

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA DIVERSIDADE DE
FUNGOS ASSOCIADOS A LESÕES FOLIARES EM PLANTAS NA
CAATINGA**

DIOGO FERREIRA ALVES

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
ABRIL - 2012**

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA DIVERSIDADE DE FUNGOS ASSOCIADOS A LESÕES FOLIARES EM PLANTAS NA CAATINGA

DIOGO FERREIRA ALVES

Biólogo

Centro Universitário De Vila Velha, 2009

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientador: Jorge Teodoro de Souza

Co-Orientador: Olinto Liparini Pereira

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

ABRIL - 2012

FICHA CATALOGRÁFICA

A474

Alves, Diogo Ferreira.

Contribuição para o conhecimento da diversidade de fungos associados a lesões foliares em plantas na Caatinga / Diogo Ferreira Alves._ Cruz das Almas, BA, 2012.

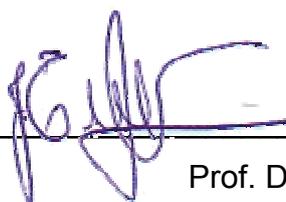
40f.; il.

Orientador: Jorge Teodoro de Souza.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
DIOGO FERREIRA ALVES**



Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
(Orientador)



Dr. José Luis Bezerra
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC



Dr. Carlos Antonio Inácio
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
ABRIL - 2012**

**A minha família, familiares e amigos,
dedico.**

AGRADECIMENTOS

A minha Mãe, meu Pai e aos familiares que deram suporte a minha estadia em Cruz das Almas BA;

Ao Prof. Dr. Phellippe Arthur Santos Marbach, pelo total suporte ao final da minha formação acadêmica e após a minha vinda para a região de Cruz das Almas BA até o agraciamento da bolsa de estudos no mestrado;

Ao Prof. Dr. Jorge Teodoro de Souza, pelo compromisso com a ciência, competência profissional, disposição e paciência no processo de orientação durante esses dois anos;

Ao programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado;

Aos professores do Mestrado em Microbiologia Agrícola, pelos ensinamentos;

Aos Professores Doutores Olinto Liparini e Robert Barreto, por ter aberto as portas do seu laboratório e a clínica fitossanitária da Universidade Federal de Viçosa. E seus orientandos por me acolherem no laboratório e ensinar algumas rotinas dentro da Micologia;

Às técnicas (os), em especial Lene, Carol Yamamoto e Patrícia do Laboratório de Microbiologia, por estar sempre dispostas (os) a ajudarem;

Ao REUNI, pela concessão da bolsa durante um período do curso;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente, incluindo os que não atrapalharam, para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

ÍNDICE

RESUMO.....	2
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO GERAL.....	4
REVISÃO DE LITERATURA.....	5
Biodiversidade de Fungos.....	5
Fungos no Bioma Caatinga	6
MATERIAL E MÉTODOS	13
Coleta, isolamento e caracterização morfológica	13
Caracterização molecular.	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
<i>Araripea incasinata</i> gen. et sp. nov. D. F. Alves & J. T. de Souza	15
Observações sobre o isolado FAR50.....	25
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
REFERÊNCIAS.....	33

RESUMO

Alves, D. F. **Contribuição para o Conhecimento da Diversidade de Fungos Associados a Lesões Foliares em Plantas na Caatinga**. Cruz das Almas, 2012. 43 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

A diversidade de fungos associados a lesões foliares em plantas na caatinga é pouco conhecida. Nesse trabalho, dois isolados de fungos com apêndices coletados em um enclave de cerrado na Chapada do Araripe, CE foram estudados. *Araripea incasinata* gen. et sp. nov. foi descrita em folhas de aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva*). O novo gênero difere morfológicamente dos outros por apresentar acérvulo com himênio não estromático, células conidiogênicas não ramificadas com secessão esquizolítica e conídios com apêndices polares não ramificados. Sequências da região ITS do rDNA de *A. incasinata* apresentaram 11% de diferença quando comparadas com sequências da mesma região do gênero *Bartalinia* e da espécie *Truncatella spadicea*, considerados os taxa mais próximos de *A. incasinata*. A espécie *A. incasinata* é a única do gênero até o momento e está inserida na ordem *Xylariales* e família *Amphispheriaceae*. O isolado FAR50, morfológicamente indistinguível de *Harknessia qualea*, descrita em *Qualea grandiflora* no cerrado do Brasil Central, foi encontrado em *Q. parviflora* na Chapada do Araripe. No entanto, análises morfológicas e moleculares indicam que o isolado FAR50 e *H. qualeae* não pertencem ao gênero *Harknessia* pois não possuem apêndice basal e secessão rexolítica, como as espécies de *Harknessia* descritas até o momento. Além disso, as sequências da região ITS do rDNA do isolado FAR50, quando comparadas com sequências desse gene de outras espécies de *Harknessia* dos bancos de dados de livre acesso, apresentaram uma média de 21% de diferença. O isolado FAR50 apresenta-se tão distante de *Harknessia* que não pode ser classificado na mesma família. Esse trabalho representa mais uma contribuição para se conhecer a diversidade de fungos associados a lesões foliares na região semi-árida.

Palavras-chave: *Araripea incasinata*; *Harknessia qualeae*; ITS; TEF1a; Semi-árido.

ABSTRACT

Alves, D. F. Toward an increased knowledge of the fungal diversity associated with foliar lesions in plants in the caatinga.

The diversity of fungi associated with foliar lesions in plants from the caatinga is poorly known. In this research, two fungal isolates with appendage-bearing conidia from a Cerrado remanescent in the reserve of Chapada do Araripe, CE were studied. *Araripea incasinata* gen. et. sp. nov. was described in living leaves of *Myracrodruon urundeuva*. The new genus differs morphologically from other genera for presenting acervuli with non-stromatic hymenium, unbranched conidiogenous cells with schizolytic secession and conidia with two polar unbranched appendages. Sequences of the ITS region of the rDNA of *A. incasinata* showed 11% of difference when compared with ITS sequences of *Bartalinia* and *Truncatella spadicea*, considered to be the closest taxa to *A. incasinata*. The species *A. incasinata* is the only species in the genus up to now and is classified in the order *Xylariales* and family *Amphispheriaceae*. The isolate FAR50, morphologically indistinguishable from *Harknessia qualea*, described on *Qualea grandiflora* in the Cerrado of central Brazil, was found on *Q. parviflora* in the National Park Chapada do Araripe. However, morphological and molecular analyses indicate that FAR50 and *H. qualeae* do not belong in the genus *Harknessia*. These fungi do not possess a basal appendage and rhexolytic secession, as observed in all *Harknessia* species described up to this moment. Additionally, ITS sequences of FAR50, when compared with ITS sequences of *Harknessia* species from public databases, showed 21% of difference. FAR50 is so distant from *Harknessia* that cannot be classified in the same family. This study contributes with additional information on the diversity of fungi associated with foliar lesions in the Semiarid region.

Keywords: *Araripea incasinata*; *Harknessia qualeae*; ITS; TEF1a; Semiarid.

INTRODUÇÃO GERAL

Apesar das inúmeras tentativas para se estimar a biodiversidade dos microrganismos (CANNON; HAWKSWORTH, 1995; HAWKSWORTH, 1991, 2001), ainda não existem números confiáveis o suficiente para o número de espécies desses seres no planeta Terra.

No panorama atual de desenvolvimento global, áreas que eram inexploradas e intactas estão se tornando cada vez mais utilizadas para as diversas atividades do desenvolvimento humano. No Brasil, esse quadro não é diferente.

As áreas tropicais, nas quais grande parte do território brasileiro está inserida, são consideradas por muitas autoridades no assunto como detentoras da maior diversidade do globo (HAWKSWORTH, 1991, 2001).

Dentre os biomas brasileiros, a caatinga, localizada na região semiárida do nordeste brasileiro (DRECHSLER-SANTOS et al., 2009), está entre as regiões onde ainda são escassos os estudos de biodiversidade em geral e especificamente de microrganismos.

O conhecimento sobre a diversidade de fungos na caatinga é muito menor se comparado a estudos envolvendo as disciplinas de zoologia e botânica. Alguns estudos foram realizados com macrofungos, micorrizas e fungos decompositores no âmbito do projeto PPBio (DRECHSLER-SANTOS; GIBERTONI, 2009; DRECHSLER-SANTOS *et al.*, 2008; GIBERTONI; DRECHSLER-SANTOS, 2010; GOTO *et al.*, 2010), mas pouco se sabe sobre os fungos fitopatogênicos que ocorrem na região semiárida, com exceção dos trabalhos de A. C. Batista *et al.* (<http://www.cybertruffle.org.uk/cgi-bin/bibquery.pl?author=batista,%20a.c.>; (SILVA; MINTER, 1995).

Este trabalho teve por finalidade contribuir para o conhecimento da diversidade de fungos associados a lesões foliares no bioma caatinga da região semiárida do Brasil. Para isso, levantamentos foram realizados na reserva da Chapada do Araripe, CE, em enclaves de cerrado na caatinga. Dois isolados de fungos com apêndice foram selecionados para os estudos aqui relatados.

REVISÃO DE LITERATURA

Biodiversidade de Fungos. Vários autores nos últimos anos discutem estimativas sobre a biodiversidade de fungos no planeta (CANNON; HAWKSWORTH, 1995; HAWKSWORTH; ROSSMAN, 1997; HAWKSWORTH, 1991, 2001; PASCOE, 1990; SMITH; WALLER, 1992). Mesmo assim, não existem informações confiáveis o suficiente para o número de espécies desses seres na Terra.

A estimativa mais aceita é a de HAWKSWORTH (1991), que estimou em cerca de 1,5 milhões de espécies de fungos no planeta, sendo esse valor conservador e subestimado para muitos autores. Em trabalhos consecutivos HAWKSWORTH (2001, 2004) reconhece que sua estimativa é conservadora, pois esse valor foi baseado em trabalhos realizados nas Ilhas Britânicas, onde estimou que cada espécie de planta conhecida abriga cerca de seis espécies fúngicas. Howksworth extrapolou a estimativa de espécies vegetais no planeta feito por JONES (1951) de 260 mil para 270 mil, chegando assim a sua estimativa de 1,5 milhões de espécies de fungos. Esse resultado possui uma correção para as espécies que se conhece a conexão do anamórfo com teleomórfo. Porém, Hawksworth não considerou espécies de fungos associados a insetos e nem os líquens, o que poderia duplicar a estimativa, justificando a opinião de muitos pesquisadores de que o valor é conservador.

Outro dado que Hawksworth não levou em consideração foi a região dos trópicos, pois existem poucos trabalhos nessas regiões. Atualmente, muitos pesquisadores acreditam que essa é a área mais diversificada do globo terrestre (MITTERMEIER *et al.*, 1998). O Brasil encontra-se incluído nos trópicos e detém aproximadamente 19% da biodiversidade da flora mundial em seu território. Cerca de 45% das espécies de angiospermas encontradas no território brasileiro é endêmica (GIULIETT *et al.*, 2005).

Segundo KIRK *et al.* (2001) entre gêneros e espécies já foram registrados respectivamente 3.409/32.739 Ascomycota, 1.353/29.914 Basidiomycota, 171/901 Zygomycota, 123/914 Chytridiomycota, 10/189 Glomeromycota, 80/879 Myxomycota e 92/808 Oomycota. Os mesmo autores em uma publicação mais

recente relatam um aumento para os números de gêneros e espécies em 6.355/64.163 Ascomycota, 1.589/31.515 Basidiomycota, 171/901 Zygomycota, 105/706 Chytridiomycota, 12/169 Glomeromycota, e 106/956 Oomycota e o grupo Myxomycota não foi relatado registros (KIRK *et al.*, 2008).

Fungos no Bioma Caatinga. Devido a sua grande extensão territorial, além de estar em uma faixa tropical e uma pequena parte na região temperada, ocorrem no Brasil sete biomas, sendo eles mata atlântica, amazônia, pantanal, campos sulinos, cerrado, caatinga e o bioma marinho zona marinha. dentre esses a caatinga é singular no planeta. Segundo dados do Ministério da Integração Nacional (<http://www.mi.gov.br>) em 2005 o nordeste passou a ter cerca de 70% de seu território inserido na divisão político-administrativo denominado Semiárido Brasileiro, tendo como sinônimo “polígono das secas”.

O polígono das secas é fortemente castigado pelos fatores físico-químicos peculiares na região do semiárido brasileiro, que são: pluviosidade irregular e curta ao longo do ano; temperaturas elevadas, baixas e variadas conforme a altitude do local; deficiência hídrica do solo em consequência da alta evapotranspiração e baixa capacidade de retenção da água do mesmo (ARAÚJO *et al.*, 1999; HARLEY, 1995; REIS, 1996; RODAL; MELO, 1999; VELLOSO *et al.*, 2002). Conforme o sistema de classificação Koppen (NIMER, 1989), o clima da região semiárida brasileira é classificado como BSh análogo a outras áreas classificadas como semiáridas localizadas nos trópicos do planeta. Devido a esses fatores predomina as fisionomias vegetacionais de Caatingas (LEMOS; RODAL, 2002; SAMPAIO *et al.*, 2003).

A caatinga na região semiárida apresenta-se nas mais diversas fitofisionomias. Além disso, as irregularidades no relevo proporcionam uma diversidade vegetal de diferentes tipos, que são: matas úmidas, matas estacionais, cerrados, tabuleiros, campos rupestres e resquícios de mata atlântica. Devido a essa heterogeneidade aliada à complexidade da vegetação no semiárido, torna-se difícil classificar padrões e distribuição das fitofisionomias. Consequentemente observam-se vários mosaicos na vegetação ao longo do relevo desigual na área semiárida (ARAÚJO; FERRAZ, 2003; EGLER, 1951). Esse conjunto de fatores que atuam no bioma caatinga a transformam em exuberante e diversificada, oposto ao que muitos acreditavam ser uma vegetação

inútil (SILVA, 1986). Devido a essa visão simplista e medíocre sobre esse bioma, desde o descobrimento do Brasil, ações antrópicas tem se intensificado ao longo dos anos sob a justificativa da improdutividade, fonte de recursos baixa e sem atrativos visuais e turísticos.

Investimentos em projetos de bioprospecção como o Instituto do Milênio do Semi-Árido - IMSEAR (2002-2006) e o Programa de Pesquisa em Biodiversidade do Semi-Árido - PPBio Semi-Árido (2006-atual) tem estimulado pesquisas na região para aumentar os conhecimentos sobre a região semiárida do país. Os investimentos feitos até o momento no Brasil para o estudo da biodiversidade de fungos na caatinga ainda são poucos para um país que deveria ser o principal protagonista quando o assunto é biodiversidade.

Inicialmente os estudos taxonômicos com fungos fitopatogênicos na caatinga foram quase exclusivamente realizados por Batista e colaboradores, hoje ainda considerado um dos maiores micologistas da história do Brasil (DIANESE *et al.*, 1997; SILVA; MINTER, 1995).

Os dados registrados para fungos totalizam 955 espécies descritas na região semiárida, desses os fungos anamórficos representam 407 taxa, sendo o mais representativo se compararmos com os valores dos filos Ascomycota (179), Basidiomycota (125), Zygomycota (18), Chytridiomycota (34), Glomeromycota (52), Myxomycota (97) e Oomycota (42). Se compararmos com a estimativa do número de espécies para o planeta que HAWKSWORTH (1991, 2001) apresenta, ainda é pequeno o número de espécies relatadas para a caatinga.

Ao organizarmos os dados sobre a biodiversidade de fungos na caatinga para os estados onde ela ocorre, Pernambuco (500) é o que mais se destaca seguido pela Bahia (450), Piauí (200), Paraíba (100), Ceará (50), Minas Gerais junto com Rio Grande do Norte e Alagoas somam menos de 50 representantes e para Sergipe não existem dados. Apesar desses registros, o grupo dos fungos patogênicos a plantas nativas é pouco estudado.

O grupo de fungos fitopatogênicos que produzem conídios ocorrem em uma frequência maior em relação aos que se reproduzem de forma sexuada. Já foram relatados 407 espécies pertencentes a 176 gêneros de fungos anamórficos na caatinga. Citamos como exemplos: *Penicillium* (42 spp.), *Aspergillus* (18 spp.), *Phyllosticta* (17 spp.), *Fusarium* (14 spp.), *Colletotrichum* e *Phoma* (9 spp.), *Curvularia* (8 spp.) entre outros.

Neste trabalho concentramos nossos esforços no estudo de fungos do grupo de Coelomycetos que produzem conídios com apêndice.

Coelomycetos com apêndices. NAG RAJ (1993) relata que em 1796 foi reconhecido o primeiro fungo acervular ou picnidial. Desde então, esse grupo vem crescendo cada vez mais. Atualmente Coelomycetos são fungos que produzem conídios dentro de uma cavidade (KIRK *et al.*, 2008; SUTTON, 1980). Apesar de sabermos que o grupo não representa uma classificação filogenética, ainda pode ser utilizado de maneira didática para nomear os fungos que produzem acervulo, picnidio ou picnótirio, podendo ter variações de formas próximas ou indeterminadas. Outra característica que pode estar presente ou não é o estroma, camada espessa formada pelo tecido do fungo apenas ou juntamente com o tecido do hospedeiro (ABBAS *et al.*, 1997; KIRK *et al.*, 2008; NAG RAJ, 1993; SUTTON, 1980). Os conídios dessas espécies podem conter apêndices, definidos como celulares e extracelulares que são utilizados como diagnóstico taxonômico para separação de gêneros e espécies. Os apêndices celulares possuem a conexão protoplasmática com a célula do conídio, enquanto que os apêndices extracelulares tem sua origem na camada mucilaginosa e possuem um septo ou são restos da célula conidiogênica (ABBAS *et al.*, 1997; NAG RAJ, 1993; SUTTON, 1980). Suas formas e características também são variadas, do filiforme ao atenuado, simples ou ramificado, nucleado ou não, lúmen reduzido ou não durante o desenvolvimento do conídio e surgimento antes ou após o desenvolvimento pleno do corpo conidial (ABBAS *et al.*, 1997; NAG RAJ, 1993; SUTTON, 1980). Além dessas características outra importante, inclusive bastante utilizada como diagnóstico taxonômico é a posição no conídio. Alguns apêndices ocorrem na célula basal, apical ou lateral apenas; outras ocorrem em ambas as células apicais e basais; existem espécies que pode ser separadas apenas por conter um apêndice de origem lateral, como *Apharknessia insueta* em comparação com *Harknessia* que não possui esse tipo de apêndice (CROUS *et al.*, 1993, 2012). Vários autores ressaltam a importância dessa característica morfológica, porém, usa-la como único critério não é aconselhável.

De um modo geral, o apêndice contribui para uma melhora na disseminação dos conídios. Essa característica é comum a fungos adaptados para determinados nichos ecológicos especiais como é o caso daqueles que

vivem em ambientes marinhos, fungos coprófilos, de águas doces e em menor grau até aquelas espécies que vivem em habitat terrestres. Outro fato interessante é que cerca de 40% de fungos pertencentes aos Coelomycetos possui apêndice (ABBAS *et al.*, 1997; NAG RAJ, 1993; SUTTON, 1980).

A Tabela 1 mostra algumas características morfológicas de gêneros próximos aos analisadas pelo autor do presente trabalho. O autor selecionou, dentre os mais de 500 isolados obtidos de 4 áreas de conservação na caatinga, dois Coelomycetos com apêndices para os estudos aqui relatados. Portanto, os objetivos do trabalho foram obter isolados fitopatogênicos e endofíticos de plantas nativas na caatinga e caracterizar detalhadamente dois Coelomycetos com apêndices conidiais.

Tabela 1. Características morfológicas de gêneros semelhantes aos estudados neste trabalho

	<i>Asteromidium</i>	<i>Bartalinia</i>	<i>Discosia</i>	<i>Monochaetia</i>	<i>Morinia</i>	<i>Seimatosporium</i>	<i>Truncatella</i>	<i>Harknessia</i>
Micelio	Hialino	marrom claro	marrom claro	marrom claro a hialino	marrom claro a hialino	marrom claro a hialino	marrom claro a hialino	marrom claro a hialino
	Acervular	picnidial a indeterminado	aplanado a picnidioide	acervular	acervular	acervular a indeterminado	acervular a picnidioide	indeterminado picnidioide
	Subcuticular	imerso	epidermal	não descrito	subepidermal	folicola cortical	epidermal a subepidermal	imerso
Conidioma	separado ou confluyente	separado	separado, agregado ou confluyente	separado ou confluyente	separado	separado	separado ou confluyente	não descrito
	não estromático	estromático	estromático	estromático	estromático	estromático	estromático	estromático
	himênio fino	himênio fino	himênio fino	himênio fino	himênio fino	himênio fino	himênio fino	himênio fino
	não. desrito	uni-plurilocular	uni-plurilocular	não descrito	não descrito	não descrito	unilocular	unilocular raramente multilocular
Textura	angularis	angularis, globosa e prismatoidea	porrecta, angularis e epidermoidea	angularis	angularis	angularis	angularis	angularis a globosa
Mucilagem	presente	não descrito	não descrito	não descrito	não descrito	não descrito	não descrito	presente em algumas sp.
Deicência	irregular	ostiole	ostiole	irregular	irregular	quebra tecido	irregular quebra tecido	ostiole ou irregular

	-	presente frequentemente ausente	presente frequentemente ausente	presente frequentemente ausente	cilindrico flexível	cilindrico	cilindrico	filiforme
Conidióforo	-	septos escassos	septos escassos	septado	septado	septado	septado basal e apical	1-2 septado basal em 1 sp.
	-	ramificado irregular	ramificado irregular	ramificado	ramificado basal	ramificado	ramificado	ramificado em 1 sp.
	-	hialino	hialino	hialino	hialino	hialino	hialino	não descrito
	-	muco	muco	muco	não descrito	muco	muco	muco
	holoblástica	holoblástica	holoblástica	holoblástica	holoblástica	holoblástica	holoblástica	holoblástica
	discreta	discreta	discreta	discreta ou integrada	integrada	discreta ou integrada	discreta ou integrada	discreta raramente integrada
Cel. Conidiogênica	inderterminada	inderterminada	determinada	determinada	inderterminada	inderterminada	determinada	determinada
	hialina	hialina	hialina	hialina	hialina	hialina	hialina	hialina
	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
	1-2 proliferação simpodial	1-2 proliferação percorrente	1 conidio	enteroblástica percorrente	provavelmente percorrente	não descrito	vários percorrente	
Conidiogenese	anelação não descrita	anelada	anelação não descrita	anelada	anelação não descrita	0 a muitas anelações	anelada	
	não descrito	não descrito	holoblastica	holoblastica	não descrito	holoblastica	holoblastica	
	não descrito	não descrito	maturação sincrono a ontogenia	maturação sincrono a ontogenia	não descrito	maturação sincrono a ontogenia	maturação sincrono a ontogenia	maturação sincrono a ontogenia

	não descrito	não descrito	proliferação enteroblástica	proliferação enteroblástica	não descrito	proliferação enteroblástica	proliferação enteroblástica esquizolítica	proliferação enteroblástica rexolítica
	não descrito	não descrito	anelação não descrita	anelada	cesessão rexolítica	anelada	anelada	
	cilindrico a fusiforme	cilindrico a fusiforme	reto ou levemente curvado	reto ou levemente curvado	fusiforme	cilindrico a fusiforme	reto a fusiforme	globoso a subgloboso
	apíce obtuso	apíce cônico	apíce obtuso	apíce cônico	não descrito	não descrito	apíce cônico	algumas sp. com macro-microconídio
Conídio	base truncada	base truncada	base truncada	base truncada	base truncada	base truncada	base truncada	
	gutulado	gutulado	gutula não descrita	gutula não descrita	gutula não descrita	gutulado	gutula não descrita	gutulado
	hialino	hialino a marrom claro	hialino a marrom claro	pigmentado ou hialino	marrom médio	vários graus de marrom	marrom escuro a claro	
Septos	1-8	4	3-4	não descrito	5 1-3 vertical	2-5	3	não descrito
Apen. Apical	-	2-3 apical não ramificado	1 não ramificado (ramificado em 1 sp.)	1 não ramificado	2-4 não ramificado	1 simples, ramificado ou não	1 ou + simples ou ramificado	apical, subapical lateral algumas sp.
Apen. Basal	-	1 exógeno não ramificado	1 não ramificado	quando presente 1 não ramificado forma após a cesessão	não descrito	quando presente 1 simples, ramificado ou não	simples ou raramente ramificado	não ramificado com formação rexolítica
Tipo Apen. Nag Raj	ausente	A	A	A	A	A	A	A

¹ Nag Raj (1993) classificou os apêndices de A-I.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, isolamento e caracterização morfológica. Folhas com sintomas de manchas foliares foram coletadas, prensadas e armazenadas de forma a preservar as estruturas dos fungos (ROSSMAN, 1998). As excisatas serão depositadas no herbário da UFRB. Em laboratório as amostras foram analisadas em microscópio estereoscópico buscando frutificações fúngicas, que quando presentes foram utilizados para a confecção de lâminas e identificação em microscópio de luz (NAG RAJ, 1993; SUTTON, 1980; VIÉGAS, 1943). Após a identificação, realizou-se o isolamento em meio de cultura batata, dextrose e agar (BDA) 1/5 contendo 80 mg/L de cloranfenicol. Foi purificado apenas o fungo que apresentava estruturas reprodutivas na lesão foliar. As colônias purificadas foram preservadas em tubos de microcentrífuga de 2 ml, um deles contendo água destilada e o outro óleo mineral (CASTELLANI, 1939; SHERF, 1943). As culturas foram depositadas na Coleção de Micologia Maria Menezes da UFRPE e os novos nomes dos taxa serão submetidos ao MycoBank.

Estudos posteriores detalhados foram realizados com lâminas preparadas a partir de cortes das lesões foliares a mão livre e com um criomicrotomo (Microm HM 520 Cryostat). As lâminas foram confeccionadas com lactofucsina e ácido láctico e estudadas em microscópio equipado com máquina fotográfica e retículo ocular (NAG RAJ, 1993; SUTTON, 1980; VIÉGAS, 1943). Ilustrações foram preparadas como descrito por BARBER; KEANE (2007).

Caracterização molecular. Os fungos purificados foram crescidos em meio de cultura líquida BD e o micélio coletado foi liofilizado e armazenado a - 20 °C para a extração de DNA total. O DNA total foi extraído com o método do CTAB (brometo de *cetil-tri-metil-amônio*) proposto por DOYLE; DOYLE (1990). Para a amplificação e sequenciamento de fragmentos da região ITS do rDNA e fator de transcrição e alongação 1 α da RNA polimerase (TEF1a), foram utilizados respectivamente os primers ITS1 e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990) e EF2T e EF1-728F (CARBONE; KOHN, 1999; DONNELL, 2000; DONNELL *et al.*, 1998). O sequenciamento foi realizado com o kit BigDye[®] Terminator v3.1 Cycle Sequencing em um aparelho ABI 310, de acordo com as recomendações do

fabricante (Applied Biosystems). A montagem e edição das sequências foram realizadas com o programa Bioedit v.7.0.9 (HALL, 1999). O programa BLAST (ALTSCHUL *et al.*, 1997) foi utilizado para comparações com outras sequências dos bancos de dados públicos. Os alinhamentos das sequências de cada gene foram realizados com o programa MAFFT v. 6.0 utilizando a estratégia FFT-NS-i (KATOH *et al.*, 2002). As reconstruções filogenéticas foram feitas com o programa MEGA 5 (TAMURA *et al.*, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Araripea incasinata gen. et sp. nov. D. F. Alves & J. T. de Souza. (Figs. 1-3).
– CMM-1759

Araripea D. F. Alves & J. T. de Souza gen. nov.

Etimologia: refere-se ao local de coleta: Chapada do Araripe, CE.

Frutificação do tipo acervular. Parede lateral composta por 2 a 3 camadas de células, estromática, *textura angularis*, marrom escura; himênio de 2 a 3 camadas, não estromático, marrom claro para o incolor. Células conidiogênicas ampuliformes, cônicas a lageniformes, não ramificadas, hialinas, lisas. Conidiogênese holoblástica, secessão esquizolítica. Conídios secos, isolados, fusiformes a subcilíndricos, flexuosos, não ornamentados, septados, gutulados; células medianas do conídio de tamanho proporcional 15 µm, marrom claras; célula apical cônica com apêndice, hialina; célula basal, truncada, hialina. Apêndices celulares bipolares do tipo A (conídio precede a formação do apêndice; NAG RAJ, 1993), atenuados, simples, anucleados, não delimitados por septo, incolores; apêndice basal formado apenas em conídio maduro, após a secessão. Micélio externo, conidióforos e microconídios não observados.

Espécie tipo: ***Araripea incasinata***.

Nota – Apesar das semelhanças morfológicas com espécies dos gêneros *Discosia*, *Bartalinia* e *Seimatosporium*, *Araripea* se distingue principalmente pela ausência de estroma no himênio, conidióforos reduzidos a células conidiogênicas não ramificadas e conidiogênese com secessão esquizolítica. Além disso, a sequência de ITS de *A. incasinata* e o ITS do gênero *Bartalinia* e da espécie *Truncatella spadicea*, taxa mais próximos de *A. incasinata*, de acordo com dados moleculares (Fig. 3A e Tab. 3), mostrou uma diferença de 11% (Tab. 3), podendo ser considerada alta o suficiente para separar gêneros de fungos (GAZIS *et al.*, 2011). A sequência do gene TEF1a (Fig. 3B), não foi útil para comparar *Araripea* com gêneros relacionados, pois essas sequências ainda não estão bem representadas nos bancos de dados.

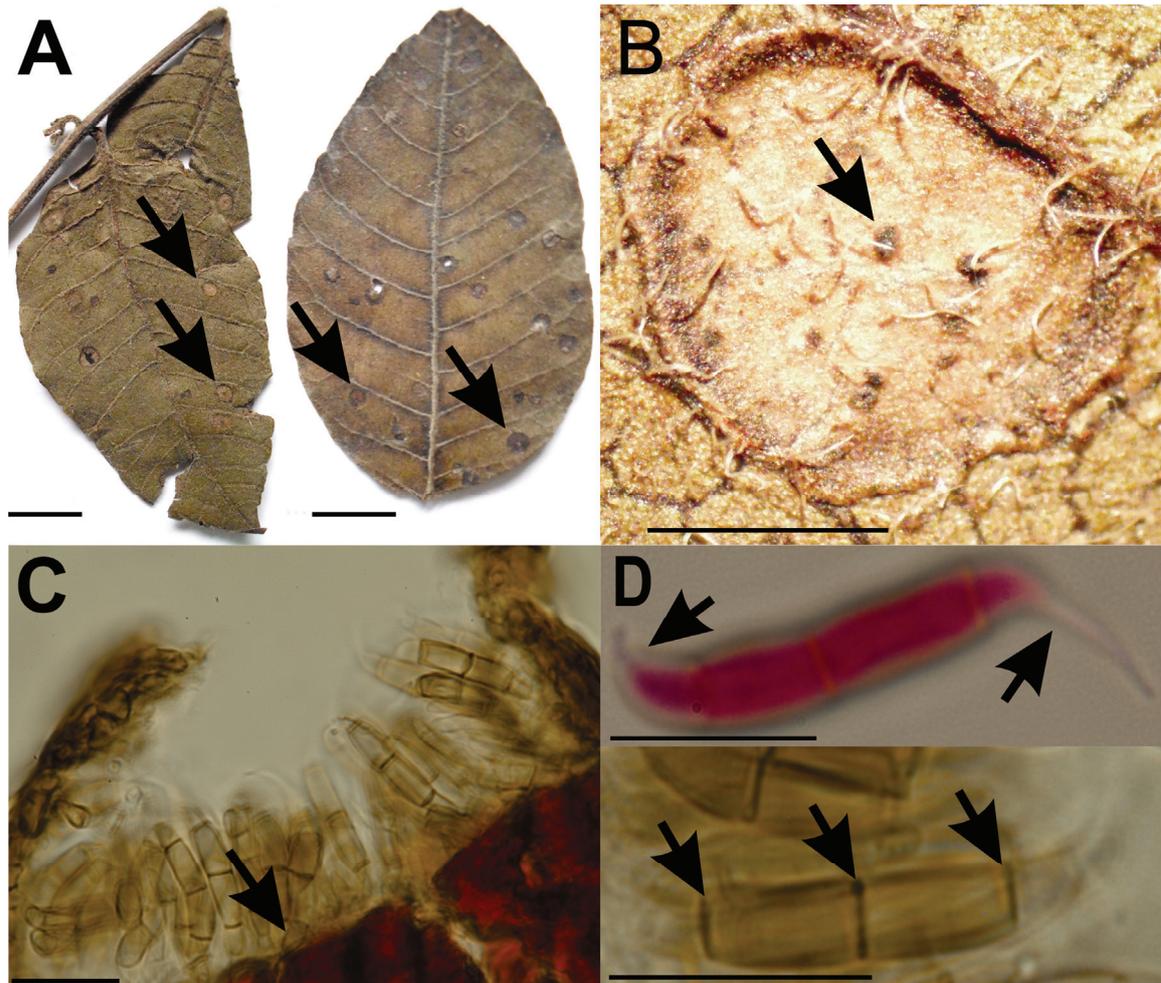


Figura 1. *Araripea incasinata*. A. Folha de *Myracrodruon urundeuva*, seta indicando lesão foliar; B. Lesão ampliada, seta mostrando acérvulo; C. Acérvulo em corte transversal, seta mostrando célula conidiogênica; D. Conídios em fucsina ácida (foto superior) setas indicam um conídio com ausência do apêndice basal e presença do apical, e ácido láctico (foto inferior) setas indicando os três septos característicos dos conídios. – Escalas: A = 10 mm; B = 1 mm; C-D = 10 μ m.

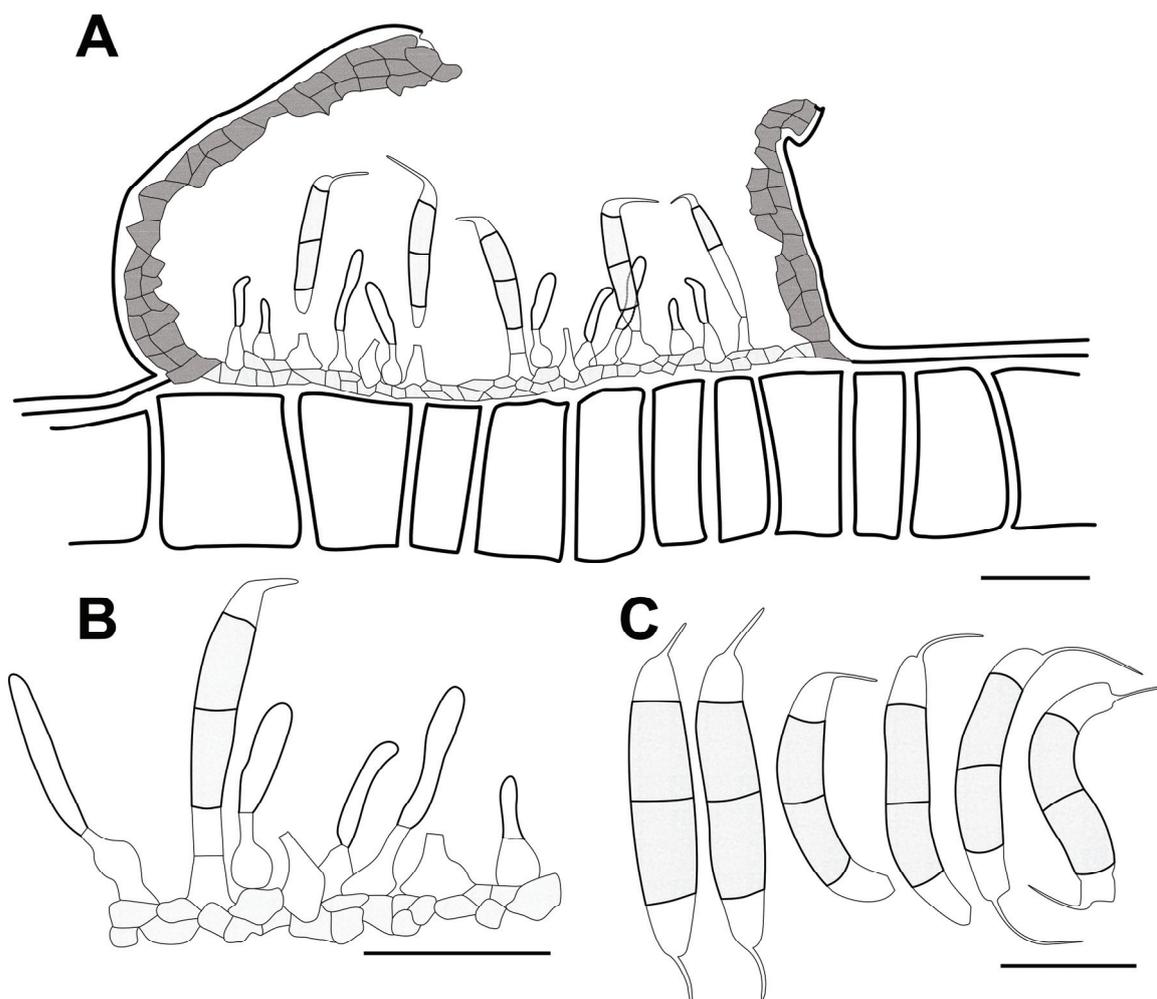


Figura 2. *Araripea incasinata*. A. Acérvulo subcuticular; B. Camada do himênio contendo células conidiogênicas; C. Conídios. Escalas: A-C = 10 μ m.

Araripea incasinata D. F. Alves & J. T. de Souza sp. nov. (Figs. 1-3)

Etimologia: incasinato significa confuso ou confusão, em referencia à semelhança apresentada com conídios de outros gêneros.

Teleomorfo não observado.

Lesões em folhas vivas, necróticas, circulares irregulares, com bordas marrom escuras a pretas, 1,5 – 2,8 mm. Acérvulos hipófilos, isolados, subcuticulares, com 55 - 100 μ m, erupente; parede lateral estromática, textura angularis, 25,7 – 38,5 μ m, com 2 a 3 camadas de células, 3,2 – 10 μ m de espessura, marrom escura, himênio não

Tabela 2. Caracteres morfológicos de *Araripea incasinata* e gêneros relacionados

Espécies	Corpo de Frutificação		Conidióforos	Células Conidiogênicas		Conídios		Apêndice	
	Características	Larg.		Características	C x L*	Características	C x L*	B** [†]	A*
<i>Araripea incasinata</i>	ñ estromático, acervular, tex. angularis	55,5 - 100,3	cél. conidiogênicas	ampuliformes a lageniformes	4 x 2,3	3 septos, não constrictos, parede fina, marrom claro	22,7 x 4,2	3,8 (1)	6,2 (1)
<i>Discosia sp. (Adiscosia yakushimense)</i>	estromático, acervular, tex. subglobosa a retangular	130 - 200	cél. conidiogênicas	ampuliformes a lageniformes	8,1 x 2,8	3 septos, não constrictos, parede fina, marrom claro	27 x 5,1	17,3 (1)	14,6 (1)
<i>Immersidiscosia eucalypti</i>	estromático, picnidial, subgloboso, tex. angularis a prismática	320 - 480	septados, ramificados e ñ ramificados, em muco	cilíndricas	12,5 x 1,75	3 septos, não constrictos, parede fina, incolor	17,5 - 2,9	12 (1)	12,4 (1)
<i>Bartalinia robillardoides</i>	estromático, picnidial, tex. angularis a globosa	180 - 240	septados, ramificados, em muco	ampuliformes	5 x 2,5	4 septos, constrictos, parede fina, incolor	23,5 x 3,3	5,5 (1)	- (3)
<i>Truncatella spadicea</i>	ñ estromático, picnidial	96 - 238	septados, ramificados, em muco	cilíndricas	17 x 2,5	3 septos, não constrictos, parede fina, marrom	21,5 x 7,8	-	17,7 x 1,3 (3,4)

Continua...

Espécies	Corpo de Frutificação		Conidióforos	Células Conidiogênicas		Conídios		Apêndice	
	Características	Larg.		Características	C x L*	Características	C x L*	B**	A*
<i>Truncatella angustata</i>	estromático, acervular a picnidial, tex. angularis	120 - 420	septados, ramificados, em muco	cilíndricas a lageniforme	-	3 septos, não constrictos, parede espessa, marrom	18,9 x 7	-	15,5 (+1)
<i>Morinia longiappendiculata</i>	acervular, tex. angularis	-	ramificados	filiformes, septadas	32,5 x 2,5	5-6 septos, não constrictos, parede fina, marrom	28 x 11	20 (1)	20 (2,3)
<i>Seimatosporium rosae</i>	estromático, picnidial, tex. angularis	250 - 700	septados, ramificados, em muco, cel. conidiogênicas	subcilíndricas a lageniformes	15 x 1,7	3 septos, não constrictos	14,5 x 3,7	14 (1)	16 (1)
<i>Pestalotiopsis maculans</i>	estroma basal, acervular, tex. angularis	200 - 550	septados, não ramificados, em muco, cel. conidiogênicas	ampuliformes a subcilíndricas	11 x 2,7	4 septos, não constrictos	23 x 7	2 (1)	15,5 (2,3, 5)

Todos os valores estão em µm.

* valores médios.

+ valores entre parênteses referem-se a quantidade de apêndices.

ñ = não.

estromático, marrom claro para o translucido, de 2 a 3 camadas de células, paredes finas, lisas. Células conidiogênicas terminais, discretas, cônicas a lageniformes, não ramificadas, 2,3 – 5,7 x 1 – 4,5 µm, incolores, lisas. Conidiogênese holoblástica, esquizolítica. Conídios secos, isolados, fusiformes a quase cilíndricos, flexuosos, não ornamentados, 16,3 – 29,7 x 2,5 – 13,2 (22,7 x 4,2) µm, 3 septos, gutulados; células medianas do conídio de tamanho proporcional com 7,5 µm cada, marrom claras; célula apical triangular, hialina, 2,2 – 4,2 (3,4) µm; célula basal, truncada, hialina, 2,8 – 4,1 (3,7) µm. Apêndices celulares bipolares do tipo A (conídio precede a formação do apêndice; Nag Raj, 1993), atenuados, simples, anucleados, não delimitados por septo, incolores, não ramificados, lisos; apêndice apical único, 2,5 – 10 µm; apêndice basal único formado apenas em conídio maduro, após a secessão, 2,5 – 5 µm. Micélio externo, conidióforos e microconídios não observados. Sequência completa da região ITS do rDNA, 517 pb (a ser submetida), amplificada com os primers, ITS1 e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990). Sequência de ITS com 88% de identidade em relação à espécie *Bartalinia robillardoides* CBS:122686 (acesso EU552102), espécie mais próxima. Sequência parcial do gene TEF1a (a ser submetida), 501 pb, obtida com os primers, EF2T e EF1-728F (CARBONE; KOHN, 1999; DONNELL, 2000; DONNELL *et al.*, 1998). Sequência de TEF1a com 51% de identidade em relação à espécie *Pestalotiopsis cf. microspora* ROG-2010 strain LA85 (acesso HQ022687), espécie mais próxima. Base de dados acessada em 06/04/2012, utilizando o programa BLAST (ALTSCHUL *et al.*, 1997).

Habitat: Em folhas vivas de aroeira do sertão, ***Myracrodruon urundeuva*** Allemão (Anacardiaceae).

Espécimen analisado: Coletado por J. T. de Souza na Chapada do Araripe, mesoregião do Cariri no sul do estado do Ceará, nordeste brasileiro. A ser depositada em herbário.

Distribuição: Chapada do Araripe, CE. Brasil.

Holotipo: Isolado FAR13B, coleção de microrganismos de J. T. de Souza.

Nota – Única espécie do gênero, até o momento.

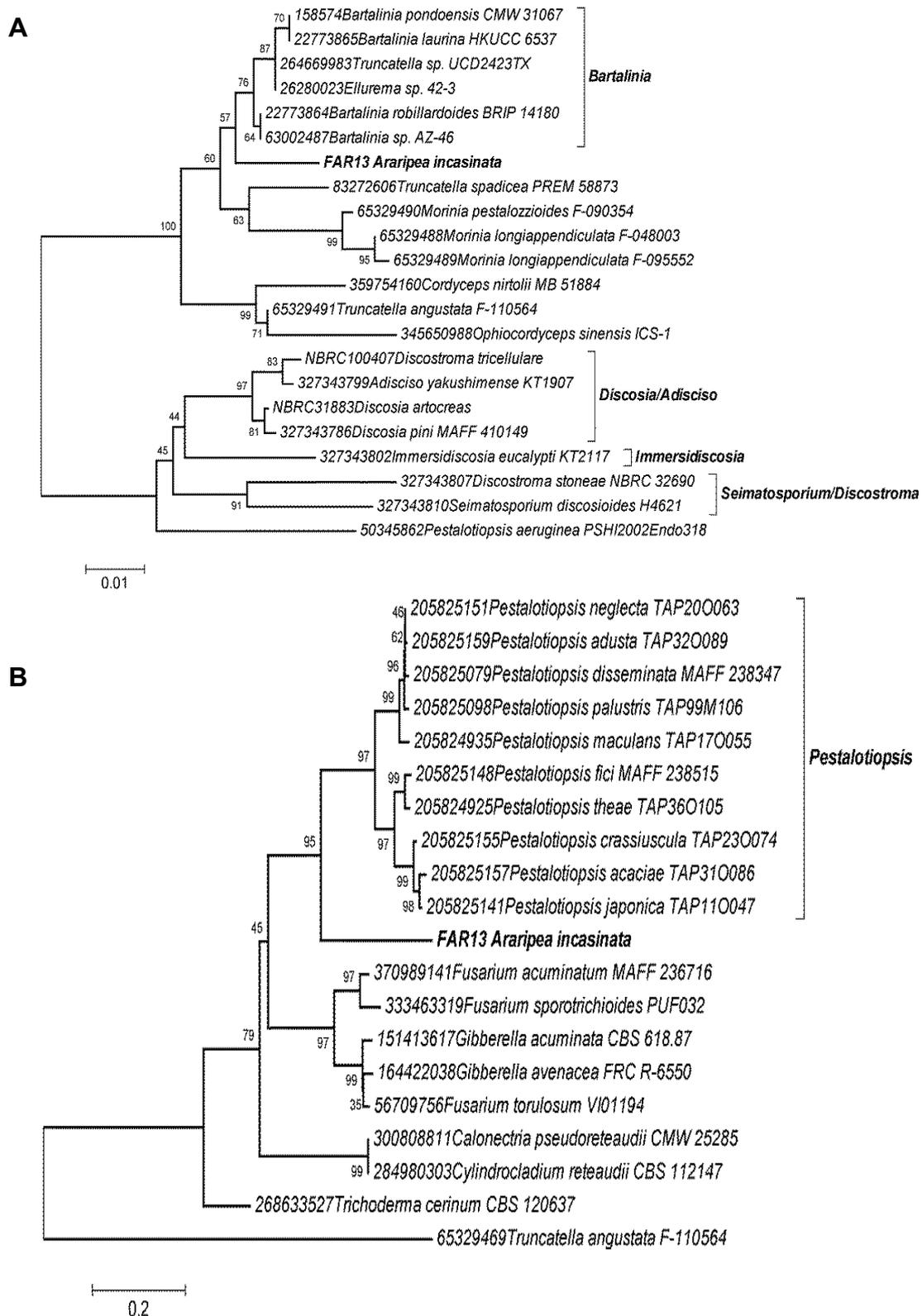


Figura 3. Agrupamento de *Araripea incasinata* e gêneros relacionados com base em fragmentos da região ITS do rDNA e do gene TEF1a. A. Árvore de sequências de ITS gerada com 577 sítios alinhados; B. Árvore de sequências TEF1a com 367 sítios alinhados. Todas as árvores foram geradas utilizando o método Neighbor-joining com o modelo Jukes-Cantor e análise de bootstrap com 1000 reamostragens.

Tabela 3. Comparação de *Araripea incasinata* e gêneros relacionados com base em sequências da região ITS do rDNA e do gene TEF1a.

Comparações	ITS	
	ID*	≠**
<i>Bartalinia</i> (6)	95,7	4,3
<i>Discosia</i> (4)	97,9	2,1
<i>Araripea incasinata</i> x <i>Bartalinia</i>	79,5	11,8
<i>Araripea incasinata</i> x <i>Discosia</i>	82,7	17,3
<i>Araripea incasinata</i> x <i>Truncatella spadicea</i>	89,2	10,8
<i>Araripea incasinata</i> x <i>Truncatella angustata</i>	79,5	20,5

Comparações	TEF1a	
	ID*	≠**
<i>Pestalotiopsis</i> (10)	80,7	19,3
<i>Araripea incasinata</i> x <i>Pestalotiopsis</i>	50,8	49,2
<i>Araripea incasinata</i> x <i>Truncatella angustata</i>	21,0	79,0

* As Identidades entre as sequências foram calculadas com base no alinhamento de 577 pb da região ITS do rDNA e 367 pb do gene parcial TEF1a.

** Diferenças indicam a diversidade entre e dentro dos grupos considerados.

As análises morfológicas e moleculares demonstram que *A. incasinata* pertence a um gênero do complexo pestalotioide, que ainda encontra-se não resolvido (LEE *et al.*, 2006; TANAKA *et al.*, 2011). A espécie *A. incasinata* é a única do gênero até o momento e está inserida na ordem Xylariales e família Amphispheriaceae. Morfologicamente, os conídios de *A. incasinata* são semelhantes aos de espécies do gênero *Discosia*, *Seimatosporium* e *Monochaetia* (Tab. 2; Fig. 4). No entanto, o himênio de *A. incasinata* é hialino e não estromático, seus apêndices são curtos e posicionados no centro das células apicais e basais, enquanto que em *Discosia* os apêndices são posicionados na face interna da parte côncava do esporo. Em *Seimatosporium* e *Monochaetia*, células conidiogênicas são ramificadas, o que não ocorre em *A. incasinata*. Os gêneros *Imersidiscosia*, *Bartalinia*, *Truncatella*, *Morinia* e *Pestalotiopsis* apresentam similaridades morfológicas menos evidentes (Tab. 2; Fig. 4).

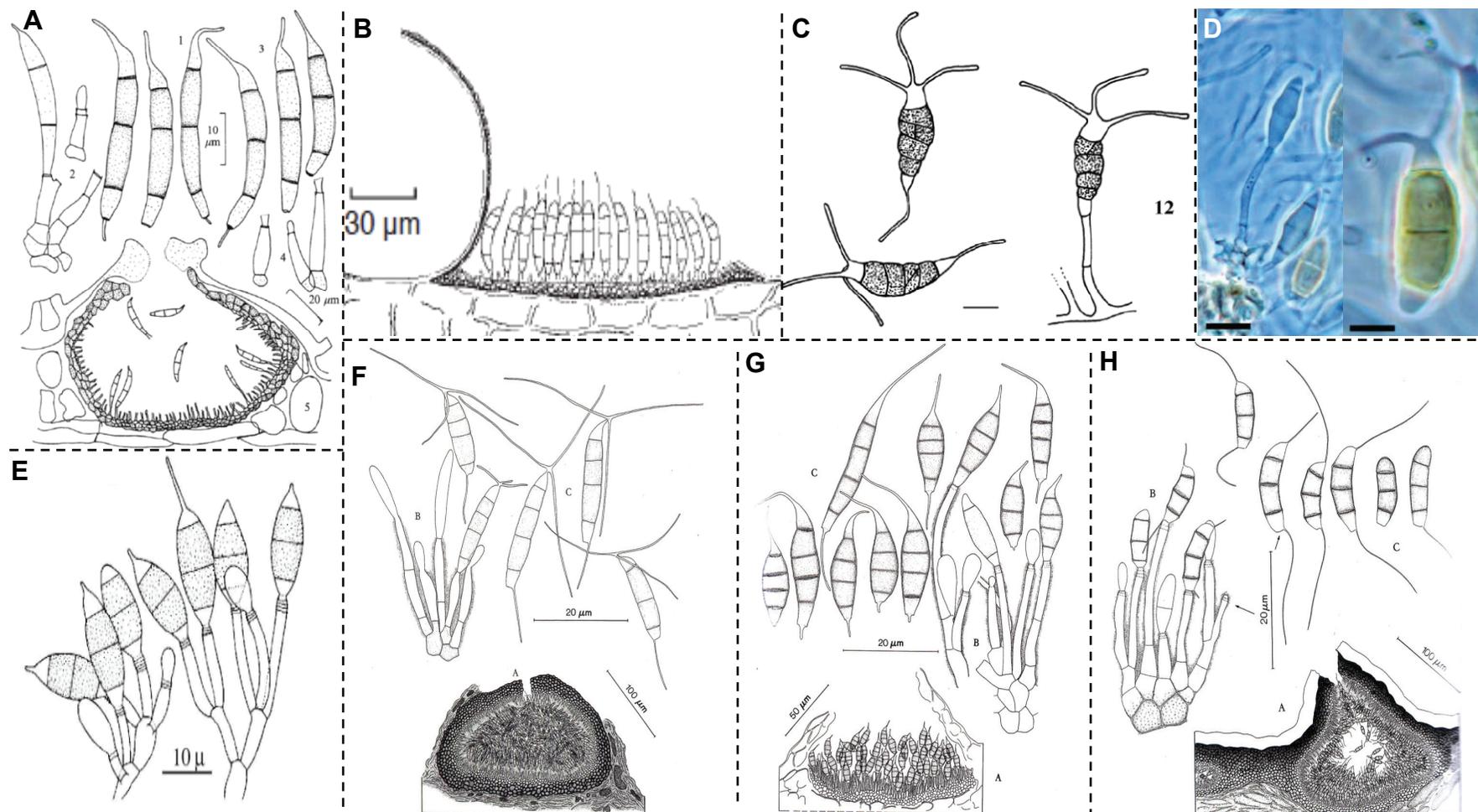


Figura 4. Morfologia de alguns representantes dos gêneros próximos na análise do ITS e TEF1a. A. *Discosia poonensis* (WU; SUTTON, 1996); B. *Discosia* sp., teleomorfo *Adisciso yakushimense* (TANAKA et al., 2011); C. *Morinia longiappendiculata* (COLLADO et al., 2006); D. *Truncatella spadicea* (LEE et al., 2006); E. *Truncatella angustata* (MATSUSHIMA, 1971). F. *Bartalinia lateripes*; G. *Monochaetia monochaeta*; H. *Seimatosporium rosae*. (NAG RAJ, 1993). Escalas: C = 10 µm; D esquerdo = 10 µm, D direito = 5 µm.

No entanto, as similaridades morfológicas não são corroboradas pela análise molecular (Tab. 3; Fig. 3). Além disso, *Araripea* é separado dos demais gêneros por apresentar conidioma acervular não estromático e ausência de conidióforos (Tab. 4, chave de identificação). O gênero *Bartalinia* e a espécie *Truncatella spadicea* mostram ser as mais próximas de *A. incasinata* de acordo com dados moleculares (Fig. 3), mesmo assim a diferença entre esses gêneros foi de 11% (Tab. 3). Os dados da tabela 2 demonstram que a diferença dentro do gênero *Bartalinia* é menor que a diferença entre *A. incasinata* e *Bartalinia*.

As sequências de TEF1a ainda estão pouco representadas nos bancos de dados, para esses gêneros (Fig. 3 e Tab. 3), mostrando pouca utilidade para comparação entre os gêneros aqui considerados.

Tabela 4. Chave de identificação para *Araripea* e gêneros morfológicamente semelhantes.

1. Conidioma acervular	2
1. Conidioma indefinido	3
2. Conidioma estromático	6
2. Conidioma não estromático	7
3. Conidioforos presentes	4
3. Conidioforos ausentes	<i>Discosia</i>
4. Apêndice apical dos conídios não ramificados	<i>Seimatosporium</i>
4. Apêndice apical dos conídios ramificados	5
5. Apêndice basal dos conídios não ramificados	<i>Bartalinia</i>
5. Apêndice basal dos conídios ramificados	<i>Truncatella</i>
6. Conídios com apêndices ramificados	<i>Morinia</i>
6. Conídios com apêndices não ramificados	<i>Monochaetia</i>
7. Conídios sem apêndices	<i>Asteromidium</i>
7. Conídios com apêndices	<i>Araripea</i>

Apesar das sequências da região ITS do rDNA mostrarem diferenças consideráveis (11%) entre *A. incasinata* e os gêneros *Bartalinia* e *Truncatella*, considerados os mais próximos, sequências da região 28S do rDNA serão incluídas em futuras análises para uma comparação com os resultados obtidos por TANAKA *et al.* (2011). Esses autores estudaram a filogenia do complexo pestalotioide utilizando o gene 28S do rDNA, além de sequências de ITS e B-tubulina.

Observações sobre o isolado FAR50 (Figs. 5-6; Tab. 5).

– CMM-1760

O isolado FAR50 foi obtido de *Qualea parviflora* (*Vochysiaceae*) na Chapada do Araripe, e quando comparado com dados da literatura, esse foi classificado morfológicamente como *Harknessia qualea* Furlan. & Dianese, Mycol. Res., 102 (1): 19-29 (1998). (Fig. 7C). MycoBank (MB443421). Esta espécie foi descrita em folhas vivas de *Qualea grandiflora* no Cerrado do Brasil central.

Todas as características morfológicas relatadas para *H. qualeae* são semelhantes em FAR50 (Tab. 5), com exceção do apêndice basal descrito por Furlaneto & Dianese (1998), que em FAR50 não foi observado (Tab. 5, Fig. 5). Os dados moleculares provenientes do sequenciamento da região ITS do rDNA não suportam a inclusão de FAR50 e presumivelmente *H. qualeae*, no gênero *Harknessia* (Fig. 6). A comparação entre as sequências da região ITS do rDNA de 33 isolados de espécies do gênero *Harknessia* de bancos de dados públicos mostrou 5% de diferença (Tab. 6). A diferença entre essas espécies de *Harknessia* e FAR50 foi de 21%, justificando sua exclusão do gênero *Harknessia*.

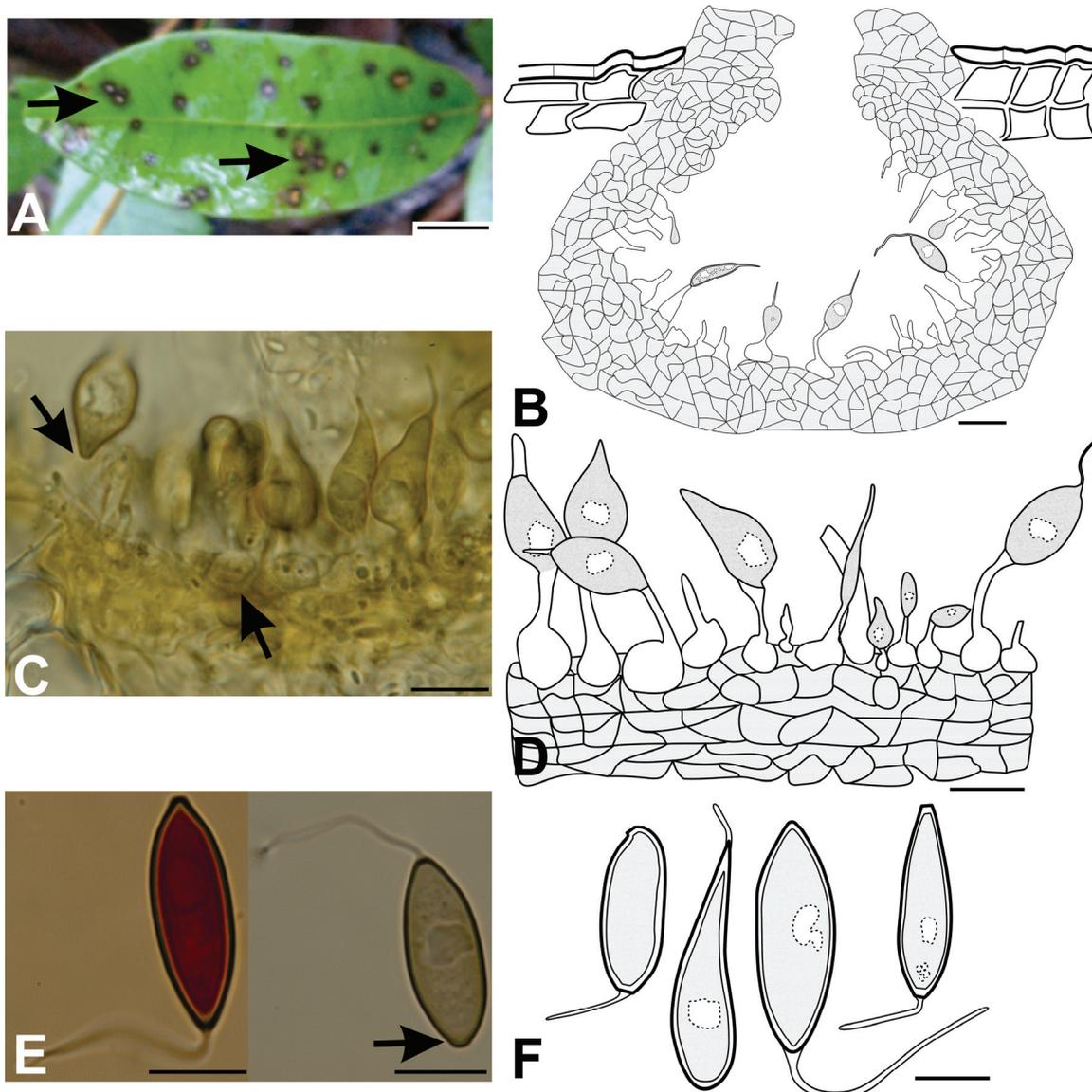


Figura 5. Características morfológicas de FAR50. A. Folha de *Qualea parviflora* com sintomas indicados pelas setas; B. Picnídio imerso no tecido foliar; C. Conidiogênese com setas indicando ausência de apêndice basal e célula conidiogênica ampuliforme; D. Camada de himênio com células conidiogênicas e parede estromática do picnídio. E. Conídios em meio de montagem fucsina ácida (esq.) e ácido láctico (dir.), seta mostrando ausência de apêndice basal e a cicatriz basal. F. Conídios com apêndices apicais. – Escalas: A = 10 mm; B-F = 10 μ m.

Tabela 5. Comparação de características morfológicas entre FAR50 com espécies de *Harknessia* e *Apoharknessia*.

Espécies	Picnídio* (diam.)	Célula Conidiogênica		Conídio		Apêndice*	
		Tamanho*	Colarete	Dimensão*	Forma	Basal	Apical
FAR50	147	13,8 x 6,6	Não observado	20,7 x 8,5	Elipsoide	Não observado	30,4 x 0,5
<i>Harknessia qualeae</i>	195	15,5 x 4,5	Não relatado	17 x 7,5	Elipsoide	0,8	45 x 0,8
<i>Harknessia eucalipti</i>	320	11 x 5	Presente	21 x 13	Elipsoide	11,1 x 3,2	Ausente
<i>Harknessia fusca</i>	250	9,5 x 4,2	Presente	27 x 8	Elipsoide	17 x 3	55 x 3
<i>Harknessia americana</i>	210	9 x 3,5	Presente	22 x 10	Elipsoide	14 x 3,5	22 x 2,2
<i>Harknessia caudata</i>	300	9 x 4	Presente	18 x 9	Elipsoide	24 x 2,5	32 x 2,2
<i>Harknessia liquidambaris</i>	460	9 x 3,5	Presente	26 x 13	Elipsoide	29 x 3	26 x 2,2
<i>Harknessia uromycoides</i>	400	9,8 x 6,2	Presente	22,5 x 12	Elipsoide	107 x 2,3	Ausente
<i>Harknessia araucariae</i>	350	7,5 x 4	Presente	15 x 18,5	Globoso	17 x 2,5	Ausente
<i>Harknessia deightonii</i>	120	8,5 x 4,5	Presente	11 x 10	Globoso	25 x 1,8	1,5 x 1,5
<i>Harknessia salvertiana</i>	87,5	14 x 5,5	Não relatado	14,5 x 14,3	Globoso	1,5 x 2,5	7,5 x 1,5
<i>Apoharknessia insueta</i>	250	9 x 4,8	Presente	10,5 x 8	Globoso	2 x 1,3	Não relatado

* Dimensões apresentadas em μm .

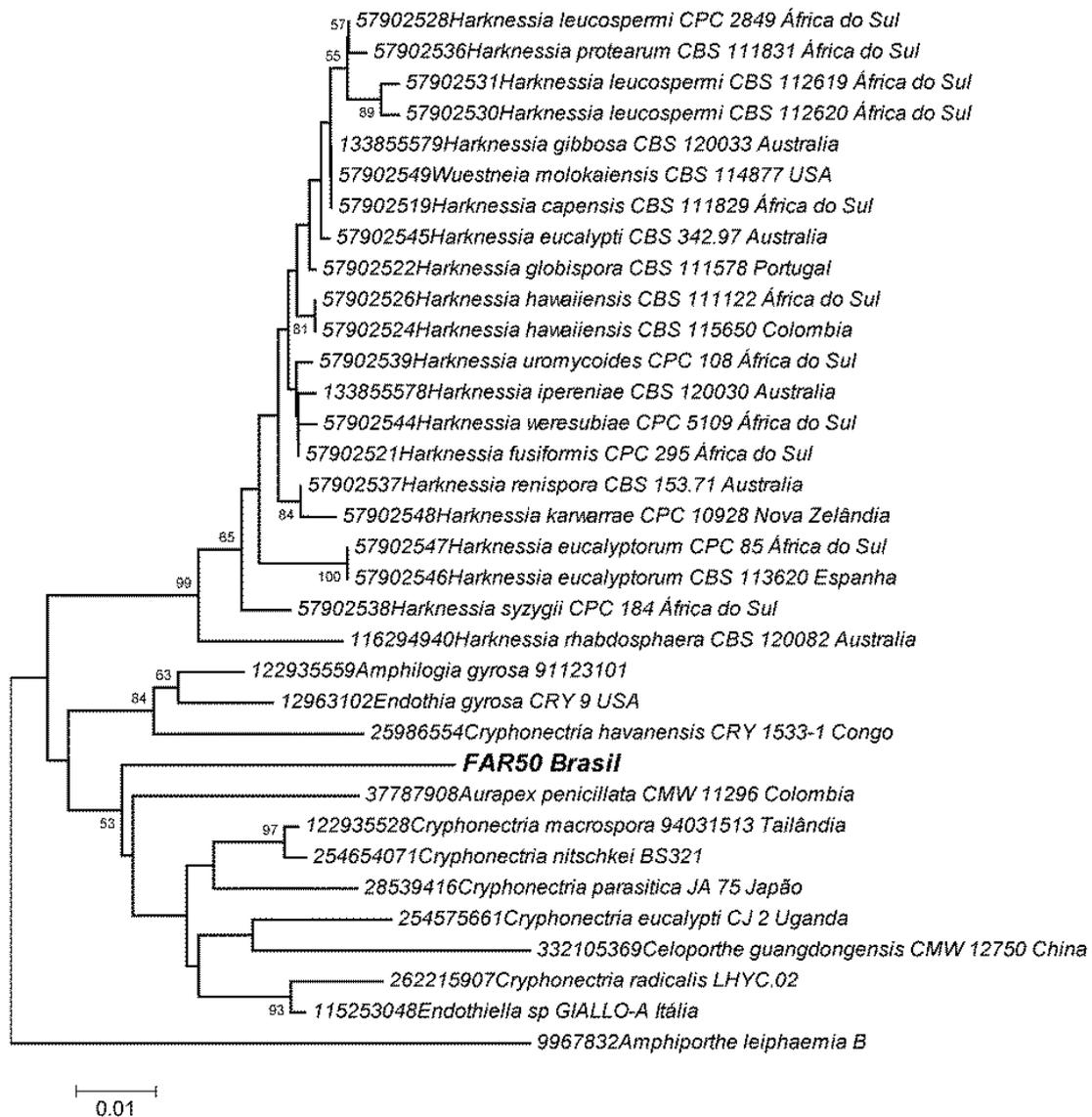


Figura 6. Análise de agrupamento da região ITS do rDNA com base em 456 sítios informativos. Todas as árvores foram geradas utilizando o método Neighbor-joining com o modelo Jukes-Cantor e análise de bootstrap 1000 repetições.

Essa diferença é semelhante à diferença entre *Harknessia* e outros gêneros relacionados, de acordo com dados moleculares. A mesma proporção de diferença pode ser observada para o gene 28S do rDNA, embora problemas de amostragem nos bancos de dados dificultem a análise.

Tabela 6. Diversidade de FAR50 e gêneros relacionados com base em sequências de fragmentos ITS do gene rDNA.

Comparações	ITS	
	ID*(%)	≠**(%)
<i>Harknessia</i> (33)	95,0	5,0
Complexo <i>Cryphonectria/Endothia</i> (8)	78,6	21,4
<i>Harknessia</i> x <i>Amphiportha leiphaemia</i>	79,5	20,5
<i>Harknessia</i> x FAR50	79,2	20,8
<i>Harknessia</i> x <i>Aurapex penicillata</i>	70,2	29,8
<i>Harknessia</i> x <i>Endothiella</i> sp.	77,6	22,4
<i>Harknessia</i> x <i>Cryphonectria</i>	76,5	23,5
<i>Harknessia</i> x <i>Celoportha</i> sp,	74,0	26,0
FAR50 x <i>Amphilogia gyrosa</i>	84,6	15,4
Comparações	28S	
	ID*(%)	≠**(%)
<i>Harknessia</i> (29)	99,7	0,3
<i>Apoharknessia</i> (2)	99,8	0,2
<i>Cryphonectria</i> (5)	99,3	0,7
<i>Harknessia</i> x <i>Apoharknessia</i>	95,1	4,9
<i>Harknessia</i> x <i>Cryphonectria</i>	98,5	1,5

* As Identidades entre as sequências foram calculadas com base no alinhamento de 766 pb do gene 28S do rDNA e 712 pb da região ITS do rDNA.

** Diferenças indicam a diversidade entre e dentro dos grupos considerados.

As espécies *Harknessia fusca* Nag Raj & DiCosmo, *H. americana* (Mont.) B. Sutton, *H. caudata* Ellis & Everh. e *H. liquidambaris* (Berk. & M. A. Curtis) Nag Raj & DiCosmo e *H. qualeae* Furlan. & Dianese são as únicas com apêndice apical maior do que o corpo conidial e também possuem conídios elipsoidais (CROUS *et al.*, 1993; NAG RAJ; DICOSMO, 1981; NAG RAJ, 1993; SUTTON, 1980). *Harknessia qualeae* foi descrita com apêndices basais curtos, constituídos de remanescentes das células conidiogênicas (FURLANETTO; DIANESE, 1998). Porém, esses remanescentes não acompanham o conídio quando este sofre sucessão, portanto infere-se que o conídio não possui apêndice basal, a semelhança do que foi observado para o isolado FAR50.

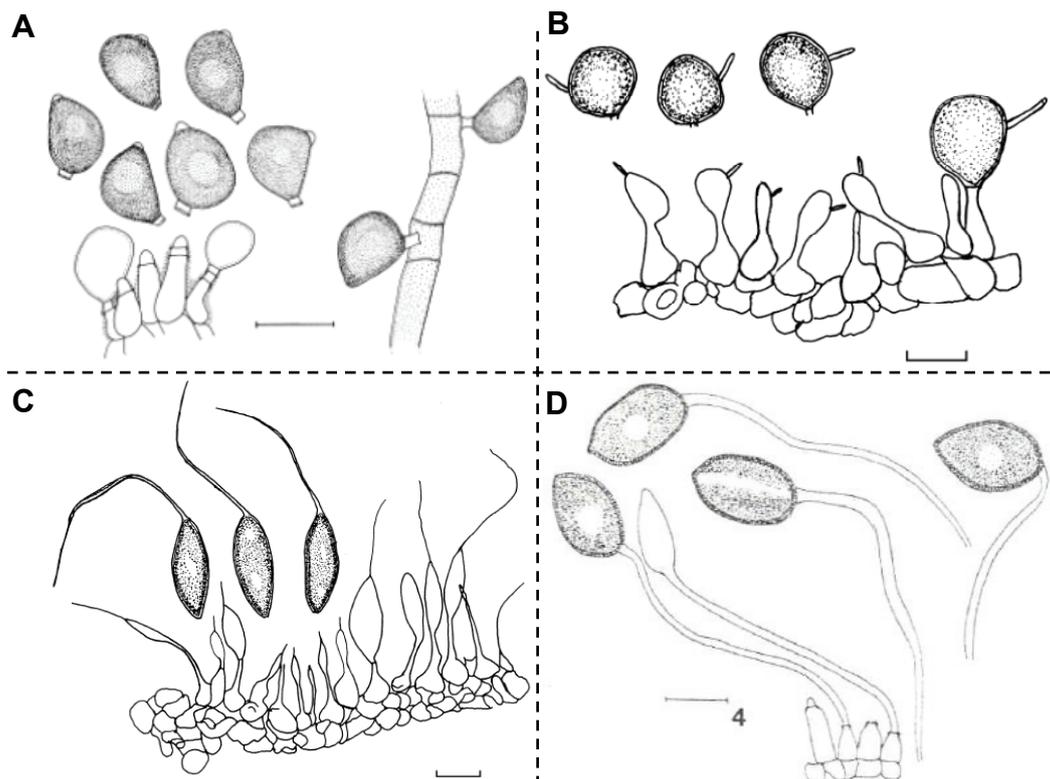


Figura 7. Aspecto morfológico de espécies de *Harknessia* e *Apoharknessia*. A. *Apoharknessia insueta* (LEE *et al.*, 2004). B. *Harknessia salvertiana*; C. *Harknessia qualeae* (FURLANETTO; DIANESE, 1998); D. *Harknessia uromycoides* (CROUS *et al.*, 1993). Escalas: A - D = 10 μ m.

Ao que tudo indica a ausência do apêndice basal em FAR50 é uma característica suficiente para excluí-lo do gênero *Harknessia*. Essas observações são suportadas pelos dados moleculares. No entanto, nenhuma das espécies mencionadas acima, com exceção de FAR50, possui sequências depositadas nos bancos de dados públicos e provavelmente não existem culturas vivas disponíveis. Uma evidência adicional de que FAR50 não pode ser incluído no gênero *Harknessia* poderá ser obtida por meio do sequenciamento do gene 28S do rDNA, pois esses dados estão disponíveis para pelo menos 29 espécies de *Harknessia* (LEE *et al.*, 2004).

O isolado FAR50 é mais próximo, de acordo com a análise da região ITS, da espécie *Amphilogia gyrosa*, com 15,4% de diferença (Tab. 6).

Os dados moleculares indicam, embora a sequência do gene 28S deva ser acrescentada, que o isolado FAR50 pertence a um novo gênero, certamente

incluído na ordem *Diaporthales* e fora da família *Harkessiaceae*, recentemente criada para acomodar espécies do gênero *Harknessia* (CROUS *et al.*, 2012). A topologia da árvore de ITS (Fig. 6), que concorda com os dados apresentados por CROUS *et al.*, (2012), sugere a inclusão de FAR50 no complexo *Cryphonectria/Endothia*, família *Cryphonectriaceae*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho relata um gênero e espécie novos, *Araripea incasinata*, associada a lesões foliares em *Myracrodruon urundeuva* no bioma Caatinga, Chapada do Araripe, CE;

Acrescenta observações sobre a espécie *Harknessia qualeae* Furlan. & Dianese (1998) com dois relatos, para local Chapada do Araripe e hospedeiro *Qualea parviflora*;

É preciso sequenciar o gene 28S do rDNA de FAR50 (*H. qualeae*) para suportar a reclassificação dessa espécie para um novo gênero;

Acrescenta aos bancos de dados públicos moleculares as sequências da região ITS do rDNA e TEF1a dessas espécies;

Contribui para o conhecimento de espécies de Fungos associados a lesões foliares no bioma Caatinga;

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. Q.; SUTTON, B. C.; GHAFFAR, A. CONIDIAL APPENDAGES AS TAXONOMIC CRITERIA IN COELOMYCETES. **Pakistan Journal Botanic**, v. 29, n. 2, p. 199-205, 1997.
- ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, T. L.; SCHAFFER, A. A. *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.
- ARAÚJO, E. L.; FERRAZ, E. M. N. Processos ecológicos mantenedores da diversidade vegetal na caatinga: estado atual do conhecimento. In: CLAUDINO-SALES, V. (Ed.). **Ecossistemas brasileiros: manejo e conservação**. Fortaleza: Expressão Gráfica, 2003. p. 115-118.
- ARAÚJO, T. M.; HIGUCHI, N.; CARVALHO, J. A. Comparison of formulae for biomass content determination in a tropical rain Forest site in the state of Pará, Brazil. **Forest Ecology and Management**, n. 117, p. 43-52, 1999.
- BARBER, P. A.; KEANE, P. J. A novel method of illustrating microfungi. **Fungal Diversity**, v. 27, p. 1-10, 2007.
- CANNON, P. F.; HAWKSWORTH, D. L. **14 The Diversity of Fungi Associated with Vascular Plants: the know, the unknown and the need to bridge the knowledge gap**. 1995. v. 11p. 277-302
- CARBONE, I.; KOHN, L. M. **A Method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes**. **Mycologia**. JSTOR. Disponível em: <[http://links.jstor.org/sici?sici=0027-5514\(199905/06\)91:3<553:AMFDPS>2.0.CO;2-T&origin=crossref](http://links.jstor.org/sici?sici=0027-5514(199905/06)91:3<553:AMFDPS>2.0.CO;2-T&origin=crossref)>. , 1999
- CASTELLANI, A. The viability of some pathogenic fungi in sterile distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, p. 225-226, 1939.
- COLLADO, J.; PLATAS, G.; BILLS, G. F. *et al.* Studies on Morinia: recognition of Morinia longiappendiculata sp. nov. as a new endophytic fungus, and a new circumscription of Morinia pestalozzioides. **Mycologia**, v. 98, n. 4, p. 616-627, 2006.
- CROUS, P. W.; SUMMERELL, B. A.; SHIVAS, R. G.; CARNEGIE, A. J. A re-appraisal of Harknessia (Diaporthales), and the introduction of Harknessiaceae fam. nov. **Persoonia**, v. 28, p. 49-65, 2012.
- CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; NAG RAJ, T. R. Harknessia species occurring in South Africa. **Mycologia**, v. 85, n. 1, p. 108-118, 1993.

DIANESE, J. C.; MEDEIROS, R. B.; SANTOS, L. T. P. Biodiversity of microfungi found on native plants of the Brazilian Cerrado. In: HYDE, K. D. (Ed.). **Biodiversity of Tropical Microfungi**. [S.l.]: Hong Kong University Press, 1997. p. 367-417.

DONNELL, K. O. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca*-*Fusarium solani* species complex. **Mycologia**, v. 92, n. 5, p. 919-938, 2000.

DONNELL, K. O.; KISTLER, H. C.; CIGELNIK, E.; PLOETZ, R. C. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. **SciencesNew York**, v. 95, n. 5, p. 2044-2049, 1998.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1990.

DRECHSLER-SANTOS, E. R.; GIBERTONI, T. B. A re-evaluation of the lignocellulolytic Agaricomycetes from the Brazilian semi-arid region. **Mycotaxon**, v. 108, p. 241-244, 2009.

DRECHSLER-SANTOS, E. R.; WARTCHOW, F.; BASEIA, I. G.; GIBERTONI, T. B.; CAVALCANTI, M. A. Q. Revision of the Herbarium URM I. Agaricomycetes from the semi-arid region of Brazil. **Mycotaxon**, v. 104, n. April-June, p. 9-18, 2008.

EGLER, W. A. Contribuição ao estudo da caatinga Pernambucana. **Revista Brasileira de Geografia**, v. 3, p. 65-57, 1951.

FURLANETTO, C.; DIANESE, J. C. Some coelomycetes from central Brazil. **Mycological Research**, v. 102, n. 1, p. 19-29, 1998.

GAZIS, R.; REHNER, S.; CHAVERRI, P. Species delimitation in fungal endophyte diversity studies and its implications in ecological and biogeographic inferences. **Molecular Ecology**, v. 20, n. 14, p. 3001-13, jul 2011.

GIBERTONI, T. B.; DRECHSLER-SANTOS, E. R. Lignocellulolytic Agaricomycetes from the Brazilian Cerrado biome. **Mycotaxon**, v. 111, p. 87-90, 2010.

GIULIETT, A. M.; HARLEY, R. M.; QUEIROZ, L. P. DE; WANDERLEY, M. DAS G. L.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. Julho, p. 52-61, 2005.

GOTO, B. T.; SILVA, G. A. DA; YANO-MELO, A. M.; MAIA, L. C. Checklist of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) in the Brazilian semiarid. **Mycotaxon**, v. 113, n. October, p. 251-254, 2010.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, n. 41, p. 95-98, 1999.

HARLEY, R. M. Introduction. In: STANNARD, B. L. (Ed.). **Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1995. p. 1-40.

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

HAWKSWORTH, D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, v. 105, n. 12, p. 1422-1432, 2001.

HAWKSWORTH, D. L. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. **Studies in Mycology**, v. 50, n. 2001, p. 9-18, 2004.

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

JONES, G. N. On the Number of Species of Plants. **The Scientific Monthly**, v. 72, n. 5, p. 289-294, 1951.

KATOH, K.; MISAWA, K.; KUMA, K.-I.; MIYATA, T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. **Nucleic Acids Research**, v. 30, n. 14, p. 3059-3066, 2002.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi**. 9th. ed. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2001. p. 655

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi**. 10th. ed. [S.l.]: Macmillan Publishers Limited, 2008. v. 191p. 784

LEE, S.; CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J. Pestalotioid fungi from Restionaceae in the Cape floral kingdom. **Studies in Mycology**, v. 55, n. 1, p. 175-187, 2006.

LEE, S.; G., J. Z.; C., P. W. Phylogenetic reassessment of the coelomycete genus Harknessia and its teleomorph Wuestneia (Diaporthales), and the introduction of Apoharknessia gen. nov. **Studies in Mycology**, v. 50, n. 1, p. 235-252, 2004.

LEMOES, J. R.; RODAL, M. J. N. Fitossociologia do componente lenhoso em um trecho de vegetação de caatinga no Parque Nacional Serra da Capivara, Piauí, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, p. 23-42, 2002.

MATSUSHIMA, T. **Microfungi of the Solomon Islands and Papua-New Guinea**. Kobe, Japão: 1971. p. 524

MITTERMEIER, R. A.; MYERS, N.; THOMSEN, J. B.; FONSECA, G. A. B. DA; OLIVIERI, S. Biodiversity hotspots and major tropical wilderness areas: approaches to setting conservation priorities. **Conservation Biology**, v. 12, n. 3, p. 516-520, 1998.

NAG RAJ, T. R. **Coelomycetous anamorphs with appendage-bearing conidia** **Coelomycetes anamorphs with bearing conidia**. Mycologue Publications, 1993. p. 1101

NAG RAJ, T. R.; DICOSMO, F. A monograph of Harknessia and Mastigosporella with notes on associated teleomorphs. **Bibliotheca Mycologica**, v. 80, p. 1-62, 1981.

NIMER, E. **Climatologia do Brasil**. 2 ed. ed. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1989. p. 421

PASCOE, I. G. **History of Systematic Mycology in Australia**. (P. S. Short, Ed.)History of Systematic Botany in Australasia. **Anais...** South Yarra: Australian Systematic Botany Society Inc. , 1990

REIS, M. S. Manejo sustentado de plantas em ecossistemas tropicais. In: STASI, L. C. D. (Ed.). **Plantas medicinais: arte e ciência — um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. p. 199-215.

RODAL, M. J. N.; MELO, A. L. Levantamento preliminar das espécies lenhosas da caatinga de Pernambuco. In: ARAÚJO, F. D. DE; PRENDERGAST, H. D. V.; MAYO, S. J. (Eds.). **Plantas do Nordeste. Anais do I Workshop Geral**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1999. p. 53-62.

ROSSMAN, A. Y. **Protocols for an all taxa biodiversity inventory of fungi in a Costa Rican conservation area**. Parkway Publishers, Inc, 1998. p. 196

SAMPAIO, P. T. B.; BARBOSA, A. P.; VIEIRA, G. *et al.* Silvicultura do pau-rosa (Aniba roseodora Ducke). In: HIGUCHI, N.; SANTOS, J. DOS; SAMPAIO, P. T. B. *et al.* (Eds.). **Projeto Jacaranda-Fase II: Pesquisas Florestais na Amazônia Central**. INPA-MCT ed. Manaus: 2003. p. 252.

SHERF, A. A method for maintaining *Phytophthora sepedonica* in culture for long periods without transfer. **Phytopathology**, v. 33, p. 330-332, 1943.

SILVA, M. **Ecologia das comunidades vegetais da caatinga: Prioridades de Pesquisa**. Anais do Simpósio sobre a caatinga e sua exploração racional. **Anais...** Brasília: EMBRAPA-DDT. , 1986

SILVA, M. S.; MINTER, D. W. Fungi from Brazil recorded by Batista and co-workers. **Mycological Papers**, v. 169, p. 1-585, 1995.

SMITH, D.; WALLER, J. M. Culture collections of microorganisms: their importance in tropical plant pathology. **Fitopatologia Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 5-12, 1992.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes: Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata**. 1980. p. 696

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N. *et al.* MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

TANAKA, K.; ENDO, M.; HIRAYAMA, K. *et al.* Phylogeny of Discosia and Seimatosporium, and introduction of Adisciso and Immersidiscosia genera nova. **Persoonia**, v. 26, p. 85-98, 2011.

VELLOSO, A. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; PAREYN, F. G. C. Ecorregiões Propostas para o Bioma Caatinga. In: VELLOSO, A. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; PAREYN, F. G. C. (Eds.). **Associação Plantas do Nordeste**. Recife: The Nature Conservancy do Brasil, 2002. p. 76.

VIÉGAS, A. Técnica de Cortes à Mão Livre. **Bragantia**, v. 3, n. 8, p. 193-198, 1943.

WHITE, T. J.; BRUNS, T. D.; LEE, S.; TAYLOR, J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Eds.). **PCR protocols a guide to methods and applications**. Academic Press, 1990. p. 315-322.

WU, W. P.; SUTTON, B. C. A reassessment of some Discosia species. **Mycological Research**, v. 100, n. 3, p. 287-290, 1996.