



# XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

## Instituto Agrônomo - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

### CROSTA-NEGRA DE *Phyllachora* sp. EM CAPIM-PÉ-DE-GALINHA (*Eleusine indica*) – IDENTIFICAÇÃO, VARIABILIDADE MORFOLÓGICA E OCORRÊNCIA

Natanael Marcos Lemes<sup>1</sup>; Paula Rodrigues Neves<sup>1</sup>; Jennifer Decloquement<sup>2</sup>, Matheus do Carmo Leite<sup>1</sup>, Rafaela Souza Alves Fonseca<sup>1</sup>; Anderson Rodrigues Rietjens<sup>1</sup>, Jakelanny Martins Silva<sup>1</sup>, Roberto Pereira Castro Junior<sup>3</sup>, Milton Luiz da Paz-Lima<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>IFGoiano Urutaí, Lab. de Microbiologia e Fitopatologia, CEP 75790-000, GO. [natanaelmarcos20@gmail.com](mailto:natanaelmarcos20@gmail.com)/[fitolima@gmail.com](mailto:fitolima@gmail.com), <sup>2</sup>IUT de Béthune - 1230 rue de l'Université - CS 20819 - 62408 Béthune Cédex, France, <sup>3</sup>Basf, Rodovia BR 070, KM 266, sentido Barra do Garças, CEP 78600-000, Primavera do Leste - MT

**RESUMO** – O capim-pé-de-galinha, nativo de África, é conhecido como uma planta espontânea, encontrada atualmente disseminada por todas as regiões produtoras tropicais do mundo. O objetivo deste trabalho foi identificar e analisar a variabilidade morfológica e morfométrica de *Phyllachora* sp. associada aos sintomas da crosta-negra-do-capim-pé-de-galinha. Amostras de folhas sintomáticas, no ano de 2015, localizadas na cidade de Urutaí, GO, foram analisadas em microscópio estereoscópio. Neste, prepararam-se lâminas semipermanentes e cortes histológicos para análise e visualização em microscópio composto. Realizaram-se medições em microscópio de captura de imagens digital Nikon. Fez-se análise de frequência de peritécio, asca e ascósporos, bem como, descreveu-se sua morfologia, para comparação com descrição para a espécie. O fungo apresentou estroma negro, imerso, errompente, anfígeno, de forma irregular, oblonga, pulvinado. Apresentou confluência, lóculos imersos no tecido vegetal, peritécio irregular a piriforme, parafísado e filiforme, ostiolado, de dimensões de 97,7-(211,8)-227,4 x 72,1-(142,9)-170,4 µm. O ostíolo apresentou diâmetro de 41,7-(58,2)-67,1 µm, a asca apresentou forma clavada a cilíndrica, pedicelada (característica variável), de dimensões de 46,5-(70,7)-114,3 x 3,8-(7,0)-33,8 µm. Apresentou oito ascósporos por asca, de posicionamento unisseriado, ascósporo liso, unicelular, hialino, ovóides e elípticos, sem a presença de glândula oleosa interna, de dimensões de 6,2-(9,8)-14 x 3,1-(6,1)-9,4 µm. Somente o comprimento e a largura dos ascósporos podem ser considerados neste trabalho características quantitativas confiáveis, para análise comparativa para identificação. Com base na análise qualitativa e quantitativa da morfologia, o isolado foi identificado como *P. eleusine*.

**Palavras-chave:** crosta negra, etiologia.

## INTRODUÇÃO

O capim capim-pé-de-galinha, capim-de-pomar, pata-de-galinha, capim-de-burro, pé-de-papagaio (*Eleusine indica* (L.) Gaertn - Poaceae), bastante conhecido como uma planta daninha infestante em mais de 50 culturas no mundo (Wandscheer et al., 2013). Nativa da África, encontra-se atualmente disseminada por todas as regiões tropicais. Trata-se de uma planta bastante comum em cultivo anuais e perenes, ocorrendo em praticamente todos os tipos de ambientes alterados



# **XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**

## **Instituto Agronômico - Campinas, SP**

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

(antropizados), sendo bastante agressiva em culturas e pastagens naturais, infestando também terrenos baldios, jardins e beira de estradas. A espécie pode ser reconhecida principalmente pela inflorescência terminal digitada a verticilada com várias espiguetas dispostas de um único lado da ráquis. Ela possui um sistema radicular bastante desenvolvido, sendo uma das principais infestantes de solos compactados como em plantio direto. O capim-pé-de-galinha possui propriedades terapêuticas, sendo estudada para sua eficácia no tratamento de doenças do trato respiratório (PASTORE et al., 2012; LORENZI, 2008).

Existem três espécies de *Phyllachora* spp. (*P. eleusines*, *coracana* e *P. eragrostidis*) que infectam espécies de *Eleusine* spp., representando 22 registros de ocorrência no mundo. O patógeno *P. eleusine* infecta seis espécies de *Eleusine* ssp. representados por *E. carocana* no Sudão (PARBERY, 1967), na Tanzânia (PARBERY, 1967; RILEY, 1960), em Uganda (PARBERY, 1967; RAMAKRISHNAN, 1971), *E. floccifolia* no Quênia (PARBERY, 1967), *E. iambo* na Etiópia (CASTELLANI e CIFERRI, 1950), *E. indica* no Congo (PARBERY, 1967), Ghana (PARBERY, 1967), Ilhas Mauritius (PARBERY, 1967; ORIEUX & FELIX, 1968; WIEHE, 1948) e Uganda (PARBERY, 1967), *E. jaegeri* no Quênia (NATTRASS, 1961), e por fim, *E. tristachya* no Congo (PARBERY, 1967).

O objetivo deste trabalho foi analisar a variabilidade morfológica e morfométrica e identificar a espécie de *Phyllachora* sp. associada aos sintomas observados em capim-pé-de-galinha.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Amostras de folhas sintomáticas de capim-pé-de-galinha, no ano de 2015, localizadas na cidade de Urutaí, GO, foram analisadas em microscópio estereoscópio.

Neste prepararam-se lâminas semipermanentes e cortes histológicos para análise e visualização em microscópio composto. Foi aplicado o método da “pescagem direta” onde utilizaram-se pinça e estilete, e os propágulos do patógeno foram transferidos para lâminas contendo fixador lactofenol azul-de-algodão (200 mL.L<sup>-1</sup> fenol fundido, 200 mL.L<sup>-1</sup> ácido láctico; 400 mL.L<sup>-1</sup> glicerina branca; 0,5 h.L<sup>-1</sup> azul de algodão; 200 mL.L<sup>-1</sup> água purificada). Foi aplicado o método do “corte histológico” utilizando lâmina de barbear realizando cortes transversais do tecido fúngico evidenciando peritécios. Estes cortes foram transferidos para lâminas contendo



# **XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**

## **Instituto Agrônomo - Campinas, SP**

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

fixador lactofenol contendo corante azul-de-algodão (200 mL.L<sup>-1</sup> fenol fundido, 200 mL.L<sup>-1</sup> ácido láctico; 400 mL.L<sup>-1</sup> glicerina branca; 0,5 h.L<sup>-1</sup> azul de algodão; 200 mL.L<sup>-1</sup> água purificada). As lâminas foram vedadas com esmalte para unhas. Estruturas fúngicas representadas por peritécio, estroma, asca e ascósporos foram caracterizadas morfológica e morfometricamente, avaliando 100 unidades, procurando comparar com a descrição original das espécies registradas para o capim-pé-de-galinha no mundo que são *P. eleusines*, *P. eragrostidis* e *P. paspalicola*.

Realizaram-se medições em microscópio de captura de imagens digital Nikon. Fez-se análise de frequência dos dados morfométricos, bem como, descreveu-se sua morfologia que foram tabulados para estudo da variabilidade morfológica e comparação com descrição original para a espécie descrita na hospedeira.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

*Sinais:* O fungo apresentou estroma negro, imerso, errompente (Fig. 1C), anfígeno, de forma irregular, oblonga, pulvinado, apresentou confluência, lóculos imersos (Fig. 1B) no tecido vegetal, peritécio irregular a piriforme, parafisado e filiforme (Fig. 1D), ostiolado, de dimensões de 97,7-(211,8)-227,4 x 72,1-(142,9)-170,4 µm, o ostíolo apresentou diâmetro de 41,7-(58,2)-67,1 µm, a asca apresentou forma clavada (Fig. 1G) a cilíndrica (Fig. 1FH), pedicelada (Fig. 1EFG) (característica variável), de dimensões de 46,5-(70,7)-114,3 x 3,8-(7,0)-33,8 µm, apresentou oito ascósporos por asca (Fig. 1EFGH), de posicionamento principal foi unisseriado (Fig. 1H), ascósporo liso, unicelular, hialino (Fig. 1J), ovóides e elípticos (Fig. 1IJ), sem a presença de glândula oleosa interna, de dimensões de 6,2-(9,8)-14 x 3,1-(6,1)-9,4 µm, reconhecido no hospedeiro *Eleusine indica*. A forma imperfeita foi identificada nas lamina analisadas (Fig. 1A), provavelmente o anamorfo típico para *Phyllachora* sp. sensu Hanlin (1997) apontado como *Leptostromella* sp. (Tab. 1)

Não apresentaram distribuição normal os critérios morfométricos abertura do ostíolo do peritécio (Fig. 2A), comprimento e largura do peritécio (Fig. 2BC), comprimento e largura da asca (Fig. 2DE), possivelmente pelo numero de propágulos analisados da população; neste caso nao representa uma característica robusta para confirmação e identificação da espécie pela análise morfometrica. A frequência observada seria mais confiável se o numero de propágulos encontrados fosse maior. Essa e uma importante abordagem estatística de identificação de



# XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

## Instituto Agrônomo - Campinas, SP

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

variáveis morfométricas importantes processos de identificação de fitopatógenos. Já o comprimento (Fig. 2F) e largura (Fig. 2G) dos ascósporos apresentaram distribuição Normal, sendo variáveis robustas para processos de identificação do isolado, tendo 7,7-10,9 µm e 4,3-6,8 µm, respectivamente as amplitudes mais frequentes do C e L dos ascósporos.

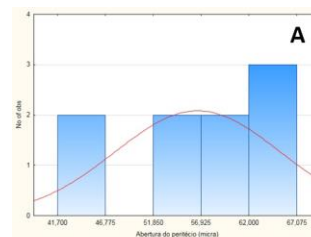
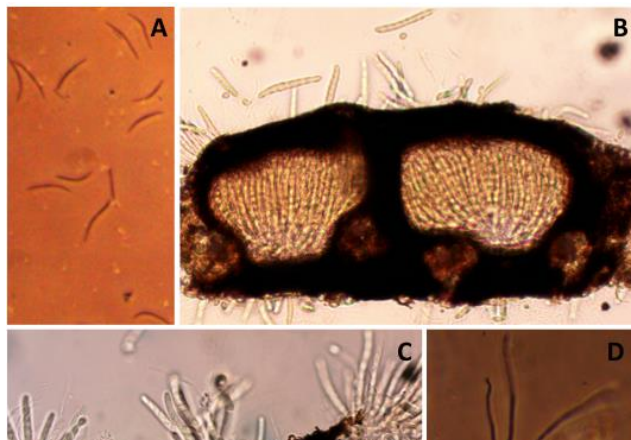
**Tabela 1.** Características morfológicas e morfométricas de *Phyllachora* sp. incidente em folhas de capim-pé-de-galinha para identificação do gênero do isolado estudado.

Características morfológicas	Isolado de capim-pé-de-galinha Urutaí, GO (2015)	<i>P. eleusines</i> Saccardo (1913)	<i>P. eragrostidis</i> Viegas (1944)	<i>P. paspalicola</i> Hennings (1908)
<b>Estroma</b>				
Presença e posição estroma	imerso, errompente, anfigeno,	anfigeno, espalhado ou agregado	epífilo, esparsos e lineares	anfigeno e esparsos
Diâmetro do estroma (mm)	nd	0,5-0,7	1-2	0,3
Forma do estroma	irregular, oblongo, pulvinado	rotundiforme, oblongo à pulvinado	nd	rotundiforme e pulvinado
Confluência do estroma	presente	nd	nd	nd
Coloração	negro imerso no tecido	nd	negro	nd
Posição dos lóculos		Imersos		Imersos
<b>Peritécio</b>				
Forma			globoso e deprimido	globoso
Presença de paráfises	presente e filiforme	presente e filiforme	presente e filiforme	presente
Comprimento da paráfise (µm)	nd	1,5	longos	nd
Presença de ostíolo	Presente	nd	Presente	nd
Espessura da parede do peritécio (µm)	nd	nd	8-10	nd
Dimensões (µm)	97,7-(211,8)-227,4 x 72,1-(142,9)-170,4	nd	200-250 x 150-180	nd
Diâmetro do ostíolo (µm)	41,7-(58,2)-67,1	nd	nd	nd
Presença de clipeo (escudo concavo)	nd	nd	Presente	nd

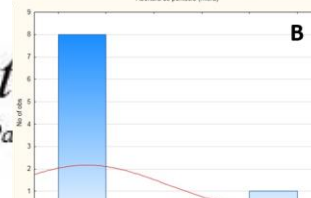


**XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**  
**Instituto Agronômico - Campinas, SP**  
**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

Tamanho do clipeo (µm)	nd	nd	40-60	nd
<b>Asca</b>				
Forma da asca	clavada a cilíndrica, presença de pedicelo (variável)	cilíndrica à obtusa	clavados com pedicelo afinando na base	cilíndrico, subclavado à obtuso
Comprimento do pedicelo (µm)	nd	nd	30-40	nd
Dimensões (µm)	46,5-(70,7)-114,3 x 3,8-(7,0)-33,8	65-80 x 6-7	80-100 x 10-12	70-90 x 8-10
Numero de ascósporos por asca	8	8	6-8	8
Posicionamento na asca dos ascósporos	unisseriado	nd	unisseriados	nd
<b>Ascósporos</b>				
Superfície	lisa	nd	lisa	nd
Forma	ovóide e elíptico	oblíquo, ovóide, elípticos e fusiformes	ovóide e elíptico	elíptico
Número de células	unicelular	unicelular	bicelular	unicelular
Presença de glândula oleosa interna	ausente	nd	presença de 2 gúttulas grandes	nd
Coloração	hialino	hialino	hialino	hialino
Dimensões (µm)	6,2-(9,8)-14 x 3,1-(6,1)-9,4	8-10 x 6-7	10-12 x 5-6	6-8 x 4,5-6
Hospedeiro	<i>Eleusine indica</i>	<i>Eleusine indicae</i>	<i>Eragrostis ciliaris</i>	<i>Paspalum</i> sp.



*hyt*  
São Pa





**XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**  
**Instituto Agrônomo - Campinas, SP**  
**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

**Figura 1.** Aspectos morfológicos de *Phyllachora eleusines* identificado em folhas de capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*). **A.** conídios faltados, filiformes e curvados da fase anamórfica (possivelmente *Leptostromella* sp.), **B.** peritécio subgloboso, composto de tecido estomático, imerso no tecido com ostíolo errompente na epiderme, **C.** peritécio rompido e ascas, **D.** paráfises hialinas e filiformes, **E.** asca hialina e cilíndrica, **F.** asca hialina e com pedicelo longo, **G.** asca hialina e clavada, **H.** asca hialina e com pedicelo curto em microscopia de contraste de fase, **I.** ascósporos hialinos, unicelulares, elípticos em microscopia de contraste de fase, **J.** ascósporo hialino e ovóide.

**Figura 2.** Frequências observadas de estruturas morfológicas de *Phyllachora eleusines* agente causal da crosta-negra do capim-pé-de-galinha. **A.** abertura do peritécio, **B.** comprimento do peritécio, **C.** largura do peritécio, **D.** comprimento da asca, **E.** largura da asca, **F.** Comprimento do ascósporo, **G.** largura do ascósporo.

### CONCLUSÕES

Somente o comprimento e largura dos ascósporos podem ser considerados neste trabalho características quantitativas confiáveis para análise comparativa para identificação. Com base na análise qualitativa e quantitativa da morfologia o isolado foi identificado como *P. eleusine*.



# **XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA** **Instituto Agrônômico - Campinas, SP**

**7 a 9 de Fevereiro de 2017**

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

CASTELLANI, E., CIFERRI, R. Mycoflora Erythraea, Somala et Aethipica Suppl. 1. Atti Ist. Bot. Lab. Crittog. Univ. Pavia, 52 pp. 1950.

FARR, D.F., & ROSSMAN, A.Y. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved November 25, 2016, from <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>

HAMLIN, R.T. Illustrated genera of ascomycetes. vol. I, APS Press, St Paul, Minnesota, 1997, 263 p.

LORENZI, H.. **Plantas daninhas do Brasil, terrestres, aquáticas, parasitos e tóxicos**. 4ª ed. Instituto plantarum de estudos da flora LTDA; São Paulo-SP, p. 640, 2008.

NATTRASS, R.M. Host lists of Kenya fungi and bacteria. Mycological Papers v. 81, p. 1-46, 1961.

ORIEUX, L., FELIX, S. List of plant diseases in Mauritius. Phytopathological Papers. Pap. v. 7, p. 1-48, 1968.

PARBERY, D.G. Studies on graminicolous species of *Phyllachora* Nke. in Fckl. V. A taxonomic monograph. Australasian Journal Botany v. 15, p. 271-375, 1967.

PASTORE, M.; RODRIGUES, R.S.; SIMÃO-BIANCHINI, R.; FILGUEIRAS, T.S.. **Plantas exóticas invasoras na reserva biológica do alto da serra de Paranapiacaba**. Instituto de botânico, Santo André-SP, pp 46. 2012.

RAMAKRISHNAN, T.S. Diseases of millets. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, 152 pp. 1971.

RILEY, E.A. A revised list of plant diseases in Tanganyika Territory. Mycological Papers 75: 1-42. 1960.

WANDSCHEER, A.C.D.; RIZZADI, M.A.; GAVIRAGHI, M.R.F.. **Competitividade de capim-pé-de-galinha com soja**. Ciência Rural, Santa Maria-RS; v.43, n.12, p 2125-2131; 2013.

WIEHE, P.O. The plant diseases and fungi recorded from Mauritius. Mycological Papers v. 24, p. 1-39. 1948.