



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ESTUDOS MORFOLÓGICOS DE *DREPANOCONIS*
***LARVIFORMIS*, AGENTE ETIOLÓGICO DE GALHAS EM**
FRUTOS DE *EMMOTUM NITENS* E *NECTANDRA*
***OPPOSITIFOLIA* EM ÁREAS DE CERRADÃO NO ESTADO DE**
MINAS GERAIS E NO DISTRITO FEDERAL

Matheus Batista Pereira

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Vilela de Rezende

BRASÍLIA-DF

JUNHO/2019



MATHEUS BATISTA PEREIRA

**ESTUDOS MORFOLÓGICOS DE *DREPANOCONIS*
LARVIFORMIS, AGENTE ETIOLÓGICO DE GALHAS EM
FRUTOS DE *EMMOTUM NITENS* E *NECTANDRA*
OPPOSITIFOLIA EM ÁREAS DE CERRADÃO NO ESTADO DE
MINAS GERAIS E NO DISTRITO FEDERAL**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – UnB, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Denise Vilela de Rezende

**BRASÍLIA-DF
JUNHO/2019**

Universidade de Brasília - UnB
Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária - FAV

Estudos morfológicos de *Drepanoconis larviformis*, agente etiológico de galhas em frutos de *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia* em áreas de cerrado no estado de Minas Gerais e no Distrito Federal

Projeto final de Estágio Supervisionado, submetido à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Matheus Batista Pereira
Matrícula: 14/0155091

APROVADO PELA BANCA EXAMINADORA:

Denise Vilela de Rezende
Doutora, Universidade de Brasília – UnB, Orientadora

Rita de Cássia Pereira Carvalho
Doutora, Universidade de Brasília – UnB, Examinadora

Ernandes Rodrigues de Alencar
Doutor, Universidade de Brasília – UnB, Examinador

FICHA CATALOGRÁFICA

Pereira, M.B. Estudos morfológicos de *Drepanoconis larviformis*, agente etiológico de galhas em frutos de *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia* em áreas de cerrado no estado de Minas Gerais e no Distrito Federal. Matheus Batista Pereira; orientação de Denise Vilela de Rezende – Brasília, 2019 – 25f.

Monografia – Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2019

1. Fitopatologia 2. *Drepanoconis larviformis* 3. Morfologia 4. Galhas

I. Rezende, D.V. II. Título

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Pereira, M.B. **Estudos morfológicos de *Drepanoconis larviformis*, agente etiológico de galhas em frutos de *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia* em áreas de cerrado no estado de Minas Gerais e no Distrito Federal.** 25f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília – UnB, Brasília, 2019.

CESSÃO DE DIREITOS

Nome do autor: Matheus Batista Pereira

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Estudos morfológicos de *Drepanoconis larviformis*, agente etiológico de galhas em frutos de *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia* em áreas de cerrado no estado de Minas Gerais e no Distrito Federal.

Ano: 2019

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação, e nenhuma parte desta monografia de graduação pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

Matheus Batista Pereira

Matrícula: 14/0155091

Tel.: (61) 98151-0262 / e-mail: mdmatheus2@gmail.com

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| RESUMO..... | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| 1. INTRODUÇÃO | 3 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 5 |
| 2.1 O Cerrado brasileiro..... | 5 |
| 2.2 Características gerais das hospedeiras | 6 |
| 2.2.1 <i>Emmotum nitens</i> | 6 |
| 2.2.2 <i>Nectandra oppositifolia</i> | 7 |
| 2.3 Características gerais do patógeno (<i>Drepanoconis</i> spp.) | 8 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 10 |
| 3.1 Material examinado..... | 10 |
| 3.2 Métodos laboratoriais..... | 10 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 12 |
| 5. CONCLUSÕES | 18 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 19 |

RESUMO

Pereira, M.B. **Estudos morfológicos de *Drepanoconis larviformis*, agente etiológico de galhas em frutos de *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia* em áreas de cerrado no estado de Minas Gerais e no Distrito Federal.** 25f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília – UnB, Brasília, 2019.

A preservação do Cerrado no Brasil é de suma importância por ser um bioma que vem sendo degradado junto com toda a sua biodiversidade, inclusive a sua microbiota. Esse trabalho teve como objetivo o estudo do agente etiológico causador de galhas pulverulentas em frutos de duas espécies arbóreas de Cerradão, *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia*. Amostras de galhos contendo sintomas e sinais do patógeno como galhas e abortamento de flores, foram coletadas em áreas de cerrado do DF e de Minas Gerais. Fragmentos de frutos infestados foram cortados em micrótomo de congelamento e estruturas do patógeno foram depositados em lâminas com corantes para observação em microscópio ótico. Fragmentos de 7 mm foram preparados para observação em microscópio eletrônico de varredura. Pelos resultados dos estudos morfológicos identificou-se o fungo *Drepanoconis larviformis* em ambos hospedeiros. O fungo é um basidiomiceto, que apresenta basidiósporos curvados, asseptados, com membrana externa rugosa de diferentes dimensões produzidos em holobasídios hifais. Esse é o primeiro relato de *D. larviformis* infestando *E. nitens* no DF e em *N. oppositifolia* no cerrado de Minas Gerais.

Palavras-chave: *Drepanoconis larviformis*, galhas, hospedeiros, morfologia, cerrado.

ABSTRACT

The Cerrado preservation in Brazil is of mount importance, because it is a biome that has been degraded and together, all its biodiversity, including its mycobiota. The objective of this work was to study the etiological agent causing powdery galls in fruits of two arboreal species of Cerradão, *Emmotum nitens* and *Nectandra oppositifolia*. Symptomatic samples of branches exhibiting pathogens signs were collected in cerrado areas of Distrito Federal and Minas Gerais. Fragments of infested fruits were cut in freezing microtome and structures of the pathogen were deposited on slides, with dyes, for observation under optical microscope. Fragments of 7 mm were prepared for observation under scanning electron microscope. The results of the morphologic studies allowed the identification of *Drepanoconis larviformis* in both hosts. The fungus is a basidiomycete, which presents curved basidiospores, aseptate, with a rough external membrane of different dimensions produced in hyphal holobasidia. This is the first report of *D. larviformis* causing galls in *E. nitens* and *N. oppositifolia* in the cerrado of Minas Gerais.

Keywords: *Drepanoconis larviformis*, galls, hosts, morphology, cerrado.

1. INTRODUÇÃO

O cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul e não é preservado por leis com exceção dos parques nacionais e áreas de preservação ambiental (APAS). Sua preservação é de extrema importância para a manutenção da biodiversidade, principalmente da flora, visto que diversas comunidades sobrevivem do extrativismo de diversas espécies vegetais medicinais e de espécies que produzem frutos e sementes comestíveis, do uso de espécies nativas do cerrado para a recuperação de áreas degradadas, arborização urbana, reflorestamento e consórcio com espécies de reflorestamento. Nesse bioma há uma vasta biodiversidade a ser explorada, com relações biológicas existentes, as quais nem sempre são necessariamente positivas.

A presença de doenças causadas por microrganismos em áreas para plantio de grandes culturas e para produção de carvão e lenha, provocam um desequilíbrio permitindo que doenças fúngicas surjam causando danos e prejuízos em espécies nativas desse bioma, pelos distúrbios fisiológicos no metabolismo das plantas, elevando a probabilidade de morte e da não sobrevivência dessa vegetação.

Dois espécies de plantas arbóreas de cerrado, uma fitofisionomia do cerrado característica por uma vegetação mais densa e de maior porte apresentando formações florestais maiores, foram selecionadas para essa pesquisa porque estão inseridas nas pesquisas de doenças em frutos de essências nativas de cerrado, *Nectandra oppositifolia* Nees (Lauraceae) e *Emmotum nitens* (Benth.) Miers (Metteniusaceae). Nas inflorescências e em frutos de diversas idades, ocorre a infecção do fungo *Drepanoconis* spp. causando o abortamento de flores e o desenvolvimento de galhas, resultantes da hipertrofia e hiperplasia de células dos tecidos tornando-os deformados, posteriormente secos e mortos. Com base em estudos sobre a doença, essa foi relatada até o presente somente em membros da família Lauraceae no Brasil e no mundo.

O trabalho teve como objetivo estudar a morfologia do agente causal da doença nos dois hospedeiros, por meio de microscopia ótica e eletrônica de varredura, para se determinar as espécies do fungo, uma vez que *E. nitens* da família Metteniusaceae apresentou os mesmos sintomas da doença observada em *N. oppositifolia*, bem como relatar a ocorrência do fungo coletado em condições de

cerradão no estado de Minas Gerais e no Distrito Federal, infectando hospedeiras de relevante interesse de estudo, em virtude de suas aplicações ecológicas e econômicas, principalmente do gênero *Emmotum*, que possui apenas duas espécies no cerrado (Souza, V.C. et al., 2018).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Cerrado brasileiro

O cerrado brasileiro dominante na área do planalto central ocupa por volta de 22% do território nacional, ou seja, aproximadamente 2.045.000 km², estendendo-se pelos estados da Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, São Paulo e o Distrito Federal, além de pequenas porções situadas dentro de outros biomas da federação. A elevada concentração de espécies endêmicas confere ao bioma uma alta diversificação biológica, tamanha riqueza lhe atribui o título de “*hotspot*” mundial da biodiversidade, condecorando-o como um dos biomas mais ricos do mundo. Contudo, em decorrência de uma exploração predatória, principalmente pelo avanço exacerbado da atividade do agronegócio, o cerrado vem sendo gravemente ameaçado, posto isto, é cada vez mais notável a carência de iniciativas, principalmente governamentais, que contribuam para sua ampla e eficaz preservação (MMA, 2019).

Ao longo de sua extensão é notável a variedade de espécies que embelezam o cenário, atribuindo uma alternância de ricas paisagens e diferentes fitofisionomias. A flora do cerrado contribui não somente para o aspecto visual e ambiental, ainda convém lembrar de seu emprego social, no qual populações tradicionais do território, como por exemplo índios e quilombolas, detêm um exímio conhecimento do potencial presente e oferecido pelo cerrado, e estes povos que geralmente são dependentes dos recursos naturais oferecidos pelo bioma, direcionam estes recursos principalmente para as áreas da medicina e higiene, com o uso de plantas medicinais, terapêuticas e aromáticas, e também na área da agricultura onde uma vasta gama de espécies são utilizadas para a proteção do solo, utilização como quebra-ventos, uso na recuperação de solos degradados, assim como também na recomposição de matas ciliares, e aplicabilidade na arborização urbana dentre outros valores de uso ecológico e econômico (MMA, 2019). A exploração de plantas de cerrado para fins medicinais, cosméticos, cortiça e produção de perfumes são exemplos da imensa aplicabilidade e potencialidade da exploração sustentável do cerrado, o que leva a produção de mudas em grande

escala em viveiros florestais, por meio de sementes coletadas nas épocas de produção delas (MMA, 2019).

As limitações de obtenção de frutos e sementes dessas essências nativas de cerrado, para posteriores beneficiamentos e armazenagem, são as infestações de insetos e infecções de fungos ainda nas árvores e naquelas em que as coletas são feitas dos frutos ou sementes caídas no chão do ambiente de cerrado.

2.2 Características gerais das hospedeiras

2.2.1 *Emmotum nitens*

Emmotum nitens (Benth.) Miers (nome popular “sobro”) pertence atualmente à família Metteniusaceae, e não à família Icacinaceae, que pelos trabalhos de sistemática filogenética ficou demonstrado, não serem monofiléticas, ou seja, apresentar ancestral em comum (Souza, V.C. et al., 2018). A espécie é arbórea chegando a atingir até 15 metros de altura e 40 centímetros de diâmetro a altura do peito (DAP), sua caracterização morfológica dita que apresenta folhas simples com disposição alterno-espiraladas, suas flores são pequenas, pentâmeras e de aproximadamente 4 milímetros de comprimento, o fruto de *E. nitens* possui forma externa globosa, superfície irregular apresentando algumas depressões, textura lisa, e cor variando de verde a marrom-escuro, é opaco, de exocarpo carnoso e drupóide, seu tamanho varia de 12 a 30 milímetros (Alves, M.V.P. et al., 2014; Souza, V.C. et al., 2018).

A espécie é de relevante interesse de estudo em virtude da sua aptidão seja para uso econômico na propriedade rural com a utilização da sua madeira em construções rurais e confecções de móveis e até mesmo para ser utilizada como combustível, *E. nitens* tem também grande importância ecológica, sendo utilizada para arborização tanto urbana quanto rural e também pela sua aplicação em sistemas que atuam na recuperação de áreas degradadas no Cerrado (Moreira, A.G., 1987; Alves, M.V.P. et al., 2012; Cruz, A.P.O. & Viana, P.L. et al., 2016).

Não havia relatos de infecção pelo fungo *Drepanoconis* spp. ocorrendo em *Emmotum nitens* até o presente.

2.2.2 *Nectandra oppositifolia*

Amplamente distribuída nas regiões de clima tropical e subtropical as plantas da família Lauraceae possuem cerca de 2850 espécies distribuídas em 45 gêneros, sendo que no Brasil segundo Barroso (1978) ocorrem 390 espécies de 19 gêneros, estas espécies estão situadas geralmente em áreas de florestas pluviais, restingas e com maior frequência em áreas de cerrado (9 gêneros e 80 espécies) (Souza, V.C. et al., 2018). Esta família se destaca pelo potencial econômico, seja no ramo de indústria alimentícia, por exemplo o abacate (*Persea americana*), de condimentos e especiarias, assim como também através do uso de espécies para extração de óleos aromáticos e medicinais, bem como a sua aplicação na indústria moveleira (Marques, C.A. et al., 2014). Segundo Cante (1988), as espécies de maior relevância econômica no Brasil são *Ocotea* spp. e *Nectandra* spp., vulgarmente conhecidas como canelas e loureiros respectivamente. Atualmente têm tido emprego considerável na culinária e no fornecimento de madeira (Reitz, R. et al., 1983).

O gênero *Nectandra* Rol. ex Rott foi primeiramente descrito por Rottboell (1778), abrange em torno de 114 espécies, das quais 43 são brasileiras (Rohwer, J.G. et al., 1993), presente na vegetação como árvores e por vezes como arbustos. A característica vegetativa mais importante da *Nectandra* spp. é o indumento, que se refere a cobertura da planta, sendo altamente variável entre as espécies (Moraes, Pedro Luís Rodrigues de. et al., 2005).

Com árvores atingindo de 15 a 20 metros de altura *Nectandra oppositifolia*, pertencente à família das lauráceas é popularmente conhecida como canela-ferrugem. No Brasil é distribuída pelos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Rio grande do Sul, Santa Catarina São Paulo e Paraná (Rohwer, J.G. et al., 1993). Além do porte elevado, é distinguida facilmente em campo pelo tronco reto, de casca lisa, aromático, de copa arredondada e pelas folhas subopostas a opostas no ápice dos ramos, lanceoladas a elípticas e em geral densamente ferrugíneo-tomentosas e decorrente, suas flores são pequenas, o fruto elipsoide, carnosos e indeiscentes do tipo baga. A espécie é coletada com flores nos meses de fevereiro, maio e junho e com frutos de setembro a janeiro. A espécie pode ser empregada em arborização urbana e no paisagismo, assim como para recomposição de matas ciliares (Reitz, R. et al., 1983), e além disso sua madeira

também é utilizada na construção civil e para extração de especiarias (GOLDENBERG, R.; MORAES, P.L.R. et al., 2009).

Dentro da família Lauraceae, existem várias espécies dos gêneros de *Nectandra*, *Oreodaphne* e *Cryptocarya*, que são hospedeiros de *Drepanoconis* spp., são mais de dez espécies de *Nectandra* relatadas com a infecção pelo fungo, sendo *Nectandra oppositifolia* considerada uma hospedeira significativa para os estudos do patógeno em virtude de o mesmo estar frequentemente associado infectando espécies dessa família (Esquivel Rios, 2010; Hendrichs et al., 2003; Murace et al., 2012; Piepenbring et al., 2010;).

2.3 Características gerais do patógeno (*Drepanoconis* spp.)

Atualmente são relatadas duas espécies do fungo, *Drepanoconis larviformis* e *Drepanoconis fructigena* classificados dentro do filo Basidiomycota, ordem Exobasidiales e família Criptobasidiaceae. Por meio de análises filogenéticas moleculares e comparações com características taxonômicas morfológicas e grupos de hospedeiros, a ordem Exobasidiales foi dividida em 4 famílias, de acordo com a morfologia dos basídios. A família Criptobasidiaceae foi estabelecida para acomodar os fungos ocorrendo principalmente em Lauraceae, que esporulavam dentro dos tecidos das plantas hospedeiras e com basídios longos e gastróides (Begerow et al., 2002), que são basídios com esterigmas bem curtos, comuns em Agaricomycetes.

Identificado como patógeno causador das galhas pulverulentas, infectando geralmente espécies de lauráceas, o fungo *Drepanoconis larviformis* (Speg.) Speg. 1903, foi descrito inicialmente por Spegazzini em 1884 como *Helicomycetes larvaeformis*, isto em virtude de o fungo apresentar uma acentuada curvatura de seus basidiósporos que se assemelham ao aspecto de uma larva (Hendrichs et al., 2003), na referida circunstância, o fungo infestava galhos e frutos de *Ocotea puberula* no Paraguai. Posteriormente, o fungo foi novamente descrito, por Hennings, 1896 com base em coletas feitas no Brasil, de amostras de folhas e galhos da espécie *Nectandra oppositifolia*, e assim descreveu o gênero *Drepanoconis* e a espécie *Drepanoconis brasiliensis* J. Schröt. e Henn. Tempos mais tarde no ano de 1902, Hennings efetuou uma detalhada descrição do patógeno, logo Spegazzini reconheceu a espécie detalhada por Hennings com a

identidade do patógeno que já havia sido descrita por ele anteriormente, e decidiu por renomear no ano de 1903 o fungo de *Helicomyces larvaeformis* para *Drepanoconis larviformis* (Speg.) Speg. (Hendrichs et al., 2003). Atualmente, a espécie *D. larvaeformis* é sinônimo de *D. larviformes* (Farr & Rossman, 2010; Piepenbring et al., 2010). De acordo com o histórico de sua ocorrência, este patógeno é característico da América Central e da América do Sul, sendo relatado em países como Argentina, Brasil, Costa Rica, Jamaica, Panamá e Paraguai (Gómez & Kisinova-Horovitz, 1998; Hendrichs et al., 2003; Piepenbring et al., 2010). No Panamá, o fungo foi relatado por Piepenbring (2010) ocorrendo em *Nectandra cuspidata*, um novo hospedeiro da família Lauraceae, por meio de estudos morfológicos e moleculares reafirmando a colocação do fungo na família Criptobasiaceae. Murace e colaboradores em 2012, fizeram o primeiro relato de *Drepanoconis larviformis* em *Nectandra lanceolata*, na Argentina, com base na morfologia em microscopia de luz e eletrônico de varredura, apresentando uma chave para a separação das duas espécies válidas de *Drepanoconis* até o presente, *D. larviformis* e *D. fructigena*, com base na forma e tamanho e número de septos dos basidiósporos e tipos de paráfises.

A espécie de *Drepanoconis fructigena* (Rick, 1905), também conhecida por *Marssonina fructigena* (Rick, Bres., 1905), é responsável pela infecção exclusivamente dos frutos da planta hospedeira, possui basidiósporos uniformes gastróides, e levando em conta o tamanho; *D. fructigena* apresenta basidiósporos ligeiramente curvados, porém de curvatura menos acentuada e também de dimensões menores se comparada à espécie *D. Larviformis*. A espécie é descrita contendo apenas um septo, em casos raros há ocorrência de dois septos, suas paráfises apresentam os terminais espessados e são mais largas em diâmetro e basídios produzindo mais de dois basidiósporos (Murace et al., 2012). *D. fructigena* é relatada infestando frutos das espécies *Oreodaphne* spp., *Ocotea* spp. e *Persea* spp. na América do Sul nos países Brasil e Uruguai (Hendrichs et al., 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material examinado

Para realização dos estudos do fungo *Drepanoconis* spp., foram utilizadas amostras de duas espécies hospedeiras coletadas em condições de Cerradão com os sintomas de infecção pelo patógeno em diferentes estágios de evolução. Amostras de *Emmotum nitens* foram obtidas em condições de cerrado na região de Planaltina no Distrito Federal e as coletas de *Nectandra oppositifolia* em área de mata do cerrado em uma propriedade particular em Lavras no sul do estado de Minas Gerais.

3.2 Métodos laboratoriais

A análise do fungo *Drepanoconis* spp. baseou-se na realização de cortes do material vegetal das amostras das duas espécies citadas, *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia*, tanto em micrótomo de congelamento, como também utilizando o método manual de corte, para que posteriormente fossem elaboradas a montagem de lâminas semipermanentes para observação do fungo no microscópio ótico.

O material coletado foi introduzido em solução hidratante aquosa onde permaneceram por 24 h antes da realização dos cortes. Os cortes selecionados para observação dos poros germinativos dos esporos foram montados em lâminas com a adição de gotas do corante lactoglicerol azul de algodão. Para o detalhamento morfológico do fungo através do microscópio parte das amostras foram submetidas ao corante de Bruzzese & Hassan (1983) com a composição: 40 g de cloral hidratado, 15 mL de clorofórmio, 125 mL de ácido láctico a 90%, 300 mL de etanol 95% e 0,6 g de azul de anilina. Em seguida, efetuou-se a montagem das lâminas, suas observações e fotografias foram realizadas em fotomicroscópio Zeiss-Axiophot E (Carl Zeiss Oberkachen, Alemanha).

Para a análise microscópica da superfície dos tecidos das amostras vegetais infectadas com o fungo em microscópio eletrônico de varredura (MEV), foram cortados fragmentos da amostra, que foram hidratadas e fixadas com solução fixadora de Karnovsky (paraformaldeído (Merck) a 4% e glutaraldeído (Sigma) a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M - pH 7,2) e refrigeradas em geladeira a 4 °C por um período de 24 h. Adiante, foi realizada uma sequência de

cinco lavagens das amostras utilizando a mesma solução tampão cacodilato de sódio, e então foi realizado o tratamento das amostras com tetróxido de ósmio (OsO₄) a 1% e em seguida foram refrigeradas novamente na solução em geladeira a 4 °C por um período de 12 h, após isto foi realizada uma nova série de cinco lavagens com a solução tampão (Souza, W.,1993).

Posteriormente foi efetuada a desidratação do material seguindo uma série aquosa 30%, 50%, 70% 90% e 100% de acetona, permanecendo 20 min em cada, sendo que na última foi trocada duas vezes. Na etapa seguinte secou-se o material ao ponto-crítico utilizando-se CO₂ líquido, no aparelho de secagem CPD-030 Balzers (Baltec, Fuerstentum, Liechtenstein). Em seguida, foi realizada a metalização das amostras, os fragmentos de tecido secos foram colocados sobre suporte metálico com pasta condutiva de prata, e então foram cobertos com ouro por meio de pulverização catódica por 140 segundos, utilizando o aparelho marca Leica, modelo SCD 500. As observações das amostras metalizadas foram feitas em microscópio eletrônico de varredura da marca Jeol, modelo 7001F (Jeol Ltd., Tóquio, Japão) com acelerações de 5 e 10 KV e distância de trabalho de 20 mm, com obtenção de fotografias das estruturas do patógeno.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo, *Drepanoconis larviformis* pertencente ao filo Basidiomycota, ordem Exobasidiales e família Criptobasidiaceae, infesta inflorescências, primórdios de frutos e frutos de árvores de *Emmotum nitens* e *Nectandra oppositifolia*. Os danos causados são morte e queda de flores e aborto de frutos, quando a floração ocorre nos meses chuvosos (janeiro a março). No florescimento normal, com produção de frutos dessas espécies, que ocorrem nos meses de junho e julho, a infecção do fungo nos tecidos dos frutos transforma-os em galhas, essas galhas variam de 3 mm a 18 mm de diâmetro, dependendo do estágio de desenvolvimento dos frutos. As galhas são resultado da infecção do micélio fúngico, que causa hiperplasia e hipertrofia de células dos tecidos dos dois hospedeiros (Figs. 1 e 2).



Figura 1. A- Árvore de *Emmotum nitens* com sintomas da doença. B e C- Galhas desenvolvidas nos frutos, mostrando massa pulverulenta de basidiósporos pela infecção de *Drepanoconis larviformis*.

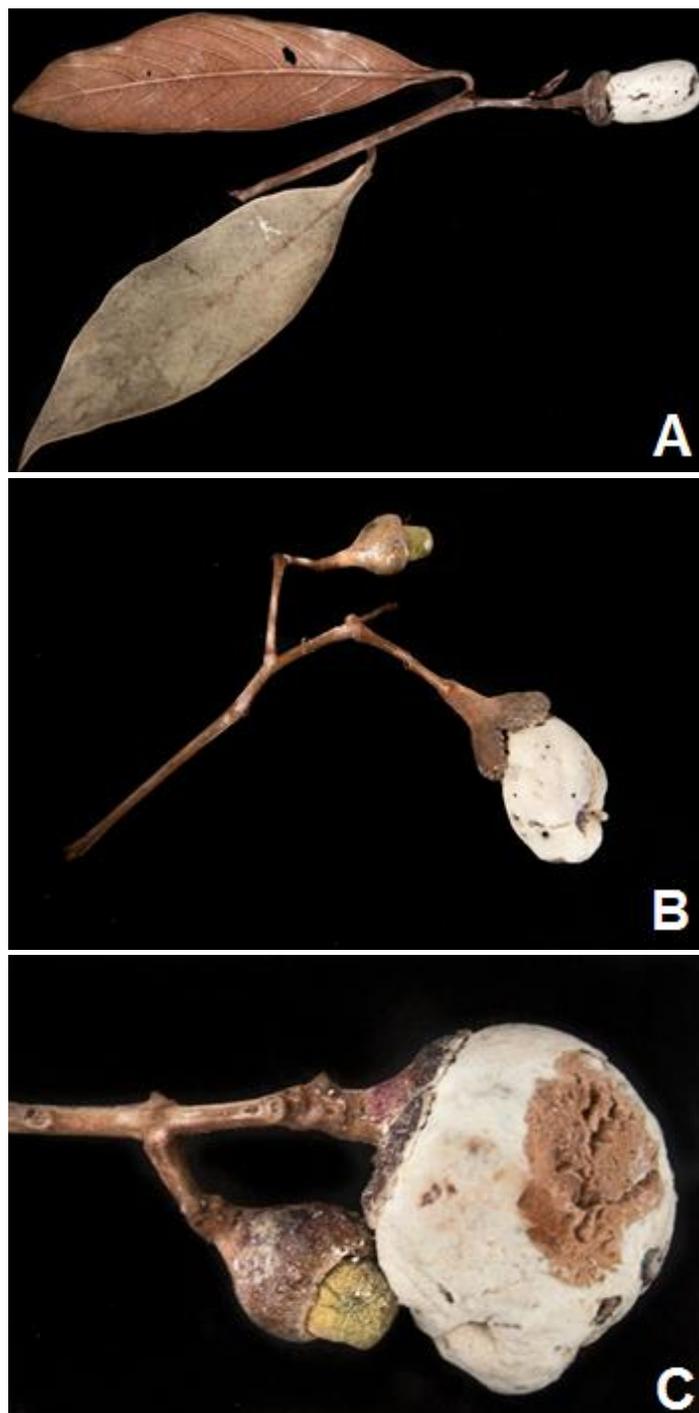


Figura 2. A, B e C. Ramos de *Nectandra oppositifolia* com galhas em frutos causadas por *Drepanoconis larviformis*.

Inicialmente, as galhas são cobertas por uma camada de coloração marrom escura, do tecido morto dos frutos, que após a produção abundante de basidiósporos, se rompe liberando massas de esporos pulverulenta e de coloração branca que se tornam de coloração bege quando cessa a produção de esporos

com a morte dos tecidos dos frutos dos hospedeiros (Figura 1B). Esses sintomas também são relatados por vários autores em diversas regiões da América Latina (Gómez e Kisimova-Harovitz, 1998; Hendrichs et al., 2003; Piepenbring et al., 2010; Murace et al., 2012; Carvalho, 2017).

Os basidiósporos são produzidos em holobasídios hifais, longos e finos produzindo um esporo por basídio, com dimensões de 49-90 μm x 23-30 μm , parede dupla e espessa, a interna mede 2-2,5 μm e as duas juntas medem 8-15 μm , e a parede externa é rugosa (Figura 3).

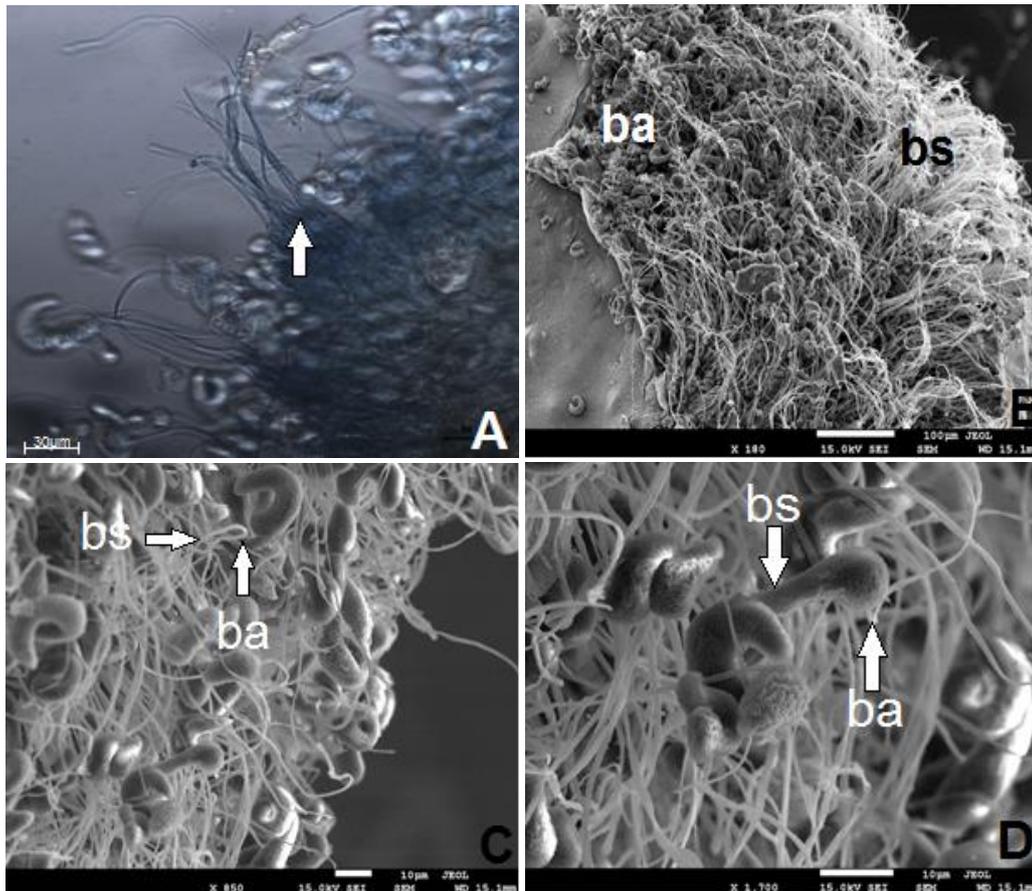


Figura 3. A - D. Cortes de galhas de frutos observadas em microscópio ótico (MO) e eletrônico de varredura (MEV). **A-** Corte de galhas mostrando basídios hifais, com massa de basidiósporos vistos em MO (seta); **B-** Corte de galha observado em MEV mostrando a membrana que cobre a massa de holobasídios longos em feixes (bs) e basidiósporos(ba); **C e D-** Basidiósporos (ba) sendo formados nos ápices de holobasídios (bs).

Os basidiósporos têm uma cicatriz proeminente do lado onde se desprende do basídio e com granulações de lipídios semelhantes a septos. Vários autores relatam essas características como sendo septos, há muitas divergências quanto a essas afirmações e a classificação das espécies de *Drepanoconis* spp. levam em consideração essa “septação” (Murace et al., 2012). No entanto, tanto em microscópio de luz quanto no de varredura, não foram observados septos (Figs. 4 e 5) em concordância com Piepenbring (2010), que descreve essas estruturas como sendo grânulos de amido (lipídios), sendo assim para uma concreta afirmação uma análise molecular das estruturas do patógeno estará em curso para melhor especificação de suas características.

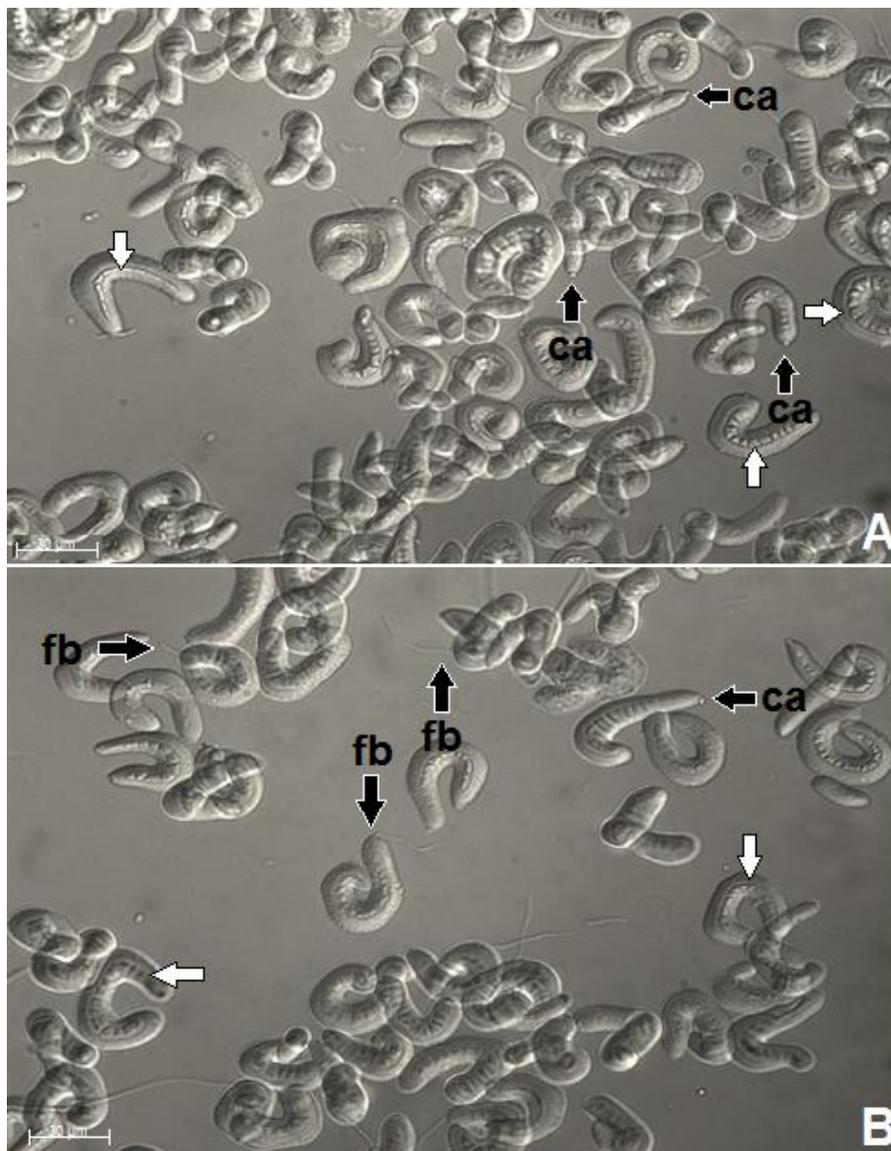


Figura 4. A e B- Basidiósporos de *Drepanoconis larviformis* com granulações de lipídios nas membranas internas (setas brancas), cicatrizes apicais proeminentes (ca) e basidiósporos presos a fragmentos de basídios hifais (fb), vistos ao MO.

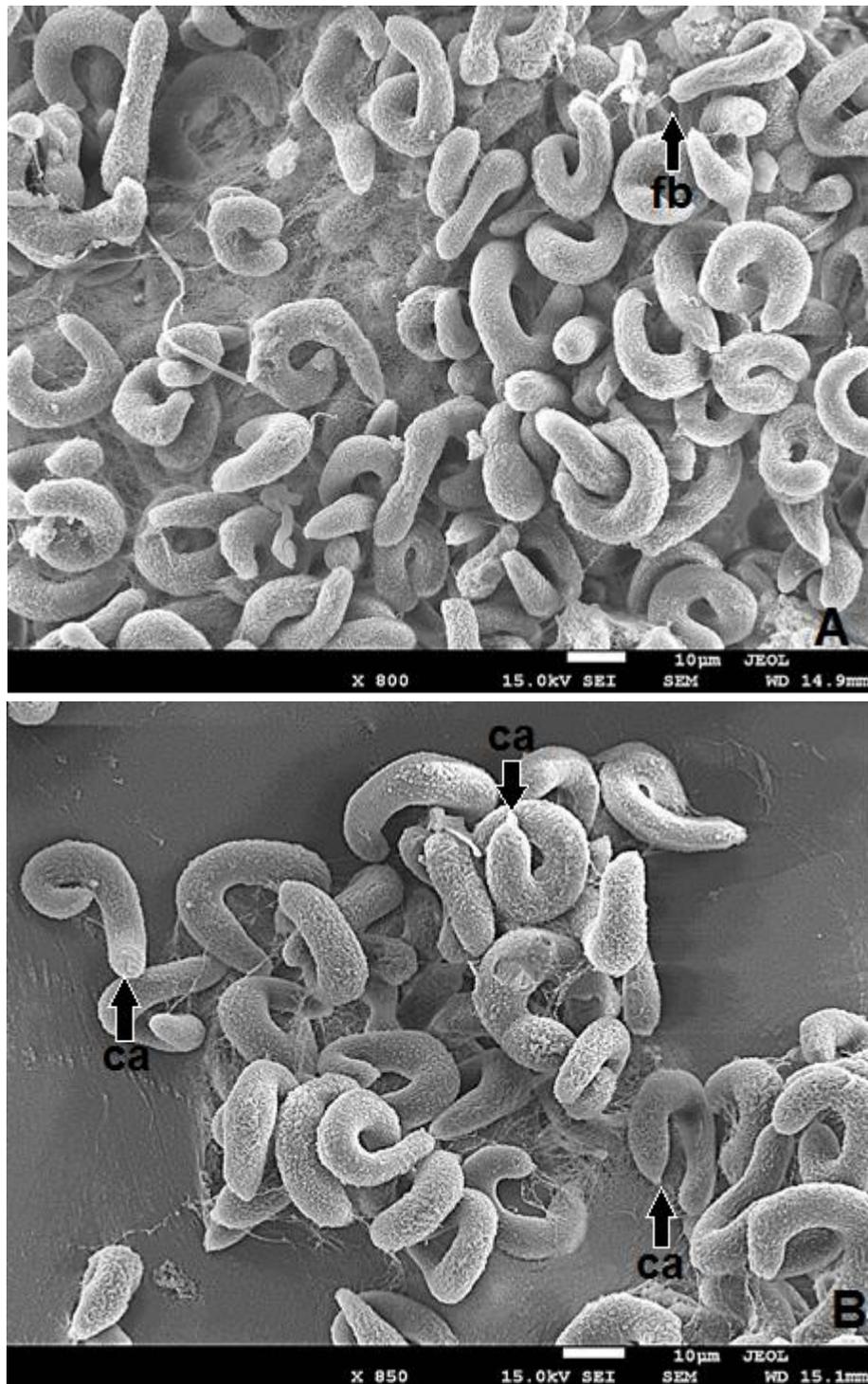


Figura 5. A e B- Basidiósporos de *Drepanoconis larviformis* vistos ao MEV com paredes externas rugosas. **A-** Mostrando fragmento de basídio preso ao basidiósporo (fb). **B-** Mostrando cicatrizes apicais proeminentes (ca).

Os basídios são produzidos nos tecidos hipertrofiados formando camadas emaranhadas de tecidos, nas pontas dos basídios são observados 2 minúsculos esterigmas e geralmente os basidiósporos desprendem com parte deles (Fig. 4). Observou -se também que os basidiósporos germinam dando origem a outros basidiósporos (Fig. 6) caracterizando produção de esporídios, como acontece com o grupo de basidiomicetos levedurais e cultiváveis em meio de cultura, como por exemplo os basidiomicetos da família Laurobasidiaceae (Somrithipol, et al., 2018).

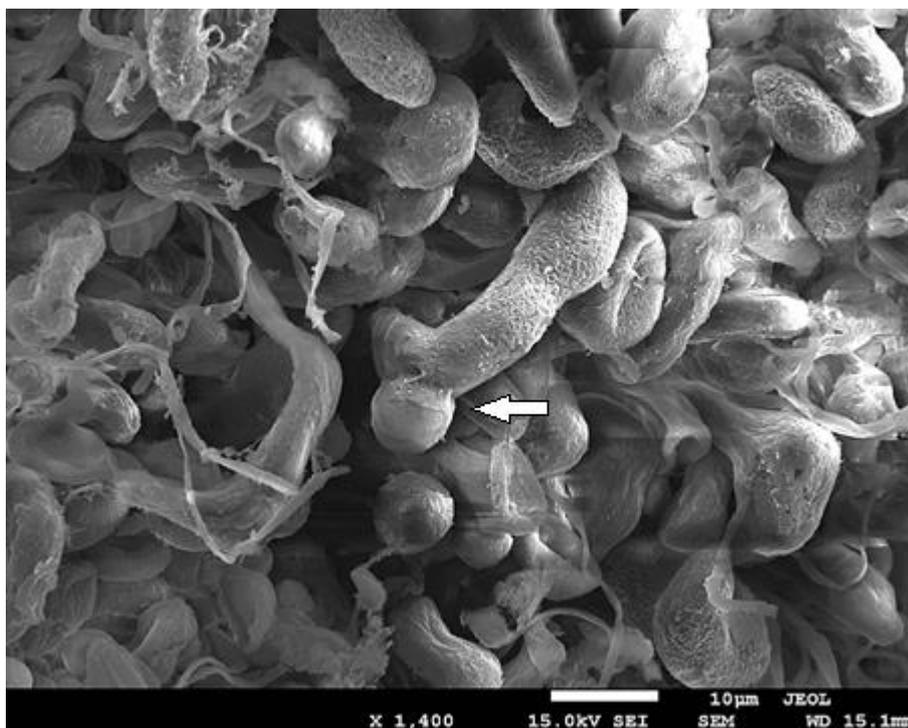


Figura 6. Detalhe de basidiósporo germinando dando origem a outro basidiósporo, visto em MEV (seta).

Por essas características, *D. larviformis* pode ser cultivado em meio de cultura, a exemplo dos grupos de Exobasidiales. Os dados morfológicos obtidos por meio das análises laboratoriais do patógeno fúngico de galhas em amostras de *Emmotum nitens* e de *Nectandra oppositifolia* foram muito similares, tratando -se da mesma espécie, *Drepanoconis larviformis*.

5. CONCLUSÕES

O fungo causador de morte em inflorescências, aborto de frutos e de galhas em *Nectandra oppositifolia* e *Emmotum nitens* em condições de Cerradão na área do Distrito Federal e no sul de Minas Gerais é *Drepanoconis larviformis*, sendo esse o primeiro relato do fungo nos dois hospedeiros nesses locais e inédito também em *E. nitens*, da família Metteniusaceae, onde não havia até o presente, nenhuma ocorrência de infecção relatada. Além disso *D. larviformis* foi descrito até o presente infestando apenas plantas da família Lauraceae, sendo geralmente associado somente a essa família, portanto o relato do fungo causador de galhas em um membro da família Metteniusaceae, promove nova associação do patógeno com uma hospedeira inédita.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, M. V. P.; Silva, J.C.S.; Costa, C.J. **Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e mudas de *Emmotum Nitens* (Benth.) Miers (Icacinaeae).** Revista Verde (Mossoró – RN), v. 9, n. 2, p 59-67, fev-jun, 2014.

Alves, M. V. P. **Produção de mudas de *Emmotum nitens* (Benth.) Miers (Icacinaeae) em diferentes composições de substratos.** Revista Verde (Mossoró – RN), v. 7, n. 2, p 225-235, abr-jun, 2012.

Barroso, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil.** v.1. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 255p. ilustrado, 1978.

Bruzesse, E.; Hasan, S. **A whole leaf clearing and staining technique for host specificity studies of rust fungi.** Plant Pathology 32:335-338. 1983.

Cante, T. **O móvel do século XIX no Brasil.** CGPM. Rio de Janeiro. 190p,1988.

Carvalho, C.; Gavassoni, W.L.; Pontim, B.C.A; Barizon, J.O.; Bacchi, L.M.A.; Alves, F.M. **Ocorrência de *Drepanoconis larviformis* infectando espécies de Lauraceae no Mato Grosso do Sul, Brasil.** Revista Ciências Agrárias, v.60, nº 1, p. 120-124, jan/mar, 2017

Cruz, A. P. O.; Viana, P. L.; Santos, J.U. **Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Asteraceae.** Rodriguésia, Rio de Janeiro, v. 67, n. 5spe, p. 1211-1242, 2016.

Esquivel R., E. A. **La hipertrofia harinosa del fruto de *Ocotea veraguensis* (Lauraceae) causada por *Drepanoconis larvaeiformis* Speg. (Fungi: Criptobasidiaceae) en Panama.** Agrociencia Panamensis, 2010.

Farr, D.F.; Rossman, A.Y. **Fungal databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory.** ARS, USDA, 2010. Disponível em: <http://www.fungaldbases/>.

Goldenberg, R.; Moraes, P.L.R. **O gênero *Nectandra* Rol. ex Rottb. (Lauraceae) no Estado do Paraná, Brasil.** Acta Bot. Bras., São Paulo, v. 23, n. 1, p. 22-35, Mar. 2009.

Gómez, I. D.; Kisimova-horovitz, L. **Basidiomicetes de Costa Rica. Nuevas especies de *Exobasidium* (Exobasidiaceae) y registros de Cryptobasidiales.** Revista de Biología Tropical, v. 46, p. 1081-1093, 1998.

Governo do Brasil. Ministério do Meio Ambiente, 2019. **O bioma cerrado.** Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 10 Fev. 2019.

Hendrichs, M.; Bauer, R.; Oberwinkler, F. **The Cryptobasidiaceae of tropical Central and South America.** Sydowia, v. 55, p. 33-64, 2003.

Hennings, P. **Beiträge Zur Pilzflora Südamerikas I: Myxomycetes, Phycomycetes, Ustilagineae und Uredineae.** Hedwigia, v. 35, p. 207- 262, 1896. Disponível em: <<http://www.biodiversitylibrary.org/item/13878>>. Acesso em: 17 Mar. 2019.

Hennings, P. **Fungi S. Paulenses II. a cl. Puttemans collection.** Hedwigia, v.41, p. 295-311, 1902. Disponível em: <<http://www.biodiversitylibrary.org/item/13884>>. Acesso: 17 Mar. 2019.

Marques, C.A. **Importância econômica da família Lauraceae.** Lindl., Floresta e Ambiente, v.8, n.1, p.195-206, 2001.

Mycobank. *Drepanoconis larviformis.* Disponível em:<<http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000067&Rec=225935&Fields=All>>

Moraes, P.L.R. **Sinopse das Lauráceas nos estados de Goiás e Tocantins, Brasil.** Biota Neotropica, Campinas, v. 5, n. 2, p. 253-270, 2005.

Moreira, A. G. **Aspectos demográficos de *Emmotum nitens* (Benth.) Miers (Icacinaceae) em um cerrado no Distrito Federal.** 1987. p95. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Murace, M. A.; Luna, M. L.; Ciuffani, G.G.; Aprea, A. M. **Identificación de *Drepanoconis larviformis*, agente causal de la a galla pulverulenta em *Nectandra lanceolata*, com microscopía óptica y eletrónica de barrido.** Acta Microscopica, v. 21, n. 3, p. 140-146, 2012.

Piepenbring, M.; Espinoza, J.; Saldaña, L.; Cáceres, O. **New records, host plants and molecular data of Exobasidiales (Basidiomycota) from Panamá.** Nova Hedwigia, v. 91, n. 1-2, p. 231- 242, 2010.

Reitz, R.; Klein, R. M.; Reis, A. **Projeto Madeira do Rio Grande do Sul.** Sellowia, n.34-35, p. 1-525, 1983.

Rohwer, J. G. **Lauraceae: *Nectandra*.** Flora Neotropica, v. 60, n. 1, p. 1-332, 1993.

Rottboell, C.F. **Descriptiones plantarum surinamensium.** Acta literária universitatis hafniensis 1: 269-282, Copenhagen, 1778. Disponível em: <http://digital.onb.ac.at/OnbViewer/viewer.faces?doc=ABO_%2BZ179005703>.

Somrithipol, S. ***Laurobasidiaceae* fam. nov. (Exobasidiales, Basidiomycota), a new family for fungi causing galls with aerial root-like outgrowths, with a new record from Thailand of *Laurobasidium hachijoense* on a new host, *Cinnamomum subavenium*.** Phytotaxa, [S.I.], v. 347, n. 2, p. 150–164, Apr. 2018.

Sousa, V.C.; Flores, T.B.; Colletta, G.D.; Coelho, R.L.G. **Guia das plantas do cerrado.** Editora Taxon Brasil. 2018. 600p.

Souza, W. **Manual sobre Técnicas Básicas em Microscopia Eletrônica.** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, 1993, v.III.