

NOTA CIENTÍFICA

FUNGOS EM SEMENTES DE PLANTAS ORNAMENTAIS¹

SARAH DA SILVA BARRETO², DENISE VILELA DE REZENDE³, LUIZ EDUARDO BASSAY BLUM⁴

RESUMO - Estudou-se a ocorrência de fungos em sementes de nove espécies de plantas ornamentais herbáceas (*Dahlia pinnata*, *Petunia x hybrida*, *Phlox drummondii*, *Rudbeckia hirta*, *Salvia farinacea*, *Salvia splendens*, *Tagetes patula*, *Viola tricolor* e *Zinnia elegans*) costumeiramente plantadas no Distrito Federal. O método de detecção utilizado foi o de papel de filtro (“blotter-test”), sendo que uma subamostra, de 100 sementes, de cada espécie foi submetida a assepsia com álcool 70% e hipoclorito de sódio 1% e outra não. Das amostras de sementes analisadas foram detectados e isolados 32 fungos, sendo 88% representantes do grupo dos fungos mitospóricos, 6% do filo Ascomycota, 3% do filo Zygomycota e 3% de organismos semelhantes à fungos do filo Oomycota. Os gêneros mais frequentemente encontrados foram *Alternaria*, *Cladosporium*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum*, *Aspergillus* e *Penicillium*. O maior número de fungos ocorreu nas sementes de *D. pinnata*, *T. patula* e *P. drummondii*. *Alternaria alternata*, *Alternaria* spp., *Bipolaris* spp., *Curvularia lunata*, *C. protuberata*, *Exserohilum* sp., *Phoma glomerata*, *P. multirostrata*, *Pythium* sp. e *Ulocladium atrum* podem, por indícios literários, ser um relato pioneiro em algumas das plantas de ornamentais. Possivelmente, no Brasil este é o primeiro relato de: *Alternaria alternata* em sementes de *Dahlia pinnata*, *Salvia farinacea*, *S. splendens* e *Tagetes patula*; *Curvularia lunata* em sementes de *Rudbeckia hirta* e *T. patula*; *C. protuberata* e *Phoma glomerata* em *Zinnia elegans*; *Phoma multirostrata* em *Salvia splendens*, e; *Ulocladium atrum* em semente de *Viola tricolor*.

Termos para indexação: *Alternaria*, *Bipolaris*, *Phoma*, *Dahlia*, *Phlox*, *Tagetes*.

FUNGI ON SEEDS OF ORNAMENTALS

ABSTRACT - A study was made to detect the occurrence of fungi on seeds of nine species of herbaceous ornamental species (*Dahlia pinnata*, *Petunia x hybrida*, *Phlox drummondii*, *Rudbeckia hirta*, *Salvia farinacea*, *S. splendens*, *Tagetes patula*, *Viola tricolor* and *Zinnia elegans*) planted in the Federal District of Brazil. Subsamples of 100 seeds of each species, with or without disinfection with 70% alcohol and 1% sodium hypochlorite, were submitted to the blotter test on filter paper to detect fungi. Fungal species from these seeds were detected and isolated on PDA 32, with 88% of specimens identified as mitosporic fungi, 6% as Ascomycota, 3% as Zygomycota, and 3% as Oomycota. *Alternaria*, *Cladosporium*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum*, *Aspergillus* and *Penicillium* were the most frequently detected genera. The highest number of fungi occurred

¹Submetido em 22/10/2010. Aceito para publicação em 11/02/2011. Parte da Dissertação de mestrado do primeiro autor apresentada a Fitopatologia/UnB.

²Eng.Agr., M.Sc., doutoranda do Departamento de Fitopatologia, UNB - Universidade de Brasília, Campus Darcy Ribeiro, CEP: 70910-900, Brasília-DF, sarahlarreto1@yahoo.com.br

³Eng.Agr., D.Sc., Professora Associada, Departamento de Fitopatologia, UnB, vileldv@unb.br.

⁴Eng.Agro., PhD., Professor Adjunto, Departamento de Fitopatologia, UnB, luizblum@unb.br.

on seeds of *D. pinnata*, *T. patula* and *P. drummondii*. Probably, *Alternaria alternata*, *Alternaria* spp., *Bipolaris* spp., *Curvularia lunata*, *C. protuberata*, *Exserohilum* sp., *Phoma glomerata*, *P. multirostrata*, *Pythium* sp., and *Ulocladium atrum* have been reported for the first time in the Federal District, Brazil, on seeds of ornamental plants. This appears to be the first report in Brazil of: *Alternaria alternata* on seeds of *Dahlia pinnata*, *Salvia farinacea*, *S. splendens* and *Tagetes patula*; *Curvularia lunata* on seeds of *Rudbeckia hirta* and *T. patula*; *C. protuberata* and *Phoma glomerata* on *Zinnia elegans*; *Phoma multirostrata* on *Salvia splendens* and *Ulocladium atrum* on seeds of *Viola tricolor*.

Index terms: *Alternaria*, *Bipolaris*, *Phoma*, *Dahlia*, *Phlox*, *Tagetes*.

INTRODUÇÃO

A floricultura no Distrito Federal ocupa uma área aproximada de 423 ha distribuída entre pequenos e médios produtores rurais (Junqueira e Peetz, 2005). A maior parte das sementes utilizadas para produção de mudas é importada da França, Holanda e Japão, e não apresenta informação quanto à qualidade sanitária. Isto representa um problema devido à possibilidade de introdução de patógenos ainda não existentes no país, além de perdas, devido às doenças, nas sementes ou em mudas e plantas no campo, ou ainda em pós-colheita.

Além disso, as pesquisas relacionadas às doenças causadas por fungos em sementes de *Dahlia pinnata*, *Petunia x hybrida*, *Phlox drummondii*, *Rudbeckia hirta*, *Salvia farinacea*, *Salvia splendens*, *Tagetes patula*, *Viola tricolor* e *Zinnia elegans* são escassas, sendo estas espécies intensamente produzidas em casas de vegetação ou a céu aberto.

Conhecer os fungos associados às sementes pode possibilitar a elaboração de metodologias de identificação, quarentena, exclusão, erradicação e controle de patógenos, tanto introduzidos como já existentes no Brasil. Dentre os agentes causais de doenças, os mais comuns são os fungos, não só em plantas ornamentais como em espécies agrícolas (Moraes e Soave, 1987). Praticamente todas as espécies de plantas ornamentais estão sujeitas ao ataque de fungos parasitas alguns causando danos pequenos enquanto, outros podem matar a planta (Pirone, 1978).

De acordo com a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) a introdução de novas variedades ou cultivares de plantas ornamentais vem sendo feita de forma acelerada, empregando-se principalmente sementes, mudas e outros propágulos sem certificação, os

quais podem conter patógenos existentes ou não no país. A presença de fungos pode ocasionar perdas devido às doenças, pelo uso de sementes contaminadas ou infectadas. Entre os danos que esses fungos causam, podem ser citados: aborto, enrugamento e redução do tamanho da semente, podridões, descoloração, tombamentos em pré e em pós-emergência, podridões radiculares, manchas necróticas em folhas, caules, frutos e sistema vascular, infecções latentes, entre outros (Machado, 1987; Araújo e Rossetto, 1987).

Considerando-se esses aspectos, a realização do teste de sanidade de sementes é muito importante uma vez que certos microorganismos associados às mesmas podem se constituir em fator negativo no estabelecimento de uma população inicial de plantas (Lucca Filho, 1987). No teste de sanidade o pré-tratamento das sementes para prevenir o desenvolvimento de fungos saprofitos sobre a superfície das mesmas é uma recomendação comum da "International Seed Testing Association" (ISTA, 2004). O pré-tratamento com hipoclorito de sódio pode reduzir a frequência de patógenos por matar os propágulos externos às sementes (Machado, 1980; Coutinho et al., 2000).

A identificação de fungos patogênicos nas sementes pode facilitar a escolha de medidas de controle de doenças. Entre tais medidas podem ser citadas: a quarentena, produção e aquisição de sementes sadias (sementes certificadas) e o tratamento de sementes. Crosier e Heit (1964) isolaram diversos fungos em sementes de *Zinnia*, entre eles, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Richardson (1979) acrescentou a essa lista *Phyllosticta* sp. e *Erysiphe cichoracearum* e em *Tagetes*, o autor citou *Alternaria zinniae* e *A. tagetica*. Machado (1980) relatou a presença de 33 fungos em sementes de *Zinnia* e 19 em sementes *Tagetes*.

Objetivou-se neste estudo detectar e identificar fungos em sementes importadas de nove espécies de plantas ornamentais: *Dahlia pinnata*, *Petunia x hybrida*, *Phlox drummondii*, *Rudbeckia hirta*, *Salvia farinacea*, *S. splendens*, *Tagetes patula*, *Viola tricolor* e *Zinnia elegans*.

MATERIAL E MÉTODOS

A detecção e isolamento dos fungos das sementes em estudo (*Dahlia pinnata*, *Petunia x hybrida*, *Phlox drummondii*, *Rudbeckia hirta*, *Salvia farinacea*, *S. splendens*, *Tagetes patula*, *Viola tricolor* e *Zinnia elegans*) foram efetuados com e sem desinfestação com álcool 70% e hipoclorito de sódio 1%.

As sementes foram adquiridas em embalagens aluminizadas, à prova de umidade, com rótulos indicando: marca, origem, o número do lote (N), data da análise (A), porcentagem de pureza (P), germinação (G) e prazo de validade (V). *D. pinnata* (FELTRIN®; França; A 5/2005; V 5/2007; P 99,7; G 82; N 0000244044), *P. hybrida* (FELTRIN®; França; A 10/2004; V 10/2006; P 99,7; G 83; N 0000291403), *P. drummondii* (FELTRIN®; França; A 6/2004; V 6/2006; P 99,7; G 82; N 0000233044; Fora da validade - FELTRIN®; França; A 6/2003; V 6/2005; P 99,8; G 85; N 00233112), *R. hirta* (ISLA®; -; A 7/2003; V 7/2006; P 99,7; G 94; N 13182 II; Fora da validade - ISLA®; -; A 2/2002; V 2/2005; P 98,8; G 91; N 12125 II), *S. farinacea* (FELTRIN®; França; A 6/2004; V 6/2006; P 98,6; G 89; N 0000482044), *S. splendens* (ISLA®; França; A 7/2004; V 7/2007; P 100,0; G 76; N 15724-TZ), *T. patula* (Fora da validade – Lote 1: SAKATA®; Japão; A 6/2002; V 10/2003; P 99,9; G 88; N 24974; Fora da validade – Lote 2: SAKATA®; Japão; A 6/2003; V 6/2004; P 99,9; G 88; N 24974), *V. tricolor* (FELTRIN®; Holanda; A 5/2005; V 5/2007; P 99,9; G 82; N 0028611005) e *Z. elegans* (FELTRIN®; Holanda; A 6/2004; V 6/2006; P 97,7; G 82; N 0000220044; Fora da validade – FELTRIN®; Holanda; A 8/2002; V 8/2004; P 97,2; G 89; N 00220001). A amostragem das sementes foi realizada segundo as normas das “Regras para Análise de Sementes” (Brasil, 2009) e armazenadas em refrigerador a 10 °C.

Foram examinadas 200 sementes de cada espécie, das quais 100 foram pré-tratadas com álcool 70% (1 minuto) e hipoclorito de sódio 1% (2 minutos), para desinfestação superficial, e outras 100 não receberam qualquer tratamento. As sementes desinfestadas foram lavadas por três vezes com água destilada esterilizada e colocadas para secar em câmara asséptica sobre folhas de

papel de filtro esterilizadas à temperatura ambiente.

Posteriormente, com uma pinça flambada, as sementes foram distribuídas em caixas tipo “gerbox”, previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio 2,0%, contendo uma folha de papel mata-borrão previamente esterilizada e umedecida com água destilada esterilizada. As amostras de 100 sementes foram divididas em cinco sub-amostras de 20 sementes por gerbox. Os gerboxes, contendo as sementes, foram incubados em incubador aos 25 °C ± 1 °C, fotoperíodo de 12 h, por 7 a 10 dias. Ao final desse período, as sementes foram examinadas individualmente, em microscópio estereoscópico, registrando-se a presença ou não de fungos. Os sintomas e/ou estruturas fúngicas (vegetativas e reprodutivas) nas sementes foram observados ao microscópio estereoscópico e fotografados com câmera digital (Canon, 7,1 mega pixels). Em seguida, lâminas permanentes foram montadas para identificação preliminar dos fungos.

As estruturas fúngicas, presentes na superfície das sementes, foram retiradas com auxílio de um estilete de ponta fina ou fitas adesivas transparentes e colocadas sobre lâminas contendo corante lacto-glicerol / azul de algodão ou glicerol-KOH / floxina-básica, as quais foram cobertas com lamínulas e seladas. Estruturas como picnídios e ascomas, foram fragmentadas comprimindo-se suavemente o material sob a lamínula. As lâminas foram observadas ao microscópio óptico e fotografadas. Foram tomadas medidas, com 50 repetições, de estruturas vegetativas e reprodutivas. Os fungos foram transferidos, com auxílio de um estilete flambado, para placas de Petri esterilizadas contendo BDA (batata-dextrose-ágar), as quais foram incubadas em incubadora a 25 °C ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas, por 7 a 15 dias para obtenção das colônias. A identificação dos fungos foi realizada utilizando-se literatura pertinente a cada grupo como: Ellis (1971), Barron (1983), Muchovej et al. (1988), Barnett e Hunter (1998) para fungos mitospóricos, von Arx et al. (1986) e Hanling (1992) para Ascomycota e Domsch et al. (1980) para Zygomycota e Oomycota.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de fungos identificados nas sementes, dentro e fora do prazo de validade, variou conforme a espécie ornamental: *D. pinnata*, *P. x hybrida*, *P. drummondii*, *R. hirta*, *S. farinacea*, *S. splendens*, *T. patula*, *V. tricolor* e *Z. elegans* (Tabela 1). O maior número de fungos ocorreu nas sementes de *D. pinnata*, *T. patula* e em *P. drummondii*.

TABELA 1. Número de fungos identificados em 200 sementes (100 não desinfestadas e 100 desinfestadas), dentro e fora do prazo de validade, das espécies de ornamentais, *Dahlia pinnata*, *Petunia x hybrida*, *Phlox drummondii*, *Rudbeckia hirta*, *Salvia farinacea*, *Salvia splendens*, *Tagetes patula*, *Viola tricolor* e *Zinnia elegans*.

Espécie de planta	Prazo		Fora do Prazo	
	Não Desinfestada	Desinfestada	Não Desinfestada	Desinfestada
<i>Dahlia pinnata</i>	112*	26*	-	-
<i>Phlox drummondii</i>	54	6	77*	5*
<i>Zinnia elegans</i>	49	11	57	6
<i>Salvia farinacea</i>	48	31	-	-
<i>Salvia splendens</i>	27	9	-	-
<i>Petunia x hybrida</i>	24	8	-	-
<i>Rudbeckia hirta</i>	12	11	19	10
<i>Viola tricolor</i>	7	1	-	-
<i>Tagetes patula</i> 1	-	-	105	49
<i>Tagetes patula</i> 2	-	-	91	2
Total de fungos	333**	103**	196**	51**
% (Total de fungos)	76,4***	23,6***	79,4***	20,6***

(*) Total de fungos detectados em 100 sementes. (**) Total de fungos nas sementes não desinfestadas e desinfestadas. (***) Porcentagem relativa ao somatório de fungos em sementes não desinfestadas e sementes desinfestadas (álcool 70% e hipoclorito de sódio 1%). (-) Semente não testada ou não coletada. Sementes adquiridas pela NOVACAP (Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil, Brasília, DF) para produção de mudas.

A ocorrência dos fungos foi menor nas sementes desinfestadas com hipoclorito de sódio quando comparadas com aquelas que não foram desinfestadas, tanto no lote com data dentro do prazo de validade, como nos lotes com data vencida (Tabela 1). Para as amostras de sementes de lotes com data dentro do prazo de validade o maior número de fungos nas sementes não desinfestadas foi observado em *D. pinnata*, seguida por *P. drummondii*, *Z. elegans* e *S. farinacea*. Para as demais espécies esse número foi menor que 40. Porém, após a desinfestação superficial o número de fungos foi drasticamente reduzido na maioria das amostras de sementes (Tabela 1). Com relação às amostras de sementes de lotes com data fora do prazo de validade o maior número de fungos ocorreu nas sementes não desinfestadas em *T. patula* lote nº 1, seguido por *T. patula* lote nº 2, *P. drummondii*, *Z. elegans* e *R. hirta* com 105, 91, 77, 57 e 19 fungos, respectivamente. Quando se fez desinfestação das sementes o número de fungos em *T. patula* lote nº 1 foi reduzido para 49 e para as demais espécies esse número não atingiu 20 (Tabela 1).

Considerando todas as amostras de sementes, o número de fungos detectados foi semelhante em lotes de

semente dentro e fora do prazo de validade. No entanto, comparando-se somente os lotes de sementes com data dentro e fora do prazo de validade das espécies de *P. drummondii*, *R. hirta* e *Z. elegans* observou-se que o número de fungos foi maior nos lotes vencidos e nas sementes que não foram desinfestadas. Quando se realizou a desinfestação esse número foi reduzido, para ambos os lotes, principalmente nas espécies de *P. drummondii* e *Z. elegans* (Tabela 1). Isso indica que sementes armazenadas por período de tempo além do recomendado podem apresentar maior número de fungos associados às mesmas e que um simples pré-tratamento para desinfestação poderia reduzir a incidência dos mesmos. A desinfestação superficial das sementes não deve ser adotada como prática rotineira nos testes de sanidade, mas, sim ser considerada separadamente de acordo com cada tipo de combinação patógeno-hospedeiro (Coutinho et al., 2000).

Das amostras de sementes das plantas ornamentais herbáceas analisadas, foram isolados e identificados 32 fungos (Tabela 2), pertencentes ao grupo dos fungos mitospóricos e aos filos Ascomycota e Zygomycota. Identificou-se também um representante do filo Oomycota. A maioria entre os fungos mitospóricos,

80% são representantes dos hifomicetos (*Bipolaris* spp., *Curvularia* spp., *Exserohilum* sp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* spp.) dematiáceos e moniliáceos, e do grupo Mycelia Sterilia (*Rhizoctonia* sp.), enquanto, 8% pertencem ao grupo dos

Celomicetos (*Pestalotiopsis* sp., *Phoma* spp.). O restante dos fungos está distribuído da seguinte forma: 6% no filo Ascomycota (*Chaetomium* spp.) e 3% no filo Zygomycota (*Rhizopus stolonifer*). Verificou-se também 3% de organismos do filo Oomycota (*Pythium* sp.).

TABELA 2. Relação e enumeração dos fungos detectados em amostras de sementes (infestada/desinfestada) de *Dahlia pinnata* (Dah), *Petunia x hybrida* (Pet), *Phlox drummondii* (Phl), *Rudbeckia hirta* (Rud), *Salvia farinacea* (SalF), *Salvia splendens* (SalS), *Tagetes patula* (Tag 1 e 2), *Viola tricolor* (Vio) e *Zinnia elegans* (Zin).

Fungo	Dah	Pet	Phl	Rud	SalF	SalS	Tag 1	Tag 2	Vio	Zin
<i>Alternaria alternata</i>	12/5	-	-	-	2/1	1/1	-/- 97/7*	-/- 89/1*	-	-
<i>Alternaria</i> sp.	-	-	40/4 74/3*	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria</i> sp.	-	-	-	8/0 7/6*	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp.	22/9	-	0/1 0/1*	1/11 -/-*	15/4	7/1	-	-	-	15/5 30/1*
<i>Aspergillus</i> sp.	-	6/7	-	-	1/0	-	-	-	-	-
<i>Bipolaris</i> sp.	6/1	-	-	-	-	6/1	-	-	-	-/- 2/0*
<i>Bipolaris</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	1/0	-
<i>Cephalosporiopsis</i>	-	-	13/0 -/-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chaetomium spinosum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1/0	-
<i>Chaetomium subaffine</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1/0	1/1 1/1*
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	-	-/- 1/1*	-	-	-	-/- 4/6*	-	-	-
<i>Cladosporium oxysporum</i>	-	-	-	-	-	1/0	-	-	-	-
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	10/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curvularia lunata</i>	-	-	-	2/0 2/2*	-	-	-	-/- 1/0*	-	-
<i>Curvularia protuberata</i>	-	-	-	-	-	-	-/- 1/0*	-	-	-/- 1/0*
<i>Curvularia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/- 1/0*
<i>Epicoccum purpurascens</i>	-	-	-	-	1/0	-	-	-	1/0	-
<i>Exserohilum</i> sp.	-	-	-	-	-	-	1/0	-	-	-
<i>Fusarium</i> sp.	0/2	-	-	-	-	-	-	-/- 1/0*	-	-

continua...

Fungo	Dah	Pet	Phl	Rud	SalF	SalS	Tag 1	Tag 2	Vio	Zin
<i>Penicillium</i> sp.	16/0	5/1	-/ 1/0*	1/0 -/*	18/24	6/3	-/ 2/35*	-/ -/*	1/1	-/ 3/0*
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/ 2/0
<i>Phoma glomerata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/ 2/0*
<i>Phoma multirostrata</i>	-	-	-	-	-	2/0	-	-	-	-
<i>Pithomyces africanus</i>	-	-	-	-	-	-	2/0 -/*	1/0 -/*	-	-
<i>Pithomyces maydicus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2/0 -/*
<i>Pythium</i> sp.	27/6	13/0	1/0 -/*	-	10/0	7/3	-	-	-	10/3 6/4*
<i>Rhizoctonia</i> sp.	-	-	-	-/ 2/0*	1/0	-	-	-	-	2/2 -/*
<i>Rhizopus stolonifer</i>	18/0	-	-	-/ 4/0*	-	-	-	-	-	18/0 8/0*
<i>Stachybotrys chartarum</i>	-	-	-/ 1/0	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stilbum</i> sp.	1/0	-	-	-	-	1/0	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.	-	-	-	-	-	1/0	-	-	-	-
<i>Ulocladium atrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1/0	-

*Fora da validade. (-) Não testada ou não detectada a presença de fungo.

Dentre os fungos mitospóricos alguns se destacaram devido à frequência com que foram isolados das sementes, tais como: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum* e os fungos considerados de armazenamento *Aspergillus* e *Penicillium* (Tabela 2).

A relação dos fungos identificados nas amostras de sementes das plantas ornamentais analisadas encontra-se na Tabela 2. Entre os fungos identificados algumas espécies ou gêneros, tais como: *A. alternata*, *Alternaria* spp., *Bipolaris* spp., *Curvularia lunata*, *C. protuberata*, *Exserohilum* sp., *P. glomerata*, *P. multirostrata*, *Pythium* sp., e *U. atrum* podem, por indícios literários, ser um relato pioneiro nas plantas de ornamentais em questão, e, portanto, são descritos em detalhes a seguir. Para cada um deles são apresentadas características morfológicas, figuras e relatos de sua ocorrência nas plantas onde os mesmos foram detectados nas sementes.

Alternaria alternata (Fries) Keissler - Conidióforos 21-76(34)x4-5(5) µm, macronemáticos, lisos, septados, simples ou ramificados, retos ou flexuosos, às vezes geniculados,

com uma ou várias cicatrizes conidiais, marrom-claros a dourados (Figuras 1 A-D). Células conidiogênicas integradas, terminais ou intercalares, politréticas, simpodiais e cicatrizadas (Figura 1 C). Conídios 21-51(34)x7-21(12) µm, formados em cadeias, algumas vezes ramificadas (Figura 1 B), obclavados e ovóides, marrom-claros a dourados, lisos, às vezes rugosos, com até 7 septos transversais e muitos septos longitudinais e oblíquos, com rostro pequeno, cilíndrico e marrom claro (Figura 1 D). A comparação foi feita com a descrição para a espécie em Ellis (1971) e Simmons (2007). Esta espécie foi isolada de sementes de *D. pinnata*, *S. farinacea*, *S. splendens* e *T. patula* sobre as quais cresceram micélio e conídios que mais tarde colonizaram a radícula e cotilédones (Figuras 1 A), causando a morte das plântulas. De acordo com dados do SBML (2007) *A. alternata* foi relatada em plantas de *D. pinnata* na China. Negishi e Suyama (2002) relataram, no Japão, *A. alternata* em *Salvia farinacea* causando mancha foliar severa e verificaram também que o isolado foi patogênico à *S. splendens*. Para *S. splendens* Singh e

Gautam (1992) relataram *Alternaria tenuissima* na Índia, não havendo até então relato de outra espécie de *Alternaria* para esta hospedeira. Em *T. patula*, Machado (1980) relatou

A. alternata em sementes comercializadas na Europa. No Brasil este é primeiro relato de *A. alternata* em sementes de *D. pinnata*, *S. farinacea*, *S. splendens* e *T. patula*.

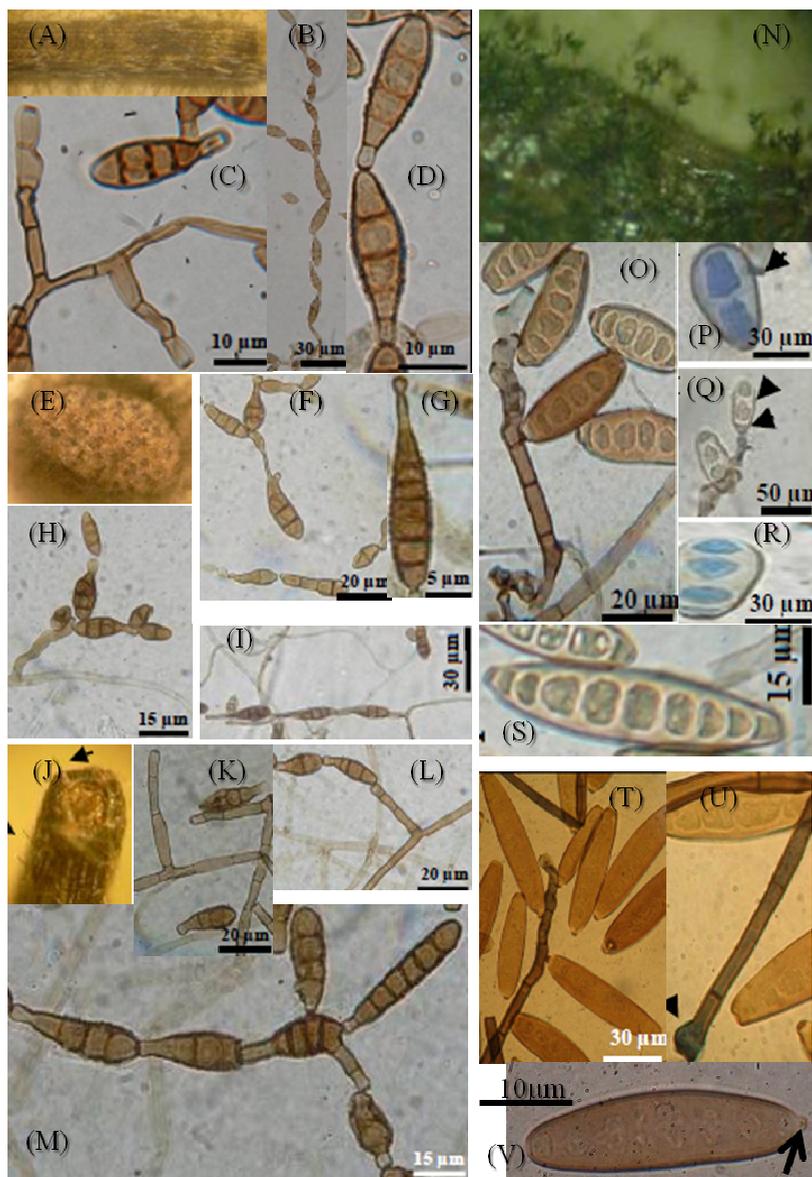


FIGURA 1. (A-D) *Alternaria alternata* em sementes de *Tagetes patula*. (A-B) Colonização micelial da semente. (B) Conídios em cadeia. (C) Conidióforos cicatrizados. (D) Rugosidade do conídio. (E-I) *Alternaria* sp. em sementes de *Phlox drummondii*. (E) Colonização micelial da semente. (F) Conídios em cadeia ramificada. (G) Rugosidade do conídio. (H) Conidióforo com células conidiogênicas simpodiais. (I) Cadeia de conídios. (J-M) *Alternaria* sp. em sementes de *Rudbeckia hirta*. (J) Colonização da semente. (K) Conídios e conidióforos. (L) Conidióforo com célula conidiogênica terminal cicatrizada. (M) Conídios em cadeia presos ao conidióforo e rugosidade dos conídios. (N-S) *Bipolaris* sp. em sementes de *Salvia splendens*. (O) Conídios e conidióforo com células conidiogênicas cicatrizadas. (P-R) Ontogenia do septo conidial (setas). (S) Conídio. (T-V) *Bipolaris* sp. em sementes de *Viola tricolor*. (T) Conídios e conidióforos. (U) Conidióforo com base larga. (V) Conídio e hilo (seta).

Alternaria spp - Conidióforos 10-76(20)x3-5(4)µm, macronemáticos, lisos, septados, simples ou ramificados, retos ou flexuosos, com uma ou mais cicatrizes conidiais e marrom-claros (Figuras 1H). Células conidiogênicas integradas, terminais ou intercalares, politréticas, simpodiais e cicatrizadas (Figura 1H). Conídios 16-35(23)x7-13(8) µm, formados em cadeias, algumas vezes ramificadas, obclavados e ovoides, marrom-claros a dourados (Figuras 1F-I), lisos, às vezes rugosos, com até 7 septos transversais e muitos septos longitudinais e oblíquos, com rostro pequeno, cilíndrico e marrom-claro (Figura 1G). Baseado nas características morfológicas descritas o fungo pertence ao gênero *Alternaria* Nees ex Fr. descrito em Ellis (1971). O isolamento foi feito de sementes de *P. drummondii* (Figura 1E) e, nos casos em que as sementes germinaram, o fungo continuou a se desenvolver sobre as radículas e cotilédones. O gênero *Alternaria* causando mancha foliar foi relatado em *Phlox* (Alfieri *et al*, 1984), sendo este o único relato para esta planta (SBML 2007). No Brasil este é primeiro relato de *Alternaria* em sementes de *P. drummondii*.

Outra espécie de *Alternaria*, isolada de sementes de *R. hirta* apresenta conidióforos com 16-88(48)x3-5(4) µm, macronemáticos, lisos, septados, simples, retos, com uma cicatriz terminal, marrons a marrom-claros (Figuras 1J-M). Células conidiogênicas integradas, terminais, monotréticas e cicatrizadas (Figura 1K). Conídios 23-45(31)x8-14(10) µm, em cadeias longas e ramificadas, obclavados e ovoides, marrom-claros a escuros, lisos e rugosos, com até 6 septos transversais e 0 a 2 longitudinais e oblíquos, com rostro curto, cilíndrico e marrom claro (Figura 1L-M). Na Figura 1J observa-se sementes de *R. hirta* colonizadas com micélio e conídios do fungo Pirone (1978) relatou as espécies *A. rudbeckiae* e *A. zinniae* em *R. hirta*, sendo a última em sementes. No Brasil, este é primeiro relato de uma espécie de *Alternaria* em sementes de *R. hirta*. As duas espécies de *Alternaria* encontradas se diferenciam de *A. alternata*, bem como entre si, por apresentarem as seguintes características: *Alternaria* sp., isolada de *P. drummondii*, possui bico comprido e *Alternaria* sp., isolada de *R. hirta*, possui majoritariamente septos transversais, além disso, ambas diferem quanto as dimensões de conídios e conidióforos.

Bipolaris spp. - Conidióforos 70-218(96)x7-10(7) µm, macronemáticos, monemáticos, lisos, septados, simples, flexuosos, marrons e geniculados no ápice com cicatrizes conidiais (Figuras 1 O e S). Células

conidiogênicas integradas, politréticas, terminais e frequentemente intercalares, simpodiais e cicatrizadas; (Figura 1O). Conídios 22-66(55)x11-19(17) µm, acropleurógenos, solitários, retos, cilíndricos, lisos, marrom-claros a marrom avermelhados (Figuras 1O-S), com 3 - 8 septos (maioria 6), hilo levemente protuberante, truncado e marrom claro com 2 - 4 µm de diâmetro (Figura 1S), primeiro septo conidial mediano, o segundo delimitando a célula basal e o terceiro distal (Figuras 1P-R). Em meio de cultura BDA as colônias apresentam coloração preta e micélio aéreo branco, com crescimento formando halos. Pelas características o fungo em estudo foi classificado como *Bipolaris* Shoem., de acordo com chave de identificação de Muchovej *et al.* (1988) e descrições em Sivanesan (1987). O fungo foi isolado de sementes de *D. pinnata*, *S. splendens* e *Z. elegans* sobre as quais desenvolveram conídios e conidióforos (Figura 1N). Não foram encontrados relatos de *Bipolaris* em *D. pinnata*, *S. splendens* e *Z. elegans* (SBML, 2007), portanto, é o primeiro relato deste fungo nestas plantas.

Outra espécie de *Bipolaris* isolada de *Viola tricolor* apresenta conidióforos 132-384(290)x5-7(5) µm, macronemáticos, lisos, septados, simples, flexuosos, ápice geniculado com muitas cicatrizes conidiais, base larga, marrom-avermelhado (Figuras 1T-U). Células conidiogênicas integradas, terminais ou intercalares, simpodiais e cicatrizadas (Figura 1T). Conídios 47-62(54)x11-16(12) µm, acropleurógenos, solitários, retos, cilíndricos, lisos, marrom-claros a marrom-avermelhados (Figuras 1V) com 3-8 septos (maioria 6), hilo levemente protuberante, truncado e marrom claro com 2-3 µm de diâmetro (Figura 1V). Este foi o primeiro relato de *Bipolaris* sp. em sementes *Viola tricolor*. *Bipolaris* sp. isolado de *D. pinnata*, *S. splendens* e *Z. elegans* difere da espécie de *Bipolaris* sp. isolada de *Viola tricolor* basicamente pelo formato e tamanho do conidióforo. O primeiro possui conidióforos menores e bastante geniculados no ápice, enquanto, o segundo apresenta conidióforos maiores, com base alargada e levemente geniculado no ápice (Muchovej, 1988; Sivanesan, 1987).

Curvularia lunata (Walker) Boedijn - De acordo com Sivanesan (1987) o fungo foi classificado como *C. lunata* por apresentar: conidióforos 17-67(37)x4-5(4) µm, simples, marrom-claros, lisos e flexuosos (Figura 2B e C). Conídios 19-28(20)x8-13(10) µm, com 3 distoseptos, lisos, maioria curvados na terceira célula a partir da base a qual é mais larga e escura, células finais subhialinas ou marrom-claras e células intermediárias marrom-claras

a escuras (Figura 2C). Em meio de BDA as colônias apresentam coloração marrom-escura, com formação de estroma. O fungo foi isolado de sementes de *R. hirta*

e *T. patula* sobre as quais cresceram, colonizando toda a superfície. Este é o primeiro relato de *C. lunata* em sementes de *R. hirta* e *T. patula*.

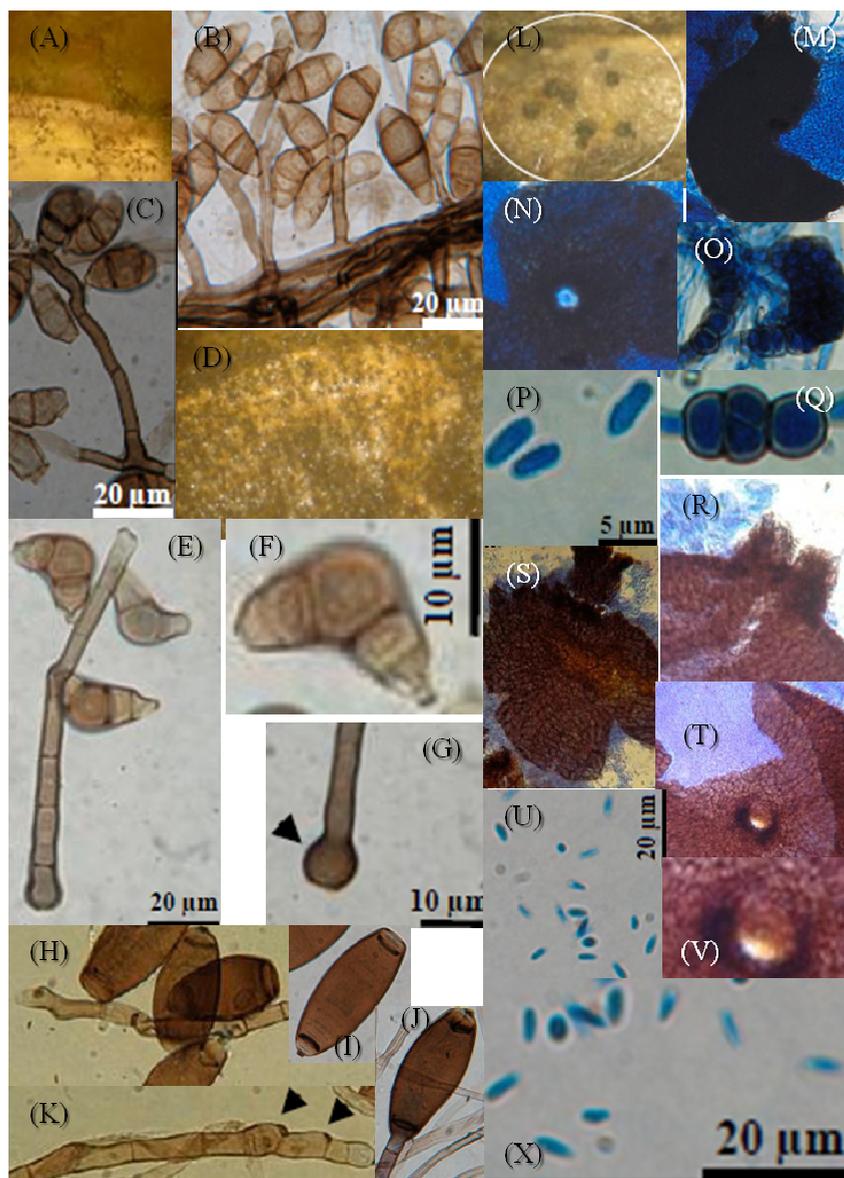


FIGURA 2. (A–C) *Curvularia lunata* em sementes de *Tagetes patula*. (A) *C. lunata* sobre semente de *T. patula*. (B) Conidióforos e conídios. (C) Conidióforo e conídios. (D–G) *Curvularia protuberata* em sementes de *Zinnia elegans*. (D) Conídios e conidióforos na semente. (E) Conidióforo com células conidiogênicas cicatrizadas. (F) Conídio. (G) Base mais larga do conidióforo (seta). (H–K) *Exserohilum* sp. em sementes de *Tagetes patula*. (H) Conídios e conidióforo. (I) Detalhe do conídio e do hilo. (J) Germinação do conídio pela célula basal. (K) Detalhe das células conidiogênicas cicatrizadas (setas). (L–Q) *Phoma glomerata* em sementes de *Zinnia elegans*. (L) Conidiomas sobre a semente. (M) Picnídio e conídios. (N) Ostiolo. (O e Q) Clamidósporos alternarióides. (P) Conídios. (R–X) *Phoma multirostrata* em sementes de *Salvia splendens*. (R–T) Picnídio rostrado. (T) Parede do picnídio com textura angular. (U e X) Conídios gutulados. (V) Ostiolo.

Curvularia protuberata Nelson & Hodges - Apresenta conidióforos 30-175(93)x3-8(5) µm, simples, marrom claros, lisos, a maioria reto, às vezes geniculados, septados e com a base mais larga 7-11(10) µm (Figuras 2E-G). Conídios 20-36(26)x10-12(10) µm, com 3-4 distoseptos, lisos, retos ou levemente curvados, cilíndricos, com hilo protuberante na base, célula central mais larga, células finais subhialinas ou marrom-claras e células intermediárias marrom-claras a escuras (Figuras 2F). Em BDA as colônias apresentam coloração marrom escura, com crescimento formando halos. Com base nas descrições o fungo trata-se de *C. protuberata* de acordo com Sivanesan (1987). O fungo foi isolado de sementes (Figura 2D) de *Z. elegans*, onde se desenvolveu cobrindo toda sua superfície. Em sementes de *Z. elegans* há relato de *Curvularia verruculosa* na Índia (SBML, 2007), sendo este o primeiro relato de *C. protuberata* nas sementes desta planta. No entanto a espécie em estudo diferencia-se desta devido a características morfológicas de acordo com Sivanesan (1987) e também da espécie aqui já descrita, *C. protuberata*, encontrada na mesma hospedeira. Portanto, trata-se de mais uma espécie de *Curvularia* em sementes de *Z. elegans*.

***Exserohilum* sp.** - Conidióforos macronemáticos, lisos, septados, simples, geniculados no ápice (Figuras 2H e K). Células conidiogênicas integradas, terminais ou intercalares, simpodiais, poliblasticas e cicatrizadas (Figura 2K). Conídios solitários, retos, cilíndricos, lisos, marrom-claros a marrom-avermelhados, com hilo fortemente protuberante (Figura 2I), distosseptados, germinando de uma ou ambas as células polares (Figuras 2J). Em BDA as colônias apresentam coloração preta, com crescimento formando halos (Muchovej, 1988 e Sivanesan, 1987). O fungo foi isolado de sementes de *T. patula*. No lote 1 a ocorrência foi de 1 nas sementes desinfestadas, sendo que nas sementes não desinfestadas não se detectou o fungo (Tabela 2), provavelmente devido à alta incidência de *Alternaria* sp. Este foi o primeiro relato de *Exserohilum* sp. em sementes de *T. patula*.

Phoma glomerata (Cda) Wollenw. & Hochapf. - De acordo com Sutton (1980) o fungo foi classificado como *P. glomerata* devido a presença de conidiomas picnidiais ostiolados (Figuras 2M e N). Conídios 4-7(6)x1-2(2) µm, retos, cilíndricos ou achatados na

base, hialinos (Figura 2P). Clamidósporos marrons, catenulados ou alternarioides com septos transversais e logitudinais (Figuras 2 O e Q). O isolamento foi feito de sementes de *Z. elegans*, sobre as quais o fungo se desenvolveu formando conidiomas (Figura 2L). Em *Z. elegans* 3 espécies de *Phoma* foram relatadas: *Phoma* sp. na Venezuela, *P. exigua* e *P. glomerata* na Índia. No Brasil, este é o primeiro relato de *P. glomerata* em sementes de *Z. elegans*.

Phoma multirostrata (Mathur et al.) Dorenbosch & Boerema. - De acordo com a chave de identificação de Sutton (1980) o fungo foi classificado como *P. multirostrata* por apresentar: Conidiomas picnidiais agregados e rostrados (Figuras 2R-V). Conídios 4-6(6) x1-2(2) µm, retos, cilíndricos, ocasionalmente elipsóides, sem gúttulas ou com uma única gúttula, hialinos (Figura 2U). Clamidósporos ausentes. O isolamento foi feito de sementes de *Salvia splendens*, sobre as quais o fungo se desenvolveu formando conidiomas sobre a superfície. A principal diferença entre as duas espécies é a presença de clamidósporos em *P. glomerata* e ausência deles em *P. multirostrata*. Este é o primeiro relato de *P. multirostrata* em sementes de *S. splendens*.

***Pythium* sp.** - Colônias brancas e com aspecto flocoso (Figura 3A). Micélio cenocítico, fino e hialino. Observou-se facilmente a formação de esporângios intercalares e apicais redondos, lisos com formação de vesículas grandes e desuniformes (Figura 3B). Posteriormente houve a formação de oósporos ornamentados, rugosos e hialinos (Figura 3C). Essas estruturas foram observadas tanto nas sementes deterioradas quanto em BDA. *Pythium* sp foi isolado de sementes de *D. pinnata*, *P. hybrida*, *P. drummondii*, *S. farinacea*, *S. splendens* e *Z. elegans*. Em *D. pinnata* já foram relatados *P. acanthicum* e *P. ultimum* na África do Sul e *Pythium* sp. nos EUA. Em *P. hybrida* há relato somente de *Pythium* sp. na Austrália e EUA. Para *S. splendens* já foram relatados *P. debaryanum* causando tombamento pós-emergência e *Pythium* sp. causando podridão de raiz, nos EUA. Em *Z. elegans* há relatos de *Pythium* sp. e *P. splendens* nos EUA, Austrália e África do Sul. Portanto, no Brasil, este foi primeiro relato de *Pythium* sp. em sementes de *D. pinnata*, *P. hybrida*, *S. splendens* e *Z. elegans*. Não há relatos de *Pythium* em *P. drummondii* e *S. farinacea*.

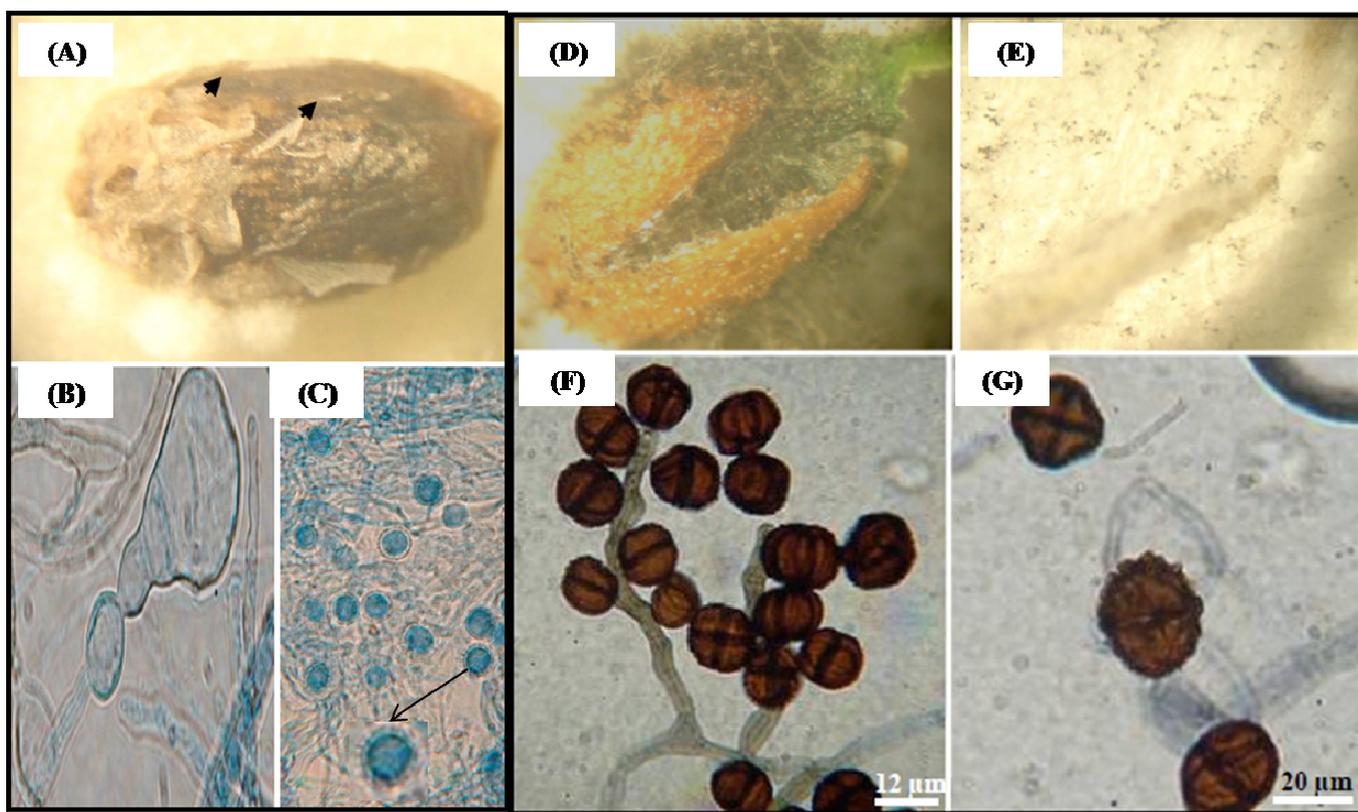


FIGURA 3. (A-C) (A) *Pythium* sp. sobre semente de *Salvia splendens*. (A) Micélio do fungo se desenvolvendo sobre a semente. (B) Esporângio com vesícula. (C) Oósporos ornamentados. (D-G) *Ulocladium atrum* isolado de sementes de *Viola tricolor*. (D) Semente colonizada pelo fungo. (E) Colonização da radícula. (F) Conidióforo e conídios. (G) Detalhe dos conídios.

Ulocladium atrum Preuss - Conidióforos 24-100(38) x4-5(4) μm , macronemáticos, retos ou flexuosos, simples ou ramificados, lisos, geniculados, marrom-claros (Figuras 3F). Células conidiogênicas politréticas, integradas, terminais ou intercalares, simpodiais e cicatrizadas. Conídios 10-18(16)x8-18(15) μm , solitários, obovóides a elipsóides, sarciniformes, marrom-claros e escuros, verrugosos, com 1-3 septos transversais e 1-4 longitudinais ou oblíquos, maioria com 2 septos oblíquos cruciados, base cônica ou arredondada, ápice arredondado (Figuras 3F e G). Pelas características o fungo foi classificado como *U. atrum* conforme Simons (1967). O fungo foi isolado de sementes de *V. tricolor* (Figura 3D). Em *V. tricolor* há relato de *Ulocladium consortiale* nos EUA. Portanto, este é o primeiro relato de *U. atrum* em semente de *V. tricolor*.

CONCLUSÃO

Possivelmente, no Brasil este foi o primeiro relato de: *Alternaria alternata* em sementes de *Dahlia pinnata*, *Salvia farinacea*, *S. splendens* e *Tagetes patula*; *Curvularia lunata* em sementes de *Rudbeckia hirta* e *T. patula*, e de *C. protuberata* e *Phoma glomerata* em *Zinnia elegans*; *Phoma multirostrata* em *Salvia splendens* e de *Ulocladium atrum* em semente de *Viola tricolor*.

REFERÊNCIAS

ALFIERI JR, S.A.; LANGDON, K.R.; WEHLBURG, C.; KIMBROUGH, J.W. **Index of Plant Diseases in Florida**. Florida Department of Agriculture & Consumer Services. 1984. (Bulletin 11).

- APTA. Agência paulista de tecnologia dos agronegócios. **Cadeia de Produção de Flores e Plantas Ornamentais**. Disponível em: <<http://www.apta.sp.gov.br/Horticulturademesa/cadeias%20horticultura%20de%20mesa.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2007.
- ARAÚJO, E.; ROSSETTO, E.A.T. Doenças e Injúrias de Sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.V.S. (Ed.). **Patologia de Sementes**. Campinas, São Paulo, Fundação Cargill, p.146-163, 1987.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4th ed. The American phytopathological Society, St. Paul. Minnesota, 1998. 218p.
- BARRON, G.L. **Genera of hyphomycetes from soil**. Baltimore:Williams & Wilkins. 1983. 364p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p.
- COUTINHO, W.M.; PEREIRA, L.A.A.; MACHADO, J.C.; FREITAS-SILVA, O.; PENA, R.C. M.; MAGALHÃES, F.H.L. Efeitos de hipoclorito de sódio na germinação de conídios de alguns fungos transmitidos por sementes. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, n.3, p.552-555, 2000.
- CROSIER, W.F.; HEIT, C.E. Seed-borne fungi of *Anchusa*, *China*, *Aster*, *Poppy* and *Zinnia*. **Association Official Seed Analysis Proceedings**. v.54, p.87-92. 1964.
- DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T.H. **Compendium of soil fungi**. Academic press. v.1. London. 1980. 859p.
- ELLIS, M.B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Commonwealth Mycological Institute. Kew. England. 1971. 608p.
- HANLIN, R.T. **Index to genera and species of ascomycetes described by A. P. Viegas**. Mycotaxon. v.43. p.207-230. 1992.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **International rules for seed testing**. Zurich, Switzerland. 2004.
- JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. **Perfil da cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais do Distrito Federal**. SEBRAE. Distrito Federal. 121p. 2005.
- LUCCA FILHO, O.A. Metodologia dos Testes de Sanidade de Sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.V.S. (Ed.). **Patologia de Sementes**. Campinas, São Paulo, Fundação Cargill, 480p. 1987.
- MACHADO, J.C. Introdução à Patologia de Sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.V.S. (Ed.). **Patologia de Sementes**. Campinas, São Paulo, Fundação Cargill, 480p. 1987.
- MACHADO, J.C. **Studies on some seedborne diseases of Zinnia, African marigold and soybean**. University of Manchester. 1980. 187f. Tese (PhD). University of Manchester, Manchester, 1980.
- MORAES, S.A.; SOAVE, J. Fungos em Sementes. In: SOAVE, J.; WETZEL, M.V.S. (Ed.). **Patologia de Sementes**. Campinas, São Paulo, Fundação Cargill, 480p. 1987.
- MUCHOVEJ, J.J.; MUCHOVEJ, R.M.C.; NESIO-RIBEIRO, M.L. Taxonomia de *Dechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, n.3, p.211-223. 1988.
- NEGISHI, H.; SUYAMA, K. Alternaria Leaf Spot on Mealycup (*Salvia farinacea*) caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. **Journal of General Plant Pathology**, v.68, n.4, p.321-325, 2002.
- PIRONE, P.P. **Diseases and Pests of Ornamental Plants**. 5th ed. The New York Botanical Garden, 1978. 566p.
- RICHARDSON, M.J. **An annotated list of seed-borne diseases**. Phytopathological Paper n. 23. 1979. 320p.
- SBML. **Systematic of Botany and Mycology Laboratory**. Disponível: <<http://nt.arsgring.gov>>. Acesso em: 10 jan. 2007.
- SIMMONS, E.G. **Alternaria. An Identification Manual**. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Netherlands, 2007. 775p.
- SIMMONS, E.G. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. **Mycologia**, v.59. p.67-92. 1967.
- SINGH, R.B.; GAUTAM, V.S. A new leaf spot of *Salvia splendens* caused by *Alternaria tenuissima*. **Indian Phytopathology**, v.45, n.3, p.387, 1992.
- SIVANESAN, A. **Graminicolous species of Bipolaris, Curvularia, Drechslera, Exserohilum and their teleomorphs**. Wallingford. 1987. 261p. (Cab International Mycological Institute Papers).

SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**: fungi Imperfect with Pycnidia Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, London. 1980. 696p.

von ARX, J.A.; GUARRO, J.; FIGUEIRAS, M.J. The ascomycetes genus *Chaetomium*. **Nova Hedwigia**. Berlin Stuttgart. 1986. 162p.