

Hongos Phyllacorales en Barra do Garças Mato Grosso

Sergio Miguel Vélez Zambrano^{1,2}, Nancy Eunice Niño Castañeda^{1,3} &

José Carmine Dianese¹

¹Departamento de Fitopatología, Universidade de Brasília, 70910-900 Brasília, DF, Brasil.

²Carrera de Ingeniería Agrícola, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 Vía Calceta-El Limón.

³Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad San Francisco de Paula Santander, Cúcuta, Colombia.

Resumen

La investigación tuvo como objetivo identificar y describir especies de *Phyllachora* asociadas a plantas de diferentes familias botánicas. Se analizaron muestras colectadas en Barra do Garças en Mato Grosso, a partir de la observación de las estructuras vegetativas y reproductivas de los hongos se montaron láminas de vidrio que contenían lactoglicerol que fueron selladas con esmalte, para su posterior observación a través del microscopio estereoscópico y microscopio de luz. Cada especie se identificó basándose en la morfología del ascoma, forma y tamaño de los ascos, forma y tamaño de las ascosporas. Se identificaron un total de 4 especies *Phyllachora*: *P. qualeae* en *Qualea grandiflora*, *P. puncta* subs. *Dalbergiicola* en *Dalbergia miscolobium*, y *Phyllachora* spp. en *Cleiloclinium cognatum* y *Myrcia lanuginosa*. La identificación de cada especie fue realizada con base en la planta hospedera, morfología del ascoma, forma y dimensión de los ascos y las ascosporas.

Palabras clave: bioma, Cerrado, fungi, identificación, morfología.

Introducción

El género *Phyllachora* fue descrito inicialmente por Nitschke y confirmado por Fuckel con una sola especie, *P. agrostis* Fuckel (1867), esta especie fue descrita erróneamente e incluida dentro del orden Dothideales, de esta manera, se llevó a cabo una nueva descripción del género siendo nombrado como *Scirrhia bentgrass* (Dothideaceae). Con estos antecedentes, (Clements y Shear, 1931) designaron *P. graminis* (Pers.) Fuckel como lectótipo.

Los miembros de la familia Phyllachoraceae se caracterizan por provocar la sintomatología conocida como mancha de asfalto en las hojas y tallos del huésped que infectan y han sido registrados en una amplia variedad de familias de plantas (Cannon, 1997; Pearce *et al.*, 1999). El género *Phyllachora* se caracteriza por la formación de pseudoestromas oscuros, brillantes, generalmente clipeados, que pueden ser subcuticulares, subepidermales o sumergidos más internamente, adentrándose profundamente en el mesófilo. Los pseudoestromas poseen de uno a múltiples loci ascomáticos. Ascoma peritecial, de pared delgada, peridio constituido por tejido marrón oscuro o marrón claro, ostiolado con ostíolo generalmente irrumpente, visible o no, revestido por perífises. Hamatecio constituido por paráfisis, que pueden volverse delicuescentes en la madurez de las ascas y ascosporas. Ascas cilíndricas, clavadas o elipsoides, por lo general sin aparato apical conspicuo. Las ascosporas son variables en forma, unicelulares, hialinas que puede llegar a ser de color marrón claro, a menudo envuelto en una capa gelatinosa, rara vez ornamentado. (Cannon, 1991; Pereira, *et al.*, 2010).

La fase asexual presenta conidiomas de formas variadas, aunque son generalmente picnidiales, inmersos en el estroma con la pared del conidioma a menudo no diferenciada. Células conidiogénicas cilíndricas, fialídicas, a menudo formando pequeños conidios espermáticos, sin septos, hialinas, filiformes, generalmente curvadas (Cannon *et al.*, 2001). En algunos casos, los conidios no son espermáticos y varían entre elipsoides y clavados. (Viégas, 1944; Parbery, 1963; Hamlim, 1999).

Esta investigación tuvo como objetivo identificar y describir parte de la diversidad de hongos del género *Phyllachora* presentes en plantas de las familias Vochysiaceae, Fabaceae, Celastraceae, Myrtaceae de muestras colectadas en la región de Barra do Garças, en Mato Grosso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se examinaron muestras que habían sido previamente colectadas en Barra do Garças en Mato Grosso, Brasil. Las muestras colectadas fueron prensadas y secadas en estufa por un tiempo de tres a cuatro días a 50°C. En seguida se herborizaron, rotularon y congelaron por espacio de siete a ocho días en temperatura de -20° para el control de insectos y ácaros.

La identificación preliminar de los hongos fue realizada a través de microscopio estereoscópico y microscopio de luz, a partir de la observación de la sintomatología y la visualización de estructuras vegetativas y reproductivas de los hongos.

Las estructuras fúngicas fueron removidas con el uso de estiletos de punta fina, para la preparación de láminas se empleó principalmente lactoglicerol. Después de la cobertura con el cubreobjeto, se procedió a sellar las láminas con dos capas de esmalte. Estas láminas semipermanentes, después de ser estudiadas, fueron almacenadas junto a las respectivas muestras herborizadas. Cuando existían hongos en los cuales era necesario observar la disposición de los ascos dentro de los ascomas, u otros componentes internos, se realizaron cortes histológicos en micrótopo criostático. Antes del corte, cuando se trataba de material herborizado, este era hidratado con una solución acuosa de alcohol al 10 % y Tween-20 al 0,1 % por aproximadamente 4 horas. El grosor de los cortes fluctuaba entre 10 a 30 µm, dependiendo de las condiciones del material. Los cortes también fueron montados en láminas semipermanentes. Las observaciones fueron realizadas en microscopio de luz Leica DM 2500, provisto de cámara digital Leica DFC 490, acoplada a un computador, donde estaba instalado el programa Leica Qwin – Plus, que permitió la documentación fotográfica y la obtención de los datos morfo-métricos necesarios al estudio de cada espécimen.

Para la determinación del género y especie fúngica, se utilizaron las claves de identificación, y literatura pertinente para cada hongo estudiado. La verificación de nombres científicos y nombres de autoridades fueron realizadas en el Index Fungorum (www.indexfungorum.org). Para la verificación de los registros de hongos por planta hospedera, se utilizó la página del *United State Department of Agriculture* (<http://nt.ars-grin.gov/fungalbases/fungushost/fungushost.cfm>), y el banco de datos de la colección micológica de Embrapa Recursos Genéticos y Biotecnología (<http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michtml/micbanco01a.asp>).

***Phyllachora puncta* subs. *dalbergiicola* Henn (P.F. Cannon). Figura 1 (A-F).**

Pseudostromas epifilos, de hasta 1 mm de diámetro, negros, pequeños, con paredes brillantes, redondeados, multiloculados, aislados o levemente gregarios. *Ascomas* con lóculos midiendo 176 – 220 × 265 – 347,5 µm; subepidérmicos, inmersos en el mesófilo del hospedero, clipeados, ostiolados; ostiolos perifisados, perífisis hialinas no ramificadas. *Ascos* 46 – 60 × 15 – 17,5 µm, clavados con ápice redondeado, unitunicados, con pedicelo de tamaño variable, sin aparato apical conspicuo, con ocho esporas biseriadas, parafisadas. *Paráfises* filiformes 2 – 4 µm de diámetro, hialinas, no ramificadas. *Ascosporas* 12 – 16 × 6,5 – 8,5 µm, unicelulares, hialinas, ovoides elipsoidales, gutuladas. Estado Anamorfo ausente.

Espécimen examinado: en hojas de *Dalbergia miscolobium* (Fabaceae), **Brasil**, Mato Grosso, Barra do Garça, Parque Estatal Serra Azul, Trilha 1, Parcela 2, 14/08/2014. Leandro A.N.N. Agra # 445, UB (Col. Micol.) 23067.

Dentro de las especies de *Phyllachora* relatadas en miembros de la familia Fabaceae, el hongo estudiado presenta una relación morfológica y dimensional más estrecha con *P. dalbergiicola* (Henn.) que fue relatada sobre hojas de *Dalbergia* sp., pero es preciso saber que existió una recombinación del nombre de esta especie realizada por (Cannon, 1991), pasando a adoptar el nombre de *P. puncta* subsp. *dalbergiicola*, a pesar de que la especie descrita por este

último autor posee medidas dimensionales mayores que las del relato hecho por Hennings (1897), con base en esta explicación el hongo examinado puede ser considerado como *P. puncta* subs. *dalbergiicola*.

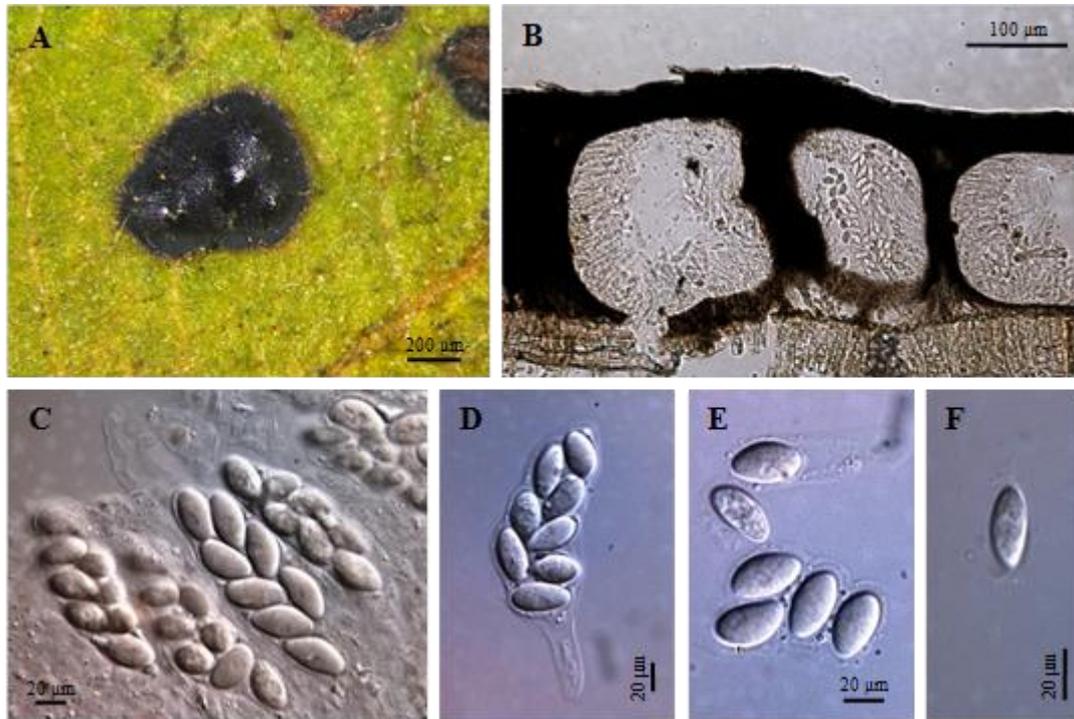


Figura 1. *Phyllachora puncta* subs. *dalbergiicola* en hojas de *Dalbergia* sp. (Fabaceae) (UB 23067). A. Pseudostromas epífilos, negros con paredes brillantes. B. Corte longitudinal del ascoma. C, D. Ascosporas clavadas, unitunicadas, con ocho ascosporas. E, F. Ascosporas unicelulares, hialinas, ovoides elipsoides.

***Phyllachora qualeae* Viégas (Bat. & Peres). Figura 2 (A-F).**

Pseudostromas epífilos, de hasta 8 mm de diámetro, negros, pequeños, con paredes brillantes, redondeados, aislados o levemente gregarios. *Ascomas* 191 – 265 × 300 – 380 µm, peritecioides, circulares, subepidérmicos, inmersos en el mesófilo del hospedero. Ostiolos conspicuos y perifisados, perífisis hialinas y no ramificadas. *Ascos* 126 – 147 × 6,5 – 8 µm, cilíndricos clavados con ápice redondeado, unitunicados, con ocho esporas y distribuidos generalmente de forma uniseriada. *Paráfisis* filiformes 2 – 3 µm de diámetro, hialinas, ramificadas. *Ascósporas* 10 – 13 × 5 – 6 µm, unicelulares, hialinas, reniformes, gutuladas. Estado Anamorfo ausente.

Espécimen examinado: en hojas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae), **Brasil**, Mato Grosso, Parque Estatal Serra Azul na trilha 1, Parcela 2 Barra do Garça; 13/08/2014. Denise Dornelo da Silva # 81, UB (Col. Micol.) 22997.

Dentro de las especies de *Phyllachora* presentes en miembros de la familia Vochysiaceae, se encuentran las siguientes: *P. congregata* Theiss. & Syd. en hojas de *Vochysia elliptica* Mart.; *P. qualeae* (Viégas) Bat. & Peres sobre follaje de *Qualea parviflora* Mart.; *P. vochysiae* Henn. en hojas de *Vochysia haenkana* Mart.; *P. lehmanniana* Henn. en *Vochysia lehmanni* Hieron. (Farr & Rossman, 2016; Kirk *et al.*, 2016). De las especies de *Phyllachora* descritas en la familia Vochysiaceae, la que presenta más semejanza taxonómica y morfológica con el hongo estudiado es *P. qualeae*. Esa especie fue inicialmente descrita por (Viégas, 1944) con el nombre de *Catacauma qualeae*, posteriormente fue colocado el nombre actual por (Batista & Peres, 1967). Cabe mencionar también que existe una pequeña discrepancia en la longitud de los ascos (80 – 100 μm) que es más pequeño en relación con el hongo estudiado (126 – 147 μm), pero tal argumento no es suficiente para considerar que se trata de una nueva especie, razón por la cual el hongo estudiado es considerado como miembro de *P. qualeae* en follaje de *Q. parviflora*.

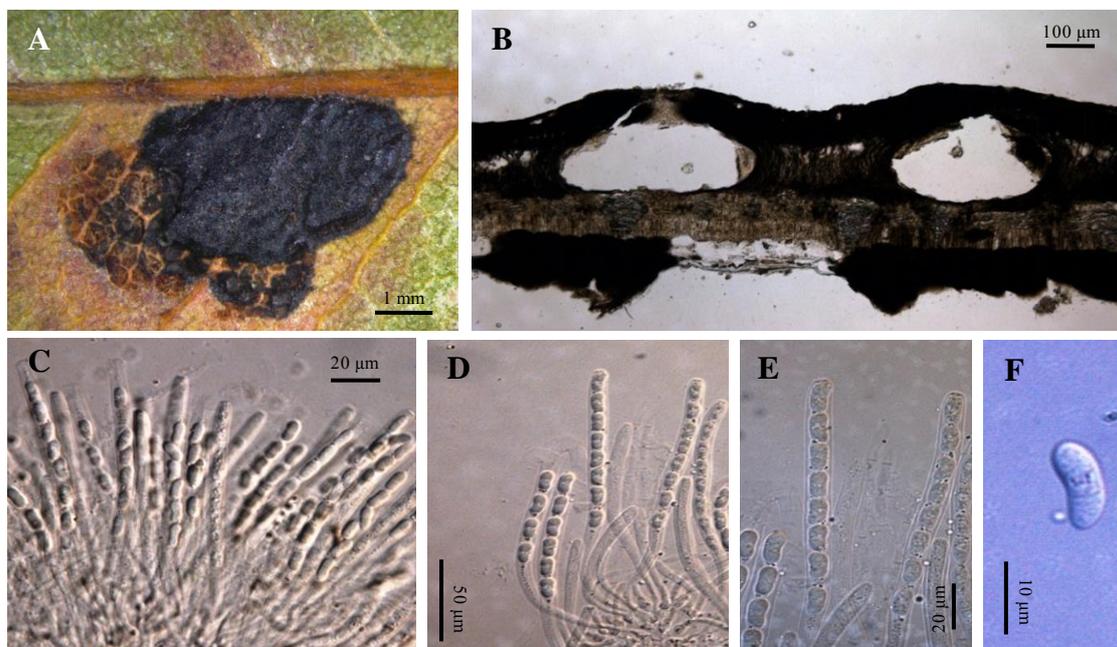


Figura 2. *Phyllachora qualeae* en hojas de *Qualea parviflora* (Vochysiaceae) (UB 22997). A. Pseudostromas epífilos, negros con paredes

brillantes. **B.** Corte longitudinal del ascoma. **C, D, E.** Ascosporas cilíndrico clavados, unitunicados. **E, F.** Ascosporas unicelulares, hialinas, reniformes.

***Phyllachora* sp. en *Cleiloclinium cognatum*. Figura 3 (A-F).**

Pseudostromas epífilos, de hasta 0,5 mm de diámetro, negros, con paredes brillantes, generalmente con formas irregulares, aislados, dispersos. *Ascomas* 204 – 265 × 215 – 287 µm, circulares, subepidérmicos, inmersos en el mesófilo del hospedero. *Clípeo* 55 – 70 µm, negro, rígido. *Ascosporas* 100 – 118 × 12 – 14 µm, cilíndrico clavados, unitunicados, pedicelados, con ocho esporas y distribuidas en forma biseriada generalmente. *Paráfisis* filiformes 3 – 4 µm de diámetro, hialinas. *Ascosporas* 17,5 – 21 × 6 – 7 µm, unicelulares, hialinas, elipsoides a oblongas, gutuladas. Estado Anamorfo ausente.

Espécimen examinado: en hojas de *Cleiloclinium cognatum* (Celastraceae), **Brasil**, Mato Grosso, Barra do Garça, Parque Estatal Serra Azul, Trilha 1, Parcela 2, 12/08/2014. Zuleide Martins Chaves # 1143, UB (Col. Micol.) 22967.

Según Farr & Rossman (2016), existen tres especies de *Phyllachora* relacionadas en la familia Celastraceae, siendo estas: *P. punctifaciens* Petr., *P. celastri* R. K. Verma & kamal, *P. amphididyma* Penz. & Sacc., de las cuales, solo la primera fue relatada en Brasil sobre hojas de *Salacia* sp. (Mendes *et al.*, 1998). Con base en las medidas y morfología de *P. punctifaciens*, esta especie difiere de nuestro hongo por presentar ascosporas con menos longitud (38 – 50 × 12 – 20 µm) y ascosporas más pequeñas (10 – 16 × 4,5 – 6 µm). Con base en estas comparaciones realizadas, se tienen argumentos necesarios para considerar que el espécimen estudiado pertenecería a una probable especie nueva, pero este dato debe ser corroborado por medio de análisis filogenética.

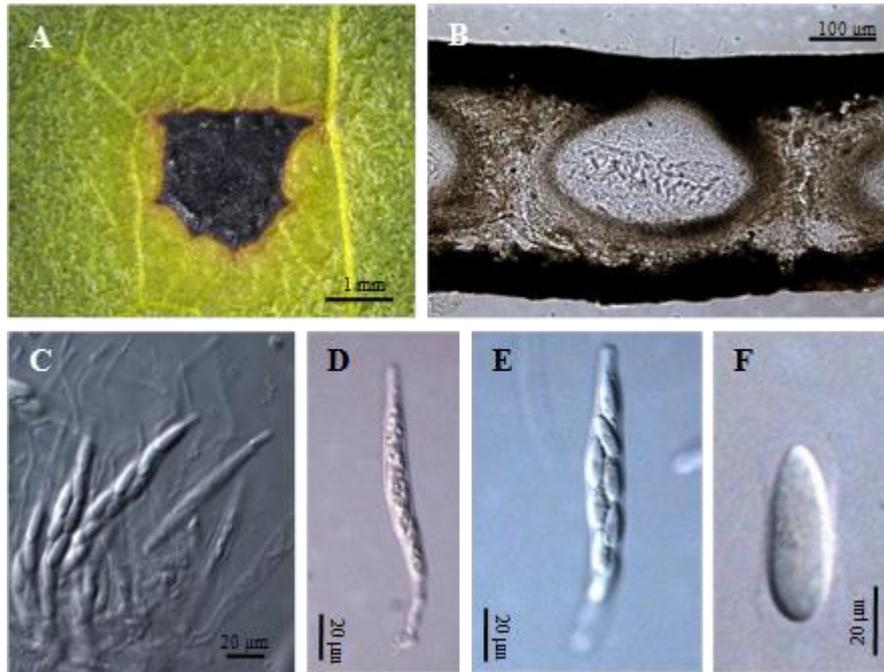


Figura 3. *Phyllachora* sp. en *Cleiloclinium cognatum* (Celastraceae) (UB 22967). **A.** Pseudostromas epífilos, negros, brillantes. **B.** Corte transversal del ascoma. **C, D, E.** Ascosporas unitunicadas, cilíndricas, pediceladas. **F.** Ascosporas unicelulares, hialinas, oblongas.

***Phyllachora* en *Myrcia lanuginosa*. Figura 4 (A-F).**

Pseudostromas epífilos, de hasta 0,7 mm de diámetro, negros, brillantes, circulares o irregulares, aislados o gregarios. *Ascomas* lóculos de 150 – 205 × 277 – 321,2 µm, circulares, subepidérmicos, inmersos en el mesófilo del hospedero. *Ascosporas* 76 – 90 × 9 – 12 µm, clavadas, unitunicadas, pediceladas, con ocho esporas, uniseriadas o biseriadas. *Paráfisis* filiformes 3 – 4 µm de diámetro, hialinas, ramificadas. *Ascosporas* 12 – 16 × 7 – 8,5 µm, unicelulares, hialinas, elipsoides a oblongas, gutuladas. Estado Anamorfo ausente.

Espécimen examinado: en hojas de *Myrcia lanuginosa* (Myrtaceae), **Brasil**, Mato Grosso, Barra do Garça, Parque Estadual Serra Azul, Trilha 1, Parcela 2, 14/08/2014. Leandro A.N.N. Agra # 444, UB (Col. Micol.) 23066.

Entre las especies de *Phyllachora* sobre *Myrcia* en la familia Myrtaceae, el hongo examinado presenta proximidad con especímenes afectando *M. torta* y *M. multiflorae* estudiadas por Medeiros (1994) y Santos (2013). El espécimen

en *M. tortae* difiere del hongo en estudio por presentar ascos con diámetro mayor ($74 - 110 \times 17 - 33 \mu\text{m}$), así como ascomas más grandes con lóculos de $330 - 490 \times 290 - 321 \mu\text{m}$; por otro lado las diferencias en relación al material de *M. multiflorae* son mínimas, sin embargo difiere claramente por la forma de las ascosporas que son fusiodes. Con base en estas razones no es posible considerar que sea la misma especie, siendo así se reporta una probable nueva especie de *Phyllachora* en *M. lanuginosa*, pero estos datos deben ser corroborados por medio de análisis del material genético del hongo.

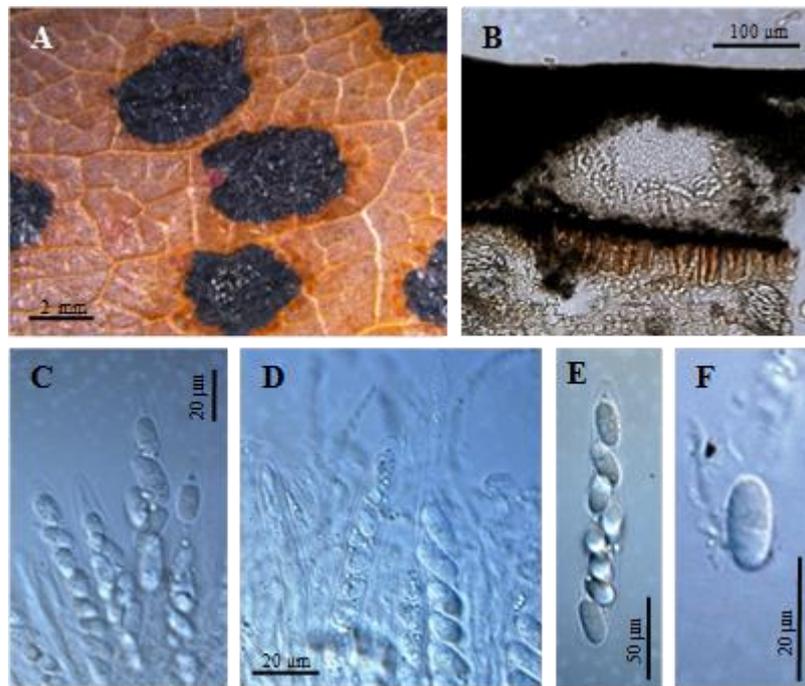


Figura 4. *Phyllachora* sp. en *Myrcia lanuginosa* (UB 23066). A. Pseudostromas epifilos, negros, brillantes. B. Corte transversal del ascoma. C, D, E. Ascus clavados, unitunicados. F. Ascosporas unicelulares, hialinas, elipsoides.

Conclusiones

Se reportaron 4 especies de *Phyllachora* asociadas a plantas de las familias Vochysiaceae, Fabaceae, Celastraceae, Myrtaceae de muestras colectadas en la región de Barra do Garças, en Mato Grosso

Bibliografía

Batista, A.C. & Peres, G.E. (1967). Alguns *Phyllachora* dos 'Cerrados' e de outras áreas fisiográficas brasileiras. Atas do Instituto de Micologia da Universidade do Recife. 4: 63-81.

Cannon, P.F. (1991). A Revision of *Phyllachora* and some similar genera on the family Leguminosae. Mycological Papers 163. Kew, UK: 302 p.

Cannon, P.F. (1997). Diversity of Phyllachoraceae with special reference to the tropics. In: Biodiversity of tropical microfungi (ed. K.D. Hyde). Hong Kong University Press, Hong Kong: 255-278.

Clements, F.E. & Shear, C.L. (1931). The Genera of Fungi. H.W Wilson Co. New York. 496 p.

Farr, D.F. & Rossman, A.Y. (2016). Fungal databases, systematic, mycology and microbiology laboratory, ARS, USDA. [http:// nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/](http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/). Accessed 20 Nov.2016.

Hamlin, R.T. (1999). Combined Keys to Illustrated Genera of Ascomycetes. Vol. I y II. APS Press. St. Paul. Minnesota: 63–64.

Kirk, P. Indexfungorum. CABI Bioscience, CBS and Landcare Research, available online, ed (2016). Disponível em <http://www.indexfungorum.org>. Accessed 15 Out.2016.

Medeiros, R.B. (1994). *Phyllachorales* e gêneros afins associados a vegetação nativa do Cerrado. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, Brasil. 119 p.

Mendes, M.A.S., da Silva, V.L., Dianese, J.C., Ferreira, M.S., dos Santos C.E., Neto, E.G., Urben, A.F., Castro, C. (1998). Fungos em Plantas no Brasil. Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasília, 555 p.

Parbery, D. G. (1963). Studies on graminicolous species of *Phyllachora* Fckl. I. Ascospores, their liberation and germination. Aust. J. Bot. 11: 117–130.

Pearce, C.A., Reddell, P. and Hyde, K.D. (1999). A revision of *Phyllachora* (Ascomycotina) on hosts in the angiosperm family Asclepiadaceae, including *P. gloriana* sp. novo on *Tylophora benthamii* from Australia. Fungal Diversity 3: 123-138.

Pereira, J., Bezerra, J., Dreschler-Santos, E., Maia, L. (2010). First report of *Phyllachora serjaniicola* causing tar-spot on *Cardiospermum grandiflorum*. Tropical Plant Pathology, vol. 35, 4: 245-247.

Santos, M. (2013). Morfotaxonomia e Filogenia Molecular de espécies dos Gêneros *Phyllachora* e *Ophiodothella*, em hospedeiras da família Myrtaceae nativas do Cerrado. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. 217 p.

Viégas, A. P. (1944). Alguns fungos do Brasil. Ascomycetos. Bragantia IV: 492 p.