 (**epitype** UB Mycological Collection 23270). GenBank: ITS = n.d.; 28S = n.d.; 18S = n.d.; RPB2 = n.d.; TEF1 = n.d..

Other specimens examined: BRAZIL. FEDERAL DISTRICT: Brasília, Embrapa CPAC, Reserva do Mirante, -15.6168194 -47.7190111, on living leaves of *Parinari obtusifolia*, June 25 2015, BCP Souza 28, UB Mycological Collection 23808. GenBank: ITS = n.d.; 28S = n.d.; 18S = n.d.; RPB2 = n.d.; TEF1 = n.d.. Don Bosco Ecological Park, -15.6168194 -47.7190111, on living leaves of *Parinari obtusifolia*, October 10 2016, DC

Guterres 115, UB Mycological Collection 23806. GenBank: ITS = n.d.; 28S = n.d.; 18S = n.d.; RPB2 = n.d.; TEF1 = n.d.

Key to species of Phaeochorellaceae

- 1 Elliptical, brown, single-celled ascospores 2
- 1 Elliptic, brown, bicellular, *Phaeappendicospora thailandensis*
- 2 Ascospores, brown, with medium hyaline band, on leaves of *Parinari* species
..... *Phaeochorella parinari*
- 2 Ascospores, brown, with medium hyaline band, on leaves of fabaceous
hosts..... *Phaeochorella zonata*

DISCUSSION

The specimens examined present the diagnostic characteristics of the type species of the genus *Phaeochorella* Theiss. & Syd., a genus of leaf parasites with a tropical distribution, and six known species: *Phaeochorella artocarpi*; *Ph. ciliata*; *Ph. clypeata*; *Ph. machaerii*; *Ph. zonata*, and the type species *Ph. parinari* (Theissen & Sydow 1915; Petrak 1947; Ramakrishnan & Ramakrishnan 1948; Batista & Peres 1960; Batista & Bezerra 1961; Kirk et al. 2008; www.indexfungorum.org 2017). However, only *Ph. parinari* and *Ph. zonata* meet the criteria of the genus as circumscribed by Petrak (1947). There is no molecular data to verify the position of the species in relation to each other. However, we herein show the needed phylogeny for the type species of the genus, *Ph. parinari* that, in the absence of a type material, will be herein epitypified. However, there is no doubt about the specimens in the study that morphologically represent the type species of the genus.

Furthermore *Phaeochorella* represented by two specimens of *Ph. parinari*, when considered an ample phylogenetic analysis containing representative members of families was shown to belong in order Diaporthales, however clustered with a representative of the genus *Phaeoappendicospora* segregated from all families included in the analyses (Figure 0–1).

Thus, *Ph. parinari* formed a well supported clade (ML = 97; BI = 1) with *Phaeoappendicospora* Senan., Q.R. Li & K.D. Hyde, which is considered a genus *incertae sedis* in the Diaporthales. *Phaeoappendicospora* is a monotypical genus containing the species *Phaeo. thailandensis* Q.R. Li, Senan. & K.D. Hyde, found on dead branches of *Quercus* sp. (Fagaceae). Further differing from *Phaeochorella* by its 1-septate, guttulate, appendiculate ascospores, with rounded appendages at both ends.

The stromata in *Phaeo. thailandensis* is formed by a light brown hyphal web surrounding the upper portion of the perithecia, which is immersed, gregarious, globose to subglobose in shape, ostiolate; with ostioles in black papillae with a coriaceous texture. It has

black, cylindrical, lateral papillae, permeated by hyaline filamentous periphyses. The perithecial peridium is formed by a few layers of black thick walled cells, showing *textura angularis*. The hamathecium contains few septate paraphyses, whose height exceeds that of the asci. The asci are unitunicate, cylindrical, containing 8 ascospores. The asexual form is not known (Senanayake et al. 2017).

Phaeoappendicospora was considered *incertae sedis* without phylogenetic relation with any of the families in Diaporthales (Senanayake et al. 2017), but with the inclusion of *Phaeochorella* in the order, the two genera clearly form a monophyletic pair that must be recognized as constituting a family, herein designated as *Phaeochorellaceae*, considering the older name *Phaeochorella* (Theissen & Sydow 1915).

LITERATURE CITED

- Arx JA von, Müller E. 1954. Die Gattungen der amerosporen Pyrenomyceten. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz 11: 1–434.
- Batista AC, Bezerra JL. 1961. Discomycetidae e Pyrenomycetidae novos ou vulgares. Memórias da Sociedade Broteriana 14:29–47.
- Batista AC, Peres GEP. 1960. Ascomycetes Fitoparasitos. Publicações IMUR 277:1–25.
- Cannon PF. 1991. A revision of Phyllachora and some similar genera on the host family Leguminosae. Mycological Papers 163: 1–302.
- Chardon CE, Toro RA. 1930. Mycological Explorations of Colombia. Journal of the Department of Agriculture of Porto Rico 14:195–369.
- Crous PW, Phillips AJL, Baxter AP. 2000. Phytopathogenic Fungi from South Africa. University of Stellenbosch, Department of Plant Pathology Press, 358 p.
- Dennis RWG. 1970. Kew Bulletin Additional Series III. Fungus Flora of Venezuela and Adjacent Countries. Verlag von J. Cramer, 531 p.
- Doidge EM. 1950. The South African fungi and lichens to the end of 1945. Bothalia 5: 1–1094.
- Doige EM 1942. Revised descriptions of South African species of Phyllachora and related genera.
- Hennings P. 1901. Fungi. In: A. Engler, Beiträge zur Flora von Afrika XXII. Botanische Jahrbücher für Systematik Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie. 30:254–257.
- Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. 2008. Dictionary of the fungi, 10th Edition. Wallingford: CAB International. 771 p.
- Mendes MAS, da Silva VL, Dianese JC, and et al. 1998. Fungos em Plants no Brasil. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen. 555 p.

- Peregrine WTH, Siddiqi MA. 1972. A revised and annotated list of plant diseases in Malawi. *Phytopathol. Pap.* 16: 1–51.
- Petrak F. 1947. Über die Gattungen *Phaeochorella* Theiss. & t Syd. und *Phomachorella* n. gen. *Sydowia* 1:120–126.
- Ramakrishnan TS, Ramakrishnan K. 1948. Additions to fungi of Madras IV. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences Section B.* 27:33–46.
- Senanayake IC, Crous PW, Groenewald JZ, Maharachchikumbura SSN, Jeewon J, Phillips AJL, Bhat JD, Perera RH, Li QR, Li WJ, Tangthirasunun N. 2017. Families of Diaporthales based on morphological and phylogenetic evidence. *Studies in Mycology* 86: 217–296.
- Theissen F, Sydow H. 1915. Die Dothideales. *Kritisch-systematische Originaluntersuchungen. Annales Mycologici.* 13:147–746.
- Wiehe PO. 1953. The plant diseases of Nyasaland. *Mycol. Pap.* 53: 1–39.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise filogenética exploratória revelou que os fungos filacoroides do Cerrado constituem um grupamento polifilético distribuídos em duas ordens de Sordariomycetes: Diaporthales e Phyllachorales.

Espécimes pertencentes aos gêneros *Camarotella*, *Cocodiella*, *Ophiodothella*, *Phyllachora* e *Telimena* foram filogeneticamente alocados em Phyllachorales. Já os gêneros *Apiosphaeria* e *Phaeochorella*, representados pelas espécies tipo dos respectivos gêneros, *A. guaranítica* e *Ph. parinari*, foram alocados em Diaporthales com alto suporte filogenético.

O gênero *Phyllachora* é polifilético, com espécies pertencentes às famílias Telimenaceae e Phyllachoraceae *sensu lato*. *Phyllachora salaciae* pertence à família Telimenaceae e deverá ser recombinação e publicada como *Telimena salaciae*.

Seis novas espécies pertencentes à ordem Phyllachorales foram descritas e alocadas nos gêneros *Camarotella* (1 esp.), *Ophiodothella* (2 esp.), *Phyllachora* (2 esp.) e *Telimena* (1 esp.), a partir de holótipos coletados em diversos estados pertencentes ao Domínio Cerrado.

Dez espécies atualmente reconhecidas e pertencentes aos gêneros *Apiosphaeria*, *Cocodiella*, *Phaeochorella*, *Phyllachora* e *Telimena* tiveram as regiões *nrITS*, *nrSSU* e *nrLSU* do DNA ribossomal, e dos genes nucleares codificadores de proteínas *RPB2* e *TEF1- α* parcialmente sequenciadas foram também descritas morfológicamente em detalhe. As sequências nucleotídicas geradas serão depositadas primeiramente no GenBank e com base no conjunto dos dados as seguintes espécies serão epitipificadas: *Cocodiella peribebuyensis*, *Telimena salaciae*, *Phyllachora maprouneae*, *P. oxyspora*, *P. pouteriae*, *P. puncta*, *P. qualeae*, *P. roupalina*, *A. guaranítica* e *Phaeochorella parinari*.

Um grande número de espécies filacoroides foi descrito no Cerrado e muitos deles ainda devem ser estudados utilizando marcadores moleculares, contribuindo para o avanço no conhecimento sobre as relações filogenéticas desse grupo de fungos.