

FUNDAÇÃO CARGILL

PATOLOGIA

DE

SEMENTES



ABRATES

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE SEMENTES

COPASEM - COMITÊ DE PATOLOGIA DE SEMENTES

P A T O L O G I A

D E

S E M E N T E S

EDITORES

JACIRO SOAVE

MARIA MAGALY VELOSO DA SILVA WETZEL

FUNDAÇÃO CARGILL
Campinas, SP, Brasil

1a. impressão de 2.000 exemplares
Nº 137, outubro de 1987

Fundação Cargill
Sede-São Paulo, SP
Escritório - rua Tiradentes nº
460 - VILA ITAPURA
13 023 CAMPINAS, SP, BRASIL

Soave, Jaciro, ed.

Patologia de sementes, editado por Jaci-
ro Soave e Magaly Veloso da Silva Wetzel .
Campinas, Fundação Cargill, 1987
xiv, 480p., 21 cm.

Wetzel, Magaly Veloso da Silva, ed.

CDD. 631.5211

APRESENTAÇÃO

Desde o seu estabelecimento, em 20 de março de 1984, o COPASEM/ABRATES vem desenvolvendo uma série de atividades como a realização de testes de aferição de métodos para a detecção de fungos em sementes de algodão, arroz, feijão, soja e trigo, visando a obtenção de métodos de rotina adequados aos laboratórios brasileiros.

O COPASEM/ABRATES já organizou dois Simpósios de Patologia de Sementes realizando um diagnóstico e estudando as perspectivas futuras desse setor no Brasil, estabelecendo padrões de campo para as principais doenças de algumas culturas de valor econômico para o país, e indicando os melhores tratamentos de sementes visando o controle das doenças mais freqüentes das lavouras brasileiras.

O Comitê tem assessorado o Ministério da Agricultura na elaboração de normas para o credenciamento de laboratórios para análise de sementes e na elaboração das novas regras de análise no que se refere à sanidade.

Desde 1984 o COPASEM/ABRATES realizou vários cursos de treinamento em patologia de sementes para laboratoristas, responsáveis por laboratórios de análises de sementes, professores e pesquisadores, visando a formação de recursos humanos para trabalhar nas condições brasileiras, nessa nova área, tanto em análise de rotina como em pesquisa.

Devido à deficiência de material didático em português que atenda aos interessados em patologia de sementes, o COPASEM/ABRATES se propôs a publicar este livro, contando com a colaboração de 24 autores de capítulos, todos com larga experiência na sua área de atuação, aos quais registramos os agradecimentos pela capacidade técnica, desprendimento e espírito de cooperação. Agradecimentos também são devidos à Fundação Cargill que tornou possível a sua publicação.

Este livro se destina a pesquisadores, professores e técnicos envolvidos na área de produção, fiscalização, comercialização e análise de sementes, a técnicos da área de defensivos, assim como a fitopatologistas interessados na importância das sementes como agente disseminador de patógenos, e aos "semen-

teiros" interessados na qualidade sanitária dos seus produtos. Espera-se que esta obra seja também de interesse dos produtores de sementes, engenheiros agrônomos, extensionistas, pesquisadores e professores envolvidos na problemática da produção de sementes sadias e, principalmente, aos iniciantes nessa fascinante ciência.

Este livro se destina a uma grande clientela, embora não seja uma obra pretenciosa que abranja com detalhes todos os vastos campos da patologia de sementes. A obra é composta de duas partes: Parte I, abrangendo as áreas básicas e teóricas da patologia de sementes, composta de 12 Capítulos; Parte II, compreendendo os aspectos mais práticos e aplicados, composta de 11 Capítulos sobre os testes de sanidade de sementes das principais culturas ou grupos de culturas.

Embora sejam conhecidas algumas de suas deficiências, são solicitadas, aos leitores, críticas e sugestões, por se tratar do primeiro livro em português sobre patologia de sementes que se tem conhecimento, visando-se assim a perfeição-lo para o futuro.

Esperamos que, com a publicação dessa obra, tenha sido dado mais um passo para o desenvolvimento da Patologia de Sementes no Brasil.

JACIRO SOAVE

Comitê Técnico de Patologia de Sementes

Coordenador

PREFÁCIO

Nos dias atuais, quando a humanidade parece ter despertado para os problemas ambientais, na sua luta pela melhor qualidade de vida, é necessário que a ciência acompanhe esse esforço e forneça subsídios para a concretização desses ideais modernos.

Sendo a Patologia de Sementes uma ciência jovem no Brasil, os pesquisadores, que militam nesta área, têm envidado os maiores esforços para desenvolvê-la com bases sólidas a fim de que, num futuro próximo, ela possa trazer resultados positivos para a sociedade.

Seguindo essa filosofia, a Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, através de seu Comitê de Patologia de Sementes, nas pessoas dos Editores e Colaboradores, espera contribuir de maneira eficiente para a formação de pesquisadores, técnicos e estudantes, que trilhando os caminhos penosos dessa fascinante ciência, somarão seus esforços aos que lutam pelo controle das doenças de nossas lavouras, sem agressão ao ambiente e à vida silvestre, não esquecendo o escopo de produzir mais e melhor.

Seguindo essa filosofia, esta obra foi editada.

Os Editores

"SE NÃO HOUVER FRUTOS,
VALEU A BELEZA DAS FLORES;
SE NÃO HOUVER FLORES,
VALEU A SOMBRA DAS FOLHAS;
SE NÃO HOUVER FOLHAS,
VALEU A INTENSÃO DA "SEMENTE"!

Henfil

ÍNDICE

CONTEÚDO	Página
Apresentação	iii
Prefácio	v
Primeira parte - A ciência básica	1
Capítulo I - Introdução à Patologia de Sementes. MACHADO, J.da C.	3
1 - Histórico	3
2 - Terminologia e definições	5
3 - Significado da associação de patógenos com sementes	7
4 - O conceito e as atribuições da Patologia de Sementes	14
Referências bibliográficas	15
Capítulo II - Fungos em sementes. MORAES, S.A. & SOAVE, J.	18
1 - Introdução	18
2 - Características gerais	19
3 - Estruturas somáticas e reprodutivas	19
4 - Reprodução	23
5 - Classificação	26
6 - Fomicetos	27
7 - Ascomicetos	33
8 - Basidiomicetos	41
9 - Deuteromicetos	48
Bibliografia básica	66
Capítulo III - Bactérias em Sementes. SUGIMORI, M.H.	68
1 - Características gerais	68

CONTÉUDO

Página

2 - Processos de reprodução	69
3 - Classificação e taxonomia	69
4 - Taxonomia	70
5 - Bactérias fitopatogênicas	71
6 - Bactérias constatadas em sementes	81
Literatura consultada	84
 Capítulo IV - Vírus em sementes. PORTO, M.D.M.	86
1 - Introdução	86
2 - Características gerais	87
3 - Classificação	93
4 - Transmissão de viroses por sementes	96
5 - Relação de algumas viroses transmitidas por sementes	100
Bibliografia básica	106
 Capítulo V - Nematóides em sementes. TENENTE, R.C.V. & MANSO, E. S.B.C.	107
1 - Introdução	107
2 - Características gerais	108
3 - Classificação e chave de gêneros	109
4 - Características morfológicas de espécies transmitidas por sementes	111
5 - Principais espécies de nematóides transmitidos por sementes	128
6 - Conclusão	134
Bibliografia consultada	135
 Capítulo VI - Doenças e injúrias de sementes. ARAUJO, E. & ROSSETTO, E.A.	146
1 - Introdução	146
2 - Doenças causadas por fungos	147
3 - Doenças causadas por bactérias	149
4 - Doenças causadas por vírus	150
5 - Doenças causadas por nematóides	151

CONTEÚDO

Página

6 - Doenças fisiológicas	152
7 - Injúrias mecânicas	157
8 - Injúrias causadas por insetos	158
Referências bibliográficas	161

Capítulo VII - Transmissão de patógenos pelas sementes. MENTEN, J. O.M. & BUENO, J.T.	164
1 - Conceito e importância da transmissão	164
2 - Morfologia e anatomia da semente em relação à transmissão	167
3 - Pontos de entrada para infecção da semente	170
4 - Partes da semente contaminadas ou infectadas ..	172
5 - Mecanismos de transmissão planta-semente e semente-planta de patógenos	175
6 - Fatores que influem na transmissão de patógenos pelas sementes	177
Referências bibliográficas	189

Capítulo VIII - Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. SOAVE, J. & MORAES, S.A.	192
1 - Introdução	192
2 - Quarentena para sementes	195
3 - Produção de sementes livres de patógenos	202
4 - Controle da qualidade sanitária das sementes ..	216
5 - Tratamento de sementes visando controle de doenças	229
6 - Variedades resistentes	243
Bibliografia básica	252

Capítulo IX - Fungos do armazenamento. WETZEL, M.M.V.S.	260
1 - Introdução	260
2 - Condições que favorecem o desenvolvimento de fungos no armazenamento	263
3 - Danos causados por fungos em sementes ou grãos armazenados	266

CONTEÚDO

Página

4 - Controle dos fungos do armazenamento	271
5 - Testes de avaliação e métodos de detecção dos fungos do armazenamento	273
Referências bibliográficas	274
 Capítulo X - Metodologia dos testes de sanidade de sementes. LUC CA FILHO, O.A.	276
1 - Introdução	276
2 - Objetivos dos testes de sanidade de sementes ..	277
3 - Necessidades básicas de um laboratório para aná- lise sanitária de sementes	278
4 - Amostragem	280
5 - Métodos usados para a detecção de microrganismos em sementes	283
Bibliografia básica	298
 Capítulo XI - Fatores que afetam os resultados dos testes de sani- dade envolvendo incubação. YORINORI, J.T.	299
1 - Introdução	299
2 - Seleção do teste	300
3 - Fatores envolvendo a condição da semente	301
4 - Quantidade, vigor e localização do inóculo na se- mente	302
5 - Resposta do patógeno às condições do teste	302
6 - Fatores de variação na incubação	304
Bibliografia básica	311
 Capítulo XII - Técnicas auxiliares em laboratório de Patologia de Sementes. TANAKA, M.A.S.	313
1 - Introdução	313
2 - Limpeza e esterilização do instrumental e vidraria.	313
3 - Preparo de meios de cultura	314
4 - Isolamento de fitopatógenos	317
5 - Provas de patogenicidade	318
6 - Conservação de microrganismos	320

CONTEÚDO	Página
7 - Preparação para exame ao microscópio	322
8 - Medições e contagens ao microscópio	324
Literatura básica	327
Segunda parte - Os testes de sanidade de sementes	329
Capítulo XIII - Testes de sanidade de sementes de algodão. PIZZINATTO, M.A.	331
1 - Microrganismos encontrados nas sementes	331
2 - Microrganismos mais importantes economicamente	333
3 - Métodos de detecção nas sementes	339
Bibliografia básica	343
Capítulo XIV - Testes de sanidade de sementes de amendoim. MORAES, S.A.	347
1 - Introdução	347
2 - Microrganismos nas sementes	347
3 - Microrganismos mais importantes constatados em sementes	351
4 - Métodos de detecção nas sementes	354
Bibliografia básica	356
Capítulo XV - Testes de sanidade de sementes de arroz. AMARAL, H.M.	358
1 - Introdução	358
2 - Principais patógenos associados a sementes de arroz	359
3 - Patógenos associados a sementes economicamente importantes	360
4 - Métodos de detecção de microrganismos em sementes de arroz	365
Bibliografia básica	369

Capítulo XVI	- Testes de sanidade de sementes de caupi. CHAUDHURY, M.M.	371
	1 - Introdução	371
	2 - Microrganismos transmitidos por sementes de caupi	371
	3 - Vírus transmitidos por sementes	377
	4 - Métodos de detecção de microrganismos e de vírus em sementes de caupi	378
	5 - Conclusões	381
	Bibliografia	382
Capítulo XVII	- Testes de sanidade de sementes de essências florestais. CARNEIRO, J.S.	386
	1 - Introdução	386
	2 - Problemas fitossanitários em essências florestais no Brasil e exterior	386
	3 - Estudos com essências florestais nativas e exóticas no Brasil	388
	4 - Considerações gerais	392
	Literatura citada	393
Capítulo XVIII	- Testes de sanidade de sementes de feijão. MENEZES, J.R.	395
	1 - Introdução	395
	2 - Principais doenças transmitidas através da semente de feijão	396
	3 - Métodos de detecção nas sementes	401
	Bibliografia	404
Capítulo XIX	- Testes de sanidade de sementes de forrageiras. URBEN, A.F.	406
	1 - Introdução	406
	2 - Métodos de detecção	408
	3 - Fungos detectados	409

CONTEÚDO

Página

	4 - Aferição dos testes de sanidade de sementes de forrageiras	410
	5 - Considerações finais	410
	Bibliografia	411
Capítulo XX	- Testes de sanidade de sementes de milho. LUGCA FILHO, O.A.	430
	1 - Introdução	430
	2 - Podridão de sementes e morte de plântulas ...	431
	3 - Doenças da parte aérea	431
	4 - Metodologia para detecção de patógenos em sementes de milho	438
	Bibliografia básica	440
Capítulo XXI	- Testes de sanidade de sementes de soja. HENNING, A.A.	441
	1 - Introdução	441
	2 - Patógenos importantes nas sementes e doenças na cultura	443
	3 - Métodos de detecção dos patógenos nas sementes	451
	Bibliografia básica	453
Capítulo XXII	- Testes de sanidade de sementes de sorgo. PINTO, N.F.J.A.	455
	1 - Introdução	455
	2 - Microrganismos detectados em sementes de sorgo	455
	3 - Fungos de importância econômica para as sementes	456
	4 - Métodos de detecção de microrganismos	462
	Bibliografia	467
Capítulo XXIII	- Testes de sanidade de sementes de trigo. NASSER, L.C.B.	469
	1 - Introdução	469

CONTEÚDO

Página

2 - Microrganismos transmissíveis por sementes de trigo	471
3 - Considerações sobre as principais doenças da parte aérea do trigo transmissíveis por sementes, que ocorrem no Brasil	471
4 - Metodologia para detecção de patógenos em sementes de trigo	474
Literatura citada	478

PRIMEIRA PARTE

A CIÊNCIA BÁSICA

- Capítulo I - Introdução à Patologia de Sementes. MACHADO, J. DA C.
- Capítulo II - Fungos em sementes. MORAES, S.A. & SOAVE, J.
- Capítulo III - Bactérias em sementes. SUGIMORI, M.H.
- Capítulo IV - Vírus em sementes. PORTO, M.D.M.
- Capítulo V - Nematóides em sementes. TENENTE, R.C.V. & MANSO, E.S.B.G.C.
- Capítulo VI - Doenças e injúrias de sementes. ARAUJO, E. & ROSSETTO, E.A.
- Capítulo VII - Transmissão de doenças pelas sementes. MENTEN, J.O.M. & BUENO, J.T.
- Capítulo VIII - Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. SOAVE, J. & MORAES, S.A.
- Capítulo IX - Fungos de armazenamento. WETZEL, M.M.V.S.
- Capítulo X - Metodologia dos testes de sanidade de sementes. LUCCA FILHO, O. A.
- Capítulo XI - Fatores que afetam os resultados dos testes de sanidade envolvendo incubação. YORINORI, J.T.
- Capítulo XII - Técnicas auxiliares em laboratório de Patologia de Sementes. TANAKA, M.A.S.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO À PATOLOGIA DE SEMENTES

José da Cruz Machado ⁽¹⁾1 - HISTÓRICO

A associação de patógenos com sementes é uma preocupação antiga do ponto de vista da Fitopatologia. Segundo BAKER (1979), o início provável do desenvolvimento de mecanismos de transmissão de patógenos por sementes data do momento, a partir do qual, angiospermas tornaram a flora dominante a cerca de 130 milhões de anos e sementes tornaram a forma usual de reprodução de plantas. Por conseguinte, muito da história da Patologia de Sementes está intimamente ligada à própria história da Fitopatologia.

Na condição de um segmento novo que reúne basicamente princípios de Proteção Vegetal e de Tecnologia de Sementes, a Patologia é caracterizada por uma composição histórica relativamente curta. Vale salientar que, do ponto de vista moderno, a Patologia de Sementes, por transcender o significado de apenas uma ramificação da Fitopatologia, tem sua evolução histórica como uma matéria para uma discussão mais ampla. O propósito desta revisão é salientar de forma sintética alguns dos fatos, julgados de relevância, com base em narrativas de BAKER (1972, 79), NEEGAARD (1977) e NOBLE (1979), três dos mais destacados personagens que fazem parte da própria história da Patologia de Sementes.

Uma das primeiras referências sobre a associação de patógenos com sementes data de 1699 e diz respeito ao transporte de escleródios de *Claviceps purpurea*, em mistura com sementes de centeio. Em 1743, surgiu o primeiro relato da ocorrência de *Anguina tritici* em sementes de trigo, um dos poucos casos da associação de nematóides fitoparasitas com sementes. Em, 1755, em um trabalho memorável, Tillet demonstrou o transporte externo e a conseqüente transmissão de *Tilletia caries* por sementes de trigo. Pouco mais de um século, em se-

(¹) Eng^o Agr^o, Ph.D., Professor da Escola Superior de Agricultura de Lavras.
Cx. Postal 37. 37200 Lavras-MG.

guida, foi demonstrada a transmissão orgânica de *Colletotrichum lindemuthianum* por sementes de feijão. Neste trabalho, observou-se o importante papel dos cotilédones infectados no ciclo da doença no campo.

As primeiras evidências da transmissão de uma bactéria por sementes foram apresentadas em 1892. Nessa ocasião, demonstrou-se a transmissão de *Xanthomonas phaseoli* (*X. campestris* p.v. *phaseoli*) por sementes de feijão.

Em 1915, surgiu o primeiro relato sobre o transporte do vírus do mosaico-do-fumo por sementes desta planta. Três anos depois, a transmissão do vírus do mosaico-comum-do-feijoeiro em sementes desta leguminosa era anunciada.

Um fato de grande destaque na história da Patologia de Sementes foi o surgimento acidental, em 1670, da idéia de se tratar sementes com vistas ao controle de patógeno. Segundo narra NEERGAARD (1977), sementes de trigo recolhidas de um barco cargueiro naufragado próximo a Bristol, na Inglaterra, ao serem plantadas, produziram plantas livres de *Tilletia foetida*, ao contrário de outras, que não receberam o tratamento salino.

Segundo NOBLE (1979), o grande impulso da Patologia de Sementes se deu a partir de 1919, tendo como pioneira a Dra. Lucie Doyer, na Holanda. Por cerca de 30 anos, a referida profissional dedicou-se à sanidade de sementes de cereais, naquela país. Entre inúmeras contribuições de valor histórico que sucederam Dra. Doyer podem ser destacados trabalhos de alguns patologias, como DE TEMPE (1961, 1970), LIMONARD (1968), NOBLE et al. (1958, 1966), NAUMOVA (1972), NEERGAARD (1962, 1970, 1972, 1977), MALONE & MUSKETT (1964), LEACH (1967) e BAKER (1969, 1972, 1979), BAKER & SMITH (1966), RICHARDSON (1979) etc.

Do ponto de vista de cooperação internacional, é preciso ressaltar a contribuição histórica do Instituto Dinamarquês de Patologia de Sementes, tendo à frente, desde sua implantação oficial em 1969, o patologista Dr. Paul Neegaard. Graças ao esforço dessa Instituição, a Patologia de Sementes foi entendida, tanto aos países desenvolvidos, como, também, de uma forma eficaz, aos do Terceiro Mundo.

Os trabalhos apresentados por ocasião do Simpósio Internacional de Patologia de Sementes, realizado em Copenhague, em 1983, e publicados em "Seed Science & Technology, Volume 11:3", demonstram o alto nível de pesquisa que se desenvolve em diversas partes do mundo.

No Brasil, a Patologia de Sementes começou a se organizar efetivamente a partir da segunda metade da década de 1970. O destaque principal, no

início, foi a realização de 1º "Workshop" Latino Americano de Patologia de Sementes, em Londrina, PR, em 1977. Desse encontro, surgiu a elaboração do Programa Brasileiro de Patologia de Sementes tendo como objetivos coordenar o desenvolvimento de pesquisas, organizar treinamento de pessoal e difundir a tecnologia desenvolvida pelo referido programa.

Uma compilação bibliográfica, preparada por WETZEL et al. (1981), revelou que a associação de patógenos com sementes tem sido uma preocupação relativamente antiga no Brasil. Nesta publicação, foram indexados 416 títulos, cuja maioria diz respeito a tratamento de sementes e levantamento de microorganismos associados a essas estruturas.

No presente estágio, apesar das dificuldades, o Programa Brasileiro de Patologia de Sementes cumpre os seus objetivos de forma satisfatória. É preciso que se reconheça o enorme apoio que o Programa tem recebido da parte da Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes (ABRATES). A criação do Comitê de Patologia de Sementes (COPASEM) evidencia a seriedade com que aquela Associação passa a tratar o aspecto de sanidade de sementes no país.

2 - TERMINOLOGIA E DEFINIÇÕES

Apesar do avanço considerável que a Patologia de Sementes tem experimentado nos últimos anos, percebe-se, no entanto, uma certa dificuldade na comunicação por parte dos técnicos ligados a essa área. Certamente que essas dificuldades existem considerando-se o caráter interdisciplinar na composição da Patologia de Sementes. Grande parte dos conceitos seguidos atualmente é baseada em trabalhos clássicos de BAKER & SMITH (1966) e BAKER (1972).

Em princípio, julga-se de relevância abordar, sob o ponto de vista da Patologia de Sementes, o significado de doença, patógeno, inóculo, contaminação, infecção, transporte e transmissão de patógenos por sementes e semente propriamente dita.

O conceito de doença, apesar de subjetivo, pode ser resumido a qualquer alteração morfológica e/ou fisiológica danosa à planta. Uma doença é infecciosa quando é causada por agentes como fungos, bactérias, vírus e nematôides e que implique na transmissibilidade da condição enferma de um indivíduo a outro numa população considerada. Por patógeno, considera-se o agente causal de doença infecciosa e por inóculo todo ou parte do patógeno capaz de iniciar crescimento ou multiplicação. Vale lembrar, portanto, que patógeno não é doença e sim um componente desta.

Do ponto de vista botânico, semente é definida como sendo a unidade de propagação de plantas superiores (espermatófitas), resultante de processo sexuado. Em Patologia de Sementes, a conceituação botânica consideram-se, também, os frutos cujo pericarpo encontra-se intimamente aderido à semente, conforme ocorre com aquênios e cariopses. A consideração de partes vegetativas de plantas como forma de propagação, em Patologia de Sementes, constitui matéria para definições futuras.

O significado de transporte e transmissão de patógenos, bem como de contaminação e infecção de sementes, pode ser melhor entendido com base na localização do inóculo em relação à semente em um lote. Segundo BAKER (1972), patógenos podem associar-se às sementes de três maneiras. No primeiro caso, o inóculo encontra-se passivamente em mistura com as sementes como parte da fração impura. Desta forma, diz-se que o patógeno acompanha as sementes. Os fungos, nestas circunstâncias, apresentam-se comumente na forma de escleródios ou micélio dormente em fragmentos vegetais; as bactérias, na forma de células vegetativas agregadas ou em tecidos atacados, e os nematóides, dentro de galhas. Um exemplo importante desse tipo de associação é a presença de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, junto a sementes de soja.

De uma outra forma, o inóculo de certos patógenos pode aderir à superfície das sementes e daí ser transportado passivamente. Para BAKER (1972), o inóculo é considerado externo às sementes, quando ele se encontra fora das partes funcionais das sementes ou frutos essenciais à produção de uma nova planta. São exemplos desse tipo de associação, *Rhizoctonia solani*, em pimenta, *Eusciinia antiperhiri*, em boca-de-leão e *Peronospora manshurica*, em soja.

A localização interna de patógenos em sementes implica a presença do inóculo no embrião ou dentro das camadas do envoltório, compostas de endosperma, perisperma e casca das sementes ou frutos.

Alguns dos importantes fungos que podem alojar-se no interior das sementes são *Ustilago tritici*, em trigo, *U. nuda*, em cevada, diversas espécies de *Alternaria*, *Phomopsis*, *Colletotrichum*, *Helminthosporium*, *Drechslera*, *Septoria*, *Cercospora* etc, em diversos hospedeiros. Entre as bactérias que se alojam mais comumente no envoltório das sementes, estão *Xanthomonas campestris* p.v. *malvacearum*, em algodoeiro, *X. campestris* p.v. *phaseoli*, em feijoeiro e, entre os vírus, podem ser citados o vírus do mosaico-comum-do-feijoeiro e o vírus do mosaico-comum-da-alfaca. Neste tipo de associação, encontra-se também o nematóide *Aphelenchoides besseyi*, em arroz.

É preciso salientar que, apesar da distinção que se faz entre esses

três tipos de associação de inóculo, um mesmo patógeno pode estar presente em um lote de sementes sob uma ou mais das formas de localização descritas.

Do ponto de vista da Patologia de Sementes, a contaminação por patógeno implica a presença deste em mistura ou passivamente aderido à superfície das sementes ou frutos. Já a infecção implica a presença do patógeno no interior das sementes ou frutos, seja no embrião ou nas camadas externas que o envolvem.

Vale salientar que do ponto de vista restrito da Fitopatologia e no qual BAKER (1972) deve ter se apoiado, uma semente encontra-se infectada quando o patógeno está associado às suas partes vitais que, no caso, resume-se ao embrião. Com base em tal ponto de vista, a presença do patógeno tanto em mistura, como aderido ou infiltrado nos tecidos das camadas protetoras do embrião implica em contaminação da semente.

De acordo, ainda, com conceitos mais rígidos da Fitopatologia, os termos transporte e transmissão por sementes devem ser empregados em relação a patógenos e não à doença. Potencialmente, a maioria dos fitopatógenos podem ser transportados por sementes, porém, não necessariamente, transmitidos à prole.

O sucesso da transmissão depende de inúmeros fatores, porém as chances são tanto maiores na proporção em que o inóculo se aloja mais internamente nas sementes.

3 - SIGNIFICADO DA ASSOCIAÇÃO DE PATÓGENOS COM SEMENTES

Para se avaliar a importância da associação de patógenos com sementes é preciso ter em mente que 90% das culturas destinadas à produção de alimentos no mundo são sujeitas ao ataque de doenças cuja maioria de seus agentes causais pode ser transmitida pelas sementes (NEERGAARD, 1977). Segundo RICHARDSON (1979), cerca de 1.500 agentes, entre fungos, bactérias, vírus e nematóides têm sido detectados em lotes de sementes de aproximadamente 600 gêneros de plantas.

Em comparação com outros meios de transmissão de patógenos, o uso de sementes portadoras de patógenos apresentam certas características que, do ponto de vista de proteção de plantas, requerem cuidados especiais.

3.1. - Importância econômica.

Em termos econômicos, a importância da associação de patógenos com sementes pode ser avaliada em função dos tipos de danos causados pelas doenças correspondentes, tanto na fase de produção e comercialização de sementes, como no campo comercial, a partir do uso de sementes contaminadas ou infectadas. Uma das grandes dificuldades que se encontra nesse tipo de avaliação é a interferência de inúmeros outros fatores de difícil controle o que faz com que estimativas numéricas sejam escassas na literatura.

De forma convencional, perdas são calculadas tendo-se como referência o potencial produtivo de uma variedade em determinada circunstância. Em alguns casos a referência é tomada sobre a produção líquida que corresponde ao lucro de exploração (NEERGAARD, 1977; JAMES, 1983). É preciso lembrar que no cálculo de perdas causadas por doenças devem ser incluídos gastos com aquisição e aplicação de defensivos e outras medidas de controle. Em um dos poucos registros estatísticos encontrados na literatura, AGRIOS (1978) informa que prejuízos da ordem de 70 bilhões de dólares foram atribuídos a doenças em 1978. Cerca de 135 milhões de toneladas de cereais, 31 de produtos hortícolas e 14 produtos de plantas oleaginosas têm sido atualmente perdidas pelo ataque de patógenos que, na maioria, podem ser veiculados pelas sementes.

Em uma ampla revisão, NEERGAARD (1977) mostra que um mesmo patógeno pode provocar diferentes tipos de danos a uma cultura, dependendo do nível de tecnologia empregada e das circunstâncias em que o cultivo se desenvolve. Doenças como antracnose, cretamento bacteriano e mosaico-comum, em feijoeiro; brusone e helmintosporiose, em arroz; ramulose, mancha angular e marcha de fusarium, em algodoeiro; helmintosporiose, manchas das glumas e folhas e fusariose, em trigo; antracnose, manchas foliares e seca das hastes e vagens, podridão de *Sclerotinia*, em soja, cujos agentes causais podem ser transmitidos pelas sementes, são da maior importância no Brasil.

A redução do "stand" provocada pela atuação de patógenos nas sementes, embora possa não representar no cultivo, de imediato, perda de significado econômico, pode levar a conseqüências desastrosas pelos seus efeitos tardios. A semeadura de compensação que se pratica usando sementes do mesmo lote é uma das formas de se acumular inóculo no solo.

Dentre os danos que um patógeno pode provocar, considerando-se a planta individualizada, a partir de sementes, podem ser citados: morte em pré-embrião; podridões radiculares; tombamentos; manchas necróticas em folhas,

caules, frutos e sistema vascular; deformações (hipertrofias e subdesenvolvimento); descolorações (desvio da coloração normal); infecção latente, etc.

Já em campos de produção de sementes, além desses tipos de danos que causam reduções na produtividade, as doenças podem causar depreciações profundas na qualidade do produto. Abortos, estrumatizações, perda do poder germinativo são alguns dos efeitos que patógenos podem causar nas sementes.

Na fase de armazenamento, os danos causados por espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* podem atingir níveis alarmantes. Cerca de 2% da produção mundial de grãos e sementes são, anualmente, perdidos pelo ataque dos referidos fungos (TANAKA, 1982). O desempenho desses organismos é dependente das condições físicas e fisiológicas das sementes por ocasião do início da armazenagem e dos fatores ambientes predominantes no decorrer desse período.

3.2 - Implicações epidemiológicas

A preocupação com o uso de uma semente infectada ou contaminada não reside, apenas, nos danos diretos que isto pode causar, mas também nas consequências deste fato, considerando-se uma população de plantas no campo.

Sob o ponto de vista fitopatológico, a disseminação de patógenos por sementes exerce um papel de maior importância no ciclo de uma doença, por algumas implicações próprias.

3.2.1 - A semente como meio de sobrevivência para patógenos

De maneira geral, tem sido demonstrado que patógenos quando ganham o interior de sementes podem sobreviver aí por períodos de tempo mais prolongados do que em outras partes da planta (BAKER, 1972). Provavelmente, tal fato decorra da existência nas sementes de camadas protetoras e do acúmulo de reservas nutritivas dos quais muitos patógenos se beneficiam.

Em revisão feita por NEERGAARD (1977), cujo resumo é apresentado no Quadro 1, nota-se uma grande variação do período de longevidade em sementes, entre os patógenos. Estes valores podem ser influenciados pelas condições de armazenamento dentre outros fatores.

Por outro lado, o armazenamento de sementes para um pequeno número de casos faz com que a viabilidade de certos patógenos seja reduzida. Exemplos nesse sentido são *Phomopsis* sp, em soja, e *Septoria apicola*, em alho.

De outro ângulo, é oportuno ressaltar que sementes contendo patógeno

Quadro 1. Longevidade máxima de alguns fitopatógenos em sementes de plantas cultivadas em condições normais de armazenamento

Patógeno	Hospedeiro (nome comum)	Longevidade
1. FUNGOS:		anos
<i>Alternaria brassicicola</i>	brassicáceas	8,0
<i>Alternaria sinensis</i>	zingib	7,0
<i>Botrytis cinerea</i>	diversos	3,0
<i>Colletotrichum gossypii</i>	algodão	13,5
<i>Drechslera oryzae</i>	arroz	4,0
<i>Fusarium moniliforme</i>	milho	8,0
<i>Peronospora manshurica</i>	soja	8,0
<i>Pyricularia oryzae</i>	arroz	4,0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	diversos	7,0
<i>Septoria nodorum</i>	trigo	7,0
<i>Tilletia caries</i>	trigo	18,0
<i>Ustilago tritici</i>	trigo	5,0
2. BACTÉRIAS:		
<i>Pseudomonas glycines</i>	soja	2,0
<i>Pseudomonas phaseolicola</i>	feijão	3,0
<i>Xanthomonas phaseoli</i>	feijão	15,0
<i>Xanthomonas malvacearum</i>	algodão	4,5
<i>Xanthomonas oryzae</i>	arroz	2,5
3. VÍRUS:		
Mosaico comum	feijão	30,0
Mosaico comum do fumo	tomate	9,0
Mosaico estriado	cevada	6,5
Mosaico estriado da cevada	trigo	3,0
4. NEMATÓIDES:		
<i>Anguina tritici</i>	trigo	28,0
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	arroz	3,0
<i>Ditylenchus dipsaci</i>	aveia	8,0

em seu interior têm se constituído em um dos meios eficientes de se preservar inóculo em condições de laboratório.

3.2.2 - A semente como meio de introdução e acúmulo de patógenos em áreas de cultivo

O cultivo de sementes contaminadas ou infectadas em mistura com sementes sadias é um dos meios mais eficientes de introduzir ou acumular patógenos em áreas novas ou já tradicionais de cultivo.

Tal eficiência está relacionada ao fato de que sementes contendo patógeno, não sendo facilmente reconhecidas em um lote e, por conseguinte, sendo distribuídas aleatoriamente no campo, constituem foco primário de infecção na fase mais inicial da cultura. Nestas circunstâncias, as chances para o estabelecimento das doenças são máximas.

Do ponto de vista epidemiológico é preciso considerar também que uma semente, germinada ou não, pode ser veículo de inúmeros patógenos simultaneamente. O problema torna-se tanto mais preocupante quando se considera que sementes podem transportar patógenos de solo como *Fusarium*, *Verticillium*, *Sclerotium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia* etc., que uma vez introduzidos em uma região são de difícil controle.

O mosaico-comum-da-alface e o crestamento de halo (causado por *Pseudomonas phaseolicola*), em feijoeiro, são exemplos clássicos de doenças citadas na literatura que podem atingir níveis epifitóticos no campo a partir de baixos índices de contaminação das sementes.

Segundo relatos de BAKER (1972, 1979), somente o plantio de sementes de alface tendo menos que 0,003% de infecção pelo vírus do mosaico comum desta olerícola faz com que seja viável o cultivo comercial da referida planta no vale de Salinas, Califórnia, E.U.A., mesmo que afídeos possam trazer o vírus de outros locais fora do plantio. Da mesma forma, o cultivo do feijoeiro nas condições de Wiscosin, E.U.A., é seriamente comprometido pela presença de *Pseudomonas phaseolicola*, nas sementes, em níveis a partir de 0,02%.

Da mesma forma, é de se esperar que inúmeras outras doenças, como a antracnose do feijoeiro, ramulose e murcha de fusarium em algodoeiro, 'helminthosporiose' das gramíneas, brusone, em arroz, crestamento bacteriano em leguminosas etc, podem atingir níveis catastróficos, no campo, a partir de sementes sob condições favoráveis às mesmas.

3.2.3 - A semente como veículo de disseminação de patógenos a longas distâncias

O intercâmbio de sementes entre agricultores, melhoristas de plantas e outros agentes tem se constituído em um meio de movimentação inevitável de patógenos entre regiões, países e continentes, em todo o mundo. Trata-se de um transporte para o qual não existem barreiras geográficas.

Para muitos dos fitopatógenos conhecidos, as sementes significam um meio quase exclusivo de sobrevivência e, desta forma, eles podem ser levados a longas distâncias. É através de sementes que raças fisiológicas de importantes patógenos são comumente introduzidas em um campo de cultura.

Apesar do esforço e rigor da legislação existente em vários países, no sentido de impedir o trânsito de patógenos, inúmeros são os casos já conhecidos de importação desses agentes de sementes. Como exemplos, cita NEERGAARD (1977) a introdução de *Xanthomonas phaseoli* (*X. campestris* pv. *phaseoli*) na Nova Zelândia em sementes vindas da Europa, em 1970. Da mesma forma, *Tilletia caries* foi introduzido na Austrália em sementes oriundas da Califórnia, EUA, em meados do século XIX.

No Brasil, a introdução de vários patógenos tem ocorrido, provavelmente, através de importação de sementes. Neste sentido, a ocorrência recente de *Plasmopora halstedii*, em girassol, sugere sua introdução através de sementes oriundas de outros países.

3.2.4 - O papel das sementes na seleção de raças patogênicas

Segundo BAKER (1972), existe uma forte seleção preferencial de raças de um fitopatógeno em relação a um dado hospedeiro ou variedade no campo de produção de sementes. Com base nos conceitos de VANDER PLANK (1968), o cultivo de variedades com maior homogeneidade genética em campos de produção de sementes tende a aumentar a quantidade de inóculo de raças mais agressivas ou virulentas, capazes de atacá-las e, assim, aumentar a probabilidade de infecção ou contaminação de sementes por aquelas raças. Nesse sentido, RIBEIRO, em 1972, citado por NEERGAARD (1977), demonstrou que plântulas de beringela inoculadas com uma raça mais agressiva de *Verticillium dahliae* produziram sementes infectadas a uma taxa de 2,5%, ao passo que nenhuma semente da mesma variedade foi infectada por aquele patógeno, quando uma raça menos agressiva foi inoculada em condições semelhantes.

Da mesma forma, relata BAKER (1947) que variação na frequência de transmissão de *Rhizoctonia solani* por sementes é uma indicação do grau de susceptibilidade entre os hospedeiros ao referido patógeno.

3.3 - A patologia de sementes em programas de certificação e quarentena

Por certificação de sementes entende-se um sistema legalmente estabelecido para controle de qualidade de multiplicação e produção de sementes envolvendo uma série de avaliações e inspeções em laboratório e campo (NEERGAARD, 1977).

Sob o ponto de vista sanitário, a certificação envolve um conjunto de atividades que visa avaliar a incidência de doenças no campo e de patógenos em lotes de sementes em laboratório.

Dessa forma, um esquema de certificação pode constituir-se em uma medida valiosa para o controle de alguns patógenos (HEWETT, 1979).

O sucesso da certificação como medida de controle é tanto maior, quanto for a dependência dos patógenos das sementes, para sua sobrevivência e disseminação. Para esses casos, é de extrema importância estabelecer índices de tolerância de plantas enfermas no campo e dos patógenos nos lotes de sementes. No campo, a tolerância é determinada com base em informações sobre a dinâmica e mecanismos de transmissão de patógeno da planta para as sementes. A tolerância em sementes é estabelecida através de correlações entre os níveis de ocorrência do patógeno em lotes de sementes, através de testes de sanidade em laboratório, e o desenvolvimento da doença em diferentes condições de cultivo no campo. Nesta etapa, é relevante considerar o destino geográfico das sementes.

Uma vez fixados os índices de tolerância, o controle de alguns patógenos, através de esquema de certificação, tem sido uma prática empregada com sucesso em várias partes do mundo.

Como exemplos desses programas, podem ser lembrados o controle do mosaico-comum-da-alfaca, na Califórnia (GROGAN, 1983), o controle do mosaico-estriado-da-cevada (CARROL, 1983), de algumas viroses em leguminosas (HAMILTON, 1983), de parte dos carvões das gramíneas e outras doenças, cujos patógenos são dependentes das sementes para sua propagação.

Por outro lado, a quarentena de sementes, embora seja uma preocupação em muitos países, encontra sérias dificuldades em impedir a importação de agentes fitopatogênicos. Contribui para isso o fato de que o inóculo pode estar presente em um lote de sementes em níveis tão baixos que podem não ser detecta

dos nas amostras representativas do consignamento. Tal fato faz com que o valor da aplicação isolada de testes em laboratório seja questionável, sendo necessárias inspeções de campo e a condução de outros tipos de testes na fase de pós-entrada da semente no país.

De maneira geral, são objetos principais de quarentena grupos de patógenos. O primeiro é composto de patógenos perigosos que não ocorrem no país importador e que, uma vez introduzidos, podem ser disseminados rapidamente; o segundo grupo é constituído por patógenos que não ocorrem no país importador ou nele têm uma limitada distribuição, sendo mostrada sua taxa de multiplicação.

Apesar das barreiras, quarentena de sementes tem sido bem sucedida em vários casos. Cita NEERGAARD (1977), entre inúmeros relatos, a interceptação de *Puccinia antirrhini* em sementes de *Antirrhinum majus*, importados pela Nova Zelândia, em 1953 e 1957, dos Estados Unidos da América (EUA) e da Grã-Bretanha. Da mesma forma, *Drechslera victoriorae* e *Diplodia maydis*, o primeiro em sementes de aveia e o segundo em sementes de milho, foram interceptados, em 1959 e 1961, respectivamente, em Israel, provenientes dos E.U.A.

4 - O CONCEITO E AS ATRIBUIÇÕES DA PATOLOGIA DE SEMENTES

Etimologicamente, Patologia de Sementes é o estudo de doenças de sementes. Entretanto, com base no que já foi dito nos tópicos anteriores, Patologia de Sementes pode ser definida como a ramificação da Agronomia que trata das implicações relativas à associação de patógenos com sementes, considerando-se todas as etapas do sistema de produção e uso dessas, tendo como alvo principal o controle de doenças dos vegetais, propagadas por sementes. Lembram NEERGAARD & MATHUR (1980) que na composição da Patologia de Sementes são utilizados princípios interdisciplinares, sendo Anatomia, Morfologia Vegetal, Fitopatologia, Microbiologia, Epidemiologia, Climatologia, Estatística, Tecnologia de Controle de Fitodoenças, Tecnologia de Sementes e Melhoramento Vegetal visando resistência a doenças, as disciplinas mais diretamente envolvidas.

Desta forma, são atribuições da Patologia de Sementes:

- 1º) levantamento e estudo dos patógenos associados a sementes; 2º) caracterização e avaliação de perdas provocadas por patógenos a partir de sementes;
- 3º) estudo sobre a dinâmica e mecanismos de transmissão de patógenos; 4º) desenvolvimento de métodos de detecção e controle de patógenos em sementes;
- 5º) estabelecimento de índices de tolerância; 6º) desenvolvimento de métodos de controle de doenças em campos de produção de sementes e 7º) estudo de cau-

sas e controle de deterioração de sementes em armazenamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. ed.2 New York and London, Academic Press, 1978. 703 p.
- BAKER, K.F. Seed transmission of *Rhizoctonia solani* in relation to control of seedling damping off. *Phytopathology*, Lancaster, Pennsylvania, 37: 912-24, 1947.
- BAKER, K.F. & SMITH, S.H. Dynamicx of seed transmission of Plant Pathogens, *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, Califórnia, 4: 311-44, 1966.
- BAKER, K.F. Aerated-steam treatment of seed for disease control. *horticultural Research*, London, 9: 59-73, 1969.
- BAKER, K.F. Seed Pathology. In: KOZLOWSKI, T. ed. *Seed Biology*, New York, Academic Press, Vol. 2. 1972. p. 317-416.
- BAKER, K.F. Seed Pathology - Concepts and methods of control. *Journal of Seed Technology*, Mass., 4(2): 57-67, 1979.
- CARROL, T.W. Certification schemes against barley stripe mosaic. *Seed Science & Technology*, Zurich, 11(3a): 1033-1042, 1983.
- DE TEMPE, J. Routine methods for determining the health condition of seeds in the seed testing station. *Proceeding International Seed Testing Association*, Copenhagen, 26: 27-60, 1961.
- DE TEMPE, J. Testing cereal seeds for *Fusarium* infection in the Netherlands. *Proceeding International Seed Testing Association*, Vollebakk, 35: 193-206, 1970.
- GROGAN, R.G. Lettuce mosaic virus control by use of virus indexed seed. *Seed Science & Technology*, Zurich, 11(3a): 1043-1049, 1983.
- HAMILTON, R.I. Certification schemes against seed-borne virus in leguminous hosts, present status and further areas for research and development. *Seed Science & Technology*, Zurich, 11(3a): 1051-1062, 1983.
- HENNETT, P.D. Regulating seed-borne disease by certification. In: EBBELS, D.L. & KING, J.E., ed. *Plant Health Oxford*, Blakwell Scientific Publications, 1979. p. 163-173.
- JAMES, W.C. Crop Loss Assessment. In: JOHNSTON, A. & BOOTH, C., ed. *Plant Pathologist's Pocktbook*, ed. 2. United Krugdin, C.M.E., 1983. p. 130-143.

- LEACH, C.M. The light factor in the detection and identification on seed-borne fungi. Proceeding international Seed Testing Association, Wageningen, 32: 565-589. 1967.
- LIMONARD, T. Ecological aspects of seed health testing. Proceeding International Seed Testing Association, Wageningen, 33: 167, 1968.
- MALONE, J.P. & MUSKETT, A.E. Seed-borne Fungi. Description of 77 fungus species. Proceeding International Seed Testing Association, Wageningen, 29: 179-384, 1964.
- NAUMOVA, N.A. Testing of seeds for fungus and Bacterial infections. ed. 3. Jerusalem, Israel Program for Scientific Translation, 1972. 145. (Traduzido do Russo).
- NEERGAARD, P. Tolerance in seed health testing. A discussion on basic principles. Proceeding International Seed Testing Association, Wageningen, 27: 386-399. 1962.
- NEERGAARD, P. Seed-borne pathogens and pests in quarantine. Cairo FAO Near East Regional Office, 1970. 31 p.
- NEERGAARD, P. International and national cooperation in seed health testing and certification. Proceeding International Seed Testing Association, Norway, 37: 117-138, 1972.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London, Mac Millan Press Ltd. 2V., 1977. 1187p.
- NEERGAARD, P. & MATHUR, S.B. University teaching of seed Pathology Mysore, Mysore University Printing Press, 1980. 162 p.
- NOBLE, M. Outline of the history of seed pathology. in: YORINORI, J.T. et al. ed. Seed Pathology - problems and Progress, Londrina, IAPAR, 1979. p. 13-17.
- NOBLE, M.; DE TEMPE, J. & NEERGAARD, P. An annotated list of seed-borne disease. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1958. 159 p.
- NOBLE, M.; MACGARVIE, Q.D.; HANS, A.F. & LEAFE, E.L. Resistance to mercury of *Pyrenophora avenae* in Scottish seed oats. Plant Pathology, Harpenden, 15: 23-28, 1966.
- RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3 ed. Commonwealth Mycological Institute, Phytopath. Papers, London, 23: 1-320, 1979.
- TANAKA, M.A.S. Importância da utilização de sementes sadias. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 8(91): 31-34, 1982.
- VANDERPLANK, J.E. Diseases resistance in plants. New York and London, Academic Press, 1968. 206 p.
- WETZEL, M.M.V.S.; BETTIOL, E.M. & FAIAD, M.G.R. Bibliografia Brasileira de

Patologia de Sementes. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 1981.

CAPÍTULO II

FUNGOS EM SEMENTES

Sérgio Almeida de Moraes ⁽¹⁾Jaciro Soave ⁽¹⁾1 - INTRODUÇÃO

Não só os micologistas se preocupam com os fungos. Também os citologistas, os geneticistas, os bioquímicos, os fitopatologistas e os patologistas de sementes reconhecem a importância destes organismos na sua área de investigação. Na Fitopatologia, os fungos são considerados os principais agentes causais de doenças em plantas. Nas sementes, a importância destes organismos está relacionada à frequência com que algumas espécies ocorrem associadas às mesmas, como saprófitas ou como patógenos por elas disseminados.

Os fungos constituem um grupo de microrganismos enquadrados entre os protistas superiores ou eucariotos. Podem ser considerados em duas divisões. A primeira está representada por organismos que possuem estruturas somáticas desprovidas de parede celular, apresentando células amebóides que podem formar plasmódios ou pseudoplasmodios, denominada de Mixomicetos. A segunda reúne a maioria dos fungos. Nela estão os organismos que apresentam as estruturas somáticas, sempre providos de parede celular, denominada Eumicetos ou fungos verdadeiros.

Neste capítulo, serão abordados alguns aspectos dos fungos verdadeiros (Eumicetos) que permitam auxiliar na compreensão e identificação das estruturas vegetativas e reprodutivas dos principais gêneros, normalmente encontrados associados às sementes de plantas cultivadas.

⁽¹⁾ Engenheiros Agrônomos, Drs. em Agronomia, Pesquisadores Científicos, Seção de Microbiologia Fitotécnica, Instituto Agrônomo, Campinas, CPA/SA. Cx. Postal 28, 13020 Campinas-SP.

Os autores agradecem à Lúcia Helena Signori Melo de Castro pela execução dos desenhos e à Vera Gallo Yahn pela elaboração das legendas nas figuras.

2 - CARACTERÍSTICAS GERAIS

As principais características dos fungos são descritas a seguir.

a) Nutrição: são heterotróficos (aclorofilados, não fazem a fotossíntese). A nutrição se dá por absorção (ingestão é rara).

b) Talo: plasmodial amebóide ou pseudoplasmodial (nos mais primitivos); unicelular ou filamentosos (micelial), podendo o micélio ser septado ou não; tipicamente imóvel, mas estádios móveis (zoosporos) podem ocorrer.

c) Parede celular: bem definida, tipicamente quitinizada (celulose nos Oomycetes).

d) Núcleo: eucariótico. O micélio pode ser multinucleado, homo ou heterocariótico; haplóide, dicariótico ou diplóide (este último usualmente de duração limitada).

e) Ciclo vital: simples ou complexo.

f) Sexualidade: assexual ou sexual e homo ou heterotático.

g) Esporocarpos: microscópicos ou macroscópicos e mostrando uma diferenciação de tecidos limitada.

h) Habitat: vivem como saprófitas, simbiontes, parasitas e hiperparasitas.

i) Distribuição: cosmopolitas.

3 - ESTRUTURAS SOMÁTICAS REPRODUTIVAS

As estruturas reprodutivas dos fungos estão diferenciadas das estruturas somáticas e exibem uma variedade de formas que são utilizadas na classificação. Poucos fungos podem ser identificados se não se dispõem de seus estádios reprodutivos; com poucas exceções, suas partes somáticas são muito semelhantes entre si.

3.1. - Estruturas somáticas

O talo dos fungos verdadeiros é, normalmente, constituído por duas partes bem diferenciadas: uma parte vegetativa, que é a responsável pelo desenvolvimento e absorção dos alimentos, isto é, encarregada de manter a vida dos mesmos; e uma parte reprodutiva, que se encarrega da propagação da espécie.

Todos os fungos conhecidos, com poucas exceções, têm origem dos esporos, corpúsculos que podem ser comparados às sementes das plantas superiores,

embora não sejam semelhantes a estas.

Os esporos germinam em condições idênticas às das sementes, necessitando de calor e umidade. O resultado da germinação é, em geral, a saída de um ou mais filamentos finos, conhecidos como tubos germinativos.

Estes tubos germinativos ramificam-se em todas as direções, espalhando-se sobre ou dentro do substrato utilizado como alimento, formando uma massa de filamentos microscópicos, conhecida como micélio.

Cada um destes filamentos, que formam o micélio, denomina-se hifa, que constitui o talo ou a parte vegetativa dos fungos em geral.

Estruturas das hifas

As hifas são constituídas de uma parede tubular fina, transparente, cheia ou forrada com uma camada de protoplasma variando em espessura. Dependendo da espécie o protoplasma pode ser contínuo (hifa cenocítica) ou interrompido a intervalos regulares por meio de septos, que dividem a hifa em células (hifa septada). Estes septos são constituídos do mesmo material componente da parede celular e são atravessados por poros através dos quais todo protoplasma da hifa se intercomunica, mantendo, assim, a característica, não muito aparente nesses casos.

A composição química da parede celular não é a mesma em todos os fungos. Em algumas formas, a celulose é provavelmente o principal constituinte. Na maioria dos fungos, particularmente nas formas superiores, a parede celular está composta principalmente por quitina. Substâncias presentes nas hifas jovens podem desaparecer quase completamente quando estas envelhecem; novas substâncias podem ser depositadas e mascarar a presença dos primeiros constituintes, tornando-se difícil sua identificação. Além disso, tem-se demonstrado que fatores externos, tais como a composição do meio, o pH e a temperatura influem profundamente sobre a composição das paredes.

Os fungos possuem núcleos organizados, cada um com sua membrana nuclear, seu nucléolo e os filamentos de cromatina, que durante a divisão se organizam em cromossomos. Os núcleos da parte vegetativa da maioria dos fungos são extremamente pequenos e sua observação se torna difícil. Nas estruturas especializadas relacionadas ao ciclo sexual do fungo, e nas quais tem lugar a meiose, os núcleos são maiores que os núcleos somáticos.

Nos fungos com hifas que não possuem septos (cenocíticas ou asseptadas), os núcleos estão incluídos no citoplasma e distribuídos mais ou menos uniformemente em toda massa. Nas hifas septadas, cada uma das células pode con-

ter um, dois ou mais núcleos. As células uninucleadas são características de certos fungos; as binucleadas de outros e as multinucleadas se apresentam em quase todos os grupos.

Vacúolos, gotas de óleo e outras inclusões se acham comumente no citoplasma dos fungos.

Diferenciação das hifas

O micélio de alguns dos fungos superiores forma cordões. Em certos tipos de tais cordões, os rizomorfos, as hifas unidas perdem a sua individualidade e formam tecidos complexos que exibem uma certa divisão de trabalho. A massa filamentosa tem um córtex espesso e duro e uma ponta de crescimento cuja estrutura lembra a da ponta da raiz de plantas. Rizomorfos são resistentes a condições adversas e permanecem dormentes até a volta de condições favoráveis. O crescimento é, então, reiniciado e o rizomorfo atinge grande comprimento.

O micélio dos fungos parasitas cresce na superfície ou, mais frequentemente, dentro do hospedeiro, espalhando-se entre as células ou penetrando-as. Se o micélio é intercelular, o alimento é absorvido através da parede celular ou membrana do hospedeiro. Se o micélio penetra nas células (intracelular), as paredes hifálicas entram em contato direto com o protoplasma do hospedeiro. Hifas intercelulares de muitos fungos, especialmente de fitoparasitas obrigados, obtêm alimento através de haustórios. Estes são supercrescimentos da hifa somática que o fungo envia para dentro das células do hospedeiro, através de um diminuto poro perfurado na parede celular. São vistos como órgãos absorventes especializados. Podem ser em forma de nó, alongados ou ramificados, como um sistema radicular em miniatura.

As hifas de fungos saprofíticos entram em contato íntimo com o substrato e obtêm alimento pela difusão direta, através das paredes hifálicas, causando uma desintegração da matéria orgânica que utilizam. As hifas mais velhas morrem à medida que o micélio cresce e ramifica, e se desintegram por causa das atividades de outros microrganismos que se alimentam de seus componentes.

Durante certos estádios do ciclo vital de muitos fungos, o micélio se organiza em tecidos frouxos ou compactamente entrançados, bem diferentes das hifas frouxas que, normalmente, compõem um talo. Usa-se o termo geral pletênquima, para designar todos os tecidos fúngicos organizados. São reconhecidos dois tipos gerais de pletênquima: prosênquima, tecido algo frouxamente trançado, em que as hifas componentes jazem mais ou menos paralelamente e suas células tipicamente alongadas são facilmente distinguíveis como tais; e o pseudo-

parênquima, tecido formado por células mais ou menos isodiamétricas ou ovais, bem compactadas, parecendo células do parênquima de plantas superiores. Neste tipo de tecido fúngico, a hifa perde a sua individualidade e não é distinguível como tal.

Prosenquima e pseudoparênquima compõem vários tipos de estruturas somáticas e reprodutivas de muitos fungos. Duas das tais estruturas são o estroma e o escleródio. Estroma é uma estrutura somática compacta muito semelhante a uma matriz sobre ou dentro da qual se formam frutificações do fungo. Escleródio é um corpo de repouso duro, resistente a condições desfavoráveis, que pode permanecer por longos períodos de tempo dormente e germinar com o retorno de condições favoráveis.

Ainda nas hifas do micélio de um grupo de fungos há a formação de células especiais de descanso, denominadas clamidosporos. Neste caso, ocorre migração e condensação do protoplasma em determinado ponto da hifa que, em seguida, é protegido por uma parede celular muito espessa. No interior destas células, são encontradas substâncias de reserva, como o glicogênio. Elas separam-se das hifas e depois de um período de repouso, sob condições favoráveis de temperatura e umidade, germinam dando origem a um novo indivíduo.

3.2 - Sistema reprodutivo

Na maioria dos casos, o sistema vegetativo encontra-se no interior dos tecidos parasitados, no solo ou na matéria orgânica em decomposição. Com a formação dos esporos, é necessário que estes tenham acesso livre ao ar, para assegurarem a disseminação dos mesmos. Para que isto ocorra, há uma diferenciação das hifas vegetativas em estruturas especializadas conhecidas como esporóforos, sobre as quais originam-se os esporos.

Esporos

Esporo é um termo genérico com que se denomina uma célula ou grupo de células, de cuja germinação se origina o talo dos fungos.

Os esporos são bastante variáveis em tamanho, forma, número de células, coloração e modo de formação.

Os esporos podem ser assexuais ou sexuais. São esporos assexuais quando produzidos pelas transformações do sistema vegetativo. São esporos sexuais quando produzidos pela fusão de corpos diferenciados ou especializados, que têm um caráter de sexualidade (plasmogamia, cariogamia e meiose).

Podem, ainda, ser formados endógena ou exogenamente. Os principais tipos de esporos endógenos são os ascósporos (Ascomicetos); esporangiosporos e zoósporos (ambos dos Ficomicetos). Entre os esporos exógenos são encontrados os: conídios (Deuteromicetos); basidiosporos, esporídios, teliosporos, uredosporos, eciosporos e picniosporos (todos os Basidiomicetos).

Esporóforos

Os esporóforos consistem de hifas diferenciadas do sistema vegetativo, que vão dar origem aos esporos.

Podem ser simples (livres) ou compostos; simples, quando constituídos por uma única hifa ereta, e compostos, quando constituídos por feixes ou massas complexas de hifas (sinêmios, esporodóquios, Soros e acérvulos).

Os esporóforos recebem nomes especiais, segundo sua conformação e o tipo de esporo que originam. Dentre os principais tipos de esporóforos podemos citar: esporangióforos (Ficomicetos), conidióforos (Deuteromicetos) e basidióforos (Basidiomicetos).

Corpos de frutificação

Em alguns fungos, os esporos são formados em receptáculos arredondados, em forma de frasco ou taça (corpos de frutificação ou esporocarpos). Entre estes corpos de frutificação encontram-se três formas.

Basidiocarpos - corpos de frutificação altamente organizados dos Basidiomicetos, que produzem os esporos sexuais exógenos (basidiosporos), em estruturas especializadas denominadas basídias.

Ascocarpos - (Peritécio, cleistotécio e apotécio) - corpos de frutificação dos Ascomicetos, que produzem esporos sexuais endógenos (ascósporos) encerrados no interior de hifas diferenciadas em forma de saco (ascas).

Picnídios - corpos de frutificação globosos e ostiolados dos Deuteromicetos, que produzem esporos assexuais exógenos (conídios), na extremidade de pequenos conidióforos colocados no seu interior.

4 - REPRODUÇÃO

Entende-se, por reprodução, a formação de novos indivíduos que têm todas as características da espécie. São conhecidos dois tipos gerais de reprodução: assexual e sexual. A reprodução assexual, também chamada somática ou vegetativa, não inclui a união de núcleos, células sexuais ou órgãos sexuais. A

reprodução sexual, por outro lado, está caracterizada pela união dos núcleos.

Na formação dos órgãos reprodutivos, tanto sexuais como assexuais, todo o talo pode converter-se em uma ou mais estruturas reprodutivas, e deste modo, a fase somática e a reprodutiva, nunca podem se apresentar juntas no mesmo indivíduo. Os fungos que assim se comportam são chamados holocárpicos. Na maioria dos fungos, entretanto, os órgãos reprodutivos surgem somente em uma parte do talo, ao passo que o restante continua suas atividades normais (vegetativas). Os fungos desta categoria denominam-se eucárpicos.

4.1 - Reprodução assexual

Os fungos se reproduzem tipicamente tanto sexual como assexualmente. Em geral, a reprodução assexual é a mais importante para a propagação da espécie, já que origina a produção de numerosos indivíduos e, particularmente, porque o ciclo assexual se repete várias vezes por ano, ao passo que o estágio sexual de muitos fungos se apresenta anualmente, uma vez só.

Às vezes, se define reprodução assexual como a produção não sexual de células reprodutivas especializadas, tais como os esporos. Uma definição mais ampla deve incluir, também, qualquer método de propagação que dê novos indivíduos.

Segundo este conceito, os modos de reprodução assexual que comumente se encontra nos fungos podem ser resumidos como se segue: a) fragmentação do talo e crescimento de um novo indivíduo a partir de cada fragmento; b) fissão de células somáticas em células filhas; c) gemação de células somáticas ou esporos, com produção de um novo indivíduo a partir de cada gema; d) produção de esporos, cada um dos quais formando um tubo germinativo que iniciará um novo micélio.

A forma mais comum de reprodução assexual que apresentam os fungos é através de esporos. Os esporos variam em cores, desde hialino até verdes, amarelos, alaranjados, roxos, pretos, etc; em tamanho; em forma, desde globosos a ovais, aciculares até helicoidais; em número de células etc. Alguns fungos produzem somente um tipo de esporo; outros, vários.

4.2 - Reprodução sexual

A reprodução sexual dos fungos, assim como de outros organismos vivos, requer a união de estruturas especializadas (micélio no caso dos fungos) com-

patíveis.

O processo de reprodução sexual típico se realiza em três fases distintas. A primeira destas é a plasmogamia, que consiste na fusão da massa citoplasmática sem fusão nuclear. A fusão dos núcleos reunidos pela plasmogamia, chama-se cariogamia e constitui a segunda fase da reprodução sexual. Nos fungos inferiores, a cariogamia segue quase imediatamente à plasmogamia, enquanto nos fungos superiores estão separadas em tempo e espaço.

Depois da cariogamia, segue-se a meiose. Resumindo, temos: a plasmogamia reúne em uma célula dois núcleos haplóides; a cariogamia os reúne em um núcleo diplóide (núcleo zigótico) e a meiose restabelece a condição haplóide, nos quatro núcleos que resultam dela.

Algumas espécies produzem, em cada talo, órgãos sexuais masculinos e femininos e são chamados hermafroditas. Outras, apresentam órgãos masculinos e femininos em talos diferentes e denomina-se dióicas. Existem algumas espécies de fungos que não produzem órgãos sexuais diferenciados, sendo a função sexual delegada às hifas somáticas.

Os órgãos sexuais dos fungos se chamam gametângios. Estes podem formar células sexuais diferenciadas (gametas) ou conter um ou mais núcleos gaméticos.

Usa-se o termo isogametângio e isogametas, respectivamente, para gametângio ou gametas morfológicamente iguais. Heterogametângio e heterogametas para aqueles morfológicamente diferentes. Neste último caso, o gametângio masculino recebe o nome de anterídio e o feminino de oogônio.

As formas de reprodução sexual mais comuns são:

a) Copulação planogamética - consiste na fusão dos gametas, dos quais pelo menos um é móvel. Os gametas móveis são chamados de planogametas;

b) Contacto de gametângios - em um grande número de fungos os gametas femininos e masculinos são produzidos em protoplastos não diferenciados, cada um constituído de um núcleo. Estes gametas são transferidos de um gametângio para outro através de contacto entre eles, quando os núcleos gaméticos masculinos migram para o gametângio feminino.

c) Copulação de gametângios - este processo se caracteriza pela fusão de todo o conteúdo dos dois gametângios em contacto. Pode se dar através da passagem de todo o conteúdo de um gametângio para outro ou através da fusão das células gametângicas em uma só contendo os dois protoplastos.

d) Espermatização - alguns fungos produzem numerosas estruturas masculinas pequenas, unicelulares, parecidas com esporos e que se chamam esperma-

cios. Estes são transportados por insetos, ventos, água, etc, aos gametângios femininos, às hifas receptivas especiais ou às hifas somáticas, às quais se aderem. No ponto de contacto, forma-se um poro por onde o conteúdo do espermatócio passa a estrutura particular, que atua como órgão feminino.

e) Somatogamia - em alguns fungos superiores não se forma nenhum órgão sexual e então as células somáticas desempenham esta função.

Quanto à compatibilidade sexual, os fungos podem ser homotáticos ou heterotáticos.

Homotáticos são aqueles nos quais cada talo é sexualmente autofértil e pode, portanto, reproduzir-se sexualmente sem a ajuda de outro talo.

Heterotáticos são aqueles nos quais cada talo é sexualmente auto-estéril e requer para a reprodução sexual o auxílio de outro talo compatível, de diferente tipo de emparelhamento. Neste grupo, a compatibilidade sexual é governada por um ou mais pares de fatores genéticos, inexistentes nos homotáticos.

5 - CLASSIFICAÇÃO

Vários sistemas têm sido propostos para a classificação sistemática dos fungos. Neste capítulo, procurando adotar uma classificação simplificada, trata-se especificamente dos fungos verdadeiros (Eumicetos), que são separados em nove classes, com base na sua morfologia e diferentes métodos de reprodução. Apenas sobre o aspecto didático, vamos aqui manter a antiga denominação de Ficomicetos, para as seis classes atualmente consideradas para estes fungos (Chytridiomycetes, Hyphochytridiomycetes, Oomycetes, Plasmodiophoromycetes, Zigomicetes e Trichomicetes).

Deste modo, baseado no tipo de micélio e, principalmente, na origem sexuada ou assexuada dos esporos, os fungos podem ser agrupados em quatro classes (Figura 1).

a) Micélio geralmente não septado (cenocítico).

Ficomicetos - reprodução sexual por oósporos ou zigósporos e assexual por esporos endógenos (esporangiósporos ou zoósporos).

b) Micélio septado.

Ascomicetos - reprodução sexual por esporos endógenos (ascósporos).

Basidiomicetos - reprodução sexual por esporos exógenos (basidiosporos).

Deuteromicetos - (Fungos Imperfeitos) - esporos sexuais ausentes.

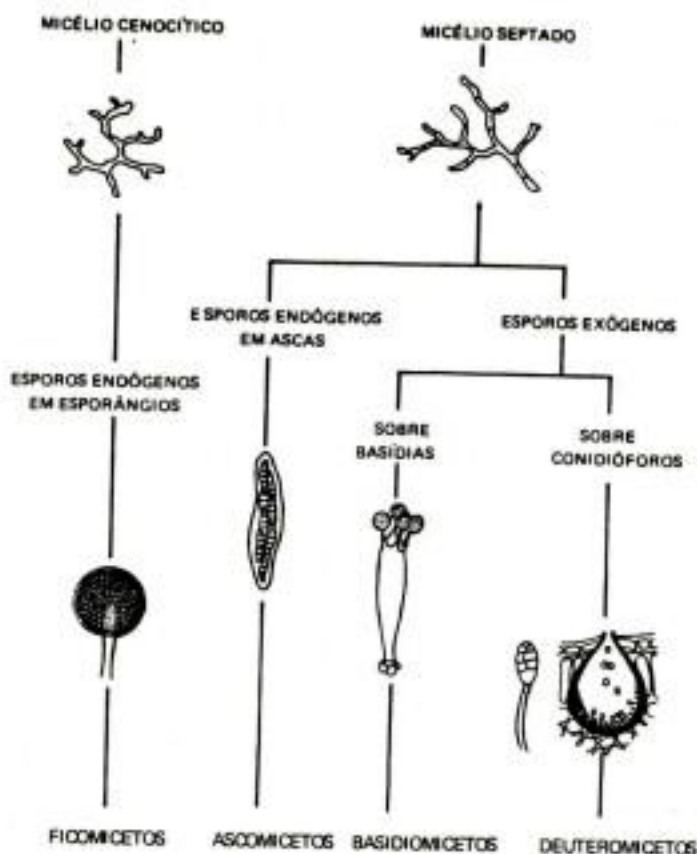


Figura 1. Chave simplificada das classes de Fungos Verdadeiros. (Adaptada de SILVEIRA, 1968).

Inclui as formas que apresentam apenas reprodução assexual ou estádios imperfeitos das classes Ascomycetos e Basidiomycetos. Os esporos assexuais dos Fungos Imperfeitos são denominados conídios.

6 - FICOMICETOS

6.1 - Introdução

A classe dos Ficomycetos é formada principalmente por fungos, cujo

habitat natural é a água, onde, como saprófitas ou parasitas, constituem-se nos mais importantes dos microrganismos aquáticos. Alguns são parasitas em plantas superiores, outros causam doenças em peixes e outros, ainda, são parasitas do homem. Outras espécies simplesmente são saprófitas, sendo encontradas nos mais variados substratos: ramos, celulose, quitina, pólen, madeira etc.

6.2 - Características gerais

Os Ficomicetos apresentam sempre três características comuns:

a) micélio cenocítico, ou seja, micélio multinucleado e sem septos. Pode ser, entre as espécies mais primitivas, reduzido a simples talo ou, como nas mais evoluídas, ser ramificado de crescimento vigoroso e modificado em estruturas complexas e especializadas;

b) esporângios, que são órgãos de reprodução assexuada, onde são formados endogenamente os esporos assexuais;

c) esporos de resistência ou de dormência (oosporos ou zigosporos), resultantes do processo sexual. Em certos casos, podemos encontrar micélio septado, quando as hifas são velhas e já se processou a reprodução sexual, pois, nesses casos, os órgãos sexuais podem ser delimitados.

6.3 - Reprodução

Reprodução assexuada

A reprodução assexuada nos Ficomicetos pode se processar por: a) hifas, que são capazes de reproduzirem o talo; b) gemas (alguns autores chamam-nas de conídios), que são estruturas somáticas de resistência, capazes de reproduzir vegetativamente a espécie; c) esporângios, que se constituem na forma mais típica de reprodução assexuada dos Ficomicetos. (Figura 2).

O esporângio é um órgão em forma de saco, de paredes delgadas, resultante da diferenciação de hifas vegetativas, onde se formam os esporos assexuais dos Ficomicetos. No interior dos esporângios, pode haver a formação de dois tipos de esporos (dependendo da espécie): (a) esporos móveis, flagelados, chamados zoosporos e (b) esporos desprovidos de movimento, sem flagelos, denominados aplanosporos ou esporangiosporos (Figura 2). Em certas condições, os esporângios assumem a função de esporos, germinando diretamente.

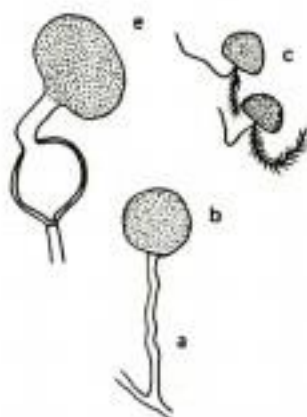
A reprodução assexuada típica entre os Ficomicetos merece atenções especiais. Isto porque os estudos modernos indicam que as suas características



1. PERONOSPORA



2. PHYTOPHTHORA



3. PYTHIUM



4. RHIZOPUS

Figura 2. Alguns Ficomycetos importantes: a) esporangioforo; b) esporângio; c) zoosporo; d) aplanosporo; e) vesícula. (Adaptado de SILVEIRA, 1968).

servem como indicações das relações filogenéticas da classe dos Ficomícetos. São aceitos os seguintes tipos de zoósporos: uniflagelado anterior; uniflagelado posterior; biflagelado desigual; biflagelado anterior, piriforme; biflagelado posterior, reniforme e sem flagelos (aplanosporos).

Quando flagelados, os zoósporos podem se movimentar livremente na água, por espaço de tempo variável; esse movimento se processa em órbita circular, linha reta ou espiral com rotação sobre seu eixo. Raramente se movimentam para trás.

Reprodução sexual

A reprodução sexual se processa sempre através de gametângios, que são estruturas portadoras dos núcleo-gametas. A plasmogamia e a cariogamia podem se manifestar através de: cópula planogamética, contato entre gametângios e cópula entre gametângios.

Os esporos originados sexualmente por isogamia ou heterogamia, oosporos ou zigosporos, são também conhecidos como esporos de repouso ou "ovos de inverno". Eles têm por finalidade resistirem às condições adversas do meio e, por isso, possuem uma membrana notavelmente espessa, como também são ricos em reservas nutritivas.

6.4 - Classificação

Entre os diversos sistemas propostos, vamos destacar o de ALEXOPOULOS (1962), que abandona o emprego do termo PHYCOMYCETE e eleva ao nível de classe algumas das ordens da classificação antiga. Deste modo, os fungos, antes enquadrados entre os Ficomícetos, forma colocados em seis classes diferentes, como pode ser observado no Quadro 1.

6.5 - Ficomícetos em sementes

Algumas espécies, principalmente de Oomycetes, são consideradas importantes em sementes, sendo por elas transmitidas. Os principais ficomícetos citados em associação às sementes de várias culturas, segundo NEERGAARD (1977) e RICHARDSON (1979), são relacionados a seguir em suas respectivas classes e ordens.

Quadro 1. Classificação dos fungos verdadeiros. Chave simplificada para os Ficomicetos, segundo ALEXOPOULOS (1962)

Divisão	Classe	Ordem
Eumicetes	Chytridiomycetes	Chytridiales ⁽¹⁾ Blastocladales Monoblepharidales
	Hyphochytridiomycetes	Hyphochytridiales
	Oomycetes	Saprolegniales Leptomitales Lagenidiales Peronosporales ⁽¹⁾
	Plasmodiophoromycetes	Plasmodiophorales ⁽¹⁾
	Zygomycetes	Mucorales ⁽¹⁾ Entomophthorales Zoopagales
	Trichomycetes	Amoebidiales Eccrinales Harpellales Asellariales Genistellales

⁽¹⁾ Ordens onde ocorrem espécies importantes em sementes.

6.5.1. Chytridiomycetes

Inclui formas com o micélio verdadeiro ou não, sempre apresentando células móveis uniflageladas, com flagelo liso e posterior.

Espécie citada *Physoderma maydis*, da ordem Chytridiales.

6.5.2. Plasmodiophoromycetes

Tem a fase somática representada por um plasmódio, apresentando a reprodução assexual com a formação de esporângio semelhante ao encontrado em outros ficomicetos. As células móveis são biflageladas, com dois flagelos li-

sos, de tamanhos diferentes e de inserção posterior.

Espécie citada *Plasmodiophora brassicae*, da ordem Plasmodiopharales.

6.5.3. Oomycetes

Fungos que, usualmente, apresentam zoosporos biflagelados, sendo um dos flagelos do tipo liso e o outro revestido por pequenas cerdas. Em algumas espécies patogênicas de Peronosporales, o esporângio funciona como um conídio, germinando por um tubo germinativo. A reprodução sexual é por oosporos, mas não ocorre em algumas espécies. A transmissão por sementes ocorre em algumas espécies da ordem Peronosporales, dentro de três famílias Albuginaceae (*Albugo*), Peronosporaceae (*Peronospora*, *Plasmopora*, *Sclerospora*) e Pythiaceae (*Pythium*).

Os gêneros e espécies associados às sementes são:

Albugo tragopogonis.

Bremia (*B. lactuae*).

Peronosclerospora -espécies: *P. maydis*, *P. sorghi* (antes enquadradas no gênero *Sclerospora*).

Peronospora (Figura 2.1) -espécies: *P. arborescens*, *P. farinosa*, *P. manshurica*, *P. parasitica*, *P. tabacina*, *P. viciae* (*P. pisi*).

Phytophthora (Figura 2.2) -espécies: *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. infestans*, *P. megasperma* var. *sojae*, *P. nicotianae* var. *parasitica*, *P. nicotianae* var. *sesami*, *P. phaseoli*.

Plasmopara (*P. halstedii*)

Pythium (Figura 2.3) - (*P. debaryanum*).

Sclerophthora (*S. macrospora*).

Sclerospora (*S. graminicola*).

6.5.4. Zygomycetes

Fungos de micélio cenocítico, cuja reprodução assexual se dá, ou por esporângios, onde são produzidos aplanósporos (esporos não móveis), ou por conídios, e cuja reprodução sexual se processa por copulação de gametângios e formação de um zigoto denominado zigosporo.

Gêneros e espécies citadas, pertencentes à ordem Mucorales:

Mucor sp. - fungo de armazenamento.

Rhizopus (Figura 2.4) - espécies: *R. arrhizus*, *R. nodosus* (*R. oryzae*), *R. stolonifer* (*R. nigricans*).

7. ASCOMICETOS

7.1 - Introdução

Constituem a classe mais numerosa, com cerca de 25.000 espécies, o que corresponde, aproximadamente, à metade dos fungos já descritos. O talo, geralmente bem desenvolvido, é constituído de trama miceliana, muitas vezes com forma definida. Os representantes dos extremos da classificação têm pouco em comum, exceto a asca. Na classe, encontram-se desde representantes unicelulares, até aqueles com estruturas complexas, tanto na forma como na função. As leveduras são praticamente desprovidas de micélio. A fase vegetativa entre os fungos atinge o seu desenvolvimento mais acentuado nos representantes desta classe.

7.2 - Características gerais

A classe dos Ascomicetos se caracteriza por:

- a) existência de micélio bem desenvolvido, ramificado e septado;
- b) produção de conídios na fase assexual;
- c) ocorrência de esporos sexuais endógenos (ascosporos) em estruturas fechadas denominadas ascas.

7.3 - Fase vegetativa

Os ascomicetos apresentam trama miceliana de características variáveis; às vezes, contonosa, compacta; outras vezes, dura, resistente. Variam, ainda, desde estruturas microscópicas, até muito grandes, conspícuas, com coloração variável.

Em geral, o micélio origina da germinação de esporos; raramente, se multiplica por fragmentação; pode ser anual ou perene, desenvolvendo-se rapidamente em condições favoráveis.

Em determinadas condições, o micélio pode formar clamidosporos, rizomorfos, escleródios, haustórios, pletênquimas e pseudoparênquimas diversos.

7.4 - Estruturas de reprodução

As ascas, estruturas típicas dos Ascomicetos, são formadas por uma hifa de origem sexual (hifa ascógena), que cresce, tomando, na maioria das vezes, o formato de um saco claviforme, no interior do qual originam-se os ascosporos (esporos sexuais endógenos).

As ascas podem ser clavadas, elíticas, esféricas, ovais, com pedicelo ou sésseis. Possuem, geralmente, oito ascosporos, e, excepcionalmente, 2,4,16, 32,64, ou mais.

A liberação dos ascosporos pode se dar através de opérculos na extremidade da asca ou por rompimento da sua parede; neste caso, o rompimento é devido ao aumento da pressão osmótica no interior da asca.

As ascas podem se apresentar isoladas (Figura 3.1); podem ser produzidas em camadas expostas sobre a superfície do substrato, ou ainda, formadas no interior de corpos de frutificação (ascocarpos) esparsos, gregários ou cespitosos (quando em tufos salientes da superfície do substrato) e livres ou estromáticos (corpos de frutificação imersos ou erupentes num estroma).

Existem três tipos de ascocarpos: apotécio, peritécio e cleitotécio.

Apotécio - corpo de frutificação completamente aberto, em forma de disco ou taça, que apresenta na maturidade o himênio (camada fértil onde estão as ascas) totalmente ou parcialmente exposto (Figura 4.2).

Peritécio - corpo de frutificação fechado com ostíolo, contendo as ascas no seu interior (Figura 4.1 e 4.2).

Cleitotécio - corpo de frutificação completamente fechado (peritécio sem ostíolo) (Figura 3.2).

7.5 - Patogenicidade

Os Ascomicetos apresentam-se em todos os estádios, desde simples saprófitas, até parasitas obrigados. Os saprófitas encontram seu habitat natural em muitos substratos orgânicos: solo, detritos vegetais em decomposição e restos animais. Os parasitas facultativos geralmente desenvolvem sua fase vegetativa sobre o hospedeiro, tornando-se saprófitas durante a reprodução sexual. Os parasitas obrigados necessitam de hospedeiro vivo para completar seu ciclo: seu desenvolvimento está em completa dependência da existência do hospedeiro e da suscetibilidade deste.

7.6 - Reprodução

Nesta classe, é muito comum a produção de esporos assexuais em alternância com os de origem sexual. Normalmente, em condições favoráveis de desenvolvimento vegetativo, há produção abundante de esporos assexuais; quando as condições se tornam desfavoráveis, há produção de ascósporos (esporos de origem sexual).

Reprodução assexuada

Dependendo das espécies, a reprodução assexual é bastante variada, podendo desenvolver-se por: brotamento (Figura 3.1.a) e cissiparidade (nas leveduras e alguns outros), oídios, artrosporos e, principalmente, conídios.

A reprodução assexual é, geralmente, mais abundante em condições favoráveis de desenvolvimento. A frequência e a quantidade de esporos produzidos dependem das condições ambientes.

Em geral, os esporos produzidos são pouco resistentes a condições extremas e têm função tipicamente de disseminação da espécie.

Os conídios (esporos assexuais exógenos) são produzidos em estruturas especiais, os conidióforos, que se apresentam livres ou reunidos em sinêmios ou esporodóquios. Certos representantes produzem conídios em corpos de frutificação abertos (acêrvulos) ou fechados com ostíolo (picnídios).

Os conidióforos têm forma e tamanho variáveis. Os conídios apresentam grande variação em forma, tamanho, número de células, cor, apêndices, etc. Maiores detalhes sobre a reprodução assexuada de Ascomicetos serão vistos nos Fungos Imperfeitos (Deuteromicetos).

Reprodução sexuada

A produção de esporos sexuais (ascósporos) é observada em todos os representantes da classe. O talo pode se apresentar do tipo homotático ou heterotático, dependendo da característica da espécie envolvida.

Normalmente, há diferenciação morfológica e funcional de gametângios: gameta masculino produzido no anterídio e gameta feminino no ascogônio. Anterídio e ascogônio, no geral, são bem distintos na forma, tamanho e número de células. Em certos casos, há abortamento de um dos órgãos sexuais, desenvolvendo-se o processo sexual por partenogênese.

O processo sexual entre os Ascomicetos, geralmente, desenvolve-se em uma das maneiras seguintes: a) conjugação de gametângios (mais comum); b) copu-

lação de gametângios (processo comumente encontrado em leveduras); c) espermatização; d) somatogamia.

7.7 - Classificação

O Quadro 2 apresenta a chave simplificada de classificação dos Ascomicetos, segundo ALEXOPOULOS (1962).

As características das três subclasses dos Ascomicetos são descritas a seguir.

- | | |
|--|----------------------------|
| a) Corpo de frutificação ausente: | |
| Ascas originadas diretamente do zigoto | <u>Hemiascomycetidae</u> |
| b) Corpo de frutificação presente: | |
| b.1. Ascas unitunicadas, lóculos dotados de paredes próprias | <u>Euscomycetidae</u> |
| b.2. Ascas bitunicadas, lóculos sem paredes próprias (em ascostroma) | <u>Loculoascomycetidae</u> |

Na subclasse Hemiascomycetidae estão incluídas duas ordens, entre as quais encontram-se espécies de grande importância econômica, como as Leveduras (Ordem Endomycetales).

A subclasse Euscomycetidae, por sua vez, é subdividida em quatro séries.

- | | |
|---|--------------------------|
| b.1.1. Ascas produzidas em diferentes níveis no interior de ascocarpos fechados (cleistotécio): Himênio ausente | <u>Plectomicetos</u> |
| b.1.2. Ascas produzidas em himênio ou em tufos: | |
| b.1.2.1. Ascocarpo do tipo peritécio | <u>Pirenomicetos</u> |
| b.1.2.2. Ascocarpo do tipo apotécio | <u>Discomicetos</u> |
| b.1.2.3. Ascocarpo do tipo peritécio. Ectoparasita de insetos e aracnídeos | <u>Laboulbenomicetos</u> |

Essas quatro séries apresentam 17 ordens, com grande número de famílias e espécies. Entre elas, são encontradas muitas espécies fitopatogênicas e importantes para a Patologia de Sementes (Quadro 2).

Quadro 2. Classificação dos fungos verdadeiros - Chave simplificada para os Ascomycetos, segundo ALEXOPOULOS (1962)

Classe	Subclasse	Série	Ordem
Ascomycetes	Hemiascomycetidae		Endomycetales (1)
			Taphrinales
	Euascomycetidae	Plectomycetes	Eurotiales (1)
			Microascales
			Onygenales
		Pyrenomycetes	Erysiphales (1)
			Meliolales
			Chaetomiales
			Sphaeriales (1)
			Diaporthales
			Hypocreales (1)
			Clavicipitales (1)
			Coronophorales
			Coryneliales
		Discomycetes	Ostropales
			Helotiales (1)
			Pezizales
			Tuberales
		Laboulbenniomyces	Laboulbeniales
	Loculoascomycetidae		Myriangiales (1)
			Pleosporales (1)
			Hysteriales
			Dothidiales (1)
			Capnodiales
			Mycrothyriales

(1) Ordens onde se encontram espécies importantes em sementes.

7.8 - Ascomicetos em sementes

Os fungos são freqüentemente encontrados em sementes, em sua forma imperfeita e só raramente sua forma perfeita é detectada. Por isso, as referências dentro de Fungos Imperfeitos apresentam-se com maior destaque do que na respectiva forma perfeita. Os principais gêneros e espécies de Ascomicetos associados às sementes, segundo NEERGAARD (1977) e RICHARDSON (1979), serão relacionados a seguir, dentro de sua classificação a nível de subclasse, série e ordem.

7.8.1 - Hemiascomicetos

Esta subclasse inclui as leveduras que formam ascósporos, nas quais uma célula (zigoto) é transformada diretamente em asca.

Espécie citada: *Nematospora coryli* (*N. phaseoli*) da ordem Endomycetales (Figura 3.1).

7.8.2 - Euscomicetos

I - Série Plectonicetos (ascas evanescentes em cleistotécios):

a) Ordem Eurotiales: incluindo o gênero *Eurotium*, forma perfeita de *Aspergillus* (Figura 3.2).

II - Série Pirenomicetos (ascas usualmente persistentes em peritécios):

a) Ordem Erysiphales: incluindo *Erysiphe pisi*, parasita obrigada, causador do oídio.

b) Ordem Sphaeriales: incluindo os seguintes gêneros e espécies:

Chaetomium globosum (Figura 3.3);

Diaporthe (*D. phaseolorum*) - forma perfeita de *Phomopsis*;

Gaeumannomyces graminis (*Ophiobolus graminis*) - forma perfeita de *Cephalosporium graminis*;

Glomerella (Figura 4.1) - forma perfeita de *Colletotrichum*; fungos causadores de antracnose (*G. cingulata* - forma imperfeita de *G. gloeosporioides*; *G. gossypii* - f. imp.: *C. gossypii*; *G. glycines* - f. imp.: *C. dematium* f. sp. *truncatum*; *G. graminicola* - f. imp.: *C. graminicola*;

Khushkia oryzae - forma imperfeita de *Nigrospora oryzae*.

c) Ordem Hypocreales - incluindo os seguintes gêneros e espécies:

Gibberella - forma perfeita de algumas espécies de *Fusarium* (*G. fujikuroi* -

forma imperfeita: *P.moniliiforme*; *G.intricans* - f. imp.: *F.equiseti*;
G.seae - f. imp.: *F.graminearum*);

Gríphosphaeria nivalis - forma perfeita de *Fusarium nivale*;

Nectria haematococca (Figura 4.2) - forma perfeita de *Fusarium solani*.

d) Ordem Clavicipitales - incluindo o gênero *Claviceps*, causador do "ergot" (*C.gigantea*, *C.microcephala*, *C.papali*, *C.phalaridis*, *C.purpurea*).

III - Série Discomicetos (ascas em ascocarpos abertos-apotécios):

a) Ordem Heteoliales - incluindo os seguintes gêneros e espécies:

Gloeotinia temulenta - em sementes de Gramíneas;

Sclerotinia (Figura 4.3) (*S.sclerotiorum*, *S.trifoliorum*, *S.minor*).

7.8.3 - Loculoascomicetos

a) Ordem Myriangiales - incluindo o gênero *Elsione* (*E.phaseoli*) forma perfeita de *Sphaceloma* (fungos causadores de verrugose).

b) Ordem Pleosporales - incluindo os seguintes gêneros e espécies:

Cochliobolus - forma perfeita de espécies de *Curvularia* e *Drechslera* (*C.geniculatus* - forma imperfeita: *Curvularia geniculata*; *C.lunatus* - f. imp.: *Curvularia lunata*; *C.heterostrophus* - f. imp.: *Drechslera maydis*; *C.miyabeanus* - f. imp.: *D.oryzae*; *C.sativus* - f. imp.: *D.sorokiniana*);

Didymella - forma perfeita de algumas espécies de *Phoma* (*D.bryoniae* - forma imperfeita: *P.cucurbitacearum*; *D.lycopersici* f. imp.: *P.lycopersici*);

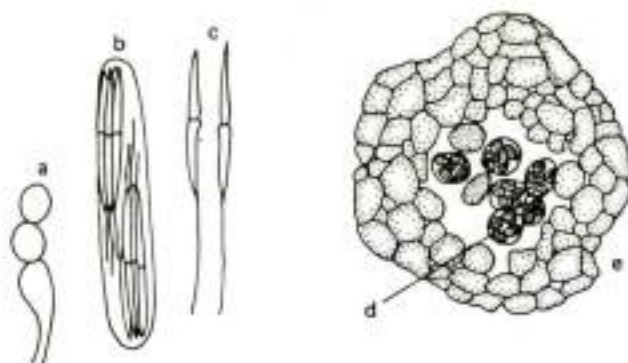
Leptosphaeria - forma perfeita de espécies de *Septoria* e *Phoma* (*L.avenaria* - forma imperfeita: *Septoria avenae*; *L.nodorum* f. imp.: *S.nodorum*; *L.maculans* - f. imp.: *Phoma lingam*).

Physalospora - forma perfeita de algumas espécies de *Diplodia* (*P.rhodina* - f. imp.: *D.gossypina*; *P.zicola* - f. imp.: *D.frumenti*).

Pleospora - forma perfeita de espécies de *Phoma* e *Stemphylium* (*P.björlingii* - forma imperfeita: *Phoma betae*; *P.herbarum* - f. imp.: *Stemphylium botryosum*).

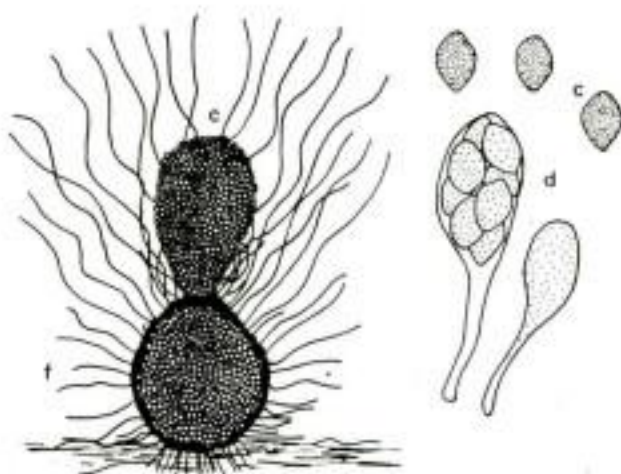
Pyrenospora - forma perfeita de algumas espécies de *Drechslera* (*P.avenae* - forma imperfeita: *D.avenae*; *P.graminea* - f. imp.: *D.graminea*; *P.tritici* - *repentis* - f. imp.: *D.tritici-repentis*).

Trichometasphaeria turcica - forma perfeita de *Drechslera turcica*.



1. NEMATOSPORA

2. EUROTIIUM



3. CHAETOMIUM

Figura 3. Alguns Ascomicetos: a) blastosporos; b) asca nua; c) ascosporos; d) ascas eanescenyes com ascosporos; e) cleistotécio; f) peritécio. (Redesenhado de VON ARX, 1970).

c) Ordem Dothideales - incluindo os seguintes gêneros e espécies: *Guignardia* (*G. fulvida* - forma imperfeita: *Aureobasidium lini*; *G. robiniae*), *Myrocyclus* - forma perfeita de espécies de *Aposphaeria* e *Fusicladium* (*M. ulai* - forma imperfeita: *Aposphaeria ulai* e *Fusicladium macrosporum*);

Mycosphaerella - forma perfeita de espécies de *Ramularia*, *Cercospora*, *Phyllosticta*, *Ascochyta*, *Septoria* e outras. (*M. arachidis* - forma imperfeita: *Cercospora arachidicola*; *M. berkeleyi* - f. imp.: *Cercosporidium personatum*; *M. phaseolicola* - f. imp.: *Cercospora sojae*; *M. rabiei* - f. imp.: *Ascochyta rabiei*; *M. pinodes* - f. imp.: *Ascochyta pinodes*; *M. linorum* - f. imp.: *Septoria linicola*).

Sphaerulina oryzae - forma perfeita de *Cercospora oryzae*.

8 - BASIDIOMICETOS

8.1 - Introdução

É considerada a classe mais evoluída dos fungos e provavelmente derivada dos Ascomicetos. Os fungos pertencentes a ela ocorrem em substratos variados como solo, matéria orgânica em decomposição, madeira e plantas vivas, tanto como saprófitas ou como parasitas.

É uma classe de grande importância econômica, pois aqui se encontram as ferrugens (Uredinales) e os carvões (Ustilaginales), que causam doenças em plantas superiores; fungos destruidores de madeira, como as "Orelhas-de-pau" e, também, os fungos comestíveis, caso do "champignon" (*Agaricus campestris*).

8.2 - Características gerais

Os Basidiomicetos apresentam as seguintes características principais:

- a) são fungos de micélio septado, secundário ou dicariótico, usualmente originado de micélio primário;
- b) reproduzem-se por esporos sexuais exógenos (basidiosporos), formados sobre uma hifa especial denominada basídia;
- c) geralmente, formam grampos de conexão (não ocorrem nas ferrugens).

Estruturas somáticas

O micélio da maioria dos Basidiomicetos passa por três estados distintos de desenvolvimento: primário, secundário e terciário, para que o fungo complete seu ciclo de vida. O micélio primário se desenvolve geralmente a par-

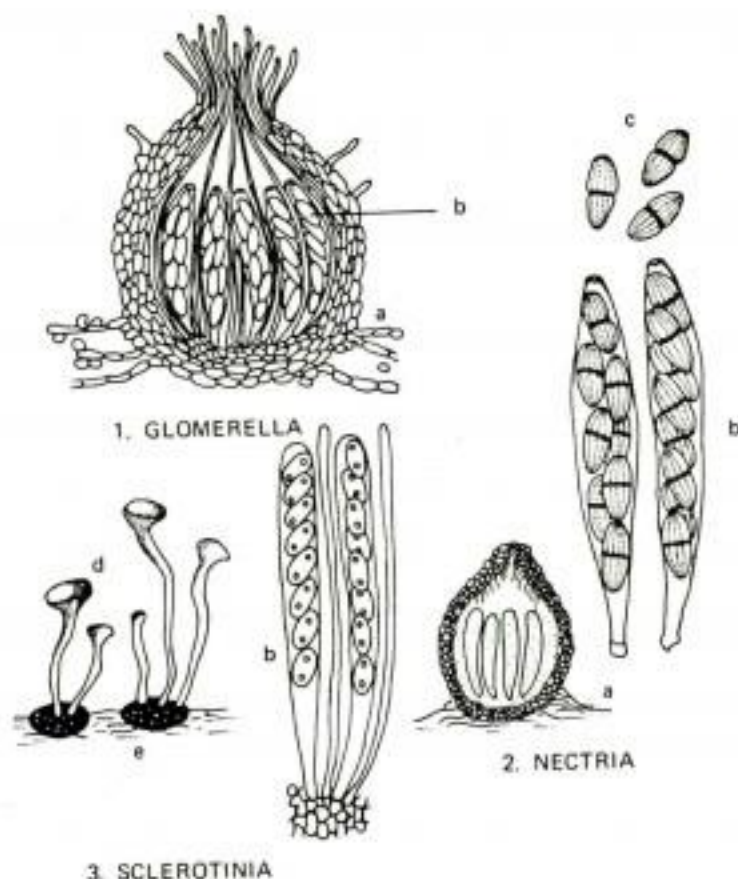


Figura 4. Alguns Ascomicetos: a) peritécio; b) ascas com ascósporos; c) ascósporos; d) apotécio; e) escleródio. (Redesenhado de VON ARX, 1970).

tir da germinação dos basidiosporos. O micélio secundário se origina do micélio primário por somatogamia (fusão dos citoplasmas de células uninucleadas), dando origem a um micélio com células binucleadas. O micélio terciário é formado por modificações do micélio secundário, dando origem aos pseudo-tecidos dos basidiocarpos; as células do micélio terciário são binucleadas, sendo as hifas diferenciadas em generativas, esqueléticas, conjuntivas e outras.

Uma característica típica dos Basidiomicetos é a formação de uma estrutura do micélio denominada grampo de conexão ou ansá, que é um pequeno ca-

nal semicircular que liga duas células adjacentes.

Geralmente associados com os grampos de conexão estão os septos especiais de Basidiomicetos: os septos dolipóricos. O septo dolipórico foi observado em vários Basidiomicetos e em *Rhizoctonia* (Deuteromiceto, *Mycelia Sterilia*), o que permitiu a conclusão de que certas formas deste gênero são fases imperfeitas de Basidiomicetos.

Estruturas reprodutivas

As basídias são estruturas especializadas dos Basidiomicetos, onde se processam a cariogamia e a meiose, dando como resultado a formação de esporos sexuais exógenos denominados basidiosporos, que ficam inseridos diretamente sobre sua parede ou sobre extensões afiladas da mesma (esterignas).

A basídia típica (Figura 5.a) pode originar-se diretamente sobre o micélio ou sobre himênio basidiofóro, não sendo encontrada em todos os representantes desta classe. Nos grupos mais rudimentares, a basídia se forma sobre o promicélio ou tubo germinativo resultante da germinação de células de descanso ou esporos especiais, denominados clamidiosporos (Figuras 5.b,c) e teliosporos (Figura 5.d) ou, ainda, de uma célula especial denominada probasídia.

Nos Basidiomicetos superiores, as basídias típicas são produzidas em corpos frutíferos altamente organizados, de vários tipos, denominados basidio-carpos. Nestes, as basídias estão tipicamente dispostas em camadas férteis, de nomiadas himênios.

8.3 - Reprodução

Reprodução assexuada

É encontrada em um número relativamente pequeno de espécies, como as ferrugens, os carvões e algumas Tremellales. No entanto, o fato de serem poucas as espécies que a apresentam, não significa que tenha pouca importância, pois, em muitos casos, é decisiva na reprodução do fungo. Nas ferrugens, por exemplo, é pela reprodução assexual que se dá a disseminação dos seus agentes causais, através dos uredosporos formados. Com relação aos carvões, a reprodução assexual por brotamento é de grande significação no ciclo biológico, pois a somatogamia se dará por fusão de dois esporídios.

A reprodução assexual dos Basidiomicetos pode se dar por: fragmentação do micélio, conidiosporos (Tremella), uredosporos (ferrugens), brotamento (carvões), blastosporos, artrosporos e oidiosporos ou espermácios.

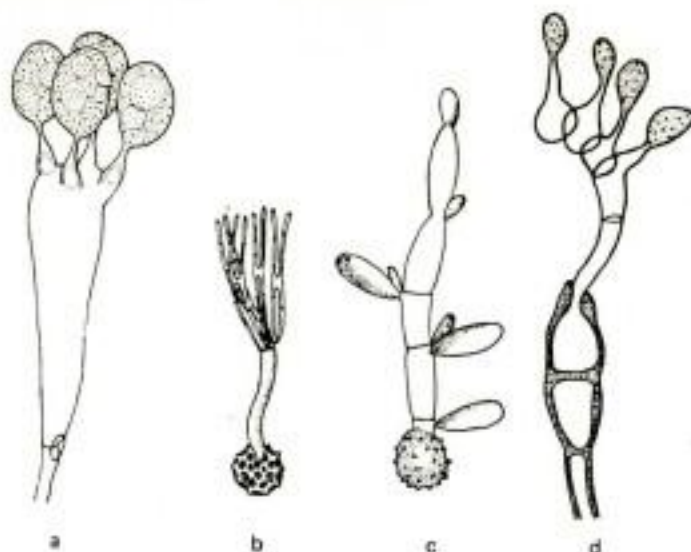


Figura 5. Tipos de basídias: a) basídia típica, com basídiosporos (Homobasidiomicetos); b) clamidosporo de *Helletia caries* (O.Ustilaginales) germinando, com esporídios; c) clamidosporo de *Ustilago avenae* (O.Ustilaginales) germinando, com esporídios; d) teliospore de *Puccinia graminis* (O.Uredinales) germinando, com basídiosporos. (Adaptado de EBSTER, 1970)

Reprodução sexuada

Com exceção das ferrugens, não existem órgãos de reprodução sexuada dentro dos Basidiomicetos. A plasmogamia se dá sempre por sonatogamia ou espermataização, através de fusão de hifas diferentes ou de espermácios e hifas receptivas.

Após a plasmogamia, origina-se o micélio secundário dicariótico (infectivo nos carvões), com grampes de conexão. A maior parte da fase vegetativa dos Basidiomicetos é através de micélio secundário.

A cariogamia se dá no interior da basídia, com a fusão de dois núcleos A e B, sendo logo seguida pela meiose, originando quatro núcleos haplóides, formando os basidiosporos.

Quase todas as espécies desta classe são heterotáticas, ou seja, exigem biótipos morfológicamente iguais, mas fisiologicamente diferentes, para que a cariogamia possa se efetuar.

8.4 - Classificação

O Quadro 3 apresenta a chave simplificada de classificação dos Basidiomicetos, segundo ALEXOPOULOS (1962).

De acordo, principalmente, com as características das basídias, os Basidiomicetos são divididos em duas subclasses:

- a) Heterobasidiomycetidae: basídia septada ou profundamente dividida, ou consistindo de um teliosporo que germina formando um promicélio.
- b) Homobasidiomycetidae: basídias simples, típicas (Figura 5.a).

Os Heterobasidiomicetos são divididos em três ordens: Tremellales, Uredinales e Ustilaginales. Os Homobasidiomicetos são divididos em duas séries: Hymenomycetes e Gasteromycetes, além da ordem Ecobadialis (Quadro 3).

Dentro da subclasse Heterobasidiomycetidae, estão os Basidiomicetos mais importantes para a Fitopatologia: as ferrugens (ordem Uredinales) e os carvões (ordem Ustilaginales). A distinção taxonômica entre estas duas pode ser feita como se segue:

- Subclasse.....Heterobasidiomycetidae
- a.1. Basidiocarpos pobremente desenvolvidos.
 - a.1.1. Teliosporos produzidos terminalmente sobre hifas (Figura 5.d)....
.....Ordem Uredinales
 - a.1.2. Teliosporos formados como clamidosporos (Figura 5.b,c).....
.....Ordem Ustilaginales

As ferrugens (Uredinales) possuem ciclos de vida bastante complicados, consistindo de quatro a cinco estágios reprodutivos diferentes. Nem todas as ferrugens possuem ciclos de vida com os cinco estágios. Aquelas que formam todos os estágios são chamadas de ferrugens macrocíclicas ou de ciclo completo. Neste grupo de ferrugens, são formados quatro tipos de esporos.

a) **Picniosporos ou esperâncias** (Estádio 0) - Estruturas masculinas imóveis, uninucleadas, resultantes da infecção de basidiosporos. São produzidos em corpos de frutificação denominados pícnias.

b) **Eciosporos** (Estádio 1) - Esporos binucleados, que se originam da fertilização de hifas receptivas femininas pelos picniosporos. São produzidos em corpos de frutificação denominados écias e normalmente germinam originando

Quadro 3. Classificação dos fungos verdadeiros - Chave simplificada para os Basidiomicetos, segundo ALEXOPOULOS (1962)

Classe	Subclasse	Série	Ordem
BASIDIOMYCETES	Heterobasidiomycetidae		Tremellales
			Uredinales (1)
			Ustilaginales (1)
	Homobasidiomycetidae	Hymenomycetes	Aphylllophorales (1)
			Agaricales (1)
		Gasteromycetes	Hymenogastreales
			Lycoperdales
			Sclerodermatales
			Phallales
			Nidulariales

(1) Ordens onde se encontram espécies importantes em sementes.

uredosporos e teliosporos.

c) **Uredosporos** (Estádio 2) - São esporos assexuais de repetição: binucleados, unicelulares, de parede relativamente fina, hialinos ou coloridos, tendo, às vezes, a superfície coberta com pequenos espinhos e providos de poros germinativos equatoriais. Como os teliosporos, são produzidos em corpos frutíferos denominados soros.

d) **Teliosporos** (Estádio 3) - São esporos de resistência, de parede espessa, nos quais ocorrem a cariogamia e a formação de um promicélio, que dá origem aos basidiosporos (Estádio 4); por isso, são considerados como fase perfeita das ferrugens.

Muitas ferrugens de ciclo incompleto formam apenas uredosporos e teliosporos (Estádio 2 e 3), como as ferrugens do café, do amendoim etc.

Nas Ustilaginales, a reprodução assexual se dá por meio de conídios produzidos tanto em micélio uninucleado, como em micélio binucleado. O **brotamento** é um método muito comum de reprodução assexual nesta ordem, sendo que os basidiosporos e conídios brotam repetidamente, dando elementos leveduriformes. Os teliosporos são as estruturas mais características das Ustilaginales, formando-se de maneira semelhante aos clamidosporos de outros fungos, por isso,

recebendo, muitas vezes, esta denominação de clamidosporos, em vez de teliosporos.

Os carvões não possuem órgãos de reprodução sexuada e nisto também diferem das ferrugens. A plasmogamia pode ocorrer entre quaisquer células compatíveis.

8.5 - Basidiomicetos em sementes

As principais espécies de basidiomicetos consideradas importantes em sementes são enquadradas nas ordens Uredinales (ferrugens) e Ustilaginales (carvões). Os principais gêneros e espécies de basidiomicetos citados em sementes (NEERGAARD, 1977; RICHARDSON, 1979) são relacionados a seguir, dentro das respectivas subclasses, séries e ordens.

8.5.1 - Heterobasidiomicetos

a) Ordem Uredinales - Corresponde às ferrugens e inclui os seguintes gêneros e espécies (em muitas espécies, a transmissão por sementes não está bem estabelecida e definida).

Puccinia - apresentam teliosporos bicelulares (Figura 5.d). Espécies: *P. allii*, *P. antirrhini*, *P. arachidis*, *P. carthami*, *P. graminis*, *P. heterospora* e outras;

Uromyces - apresentam teliosporos com uma célula. Espécies: *U. betae*, *U. viciae-fabae*;

Melampsora - os teliosporos apresentam, normalmente, uma célula (*M. lini*).

b) Ordem Ustilaginales - Corresponde aos carvões e inclui os seguintes gêneros e espécies (especialmente em órgãos florais de Gramíneas e Cyperáceas):

Sphacelotheca (*S. cruenta*, *S. destruens*, *S. reiliana*, *S. sorghi*);

Thecaphora (*T. deformans*, *T. seminis-convolvuli*);

Tolyposporium (*T. bullatum*, *T. ehrenbergii*, *T. hessii*, *T. penicillariae*);

Ustilago - O maior gênero entre os carvões, parasitando, especialmente, Gramíneas (Figura 5.c). Espécies: *U. avenae*, *U. bullata*, *U. crameri*, *U. hordei*, *U. maydis*, *U. nigra*, *U. muda*, *U. striiformis*, *U. tritici*.

Tilletia (Figura 5.b) - (*T. barclayana*, *T. caries*, *T. controversa*, *T. foetida*, *T. triticoideis*).

Urocystis - (*U. agropyri*, *U. occulta*).

8.5.2 - Homobasidiomicetos

a) Ordem Exobasidiales - Correspondendo ao gênero *Exobasidium* (*E. vesicans*).

b) Ordem Aphyllophorales - Da série Hymenomycetes, corresponde a:
Fomes - (*F. annosus*)

Thanatephorus - forma perfeita de *Rhizoctonia*: Espécies: *T. cucumeris* (*Pellicularia filamentosa*) f. imp.; *Rhizoctonia solani*.

Schizophyllum - (*S. commune*).

c) Ordem Agaricales, da série Hymenomycetes, correspondendo a:
Corpinus - (*C. cinereus*)

Marasmius - espécie: *M. perniciosus* (*Crinipellis perniciosus*)

Entre os basidiomicetos, podem ser citados, ainda, gêneros e espécies de fungos imperfeitos que apresentam micélio com grampos de conexão (característicos desta classe), como: *Intersonilia* (*I. pastinaceae*), *Rhizoctonia* (*R. bataticola*, *R. leguminicola*, *R. solani*) e *Sclerotium* (*S. bataticola*, *S. cepivorum*, *S. rolfsii*).

9 - DEUTEROMICETOS

9.1 - Introdução

A classe dos Deuteromicetos ou Fungos Imperfeitos foi criada para enquadrar todas as espécies, nas quais não se conhecia a fase sexual ou perfeita.

Os micologistas acreditam que a maioria dos fungos imperfeitos pertencem à classe dos Ascomicetos ou Basidiomicetos, cuja fase perfeita não foi encontrada ou que perderam a capacidade de produzi-la. Uma vez estabelecida a relação entre a fase imperfeita e a perfeita, automaticamente a espécie deveria ser enquadrada na classe correspondente de fungo perfeito.

Deste modo, poderíamos incluir, aqui, Ficomicetos e Uredinales (ferugens), cuja fase perfeita (oosporo ou teliosporo) não é conhecida. Os micologistas, porém, preferem colocar os Ficomicetos imperfeitos junto com os perfeitos, dada a presença de hifas cenocíticas, característica desta classe de fungos. No caso das Uredinales, como no geral encontramos estruturas assexuais características; as formas imperfeitas, tais como *Aecidium*, *Uredo*, *Peridermium*, são enquadradas diretamente nessa ordem.

9.2 - Características gerais

A classe dos Deuteromicetos pode ser caracterizada por:

- a) existência de micélio septado, bem desenvolvido;
- b) ausência de reprodução sexuada;
- c) reprodução assexuada, em geral, por esporos exógenos (Conídios), formados sobre conidióforos ou no interior de corpos de frutificação.

Muitos fungos imperfeitos têm a fase perfeita bem determinada, mas, na prática, é desejável manter o nome da fase imperfeita, dada a facilidade de identificação. Assim, sempre procuramos os gêneros *Phomopsis*, *Sphaceloma*, *Ramularia*, *Colletotrichum* nos manuais de Fungos Imperfeitos, embora a fase perfeita desses gêneros (Ascomicetos) seja conhecida.

Por outro lado, tem sido demonstrado que fungos pertencendo a famílias diferentes podem apresentar o mesmo tipo de reprodução assexual, em razão da ausência quase total de paralelismo entre o estado conidial e ascógeno. Assim, espécies de *Mycosphaerella* (Ascomicetos) podem ter fase conidial em vários gêneros, tais como *Phyllosticta*, *Ascochyta*, *Ramularia*, *Cercospora*, *Cercosporella* e *Septoria*.

As evidências acumuladas através dos anos levam a maioria dos micologistas a não acreditar na possibilidade de se prever a fase ascógena, com base na fase conidial do fungo.

A distribuição das várias espécies desta classe em gêneros, famílias e ordens é feita sempre com base nas estruturas da fase vegetativa e de reprodução assexual.

9.3 - Fase vegetativa

Os Fungos Imperfeitos apresentam, na fase vegetativa, todas as características apresentadas pelos Ascomicetos e Basidiomicetos, visto que a maioria deve pertencer a estas duas classes.

Em algumas espécies, as transformações do micélio em corpos de resistência assumem importância muito grande para a perpetuação da espécie. As transformações mais comuns são: formação de **cladísporos**, **rizomorfas** e **escleródios**.

9.4 - Sistema reprodutivo

A reprodução assexuada é a maior característica da classe, onde encontramos os mais variados tipos de corpos de frutificação e processos de produção de conídios (não formam esporos sexuais).

Na reprodução dos Deuteromicetos, a hifa fértil recebe o nome de **conidióforo** e o esporo que ela forma é denominado **conídio** (nome dado a esporos de origem assexual).

Os conídios podem ser produzidos em conidióforos livres, **esporodóquios**, **sinêmios** ou **corêmios**, **piciórdios** e **acérvulos**.

Os conidióforos podem ser simples ou ramificados; semelhantes às demais hifas do micélio ou bastante diferentes delas; podem apresentar as mais variadas formas de ramificação e de formação de conídios: Os conidióforos podem, ainda, se agrupar formando esporodóquios e sinêmios.

Os **esporodóquios** são agrupamentos de conidióforos, unidos pela base, formando uma almofada, na extremidade da qual encontramos os conídios.

Os **sinêmios** ou **corêmios** são agrupamentos de conidióforos que se desenvolvem paralelos e eretos, formando um feixe.

Os **piciórdios** são corpos de frutificação globosos e ostiolares (às vezes, semelhantes aos peritécios dos Ascomicetos), que produzem, no seu interior, conídios sobre conidióforos.

Os **acérvulos** são corpos de frutificação achatados, em forma de pires, inicialmente subepidérmicos e depois erupentes, que apresentam as seguintes estruturas: estroma (camada compacta de hifas vegetativas), conidióforos, conídios e, às vezes, setas.

Os conídios podem apresentar as mais variadas formas, cores, número de células e septações, dependendo da espécie (estas características são utilizadas principalmente na separação de famílias, gêneros e espécies desta classe).

9.5 - Classificação

Vários sistemas têm sido propostos para a classificação sistemática dos fungos Imperfeitos. Entre estes, o sistema de classificação de SACCARDO (1882-1931), embora antigo, tem sido muito utilizado pela sua maior simplicidade. Este sistema baseia-se principalmente em: a) tipos de frutificação assexual; b) tipos de conídios, quanto à forma, número de células, septação, orna-

mentação, etc.; c) cor do micélio, conidióforo e conídio.

A primeira característica separa os Deuteromicetos em três ordens: Sphaeropsidales, Melanconiales e Moniliales. Uma quarta ordem, Mycelia Sterilia, inclui os fungos que não formam conídios ou qualquer tipo de célula reprodutiva.

Deste modo, todas as espécies desta classe são agrupadas em quatro ordens (Quadro 4).

a) Sphaeropsidales - Formam conídios em picnídios ou modificações dessa estrutura. É subdividida em quatro famílias: Sphaeropsidaceae (onde se encontram os patógenos mais importantes), Zythiaceae, Leptostromaceae e Excipulaceae.

b) Melanconiales - Formam conídios simples ou em cadeias, frequentemente agregado por substâncias mucilaginosas, em acérvulos. Apresenta apenas a família Melanconiaceae.

c) Moniliales - Formam conídios de várias maneiras: em conidióforos curtos unidos em esporodóquio (Família Tuberculariaceae); em conidióforos longos e eretos unidos em sinêmios (Família Stilbaceae); ou em conidióforos simples, algumas vezes em grupos ou fascículos, mas nunca unidos em esporodóquios ou sinêmios (Famílias Moniliaceae e Dematiaceae). A família Moniliaceae é caracterizada por apresentar conídios e conidióforos hialinos ou levemente pigmentados e a família Dematiaceae, por apresentar conídios ou conidióforos com pigmentação escura.

d) Mycelia sterilia - nunca produzem conídios, propagam-se por meio de hifas ou suas transformações. Vários fungos desta ordem, quando formam estádios perfeitos (sexuais), são enquadrados entre os Basidiomicetos (Ex. *Rhizoctonia* = fase sexual *Pellicularia*).

As famílias destas ordens são divididas em seções como as seguintes: Amerosporae, conídios com uma célula; Dydimaceae, conídios com duas células; Phragmosporae, conídios com várias células, apresentando septos transversais; Dictyosporae, conídios com septos transversais e oblíquos; Scolecosporae, conídios filiformes; Staurosporae, conídios ramificados; Helicosporae, conídios curvos. Os prefixos "Hyalo" e "Phaeo" são adicionados a cada nome da Seção, para indicar, respectivamente, esporos hialinos e com pigmentação escura.

O sistema de classificação adotado por AINSWORTH et al. (1971) e WEBSTER (1970), proposto mais recentemente, baseia-se no modo de desenvolvimento do conídio no conidióforo. O tamanho, a pigmentação e a septação do conídio são

Quadro 4. Classificação dos Fungos Verdadeiros - Chave simplificada para os Deuteromicetos, segundo ALEXOPOULOS (1962)

Classe	Ordem	Família
Deuteromycetes	Sphaeropsidales	Sphaeropsidaceae (1)
		Zythiaceae
		Leptostromaceae
		Excipulaceae
	Melanconiales	Melanconiaceae (1)
	Moniliales	Cryptococcaceae
		Moniliaceae (1)
		Dematiaceae (1)
		Stilbaceae (1)
		Tuberculariaceae (1)
	Mycelia Sterilia	

(1) Famílias onde se encontram espécies importantes em sementes.

características secundárias. Assim, considera os fungos imperfeitos com uma subdivisão dos Eumicetos (sub-divisão Deuteromycotina), sendo composta de três classes: a) Classe Coelomycetes, compreendendo as ordens Melanconiales e Sphaeropsidales; b) Classe Hyphomycetes com a ordem Hyphales ou Moniliales; c) Classe Agonomycetes (Mycelia Sterilia), com a ordem Agonomycetales ou Myceliales.

9.6 - Deuteromicetos em sementes

A maioria dos fungos em sementes são Fungos Imperfeitos "sensu stricto" ou Ascomicetos, que nelas ocorrem em seu estágio sexual. Como consequência, esses últimos são normalmente identificados nas sementes na sua forma imperfeita.

A conexão entre o estágio assexual e sexual, principalmente dos Fungos imperfeitos relacionados aos Ascomicetos, foi apresentada no subitem 7.8, Ascomicetos em sementes.

A seguir, serão relacionados os principais gêneros ou espécies de Deu-

teromicetos associados às sementes (NEERGAARD, 1977; RICHARDSON, 1979), em suas respectivas ordens, famílias e seções.

9.6.1 - Ordem Sphaeropsidales

Fungos que formam conídios em picnídios (Quadro 5), correspondendo a vários gêneros e espécies.

a) Conídios unicelulares hialinos (Hyalosporae):

Leptostroma - (*L.pinastris*);

Macrophoma (*M.araucariae*);

Macrophomina (*M.phaseolina*);

Phoma (Figura 6.1) - espécies: *P.beate*, *P.destructiva*, *P.exigua* (*Ascochyta phaseolorum*), *P.glumarum* (*Phyllosticta glumarum*), *P.herbarum*, *P.lingam*, *P.medicaginis* (*Ascochyta imperfecta*);

Phomopsis (Figura 6.2) - (*P.sojas*, *P.vexans*);

Phyllosticta - (*P.antirrhini*), gênero sob revisão, semelhante a *Phoma* (distinção baseada em órgão, da planta parasitada).

b) Conídios unicelulares pigmentados (Phaeosporae):

Cenothrium (*C.olivaceum*).

c) Conídios com duas células hialino (Hyalodidymae):

Ascochyta (Figura 6.3) - espécies: *A.chenopodii*, *A.fabae*, *A.gossypii*, *A.pinodes*, *A.pisi*;

Diplodia (Figura 6.4) - (*D.lycopersici*) - agora considerado sinônimo de *Discella*.

d) Conídios com três ou mais células, hialino (Hyalophragniae):

Stagonospora (Figura 7.2) - (*S.maliloti*).

e) Conídios filiformes com uma a muitas células (Scolecosporae):

Septoria (Figura 7.1) - espécies: *S.apicicola* (*S.apii*), *S.avenae*, *S.glycines*, *S.linicola*, *S.lycopersici*, *S.nodorum*, *S.petroselinii*, *S.pisi*, *S.secalis*, *S.tritici*.

f) Conídios com duas células escuras (Phaeodidymae):

Botryodiplodia (Figura 7.3) - espécie: *B.theobromae* (*Diplodia natalensis*)

Diplodia (Figura 7.4) - espécies: *D.frumentii*, *D.gossypina*, *D.macrospora*, *D.maydis* (*D.zeae*), *D.pinea*.

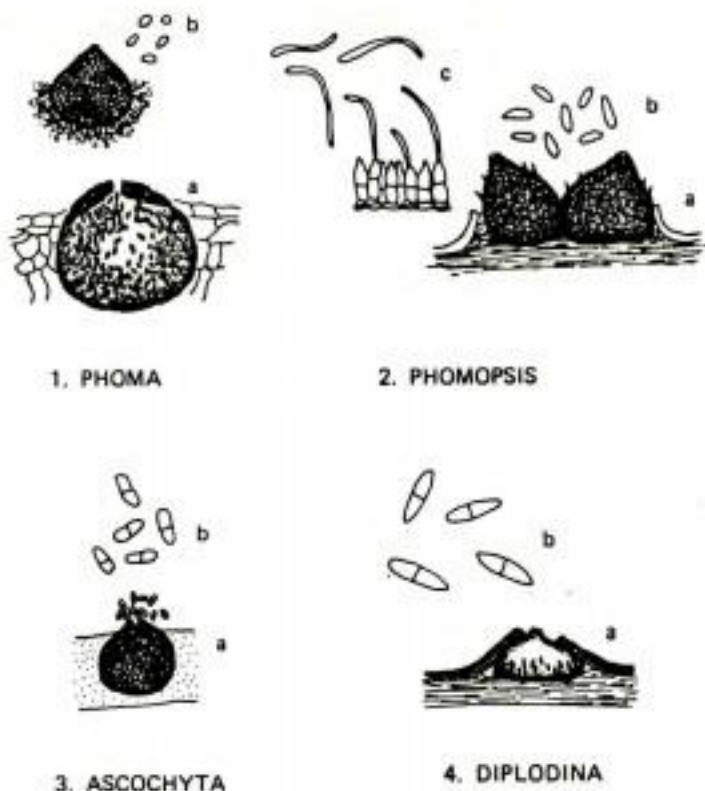


Figura 6. Alguns Deuteromicetos da Ordem Sphaeropsidales: a) pínidíio; b) conídios hialinos; c) beta-conídios.
(Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972).

9.6.2 - Orden Melanconiales

Fungos que formam conídios em acérvulos (Quadro 5), correspondendo aos seguintes gêneros e espécies:

a) Conídios unicelulares hialinos (Hyalosporae):

Colletotrichum (*Gloeosporium*) (Figura 8.1) - espécies: causadoras de antracnose: *C. acutatum*, *C. dematium*, *C. gloeosporioides*, *C. gossypii*, *C. graminicola*, *C. lindemuthianum*, *C. lini*, *C. orbiculare* (*C. lagenarium*).

b) Conídios com duas células hialinos (Hyalodidymae):

Mareospora (*M. juglandis*).

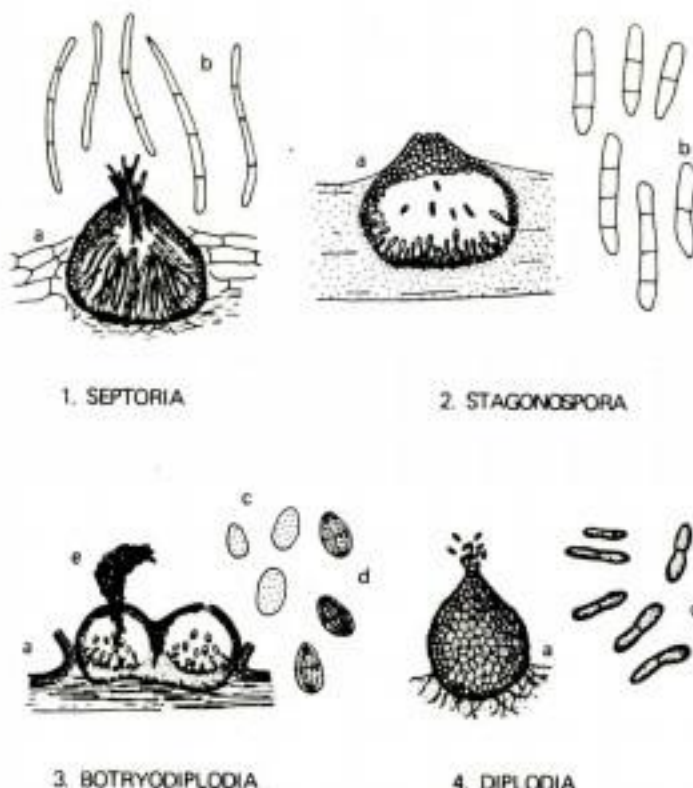


Figura 7. Alguns Deuteromicetos da Ordem Sphaeropsidales: a) piconídio; b) conídios hialinos; c) conídios imaturos sem septo; d) conídios escuros septados; e) cirros. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972).

c) Conídios filiformes com muitas células (Scolecosporae):
Cylindrosporium (Figura 8.2) - (*C. sesami*)

d) Conídios com três a mais células escuras (Phaeophragmiae):
Pestalotia sp. (Figura 8.3)

Pestalotiopsis (*P. funerea*, *P. gracilis*), também mantida como *Pestalotia*.

9.6.3 - Ordem Moniliales

I - Família Moniliaceae

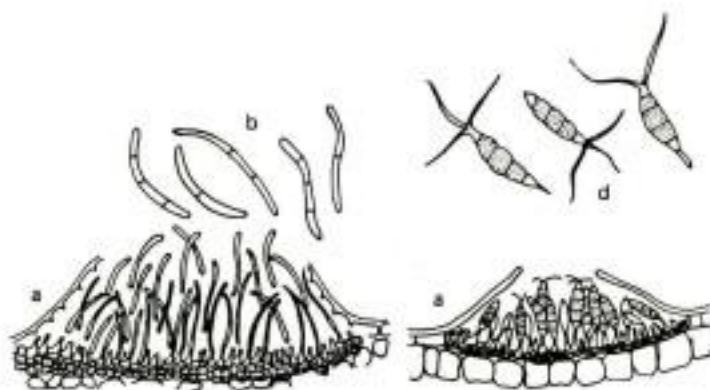
Fungos que formam conídios hialinos, em conidióforos livres hialinos (Quadro 6), correspondendo aos gêneros e espécies a seguir.

Quadro 5. Chave simplificada dos principais gêneros de fungos das Ordens Sphaeropsidales e Melanconiales

Tipo de conídio	Ordem Sphaeropsidales (Conídios em picnídios)		Ordem Melanconiales (Conídios em Acervulos)	
	hialinos	escuros	hialinos	escuros
A. Uma célula (Amersporae)	<i>Leptostroma</i> <i>Macrophoma</i> <i>Macrophomina</i> <i>Phoma</i> <i>Phomopsis</i>	<i>Coniothyrium</i>	<i>Colletotrichum</i> (<i>Gloeosporium</i>) <i>Sphaceloma</i>	<i>Melanconium</i>
B. Duas células (Didymosporae)	<i>Ascochyta</i> <i>Diplodina</i>	<i>Botryodiplodia</i> <i>Diplodia</i>	<i>Marssonina</i>	
C. Três ou mais células (Phragmosporae)	<i>Stagnospora</i>	<i>Hendersonia</i>		<i>Pestalotia</i> <i>Pestalotiopsis</i> <i>Truncatella</i>
D. Filiforme (Uma a muitas células) (Scolecosporae)	<i>Dilophosphora</i> <i>Septoria</i>		<i>Cylindrosporium</i>	



1. COLLETOTRICHUM



2. CYLINDROSPORIUM

3. PESTALOTIA

Figura 8. Alguns Deuteromicetos da Ordem Melanconiales: a) a oêrvulo; b) conídios hialinos; c) setas; d) conídios escuros. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972)

a) Conídios unicelulares (Hyalosporae):

Acremonium - espécie: *A. strictum* (*Cephalosporium acremonium*) - (Figura 9.3), *A. seas*;

Aspergillus (Figura 9.1) - (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *A. niger*);

Botrytis (Figura 9.2) - (*B. allii*, *B. cinerea*, *B. fabae*, *B. ricini*);

Monilia - forma imperfeita de *Sclerotinia* (*Monilínia*) ou *Neurospora* - espécies: *M. laxa*, *M. roseri*;

Penicillium (Figura 9.4) - fungos de armazenamento: *P. chrysogenum*, *P. oxalicum*, *P. patulum*, *P. purpurogenum* var. *rubri-sclerotium*; fungos produtores de toxinas: *P. citrinum*, *P. islandicum*, *P. rubrum*, *P. viridicatum*;

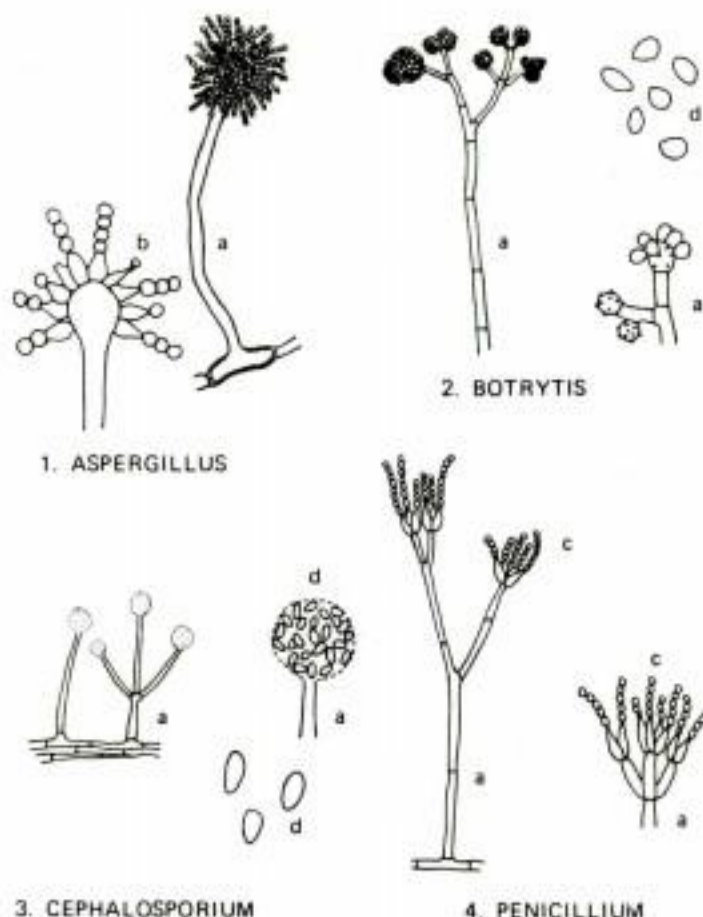


Figura 9. Alguns Deuteromicetos da Família Moniliaceae: a) co-
nidióforo hialino; b) cabeça conidial com conidió-
foros; c) conídios hialinos em cadeia; d) conídios
hialinos. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972)

Verticillium (Figura 10.1) - (*V.albo-atrum*, *V.dahliae*).

b) Conídios com duas células (*Hyalodidymae*):

Rhynchosporium (Figura 10.2) - (*R.secalis*);

Trichothecium (Figura 10.3) - espécie: *T.roseum* (*Cephalothecium roseum*).

c) Conídios com três a mais células (*Hyalophragmiae*):

Pleiochaeta (*P.setosq*);

Pyricularia (Figura 10.4) - (*P.oryzae*);

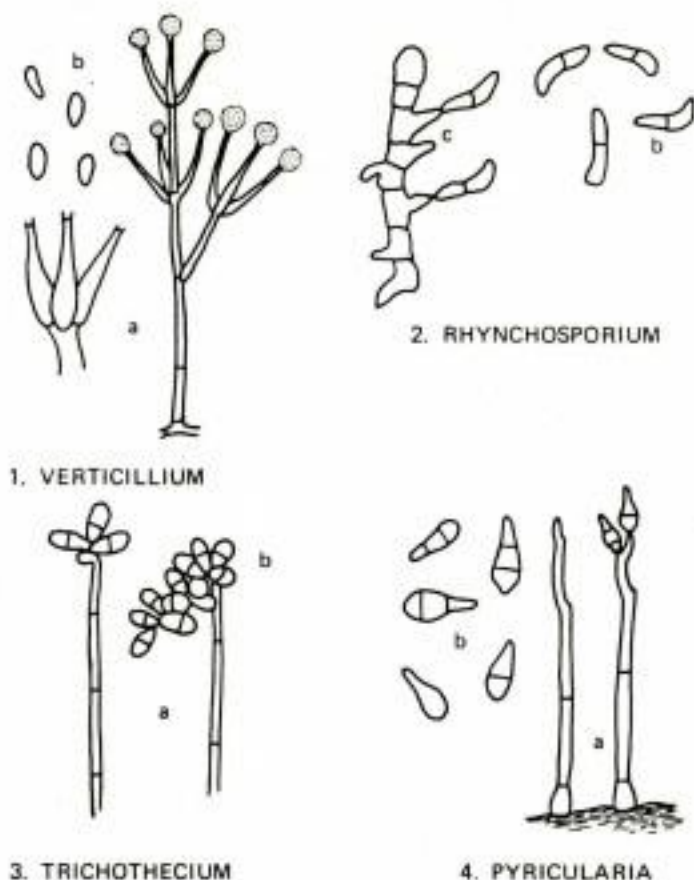


Figura 10. Alguns Deuteromicetos da Família Moniliaceae: a) conidióforo hialino; b) conídios hialinos; c) célula esporógena. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972)

Ramularia (*R. beticola*).

II - Família Dematiaceae

Fungos que formam conídios em conidióforos livres. Os conidióforos e/ou conídios apresentam pigmentação escura (Quadro 6). Correspondem aos gêneros e espécies a seguir.

a) Conídios unicelulares (Phaeosporae):

Aureobasidium (*Pullularia*) - espécie: *A. lini*. Alguns micologistas consi-

deram o gênero como sinônimo de *Kabatziella*;

Nigrospora (Figura 11.1) - (*N.orysae*);

Periconia sp. (Figura 11.2);

Ustilaginoides - (*U.virens*).

b) Conídios com duas células (*Phaeodidymae*):

Cladosporium (Figura 11.3) - (*C.cladosporioides*, *C.cucumerinum*, *C.herbarum*);

Fusicladium - (*F.macrosporum*).

c) Conídios com três ou mais células e septos transversais (*Phalophragmiae*):

Aeroconidiella - espécie: *A.tropaeoli* (*Heterosporium tropaeoli*);

Cercosporidium (Figura 12.1) - espécie: *C.personatum* (*Cercospora personata*);

Corynespora (Figura 12.2) - (*C.cassicola*);

Curvularia (Figura 11.4) - espécies: *C.clavata*, *C.cymbopogonis*, *C.eragrostidis*, *C.geniculata*, *C.inaequalis*, *C.intermedia*, *C.lunata*, *C.orysae*, *C.pallescentis*, *S.siddiquii*, *C.trifolii*, *C.uncinata*;

Drechslera (Figura 12.3) - (sinônimo de *Helminthosporium*) - espécies: *D.avenae*, *D.graminea*, *D.maydis*, *D.orysae*, *D.rostrata*, *D.sacchari*, *D.sesami*, *D.sorghicola*, *D.sorokiniana*, *D.teres*, *D.turcica*, *D.vistoriae*;

Trichoconis - espécie: *T.padvickii* (*Alternaria padwickii*, atualmente *Trichoconidiella padwickii*).

d) Conídios filiformes septados e hialinos (*Scolecosporae*):

Cercospora (Figura 12.4) - espécies: *C.arachidicola*, *C.beticola*, *C.capsici*, *C.capsicicola*, *C.carotae*, *C.carthami*, *C.cochleari*, *C.davisi*, *C.kikuchii*, *C.nicotianae*, *C.orysae*, *C.ricinella*, *C.sesami*, *C.sofina*, *C.sorghii*, *C.zabrana*.

e) Conídios com septos transversais e longitudinais (*Phaeodictiae*):

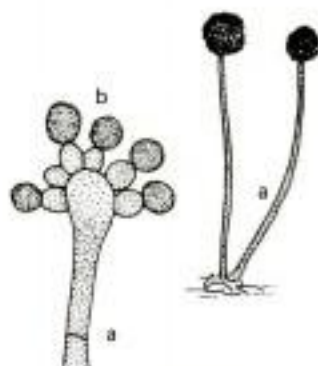
Alternaria (Figura 13.1) - espécies: *A.alternata*, *A.brassicarum*, *A.brassicicola*, *A.chrysanthemi*, *A.cichorii*, *A.crassa*, *A.cucumerina*, *A.helianthi*, *A.longipes*, *A.porri* f. sp. *dauci* (*A.dauci*), *A.porri* f. sp. *solanii* (*A.solanii*), *A.radicina*, *A.sesami*, *A.tenuis* (na literatura como *A.alternata*), *A.zinniae*;

Stemphylium (Figura 13.3) - espécies: *S.botryosum*, *S.sarciniforme*, *S.solanii*;

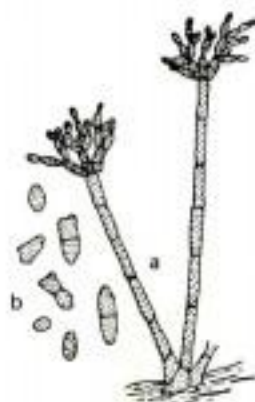
Ulocladium (Figura 13.2) - (*U.consortiale*).



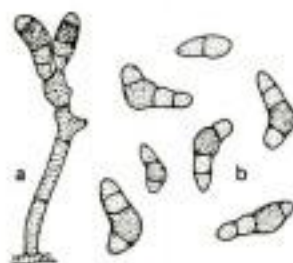
1. NIGROSPORA



2. PERICONIA



3. CLADOSPORIUM

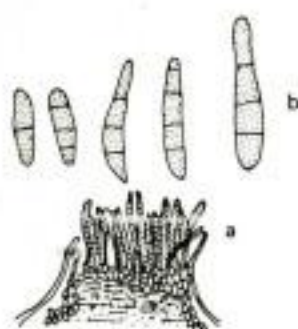


4. CURVULARIA

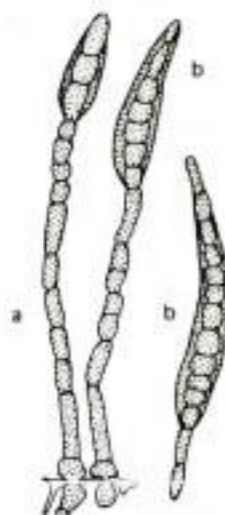
Figura 11. Alguns Deuteromicetos da Família Dematiaceae: a) conidióforos escuros; b) conídios escuros; c) vesícula hialina. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972).

III - Família Stilbaceae

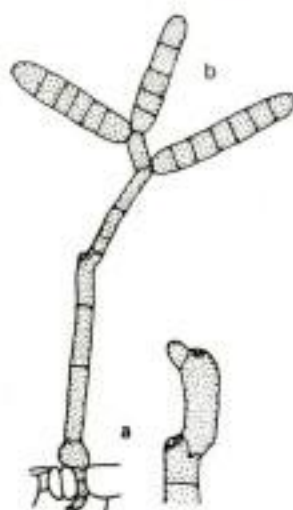
Fungos que formam conídios em conidióforos unidos em sinêmio (Quadro 6). Os conídios são escuros com três a mais células e com septos transversais (Phaeophragmiae). Espécie: *Isariopsis griseola* (*Phaeoisariopsis griseola*).



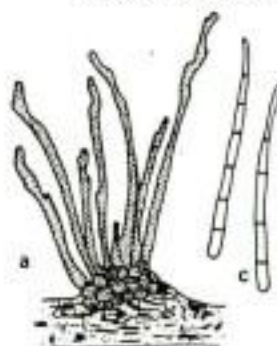
1. CERCOSPORIDIUM



2. CORYNESPORA



3. DRECHSLERA



4. CERCOSPORA

Figura 12. Alguns Deuteromicetos da Família Dematiaceae: a) conidióforos escuros; b) conídios hialinos. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972).

IV - Família Tuberculariaceae

Fungos que formam conídios em conidióforos unidos em esporodóquio (Quadro 6), correspondendo a vários gêneros e espécies:

a) Conídios coloridos com uma célula (Phaeosporae):

Myrothecium (Figura 14.2) (*M. roridum*),

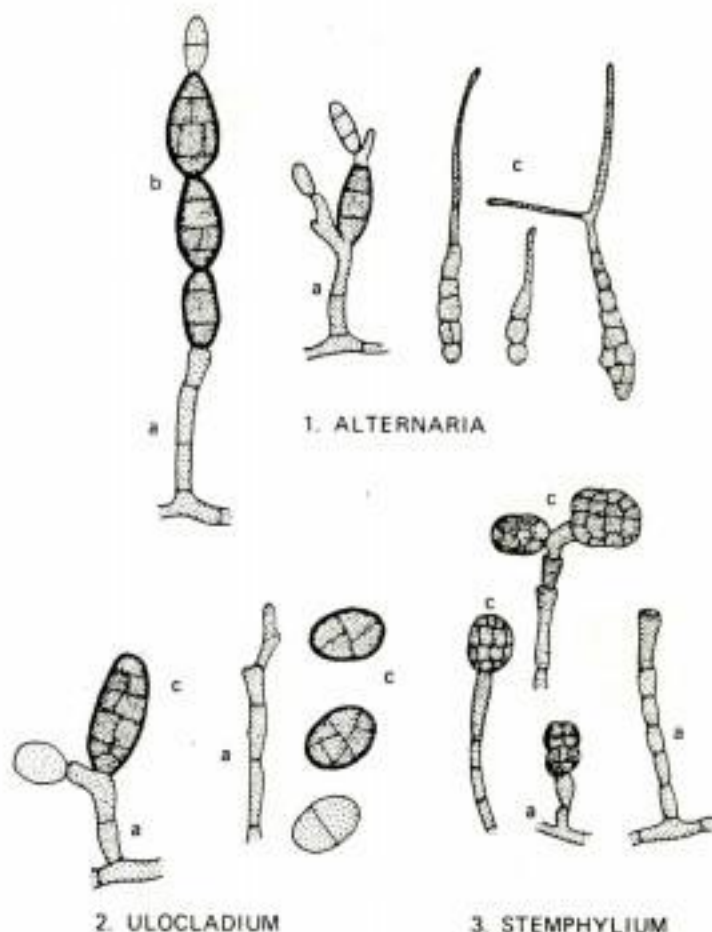


Figura 13. Alguns Deuteromicetos da Família Dematiaceae: a) conidióforos escuros; b) conídios escuros em cadeia; c) conídios escuros. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972).

b) Conídios hialinos com três ou mais células e septos transversais (Hyalophragmata):

Fusarium (Figura 14.1) - espécies: *F.avenaceum*, *F.equiseti*, *F.graminearum*, *F.moniliforme*, *F.moniliforme* var. *subglutinans*, *F.nivale*, *F.oxysporum*, *F.poa*, *F.semitectum*, *F.solani*;

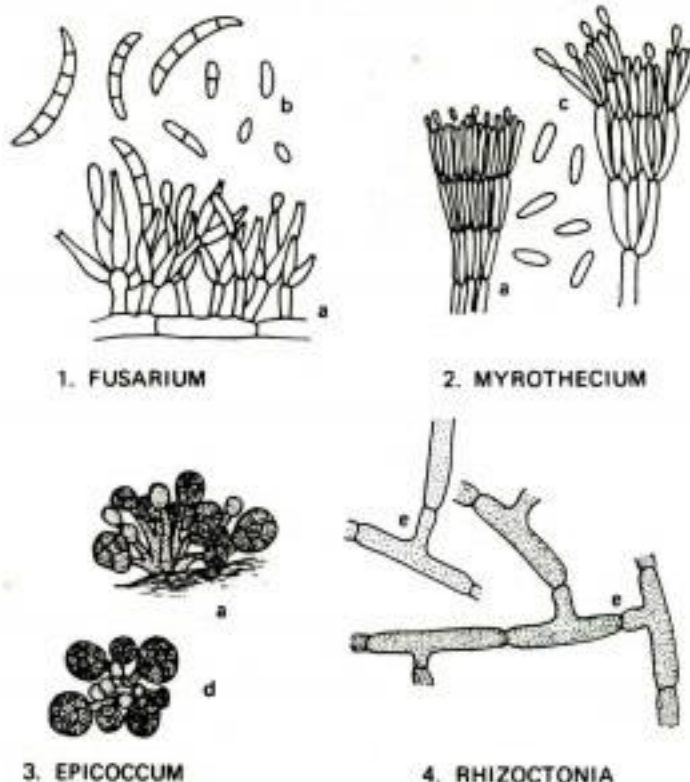


Figura 14. Alguns Deuteromicetos da Família Tuberculariaceae e Ordem Mycelia sterilia (Rhizoctonia): a) conidióforos unidos em esporodóquio; b) macroconídios e microconídios hialinos; c) conídios hialinos; d) conídios escuros; e) ramificação das hifas escuras em ângulo reto. (Redesenhado de BARNETT & HUNTER, 1972).

c) Conídios filiformes hialinos, com várias células e septos transversais (Scolecosporae):

Gloeoscerospora (*G. sorghi*);

Ramulispora (*R. sorghi*).

d) Conídios escuros com septos transversais e longitudinais (Phaeodictae):

Epicoccum (Figura 14.3) (*E. purpurascens*).

Quadro 6. Chave dos principais gêneros de fungos da Ordem Moniliales.

Tipo de Conídio	Moniliaceae (Conídios em conidióforos simples)	Dematiaceae	Stilliaceae (Conídios em sinêmicos)	Tuberculariaceae (Conídios em esporodóquios)
	hialinos	escuros		
A. Uma célula (Amerosporae)	<i>Aspergillus</i> <i>Botrytis</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Monilia</i> <i>Penicillium</i> <i>Verticillium</i>	<i>Aureobasidium</i> <i>Nigrospora</i> <i>Periconia</i> <i>Thielaviopsis</i> <i>Ustilagoidea</i>		<i>Myrothecium</i>
B. Duas células (Didymosporae)	<i>Rhynchosporium</i> <i>Trichothecium</i>	<i>Cladosporium</i> <i>Fusicladium</i>		
C. Três ou mais células (Phragmosporae)	<i>Pleiochaeta</i> <i>Pyricularia</i> <i>Ramularia</i>	<i>Acroconidiella</i> <i>Cercosporidium</i> <i>Corynespora</i> <i>Curvularia</i> <i>Dreschlera</i> <i>Trichoconis</i>	<i>Isariopsis</i> (escuros)	<i>Fusarium</i>
D. Filiforme (uma a mais células) (Scolecosporae)		<i>Cercospora</i> (conídios hialinos)		<i>Gloeosceraspora</i> <i>Ramulispora</i>
E. Muriforme (septos cruzados em ambos os eixos) (Dictyosporae)		<i>Alternaria</i> <i>Stemphylium</i> <i>Ulocladium</i>		<i>Epicoccum</i> (escuros)

9.6.4 - Ordem Mycelia Sterilia

Fungos que nunca produzem conídios, propagam-se por hifas ou suas transformações, correspondendo a gêneros relacionados à Basidiomicetos, como:

Rhizoetonia (Figura 14.4) - espécies: *R. bataticola* (*Macrophomina phaseolina*), *R. solani* (forma perfeita: *Thanatephorus cucumeris*).

Sclerotium - espécies: *S. bataticola* (*Macrophomina phaseoli*), *S. rolfsii* (forma perfeita: *Corticium rolfsii*).

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- AINSWORTH, G.C.; JAMES, P.W. & HANKSWORTH, D.L. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi. 6 ed. England, Commonwealth Mycological Institute, 1971. 663p.
- AINSWORTH, G.C.; SPARROW, F.K. & SUSSMAN, A.S. The fungi. Vol. IV A/B. 1 ed. New York, Academic Press Inc., 1973.
- ALEXOPOULOS, C.J. Introductory Mycology. 2 ed. New York, John Wiley & Sons. Inc. 1962. 613p.
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. Illustrated genera of Imperfect fungi. 3ed. Minnesota, Burgess Publishing Co., 1972. 241p.
- GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N.; SALGADO, C.L.; KRUGNER, T.L.; CARDOSO, E.J.B. & BERGAMIN Fº, A. Manual de Fitopatologia. Volume I - Princípios e Conceitos. 2a.ed. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres Ltda. 1978. 373p.
- LACAZ, C.S.; MINAMI, P.S. & PURCHIO, A. O grande mundo dos fungos. 1ed. São Paulo, Editora Polígono, 1970. 255p.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London, The Macmillan Press Ltd., 1977. V. 1. 839p.
- PELCZAR Jr., M.J. & REID, R.D. Microbiology. 4ed. New York, McGraw-Hill Company, Inc., 1974. 948p.
- RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3ed. England, Commonwealth Mycological Institute, 1979. 320p.
- SACCARDO, P.A. Sylloge Fungorum omnium hucusque cognitorum. Pavia, Italy. 1982-1931. 25v.
- SILVEIRA, V.D. Lições de micologia. 3ed. Rio de Janeiro, Livraria José Olympio Editora, 1968. 301p.

- VIÉGAS, A.P. Dicionário de Fitopatologia e Micologia. São Paulo, Instituto Agrônomo de Campinas/ Brascon Nordeste/ Banco do Nordeste do Brasil S.A./ Sudene, 1979. 882p.
- VON ARX, J.A. The genera of fungi sporulating in pure culture. LEHRE, Germany, Verlag Von J. Cramer, 1970. 288p.
- WEBSTER, J. Introduction to fungi. 1 ed. Cambridge, The University Press, 1970. 424p.

CAPÍTULO III

BACTÉRIAS EM SEMENTES

Mauro Hideo Sugimori ⁽¹⁾1 - CARACTERÍSTICAS GERAIS

O estudo das bactérias denomina-se bacteriologia. As finalidades da bacteriologia são elucidar as causas e os meios de combate das doenças dos homens, dos animais e das plantas, bem como, os processos bioquímicos que sofrem os detritos orgânicos do solo; visa, ainda, catalogar sistematicamente todos os indivíduos.

As bactérias constituem uma classe da primeira divisão do Reino Animal; são classificados como Protistas inferiores e constituem o maior e mais diversificado grupo destes. Estes organismos são as formas de vida mais simples, até o momento, conhecidas e apresentam, em alguns casos, características dos reinos vegetal e animal.

Esses microrganismos são encontrados em todas as partes e lugares da natureza; no ar, no solo, nos alimentos, na matéria orgânica em decomposição, na superfície e cavidades do corpo e no trato intestinal de todos os animais.

As bactérias podem ser consideradas, de um modo geral, como organismos unicelulares indiferenciados, aclorofilados, que apresentam uma parede celular rígida, seu diâmetro normalmente não excede de 2 a 3 μ ; o comprimento varia de 0,5 a 5 μ ; são móveis, se flageladas; sua reprodução sexual por conjugação é rara; a divisão nuclear é realizada por fissão, não por mitose, e sua substância nuclear não está cercada por membrana nuclear (são células procaríóticas).

Algumas das principais características morfológicas das células bacterianas mais facilmente observáveis são o tamanho, a forma, a estrutura, e o

(1) Eng^o Agr^o, Pesquisador Científico PqC-V, Mestre em Fitopatologia, Seção de Microbiologia Fitotécnica, Instituto Agronômico, Campinas, CPA/SA, Cx. Postal 28, 13020 Campinas-SP.

modo de agrupamento apresentado pelas células.

Algumas espécies de bactérias possuem, além dos caracteres morfológicos acima mencionados, apêndices, que podem ser observados mediante técnicas especiais de coloração ou por microscopia eletrônica, que são os flagelos.

Apesar do pequeno tamanho das bactérias, é o micron (μ), que equivale a $1/1000\text{mm}$, a unidade de medida utilizada, e a maioria mede aproximadamente $0,5$ a $1,0 \mu$ por $2,0$ a $5,0 \mu$.

Existem técnicas especiais de coloração e observação para realização da medição do tamanho da bactéria: uma delas consiste na preparação de uma lâmina de microscopia com fundo escuro, contrastando com a bactéria que se apresenta branca.

2 - PROCESSOS DE REPRODUÇÃO

A modalidade mais comum e, sem dúvida, a mais importante do ponto de vista do ciclo normal de crescimento nas populações bacterianas, é o que se conhece por fissão binária ou fissão transversal ou cissiparidade. O resultado deste processo é a divisão da célula individual em duas, devido à formação de um septo transversal que separa o conteúdo celular. Este é um processo de multiplicação assexuado.

Outra forma de reprodução assexuada é a observada em algumas bactérias (por exemplo, Actinomycetales), que formam um elemento vegetativo filamentoso, que se fragmenta em pequenas unidades, evoluindo, posteriormente, para células de tamanho normal. Nas Hiphomicrobiales, a reprodução assexuada se dá por meio de brotação, como ocorre com as leveduras.

A reprodução sexuada em bactérias (rara) já foi observada e recebe o nome de conjugação.

3 - CLASSIFICAÇÃO E TAXONOMIA

Conforme o Manual de Bergey, todas as bactérias (Classe dos Schizomycetes, da Divisão Protophytas), dividem-se em dez ordens. Os progressos no campo da Bacteriologia e os posteriores descobrimentos em genética, além da demonstração de conjugação intergenética, podem modificar alguns dos grupos taxonômicos clássicos.

A classificação das bactérias é baseada na morfologia das células, anatomia celular, características culturais, atividades bioquímicas, caracte-

rísticas serológicas e patogenicidade.

Entre as dez ordens de bactérias, algumas apresentam famílias e gêneros importantes.

I - ORDEM PSEUDOMONADALES

Fam. Nitrobacteraceae

Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrobacter, etc.

Fam. Pseudomonadaceae

Pseudomonas ⁽¹⁾, Xanthomonas ⁽¹⁾, Acetobacter

II - ORDEM CHLAMYDOBACTERIALES

III - ORDEM HYPHOMICROBIALES

IV - ORDEM EUBACTERIALES

Fam. Azotobacteraceae

Azobacter

Fam. Rhizobiaceae

Rhizobium, Agrobacterium ⁽¹⁾

Fam. Enterobacteriaceae

Erwinia ⁽¹⁾, Escherichia, Salmonella

Fam. Corynebacteriaceae

Corineforme Fitopatogênico ⁽¹⁾ (Corynebacterium)

Fam. Bacillaceae

Bacillus, Clostridium

V - ORDEM ACTINOMYCETALES

Fam. Streptomycetaceae

Streptomyces ⁽¹⁾

VI - ORDEM CARYOPHANALES

VII - ORDEM BEGGIATOLES

VIII - ORDEM MYXOBACTERIALES

IX - ORDEM SPIROCHAETALES

X - ORDEM MYCOPLASMATALES

4 - TAXONOMIA

A taxonomia das bactérias que afetam culturas de interesse econômico é bastante trabalhosa e demorada.

A primeira maneira, utilizada pelos fitopatologistas para classificar as bactérias, baseou-se, principalmente, na sintomatologia. Essa técnica,

⁽¹⁾ Gênero de bactérias fitopatogênicas.

no entanto, era inadequada pelo fato de utilizar métodos empregados em Micologia. Dessa forma, muitas contribuições iniciais sobre as bactérias, dadas pela caracterização da moléstia, foram consideradas incompletas. Assim, a tendência geral era de se descobrir e descrever novas espécies com base nesses dados incompletos.

Como exemplo de evolução taxonômica e de nomenclatura, pode-se citar o que ocorreu com *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson, que foi descrita pela primeira vez como *Bacillus campestris* n.sp. por Pammel em 1895; posteriormente, Smith denominou-a de *Pseudomonas campestris* e *Bacterium campestre*. A seguir, Chester denominou de *Bacterium campestris*; Bergey et al. denominaram de *Phytomonas campestris*. Finalmente, em 1939, Dowson denominou de *Xanthomonas campestris*, principalmente pelo fato de produzir um pigmento amarelo, a xantofila.

Em decorrência disso, e devido à falta de confiança dos estudiosos da área taxonômica, várias revisões foram realizadas e sugeridas, como a proposta pela Código Internacional de Nomenclatura de Bactérias e Vírus, em 1958, que sugeriu o termo "forma specialis", para determinar o patógeno a nível infra-subespecífico. Então, como exemplo, podem-se citar: *Xanthomonas campestris* (Pammel) f. sp. *vesicatoria* Doidge.

Mais tarde, em outra revisão sistemática, realizada em 1976, no Código Internacional de Bactérias, foi proposto que o patótipo viesse em seguida do gênero e espécie da bactéria patogênica em questão.

Porém essa sistemática de utilização do termo "forma specialis" e a indicação do patótipo não tiveram a aceitação esperada dos grupos de fitopatologistas que estudam fitobactérias. Então, a forma proposta por Dowson, em 1939, foi a que permaneceu até 1978, quando, então, foi proposto reunir em *X. campestris* as espécies afins, empregando-se, para isso, o termo patovar (pv) para as espécies de bactérias fitopatogênicas a nível infra-subespecífico, como por exemplo: *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye. Isso ocorreu, também, com os gêneros *Agrobacterium*, *Erwinia* e *Pseudomonas*. Já o gênero *Corynebacterium* sofreu uma modificação radical, recebendo a denominação geral de *Corineformes* fitopatogênicos, de acordo com as características peculiares de cada gênero, como será visto mais adiante.

Com isso, os estudos de sistemática bacteriológica das bactérias foram evoluindo, sofisticando-se e incrementando-se, cada vez mais, os métodos bioquímicos, citológicos, utilização de bacteriófagos, patogenicidade, etc.

Inicialmente, os testes bacteriológicos mais utilizados eram: lique-

fação de gelatina, litmus milk, produção de indol, hidrólise de amido, produção de ácidos e gás, a partir de açúcares, como glicose, frutose, galactose, rafinose, etc. Atualmente, além dos testes bioquímicos já mencionados, empregam-se, ainda, os seguintes testes: oxidase, produção de levan, hidrólise de arginina, lipase, hipersensibilidade em folha de fumo, redução de nitrato, etc.

Além destes testes tradicionalmente conhecidos, recentemente foi introduzida a técnica Serológica, que consiste na realização de testes utilizando as reações específicas de antígenos e antissoros.

Apesar de não ser uma metodologia recente na área de bacteriologia (primeira referência em 1925), a Serologia tomou impulso, provavelmente, a partir da década de 1970; contudo, é uma técnica bastante utilizada para determinação de vírus de plantas, onde se tem mostrado muito eficiente. Por isso, novos métodos têm sido estudados e introduzidos, tanto para obtenção do antissoro, como para a realização das reações serológicas.

5 - BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS

As bactérias fitopatogênicas possuem forma cilíndrica ou de bastonete e podem ou não formar esporos (endosporos). Devido ao fato de não formarem esporos de resistência, reveste de maior importância a presença de cápsulas e camadas mucilaginosas, que cobrem as células bacterianas. As bactérias que apresentam cápsulas mucilaginosas são mais resistentes à influências externas (calor, luz, radiação e produtos químicos), mantendo sua viabilidade por longos períodos.

Os principais gêneros de bactérias fitopatogênicas são: *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* e o grupo Corineformes fitopatogênicos. Praticamente, todas são móveis, possuindo flagelos; a presença, o número e arranjo dos flagelos podem caracterizar os gêneros. Assim, entre o gênero *Agrobacterium* e o grupo Corineformes fitopatogênicos ocorrem dois tipos: espécies não flageladas e as flageladas com um flagelo polar. As bactérias do gênero *Erwinia* são monotríquias, as *Pseudomonas* são lofotríquias, as *Xanthomonas* são monotríquias, todas móveis.

Todas as bactérias fitopatogênicas podem ser cultivadas em meios comumente utilizados em bacteriologia. As fitobactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Xanthomonas* apresentam, em meio de cultura, colônias tipicamente circulares, convexas e de bordo inteiro, características essas utilizadas para dife-

rencia-las das colônias saprófitas ou de outros contaminantes. De uma maneira geral, as bactérias saprófitas se reproduzem rapidamente, enquanto que as fitopatogênicas o fazem lentamente. Isto é importante pelo fato de as saprófitas presentes em tecidos de planta, quando de um isolamento, inibirem as fitopatogênicas.

As bactérias fitopatogênicas, com poucas exceções, são heterotróficas, isto é, desenvolvem-se somente se houver material orgânico disponível. São também aeróbicas, embora algumas sejam anaeróbicas facultativas.

5.1. Gênero Agrobacterium

O gênero *Agrobacterium* pertence à classe dos Schizomycetes, ordem Eubacteriales e família Rhizobiaceae. A maior característica desta bactéria é a sua habilidade em transformar células de plantas normais em células de tumor, em curto período de tempo. Uma vez completada a transformação em células de tumor, estas células tornam-se independentes da bactéria e continuam a crescer e dividir anormalmente, mesmo na ausência da bactéria.

A galha da coroa é representante de um grupo de doenças em que os maiores efeitos no hospedeiro são Hiperplasia e Hipertrófia, afetando um número considerável de plantas.

As bactérias desse gênero apresentam-se como bastonetes pequenos, tipicamente móveis, com 1 a 4 flagelos peritríquios (polar se apresentar um único flagelo), sendo comumente Gram-negativas.

Em meio de cultura comum, não produzem gás visível. A gelatina se liquefaz fracamente por igual ou não se liquefaz totalmente. A temperatura ótima para o desenvolvimento está entre 25 a 30°C. No solo, em raiz de planta ou no caule, produzem hipertrofias.

Dentro do gênero, a espécie mais conhecida é *Agrobacterium radiobacter* pv. *tumefaciens*.

Sintomatologia

As bactérias do gênero *Agrobacterium* são citadas como patógenos causadores de diferentes sintomas como: galha da coroa ("crown gall"), raízes cabeleiras ("hairy root") e nós lanígeros ("woolly knot").

As galhas se caracterizam por um crescimento excessivo das células do parênquima, ocorrendo comumente em raízes subterrâneas de árvores e arbustos. Podem, também, aparecer na coroa, ramos ou folhas de plantas herbáceas

ou lenhosas.

O organismo causador das galhas da coroa - "crown gall" é a bactéria *Agrobacterium radiobacter* pv. *tumefaciens*.

Os sintomas chamados "raízes cabeleiras" ou "nós lanígeros" são mais comumente encontrados em viveiros. São facilmente distinguíveis, devido à produção excessiva de pequenas raízes e, algumas vezes, de calo duro que, frequentemente, ocorre na região do enxerto. Estas raízes formadas são finas, geralmente crescem a uma certa distância das galhas, antes da formação de raízes secundárias fibrosas; o crescimento excessivo destas raízes fibrosas dá a aparência de "cabeleira", caracterizando a doença.

O organismo causador das raízes cabeleiras ("hairy root") e nós lanígeros ("woolly knot") é a bactéria *Agrobacterium radiobacter* pv. *tumefaciens*.

Como hospedeiros mais importantes deste patógeno, pode-se citar: macieira, pessegueiro, amoreira preta, framboeza, videira, abacateiro, roseira, kiri, tomateiro, beterraba açucareira, girassol, plantas ornamentais (dália, crisântemo), etc.

5.2. - Grupo Corineformes fitopatogênicos

O gênero *Corynebacterium*, pertencente à classe dos Schizomycetes, ordem Eubacteriales e família Corynebacteriaceae, foi reclassificado nos gêneros *Arthrobacter*, *Clavibacter*, *Curtobacterium* e *Rhodococcus*, de acordo com as características da composição química das paredes celulares, composição de bases e homologia do ADN, análise numérica de fenótipo, ácidos graxos, lipídios polares, análise de menaquinonas, etc., baseadas em estudos realizados por David e colaboradores, acrescidos de resultados obtidos por outros pesquisadores.

Podem ser móveis e imóveis; quando móveis, possuem apenas um flagelo polar e são tipicamente Gram-positivas, sendo a única bactéria fitopatogênica Gram-positiva que se conhece até o momento.

A temperatura ótima para o desenvolvimento das doenças causadas por esta bactéria está em torno de 24°C e a temperatura ideal para o desenvolvimento da infecção sistêmica é de 28°C. A umidade ótima do solo deve estar entre 40 a 80% da capacidade de campo.

Sintomatologia

A bactéria agente causal de doenças em plantas caracteriza-se por

produzir dois tipos diferentes de colonização; uma caracteriza-se por produzir lesões necróticas no caule, folíolos, pecíolo, rãquis, sépalas e frutos, em qualquer estágio do desenvolvimento. Nas folhas, iniciam-se por uma pequena elevação no limbo foliar com a forma circular e centro branco que, ao romper, libera a bactéria e forma um pequeno cancro com 1 ou 2 mm de diâmetro, com o centro suberificado.

As lesões nos ramos se assemelham ao do limbo foliar e, em alguns casos, a infecção se processa pelos hidatódios e resulta na queima dos bordos dos folíolos. No fruto, aparecem lesões circulares de cor branca com 1 a 3 mm de diâmetro, isoladas ou agrupadas, que causam a deformação do fruto; essas lesões são conhecidas por "olho de passarinho ou perdiz".

O outro tipo de colonização é a sistêmica, com invasão do sistema vascular da planta, podendo este tipo de colonização ocorrer desde a germinação da semente até a planta adulta. Este sintoma causa na planta adulta uma murcha muito característica que pode ser usada como um meio de determinar o patógeno; o sintoma é caracterizado pelo fato de a planta apresentar murcha em apenas um dos lados da planta, ou seja, a parte em que a bactéria ataca de forma sistêmica. Este tipo de sintoma é válido, apenas, para o caso do tomateiro.

Como hospedeiros das diversas espécies desta bactéria podem-se citar: tomate, berinjela, pimenta, fumo, giló, trigo, alfafa, plantas ornamentais (crisântemo, dália, cravo, etc.).

As espécies desta bactéria fitopatogênica mais conhecidas são: *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense*, *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens*, *Clavibacter michiganense* subsp. *insidiosum*, *Clavibacter michiganense* subsp. *sepedonicum*, *Clavibacter tritici*. (De acordo com Robbs, 1985, Resumo.).

5.3 - Gênero *Erynia*

O gênero *Erynia* pertence à classe Shizomycetes, ordem Eubacteriales e família Enterobacteriaceae e inclui várias espécies de bactérias fitopatogênicas.

As bactérias que pertencem a esse gênero são caracterizadas como bastonetes móveis e, normalmente, requerem compostos nitrogenados orgânicos para crescimento. Essas bactérias invadem os tecidos de plantas vivas, causando podridões moles ("soft rot") ou queimas ("fire blight").

As podridões moles causadas por essas bactérias ocorrem mais comumente nos vegetais que possuem tecidos de reserva suculentos (batata, cenoura, cebola, abóbora, berinjela, tomate, etc.).

Essa bactéria tem distribuição cosmopolita, sendo encontrada em quase todos os solos cultiváveis, causando sérios danos às colheitas; em determinadas condições, resultam numa perda total da produção.

As bactérias desse gênero apresentam-se sob a forma de bastonetes curtos, de coloração Gram-negativa e providos de flagelos peritríquios, cujo número e posição podem variar, dependendo da espécie. Não formam cápsulas nem esporos.

O desenvolvimento dessa bactéria está relacionado com a temperatura entre 25 a 30°C e umidade relativa próxima de 100%. A penetração se realiza através de ferimentos de qualquer natureza ou através de aberturas naturais como as lenticelas, mas em presença de água. A bactéria, quando em desenvolvimento, produz enzimas pectolíticas que causam a desintegração dos tecidos e, uma vez no interior da planta, se reproduz e vive somente nos espaços intercelulares, não penetrando no interior das células.

O patógeno pode, ainda, invadir o xilema e as raízes, interferindo na movimentação do fluxo da seiva.

São bactérias que podem sobreviver saprofiticamente no solo.

Sintomatologia

As bactérias desse gênero podem causar diferentes sintomas, dependendo da espécie e da planta atacada. Este gênero apresenta dois tipos distintos de organismos morfológicamente similares, porém diferindo em patogenicidade e em propriedades nutricionais e bioquímicas.

O primeiro grupo é responsável por necroses secas e murchas, cujos primeiros sintomas de queima aparecem geralmente nas flores, que mostram encharcamento, enrugam rapidamente, tomando uma coloração marrom ou preta, podendo ou não caírem. Nos ramos, essas lesões aparecem primeiramente encharcadas, depois escurecem e tornam-se deprimidas e secas, formando cancrios. Nos frutos, a infecção se inicia normalmente através do pedúnculo, tornando-os encharcados, de coloração castanha; posteriormente, enrugam, mumificam e se tornam pretos, podendo permanecer na planta por vários meses após a infecção.

No segundo grupo, estão as espécies responsáveis pelas podridões moles verdadeiras, atacando, principalmente, frutos e tubérculos; diferem do grupo anterior por secretarem enzimas pectolíticas. Essas podridões moles

podem aparecer tanto no campo como no armazenamento. Caracterizam-se por apresentarem nos tecidos pequenas lesões encharcadas, as quais evoluem rapidamente em diâmetro e profundidade. Os tecidos das áreas atacadas tornam-se opacos de coloração creme e se desintegram em uma massa de células desorganizadas, podendo converter o órgão atacado a essas condições, num período de três a cinco dias.

As bactérias desse gênero são capazes de afetar um grande número de plantas, na sua maioria hortaliças, causando sempre podridões moles.

Os hospedeiros mais comuns e conhecidos desta bactéria são: batata, marmelo (algumas variedades), pera, maçã, hortaliças, tomate, berinjela, etc.

As espécies mais conhecidas são: *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *E. chrysanthemi* pv. *chrysanthemi*, *E. amylovora*, etc.

5.4 - Gênero *Pseudomonas*

O gênero *Pseudomonas*, pertencente à classe Schizomycetes, ordem Pseudomonales, família Pseudomonadaceae, foi criado por Migula, em 1834. Dowson, 1939, procedeu a revisão desse gênero, estabelecendo novas bases para a sua classificação. Posteriormente, Stainer et al. propuseram uma nova classificação, que foi publicada no Bergey's Manual for Determinative Bacteriology. Porém, nas classificações mais recentes, existem várias correntes de pesquisa que procuram restringir o número de espécies, apresentando-as segundo reações a testes serológicos, bacteriológicos ou diferentes constituições de DNA. Atualmente, este gênero segue a classificação proposta em 1978, onde a maioria das espécies foi colocada dentro do grupo *Pseudomonas syringae*.

O número de espécies do gênero *Pseudomonas* descritas é muito grande, perfazendo cerca de 50% das espécies de bactérias fitopatogênicas.

A grande característica dessa bactéria é a diversidade de sintomas que podem causar nos mais variados hospedeiros.

As características morfológicas das bactérias do gênero *Pseudomonas* são definidas como células simples, bastonetes retos, com dimensão de 0,5 a 1,0 μ por 1,5 a 4,0 μ e móveis por meio de flagelos polares, podendo ser monotríquias ou lofotríquias. Não possuem nenhum estágio de resistência conhecido; são bactérias Gram-negativas.

A disseminação desse grupo de patógenos pode ser realizada de várias maneiras, mas o homem é ainda o mais eficiente disseminador.

Vários gêneros de *Pseudomonas* são relatados como sobreviventes por

longos períodos, podendo essa sobrevivência se dar diretamente no solo, em restos de cultura e de outra maneira mais eficiente, parasitando plantas hospedeiras nativas; como exemplo disso, há o patógeno *Pseudomonas solanacearum*, que possui mais de 50 hospedeiros nativos.

As principais características dessa bactéria estão relacionadas às características culturais, com colônias geralmente de coloração branca, produção de fluoresceína no meio de cultura King B. Caracterizam-se, também, por causarem hipersensibilidade em folhas de fumo.

Sintomatologia

As bactérias desse gênero causam doenças de grande importância econômica, tais como: murcha bacteriana, fogo-selvagem, mancha aureolada, cresta mento bacteriano (de halo), manchas angulares, etc. A sua penetração ocorre através de ferimentos nas raízes, caules e folhas ou, ainda, através de aberturas naturais do hospedeiro.

Uma vez no interior das plantas, a bactéria vive e se reproduz, causando a morte dos tecidos colonizados através de enzimas que secretam durante a atividade metabólica. Quando ocorre a colonização sistêmica, por exemplo, isso resulta na redução ou bloqueio completo do transporte de água e nutrientes, causando um sintoma de murcha e até morte da planta.

Os sintomas das doenças causadas por esse gênero de bactérias fitopatogênicas podem ser separados em três tipos, como, doenças parenquimatosas, vasculares ou sistêmicas e hiperplásticas, embora não sejam completamente distintos entre si.

No caso de doenças parenquimatosas, a necrose dos tecidos apresenta-se em forma de diversas queimas nos ramos, folhas e frutos, que podem afetar toda parte aérea das plantas. Os sintomas iniciais são frequentemente causados por pequenas manchas translúcidas, conhecidas por anasarcas, de coloração verde mais intensa, diferente da coloração normal da folha que, mais tarde, com o desenvolvimento das doenças, torna-se marrom ou preta.

As lesões podem ter uma margem clorótica e são frequentemente do tipo angular, devido às limitações das nervuras das folhas; sob condições favoráveis, especialmente de alta umidade, podem espalhar-se ao longo das nervuras, causando necrose generalizada.

As doenças vasculares ou sistêmicas são consideradas tão ou mais importantes que as doenças parenquimatosas. Isso, porque a bactéria penetra no interior dos vasos do xilema tornando impossível o seu controle. Os vasos afe-

tados podem apresentar-se descoloridos (coloração diferente dos vasos sadios) e cheios de bactérias, que, em corte transversal, podem exudar uma substância viscosa, indicando a presença de bactéria.

Em condições de alta umidade e temperatura ótima no campo, as plantas afetadas murcham e morrem, constituindo-se numa grande fonte de inóculo.

As doenças de origem hiperplásticas causadas pelas bactérias desse gênero são comuns em outras regiões; no Brasil, até o momento, não foram constatadas. Esta hiperplasia se deve a um estímulo da bactéria sobre a planta, onde os tecidos afetados sofrem uma divisão irregular e acelerada, que resulta em proliferações de vários tipos, como galhas, tumores, fasciações e outros.

Os hospedeiros mais comuns e conhecidos desse importante gênero *Pseudomonas* são: batata, tomate, cucurbitáceas em geral, rosáceas, fumo, café, solanáceas selvagens, etc.

As espécies mais conhecidas são: *Pseudomonas solanacearum*, *P. syringae* (que agregam a maior parte das espécies), etc.

5.5 - Gênero *Xanthomonas*

Dentro do sistema de classificação citado pelo Manual de Bergey, o gênero *Xanthomonas* pertence à classe Schizomycetes, ordem Pseudomonadales e família Pseudomonadaceae.

Este gênero foi reclassificado por Dowson, em 1939, quando, então, passou a se chamar *Xanthomonas*, pelo fato de produzir um pigmento amarelo, a Xantofila.

As bactérias deste gênero, atualmente, seguem a classificação proposta em 1978, quando a maioria foi agrupada dentro do gênero *Xanthomonas campestris*, fazendo-se a diferenciação do hospedeiro com o emprego da palavra patovar (pv). Até 1957, já haviam sido descritas 62 espécies causando danos em hospedeiros pertencentes a 33 famílias.

Estas bactérias fitopatogênicas constituem o segundo maior gênero de importância econômica para a agricultura.

As bactérias desse gênero apresentam como características morfológicas, células em forma de bastonete, com um flagelo polar, sendo, portanto, motríquias. A mais importante característica morfológica desse gênero, e que, também, se encontra presente em todas as espécies, é a produção de pigmento amarelo sobre o meio de cultura, com exceção da *X. campestris* pv. *manihotis*,

que não possui essa característica marcante. Alcalinizam o leite, não produzem gás sulfídrico, não produzem ácidos, a partir do mono, e dissacarídeos, etc.

A maioria das espécies causam necrose dos tecidos das plantas afetadas.

A disseminação é feita principalmente através de sementes contaminadas, tanto interna como externamente, por meio da água da chuva, insetos, ferimentos agrícolas, animais e o homem. À longa distância, a disseminação é feita principalmente por meio de mudas e outros órgãos contaminados.

A penetração da bactéria ocorre através dos estômatos, hidatôdios e ferimentos dos mais variados.

Sintomatologia

As espécies do gênero *Xanthomonas* podem causar diferentes tipos de sintomas, entre os quais, manchas foliares, manchas em hastes, pecíolos e frutos, podridões, cancrios e murchas (estas devido à invasão vascular).

Quando a penetração ocorre através de aberturas naturais ou ferimentos, causando manchas nos diferentes órgãos ou tecidos atacados, com forma, tamanho e coloração variada, é chamada de doenças parenquimatosas.

O sintoma mais comum que ocorre nas folhas inicia-se, de maneira geral através de pontuações de coloração verde-escuro. As folhas apresentam-se como se estivessem encharcadas ou manchadas de óleo; esse tipo de sintoma é conhecido como "anasarca".

Em gramíneas, o sintoma mais característico é o aparecimento de estrias, que ocorrem acompanhando as nervuras da folha.

As lesões, quando numerosas, coalescem causando a queima total do órgão afetado, provocando a desfolha precoce.

Na invasão sistêmica, ocorre, inicialmente, uma descoloração dos vasos. O desenvolvimento do patógeno no sistema vascular pode ser facilmente observado, fazendo-se um corte em bisel dos órgãos afetados, onde são encontrados os vasos escurecidos.

Uma vez no interior dos tecidos da planta hospedeira, a bactéria se desenvolve e se multiplica até alcançar os vasos do xilema; com isso, causa um sintoma de murcha na planta, devido à obstrução dos vasos, podendo até causar a sua morte.

Isso tudo está muito relacionado com as condições ideais de temperatura e umidade para o desenvolvimento do patógeno.

O patógeno pode sobreviver de um ano para outro nas sementes (interna ou externamente), em restos da cultura, hospedeiros nativos e nas culturas perenes, que estão presente o ano todo nas regiões tropicais.

Os hospedeiros mais conhecidos e importantes são: tomate, pimentão, citros, mandioca, feijão, algodão, repolho, mamona, etc.

Como exemplo deste gênero, há as seguintes espécies conhecidas: *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, *X. campestris* pv. *phaseoli*, *X. campestris* pv. *manihotis*, *X. campestris* pv. *citri*, etc.

6 - BACTÉRIAS CONSTATADAS EM SEMENTES

Gênero *Agrobacterium*

Agrobacterium radiobacter pv. *tumefaciens* (Smith & Townsend) Young et al.

Bactérias Corineformes fitopatogênicas

Clavibacter iranicum (Scharif) Davis et al. (sin. *Corynebacterium iranicum*)

Clavibacter michiganense subsp. *insidiosum* (Spieckermann & Kotthoff) Davis et al. (sin. *Corynebacterium* pv. *insidiosum*)

**Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* (Smith) Davis et al. (sin. *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*)

Clavibacter michiganense subsp. *nebraskense* (Schuster, Holf, Mandel & Lazar) Davis et al. (sin. *Corynebacterium michiganense* pv. *nebraskense*)

Clavibacter michiganense subsp. *sepedonicum* (Spieckermann & Kotthoff) Davis et al. (sin. *Corynebacterium michiganense* pv. *sepedonicum*)

Clavibacter rathayi (Smith) Davis et al. (sin. *Corynebacterium michiganense* pv. *rathayi*)

Clavibacter tritici (Hutchinson) Davis et al. (sin. *Corynebacterium michiganense* pv. *tritici*)

Curtobacterium flaccumfaciens subsp. *betae* (Keyworth, Howell & Dowson) Collins & Jones (sin. *Corynebacterium michiganense* pv. *betae*)

Curtobacterium flaccumfaciens subsp. *flaccumfaciens* (Hedges) Collins & Jones (sin. *Corynebacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*)

Rhodococcus fascians (Tilford) Goodfellow et al. (sin. *Corynebacterium fascians*)

Gênero *Erwinia*

**Erwinia carotovora* pv. *carotovora* (Jones) Bergey, Harrison, Breed, Hammer & Huntton.

Erwinia carotovora pv. *atroseptica* (van Hall) Young et al.

Erwinia chrysanthemi pv. *zeae* (Sabet) Vitoria, Arboleda & Muñoz

Erwinia herbicola (Lohnis) Dye

Erwinia nolandii Schuster, Schuster & Noland

Erwinia stewartii (Smith) Dye

Gênero *Pseudomonas*

**Ps. syringae* pv. *syringae* van Hall

Ps. adhaerens Tanii & Baba

Ps. andropogonis (Smith) Stapp

Ps. angulata (Framms & Murray) Steves

**Ps. syringae* pv. *antirrhini* (Takimoto) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *apii* (Jagger) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *aptata* (Brown & Jamieson) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *atrofaciens* (McCulloch) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *atropurpurea* (Reddy & Godkin) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *cannabina* (Sutić & Dowson) Young, Dye & Wilkie

**Ps. cichorii* (Swingle) Stapp

Ps. syringae pv. *coronafaciens* (Elliott) Young, Dye & Wilkie

Ps. cuminii (Kovacevski) Dowson

Ps. syringae pv. *delphinii* (Smith) Young, Dye & Wilkie

**Ps. syringae* pv. *garoea* (Amaral, Teixeira & Pinheiro) Young, Dye & Wilkie

Ps. gardenarii Sutić

**Ps. syringae* pv. *glycinea* (Cooper) Young, Dye & Wilkie

**Ps. syringae* pv. *lachrymans* (Smith & Bryan) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *lapsea* (Ark), Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *maculicola* (McCulloch) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *melles* (Johnson) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *panici* (Elliott) Young, Dye & Wilkie

**Ps. syringae* pv. *phaseolicola* (Burkholder) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *pisi* (Sackett) Young, Dye & Wilkie

Ps. syringae pv. *primulae* (Ark & Gardner) Young, Dye & Wilkie

Ps. polycolor Clara

Ps. ramonica Schneider & Ilukina

- **Ps. rubrilineans* (Lee, Purdy, Barnum & Martin) Stapp
 **Ps. syringae* pv. *sesami* (Malkoff) Young, Dye & Wilkie
Ps. syringae pv. *striafaciens* (Elliott) Young, Dye & Wilkie
 **Ps. syringae* pv. *tabaci* (Wolf & Foster) Young, Dye & Wilkie
 **Ps. syringae* pv. *tagetis* (Hellmers) Young, Dye & Wilkie
 **Ps. syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Wilkie
Ps. viridiflava (Burkholder) Dowson
Pseudomonas spp.

Género *Xanthomonas*

- **X. campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson
X. campestris pv. *alfariae* (Riker, Jones & Davis) Dye
X. campestris pv. *argemoneae* (Srinivasan, Patel & Thirumalachar) Dye
X. axonopodis Starr & Garcés
 **X. campestris* pv. *dieffenbachiae* (McCulloch & Pirone) Dye
X. campestris pv. *cassavae* (Wiehe & Dowson) Marathe & Weyns
X. campestris pv. *carotae* (Kendrick) Dye
 **X. campestris* pv. *citri* (Hasse) Dye
X. campestris pv. *cucurbitae* (Bryan) Dye
X. campestris pv. *cyamopsidis* (Patel, Dhande & Kulkarni) Dye
X. campestris pv. *esculenti* (Rangaswami & Easwaran) Dye
 **X. campestris* pv. *glycines* (Nakano) Dye
 **X. campestris* pv. *helianthi*
X. heterocea (Visorov) Savulescu
X. campestris pv. *holcicola* (Elliott) Dye
X. campestris pv. *hordei* (Hagborg) Dye
X. campestris pv. *itoana* (Tochinai) Dowson
X. campestris pv. *juglandis* (Pierce) Dye
X. kresk Schure-Kresk
X. campestris pv. *lepedezae* (Ayres) Defebvre & Johnson) Dye
 **X. campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye
 **X. campestris* pv. *manihotis* (Arthaud-Berthet) Dye
 **X. campestris* pv. *melonis* (Rodrigues Neto, Sugimori & Oliveira)
X. campestris pv. *nigromaculans* (Takimoto) Dye
X. campestris pv. *orysae* (Ishiyama) Dye
X. campestris pv. *oryzicola* (Fang, Ren, Chen, Chu, Faa & Wu) Dye
X. campestris pv. *papavericola* (Bryan & McWhorter) Dye

- **X. campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye
- X. campestris* pv. *phleipratensis* (Wallin & Reddy) Dye
- X. campestris* pv. *raphani* (White) Dye
- **X. campestris* pv. *ricini* (Yoshii & Rakimoto) Dye
- X. rubefaciens* (Burr.) Magrou & Prévot
- **X. campestris* pv. *sesami* (Sabet & Dowson) Dye
- X. campestris* pv. *translucens* (Jones, Johnson & Reddy) Dye
- X. campestris* pv. *undulosa* (Smith, Jones & Reddy) Dye
- **X. campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye
- X. campestris* pv. *virginicola* (Burkholder) Dye
- X. campestris* pv. *vitians* (Brown) Dye
- X. campestris* pv. *zinniae* (Hopkins & Dowson) Dye
- Xanthomonas* spp.

- * Patógenos que ocorrem no Brasil, mas nem todos são constatados como transmitidas pelas sementes.

LITERATURA CONSULTADA

- BIER, O. Bacteriologia e Imunologia. 2ed. São Paulo, Edições Melhoramento, 1945. 672 p.
- BREED, R.S.; MURRAY, E.G.D. e SMITH, N.R. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7ed. Baltimore, The Williams & Wildins Company, 1957. 1094 p.
- DOWSON, W.J. Plant Diseases Due to Bacteria. 2ed. Cambridge, The Syndics of the Cambridge University Press. 1957. 232 p.
- DYE, D.W.; BRADBURY, J.F.; GOTO, M.; HAYWARD, A.C.; LELLIOTT, R.A. and SCHROTH, M. N. International Standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. Review of Plant Pathology, London, 59(4): 153-168, 1980.
- GALLI, F. et alii. Manual de Fitopatologia, 2ed. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1978. V. I.
- KRIEG, N.R. and HOLT, J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 8 ed. Baltimore and London, Williams & Wilkins, 1984. V.I.
- LOURES, E.G. & GUIMARÃES, W.V. Microbiologia - Técnicas de Laboratório. 2 ed. Viçosa, Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa. 1974. 54p.

- PELCZAR Jr., M.J. & REID, R.D. Microbiology. 3ed. New York, McGraw Hill, Inc. 1974. 948 p.
- ROBBS, C.F. & VIEGAS, E.C. Guia de Controle às Pragas e Doenças das Culturas Econômicas do Estado. 1- Olerícolas. Rio de Janeiro, Divisão de Defesa Vegetal, Secretaria de Estado de Agricultura e Abastecimento, Departamento Geral de Agropecuária. 1978. 84 p.
- ROBBS, C.F. O gênero *Corynebacterium* no Brasil. Colóquio de Bacteriologia Vegetal. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 18., Fortaleza, Ceará, 1985. 213-215. (Resumo).

CAPÍTULO IV

VÍRUS EM SEMENTES

Miguel Dalmo de Menezes Porto ⁽¹⁾1 - INTRODUÇÃO

As doenças de plantas afetam, de forma significativa, a produção agrícola em todo o mundo, reduzindo a quantidade e/ou a qualidade dos alimentos e, como consequência, originando problemas econômicos e sociais.

Em vista de tais efeitos, os fitopatologistas buscam, constantemente, o desenvolvimento de métodos para controlar estas moléstias. Não se trata de uma tarefa fácil, já que a eficiência de um método de controle depende de um número acentuado de fatores, os quais devem ser considerados simultaneamente. Entretanto, pode-se estabelecer uma base, constituída por duas informações essenciais (agente causador e ciclo da moléstia), partindo-se daí para as demais investigações.

O objetivo primordial de qualquer método de controle é o de interromper o ciclo de uma moléstia, alterando ou inibindo o desenvolvimento de uma ou mais de suas fases. A vulnerabilidade de cada fase depende do patógeno e de outros fatores essenciais ao desenvolvimento daquela fase.

A transmissão de agentes fitopatogênicos, por exemplo, se constitui numa importante fase dos ciclos de moléstias e, em muitos casos, o controle está baseado na sua inibição total ou redução acentuada. Este controle da transmissão é muito empregado para as moléstias causadas por vírus, os quais podem ser disseminados pelas sementes, por insetos, por *Cuscuta* spp., por nematóides, por fungos e por enxertia.

A importância da transmissão por sementes é incontestável: sementes infectadas darão origem a plantas doentes e estas funcionarão como fontes de inóculo; os insetos, então, poderão disseminar a moléstia para as demais

⁽¹⁾ Ph.D. em Fitopatologia, Professor Adjunto da Faculdade de Agronomia da UFRGS. Caixa Postal 776, 90000 Porto Alegre, RS.

plantas da lavoura ou de lavouras vizinhas. Além desta transmissão local, o estado sanitário das sementes também assume importância fundamental no comércio internacional de sementes, uma vez que a introdução de moléstias em novas regiões, até mesmo nas mais longínquas, é grandemente facilitada por esta forma de transmissão.

Torna-se evidente, portanto, a necessidade de bons conhecimentos sobre viroses transmitidas por sementes, especialmente no que se refere a hospedeiros e outras formas de transmissão.

2 - CARACTERÍSTICAS GERAIS

Os vírus são parasitas obrigatórios que se diferenciam dos demais fitopatógenos por apresentarem um ciclo vital composto por, apenas, duas fases discretas: a fase de disseminação e a fase de multiplicação.

Na fase de disseminação, as partículas virais apresentam-se com ácido nucleico envolto numa capa proteica. Alguns vírus contêm enzimas, frequentemente transcriptases, mas nunca enzimas catabólicas nem tRNA.

A fase de multiplicação se inicia quando os vírus penetram nas células do hospedeiro e liberam seu ácido nucleico. Os genes do vírus, então, se tornam metabolicamente ativos e redirecionam o metabolismo do hospedeiro no sentido de multiplicar o genótipo e a capa proteica do vírus. Segue-se a fase de "montagem" das novas partículas e estas são dispersadas para outras células do mesmo hospedeiro ou até para outros hospedeiros. Desta forma, disseminação e multiplicação se alternam neste reduzido ciclo vital. Estas duas fases proporcionam informações que são essenciais para a identificação e caracterização do(s) vírus: a fase de multiplicação proporciona informações sobre hospedeiros, estratégias de multiplicação e de produção de sintomas; a fase de disseminação apresenta partículas que podem ser caracterizadas física, química e biologicamente.

2.1 - Composição

A regra geral para os vírus fitopatogênicos é a de que eles são compostos por uma cadeia simples de ácido ribonucleico (RNA) envolto em uma capa proteica. Entretanto, existem algumas exceções.

a) no grupo Fijivirus, o RNA se apresenta em cadeia dupla e a capa proteica também tem a função de transcriptase. Esta mesma função de capa protei-

ca é encontrada no grupo Phytoreovirus;

b) O grupo Caulimovirus apresenta cadeia dupla de ácido desorribonucleico (DNA), enquanto que, no grupo Geminivirus, o DNA se apresenta em cadeia simples;

c) Alguns vírus, como os grupos Rhabdovirus e "Tomato Spotted Wilt Virus" (TSWV), apresentam partículas com lipídios, polissacarídeos e carboidratos, além do RNA e capa proteica.

A concentração de RNA varia de 1 a 40%, sendo que os isométricos apresentam as maiores concentrações. Já a concentração de proteína situa-se entre 60 e 96%, cabendo aos isométricos as menores concentrações. O grupo Caulimovirus apresenta 17% de DNA e o grupo Geminivirus tem 20 e 30% deste ácido.

A concentração de lipídios varia de 20 e 25%, com maior concentração nos Rhabdovirus. Este mesmo grupo também apresenta até 4% de polissacarídeos. O grupo TSWV também possui lipídios e cerca de 5% de carboidratos.

2.2 - Morfologia e tamanho

Os vírus podem se apresentar das seguintes formas:

Exemplos

Isométricos (poliédricos)	Comovirus
Bastonetes ou filamentos	Potyvirus
Baciliforme	Mosaico-da-alfafa
Geminados	Mosaico-dourado-do-feijoeiro
Formas incomuns ou complexas	Mosaico-estriado-do-arroz

Em termos de tamanho, os isométricos apresentam um diâmetro variável de 17 a 85 nm, com uma maior frequência na faixa de 28 a 30 nm. Já as demais formas apresentam um comprimento variável de 121 a 2000 nm e uma espessura de 11 a 95 nm, sendo que a maioria dos vírus fitopatogênicos está na faixa de 300 a 800 nm de comprimento por 11 a 20 nm de espessura.

2.3 - Propriedades físicas

Durante muito tempo, algumas propriedades físicas, como o ponto de inativação térmica (PIT), a longevidade "in vitro" (LIV) e o máximo de diluição ativa (MDA), foram utilizadas como características importantes para a identificação dos vírus. Atualmente, esta identificação é baseada num número bem maior de informações, mas as propriedades citadas ainda se constituem em

dados importantes, permitindo, inclusive, uma previsão sobre a estabilidade das partículas.

Os vírus atualmente conhecidos apresentam os seguintes graus de variação:

TIP	de 45 a 95°C;
LIV	de menos de 5 horas a mais de 365 dias;
MDA	de 10^{-2} a 10^{-6} .

Os valores mais baixos correspondem às propriedades do vírus do "Vira-Cabeça-do-Tomateiro" (TSWV), enquanto que os valores mais altos representam as propriedades do vírus do mosaico-do-fumo (TMV). O TSWV é o mais instável, enquanto que o TMV é o vírus fitopatogênico mais estável que se conhece.

A maioria dos vírus fitopatogênicos apresentam suas propriedades físicas dentro dos seguintes limites de variação:

TIP	de 55 a 70°C;
LIV	de 4 a 8 dias;
MDA	de 10^{-3} a 20^{-5} .

Uma outra propriedade física bastante estudada diz respeito à sedimentação das partículas em um gradiente de sacarose ou em cloreto de cério. Os vírus fitopatogênicos apresentam um coeficiente de sedimentação entre 49 e 1200 S em sacarose, com uma maior frequência entre 100 e 200 S.

Foi através do estudo de sedimentação que se tornou possível verificar a existência, num mesmo vírus, de partículas com diferentes densidades e, conseqüentemente, diferentes coeficientes de sedimentação. É interessante notar que partículas com diferentes coeficientes de sedimentação também possuem diferentes percentagens de ácido nucleico e de proteína.

2.4 - Transmissão

Dos trinta e sete grupos de vírus fitopatogênicos, 23 são transmitidos por insetos, 13 apresentam transmissão por sementes, 4 são transmitidos por fungos de solo, 3 são transmitidos pelo simples contato entre plantas, 3 são transmitidos pelo solo (sem auxílio de vetor), 2 são transmitidos por nematóides e 2 são transmitidos pelo pólen. A transmissão mecânica experimental é possível em 33 dos 37 grupos.

Na transmissão por insetos, destacam-se os pulgões, com atuação em doze grupos, e as cigarrinhas, que transmitem seis grupos de vírus. Esta transmissão por insetos pode ser dividida em não persistente, semi-persisten-

te e persistente.

No tipo não-persistente, o vírus é "adquirido" quando o inseto se alimenta em uma planta infectada, e "perdido", logo que o inseto começa a se alimentar em outra planta. A partir deste momento, o inseto não é mais transmissor.

No tipo semi-persistente, o vírus é "perdido" durante as eodises, enquanto que no tipo persistente, o inseto, após ter "adquirido" o vírus, se torna um vetor permanente. Este último tipo pode ainda ser subdividido em dois subgrupos: os que são transmitidos à prole e os não transmitidos à prole.

A transmissão por sementes, como já foi mencionada na parte introdutória, constitui o objeto principal deste trabalho e, por esta razão, será detalhada mais adiante.

Os demais tipos de transmissão, embora restritos a um menor número de grupos, também são muito importantes, já que, em alguns casos, se constituem na única forma de transmissão de um determinado grupo, como o que acontece com o mosaico-do-trigo, transmitido pelo fungo *Polymyxa graminis*.

2.5 - Sorologia

A capa proteica, presente nas partículas de vírus, tem propriedades antigênicas, isto é, são substâncias capazes de induzir a formação de anticorpos.

Os anticorpos têm a extraordinária propriedade de "reconhecer" e formar complexos químicos somente com os antígenos que induziram a sua produção. Existem diversos tipos ou classes de anticorpos, mas, para as proteínas de vírus de plantas, predominam os formados por gamaglobulina (7 S e peso molecular de $1,5$ a $1,6 \times 10^{-5}$).

Os testes sorológicos, além de proporcionarem uma identificação precisa do vírus, também se constituem num método muito útil para estabelecer se há (ou não) relacionamento sorológico entre dois ou mais isolados de vírus. Se dois isolados forem iguais, eles reagirão de forma idêntica frente ao mesmo anti-soro; se eles forem distintos, mas com algum relacionamento, as reações não serão idênticas; se eles forem distintos e sem relacionamento, a reação antígeno x anti-soro envolverá apenas um dos isolados. Este tipo de situação também é um meio auxiliar para a distribuição dos vírus nos diversos grupos.

2.6 - Sintomatologia

As viroses, como as demais fitomoléstias, não aparecem instantaneamente; elas resultam de uma sequência de eventos, usualmente um conduzindo ao outro, resultando (ou não) em alterações visíveis no hospedeiro. A estas alterações é dado o nome de sintomas.

A sintomatologia de moléstias de plantas tem sido objetivo de inúmeras publicações e, em muitos textos de Fitopatologia, são apresentadas revisões detalhadas sobre o assunto. Para este trabalho, preferimos adotar o esquema proposto por BOS, por ser mais específico para viroses.

Os "sintomas locais" ocorrem junto aos locais onde o vírus penetrou. Quando uma área de tecido doente se torna visível, ela é chamada de lesão, ou, mais precisamente, "lesão local". Esta lesão pode ser representada por discoloração ou mesmo morte de tecidos. Algumas vezes, estas lesões são visíveis somente com o auxílio de microscópio estereoscópico (Exemplo: determinação de acumulação de amido).

Se a planta não for hipersensível, o vírus progredirá no interior da mesma e começarão a surgir sintomas de infecção sistêmica, os quais são representados pelos exemplos a seguir.

a. Desvios na coloração:

a.1. distribuição regular;

a.1.1. ocorrência geral;

coloração verde intensificada;

clorose;

branqueamento;

amarelecimento;

cor vermelha ou púrpura;

coloração marrom ou preta;

bronzamento;

a.1.2. ocorrência restrita a certas partes da planta;

servem os mesmos exemplos de a.1.1.;

a.2. distribuição irregular ou em manchas;

a.2.1. manchas bem definidas;

mosaicos: da folha, das nervuras, internerval, bandeamento das nervuras;

manchas arredondadas: moteamento, pontos, mancha anelar;

manchas radiais: asteróides;

manchas alongadas: estrias;

a.2.2. manchas difusas;

a.2.3. em linhas ou faixas (ex.: tipo folha de carvalho).

b. Deformações:

b.1. primárias, devido a um desequilíbrio hormonal;

proliferação;

tumores;

inchações;

concavidades em ramos e troncos;

achatamento dos ramos;

diminuição do tamanho dos internós;

Nas folhas: estreitamento, enrolamento, epinastia, hipertrofia, rugosidade;

b.2. secundárias, conseqüências mecânicas de outros sintomas de deformação;

servem os mesmos exemplos acima.

Se adotarmos uma definição mais ampla para sintomas, podemos incluir alterações que ocorrem a nível celular e, neste caso, assumem grande importância as inclusões celulares.

Muitos vírus vegetais induzem inclusões intracelulares distintas. Estas podem conter partículas de vírus e/ou produtos de origem viral e, em alguns casos, constituintes celulares modificados. A maioria das inclusões é mais ou menos constante num grande número de hospedeiros. A sua detecção pode se constituir num método rápido e relativamente barato de determinação de vírus, já que, em muitos casos, cada inclusão tem uma característica definida, de forma a poder ser usada para a identificação de um vírus específico.

Estudos citológicos de inclusões podem ser realizados com microscópio comum e microscópio eletrônico, com informações úteis em ambos os métodos. As inclusões são, em geral, de tamanho suficiente para serem visualizadas pelo microscópio comum, desde que adequadamente coradas. O uso de microscópio comum representa uma série de vantagens, como: disponibilidade em salas de aula e em laboratórios de rotina, baixo custo operacional. Já o microscópio eletrônico fornece valiosas informações sobre as inclusões e seu ambiente a nível ultra-estrutural; estas informações sobre a ultra-estrutura das inclusões podem ser usadas para a distinção dos diferentes tipos de inclusões.

Tipos de inclusões

Agregados em canadas - inclusões consistindo de elementos alongados, isolados ou em feixes

Inclusões complexas - consistindo da combinação de partículas de vírus, organelas do hospedeiros e, em alguns casos, de estruturas proteicas induzidas pelo vírus.

Inclusões cilíndricas - termo usado para descrever o aspecto tridimensional de inclusões proteicas induzidas pelos vírus do grupo Potyvirus.

Agregados laminares - no microscópio eletrônico, eles aparecem como grandes discos planos, compostos de diversos discos finos em orientação paralela.

Inclusões cristalóides apresentando algumas ou todas as propriedades de um cristal.

Cristais hexagonais - características do vírus do mosaico-do-fumo.

Corpos X - é composta por "X-tubules", vacúolos e organelas da célula hospedeira, especialmente ribossomos, retículo endoplasmático e corpúsculos de Golgi.

Com respeito à manifestação dos sintomas, é sempre importante lembrar que ela varia de acordo com a interação vírus-hospedeiro, bem como com o ambiente a que esta interação está sujeita. Merece destaque o efeito de temperatura, já que em condições de temperatura elevada ($+35^{\circ}\text{C}$) pode haver um mascaramento ou até ausência total de sintomas, mesmo em plantas severamente infectadas.

3 - CLASSIFICAÇÃO

Os vírus não são comparáveis a organismos vivos complexos, com órgãos e estruturas celulares, e este é o motivo de sua classificação ter evoluído juntamente com o estudo de sua natureza, principalmente no que se refere à morfologia e estrutura das partículas.

A divisão dos vírus em grande grupos, em relação aos hospedeiros (vertebrados, invertebrados, plantas, bactérias e fungos), tem sido mantida a través de sua curta história, muito embora, todos eles tenham propriedades co muns, como a de possuir apenas um tipo de ácido nucleico (DNA ou RNA); a de reproduzirem-se somente por seu ácido nucleico; a de não serem capazes de se multiplicarem por fissão binária; a de não possuírem a informação genética ne cessária para a síntese e produção de energia etc.

MATTHEWS (1970), em seu livro sobre virologia vegetal, incluiu uma breve revisão sobre o histórico da nomenclatura e classificação dos vírus vegetais, salientando que, desde 1930, o estudo de classificação está entregue a Comitês Internacionais, verificando-se grandes progressos, com excelentes proposições, mas sem um resultado conclusivo. Isto é devido ao ritmo acentuado de progresso nesta área, havendo, inclusive, situações de trabalhos científicos que, no momento em que foram publicados, já estavam desatualizados.

Cumpré, portanto, apresentar a mais recente proposição relativa à classificação dos vírus vegetais, alertando para o fato de que a mesma não é definitiva e, portanto, poderá ser modificada ou até ser totalmente substituída.

Os pesquisadores australianos BOSWELL & GIBBS (1983), num trabalho de compilação de informações sobre viroses de leguminosas, organizaram um programa de computação de dados, denominado VIDE ("Virus Identification Data Exchange"), através do qual foi possível tabular muitas informações e distribuir os vírus em 37 grupos distintos. Cada um destes grupos é caracterizado como segue.

1. Partículas de vírus com a mesma estrutura e uma composição muito semelhante.

São usualmente iguais em aparência e apresentam um comportamento hidrodinâmico semelhante. Os genomas virais são de tamanho e composição semelhantes, o mesmo acontecendo com as proteínas. Quando sequenciadas, estas macromoléculas apresentam acentuada semelhança nas sequências de nucleotídeos e de aminoácidos, respectivamente. Esta é a causa de haver relacionamento na hibridade de ácidos nucleicos e nos testes sorológicos.

2. Os genomas apresentam comportamento semelhante.

Os vírus de um mesmo grupo causam sintomas e alterações citológicas semelhantes. As células infectadas multiplicam o ácido nucleico do vírus com a mesma variação de tamanho. Além disto, um vírus, frequentemente, apresenta o fenômeno de proteção cruzada num hospedeiro infectado contra a infecção por um outro vírus do mesmo grupo.

3. Apresentam ciclos vitais semelhantes.

Os vírus, que são transmitidos por vetores, apresentam vetores taxonomicamente relacionados e as relações vírus x vetor são idênticas.

Dentro de cada grupo, os seus membros diferem frequente e caracteristicamente em:

- a. não apresentarem os mesmos hospedeiros naturais e/ou experimentais;
- b. causarem sintomas diversos num hospedeiro específico;
- c. produzirem vetores de diferentes espécies.

Em função dos critérios registrados acima, os vírus foram distribuídos nos seguintes grupos:

Alfalfa mosaic virus group (^{2/}), Barley yellow mosaic virus, Broad bean wilt virus, Bromovirus, Cacao swollen shoot virus, Carlavirus, Caulimovirus, Closterovirus subgrupo 1, Closterovirus subgrupo 2, Comovirus, Cucumovirus, Dianthovirus, Hordeivirus, Illarvirus, Luteovirus, Machlovirus, Nepovirus, Oat blue dwarf virus, Pea enation mosaic virus, Phytoreovirus, Plant rhabdovirus A, Plant rhabdovirus B, Potexvirus, Potyvirus, Rice stripe mosaic virus, Ryegrass mosaic virus, Sobemovirus, Soil-borne wheat mosaic virus, Tobacco necrosis virus TNV satellite virus, Tobamovirus, Tobravirus, Tomato spotted wilt virus, Tombusvirus, Tymovirus.

Para se dar uma idéia do número de informações envolvidas, transcrevemos abaixo alguns dados do grupo Potyvirus.

Grupo Potyvirus - R/l: 3,2/L: E/E: S/C,Ve/Ap

Membro padrão: Vírus Y de batata

Outros membros: mosaico-comum-do-feijoeiro, mosaico-amarelo-do-feijoeiro, mosaico-amarelo-do-feijoeiro, mosaico-da-beterraba, mosaico-da-alfaca, nanismo amarelo da cebola, mancha anelar do mamoeiro, mosaico-comum-da-soja, mosaico-da-cana-de-açúcar, mosaico-da-melancia, outros.

Morfologia: bastonetes longos, flexuosos, com um comprimento modal de 720 a 900 nm e uma espessura de 11 nm. Apresenta cinco nucleotídeos por subunidade de capa proteica e esta apresenta 8,2 subunidades em cada volta completa da espiral.

Estabilidade: TIP de 55 a 65°C, LIV de 4 a 10 dias, MDA de 10^{-2} a 10^{-4} . A infectividade não é alterada pelo tratamento com éter dietílico.

Propriedades físico-químicas: as partículas sedimentam em apenas uma faixa (um componente). O coeficiente de sedimentação é de 140 a 154 S. A densida-

(^{2/}) Foi utilizada a terminologia em inglês, já que, no estágio atual da classificação e nomenclatura de vírus, esta terminologia tem sido aceita internacionalmente.

de em cloreto de céso é de 1,325 a 1,336 gramas/cm³. A absorbância específica (a 260 nm) é de 2,4 a 2,9 por mg por ml. A razão A_{260}/A_{280} para preparações não fracionadas é de 1,14 a 1,25

Composição química: 5,5% de RNA e 94,5% de proteína.

O RNA é de cadeia simples, linear, com um peso molecular de 3 a $3,5 \times 10^6$ daltons. As bases se apresentam nas seguintes proporções: guanina 20,2 a 27,8%, adenina 23 a 44%, citosina 16,2 a 27% e uracil 15 a 30,1%.

A proteína possui 1700 subunidades em cada partícula, com um peso molecular de $3,2$ a $3,6 \times 10^4$ daltons. Estas proteínas não são glicosadas nem fosforiladas. Nas inclusões típicas do grupo, a proteína tem um peso molecular de $6,7$ a 7×10^4 daltons.

Sorologia: variável. Não reagem em testes padrões de dupla difusão. Apresenta alguma reação após o tratamento das partículas com ultrassom ou com produtos químicos, como: 0,5% de dodecilsulfato de sódio, ou 0,5M etanolamina, ou 5% de pirrolidina.

Mudanças estruturais na planta infectada: partículas de vírus são encontradas em todos os tecidos. A nível celular, são encontradas no citoplasma, especialmente no tonoplasma e entre mitocôndrias, e também nos vacúolos. Inclusões do tipo catavento são encontradas no citoplasma e tem valor diagnóstico. Alguns vírus também apresentam cristais intranucleares.

Transmissão: é transmitido por inoculação mecânica, por sementes e por insetos. Os insetos vetores pertencem à família *Aphididae* e a transmissão é do tipo não persistente.

Hospedeiros e sintomas: lesões necróticas nas folhas inoculadas, lesões cloróticas nas folhas inoculadas, nanismo, necrose sistêmica, manchas e estrias necróticas sistêmicas, manchas e estrias cloróticas sistêmicas, mosaico, bandeamento sistêmico de nervuras, irregulares na coloração de flores, legumes e sementes. Os hospedeiros experimentais estão restritos a duas ou poucas famílias de plantas suscetíveis.

4 - TRANSMISSÃO DE VIROSES POR SEMENTES

A transmissão de sementes se constitui num meio eficiente de introdução de um vírus num cultivo, já no estágio inicial do desenvolvimento, formando focos de infecção casualizados na lavoura. Assim, quando qualquer outro método de transmissão puder disseminar o vírus a partir desses focos, então a transmissão por sementes pode assumir importância econômica considerável. Por

outro lado, os vírus podem persistir nas sementes por longos períodos, de forma que a distribuição comercial de sementes se constitui num meio eficiente de disseminação de viroses a longas distâncias.

Frequência e extensão da transmissão

No início deste século, alguns pesquisadores eram de opinião de que a transmissão de vírus por sementes era um fenômeno raro. Atualmente, sabe-se que este tipo de transmissão ocorre com uma frequência relativamente elevada entre as diversas interações vírus x hospedeiro. Entretanto, em muitos casos, somente uma pequena proporção de plantas, oriundas de sementes produzidas por plantas infectadas, se apresenta com a virose.

A extensão da transmissão, ou seja, a percentagem de sementes com partículas de vírus é, aparentemente, mais dependente da interação vírus x hospedeiro do que de qualquer outro fator. Por exemplo, plantas de soja, com o vírus da mancha anelar do fumo (TRSV), podem apresentar até 100% de transmissão por sementes, enquanto que plantas de alface com mosaico produzem de 3 a 15% de sementes infectadas. Além disto, um mesmo vírus não é, provavelmente, transmitido pelas sementes de todos os seus hospedeiros.

Influências dos genótipos dos vírus e do hospedeiro

Existem inúmeros exemplos que atestam estas influências, como os trabalhos com o vírus do mosaico-da-soja em que a transmissão por sementes de diferentes cultivares varia de 0 a 70%. Estudos com o mosaico-comum-do-feijoeiro em diferentes cultivares também mostraram que a transmissão por sementes varia de 1 a 75%. Em alguns casos, parece haver uma boa correlação entre severidade dos sintomas e percentagem de transmissão.

As diferentes estirpes de um mesmo vírus também induzem grandes variações nas percentagens de transmissão, existindo, inclusive, casos de estirpes que causam apenas lesões locais e, conseqüentemente, não são transmitidas pelas sementes.

Época de infecção

Em geral, quanto mais cedo a planta for infectada, maior será a percentagem das sementes que transmitirão o vírus. Uma exceção é o caso do mosaico-estriado-da-cevada, cujo máximo de sementes com vírus ocorre quando a planta se torna infectada aos dez dias antes do espigamento.

Localização das sementes na planta

Não existe, até o presente, evidência de que este fator influencie a proporção de sementes infectadas.

Idade das sementes

Alguns vírus, em sementes armazenadas, têm sua concentração reduzida muito mais rapidamente do que a perda de viabilidade destas sementes. Por exemplo, o vírus da mancha necrótica anelar de cerejeira pode permanecer, em sementes armazenadas a 2°C, por quatro anos, na proporção de 60 a 70%, mas, no sexto ano, esta proporção cai para menos de 5%.

Temperatura

Sementes bem secas são muito mais resistentes a altas temperatura do que outras partes da planta. Os vírus transmitidos por sementes parecem tolerar, tanto quanto as sementes, temperaturas elevadas. O vírus do mosaico-comum-do-feijoeiro, por exemplo, não é muito resistente ao calor "in vitro"; no entanto, o tratamento de sementes a 100°C, por diversas horas, não foi suficiente para inativar este vírus.

Mecanismos de transmissão por sementes

A habilidade para invadir o embrião e, assim, se transmitir pela semente não é determinada somente pelo vírus ou pelo hospedeiro, mas é claramente dependente da constituição genotípica de ambos. Em alguns casos excepcionais, o fato de um vírus não ser transmitido pelas sementes não está relacionado com a sua inabilidade de invadir o embrião.

A maioria dos vírus transmissíveis por sementes são encontrados nos diversos tecidos das sementes, mas o fator crítico é a sua habilidade de invadir e sobreviver no embrião. Outros vírus não transmissíveis pelas sementes são comumente encontrados no tegumento. Todos os vírus transmissíveis em altas proporções parecem possuir a habilidade de infectar tecidos gametofíticos durante os estágios iniciais de desenvolvimento e de persistirem através das fases subsequentes de crescimento e maturação.

4.1 - Algumas considerações sobre legislação

NEERGAARD (1979) salienta que a falta de rigorismo na legislação pode ser devida aos seguintes fatos:

a) o inóculo de muitas moléstias transmitidas por sementes não pode ser detectado pelo exame direto das sementes secas, mesmo com o uso de um microscópio estereoscópico;

b) o desenvolvimento de testes rotineiros de análise tem sido muito lento e a sua padronização, a nível internacional, não tem mais de 25 anos;

c) para muitas moléstias importantes, ainda não existem métodos que possam ser usados, rotineiramente, pelos laboratórios que trabalham com sanidade de sementes;

d) a quantidade de inóculo, em muitos casos, é extremamente pequena (o exemplo de uma semente infectada em milhares ou a presença de inóculo nas impurezas), de forma que os métodos rotineiros de amostragem podem se mostrar ineficientes. Tais moléstias podem requerer precauções especiais. Entretanto, a análise de sementes é negligenciada na maioria dos países;

e) a política, seguida por muitos países no estabelecimento das exigências de quarentena para moléstias transmitidas por sementes, não é precisa. Frequentemente, não são especificados os requisitos de importação, sendo exigido, apenas, um certificado geral de sanidade das sementes, sem maiores instruções aos países exportadores. Para muitos países, as formalidades de um certificado têm mais valor do que os relatórios técnicos.

No Brasil, com a criação do Centro Nacional de Recursos Genéticos/EMBRAPA, foi iniciada a fase de maior controle da qualidade de sementes e materiais destinados à propagação vegetativa. O Serviço de Produção de Sementes Básicas, também da EMBRAPA, é outro órgão oficial que tem mostrado preocupação com respeito ao estado sanitário das sementes.

Entretanto, quando se trata da importação de sementes para fins comerciais, ou da produção comercial de sementes, verifica-se que a legislação brasileira, no que se refere à transmissão de patógenos, ainda é muito deficiente. Os parágrafos abaixo exemplificam esta situação:

As tolerâncias máximas que devem ser observadas para o desembaraço alfanegário de partidas de batata importada para alimentação ou plantio admitem até 6% de tubérculos com "coração preto e manchas internas". As manchas internas, em tubérculos de batata, podem ter diversas causas, entre as quais encontramos as viroses: "Alfalfa mosaic, Potato aucuba, Potato leaf roll, Potato mop top, Tobacco rattle". As três primeiras viroses são transmitidas por pulgões, a quinta virose é transmitida por nematóides, enquanto que a "Potato mop top" é transmitida pelo fungo *Spongospora subterranea*. Este fungo não é de ocorrência comum no Brasil, mas pode ser "importado" com uma tolerân-

cia máxima de 5%, o que equivale dizer que temos o amparo legal para "importar" a virose e seu respectivo vetor.

A produção local de tubérculos para plantio também está sujeita a uma legislação frouxa. A portaria 751/76, do Ministério da Agricultura, estabelece tolerâncias máximas para doenças, defeitos e anormalidades de tubérculos-semente e estas tolerâncias, no que se refere a viroses, não proporcionam uma medida eficiente de controle. Como muitos agricultores reservam parte de sua produção para utilizá-la em plantios futuros e como se trata de material de propagação vegetativa, estas elevadas tolerâncias para viroses tendem a intensificar o problema já conhecido como "Degenerescência". Por outro lado, mesmo que o agricultor compre, anualmente, tubérculos para plantio, ele corre sérios riscos de ter a sua lavoura prejudicada por viroses, considerando-se a qualidade dos tubérculos plantados e a existência de vetores na área.

5 - RELAÇÃO DE ALGUMAS VIROSES TRANSMITIDAS POR SEMENTES

Na relação a seguir são apresentadas algumas viroses cuja transmissão é por sementes.

Viroses	Hospedeiros ⁽¹⁾ e transmissão por sementes ⁽²⁾
Alfalfa mosaic	<i>Capsicum annuum</i> (1-5) <i>Medicago sativa</i> (55)
Apple Mosaic	<i>Betula pendula</i> (pólen) <i>Vigna unguiculata</i> (2)
Arabis Mosaic	<i>Beta vulgaris</i> (13) <i>Capsella bursa pastoris</i> (53) <i>Chenopodium album</i> (80) <i>Lycopersicon esculentum</i> (2) <i>Myosotis arvensis</i> (19-95) <i>Plantago major</i> (5-28) <i>Stellaria media</i> (57) <i>Glycine max</i> (6)

Continua

Continuação

Viroses

Hospedeiros ⁽¹⁾ e transmissão por sementes ⁽²⁾

Lactuca sativa

Petunia hybrida

Barley Stripe Mosaic

Agropyron elongatum (22)

Avena fatua (22)

Avena sativa (10)

Bromus inermis (8)

Hordeum depressum (3)

H. glaucum (2)

H. vulgare (60)(E-p)

Lolium spp. (3-8)

Triticum aestivum (7-81)

Bean Common Mosaic

Phaseolus vulgaris (2-66)(E-T)

Vigna sesquipedalis (37)

V. sinensis (25-40)

Macroptilium lathyroides (33)

Bean Southern Mosaic

Phaseolus vulgaris (5-21)

Vigna unguiculata (1-3)

Bean Yellow Mosaic

Lupinus albus (6)(E-T)

L. luteus (6)

Melilotus alba (3-5)

Pisum sativum (10-30)

Vicia faba (2)

Broad Bean Mosaic

Vicia faba (3-15)

Broad Bean Mottle

Phaseolus mungo (6-7)

Broad Bean Stain

Vicia faba (1-10)

Continua

Continuação

Viroses

Hospedeiros ⁽¹⁾ e transmissão por sementes ⁽²⁾

Cherry Leaf Roll

Betula spp. (22)
Glycine max (100)
Nicotiana tabacum (1)
Phaseolus vulgaris (12-40)
Viola tricolor (2)

Cowpea Mild Mottle

Glycine max (90)
Phaseolus vulgaris (6)
Vigna unguiculata (90)

Cowpea Mosaic

Vigna sesquipedalis (8)
Vigna sinensis (10-23) (E-T)
Vigna catjang (17)

Cucumber Green-Mottle Mosaic

Cucumis sativus (44)

Cucumber Mosaic

Capsicum annuum (1)
Cucumis melo (traços)
Cucurbita moschata (0,7)
Cucurbita pepo (9) (E-P-T)
Lycopersicon esculentum (0,2)
Phaseolus aureus (5)
Phaseolus vulgaris (7)
Stellaria media (21-40)
Vigna unguiculata (4-28)

Lettuce Mosaic

Chenopodium quinoa (1)
Lactuca sativa (6-15) (E)
Lactuca scariola (50)

Pea Early Browning

Pisum sativum (50)

Pea Seed-Borne Mosaic

Pisum arvense (9)

Continua

Continuação

Viroses

Hospedeiros ⁽¹⁾ e transmissão por sementes ⁽²⁾

Pisum sativum (0-90) (E)

Peanut Mottle

Arachis hypogaea (2-20)

Peanut Stunt

Arachis hypogaea (0,2)

Potato Spindle Tuber

Lycopersicon esculentum (11)

Physalis peruviana (29)

Solanum incanum (53)

Solanum tuberosum (6-100)

Potato Virus X

Solanum tuberosum (0,6 - 2,3)

Prunus Dwarf

Prunus avium (9-15)

Prunus cerasus (9-15)

Prunus mahaleb (9)

Prunus Necrotic Ringspot

Prunus avium (6)

Prunus cerasus (20-56) (E)

Prunus persica (3-9)

Prunus americana (37)

Cucurbita maxima (2-3)

Red Clover Vein Mosaic

Trifolium pratense (100)

Vicia faba (100)

Soybean Mosaic

Atriplex pacifica (21)

Chenopodium album (30)

C. amaranticolor (14-62)

C. murale (20-70)

C. quinoa (2-47)

Soybean Mosaic

Glycine max (0-60)

Continua

Continuação

Viroses

Hospedeiros ⁽¹⁾ e transmissão por sementes ⁽²⁾

Squash Mosaic

Citrullus vulgaris (2)
Cucumis melo (12-94)
Cucurbita flexuosus (4)
C. maxima (0,2 - 1,5)
C. pepo (2)

Strawberry Latent Ringspot

Amaranthus lividus (96)
Apium graveolens (98-100)
Capsella bursa pastoris (4)
Chenopodium quinoa (64-100)
Mentha arvensis (6)
Rubus idaeus (75)
Senecio vulgaris (20)
Stellaria media (97)

Tobacco Mosaic

Capsicum annum (45) (T)
C. frutescens (22)
Lycopersicon esculentum (4) (S)
Malus platycarpa (38) (E-P-T)
M. pumila (3-37)
Pyrus communis (35)
Vitis vinifera (20)
Vigna unguiculata (1-4)

Tobacco Rattle

Capsella bursa pastoris (2)
Myosotis arvensis (6)
Papaver rhoeas (1)

Tobacco Ringspot

Cucumis melo (3-7)
Gladiolus sp. (4)
Glycine max (70-100)
Gomphrena globosa (25-50)
Lactuca sativa (3-21)

Continua

Continuação

Viroses

Hospedeiros (¹) e transmissão por sementes (²)

Nicotiana tabacum (5)

Petunia violacea (20)

Senecio vulgaris (12)

Solanum melongena (3-10)

Vigna sinensis (82)

Zinnia elegans (5)

Tobacco Streak

Datura stramonium (94)

Glycine max (3-31)

Phaseolus vulgaris (1-26)

Tomato Black Ring

Beta vulgaris (3-27)

Lycopersicon esculentum (6-8)

Nicotiana rustica (5-9)

Glycine max (83)

Vigna sinensis (23)

Tomato Bushy Stunt

Malus pumila (17)

Tomato Ringspot

Fragaria vesca (68)

Gladiolus sp. (7)

Glycine max (76)

Gomphrena globosa (76)

Lycopersicon esculentum (5)

Nicotiana tabacum (11)

Trifolium pratense (3-7)

Tomato Spotted Wilt

Senecio cruentus (70) (T)

White Clover Mosaic

Trifolium pratense (6)

White Clover Yellow Mosaic

Trifolium pratense (8)

- (¹) Foram listados apenas os hospedeiros em que ocorre transmissão por sementes.
- (²) Os números, entre parênteses, indicam a percentagem de transmissão por sementes.
- As letras, entre parêntese, indicam a localização das partículas de vírus nas sementes (E= Embrião; P= Endosperma; T= Tegumento; S= Superfície externa.).

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- BOS, L. Symptoms of Virus Diseases in Plants. 2ed. Wageningen, Holanda Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1970.
- BOGWELL, K.F. & GIBBS, H.J. Virus Identification Data Exchange. Canberra, Australia, The Australian National University, 1983.
- CHRISTIE, R.G. & EDWARDSON, J.R. Light and Electron Microscopy of Plant Virus Inclusions. Gainesville, Florida. University of Florida, 1977.
- MATTHEWS, R.E.F. Plant Virology. New York, Academic Press, 1970.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London, The Mac Millan Press, Ltd., 1979. V.1.
- PORTO, M.D.M. Produção de sementes livres de vírus. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE O IMPACTO DAS DOENÇAS VIRAIS NO DESENVOLVIMENTO DOS PAÍSES LATINO-AMERICANOS E DA REGIÃO DO CARIBE 1., Rio de Janeiro, 1982. Anais. V.1. p. 261-278.
- SHEPARD, J.F. Gel-Diffusion Methods for the Serological Detection of Potato Viruses X, S and M. Boseman, Montana, Montana State University, 1972 (Bulletin 662)
- VALIELA, M.F.V. Vírus. In: Introducción a la Fitopatología. 3ed. Buenos Aires, I.N.T.A., 1969. V. 1. (Colección Científica).

CAPÍTULO V

NEMATÓIDES EM SEMENTES

Renata César Vilardi Tenente⁽¹⁾Edna Stella Brito Costa Manso⁽¹⁾1 - INTRODUÇÃO

Os nematóides são animais microscópicos, pertencentes ao sub-reino Emetozoa. Possuem, geralmente, corpo vermiforme, cilíndrico e bilateralmente simétrico, capaz de causar doenças importantes em plantas cultivadas.

Os nematóides podem migrar no solo ativamente, entretanto, esta disseminação é muito lenta, sendo capazes de movimentar-se apenas alguns centímetros por ano. Não se conhece exemplos de disseminação ativa a longas distâncias, restringindo sua importância.

A disseminação passiva pode ser direta, ou seja, através de órgãos do próprio hospedeiro, como partes vegetativas e sementes, ou indireta, através de agentes disseminadores, como: vento, água, animais, ferramentas e utensílios agrícolas.

A disseminação passiva é mais importante que a ativa, sendo responsável pelo transporte do nematóide a curtas e longas distâncias. Entretanto, a disseminação passiva direta, sem dúvida, tem sua importância destacada, visto que o parasito está em contato direto com o próprio hospedeiro, acompanhando, inclusive, a sua distribuição geográfica, o que favorecerá o estabelecimento da doença.

A disseminação através da semente assegura ao fitonematóide sobreviver em estado de anidrobiose ou na forma de cisto, por longos períodos, o mes

⁽¹⁾ Mestres em Fitopatologia, pesquisadoras do Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia, CENARGEN/EMBRAPA. Cx. Postal 10.2372 - 70.770 Brasília-DF.

no não ocorrendo quando este é disseminado de forma ativa em partes vegetativas do hospedeiro.

O risco da disseminação de fitonematóides através de sementes tem aumentado com o intenso intercâmbio de sementes, a curta e longa distâncias, no vimento este, necessário à agricultura moderna e favorecido pela facilidade dos meios de transporte.

2 - CARACTERÍSTICAS GERAIS

Nematóides fitoparasitos têm sido comumente encontrados parasitando um número cada vez maior de plantas cultivadas. Várias espécies são encontradas endemicamente nos seus locais de origem, entretanto muitas se dispersam do habitat natural e tornam-se cosmopolitas.

A semente constitui-se num meio importante de disseminação de espécies de seis gêneros de fitonematóides. A disseminação pela semente assegura a sobrevivência do patógeno, que em contato direto com o hospedeiro, favorece sua disseminação por mecanismos diversos, tais como: vento, chuva, insetos, implementos agrícolas, restos de cultura, solo, homem e animal.

Os nematóides podem ser disseminados por sementes de duas diferentes maneiras.

1. Associado externamente a semente como contaminante, como algumas espécies de gênero *Anguina*, cujas galhas são formadas no ovário da flor da planta hospedeira e assim disseminadas misturadas as sementes produzidas. Cistos de *Heterodera*, contidos em torrões de solo ou não, podem aderir-se às sementes das plantas hospedeiras. *Ditylenchus dipsaci* também pode ser transportado junto às sementes de alfafa em fragmentos de plantas.

2. O patógeno é transportado em tecidos internos da semente, como o caso de *Aphelenchoides besseyi*, agente causal da ponta branca do arroz, que fica alojado entre a casca e o endosperma da semente e *A. ritsemabosi*, em sementes de crisântemo. *Ditylenchus dipsaci* também tem sido disseminado internamente em sementes de cebola e dentro dos cotilédones de sementes de feijão. *Rhadinaphelenchus cocophilus*, o agente causal do anel vermelho do coqueiro, é outro exemplo de transmissão interna.

Todos nematóides transmitidos por sementes apresentam uma importante característica, a de manter-se em anidrobiose, ou seja, conservam-se vivos dentro das sementes com todo seu metabolismo detectável paralisado.

A capacidade de manter-se anidrobioticamente assegura ao nematóide

sobreviver desidratado nos grãos maduros por um período de tempo variável de acordo com a espécie. A espécie *Ditylenchus dipsaci* pode sobreviver em anidrobiose por até 23 anos (GOODEY, 1965). Há relato da sobrevivência de *Anguina tritici* anidrobioticamente em sementes de trigo por mais de 30 anos, enquanto que *Aphelenchoides besseyi* em sementes de arroz, por 3 anos (CAUBEL, 1982, GOODEY, 1965).

A recuperação da atividade metabólica do nematóide ocorre juntamente com a germinação da semente, que os contém, reiniciando seu parasitismo através da infestação das plântulas recém-germinadas.

Os ciclos de vida dos nematóides transmitidos por sementes são similares (vide figuras 1 a 5): os ovos eclodem e liberam as larvas do segundo estágio. Até chegarem à fase adulta, apresentam quatro estágios larvais. O estágio larval infectante varia conforme a espécie do nematóide. *Aphelenchoides besseyi* é infectante em todos os seus estágios de desenvolvimento. *Anguina* spp. e *Ditylenchus dipsaci* possuem, respectivamente, o quarto e segundo estágio larval infectante. Os nematóides iniciam seu parasitismo penetrando através dos estômatos ou outra abertura existente, e vão infestar o meristema apical ou interior da bainha. Continuam seu desenvolvimento, ao longo da planta, penetram no órgão reprodutor da hospedeira, onde sua multiplicação ocorre ativamente. À medida que os órgãos são formados, os nematóides começam a diminuir sua atividade, até entrarem em completa anidrobiose, na fase de maturação das sementes.

3 - CLASSIFICAÇÃO E CHAVE DE GÊNEROS

3.1 - Classificação

REINO: Animal

Sub-reino: Eumetazoa

DIVISÃO: Bilaterata

SUBDIVISÃO: Protostomina

SUPER PHILLUM: Pseudocoelomata

PHILLUM: Nematelminthes

CLASSE: Nematoda

SUBCLASSE: Secernentea

ORDEM: Tylenchida

SUBORDEN: Tylenchina

Quadro 1. Chave de gênero dos nematóides.

Ordem	Sub Ordem	Super Família	Família	Sub Família	Gênero
Tylenchida	Apresentam estilete	-Tylenchina	-Tylenchidae	-Anguininae	-Optilenchus ♀ : delgadas; oocistos não arranjados ao redor "rachis"; bulbo terminal não sobrepõe o intestino; saco pos uterino rudimentar; metacorpo com aparelho valvular.
		-Tylenchoidea procorpo é separado do postcorpo, pelo bulbo mediano ou metacorpo, que é oval e estreito.			-Sotchoriylenchus ♀ : delgadas; oocistos não arranjados ao redor do "RACHIS". Bulbo terminal não sobrepõe o intestino, saco pos uterino rudimentar, aparelho valvular ausente no metacorpo.
	Apresentam estilete	-Aphelenchoidea metacorpo bastante desenvolvido, proeminente, retangular ou quadrado.	-Heteroderidae	-Heteroderinae	-Anguina ♀ : obesas no meio do corpo; oocistos arranjados ao redor do "rachis" sem mucro na ponta da cauda.
					-Retrodera ♀ : não aneladas; formam cistos em forma de linha; vulva com abertura estreita (10-60 µm) e não inserida no cone terminal.
Tylenchida	Apresentam estilete	-Aphelenchina	-Aphelenchoididae	-Aphelenchoidinae	-Aphelenchoides a = 100 ou próximo a 100 (Apêndice 6).
					-Aphelenchoides a ≤ 60; estilete com bulbos basais não distintos; cauda conóide, com um ou mais mucros; ♂ : espículos com forma de espinho de roseira; apresenta bursa.

SUPERFAMÍLIA: Tylenchoidea

FAMÍLIA: Tylenchidae

SUBFAMÍLIA: Anguininae

GÊNERO: - *Anguina*

- *Ditylenchus*

- *Nothotylenchus*

FAMÍLIA: Heteroderidae

SUBFAMÍLIA: Heteroderinae

GÊNERO: *Heterodera*

SUBORDEN: Aphelenchina

SUPERFAMÍLIA: Aphelenchoidea

FAMÍLIA: Aphelenchoididae

SUBFAMÍLIA: Aphelenchoidinae

GÊNERO: *Aphelenchoides*

SUBFAMÍLIA: Rhadinaphelenchinae

GÊNERO: *Rhadinaphelenchus*

3.2 - Chave de gêneros

A chave é apresentada no Quadro 6.

4 - CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE ESPÉCIES TRANSMITIDAS POR SEMENTES

4.1 - Gênero *Anguina*

No gênero *Anguina*, das 31 espécies descritas até 1980, há confirmação de que seis podem ser transmitidas por sementes: *Anguina agrostis*; *A. agropyronifloris*; *A. klebahnii*; *A. spermophaga*; *A. tritici* e *A. tumefaciens*.

4.1.1 - *Anguina agrostis* (Steinbuch, 1799) Filipjev, 1936

Sinonímia - *Vibrio agrostis* Steinbuch, 1799; *Anguillula agrostis* (Steinbuch, 1799) Ehrenberg, 1838; *Tylenchus agrostis* (Steinbuch, 1799) T. Goodey, 1930; *Anguillulina agrostis* (Steinbuch, 1799) T. Goodey, 1932; *Anguillulina (Anguina) agrostis* (Steinbuch, 1799) T. Goodey, 1932, (Schneider,

1939), *Tylenchus (Anguillulina) agrostis* (Steinbuch, 1799) T. Goodey, 1930, (Filipjev, 1934); *Tylenchus agrostidis* Bastian, 1865; *Anguillula graminearum* Diesing, 1851.

Mensurações - (Vide Anexo 1) (Após T. Goodey, 1930 e 1932):

♀ ♀ : L = 1,5 - 2,7 mm; a = 17 - 21; b = 8 - 11; c = 32 - 44;

v = 87 - 88; s = 8 - 9 µ.

♂ ♂ : L = 1,1 - 1,68 mm; a = 23 - 38; b = 6 - 9; c = 20 - 23;

espículo = 35 - 40µ; gubernáculo = 14µ.

1º estágio larval: L = 0,55 mm; a = 46

2º estágio larval: L = 0,75 - 0,8 mm; a = 44 - 47

Ovos: 90 - 150µ X 30 - 50µ.

Fêmeas - Obesas no meio do corpo; assumem a forma de C após a morte por calor, ficando com a superfície ventral côncava, afinando-se nas duas extremidades; região labial baixa e achatada, "Off-set" por uma fina constrição; lábios apresentam seis arestas radiais elevadas; cutícula delicadamente anelada; campos laterais não visíveis em adultos; esôfago tipo tilencóide; procorpo e istmo não aumentados e levemente constrictos nas junções com o bulbo mediano; o istmo pode apresentar-se encolhido devido à pressão da gônada; região glandular do esôfago mais ou menos periforme, não lobulada, podendo sobrepor-se ao intestino ligeiramente; lábios vulvares proeminentes; ovário prodélfico bem desenvolvido, usualmente com duas reflexões, com muitos oocistos arranjados ao redor da "rachis" (visível em seção transversal do ovário); espermatoteca periforme, com a parte final alargada e separada do oviduto por uma constrição; ramo genital posterior em forma de um simples saco pós valvular; vários ovos presentes dentro do útero de uma só vez; cauda conóide afinando-se para um término agudo.

Machos - Menores e mais delgados que as fêmeas; corpo mais ou menos curvado ventralmente, quando mortos pelo calor; campos laterais de difícil observação em indivíduos adultos, mostrando, provavelmente, seis incisões ou, de acordo com Thorne (1961), quatro incisões margeadas por linhas refrativas, testículos com uma reflexão; espermátócitos arranjados ao redor do "rachis"; espículos arqueados e pareados, apresentando-se mais delgados do que em *A. tritici*; a peça guia do gubernáculo mostra-se pouco ou não recolhida na parte final anterior; cada espículo apresenta duas arestas ventrais que seguem da ponta para a parte mais larga, cobrindo e juntando-se à peça guia do gubernáculo; gubernáculo simples, bursa cobrindo apenas a parte anterior dos espículos; cauda aguda ou finamente mucronada.

4.1.2 - *A. tritici* (Steinbuch, 1799) Chitwood, 1935

Sinonímia - *Vibrio tritici* Steinbuch, 1799; *Rhabditis tritici* (Steinbuch, 1799) Dujardin, 1845; *Anguillula tritici* (Steinbuch, 1799) Grube 1849; *Anguillula tritici* (Steinbuch, 1799) Gervais & Van Beneden, 1859; *Tylenchus tritici* (Steinbuch, 1799) Bastian, 1865; *Tylenchus (Anguillulina) tritici* (Steinbuch, 1799) Bastian, 1865, (Filipjev, 1934); *Anguillulina (Anguina) tritici* (Steinbuch, 1799) Gervais & Van Beneden, 1859, (W. Schneider, 1939); *Anguillula graminearum* Diesing, 1851, *Anguillula scandens* Schneider, 1866; *Tylenchus scandens* (Schneider, 1866) Cobb, 1890; *Anguillulina scandens* (Schneider, 1866) Goodey, 1932; *Anguillulina (Anguina) scandens* (Schneider, 1866) Goodey, 1932, (W. Schneider, 1939)

Mensurações - (Após Goodey, 1932):

♀ ♀ : L = 3 - 5 mm; a = 25 - 30; b = 20 - 25; c = 32 - 50; V = 90 - 94

♂ ♂ : L = 2 - 2,5 mm; a = 25 - 29; b = 12 - 13; c = 25 - 28

2º estágio larval: L = 0,8 - 0,95 mm; Largura = 15 - 20µ

Ovos: 85 x 38µ (média).

(Após Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941):

♀ ♀ : L = 4,1 - 5,2 mm; a = 21; b = 19; c = 30; V = 88 - 97; s = 9 - 11µ

♂ ♂ : L = 1,9 - 2,5 mm; a = 30; b = 13; c = 14; s = 9 - 11µ

Primeiro estágio larval: L = 0,5 - 0,6 mm; a = 42; b = 45

Segundo estágio larval: L = 0,8 - 1,0 mm

Ovos: (n = 25); L = 85 x 39µ (73 - 140 x 33 - 63µ).

(Após Swarup & Gupta, 1971):

Ovos: (n = 25); L = 75,6 - 102,3µ (87,1 ± 7,8µ);

Largura (ovos) = 34,9 - 53,5µ (43,8 ± 5,3µ)

Segundo estágio larval: (n = 20); L = 0,75 - 0,79 mm (0,77 mm);

a = 47 - 59 (54); b = 4,0 - 6,3 (4,5); c = 23-28 (26);

s = 10µ

Terceiro estágio larval: (♀) (n=4): L = 1,11 - 1,55 mm (1,26 mm);

a = 28 - 40 (32); b = 9,3 - 10,2 (9,8);

c = 20 - 22,2 (21,1)

Terceiro estágio larval: (♂) (n=6): L = 1,10 - 1,23 mm (1,11 mm);

a = 26 - 42 (36); b = 6,4 - 8,2 (7,6); c = 10,2 - 13,4

Quarto estágio larval: (♀) (n=12); L = 1,45 - 1,92 mm (1,86 mm);

a = 21 - 26,5 (22,4); b = 9,6 - 18,4 (13,2);

c = 20 - 35,4 (32,3)

Quarto estágio larval: (♂) (n=2): L = 1,76, 1,82 mm; a = 25,4, 29,1;
b = 7,5, 9,4; c = 15,20

♀ ♀ (n = 22): L = 2,64 - 4,36 mm ($3,24 \pm 0,37$ mm);
a = 13,2 - 22,2 ($17,98 \pm 8,10$); b = 9,80 - 19,40
($13,98 \pm 2,50$); c = 24 - 63 ($36,4 \pm 9,12$); v = 70,4 - 89,8
($80,7 \pm 6,84$)

♂ ♂ (n = 18): L = 2,04 - 2,40 mm ($2,19 \pm 0,32$ mm);
a = 21,2 - 30 ($26,58 \pm 2,05$) b = 6,30 - 11,0 ($9,29 \pm 0,91$);
c = 17,0 - 23,8 ($19,7 \pm 1,55$); T = 66,70-81,40 ($75,40 \pm 3,18$).

Descrição

Geral - Anéis muito finos, visíveis na região esofageana; campos laterais com quatro ou mais incisões (visíveis em espécimes pré-adultos); região labial baixa e achatada, levemente em "off set"; lábios visíveis e elevados (6); procorpo dilatado sofrendo uma constrição na junção com o bulbo mediano, glândulas esofageanas incluídas num bulbo dilatado e irregular, o qual não se sobrepõe ao intestino; cardia pequena; cauda conóide afilando-se na ponta em forma aguda ou arredondada; cromossomos: $2n = 38$.

Fêmeas - Fêmeas obesas e assumem a forma de C quando mortas pelo calor, com a parte ventral côncava; ístmo algumas vezes dilatado posteriormente; ovário anterior bem desenvolvido, com dois ou mais reflexos e oocistos arranja dos ao redor do "rachis"; espermateca mais ou menos periforme, sendo a parte mais larga separada do oviduto pelo esfínter e a mais estreita terminando dentro do útero; apresenta o ovário posterior como um simples saco pós-uterino; lábios vulvares proeminentes; pode apresentar vários ovos dentro do útero de uma só vez.

Machos - Apresentam o corpo curvado dorsalmente quando mortos pelo calor; testículos com um ou dois reflexos; espermátócitos arranja dos ao redor do "rachis"; vaso deferente a cerca de 200μ de comprimento, separado do testículo por uma constrição; espículos pareados, escuros, fortes e curvados; cabeça aplainada ou encolhida ventralmente; gubernáculo simples; bursa adanal.

4.1.3 - *A. spermophaga* Steiner, 1937

Mensurações

♀ ♀: L = 1,7 mm; a = 37; b = 10; c = 34; v = 87 - 91

♂ ♂: L = 1,4 mm; a = 33; b = 9; c = 23

Ovos: $31 \times 67\mu$

Descrição

Fêmeas - Corpo mais delgado que outras espécies do gênero; a ponta da cauda termina de forma pontiaguda e com mucro acentuado; ovário com dois reflexos terminando próximo a base do esôfago; saco pós-uterino do tamanho da largura do corpo na região da vulva; estilete fraco com bulbos basais delicados.

Machos - Corpo cilíndrico, ponta da cauda mucronada; bursa mais larga em frente ao espículo e entende-se até a base do mucro, onde expande-se em dois lóbulos (principal característica desta espécie).

4.1.4 - *A. klebahnii* Goffart, 1942

Mensurações

♀ ♀: L = 0,8 - 1,1 mm; a = 38 - 47; b = 11 - 14; c = 12 - 16; v = 69 - 80

♂ ♂: L = 1,1 - 1,2 mm; a = 39 - 47; b = 11 - 13; c = 13 - 16

Descrição

Fêmeas - Corpo espiralado; bulbo mediano maior que a metade da largura do intestino, ovário com dez a doze células na região do reflexo, estendendo-se em direção próxima a base do esôfago.

4.2 - Gênero *Aphelenchoides*

Foram descritas 197 espécies até 1980 das quais *A. arachidis*, *A. besseyi* e *A. ritsenbosii* são transmitidas por sementes.

4.2.1 - *Aphelenchoides arachidis* Bos, 1977

Mensurações

♀ ♀: L = 0,51 - 1,00 (0,75) mm; a = 39 - 50 (43,4); b = 11 - 18 (14,1); b' = 5 - 8 (6,6); c = 25 - 42 (30,2); c' = 2 - 3 (2,5); Comprimento da cauda = 21,6 - 27,6 (25,3) μm; v = 32 - 59 67 - 74 11 - 17 (44,5 71,7 14,4) %; S = 11 - 12 μm.

♂ ♂: L = 0,56 - 1,04 (0,79) mm; a = 37 - 60 (47); b = 10 - 18 (14,2); b' = 5 - 9 (7,0); c = 20 - 39 (27,4); c' = 2 - 3 (2,4); T = 40 - 84 (60,4) %; s = 10 - 11 μm.

Q (holotipo): L = 0,75 mm; a = 44,7; b = 13,3; b' = 6,5; c = 32,9; c' = 2,1; v = 55,8 72,5 11,5%; s = 11,5 μm.

Ovos - Comprimento = 44,4 - 60 (53,9) μm;

comprimento/largura = 2,1 - 3,1 (2,5).

Descrição

Fêmeas - Corpo delgado; anéis estreitos (0,8µm de largura no meio do corpo); campo lateral estreito com duas incisões; cauda curta (22 - 28µm), cônica, com um mucro; região labial baixa, achatada anteriormente (altura = 2,5 - 3µm, largura lábio = 6 - 8,5 (7) µm); estrutura cefálica delicada mas visível; estilete com bulbos basais distintos; procorpo delgado; metacorpo largo, arredondado ou oval; anel nervoso abaixo do bulbo mediano (distante uma largura a menos), poro excretor é localizado na parte anterior a 10 - 15% (12) do comprimento total do corpo; três glândulas esofagianas em lóbulo, sobrepondo-se ao intestino dorsalmente; junção do esôfago com o intestino não distinto; vulva com uma fenda transversal aumentada, lábios levemente dilatados, saco pós-uterino estendendo-se a cerca da metade da distância da vulva ao ânus; ovário simples e usualmente reto, podendo apresentar em alguns espécimes um ou mais reflexos; oocistos formando uma fileira; esperma, frequentemente, presente no oviduto e no saco pós-uterino.

Machos - Corpo delgado, com a parte posterior curvada ventralmente, quando mortos por calor (mais que 180°); região labial 5 - 7, µm de largura e comprimento do lábio 2,5 - 3 µm; estilete como das fêmeas; testículos simples e usualmente retos, sendo que 50% dos espécimes podem apresentar um ou mais reflexos; três pares de papilas caudais localizadas ventralmente; espículos suavemente curvados, com formato de espinho da roseira, com borda dorsal 15 - 25 µm; cauda curta com um pequeno e indistinto mucro.

4.2.2 - *A. besseyi* Christie, 1942

Sinonímia - *Aphelenchoides orysae* Yokoo, 1948.

Mensurações - (Após Christie, 1942)

♀ ♀: L = 0,66 - 0,75mm; a = 32 - 42 (largura = 17 - 22 µ);
b = 10,2 - 11,4 (esôfago = 64 - 68µ); c = 17 - 21 (cauda = 36 - 42µ);
V = 68 - 70.

♂ ♂: L = 0,54 - 0,62mm; a = 36 - 39 (largura = 14 - 17µ);
b = 8,6 - 8,8 (esôfago = 63 - 66µ); c = 15 - 17 (cauda = 34 - 37µ).
(Após Allen, 1952):

♀ ♀: L = 0,62 - 0,88mm; a = 38 - 58; b = 9 - 12; c = 15 - 20; V = 66 - 72
Neotipo 0 (de morango da Flórida/EUA):
L = 0,7mm; a = 50; b = 10; c = 19; V = 70; s = 10µ.

♂ ♂: L = 0,44 - 0,72mm; a = 36 - 47; b = 9 - 11; c = 14 - 19; T = 50 - 65.

(Após Fortuner, 1970 - de sementes de arroz Senegal):

♀ ♀: L = 0,57 - 0,84 (0,68)mm; a = 39 - 53 (47,7); b = 9,2 - 13,1 (11,46).

b' = 4,06 - 5,77 (4,85); c = 13,8 - 20,4 (17,7); V = 68,7 - 73,6

(71,2); s = 10 - 12,5 (11,9)µ.

♂ ♂: L = 0,53 - 0,61 (0,57)mm; a = 40,7 - 46,9 (44,4); b = 8,87 - 10,70

(9,52); b' = 3,57 - 4,91 (4,09); c = 16 - 20 (17,97); T = 28 - 52 (40,59);

s = 10 - 12,5 (11,4)µ. Espículo - 18 - 21 (19,2)µ.

Descrição

Fêmeas - Corpo delgado, reto ou ligeiramente curvado ventralmente, quando relaxados, finos anéis (0,9µ de largura próximo ao meio do corpo); região labial arredondada não estriada, levemente em "off set" hexaradiada levemente esclerotizada; campos laterais com quatro incisões; parte anterior do estilete pontiaguda (sendo cerca de 45% do comprimento total do estilete); parte posterior com bulbos basais pequenos com 1,75µ de diâmetro; bulbo esofageano oval, com distinto aparelho valvular; glândula esofageana sobrepondo-se ao intestino dorsal ou subdorsalmente; anel nervoso situado abaixo do bulbo mediano (distante uma largura do corpo); poro excretor próximo à extremidade do anel nervoso; hemizonídeo 11-15µ por trás do poro excretor; espermateca oval e alongada, usualmente com esperma; ovário relativamente curto, com oocistos em duas a quatro fileiras; saco pós-uterino estreito, 2,5 - 3,5 vezes o diâmetro do corpo na região anal; cauda conóide (3,5 a 5 vezes a largura da região anal) com 1 - 4 micros.

Machos - Aparecem tão numerosamente quanto as fêmeas; parte final do corpo é curvada a cerca de 180° em espécimes relaxados; região labial, estilete e esôfago como das fêmeas; cauda conóide com dois a quatro micros; três pares de papilas adanais localizadas na cauda abaixo dos espículos; espículo típico do gênero, exceto a ausência do segmento do eixo do epículo e o desenvolvimento moderado do rostro, na parte ventral; testículos simples e reto.

4.2.3 - *A. ritzemabosi* (Schwartz, 1911) Steiner & Bührer, 1932

Sinonímia: *Aphelenchus ritzema-bosi* Schwartz, 1911; *Pathoaphelenchus ritzemabosi* (Schwartz, 1911) Steiner, 1932; *Aphelenchoides* (*Chitinoaphelenchus*) *ritzemabosi* (Schwartz, 1911), Fuchs, 1937; *Pseudoaphelenchoides* (Schwartz, 1911) Drozdowski, 1967; *Tylenchus ribes* Taylor, 1917; *Aphelenchus ribes* (Taylor, 1917) Goodey, 1923; *Aphelenchoides ribes* (Taylor, 1917)

Goodey 1933; *Aphelenchus phyllophagus* Stewart, 1921.

Mensurações - (Após Allen, 1952)

♀ Q: L = 0,77 - 1,20mm; a = 40 - 45; b = 10 - 13; c = 18 - 24; v = 66 - 75

♀ neotipo: L = 0,85mm; a = 42; b = 12; c = 18; v = 68; s = 12µ

♂ ♂: L = 0,70 - 0,93mm; a = 31 - 50; b = 10 - 14; c = 16 - 30; T = 35 - 64

Descrição

Fêmeas - Corpo delgado; anéis distintos (0,9 - 1,0µ de largura); campos laterais com quatro incisões; região labial hemisférica "off set" e sem anelações visíveis; estrutura cefálica hexarradiada, levemente esclerotizada; estilete com pequenos mas distintos bulbos basais, parte anterior pontiaguda; procorpo delgado; metacorpo largo e oval altamente musculoso; anel nervoso abaixo do bulbo mediano (neótipo) 1,5 vezes a largura do corpo na região do bulbo; poro excretor situado a 0,5 - 2 vezes a largura do corpo posterior ao anel nervoso; três glândulas esofagianas em lóbulo sobrepondo-se ao intestino verticalmente (4 vezes a largura do corpo); junção do esôfago com o intestino a 8µ abaixo do bulbo mediano que apresenta aparelho valvular não distinto ou ausente; intestino com pequenos grânulos e um lumen distinto; vulva delicadamente elevada com fenda transversal; saco pós-uterino maior do que a metade da distância da vulva ao ânus, frequentemente com esperma, ovário simples reto e anterior; oocistos em fileiras múltiplas; cauda conóide.

Machos - Parte posterior do corpo curva (180°), quando mortos pelo calor; região labial, estilete e esôfago como descrito para fêmeas; testículos simples e reto; três pares de papilas caudais; espículos levemente curvados; limbo dorsal com 20 - 22µ de comprimento; ponta da cauda com 2 - 4 projeções e de forma variada.

4.3 - Gênero *Ditylenchus*

O gênero inclui 80 espécies descritas até 1980, sendo *D. angustus* e *D. dipsaci*, transmitidas por sementes.

4.3.1 - *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) Filipjev, 1936

Sinonímia - *Anguillula dipsaci* Kuhn, 1857; *Anguillulina dipsaci* (Kuhn, 1857) Bastian, 1865; *Anguillulina dipsaci* var. *allocotus* Steiner, 1934; *Ditylenchus allocotus* (Steiner, 1934) Filip. & Sch. Stek, 1941; *Anguillulina dipsaci* var. *amsinckiae* Steiner & Scott, 1935; *Ditylenchus amsinckiae*

(Steiner & Scott, 1935) Filip. & Sch. Stek., 1941; *Anguillulina dipsaci* var. *communis* Steiner & Scott, 1935; *Ditylenchus dipsaci* var. *tobaensis* Schneider 1937; *Ditylenchus tobaensis* (Schneider, 1937) Kirjanova, 1951; *Anguillula secalis* Nitschke, 1868; *Anguillina secalis* (Nitschke, 1868) Goodey 1932; *Anguillula devastatrix* Kuhn, 1969; *Tylenchus devastatrix* (Kuhn, 1869) Orley, 1880; *Anguillulina devastatrix* (Kuhn, 1869) Nevus - Lemaire, 1913; *Tylenchus putrefaciens* Kuhn, 1879; *Anguillulina putrefaciens* (Kuhn, 1879) Braun, 1895; *Tylenchus havensteinii* Kuhn, 1881; *Anguillulina havensteinii* (Kuhn, 1881) Goodey 1932; *Tylenchus hyacinthi* Prillieux, 1881; *Anguillulina hyacinthi* (Prillieux, 1881) Goodey, 1932; *Tylenchus allii* Beijerinck, 1883; *Ditylenchus allii* (Beijerinck, 1883) Filip & Sch. Stek, 1941; *Ditylenchus fragariae* Kirjanova, 1951; *Ditylenchus phloxidis* Kirjanova, 1951; *Ditylenchus sonchophila* Kirjanova, 1958; *Ditylenchus trifolii* Skarbilovich, 1958.

Mensurações - (Após Thorne, 1945 para *Dipsacus fullonum* L.)

♀ ♀: L = 1 - 1,3mm; a = 36 - 40; b = 6,5 - 7,1; c = 14 - 18; V = 80.

Ovos - Comprimento = 2,5 vezes o diâmetro do corpo na região da vulva.

♂ ♂: L = 1,0 - 1,3mm; a = 37 - 41; b = 6,5 - 7,3; c = 12 - 15; T = 65 - 72.

(Após Blake, 1962 para *Avena sativa* L.):

♀ ♀: L = 1,3mm; a = 62; b = 15; c = 1,4; V = 80

♂ ♂: L = 1,3mm; a = 63; b = 15; c = 14; T = 72

(Após Goodey, 1941 para *Vicia faba* L. "raça gigante").

♀ ♀: L = 1,73 - 2,23 (1,97)mm; a = 50 - 64 (58,2); b = 7 - 12 (9);

c = 15,8 - 20 (17,5); V = 76 - 84 (82);

♂ ♂: L = 1,51 - 1,93 (1,77)mm; a = 58 - 74 (67); b = 6 - 8 (7);

c = 14,6 - 19,1 (16,9).

As mensurações dos adultos sofrem consideráveis variações, dependendo da raça e do hospedeiro.

Descrição

Fêmeas: Corpo quase reto, quando morta pelo calor; cutícula fina e anelada transversalmente; com quatro incisões nos campos laterais; região labial baixa e achatada sem anelações e não "off-set", estrutura cefálica moderadamente desenvolvida; estilete = 10 - 12µ de comprimento com bulbos basais distintos, procórcio cilíndrico, sofrendo um ligeiro estreitamento na junção com o bulbo mediano que é fusiforme; istmo estreito e circundado pelo anel nervoso, onde começa a expandir-se formando o bulbo esofágico posterior clavado que pode se sobrepor ligeiramente ao intestino ou não; pequena cárdia presente na junção do esôfago com o intestino; poro excretor bem baixo do bulbo basal; cau-

da pontiaguda com comprimento de 4 a 5 vezes o diâmetro do corpo na região anal; vulva distinta; ovário prodélfico e reto com oocistos em uma fileira, ocasionalmente em duas fileiras; saco pós-uterino medindo 2/3 da distância da vulva ao ânus.

Machos - Região anterior semelhante à das fêmeas, mas possui bursa adanal; espículo curvado ventralmente; gubernáculo curto e simples.

4.3.2 - *D. angustus* (Butler, 1913) Filipjev, 1936

Sinonímia - *Tylenchus angustus* Butler, 1913; *Anguillulina angustus* (Butler, 1913) Goodey, 1932.

Mensurações (de arroz/R.W. Timm.)

♀ ♀: L = 0,8 - 1,20mm; a = 50 - 62; b = 6 - 9; c = 18 - 24; V = 78 - 80; s = 10 - 11μ.

♂ ♂: L = 0,7 - 1,18mm; a = 40 - 55; b = 6 - 8; c = 19 - 26; T = 60 - 73; espículos = 16 - 21μ; gubernáculo = 6 - 9μ; s = 10μ.

Larva: L = 0,5 - 0,7mm; a = 41 - 60; b = 6 - 9; c = 14 - 18; s = 8 - 10μ.

(Após Butler, 1913, do hospedeiro tipo: *Oryza sativa* L.)

♀ ♀: L = 0,7 - 1,1 (0,9mm); a = 9 - 47 - 58 (50); largura: 15 - 22μ; b = 7; c = 15 - 23 (20); V = 70 - 80; s = 9 - 10μ.

Ovos: 80 - 88μ x 16 - 20μ.

♂ ♂: L = 0,6 - 1,1mm; a = 36 - 47(44); largura = 14 - 19μ; b = 7; c = 18 - 23; s = 9 - 10μ.

(Após Goodey, 1932):

♀ ♀: L = 0,7 - 1,23mm; a = 36 - 58; b = 7 - 8; c = 17 - 20; V = 80; s = 10μ.

♂ ♂: L = 0,6 - 1,1mm; a = 36 - 47; b = 6 - 7; c = 18 - 23; s = 10μ.

Descrição

Fêmeas - Corpo delgado, levemente curvado ventralmente, quando mortas por calor; cutícula com finas estrias transversais; região labial não estriada, não "off set" baixa e achatada, com largura maior que a altura, a partir da base dos lábios; estrutura cefálica levemente esclerotizada, hexaradiada com seis lábios de tamanhos semelhantes; campos laterais com quatro incisões ocupando 1/4 de largura do corpo ou pouco menor; deirídeos localizados posteriormente ao poro excretor; fasmídeos no formato de poro, localizados no meio da cauda, de difícil visualização; estilete moderadamente desenvolvido com bulbos

basais pequenos, mas distintos; procorpo cilíndrico que se estreita na junção com o bulbo mediano, tendo de comprimento 3 - 3,6 vezes a largura do corpo naquela região; bulbo mediano oval, com distinto aparelho valvular; istmo cilíndrico e estreito, tão comprido quanto o procorpo; bulbo esofágico posterior usualmente elevado, com 27 - 34 μ de comprimento, sobrepondo-se levemente ao intestino do lado ventral com três núcleos glandulares distintos; cardia ausente; anel nervoso localizado posteriormente ao bulbo mediano; poro excretor a 90 - 110 μ da extremidade anterior; hemizonídeo a 3 - 6 μ anterior ao poro excretor; abertura da vulva transversal; canal da vagina levemente oblíquo; espermateca longa, com espermatozoides largos e arredondados; ovário anterior e reto; oocistos em uma única fileira raramente em fileira dupla; saco pós-uterino degenerado, sem esperma, com comprimento de 2-2,5 vezes o diâmetro do corpo na região da vulva; cauda conóide, com 5,2 a 5,4 vezes o diâmetro do corpo na região anal, terminando com um ponto afilado semelhante a um mucro.

Machos - Tão numerosos quanto as fêmeas; corpo reto, levemente curvado ventralmente, quando mortos por calor; morfologia similar à fêmea, cauda com bursa, estreita em alguns espécimes, estendendo quase à ponta da cauda; espiculos simples e curvados ventralmente, gubernáculo curto e simples.

Larva - semelhante aos adultos, com o esôfago proporcionalmente maior do que o do adulto.

4.4 - Gênero *Rhadinaphelenchus*

O gênero inclui somente uma espécie, *R. cocophilus*.

Rhadinaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919) J.B. Goodey, 1960.

Sinonímia - *Aphelenchus cocophilus* Cobb, 1919; *Aphelenchus* (*Chitinoaphelenchus*) *cocophilus* (Cobb, 1919) Micoletzky 1922; *Aphelenchoides cocophilus* (Cobb, 1919) T. Goodey, 1933; *Chitineoaphelenchus cocophilus* (Cobb, 1919) Chitwood, 1959.

Mensurações - (Após Goodey, 1960):

♀ ♀: L = 0,97 - 1,18 (1,05)mm; b = 8,7; c = 9,5 - 13,2 (11,6); V = 64-68 (66).
♂ ♂: L = 0,84 - 1,16 (1,02)mm; a = 100 - 179 (120); b = 6,5; c = 24 - 35 (28);
T = 50 - 68 (59).

(Após Cobb, 1919 em Goodey, 1960):

♀: L = 1mm; a = 71; b = 7,7; c = 12,5; V = 68
♂: L = 1mm; a = 100; b = 7,7; c = 20; T = 45.

(Após Lordello & Zamith, 1954):

♀: L = 0,83 - 1,11; a = 60 - 96; b = 11 - 14; c = 9,4 - 10,7; V = 66 - 69;
s = 15,3µ.

♂: L = 0,82 - 1,42mm; a = 92 - 143; b = 11 - 19; c = 22 - 47;
s = 10,7 - 13,8µ.

(Após Thorne, 1961):

♀: L = 1,2mm; a = 69; b = 8,4; c = 12; V = 65;

♂: L = 1,0mm; a = 65; b = 7,8; c = 19; T = 42.

Descrição

Fêmeas - Corpo muito delgado e medindo cerca de 1mm de comprimento, levemente curvado, quando morta por calor; cutícula fina, com delicadas estrias transversais, campos laterais com quatro incisões; deirídeos e fasmídeos ausentes; região labial levemente mais estreita do que o corpo, alta e achatada anteriormente; estrutura cefálica proeminente e esclerotizada; estilete delicado e com bulbos basais, algumas vezes não visíveis, principalmente em espécimes que não atingiram a maturidade, músculos de estilete distintos; procorpo cilíndrico e alongado, metacorpo oval, usualmente duas vezes a largura do corpo naquela região e com o aparelho valvular situado posterior ao centro do mesmo; glândulas esofagianas sobrepondo-se ao intestino dorsalmente, de difícil visualização; anel nervoso circundando o istmo; poro excretor pequeno e localizado posterior a posição do anel nervoso, anterior ao hemizonídeo; intestino com pequenos grânulos e lumen não distinto; vulva como uma fenda e semelhante a um C numa visão ventral, algumas vezes pode apresentar-se com extensão labial conhecido como "vulval flap"; parede da vagina grossa levemente curvada; ovário anterior bem desenvolvido, distendido e reto, com oocistos em uma simples fileira, separando-se do útero por uma constrição; saco pós-uterino estendendo-se a 0,75 da distância da vulva ao ânus e usualmente apresenta espermas esféricos relativamente grandes; ânus distinto; cauda alongada e subcilíndrica com o final sem estrias e arredondada, sendo de comprimento 10 - 17 vezes o diâmetro do corpo na região anal.

Machos - Corpo fortemente curvado ventralmente na região da cauda; ca-beça, estilete e esôfago como descrito para fêmeas; testículo simples e distendido anteriormente com os espermatozôonios em fileira simples; espículos pareados e pequenos, rostradistinto, sem gubernáculo; parte terminal da cauda de co-nóide a ponteaguda; bursa presente, estendendo até a ponta da cauda; apresenta dois pares de papilas caudais (um par posterior e outro anterior ao ânus).

Larva - Tem a parte anterior bem alta e não "off-set"; cauda das lar-

vas do segundo e terceiro estágios, termina de forma conóide e levemente mucronada; apresenta dimorfismo na ponta da cauda para larva do quarto estágio, sendo que nas larvas fêmeas é arredondada e nas larvas machos é pontiaguda.

4.5 - Gênero *Heterodera*

O gênero apresenta 34 espécies descritas até 1983; *H. glycines*, *H. schachtii* e *H. goettingiana* são conhecidas como transmitidas junto a sementes.

4.5.1 - *Heterodera schachtii* Schmidt, 1871.

Sinonímia - *Tylenchus schachtii* (Schmidt, 1871) Orley, 1880; *Heterobolbus schachtii* (Schmidt, 1871) Railliet, 1896; *Heterodera* (*H.*) *schachtii*, Schmidt 1871 (Akarbilovich, 1959); *Heterodera schachtii minor* O. Schmidt, 1930.

Mensurações - (Após Rashi, 1950).

♀ ♀: L = 626 - 890µ; largura = 361 - 494µ; s = 27µ; corpo = 28-30µ x 27-30µ; espículo = 9 - 12µ espessura.

♂ ♂: L = 1,119 - 1,438mm; largura = 28 - 42µ; a = 32 - 48; s = 29µ; espículo = 34 - 38µ; gubernáculo = 10 - 11µ.

Larva (2º estágio) - L = 435 - 492µ; largura = 21 - 22µ; s = 25µ.

anelações (no meio do corpo) = 1,4 - 1,7µ.

Cistos - Tamanho é semelhante ao corpo das fêmeas; comprimento fenestral = 38,7µ; diâmetro levemente menor que a distância da vulva ao ânus, (65 - 111µ) média 77µ.

(Após Kerstan, 1971):

♀ ♀: L = 550 - 950µ (com 42,8 nematóides por mg de raiz) e 650 - 1000µ (com 8,7 nematóides por mg de raiz).

♂ ♂: L = 0,540 - 1,70mm; largura = 20 - 38µ; a = 22 - 55; s = 22 - 31µ.

Larvas - L = 420 - 550 (470)µ.

Descrição

Fêmeas - De coloração branca, corpo em forma de linão, com pescoço curto e grosso, quase sempre embutido na raiz do hospedeiro; parte terminal da vulva formando uma protuberância cônica, coberta por uma matriz gelatinosa contendo poucos ovos; poro excretor no "ombro", onde o corpo se dilata; estrutura cefálica fraca; estilete delgado com pequenos bulbos basais; metacorpo proeminente e esférico; glândulas esofagianas sobrepondo-se ao intestino lateroven

tralmente; dois ovários pareados; maioria dos ovos dentro do corpo; quando a fêmea morre, a cutícula engrossa, torna-se marrom com diminutas rugas, formando o cisto que protege os ovos; os cistos destacam-se das raízes e caem no solo, tendo cada um 500 a 600 ovos, mantendo-se viáveis por até seis anos.

Os cistos de *H. schachtii* podem ser distintos das de outras espécies do gênero pela sua forma e característica da vulva cônica; num corte, no final da vulva cônica, observam-se as semifenestras, separadas pela ponte vulvar.

Machos - Corpo usualmente reto com a quarta parte posterior espiralada (90 - 180°), quando mortos pelo calor; cauda menor que a metade do diâmetro do corpo; fasmídeos adanaís; anéis distintos; campos laterais com quatro incisões longitudinais; cabeça "off set" com três ou quatro anelações; estrutura cefálica hexaradiada, com os setores laterais levemente mais estreitos que os sublaterais; pequenas aberturas anfidiais, nos setores laterais; cefalídeos anteriores no segundo anel, posterior no sexto e oitavo anel, atrás da constricção da cabeça; estilete bem desenvolvido com bulbos basais apresentando-se concavos anteriormente; esôfago cilíndrico que se alarga no meio em um bulbo fusiforme com aparelho valvular, istmo circundado pelo anel nervoso; glândulas esofagianas sobrepondo-se ao intestino ventrolateralmente; o conduto da glândula dorsal junta-se ao lumen do esôfago a 2μ atrás da base do estilete, duas aberturas subventrais dentro do lumen do metacorpo fecha-se atrás do aparelho valvular; poro excretor a duas ou três vezes o diâmetro do corpo atrás do metacorpo; hemizonídeo do sexto ao décimo anel em frente ao poro; testículo simples terminando bruscamente; espículos curvados, levemente lobulado na parte anterior; gubernáculo simples.

Larva - (segundo estágio): cabeça em "off set", hemisférica com quatro anéis; estrutura cefálica robusta e hexaradiada; pequenas aberturas anfidiais nos setores laterais; campos laterais com quatro incisões; estilete forte com bulbos basais moderados; esôfago como descrito para os machos, mas o metacorpo é mais proeminente; o conduto da glândula dorsal abre-se a 3 - 4 μ atrás da base do estilete; ânus não distinto situado a quatro vezes o diâmetro do corpo na região anal da parte final; cauda acentuadamente cônica, com a ponta arredondada; seção terminal hialina medindo 1 - 1,25 vezes o comprimento do estilete; primórdio genital com dois núcleos, localizados atrás, do meio do corpo; fasmídeos não distintos, posterior ao ânus.

4.5.2 - *H. goettingiana* Liebscher, 1892

Sinonímia - *Heterodera schachtii* (raça de ervilha) Liebscher, 1890;
H. (Heterodera) goettingiana Liebscher, 1892 (Skarbilovich, 1959).

Mensurações

♀ ♀: s = 25,7 ($\pm$ 1,0) μ ; distância da base do estilete ao conduto da glândula esofageana dorsal = 5,5 ($\pm$ 1,1) μ ; número de anéis na cabeça = 1 - 3; distância da ponta da cabeça ao aparelho valvular no metacorpo = 71,8 ($\pm$ 8,4) μ ; diâmetro do metacorpo = 32,7 ($\pm$ 2,3) μ ; distância da ponta da cabeça ao poro excretor = 131, 1 ($\pm$ 20,4) μ ;

Cistos - L = 521 ($\pm$ 53) μ (incluindo o pescoço); largura = 373 ($\pm$ 44) μ ; comprimento da fenestra = 37, 4 ($\pm$ 4,3) μ ; comprimento da semi-fenestra = 16,3 ($\pm$ 3,9) μ ; distância do ânus a borda da fenestra = 36,2 ($\pm$ 4,6) μ ; L (ponte vulvar) = 33 ($\pm$ 0,9) μ ; L (abertura da vulva) = 39,9 ($\pm$ 7,2) μ ;

Neótipo (dimensões do cisto cônico): L (fenestra) = 35 μ ; L (semifenestra) = 15 - 16 μ ; largura (fenestra) = 37 μ ; distância ânus a borda da fenestra = 30 μ ; L (ponte vulvar) = 36 μ ; largura máxima da ponta vulvar = 5 μ ; L (abertura da vulva) = 36 μ ;

♂ ♂: L = 1270 (= 112 μ) a = 51,4 ($\pm$ 4,6); largura na região do poro excretor = 24,7 ($\pm$ 0,8) μ ; s = 26,8 ($\pm$ 1,0) μ ; distância da base do estilete ao conduto da glândula esofagiana dorsal = 7,9 ($\pm$ 1,2) μ ; distância da ponta da cabeça ao aparelho valvular no metacorpo = 100,9 ($\pm$ 5,5) μ ; distância da ponta da cabeça ao poro excretor = 157,9 ($\pm$ 9,9) μ ; L (espículo) = 26,5 ($\pm$ 4,3) μ ; L (gubernáculo) = 12,2 ($\pm$ 2,0) μ ; T (mais o canal deferente) = 663 ($\pm$ 81) μ ; L (cauda) = 5,1 ($\pm$ 1,0) μ ;

Larva - (2º estágio): L = 486 ($\pm$ 22) μ ; a = 25,1 ($\pm$ 1,1) Largura (região do poro excretor) = 19,4 ($\pm$ 0,7) μ ; s = 24,6 ($\pm$ 0,8) μ ; distância da base do estilete ao conduto da glândula esofagiana dorsal = 5,3 ($\pm$ 0,7) μ ; distância da ponta da cabeça ao aparelho valvular ao metacorpo = 70,3 ($\pm$ 2,3) μ ; distância da ponta da cabeça ao poro excretor = 101,6 ($\pm$ 4,0) μ ; distância do ânus ao término da cauda = 60, 1 ($\pm$ 5,3) μ ; largura da cauda na região anal = 12,7 ($\pm$ 0,9) μ ; parte hialina da cauda = 37 ($\pm$ 3,2) μ .

Descrição

Fêmeas - Corpo volumoso, em forma de linão; parte anterior do pescoço irregularmente anelada; o restante do corpo sem anelações ou incisões laterais, mas é coberto com saliências reticuladas até a região perineal, estrutura cefálica fraca e hexaradiada; parte anterior do estilete é 50% do comprimen

to do estilete; bulbo mediano largo, subesférico, com aparelho valvular oval e proeminente; glândulas esofagianas em lóbulo alongado, frequentemente deslocado pelo grande desenvolvimento dos ovários; poro excretor distinto localizado na base do pescoço; região vulvar e caudal encontram-se numa projeção de forma cônica obtusa, oposta ao pescoço; abertura da vulva transversal, rodeada ventral e dorsalmente por uma fina parede; vagina suportada por fortes partes musculares laterais; região da fenestra rodeada por uma cutícula fina e localizada no polo posterior do corpo, com o ânus na posição dorsal; fêmea de coloração branca, quando emergem do cortex da raiz e torna-se marrom por ocasião de sua morte; produção de um saco geletinoso, onde a fêmea coloca poucos ovos através da abertura da vulva.

Cistos - Em forma de limão, de coloração marrom escuro, com uma zona fortemente pigmentada e grossa ao redor da fenestra; uma camada muito fina e subcristalina, visível somente ao microscópio eletrônico; ausência de estrutura tipo ampola na região da fenestra.

Machos - Vermiformes, com cauda curta, bruscamente arredondada; parte posterior caracteristicamente curvada, quando os espécimes são mortos por calor; cutícula anelada; quatro incisões nos campos laterais, areoladas (visto somente ao microscópio eletrônico); cabeça "off set", com proeminente tampão e cinco ou seis anéis; estrutura cefálica hexaradiada, fortemente esclerosada; cefalídeos anterior e posterior ao nível do 2º, 8º ou 9º anel, respectivamente; estilete bem desenvolvido, com a parte anterior 45% do comprimento do estilete; bulbos basais arredondados e inclinados na parte anterior; bulbo mediano em forma de elipse delgada, com aparelho valvular distinto; glândulas esofagianas dorsal e subventral, formando um lóbulo distinto; glândula dorsal com núcleo proeminente; anel nervoso circundando o esôfago entre o metacorpo e as glândulas; hemizonídeo visível, localizado cinco a sete anéis anterior ao poro excretor; testículo simples, a cerca de 50% do comprimento total do corpo, repleto de espermatogônio, terminando em um vaso deferente, de lumen estreito; pequena abertura cloacal; espículos fortes, curvados, com as pontas denteadas (visto em microscópio eletrônico); gubernáculo como uma simples haste; ausência de fasmídeos e parahemizonídeos.

Larvas - (segundo estágio) Acomodam-se formando três dobras dentro do ovo; vermiforme com cutícula anelada regularmente; quatro incisões no campo lateral, areoladas quando vista ao microscópio eletrônico; cabeça levemente em "off set"; lábios laterais com aberturas anfídias; estrutura cefálica forte, hexariada e frequentemente cobrindo a ponta do estilete; cefalídeos no segundo

e oitavo anéis atrás da cabeça; estilete robusto; bulbos basais variando de levemente arredondados a levemente em forma de ganchos, com a superfície anterior curvada; parte anterior do esôfago, como descrito para o macho; glândulas esofagianas em um lóbulo longo, estendendo-se 33% do comprimento do corpo da cabeça; glândula dorsal e subventral em lóbulo menos distinto do que dos machos; núcleo da glândula dorsal distinto; anel nervoso como o do macho; hemizonídeo menor que uma largura do anel, localizado no sétimo ou oitavo anel atrás do poro excretor; primórdio genital como estrutura de duas células distintas, localizado no meio do corpo; cauda com final afilado e parte posterior 60% hialina, com um ou dois corpos pequenos refratários de composição não conhecida; hemizonídeos e fasmídeos não observados.

4.5.3 - *H. glycines* Ichinohe, 1952

Mensurações

♀ ♀: L = 470 - 790 μ , L (pescoço) = 70 - 100 μ , largura = 210 - 580 μ ; V = 43-56 (49,7) μ

Cistos - L = 700 ($\pm$ 60) μ ; largura = 450 ($\pm$ 54) μ ;

♂ ♂: L = 1,3 (1,1 - 1,4)mm; comprimento do espículo = 34,3 ($\pm$ 1,2) μ ; s = 26,9 ($\pm$ 0,4) μ ; comprimento da cauda = 5,3 ($\pm$ 0,5) μ ;

Larva - (segundo estágio): L = 439 ($\pm$ 6,7) μ ; s = 23

($\pm$ 0,1) μ ; comprimento da cauda = 50,4 ($\pm$ 1,0) μ ; comprimento da porção hialina = 26,6 ($\pm$ 0,7) μ .

Descrição

Fêmeas - Corpo em forma de linão; coloração amarela a marrom escuro; região perineal com uma série de linhas curtas em zig-zag, desordenadas; pontuações irregulares na fina cutícula; presença de uma estrutura tipo ampola, próximo à fenestra vulvar.

Machos - Parecido com os machos das outras espécies; bulbos basais maços e arredondados; cefalídeos localizados dorsal e ventralmente, próximo à sexta e oitava anelação; núcleo da glândula esofagiana a cerca de uma largura do corpo; espículo bidentado; hemizonídeo próximo à sexta anelação, anterior ao poro excretor.

Larva (segundo estágio) - Cefalídeos próximos ao meio da cabeça; bulbos do estilete levemente arredondados; hemizonídeo adjacente ao poro excretor; abertura da glândula esofageana dorsal 4.(3,3 - 5,2) μ atrás da base do estilete; a porção hialina ocupa metade do comprimento da cauda.

5 - PRINCIPAIS ESPÉCIES DE NEMATÓIDES TRANSMITIDAS POR SEMENTES

5.1 - *Aphelenchoides besseyi*

Agente causal da doença "ponta-branca" do arroz. Apresenta uma ampla distribuição geográfica, tendo sido relatado em várias partes do mundo onde se cultiva arroz irrigado ou de sequeiro. O primeiro registro da ocorrência desse nematóide foi em 1940, no Japão. Entretanto, já há registros de sua ocorrência nos seguintes países: África-Egito, Serra Leoa, Senegal, Camarões, República Centro Africana, Gabão, Tchad, Madagascar, Togo, Zaire, Gana, Nigeria, Costa do Marfim, Alto Volta, Mali, Kênia, Tanzânia e Rodésia; Ásia - Japão, Índia, Formosa, Bangladesh, Tailândia, Filipinas e Indonésia; América - E.U.A., México, El Salvador e Brasil; além da Hungria e URSS, na Europa (C.I.H., 1972b); FORTUNER et al., 1975 e HUANG, 1978.

No Brasil, a doença já alcançou diversos estados, tais como: Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo (HUANG, 1978).

A infestação da parte aérea da planta hospedeira provoca clorose nos primeiros 2-5cm da extremidade apical das folhas. Os tecidos, inicialmente, apresentam-se esbranquiçados, tornam-se escuros e necrosados na fase posterior da doença. Além da clorose, as folhas parasitadas pelo nematóide, principalmente as mais jovens, tornam-se caracteristicamente menores e torcidas na porção apical. Também há redução da altura da planta, perfilhamento anormal nos nós superiores, escurecimento do verde das folhas, má formação e mal desenvolvimento das panículas, com menor produção de grãos.

Sementes infestadas constituem a principal fonte primária de inóculo, portanto a determinação da densidade populacional no lote de sementes é importante para o estabelecimento do nível crítico da doença. A tolerância máxima de danos da doença é de 5% de perda no peso do grão; o nível crítico de infestação das sementes fica em torno de 300 nematóides viáveis por 100 sementes. Dependendo do grau de suscetibilidade das variedades de arroz usadas e do nível inicial de infestação do nematóide, as perdas na produção de grãos podem variar de 30 a 50%.

Além da cultura do arroz, principal hospedeira de *A. besseyi*, outras plantas também são suscetíveis a esse patógeno: *Allium cepa*, *Chrysanthemum nainum*, *Dahlia variabilis*, *Dioscorea trifida*, *Fragaria chiloensis* var. *anannassa*, *Glycine hispida*, *Ipomoea batatas*, *Oryza* spp., *Panicum bisulcatum*, P.

maritima, *Pennisetum typhoides*, *Saccharum officinarum*, *Tagetes* sp., *Zea mays* e *Zinnia elegans*.

A. besseyi não é parasita obrigatório e pode ser encontrado sobrevivendo em fungos, como: *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., e *Nigrospora* sp., na ausência da planta hospedeira.

5.2 - *Aphelenchoides ritzemabosi*

Aphelenchoides ritzemabosi: nematóide endo ou ectoparasita, teve sua transmissão por semente confirmada em *Callistephus chinensis*. Representa um dos mais importantes patógenos de crisântemo na Europa, URSS, EUA, África do Sul, Nova Zelândia e Austrália, além da sua ocorrência já ter sido relatada em outros países como Fiji, Mauritânia e Brasil (C.I.H., 1974a).

A. ritzemabosi inicialmente atua como ectoparasita na parte aérea da planta, posteriormente penetra no interior das folhas, através dos estômatos, indo alimentar-se das células do tecido parenquimático. As folhas infestadas passam a apresentar manchas que se tornam escuras, à medida que intensifica a infestação, resultando na morte da folha. Os nematóides, após a morte dos tecidos, deixam a área necrosada e migram pela superfície externa da folha para outros pontos sadios da planta.

Em uma única folha de crisântemo foram detectados cerca de 15.000 espécies deste nematóide e acima de 300 indivíduos por 14 g de sementes de âster (*Callistephus chinensis*).

Outros hospedeiros importantes deste nematóide inclui: *Dahlia* sp., *Delphinium* sp., *Phlox* sp., *Zinnia elegans* e *Fragaria vesca*.

5.3 - *Aphelenchoides arachidis*

Este nematóide atua endoparasiticamente no tegumento de sementes de amendoim, causando descoloração dos tecidos. As vagens severamente infestadas apresentam-se pequenas, com as sementes secas e enrugadas.

A ocorrência deste nematóide em sementes de amendoim foi registrada em 1977, na Nigéria, onde essa espécie permanece endêmica.

O nível de infestação crítico de *A. arachidis* é, em média, 2.000 indivíduos por tegumento. Exame realizado, na Nigéria, em lotes de sementes infestadas, detectou mais de 35.000 nematóides por tegumento.

5.4 - Espécies de Anguina

Anguina tritici

Nematóide fitoparasita obrigatório, sendo o trigo seu principal hospedeiro.

A infestação inicial ocorre no meristema apical. Quando parasitam as partes somáticas provocam torceduras, galhas e desenvolvimento anormal das plantas. Com o surgimento das inflorescências, começa o seu parasitismo no órgão reprodutor da planta hospedeira, causando a formação de galhas no lugar dos grãos. Cada galha, disseminada juntamente com as sementes, pode conter centenas de larvas infectantes, constituindo-se na principal fonte de inóculo do nematóide.

Anteriormente, *A. tritici* foi relatada na América do Norte, Austrália, URSS, Inglaterra e País de Gales, mas através de técnicas de separação das galhas do lote de sementes sadias, conseguiu-se quase que totalmente eliminar esse nematóide desses países. Entretanto, sua ocorrência é registrada na Índia, Etiópia, Síria, Israel e Iugoslávia (C.I.H., 1972a; NEERGARD, 1979 e TENENTE & MARQUES, 1983b).

Outras culturas parasitadas por este nematóide são: *Secale cereale* (centeio), *Avena sativa* (aveia) e *Hordeum vulgare* (cevada).

Em alguns campos utilizados para plantio, sementes de trigo contaminadas com galhas de *A. tritici*, na taxa de 2,5, 6,5 e 8,5% resultaram em um decréscimo na produção total de 30, 54 e 60%, respectivamente.

Anguina agrostis

Parasita obrigatório de diversos gêneros de forrageiras: *Agrostis*, *Apera*, *Aretagrostis*, *Dactylis*, *Festuca*, *Hordeum*, *Koeleria*, *Panicum*, *Phalaris*, *Phleum*, *Poa*, *Puccinellia*, *Sporobolus*, *Stipa* e *Trisetum*.

A presença de *A. agrostis* parasitando forrageira já foi registrada nos países da Europa, Austrália, Canadá, EUA, Nova Zelândia, URSS e Argentina (C.I.H., 1979; NEERGARD, 1979; TENENTE & MARQUES, 1983a).

As espiguetas infestadas por *A. agrostis* apresentam alterações como o alargamento e acréscimo do número de glumas, que se tornam pilosas. As panículas infestadas por *A. agrostis* apresentam-se com os ovários anormais, mal formados e estéreis. O ponto mais importante em relação às galhas desse nematóide em *Festuca* é quanto a sua toxidez ao gado ou a outros animais que se alimentam das plantas infestadas. Os animais adquirem uma doença nos nervos, ca-

racterizada por tremor dos músculos, falta de coordenação e queda, podendo levar, inclusive à morte.

Outras espécies de Anguina

A. spermophaga, foi detectada pelo serviço de quarentena dos EUA, em sementes verdadeiras de cana-de-açúcar, provenientes da URSS (NEERGARD, 28).

A. agropyronifloris, parasita de *Agropyron smithii* e *Trisetum flavescens*. A infestação da inflorescência causa desenvolvimento de galhas tornando os ovários estêreis. O registro dessa espécie limita-se aos EUA (NEERGARD, 28).

Outras duas espécies transmitidas associadas a sementes são: *A. klebahnii*, detectada parasitando *Primula florinda*, registrada na Alemanha; *A. tumefaciens*, em *Cynodon transvaalensis*, na África do Sul (JAEHN, 1983).

5.5 - Espécies de *Ditylenchus*

Ditylenchus dipsaci

Nematóide endoparasita, com várias raças biológicas, tendo em torno de 400 espécies de plantas hospedeiras. Conhecido como parasita de caule e bulbo, também pode ser transmitido através de sementes de diversas culturas. A transmissão desse nematóide em sementes é uma maneira de explicar a ampla distribuição geográfica das raças dessa espécie.

Os sintomas observados são a deformação e torção dos brotos, formação de galhas, além do definhamento da parte subterrânea da planta, raiz e/ ou bulbo.

Esse nematóide está mundialmente distribuído, tendo sido registrada sua presença na América do Sul e Norte, Europa, África, Ásia e Austrália (C.I. H., 12; NEERGARD, 28)

Importantes culturas disseminam *D. dipsaci*, através de suas sementes: em *Allium ascalonicum* e *A. cepa*, o nematóide é transmitido abaixo do tegumento próximo à região do hilo da semente, em *Avena sativa*; é disseminado como contaminante em torrões de solo misturados às sementes; em *Phaseolus vulgaris*, infestando os cotilédones; em *Plantago lanceolata*, *Medicago sativa* e *Trifolium pratense*, juntamente com restos de partes da planta, infectadas e aderidas às sementes. *Beta vulgaris*, *Barkhausia taraxacifolia*, *Dipsacus fullonum* e *Hypochaeris radicata* também disseminam *D. dipsaci*, através de suas sementes.

Ditylenchus angustus

Parasita obrigatório, tendo o arroz como seu principal hospedeiro. A infestação das plântulas, normalmente, ocorre poucos dias após sua germinação. Com o crescimento da planta, o nematóide ascende sob o limbo foliar, como ectoparasita, e acompanha o desenvolvimento do meristema apical. Com a floração, os nematóides terminam por atacar as panículas em desenvolvimento e a seguir as espiguetas. A infestação induz o aparecimento de clorose, listas e torceduras nas folhas, além da má formação das panículas, resultando em espiguetas vazias ou com apenas poucos grãos formados.

Tem-se registro da ocorrência de *D. angustus* em países da Ásia (Burma, Índia e Filipinas), assim como o Egito e Madagascar (C.I.H., 1975).

As perdas na cultura de arroz, devido a esse nematóide, são economicamente importantes, atingindo, na Tailândia, mais de 90% da produção total, em áreas com elevada infestação (WEBSTER, 1972).

O ciclo de hospedeiro deste nematóide limita-se ao gênero *Oryza*, incluindo *O. sativa* var. *fatua*, *O. glaberrima*, *O. minuta*, *O. officinalis*, *O. meyriana*, *O. latifolia*, *O. eichingeri* e *O. alta hexandra*.

5.6 - *Rhadinaphelenchus cocophilus*

Agente causal do anel-vermelho-do-coqueiro (*Cocos nucifera*). Ataca os tecidos corticais das raízes e também os tecidos intercelulares do colmo e das folhas do coqueiro. Causa amarelecimento e posterior escurecimento das folhas e morte do broto terminal. Observa-se grande queda de flores e frutos finalizando com a morte de toda planta. Corte transversal no colmo, revela um círculo vermelho nos tecidos, aproximadamente 5cm da periferia. Nos tecidos adjacentes ao círculo, pode ser encontrado um grande número de nematóides.

A distribuição geográfica de *R. cocophilus* ocorre na região das Antilhas, Belize, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana, Honduras, México, Panamá, Suriname e Venezuela (C.I.H. 1975 e NEERGARD, 1979).

No Brasil, esta doença seguramente ocorre nos estados de Alagoas, Sergipe, Pernambuco, Bahia, Ceará e Rio de Janeiro (LORDELLO et al., 1954 e LORDELLO, 1981).

R. cocophilus pode ser transmitido através do coco. O nematóide localiza-se entre a casca e a castanha, podendo ser disseminado associado ao coco, através de longas distâncias. O coleóptero *Rhyncophorus palmarum*, comumente encontrado nas áreas infestadas, serve como vetor do nematóide de uma planta a

outra, tendo, portanto, a sua ação limitada a distâncias mais curtas.

Outro hospedeiro deste nematóide é a palmeira da espécie *Elaeis guineensis*.

5.7 - Espécies de *Heterodera*

Heterodera glycines

É considerado um dos mais destrutivos parasitas da soja, causador da doença denominada "nanismo amarelo".

A presença de *H. glycines* causando doença à soja já foi relatada no Japão, Coreia, China, EUA e Egito (MANSO, et al., 1984).

As plantas de soja infestadas apresentam sintomas de amarelecimento das folhas, redução no crescimento e na produção da planta. A infestação no interior das raízes, causa extensa alteração e/ou destruição dos tecidos radiculares, causas diretas do aparecimento dos sintomas.

As fêmeas fertilizadas produzem e armazenam ovos no interior do corpo. Após sua morte, sua cutícula altera-se quimicamente, transformando-se em uma estrutura de resistência - o cisto - que serve como invólucro protetor dos ovos.

A transmissão do cisto, como contaminante aderido ou não às sementes, é uma importante via de disseminação desse nematóide. Os cistos podem permanecer viáveis no solo por mais de oito anos, na ausência da planta hospedeira. Entretanto, a presença de exsudados de raiz da planta hospedeira estimula a eclosão do cisto, liberando as larvas, que iniciam o parasitismo.

A infestação por *H. glycines* pode causar perdas sérias de mais de 70% da produção de soja, dependendo do grau de infestação do solo. Plantas severamente infestadas foram observadas em solo com infestação de 280 a 800 cistos por 560ml de solo.

Várias outras culturas também podem ser infestadas por *H. glycines* tais como: *Phaseolus vulgaris*, *P. angularis*, *Lespedeza stipulaceae*, *Vicia sativa*, *Glycine ussuriensis*, *Lupinus albus*, *Sesbania macrocarpa* e *Lamium amplexicaule*.

Heterodera schachtii

É nematóide endoparasita que infesta principalmente plantas de beterraba. As larvas penetram nas raízes laterais, induzindo uma redução do crescimento ou morte da raiz. Os danos causados às raízes reduzem o crescimento e

produção da planta. O nível crítico da infestação está em torno de dez cistos por grama de solo, que podem ser transmitidos associados às sementes das plantas hospedeiras, isoladamente ou aderido ao solo.

A distribuição geográfica de *H. schachtii* engloba a Europa, URSS, Turquia, Israel, EUA, Canadá, Austrália e África do Sul (C.I.H., 1972d.).

O nematóide parasita principalmente espécies de plantas das famílias Chenopodiaceae e Crucifera e apresenta um amplo ciclo de hospedeiras, em torno de 100 diferentes espécies. As principais espécies hospedeiras são: *Spinacea oleracea*, *Brassica oleracea*, envolvendo todas as variedades, *B. napus*, *B. rapa*, *Rhaphanus sativus*, *Rheum rhabonticum*, *Brassica campestris*.

Heterodera goettingiana

É nematóide parasita de ervilha. Os cistos deste nematóide podem ser disseminados misturados com sementes da planta hospedeira. Cada cisto possui em média 100 a 600 ovos que, ao eclodirem, liberam as larvas que penetram nas raízes do hospedeiro e inicia o parasitismo.

As plantas infestadas tornam-se atrofiadas com as folhas amareladas e com baixa produção de grãos.

A ocorrência deste nematóide foi relatada para os EUA e Europa. (C.I.H., 1974b).

Além da ervilha, outras culturas podem ser hospedeiras de *H. goettingiana*, tais como: *Vicia faba*, *Vicia spp.*, *Glycine max*, *Lens esculenta* e *Lupinus spp.*

6 - CONCLUSÃO

A utilização de sementes comprovadamente livres de fitonematóides é uma das maneiras mais eficientes para prevenir a disseminação do parasito e o estabelecimento da doença.

Normalmente, as sementes infestadas apresentam aspecto sadio, sem sintoma característico. Também o fato de serem microscópicos permite que passem despercebidos, mesmo quando vinculados externamente às sementes. Dessa forma, é fundamental o emprego de métodos de detecção eficazes, para determinar a sanidade da semente.

Dentre as espécies de fitonematóides transmitidas por sementes, a maioria das descritas, não tem registro da sua ocorrência no Brasil.

A introdução dessas espécies poderá causar problemas imprevisíveis a

agricultura brasileira. Grandes prejuízos foram observados com a introdução de *H. glycines*, nos EUA e de *A. besseyi* no Leste e Centro africano, em sementes infestadas.

A possibilidade da introdução de novas raças ou patótipos de espécies de nematóide deve ser levada em consideração, mesmo que essas espécies já ocorram no país. *D. dipsaci* esteve presente por muitos anos em áreas de cultivo de alfafa, na Suíça, sem causar danos consideráveis; entretanto, após a introdução da raça gigante através de sementes de alfafa importada, este nematóide passou a representar um dos maiores problemas, dessa cultura, naquele país. Portanto, precaução de introduções deve ser direcionada, não apenas contra espécies de patógenos, mas, igualmente, contra raças de espécies de fitonematóides (Anexo 2). Uma nova raça introduzida pode quebrar a resistência ou tolerância desenvolvida pela cultura, ao longo do tempo, para as raças já existentes no local.

O uso de sementes certificadas, limpas de restos de partes vegetais infestadas, ou de solo, e o plantio de variedades resistentes, quando existentes, ainda representam a forma mais segura de evitar a transmissão de fitonematóides por sementes.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. New York, Academic Press. 1969. 629p. ilustr.
- BOS, W.S. *Aphelenchoides arachidis* (Nematoda: Aphelenchoidea), an endoparasite of the test a of groundnuts in Nigeria. Journal of Plant Diseases and Protection, 84 (2): 95-97, 1977
- BRIDGE, J.; BOS, W.S.; PAGE L.J. & Mc DONALD, D. The biology and possible importance of *Aphelenchoides arachidis*, a seed-borne endoparasitic nematode of groundnuts from Northern Nigeria. Nematologica, London, 23: 253-259, 1977.
- CAUBEL, G. Importance of the transmission by seed of phyto-parasitic nematodes. Le Rheu, France I.N.R.A. Station de Zoologie, 1982. 4 p (mimeografado).
- CAVENESS, F.E. A glossary of nematological terms. Ibadan, IITA, 1964. 83p. ilustr.
- COMMONWEALTH INSTITUTE OF HELMINTHOLOGY. *Heterodera schachtii*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes. set(1). 1972a.

- COMMONWEALTH INSTITUTE OF HELMINTHOLOGY. *Aphelenchoides besseyi*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 1(4). 1972.
-
- _____. *Anguina tritici*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 1(13). 1972.
-
- _____. *Ditylenchus dipsaci*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 1(14). 1972.
-
- _____. St. Albans, Engl. *Anguina agrostis*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 2(20). 1973.
-
- _____. *Aphelenchoides ritzemabosi*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 3(32). 1974a.
-
- _____. *Heterodera goettingiana*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 4(47). 1974b.
-
- _____. *Ditylenchus angustus*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 5(64). 1975a.
-
- _____. *Rhadinaphelenchus cocophila*. CIH. Descriptions of plant parasitic nematodes, set 5(72). 1975b.
- FORTUNER, R. & WILLIAMS, O.K.J. Review of the literatures on *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942, the nematode causing "white tip" disease in rice. Helminthological Abstracts serie B, Plant Nematology 44(1): 1-40, 1975.
- GALLI, F. & CARVALHO, P.C.T. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. In: GALLI, F. ed. Manual de Fitopatologia 2ed. São Paulo, Edit. Agronômica Ceres, 1978. V. 1, p. 176-197.
- GOODEY, J.B. *Ditylenchus* and *Anguina*. In: SOUTHEY, J.F., ed. Plant Nematology. London, Min. of Agric. Fisheries and Food, 1965. p. 79-97. (Technical bulletin).
- GREEN, C.D. Aggregated distribution of *Ditylenchus dipsaci* on broad bean seeds. Ann. Appl. Biol., 92: 271-274, 1979.
- HUANG, C.S. O nematóide da ponta branca do arroz *Aphelenchoides besseyi*, um patógeno transmitido pelas sementes. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 3, Mossoró, 1978. Trabalhos apresentados. Mossoró, Sociedade Brasileira de Nematologia, 1978. p. 5-18. (Publ., 3).
- _____. Nematóides que atacam sementes. In: CURSO NACIONAL DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2, Pelotas, MEC/UFPEL/EMBRAPA/CETREISUL, 1979. 12p. (Mimeografado)
- JAEHN, A. Nematóides, pragas exóticas. Piracicaba, ESALQ, 1983. 31p. (Mimeografado)
- LORDELLO, L.G.E. Nematóides das Plantas Cultivadas. 6ed. São Paulo, Nobel, 1981. 197 p.

- LORDELLO, L.G.E. & ZAMITH, A.P.L. Constatação da moléstia "anel vermelho" do coqueiro no Estado do Rio de Janeiro. Redescricao do agente causador *Aphelenchoides cocophilus* (Cobb, 1919) Goodey, 1933 (Nematoda, Aphelenchidae). Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 124-132, 1954.
- MAI, W.F. & LYON, H.H. Pictorial key to genera of plant parasitic nematodes. 4ed. London, Cornell University Press, 1975. 221 p.
- MANSO, E.S.B.G.C. & TENENTE, R.C.V. Nematóide (*Heterodera glycines*) formador de cisto em soja. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 1984. 5p. (EMBRAPA/CENARGEN, Comunicado Técnico nº 8)
- MULVEY, R.H. & GOLDEN, A.M. An illustrated to the cyst forming genera and species of Heteroderidae in the western hemisphere witer species morphometrics an distribution. Journal of Nematology, Lawrence, 15(1) 1-59, 1983.
- NEERGARD, P. Seed Pathology. London. The Macmillan Press, 1979. V.1. 839p.
- NORTON, D.C. Ecology of plant parasitic nematodes. New York, Wiley Inter-science Publ., 1978. 268 p.
- TAYLOR, C.E. Nematological. In: HEWITT, W.B. & CHIARAPPA, L. Plant health and quarantine in international transfer of genetic resources, Cleveland, CRC Press, 1977. p. 17-24.
- TENENTE, R.C.V. Identificação de nematóides transmitidos através de germoplasma. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 6. Fortaleza, 1982. Resumos. Fortaleza, Sociedade Brasileira de Nematologia, 1982. p. 18.
- TENENTE, R.C.V.; MANSO, E.S.B.G.C.; COSTA, D.C. & MARQUES, A.S. dos A. Detecção de nematóides fitoparasitos em germoplasma importado - III - ano 1984. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 9, Piracicaba, 1985. Resumos. Piracicaba. Sociedade Brasileira de Nematologia, 1985. p. 54.
- TENENTE, R.C.V.; MANSO E.S.B.G.C.; MARQUES, A.S. dos A. & MARQUES, Jr.L. Detecção de nematóides fitoparasitos em germoplasma importado, II. ano 1983. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA 8. Recife, 1984. Resumos. Recife, Sociedade Brasileira de Nematologia, 1984. p. 28.
- TENENTE, R.C.V. & MARQUES, A.S. dos A. Nematóides parasitos de forrageiras. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 1983a, 5 p. (EMBRAPA/CENARGEN. Comunicado Técnico nº 4).
- TENENTE, R.C.V. & MARQUES, A.S. dos A. Nematóides de galhas em sementes de trigo e centeio. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 1983b, 5 p. (EMBRAPA/CENARGEN, Comunicado Técnico nº 5).

- TENENTE, R.C.V.; MARQUES, A.S. dos A. & AZEVEDO, Z.M. Detecção de nematóides fitoparasitos em germoplasma importado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 7. Brasília, 1983. Resumos. Brasília, DF. Sociedade Brasileira de Nematologia, 1983. p. 7.
- THORNE, G. Principles of nematology. New York, Mc Graw - Hill, 1961. V. I e II. 553 p.
- WEBSTER, J.M. Economic nematology. London, Academic Press, 1972. 563. p.

ANEXO 1

MENSURAÇÕES E ÍNDICES PARA DESCRIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES

- L = comprimento total do corpo, tomado desde a extremidade anterior do lábio até a extremidade da cauda, inclusive projeção, se presente.
- a = $\frac{\text{comprimento do corpo}}{\text{largura do corpo ao nível da vulva}}$
- b = $\frac{\text{comprimento do corpo}}{\text{distância da extremidade anterior até a junção esôfago - intestino}}$
- b' = $\frac{\text{comprimento do corpo}}{\text{distância da extremidade anterior até o final dos lóbulos da glândula esofageana posterior}}$
- c = $\frac{\text{comprimento do corpo}}{\text{comprimento da cauda}}$
- c' = $\frac{\text{comprimento da cauda}}{\text{largura do corpo ao nível do ânus}}$
- o = $\frac{\text{distância da base dos bulbos basais do estilete até a abertura da glândula esofageana}}{\text{comprimento do estilete}} \times 100$
- m = $\frac{\text{comprimento da parte anterior do estilete}}{\text{comprimento do estilete}} \times 100$
- v = $\frac{\text{distância da extremidade anterior do lábio até a vulva}}{\text{comprimento do corpo}} \times 100$
- Pa = $\frac{\text{distância do fasmídeo anterior até a extremidade da cauda}}{\text{comprimento do corpo}} \times 100$
- Pp = $\frac{\text{distância do fasmídeo posterior até a extremidade da cauda}}{\text{comprimento do corpo}} \times 100$
- VA = número de anéis do corpo entre a vulva e o fasmídeo anterior.
- S = estilete = tomado desde a extremidade anterior até os bulbos basais, inclusive.
- Espículos e gubernáculo = para os machos

ANEXO 2

RELAÇÃO DE NEMATÓIDES ASSOCIADOS A SEMENTES DE GERMOPLASMA VEGETAL IMPORTADO
(1981 - 1985)⁽¹⁾

Aphelenchoides sp.: *Allium cepa*, *Andropogon* sp., *Beta vulgaris*, *Brachiaria* spp., *Capsicum* sp., *Cenchrus ciliaris*, *Centrosema* spp., *Cucumis sativus*, *Eucalyptus* sp., *Festulolium* sp., *Gossypium hirsutum*, *Lycopersicon esculentum*, *Lolium perenne*, *Lotus* sp., *Mankiet esculente*, *Nethozylon sagu*, *Ornithopus* sp., *Oryza sativa*, *Panicum maximum*, *Paspalum* sp., *Pennisetum americanum*, *Pennisetum* sp., *Phaseolus vulgaris*, *Pinus* spp., *Sesamum indicum*, *Sorghum bicolor*, *Stylosanthes* spp., *Triticum aestivum*, *Vicia pannonica*, *Zea mays*, *Zornia* sp.

A. besseyi: *Oryza sativa*, *Panicum maximum*.

Ditylenchus sp.: *Allium cepa*, *Beta vulgaris*, *Guizotia abyssinica*, *Ornithopus* sp., *Phaseolus vulgaris*, *Sorghum bicolor*, *Triticum aestivum*.

Nothotylenchus sp.: *Pennisetum* sp.

Dorylainida: *Glycine max*, *Oryza sativa*.

⁽¹⁾ Detecção realizada pelo Laboratório de Nematologia, da Coordenação de Introdução, Intercâmbio e Quarentena, no Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN/EMBRAPA).

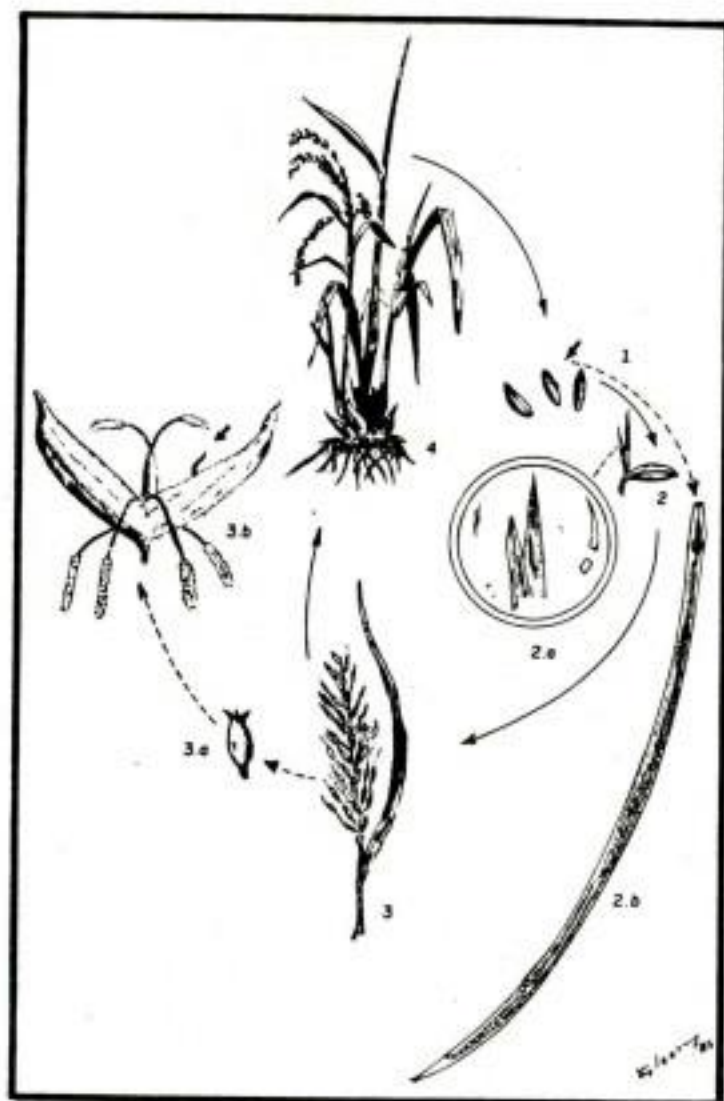


Figura 1. Nematóides em sementes: *Aphelenchoides besseyi*, em Plantas de arroz. (1) Sementes infestadas com *A. besseyi*, em anidrobiose; (2,2a) germinação das sementes e reativação dos nematóides, iniciando o parasitismo das plântulas; (2,b) *A. besseyi*; (3, 3a., 3b) formação da inflorescência e penetração do nematóide na flor; (4) produção de sementes infestadas.

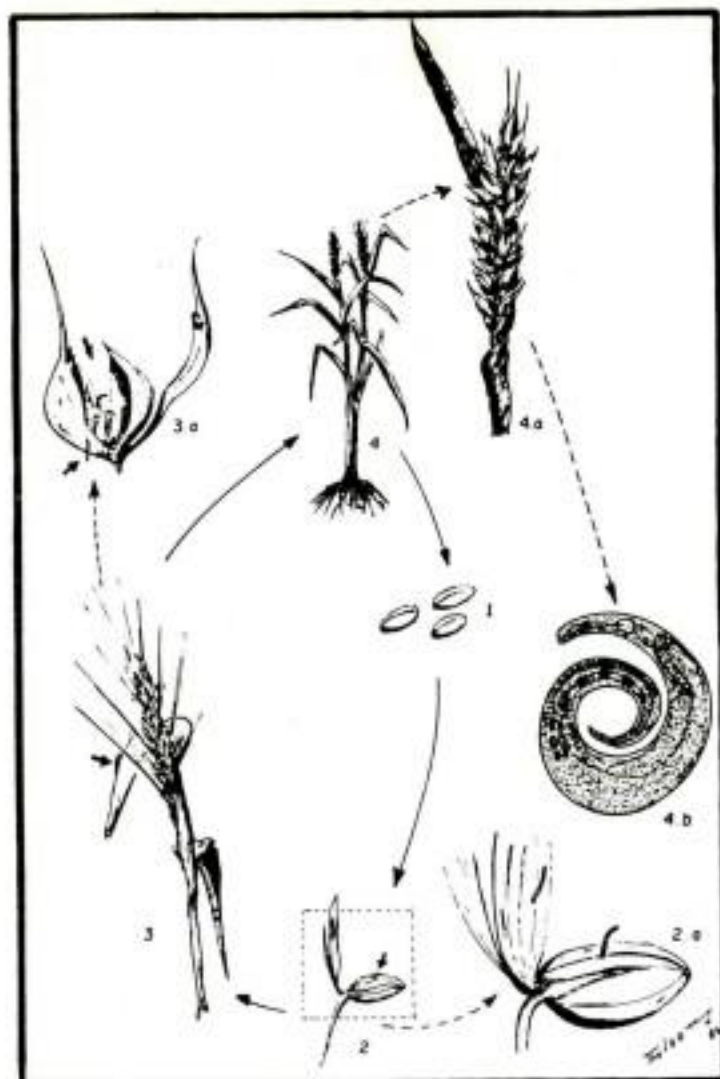


Figura 2. Nematóide em sementes: *Anguina tritici*, em plantas de trigo. (1) Sementes infestadas com larvas do segundo estágio de *A. tritici*, em anidrobiose; (2, 2a.) germinação das sementes e início do ectoparasitismo nas folhas; (3) translocação do ectoparasito, junto com os pontos de crescimento da planta, formação da inflorescência; (3,a) penetração dos nematóides na flor; (4, 4.a) produção de panículas com galhas e sementes infestadas; (4.b) fêmea adulta com ovos, que serão transmitidos em galhas associadas às sementes.

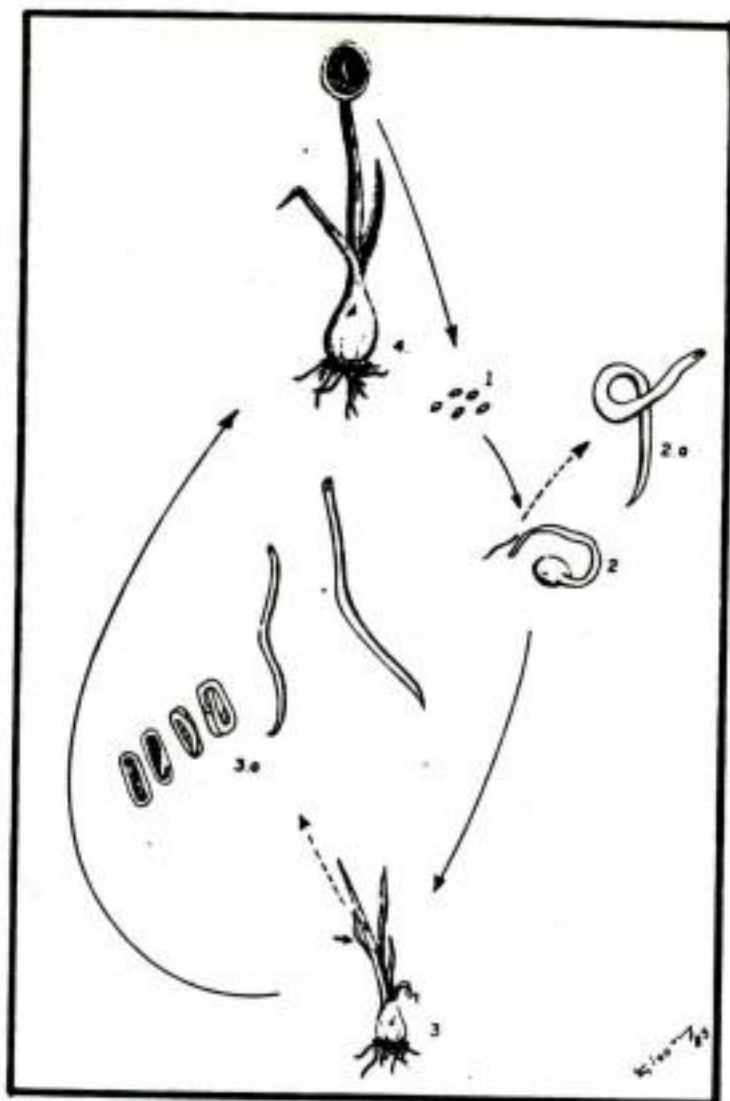


Figura 3. Nematóides em sementes: *Ditylenchus dipsaci*, em plantas de cebola.

(1) Sementes infestadas com larvas do quarto estágio, em anidrobiose; (2) germinação da semente, reativação das larvas e início do parasitismo; (2.a) larva infectante, do quarto estágio; (3) ecto e endoparasitismo na parte aérea e bulbo; (3.2) estágios larvais e adulto de *D. dipsaci*, presentes na planta; planta infestada, com produção de sementes portadoras do quarto estágio larval de *D. dipsaci*.

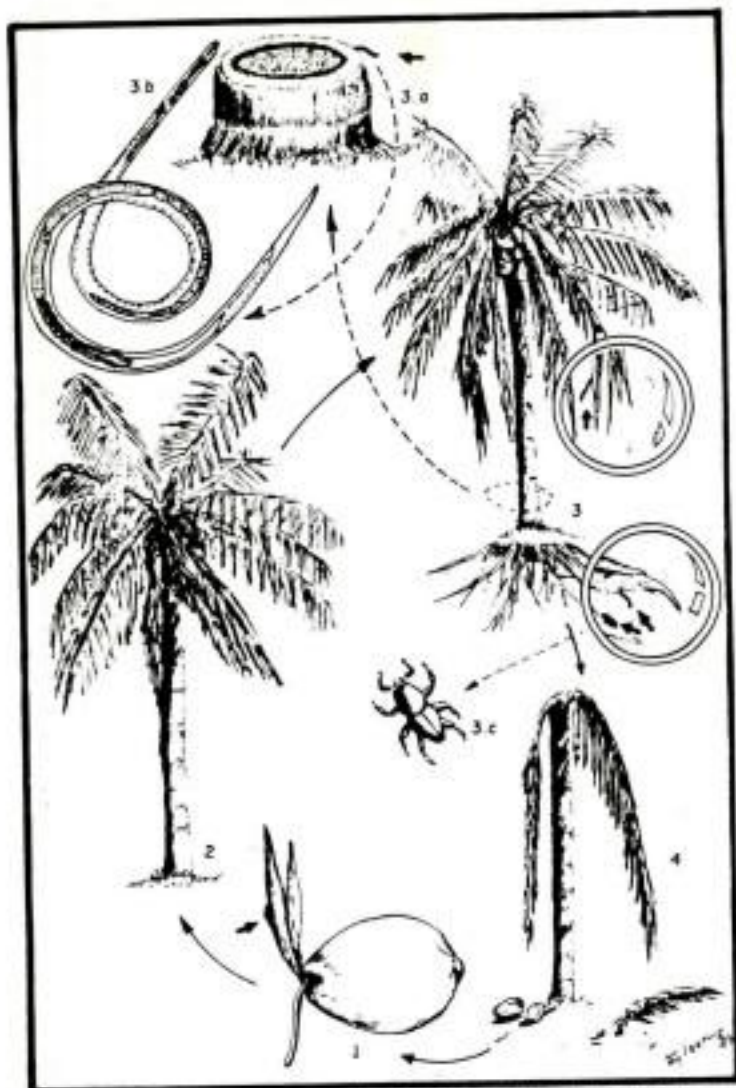


Figura 4. Nematóides em sementes: *Rhadinaphelenchus cocophilus*, em coqueiro. (1) Germinação de coco infestado e início do parasitismo das larvas; (2) migração das nematóides, na região do xilema e floema; (3) fase mais desenvolvida da doença, com ectoparasitismo; (3.a) corte transversal do colmo, com sintoma característico da doença, formação do "anel vermelho"; (3.b) *Rhadinaphelenchus cocophilus*; (3.c) *Rhyncophorus palmarum*, coleóptero que também atua na disseminação do nematóide; (4) cocos infestados transmitindo internamente *R. cocophilus* e fase final da doença, com morte da planta.

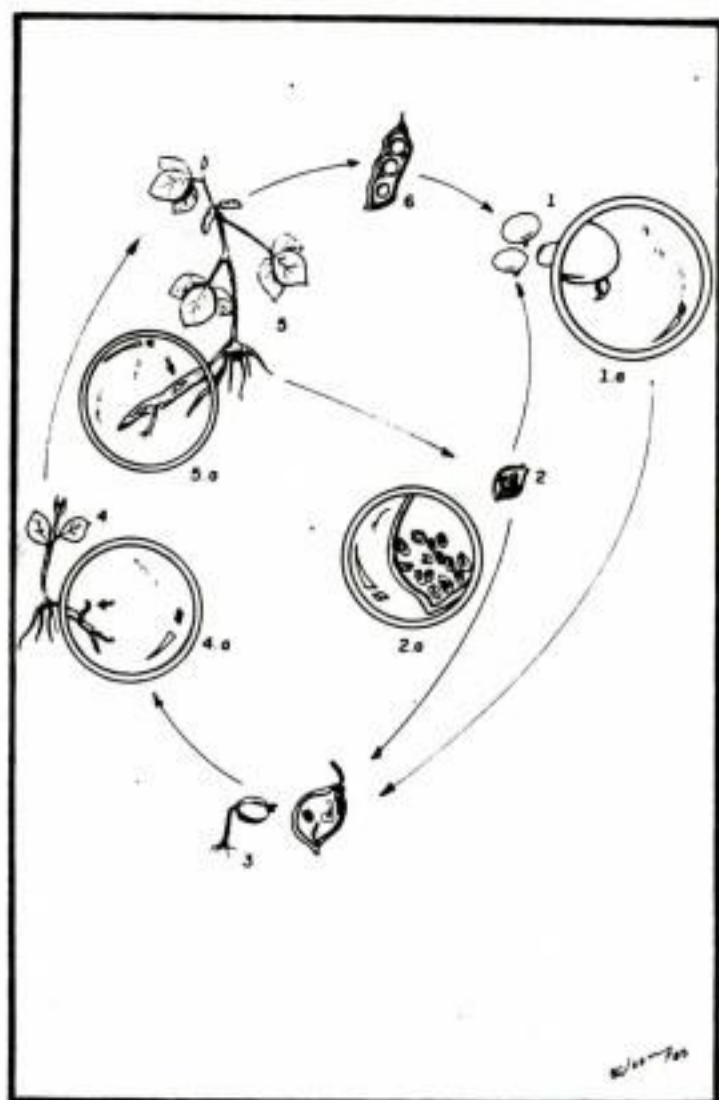


Figura 5. Nematóides em sementes: *Heterodera glycine*, em plantas de soja. (1, 1a) Sementes de soja, após a colheita em cistos de *H. glycine* associados; (2, 2a) liberação, no solo, de cistos, cheios de ovos; (3) eclosão dos ovos e liberação das larvas estimuladas pela germinação da semente; (4, 4a) larvas do segundo estágio iniciando o parasitismo; (5) planta infestada; (5.a) fêmeas maduras parasitando as raízes; (6) colheita das sementes.

CAPÍTULO VI

DOENÇAS E INJÚRIAS DE SEMENTES

Egberto Araujo ⁽¹⁾Edemar Antonio Rossetto ⁽²⁾1 - INTRODUÇÃO

No controle de qualidade de sementes, vem sendo reconhecida, de forma crescente, a importância dos problemas sanitários. No que se refere à patologia de sementes, o controle deve levar em consideração, além dos problemas relativos à transmissão de fitopatógenos, sempre os mais abordados, o de que as próprias sementes podem ser afetados por microrganismos, vírus, injúrias e desordens fisiológicas que comprometem suas qualidades. Portanto, conforme considerado por NEERGAARD (1979), as sementes podem ser tanto veículos como vítimas de doenças e de desordens conseqüentes de fatores bióticos e ambientais, que poderão comprometer a boa performance das culturas por elas originadas.

Para efeitos de facilidade e melhor compreensão deste capítulo, serão abordados, previamente, alguns termos que constituem o vocabulário básico de patologia de sementes.

Doença é o fator que interfere com as funções ou com as estruturas da planta, podendo ser de natureza biogênica e fisiogênica, quando causada por fatores bióticos e abióticos, respectivamente (NEERGAARD, 1979). Doença de sementes é a manifestação da doença nas sementes, como exibição de sintomas (BAKER, 1972); entretanto, doença transmitida por sementes seria a manifestação dessa, nas plântulas ou nas plantas, ali estabelecida a partir de um patógeno de sementes (BAKER, 1972; NEERGAARD, 1979). Patógeno de sementes é aquele

(¹) Engenheiro Agrônomo, M. Sc., Departamento de Fitotecnica, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, 58.397 Areia, Paraíba.

(²) Engenheiro Agrônomo, M. Sc., Faculdade de Agronomia "Elizeu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, 96.100 Pelotas, Rio Grande do Sul.

que se estabelece dentro, sobre ou entre as sementes, havendo ou não a expressão de sintomas (BAKER & SMITH, 1966; BAKER, 1972; NEERGAARD, 1979) enquanto que patógeno transmitido por sementes seria o patógeno de sementes que estabelece a infecção na planta a partir da semente que o portou (NEERGAARD, 1979).

Por outro lado, a injúria é o dano à estrutura da planta, provocado por agentes físicos, químicos e animais (AGRIOS, 1978). Nas sementes, as mais comuns são aquelas provocadas nas operações de colheita e beneficiamento, danos causados por insetos, agentes físicos e químicos, acelerando ainda mais o processo inexorável e irreversível de deterioração.

Desta forma, ressalta-se a importância dos patógenos e das doenças transmitidas por sementes, por suas consequências epidemiológicas, riscos de novas introduções destes ou de raças diferentes, em áreas onde antes não existiam, bem como, o asseguramento de continuidade de sobrevivência nas áreas já estabelecidas. Por conseguinte, decorrentes das doenças e das injúrias, resulta no comprometimento da conservação durante o armazenamento, do vigor e, consequentemente, do estabelecimento da cultura no campo.

2 - DOENÇAS CAUSADAS POR FUNGOS

O ataque de fungos às plantas, ou às próprias sementes, determina, para estas últimas, vários tipos de doenças e desordens (NEERGAARD, 1979).

Aborto - Os órgãos florais são usualmente substituídos pelas frutificações dos fungos causadores de carvões e esporões ("ergots"). Também outros fungos podem causar deterioração do óvulo e da semente em início de desenvolvimento, reduzindo de forma quantitativa, o rendimento. São exemplos disso: *Fusarium colmarum* e *F. graminearum*, em trigo, milho e arroz; *F. moniliforme*, em milho; *Aureobasidium lili*, em linho; *Ascochyta rabiei*, em grão-de-bico, entre outros.

Enrugamento e redução do tamanho das sementes - Pode ser decorrência do ataque direto de patógenos às sementes. É o caso de sementes de crucíferas atacadas por *Alternaria brassicola* e *Phoma lingam*; as sementes de grão-de-bico afetadas por *Ascochyta rabiei*; sementes de linho por *Septoria liliicola*; e sementes de trigo, afetadas por *Septoria nodorum*.

Podridão de sementes - Algumas espécies fúngicas incluídas nos gêneros *Fusarium*, *Drechslera*, *Diplodia*, *Colletotrichum*, *Phoma*, entre outros, causam podridões nas sementes ainda no campo, antes da sua colheita, ou no solo, por ocasião da sementeira e emergência. Podridões ainda podem ser resultantes da ação dos "fungos de armazenamento".

Esclerotização e estromatização - Em alguns cereais, como a cevada, o centeio, o milho, e outros, ocorre a esclerotização, ou seja, a transformação da semente em um escleródio ("ergot"), como consequência da ocupação do ovário por *Claviceps* spp. Um outro exemplo de estromatização ou esclerotização é o que se observa em sementes de *Castanea vesca*, atacada por *Fusarium vicerbensis*.

Necroses - Em sementes de leguminosas, fungos dos gêneros *Colletotrichum* e *Ascochyta* com frequência penetram nos cotilédones causando lesões necróticas conspícuas, superficiais ou profundas.

Descoloração - A descoloração além de poder ser um fator indicativo da presença de patógenos, afeta a aparência e, conseqüentemente, o valor comercial como semente ou como grão.

As categorias de descoloração são assim classificadas e exemplificadas: a) lesões necróticas superficiais - tegumentos de feijão por *C. lindemuthianum*; de ervilha por *Ascochyta pisi*; pericarpos de arroz por *Drechslera oryzae* e de sorgo por *C. gloesporioides* e por *Phoma* spp; b) cobertura do micélio - certos fungos parasitas ou saprófitas revestem totalmente as sementes com o micélio, resultando numa descoloração; c) pigmentação - pode ser um indicativo da presença de parasitas ou saprófitas. Por exemplo, *Cercospora kikuchi* produz uma pigmentação púrpura ou roxa de tamanho variável, chegando, às vezes, a cobrir todo o tegumento. Da mesma forma, sementes de milho infectadas por *F. moniliforme* podem apresentar coloração rosa.

Redução da viabilidade e do poder germinativo - Efeitos como descolorações, necroses, apodrecimentos, ou mesmo outros não perceptíveis, afetam a longevidade da semente durante o armazenamento, bem como sua capacidade de germinação.

Alterações fisiológicas - Os produtos metabólicos dos microrganismos de sementes, além de afetarem as sementes em si, podem ter efeitos tóxicos no homem, ou nos animais que vierem a se alimentar destas.

3 - DOENÇAS CAUSADAS POR BACTÉRIAS

O efeito patogênico das bactérias nas sementes pode ser manifestado por: aborto, podridões, descolorações e exsudações, ou combinações destes, cuja prevalência dependerá do patógeno e das condições ambientais durante a maturação (NEERGAARD, 1979).

Aborto - A infecção por bactérias, além de em muitos casos impedir a fertilização, poderá também paralisar a formação dos grãos em início de desenvolvimento, culminando em aborto. As sementes em estágio mais adiantado de formação tornam-se menores e enrugadas, depreciando sua produção e qualidade. Como exemplos, temos *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* f. sp. *ondulosa* (sinônimo: *Xanthomonas translucens* f. sp. *ondulosa*) e *Xanthomonas campestris* pv. *paniei* (sinônimo: *Xanthomonas paniei*), em milho.

Podridões - Sementes imaturas de algodão, quando infectadas por *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (sinônimo: *Xanthomonas malvacearum*), além do apodrecimento, podem mostrar exsudações sobre o tegumento. As plântulas que vierem a se originar destas, apodrecem rapidamente (NEERGAARD, 1979). As sementes de crucíferas infectadas por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (sinônimo: *Xanthomonas campestris*) podem apodrecer completamente, e, quando eventualmente germinarem, nos cotilédones surge uma lesão escura típica (SRINIVASAN et alii, 1973). As características apresentadas pelas sementes infectadas e pelas plântulas originadas a partir destas permitiram o embasamento para o estabelecimento de métodos de detecção para usos em trabalhos de rotina (SHAKLETON, 1962; SRINIVASAN et al, 1973).

Descolorações de sementes - Sementes de feijão infectadas por *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (sinônimo: *Xanthomonas phaseoli*) podem não manifestar nenhum sintoma, ou então, mostrarem-se descoloridas, encarquilhadas ou apodrecidas; quando viáveis, dão origem a plântulas deficientes, que se constituem em focos de infecção (ZAUMEYER & THOMAS, 1957; KIMATI, 1980; VIEI-

RA, 1983). Também infecções de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (sinônimo: *Pseudomonas phaseolicola*) nas sementes, podem originar a descoloração ou manchas amarelas, mais evidentes nas cultivares de tegumento claro.

Exsudações - Aglomerados de células bacterianas, formando as exsudações sobre a superfície das sementes, são frequentemente encontrados em trigo, causados por *Corynebacterium tritici* e *Corynebacterium tritici* em *Dactylis glomerata* por *Corynebacterium rathayi* e em *Agropyrum smithii* por *Corynebacterium agropyri* (NEERGAARD, 1979). Sementes de soja infectadas por *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (sinônimo: *Pseudomonas glycinea*), eventualmente, apresentam-se cobertas por exsudações (SINCLAIR & SCHURTEFF, 1975).

4 - DOENÇAS CAUSADAS POR VIRUS

Alguns vírus vegetais reduzem tanto a produção como a qualidade das sementes de seus hospedeiros.

A esterilidade dos gametas e/ou aborto de sementes provocada por alguns deles tem como consequência a diminuição da produção. Há também vírus que causam a esterilidade do pólen, como o Vírus do Mosaico-Estriado-da-cevada, na cevada e no trigo (INOUE, 1962); o Vírus da Mancha Anelar do fumo, no fumo (NEERGAARD, 1979); o Vírus do Mosaico-da-Alface, na alface (RYDER, 1984), etc. Já o "Tomato Aspermy Virus" provoca efeitos letais tanto no pólen como no óvulo, por interferir nos processos mitóticos da microsporogênese e macrosporogênese; resultando, como consequência, a esterilidade do pólen e/ou supressão do desenvolvimento do óvulo, acarretando o aborto das sementes (CALDWELL, 1952).

Outras manifestações mais comuns de vírus nas sementes são: redução de tamanho - sementes de cebola afetadas pelo Vírus do Mosaico-Anão e sementes de beterraba com o Vírus do Mosaico-Amarelo; redução do tamanho e formação de rachaduras - sementes de caupi infectadas pelo "Cowpea Aphid-Borne Mosaic Virus" e sementes de ervilha com o "Pea Seed-Borne Mosaic Virus"; redução da viabilidade - sementes de alface com o Vírus do Mosaico-da-Alface, e sementes de leguminosas com o vírus que se situa no embrião (NEERGAARD, 1979); alterações de coloração - o Vírus do Mosaico-da Soja, que causa a "mancha-café" nas sementes (SINCLAIR & SCHURTEFF, 1975; CARDOSO, 1980). Nas condições brasileiras, um exemplo de vírus prejudicial para a produção e qualidade de sementes,

é o Virus do Mosaico-Dourado-do-feijoeiro, que apesar de não ser transmitido por esta via, provoca os seguintes efeitos: redução do número de sementes por vagens (COSTA & CUPERTINO, 1976; ALMEIDA et al., 1979), redução no tamanho (COSTA & CUPERTINO, 1976), no peso (ALMEIDA et al., 1979; MENTEM et al., 1979a), deformações e descolorações (COSTA & CUPERTINO, 1976), e menor poder germinativo das sementes (FERRAZ et al., 1980).

5 - DOENÇAS CAUSADAS POR NEMATÓIDES

Vários gêneros de nematóides são patógenos de sementes, sendo os principais na agricultura, os seguintes: *Anguina*, *Aphelenchoides* e *Ditylenchus* (CAUBEL, 1983).

O gênero *Anguina* inclui espécies que são endoparasitas. *Anguina tritici* induz à formação de galhas nas sementes, reconhecíveis por seu pequeno tamanho e pela coloração marrom, sendo vulgarmente chamadas "orelhas-de-galo", ao invés de grão (CAUBEL, 1983). Estas são arredondadas e encerram uma larva anabiotica que constitui a principal fonte de disseminação e infestação. As sementes atacadas podem ser confundidas com a cárie causada pelo fungo *Filletia tritici*. Outras espécies de *Anguina*: *A. agrostis* e *A. agropyronifloris* provocam galhas em sementes de diversas gramíneas, que são mais conspícuas e muito maiores que as próprias sementes (NEERGAARD, 1979).

O nematóide *Aphelenchoides besseyi*, agente etiológico da ponta-branca-do-arroz é também um dos transmitidos por sementes; quando infecta as flores, causa esterilidade das mesmas, ou então ocasiona a produção de grãos com menores tamanho, peso e poder germinativo (OU, 1972). O nematóide alojado sob a gluma (CARDOSO & KIMATI, 1980) e as sementes infectadas podem se apresentar escurecidas (NICHIZAWA, 1976).

Outro nematóide, polífago e de extrema importância, é o *Ditylenchus dipsaci*. Em sementes de cebola, este fica aderido externamente, como contaminante, ou se aloja internamente nas proximidades do hilo, quando a infecção se dá a partir da planta-mãe (NEERGAARD, 1979). Em sementes de *Vicia faba*, uma raça de *D. dipsaci*, denominada gigante, foi assinalada, causando infestações severas, com o surgimento de áreas necróticas que continham o nematóide, observáveis após a remoção da testa; algumas vezes, observou-se a formação de grânulos organizados em cachos (CAUBEL, 1983).

6 - DOENÇAS FISIOLÓGICAS

6.1 - Deficiências minerais

Condições de fertilidade do solo influenciam a composição química das plantas, bem como a das sementes por elas produzidas (AUSTIN, 1974; COPELAND, 1976; CARVALHO & NAKAGAWA, 1983). Alterações no tamanho, forma, peso e coloração das sementes, bem como anomalias no desenvolvimento de plântulas, são algumas das manifestações mais comuns, decorrentes da deficiência de minerais (BAKER, 1972; AUSTIN, 1974; NEERGAARD, 1979); porém, outras vezes, nenhum efeito é notado.

Deficiência de nitrogênio - Segundo NEERGAARD (1979), o "grão amarelo" do trigo é uma deficiência em nitrogênio, e se caracteriza pela presença de manchas amarelas em partes ou por todo o grão, caracterizadas por um elevado teor de amido e baixo conteúdo proteico, tornando-o mais leve e, por conseguinte, com menor valor comercial. É considerada doença séria, tanto na América do Norte como no Norte da África e na Argentina, sendo prevalescente em grãos originados de solos ricos em fósforo e potássio e pobres em nitrogênio. A elevação do nível de nitrogênio nestes solos tem corrigido este problema.

Deficiência de fósforo - AUSTIN (1974) faz referências a diversos estudos que mostram a importância do fósforo nas sementes. Em geral, as sementes ricas deste elemento, em comparação com as deficientes, originaram plântulas mais vigorosas.

Deficiência de potássio - Além de provocar uma substancial redução no tamanho das sementes, refletindo-se em sua quantidade e qualidade, dificulta o amadurecimento das mesmas. Harrington, citado por AUSTIN (1974), observou que plantas de *Capsicum frutescens*, com elevada deficiência de potássio, produziram uma alta taxa de sementes anormais com embriões e tegumentos de coloração escura. Tanto as sementes aparentemente normais como as anormais, originadas destas plantas, comparadas com aquelas originadas de plantas com níveis adequados de potássio, possuíam uma baixa percentagem de germinação, e, se armazenadas, a viabilidade declinava rapidamente. Em sementes de pepino, essa deficiência causa o adelgaçamento (NEERGAARD, 1979).

Deficiência de manganês - Os efeitos desta deficiência são referidos, principalmente, em sementes de ervilha, produzindo o "marsh spot" (BAKER, 1972; NEERGAARD, 1979). Quando o nível de manganês é muito baixo, em plantas de ervilha há supressão de sementes. Se houver adição deste elemento, os sintomas nas plântulas desaparecem, e as sementes severamente afetadas mudam para medianamente afetadas ou chegam mesmo a tornarem-se normais. Este sintoma ocorre, principalmente, em plantas que se desenvolvem em solos alcalinos, segundo Piper, citado por BAKER (1972).

Pela descrição de NEERGAARD (1979), internamente, nas sementes de ervilha, surge uma necrose marrom nas partes centrais dos cotilédones e, quando o ataque é severo, pode ocorrer também rachaduras. Outras vezes, as sementes mostram manchas marrons, escavadas, no tegumento, que continuam por baixo dentro dos dois cotilédones. Os sintomas internos são observados dois ou três dias após a semeadura. As plântulas originadas dessas sementes apresentam-se frágeis e pouco desenvolvidas; há também morte dos pontos terminais com o posterior surgimento de outras plúmulas. Segundo BAKER (1972), em solos com suprimento adequado de manganês, as plântulas originadas de sementes deficientes deste elemento podem mostrar um desenvolvimento normal.

A "marsh spot" é uma doença freqüente tanto nos Países-Baixos como na Inglaterra, e rara, na América do Norte (NEERGAARD, 1979). Existem diferenças varietais, quanto à tolerância à deficiência de manganês (BAKER, 1972; NEERGAARD, 1979). Com relação ao Brasil, não se encontraram referências a respeito desta doença fisiogênica de sementes de ervilha.

Outros elementos - Deficiências de cálcio e boro podem afetar especialmente as espécies produtoras de sementes grandes (AUSTIN, 1976). Leggatt, citado por AUSTIN (1976) e por NEERGAARD (1979), observou que sementes de ervilha com aparência normal, colhidas em lavouras deficientes de boro, ao germinarem, originavam plântulas descoloridas, atrofiadas e sem plúmulas. A aplicação de traços de boro ao substrato de areia onde cresciam, corrigiu os efeitos da anormalidade, tornando as plântulas com aparência normal. A ocorrência, na Flórida, Estados Unidos, do chamado "coração-vazio (hollow heart)", em sementes de amendoim, que causa descoloração e apodrecimento da semente, é também atribuída à deficiência de boro; a correção pode ser feita pela adição deste elemento ao solo (NEERGAARD, 1979).

Segundo AUSTIN (1979), deficiências de molibidênio são difíceis de se reproduzir experimentalmente, pelo menos em sementes de feijão, pois estas con

têm teores suficientes deste elemento que permitem o crescimento de várias gerações de plantas.

A deficiência de cálcio, em feijão, segundo NEERGAARD (1979), provoca deformação de vagens e sementes. Em geral, esta deficiência é comumente observada em plantas que crescem em solos fortemente ácidos; está também associada às deficiências de manganês e magnésio.

6.2 - Efeitos da temperatura nas sementes

As variações de temperatura podem afetar as sementes, durante o período de formação e desenvolvimento destas, no campo, bem como, durante o armazenamento.

Temperaturas baixas- Segundo NEERGAARD (1979), a ocorrência de geadas durante o período de maturação pode reduzir ou até mesmo destruir a viabilidade das sementes inaturas. As sementes que foram afetadas por geadas podem se apresentar com manchas marrons na parte interna, conforme observado em nabo, ou originarem plântulas atrofiadas com raízes avolumadas e retorcidas, como em cevada, aveia e centeio. A prevalência de temperaturas abaixo de 0 °C, durante o amadurecimento de sementes de milho, podem-lhes causar injúrias que resultam na diminuição da percentagem de emergência (AUSTIN, 1974).

As sementes secas podem resistir a temperaturas extremamente baixas (-185 °C a -195 °C) mas, sementes úmidas, usualmente, morrem a poucos graus abaixo de 0°C. (NEERGAARD, 1979).

Temperaturas elevadas- A elevação da temperatura durante o período de maturação tem determinado a ocorrência da necrose cotiledonar em sementes de soja (NORONHA et al., 1971). O mesmo efeito tem sido observado com sementes recém-colhidas, ou com aquelas armazenadas, submetidas a choques térmicos (FALIVENE et al., 1980). As sementes afetadas não apresentam sintomas, mas, quando semeadas, as plântulas mostram manchas necróticas, negras ou deprimidas nos cotilédones; às vezes, também, o tegumento fica preso às primeiras folhas (CARDOSO, 1980).

Durante o armazenamento, a elevação da temperatura provoca a aceleração das atividades respiratórias das sementes e dos fungos que as acompanham, bem como a atividade dos insetos. Isto pode comprometer o vigor, reduzindo-o ou anulando-o (POPINIGIS, 1977). O auto-aquecimento das sementes armazenadas,

principalmente em sementes com teor elevado de umidade ou em sementes imaturas determina danos tais como: escurecimento, enrugamento, enfraquecimento ou morte do embrião, ou o desenvolvimento de plantas sem a formação de pelos radiculares.

6.3 - Efeitos da umidade nas sementes

Durante a maturação, beneficiamento e armazenamento das sementes, a umidade, tanto a da própria semente como a ambiental, afeta preponderantemente o vigor. O conhecimento das modificações no teor de umidade das sementes durante a maturação é de vital importância para o planejamento da colheita, devendo-se aguardar que estas atinjam um teor de umidade compatível com os equipamentos de colheita e com as instalações disponíveis (POPINIGIS, 1977). Para o armazenamento, deve ser levado em conta o caracter de higroscopicidade das sementes, ajustando-se a umidade relativa e a temperatura do meio de modo que permitam o equilíbrio higroscópico (POPINIGIS, 1977; TOLEDO & MARCO FILHO, 1977; CARVALHO & NAKAGAWA, 1983).

Unidade baixa - Sementes de feijão e de ervilha com baixo teor de umidade tornam-se quebradiças ou exibem rachaduras; estas apresentam baixo poder germinativo, ou originam plântulas anormais, retorcidas, com folhas primárias de tamanho reduzido (NEERGAARD, 1979). Déficit de umidade em sementes de algodão pode provocar manchas necróticas, ou então a morte completa do embrião.

Unidade elevada - Sementes com teores elevados de umidade podem ser prejudicadas durante o armazenamento por proporcionarem condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos, principalmente fungos, que causam o apodrecimento e/ou reduzem o poder germinativo (POPINIGIS, 1977). Quanto à influência da umidade relativa do ar, quando esta é elevada, segundo NEERGAARD (1979), determina uma redução substancial no tempo de vida das sementes. Segundo ainda este autor, os efeitos da umidade elevada em sementes de pepino, alface e espinafre, caracterizam-se pela redução da capacidade germinativa ou pelo surgimento de plântulas anormais, que se apresentam pouco desenvolvidas, com raízes cepadas, e, ainda, pelo surgimento de raízes secundárias.

6.4 - Efeitos de substâncias tóxicas

Os sintomas de fitotoxidade nas sementes podem ser manifestados pelo impedimento ou redução da germinação, ou ainda, pelo surgimento de plântulas anormais e raquíticas (DHINGRA et al., 1980).

Alguns fungicidas são tóxicos para certas classes de sementes, e benéficos, para outras. De acordo com Leukel, citado por NEERGAARD (1979), os fungicidas cúpricos são injuriosos para as sementes de crucíferas, feijão-lima e ervilha, mas benéficos, para sementes de alface; já o óxido de zinco é injurioso às sementes de ervilha mas altamente benéfico às de crucíferas.

Os fungicidas mercuriais, devido a aspectos toxicológicos e alta periculosidade que apresentam, estão proibidos de comercialização e uso no Brasil. Dependendo da dosagem, podem causar problemas de toxidez às sementes. Doses elevadas desses produtos provocam efeitos cromossômicos análogos aos da colchicina; a hipertrofia dos coleótilos dos cereais, produzida em tais casos, é devida à formação de células poliplóides, que apresentam núcleos grandes e pequenos, resultantes de mitoses incompletas (NEERGAARD, 1979). Sementes de girassol tratadas com fungicidas mercuriais têm a germinação retardada e dão origem a hipocótilos mais curtos e finos que os normais; as partes subterrâneas tomam coloração marron e aspecto amolecido, com o afinamento das porções terminais (SACKSTON & CHERNICK, 1960).

O brometo de metila afeta o poder germinativo das sementes, sendo sua ação altamente influenciada pela dosagem usada, pelo teor de umidade da semente, pela temperatura e o tempo de exposição ao produto (PUZZI, 1977). No tratamento de sementes de feijão, à medida que se aumenta a dosagem de brometo de metila, o poder germinativo e o vigor decrescem (CARVALHO, 1978). Os efeitos prejudiciais já são evidentes logo após a aplicação (efeito imediato) e se acentuam ao longo do armazenamento (efeito latente); sementes com teores de umidade elevados são mais sensíveis (ARAUJO, et al., 1984). Efeitos prejudiciais destes produtos têm se verificado, também, em sementes de arroz (GASTAL, 1982) e de algodão (SANTIAGO et al., 1983).

Com relação ao uso de herbicidas, o tratamento de sementes de algodão com 2,4-D resultou na diminuição do poder germinativo e na origem de plântulas anormais, cujas raízes e hipocótilos mostravam-se inchados (NEERGAARD, 1979). A aplicação do herbicida "Butachlor" ao solo, um dia após a semeadura, reduziu, significativamente, o total de plântulas de arroz que emergiam (AMARAL et al., 1983).

7 - INJÚRIAS MECÂNICAS

7.1 - Fontes de injúrias

Pelo emprego de atividades mecanizadas (maquinarias), durante a colheita, o beneficiamento, o armazenamento, o transporte, e até mesmo por ocasião do plantio, as sementes estão sujeitas a injúrias mecânicas. De um modo geral, os danos agravam-se com o tipo de máquina empregada, regulagem e, principalmente, o teor de umidade das sementes no momento da colheita.

A debulha parecer ser a operação mais crítica da colheita. Nessa ocasião, forças consideráveis são aplicadas sobre as sementes a fim de extraí-las das estruturas que as contêm (vagens, espigas, etc.) (CARVALHO & NAKAGAWA, 1983). As sementes de leguminosas são particularmente muito sensíveis a essas injúrias, principalmente aquelas com formato irregular (MOORE, 1974).

Durante as operações de beneficiamento, toda vez que as sementes passam por elevadores, transportadores, e através de máquinas de beneficiamento, sofrem quedas, impactos e abrasões que causam lesões ao tegumento (POPINIGIS, 1977). Em alguns casos, tais lesões poderão ser amenizadas, através de uma vigilância mais rigorosa exercida nestas fases. (CARVALHO & NAKAGAWA, 1983).

Por ocasião do transporte, o carregamento e descarregamento podem provocar danos às sementes (POLLOCK & ROOS, 1972; NEERGAARD, 1979; CARVALHO & NAKAGAWA, 1983). Durante o armazenamento numa pilha de sacos ou num monte a granel, as sementes que estão por baixo podem ser danificadas sob o peso das que estão por cima. Os danos provocados por máquinas plantadeiras (rachaduras no tegumento), segundo estudos realizados por JIJON & BARROS (1983), com sementes de soja, foram mais freqüentes nas semeadeiras com mecanismo distribuidor, tipo cilindro anelado, em comparação com aquelas do distribuidor tipo disco horizontal.

7.2 - Efeitos das injúrias sobre as sementes

Estes podem ser classificados em dois tipos: 1) "imediatos" - quando se fazem sentir logo após a semente ter sido injuriada; 2) "latentes" - observados, usualmente, após as sementes terem permanecido armazenadas (TOLEDO & MARCO FILHO, 1977; CARVALHO & NAKAGAWA, 1983). Nos efeitos imediatos, quando a extensão da injúria é grande, os danos são graves; em injúrias menores, pode-se originar a cicatrização, no entanto, demanda tempo, energia, atrasando a

germinação e a emergência (CARVALHO & NAKAGAWA, 1983).

Os danos mecânicos, segundo POLLOCK & ROOS (1972), são de três níveis: 1) injúrias leves - consistem de rachaduras microscópicas, principalmente no tegumento, que tornam as sementes mais susceptíveis ao ataque de microrganismos; 2) danos grosseiros - afetam o tegumento ou toda a semente, sendo facilmente visíveis; e, 3) danos internos - aqueles que atingem o embrião, geralmente visíveis, como o desprendimento e/ou feridas nos cotilédones e nos componentes do eixo embrionário.

Os fatores que controlam as injúrias, segundo CARVALHO & NAKAGAWA (1983), são os seguintes: intensidade e número de impactos, local do impacto, teor de umidade das sementes, e as características das sementes, como o tamanho, a forma, a espessura do tegumento, o tipo de tecido de reserva, a posição do eixo embrionário etc. Esses autores comentam mais detalhadamente tais efeitos.

Os danos mecânicos manifestam-se na forma de avarias, perdas de tecidos, perda da capacidade de regulação do conteúdo de água, aumento da susceptibilidade à invasão por microrganismos, e aumento da susceptibilidade aos efeitos fitotóxicos (NEERGAARD, 1979). O distúrbio da regulação osmótica nas sementes deve-se ao rompimento da membrana celular, ocasionada pelo rápido deslocamento de água nos tecidos e/ou brusca perda desse líquido (MOORE, 1974). Com relação à ocorrência de microrganismos, os tecidos injuriados são mais susceptíveis à invasão por fungos saprófitas ou parasitas, tanto no campo como durante o armazenamento (NEERGAARD, 1979). Além do grau, a localização da injúria deve ser considerada, por exemplo, no trigo, injúrias no pericarpo na porção que cobre o endosperma determina 100% de infecção de *Rhizoctinia* e *Rhizopus*, mas se a ruptura se der por cima do embrião, o grão praticamente não é afetado por esses fungos. Sementes com pericarpo injuriado estão sujeitas a trocas excessivas de vapores de água com o meio ambiente, e, desta forma, tornam-se mais vulneráveis aos fungos de armazenamento.

8 - INJÚRIAS CAUSADAS POR INSETOS

As sementes estão sujeitas ao ataque de insetos ainda no campo, antes da colheita, ou durante o armazenamento. Disso resultam prejuízos, tais como: sementes furadas, perdas de peso, aquecimento, contaminação por microrganismos e danos indiretos (causados por inseticidas, por gases elaborados em consequência da deterioração etc.), que culminam com o comprometimento da germinação

(HOWE, 1972).

Os prejuízos causados por insetos de campo podem ser evitados ou reduzidos, colhendo-se as sementes tão logo estejam maduras, e ainda, pelas operações de secagem e/ou fumigação, bem como, pela aplicação de inseticidas no campo (POPINIGIS, 1877). Porém, é no armazenamento, que surgem os maiores problemas, e, para controlá-los, há que se adequar as condições ambientais do armazém (temperatura e umidade relativa) às da própria semente (teor de umidade), controlando-se, ainda o uso de inseticidas.

8.1 - Sementes sem embrião

Nas sementes de Umbeliferae, como a cenoura, a salsa, o coentro, e outras, o ataque de insetos sugadores provoca a formação de sementes sem embrião, embora o endosperma e tegumento mostrem-se aparentemente normais (BAKER, 1972; NEERGAARD, 1979). Percevejos do gênero *Lygus* são os causadores deste tipo de danos, tanto as ninfas como os adultos se alimentam preferencialmente dos tecidos meristemáticos. Nas sementes em desenvolvimento, esses insetos destroem apenas o embrião sem afetar as outras partes, porém, quando se alimentam de flores ou de ovários, o fruto inteiro é destruído (NEERGAARD, 1979).

8.2 - "Seed pitting" (estigmatose)

As injúrias causadas pelos percevejos do gênero *Lygus* em sementes de leguminosas como o feijão-lima e o caupi, como consequência das perfurações em vagens mais velhas, atingindo as sementes, dão origem ao surgimento de lesões cotiledonares, cujos tamanhos vão de pequenas pontuações a escavações amarelas ou marrons (BAKER, 1972; NEERGAARD, 1979).

Em sementes de diversas espécies de plantas cultivadas, têm sido constatadas leveduras causando "estigmatomicose", "mancha ocular", e "podridão interna" (MENTEM et al., 1979). A transmissão destes fungos às sementes é realizada por insetos da ordem hemiptera, como *Nesara viridula*, *Lygus hesperus*, *L. elisus*, *Megalotomus parvus* e outros. NEERGAARD (1979) comenta que os próprios insetos podem agir independentemente, e incitar o aparecimento dos mesmos sintomas, sem a presença das leveduras.

8.3 - Danos causados por comedores de sementes

Diversos insetos no estágio larval e/ou adulto alimentam-se de sementes. Dentre estes, a nível de campo, podem ser citados *Helioverpa zea*, em milho; *Etiella zinckenella*, *Maruca testualis* e *Thecla jebus*, em feijão (VIEIRA, 1983), além de muitos outros.

Atacando as sementes tanto no campo como no armazém, são mencionados com destaque *Sitophilus zeamais*, no milho, e o *Callosobruchus maculatus*, no caupi, e ainda outras espécies que compreendem as traças e carunchos (gorquinhos) (HOWE, 1972). As fêmeas de *Sitophilus* spp abrem pequeno orifício no grão, utilizando-o para a postura; a larva advinda da eclosão alimenta-se no interior do grão, abandonando-o ao atingir o estágio adulto. *Callosobruchus* spp faz a postura de seus ovos sobre as vagens ou sementes secas; com a eclosão das larvas, estas penetram diretamente nas sementes. Várias larvas desses insetos podem desenvolver-se em uma única semente; no entanto, os adultos evitam fazer a postura em sementes que já contenham ovos ou estejam ocupadas por larvas.

As pragas que atacam as sementes armazenadas são as mesmas que atacam grãos e cereais, sendo comumente chamadas pragas de grãos armazenados (POPINIGIS, 1977). Podem ser divididas em dois grupos: primários e secundários (GALLO et al., 1978). Primárias - quando danificam sementes inteiras e sadias, chegam até ao endosperma, que lhes serve de alimento; secundárias - são as que se alimentam de sementes já danificadas, pela ação de injúrias mecânicas, ou de outros insetos. As sementes armazenadas apresentam-se com perfurações e rachaduras.

Os danos mais prejudiciais são aqueles que atingem o embrião. Os insetos que vivem no interior de sementes e se alimentam do endosperma provocam a redução das reservas, o que vai influir no vigor, reduzindo-o (POPINIGIS, 1977).

Para controle das pragas de armazenamento, além dos ajustes do teor de umidade da semente com a temperatura e umidade ambiental, adequando-os às exigências da espécie armazenada, tem-se ainda que recorrer ao uso de inseticidas apropriados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 2ed. New York, Academic Press, 1978. 703 p.
- ALMEIDA, L. D. de; PEREIRA, J. C. V. N. A.; RONZELLI JUNIOR, P. & COSTA, A. S. Avaliação de perdas causadas pelo mosaico dourado do feijoeiro em condições de campo. Summa Phytopathologica, Piracicaba, 5:30-31, 1979.
- AMARAL, A. DOS S.; POPINIGIS, P.; GOMES, A. da S. V. & ZONTA, E. P. Influência do manejo da água e de herbicidas no rendimento e na qualidade de sementes de arroz. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, 5:55-73, 1983.
- ARAUJO, E. F.; MARTINS, D. dos S.; FERREIRA, M. de A. L. & SILVA, R. F. da. Efeito de fumigantes e inseticidas de contato na germinação e vigor de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Ceres, Viçosa, 32(180): 110-119, 1985.
- AUSTIN, R. B. Effects of environment before harvesting on viability. IN: ROBERTS, E. H., ed. Viability of seeds, Londres, Chapman & Hall Ltd. e Siracure Univerty Press, 1974. p.94-113.
- BAKER, K. F. Seed Pathology. In: KOZLOWSKY, T. T., ed. Seed Biology, New York, Academic Press, 1972. v.2. p.318-416.
- BAKER, K. F. & SMITH, S. H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 3:311-334, 1966.
- CALDWELL, J. Some effects of a plant virus on a nuclear division. Annals of Applied Biology 39:98-102, 1952.
- CARDOSO, E. J. B. Doenças da soja - *Glycine max* (L.) Merrill. In: GALLI, F. et al., Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas e seu controle, São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1980. v.2. p.475-496.
- CARDOSO, C. O. & KIMATI, A. H. Doenças do arroz. In: GALLI, F. et al. Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1980. v.2. p.75-86.
- CARVALHO, F. Influência do Brometo de metila sobre a viabilidade, vigor, sanidade e produção de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Lavras, MG, Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1979.
- CARVALHO, N. M. de & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. Campinas, SP, Fundação CARGILL, 1983, 429 p.
- CAUBEL, G. Epidemiology and control of seed-borne nematodes. Seed Science & Technology, Zurich, 11:989-996, 1983.
- COPELAND, L. D. Principles of seed science and technology. Minneapolis, Minnesota, Burgess Publishing Company, 1976. 369p.

- COSTA, C. L. & CUPERTINO, F. P. Avaliação das perdas de produção do feijoeiro causadas pelo Virus do Mosaico Dourado. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 1:18-25, 1976.
- DHINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J. & CRUZ FILHO, J. Tratamento de sementes (controle de patógenos). Viçosa, MG, Imprensa Universitária, 1980, 121 p.
- FALIVENE, S. M. P.; MIRANDA, M. A. C. de & ALMEIDA, L. D. de. Temperatura e ocorrência de necrose dos cotilédones em soja. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 2(1):43-51, 1980.
- FERRAZ, H. de M.; FERNASIERI FILHO, D. & LAM-SANCHEZ, A. Efeito do ataque de viroses transmissíveis pela mosca branca na germinação e vigor de sementes de feijoeiro. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 2:29-34, 1980.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. & ALVES, S. B. Manual de Entomologia Agrícola, São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1978, 531 p.
- GASTAL, F. L. C. Produção de sementes de arroz. In: CURSO SOBRE A PRODUÇÃO E TECNOLOGIA DE SEMENTES. Pelotas, RS, CETREISEM, 1982. v.II.
- HOWE, R. W. Insects attacking seeds during storage. In: KOZLOWSKY, T. T. ed. *Seed Biology*, New York, Academic Press, 1974. v.3. p.247-300.
- JIJON, L. A. & BARROS, A. C. S. Efeito dos danos mecânicos na sementeira sobre a qualidade de sementes de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3º, Campinas, SP, 1983. Resumo dos Trabalhos Técnicos, Brasília, ABRATES, p. 112.
- KIMATI, H. Doenças do feijoeiro - *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F. et alii. Manual de Fitopatologia: doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1980. v.2. p.297-318.
- MAEDA, J. A.; MIRANDA, M. A. L.; ARRCOLL, O. & ZINK, E. Influência de diversos fatores sobre a qualidade da semente de soja. *Bragantia*, Campinas, 36: 179-186, 1977.
- MENTEM, J. O. M.; TULMAN NETO, A. & ANDO, A. Avaliação de danos causados pelo vírus do mosaico dourado. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 5:27, 1979.
- MENTEM, J. O. M.; GIACOMELLI, W. J. & WEBER, L. F. Efeito da mancha de levedura na qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 4:493-501, 1979.
- MOORE, R. P. Effects of Mechanical injuries on viability. In: ROBERTS, E. H. ed. *Viability of seeds*. London, Chapman & Hall Ltd. e Siracure University Press, 1974. p.94-113.
- NEERGAARD, P. *Seed Pathology*. London, The Mac-Millan Press, 1979, v.1. 839 p.

- NICHIZAWA, T. Occurrence of abnormal rice kernels associated with the information of white tip nematode, *Aphelenchoides besseyi*. Japan Journal of Nematology 6:73-77. (In: Helminthological Abstracts 46:195), 1976.
- OU, S. H. Rice disease. Kew Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1972. 368 p.
- POLLOCK, B. M. & ROOS, E. E. Seed and seedling vigor. In: KOZLOWSKY, T. T. ed. Seed Biology, New York, Academic Press, 1972. v. 1, p.313-387.
- POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. Brasília, Ministério da Agricultura, AGIPLAN, 1977. 289p.
- PUZZI, D. Manual de Armazenamento de Grãos: Armazens e Silos. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1977. 405p.
- RYDER, E. S. Transmission of common lettuce mosaic virus through the gametes of the lettuce plants. Plant Disease Reporter, Beltsville, 48:522-523, 1964.
- SHACKLETON, D. A. A method for the detection of *Xanthomonas campestris* (Pammel, 1985) Dowson, 1939, in Brassica seeds. Nature, London, 193:78. 1962.
- SINCLAIR, J. B. & SCHURTLIFF, M. C. Compendium of soybean diseases. Minnesota, American Phytopathological Society, 1975. 69p.
- SRINIVASAN, M. C.; NEERGAARD, P. & MATHUR, S.B. A technique for detection of *Xanthomonas campestris* in routine seed health testing of crucifers. Seed Science of Technology 1:853-859, 1973.
- TOLEDO, P. F. & MARCO FILHO, J. Manual das Sementes: Tecnologia da Produção. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1977. 224p.
- VIEIRA, C. Doenças e pragas do feijoeiro. Viçosa, MG, Imprensa Universitária, 1983. 231p.
- ZALMEYER, W. J. & THOMAS, H. R. A monographic study of bean disease and methods for their control. Washington, USDA, 1957. 153p. (Technical Bulletin nº 868).

CAPÍTULO VII

TRANSMISSÃO DE PATÓGENOS PELAS SEMENTES

José Otavio Machado Menten ⁽¹⁾João Tavares Bueno ⁽²⁾1 - CONCEITO E IMPORTÂNCIA DA TRANSMISSÃO

Doença de plantas é um processo dinâmico no qual hospedeiro e patógeno, em íntima relação com o meio, se influenciam mutuamente, do que resultam modificações morfológicas e fisiológicas. Uma doença é considerada de importância econômica quando causa danos, culminando com uma redução na quantidade ou qualidade da produção. Entende-se por ciclo das relações patógeno-hospedeiro a série de fases ou eventos sucessivos que conduzem, ou fazem parte, do processo de desenvolvimento da doença. Este ciclo inclui as fases de (a) fonte de inóculo, (b) disseminação, (c) inoculação, (d) germinação, (e) penetração, (f) colonização, (g) sintomas, (h) reprodução do patógeno. Para que o processo doença seja efetivo, é necessário que todas as fases ocorram e que o ciclo se repita sucessivamente. Qualquer medida de controle visa interromper este ciclo em qualquer de suas fases, impedindo o desenvolvimento da doença.

Em patologia de sementes entende-se por transmissão (da semente para a planta) a parte do ciclo entre a fonte de inóculo/disseminação e a colonização da planta hospedeira. É fundamental que se distinga a transmissão do transporte. Transporte é a disseminação do patógeno através da semente, que pode ser detectado e quantificado através dos testes de sanidade. Transmissão implica no transporte (disseminação) que proporciona uma infecção bem sucedi-

(¹) Professor Assistente Doutor do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, Pesquisador do CENA/USP, Bolsista do CNPq, Cx. Postal 9, 13400 Piracicaba-SP.

(²) Professor da Fundação Faculdade de Agronomia "Luiz Meneghel". São Paulo, 1090, 86360 Bandeirantes - PR.

da, dando origem a uma planta doente; geralmente, transmissão é quantificada através da detecção de sintomas nas plantas, cujo único meio de inoculação foi através da associação do patógeno com a semente. Assim, o inóculo presente na semente, é disseminado através dela, passa a se constituir em fonte primária de inóculo no campo (planta doente), podendo dar origem a uma epidemia se as condições climáticas forem favoráveis e a cultivar for suscetível.

Deve-se ressaltar que o transporte (disseminação) é a parte essencial da transmissão, ou seja, se não houver transporte não pode haver transmissão; mas o inverso não é verdadeiro: pode ocorrer transporte sem que haja transmissão. É bastante comum que a taxa de transporte seja superior à taxa de transmissão; o máximo que pode ocorrer é a taxa de transmissão ser igual a taxa de transporte, ou seja, toda semente portadora de um determinado patógeno origina uma planta doente.

A importância da disseminação (transporte) de patógenos pelas sementes pode ser demonstrada quando se compara este processo com outras formas de disseminação que ocorrem na natureza. A disseminação, em geral, é passiva pois, os patógenos necessitam de meio não próprios para transportar seus propágulos. A disseminação ativa é rara e tem pequena importância pois, atua apenas em torno da fonte de inóculo.

Distingue-se disseminação passiva direta, quando o transporte é feito por meio de órgãos do próprio hospedeiro, e disseminação passiva indireta quando o transporte é feito através de agentes de inoculação estranhos ao hospedeiro, como vento, água, insetos, homens, animais, ferramentas, máquinas e utensílios agrícolas, etc..

A disseminação através de sementes inclui-se na disseminação passiva direta. Como a maior parte das culturas são propagadas por sementes (arroz, feijão, trigo, soja, algodão, milho, amendoim, etc.) e a maioria dos agentes causais das doenças destas plantas são transmitidas por sementes, a disseminação pela semente assume papel importante. Além disso, a disseminação por semente é mais eficiente que os demais meios de disseminação pelos seguintes motivos:

a - é bastante eficiente, independente da distância: patógenos de importância econômica podem ser transportados de um continente para outro através de sementes, daí a necessidade de serviço de quarentena extremamente eficiente;

b - o inóculo se mantém viável por mais tempo: por ser rica em proteínas, carboidratos e minerais, a semente é um ótimo substrato nutritivo para a

sobrevivência de inúmeros patógenos;

c - o inóculo mantém sua patogenicidade inalterada por mais tempo: o contacto direto do patógeno com a semente de seu hospedeiro mantém a patogenicidade, que tenderia a diminuir ou desaparecer se a associação fosse com restos de cultura, solo, etc.;

d - as possibilidades de infecção são maiores: como o inóculo já está intimamente associado ao hospedeiro, particularmente numa fase altamente suscetível como o estágio de plântula, a penetração e colonização são favorecidas;

e - o inóculo na semente proporciona infecção precoce: a doença se estabelece nos primeiros estádios de desenvolvimento da cultura, possibilitando uma epidemia;

f - há uma distribuição homogênea do inóculo pela área semeada: os focos de inóculo primários surgirão em toda lavoura, dificultando a tomada de medidas de controle.

A transmissão de patógenos por sementes é reconhecida como um excelente método pelo qual os fitopatógenos (a) são introduzidos em novas áreas, (b) sobrevivem na "ausência" do hospedeiro, (c) são selecionados e disseminados como raças específicas a determinados hospedeiros e (d) são distribuídos através da população de plantas como focos primários de inóculo. Trata-se, pois, do mais importante aspecto da patologia de sementes, conceituada como o ramo da ciência agrônoma que envolve as relações entre microrganismos (patógenos) e sementes. A patologia de sementes reúne, basicamente, os princípios da fitopatologia aplicados à tecnologia de sementes; trata do estudo dos microrganismos associados a sementes, das doenças de sementes, dos mecanismos de transmissão, dos métodos de detecção (testes de sanidade), dos prejuízos causados e dos métodos de controle.

Assim, o ponto fundamental da patologia de sementes refere-se a associação íntima entre patógeno e semente, permitindo que esta se constitua em importante veículo de disseminação e estabelecimento de patógenos. Cumpre ressaltar que a simples presença de um patógeno na semente não é suficiente para garantir que este patógeno irá infectar a planta proveniente daquela semente; caso este processo aconteça, culminando com o surgimento de plantas doentes (com sintomas) no campo, ocorreu o fenômeno de transmissão.

Entretanto, em patologia de sementes, o termo transmissão significa, além da transferência e estabelecimento do patógeno da semente para a planta, também a transferência e estabelecimento do patógeno da planta-mãe para a se

mente. Através destes dois processos completa-se o ciclo de patógenos transmitidos pelas sementes.

2 - MORFOLOGIA E ANATOMIA DA SEMENTE EM RELAÇÃO À TRANSMISSÃO

A infecção e transmissão de fitopatógenos pela semente mantém íntima relação com sua formação e estrutura, justificando a preocupação da patologia com a morfologia e anatomia da semente. Como pode ser esperado, existe grande variação nos detalhes morfológicos e anatômicos entre diferentes sementes, particularmente em suas estruturas envoltórias, detalhes significantes quanto ao acesso físico e fisiológico de patógenos às sementes.

A inoculação e estabelecimento da infecção no hospedeiro depende das condições que favorecem a exposição da semente ao inóculo, da suscetibilidade dos sucessivos estádios de desenvolvimento do óvulo até a maturação da semente e do micro-ambiente proporcionado pela planta-mãe, como o envoltório promovido pelo próprio fruto ou por brácteas foliares.

A parcela e o envoltório cuticular da superfície do fruto proporcionam proteção contra fatores externos, incluindo microrganismos. Entretanto, a cavidade de alguns tipos de frutos pode atuar como câmara úmida, proporcionando o estabelecimento e desenvolvimento de fungos e bactérias dentro do fruto, afetando as sementes. A parede pode ainda servir como base nutricional para a invasão das sementes. *Colletotrichum lindemuthianum*, em feijão, muitas vezes desenvolve-se sob as lesões externas das vagens.

Frutos suculentos tais como tomate, pepino, abóbora e melão, devido à sua consistência, poderiam fornecer condições favoráveis para o estabelecimento de patógenos, mas sementes destas plantas usualmente estão livres de fungos. A matriz gelatinosa da polpa do tomate, entretanto, propicia condições para a contaminação das sementes pelo vírus do mosaico do fumo (TMV).

Frutos caídos são frequentemente invadidos por fungos do solo, com consequente contaminação ou infecção das sementes. O ambiente constantemente úmido proporcionado por tais frutos pode ser responsável pelo êxito da infecção da semente.

Brácteas "envelope", predominantes em *Gramineae*, formam um envoltório protetor ao redor da semente em desenvolvimento. Esta cobertura tem duplo papel em relação às doenças: 1) pode proteger as flores e sementes do inóculo vindo de fora, e, de modo inverso, 2) pode fornecer condições favoráveis de incubação para patógenos que tenham invadido o envoltório ou proteger o inócu

lo já estabelecido. Flores fechadas de cevada e a palha firme de algumas cultivares de milho dão proteção contra o inóculo de *Ustilago nuda* e *U. maydis*. Entretanto, em outros casos, as glumelas, sendo tecidos mortos, favorecem o estabelecimento de infectantes ou contaminantes ou preservam por um período de tempo o inóculo produzido por infecção sistêmica.

O óvulo ou megasporângio é o precursor da semente. Um óvulo normal apresenta: um pedúnculo denominado funículo pelo qual é unido à placenta; os tegumentos que são os envoltórios, e um grupo de células no seu interior, a nucela. A abertura na extremidade dos tegumentos é denominada micrópila.

A nucela jovem contém a célula arquesporrial que funciona como célula-mãe do saco embrionário ou célula-mãe do megásporo. O megásporo funcional, normalmente o chalazal, sofre três divisões mitóticas resultando na formação de oito núcleos. Três destes núcleos, na extremidade oposta à micrópila, formam as células antípodas; outros três núcleos organizam-se na extremidade micropilar formando o sistema do ovo, constituído de duas sinérgidas e uma célula ovo. Os dois núcleos restantes, os núcleos polares, movem-se para o centro.

Geralmente, cinco tipos de óvulos maduros podem ser reconhecidos: artótropo, anátropo, anfítropo, campilótropo e hemanótropo.

A duração do período entre a polinização e a fertilização varia com as espécies de plantas. O grão de pólen germina no estigma e o tubo polínico desenvolve-se através do estilo até alcançar o ovário. Assim que o tubo germinativo alcança o saco embrionário, ocorre a liberação dos dois gametas masculinos. Um destes une-se ao núcleo da célula ovo formando o zigoto; o outro une-se aos núcleos polares formando o núcleo do endosperma, completando a dupla fertilização.

Na maioria das plantas, o desenvolvimento do endosperma precede o desenvolvimento do embrião; raramente o desenvolvimento é simultâneo e somente em alguns casos o desenvolvimento do endosperma é suprimido.

O zigoto inicia o seu desenvolvimento através de uma série de divisiões transversais e verticais formando o pró-embrião. Nos estádios iniciais, o desenvolvimento do embrião não apresenta diferenças fundamentais entre monocotiledôneas e dicotiledôneas. A diferenciação começa a ocorrer nos estádios subsequentes. Em dicotiledôneas o embrião torna-se globular e em seguida toma a forma de coração, antes de atingir a maturação, mantendo simetria bilateral e, quando maduro, a plúmula ocupa uma posição apical, entre os cotilédones. Em monocotiledôneas, após o estágio globular, o embrião apresenta crescimento unilateral. A plúmula ocupa uma posição lateral e o único cotilédone ou escutelo

é terminal.

Muitos vírus podem ser transmitidos pelo pólen. À partir do pólen, o óvulo torna-se infectado, podendo, em alguns casos, ocorrer a infecção da planta-mãe. Vírus, como os agentes causais do mosaico comum do feijoeiro, mosaico amarelo do feijoeiro em *Melilotus albus* e mosaico do pepino em *Stellaria media* são transmitidos pelo pólen. Para outros, a transmissão só é bem sucedida se ocorrer na fase inicial de desenvolvimento do óvulo. O vírus do mosaico comum do feijoeiro, em feijoeiro cv. Beka, consegue infectar o óvulo no estágio unicelular. Se a invasão ocorrer no estágio de oito núcleos, o óvulo é morto.

A maioria dos vírus não são capazes de infectar o primórdio de semente após a fertilização, mas existem exceções. O vírus do mosaico em faixas da cevada invade o embrião justamente no estágio pastoso-duro de maturação.

A infecção de plantas por fungos, durante a fertilização, tem sido pouco investigada; certamente muitos fungos são capazes de infectar óvulos não fertilizados causando esterilizações. Em experimentos realizados com *Ustilago nuda* e *U. tritici*, infecção bem sucedida foi obtida pela inoculação antes da polinização e 1-2 dias após a polinização, indicando suscetibilidade do óvulo nas fases anterior à polinização, entre polinizações e fertilização e imediatamente após a fertilização.

A infecção por fungos em diferentes estádios de desenvolvimento da semente reveste-se de grande importância: por muitas vezes provocar a morte, se ocorrer nos primeiros estádios e por determinar a localização do inóculo dentro dos tecidos da semente madura. Se a infecção ocorrer quando a semente está próxima da maturação somente a casca é invadida; muitas vezes, somente as camadas epidérmicas. Barreiras morfológicas impedem a penetração das estruturas invasoras nas camadas mais internas. Nos cariopsistas barreiras são o endocarpo e as camadas dos integumentos. Nas sementes verdadeiras, cutícula interna da casca, cutícula externa do endosperma e integumentos podem funcionar como barreiras morfológicas.

Estruturas externas protetoras, a relação entre o tamanho do embrião e do endosperma e a forma e posição do embrião podem também ser relevantes em relação a infecção e transmissão de patógenos pela semente.

A taxa de aderência de propágulos de patógenos é consideravelmente influenciada pelas características da superfície da semente. Brácteas protetoras podem ser suscetíveis ou então auxiliar a inoculação de patógenos tais como *Phoma*, *Dreohalera* e *Ustilago*. A mucilagem das sementes de tomate provoca a

adesão abundante do vírus do mosaico do fumo (TMV), enquanto a superfície lisa das sementes de fumo é desfavorável a tal contaminação que é desconhecida neste hospedeiro.

Infecção do embrião, em particular nos volumosos cotilédones das leguminosas, por fungos e bactérias, é notavelmente comum e a prevalência de patógeno transmitidos pelas sementes da planta desta família, como feijoeiro, ervilha e soja, pode ser relacionada com a predominância do embrião na semente. Em gramíneas, por outro lado, o embrião é pequeno, limitando as chances de infecção. Se a infecção do embrião ocorrer nos primeiros estádios de desenvolvimento do cariopse, este normalmente é morto, abortando a semente.

3 - PONTOS DE ENTRADA PARA INFECÇÃO DA SEMENTE

O primórdio de semente ou a semente madura podem ser infectados diretamente por agentes infectantes da planta-mãe ou por agentes externos.

3.1 - Infecção da sementes através da planta

Diretamente a partir da planta-mãe, a infecção pode ocorrer através do pedúnculo de flores e frutos e do pedúnculo da semente (funículo), ou pela superfície íntegra da semente.

Provavelmente todos os vírus que infectam o embrião e todos os que são transmitidos pela semente podem ser considerados invasores do óvulo ou da semente jovem através do funículo, no caso de infecção através da planta-mãe.

Bactérias do sistema vascular utilizam-se do funículo para alcançar o óvulo ou a semente jovem. Foi demonstrado também que *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, agente do crestamento comum do feijoeiro, penetra no óvulo através do funículo, tendo anteriormente atingido a vagem pelo sistema vascular. Esta bactéria pode também penetrar através da micrópila. Vagens aparentemente sadias podem, na época da colheita, conter sementes infectadas. As sementes apresentam manchas típicas e ocorre descoloração do hilo quando o patógeno penetra na vagem pelo sistema vascular.

Espécies de *Fusarium* infectantes do sistema vascular são exemplos de importantes patógenos disseminados pelas sementes. Estes fungos penetram na semente, a partir do xilema, pelo funículo.

3.2 - Infeção da semente por patógenos do ambiente externo

Inóculo de fonte externa pode atingir flores, frutos e sementes indiferenciadas ou frutos e sementes maduros. O inóculo pode ter origem em outras plantas, em outro local de infeção da planta-mãe ou no solo. A disseminação do inóculo tem como agentes o vento, água, insetos ou a própria semente, durante as operações de colheita e beneficiamento. Estigma, nectário, parede do ovário ou da semente, pedúnculo da flor ou fruto e aberturas do fruto são citados como pontos de entrada para patógenos do ambiente externo.

Patógenos que infectam sementes através do estigma da flor podem atingir o embrião ou ficar restritos a outras partes da semente. *Ustilago nuda* e *U. tritici* são exemplos clássicos de fungos transmitidos pelas sementes que infectam o embrião através da flor. Vírus transmitidos pelo pólen atingem o estigma e posteriormente a semente. Entretanto, a transmissão de vírus pelo pólen e pela semente tem características particulares em cada sistema patógeno-hospedeiro. O vírus do mosaico amarelo do feijoeiro é transmitido pelo pólen em semente de *Melilotus alba* mas não o é pelo pólen ou semente de *Phaseolus vulgaris*.

Alguns patógenos infectam as sementes através da flor sem infectar, entretanto, o embrião. Os esporos alcançando o estigma, germinam e a hifa cresce ao longo do estilete espalhando-se pelo parênquima das glumelas e epiderme do cariópse da semente funcional, onde estabelece-se como micélio dormente.

Existe a possibilidade do nectário servir como ponto de entrada para patógenos. Em algodoeiro, a penetração de fungos causadores de podridão da maçã ocorre frequentemente por esta via.

Alguns fungos penetram no ovário diretamente através da parede. No ponto de entrada, um apressório é formado, do qual vigorosas hifas afiladas penetram nas células imediatamente abaixo, atingindo o embrião. Durante a maturação da semente, o micélio torna-se dormente.

Patógenos que infectam frutos podem, a partir destes, infectar diretamente a semente. *Colletotrichum lindemuthianum*, agente da antracnose do feijoeiro, pode infectar a vagem em diferentes fases de desenvolvimento, infectando a semente diretamente.

O ponto de fixação do pedúnculo de flores e frutos pode servir de ponto de penetração de fungos.

Frutos com aberturas exteriores podem ser invadidos por muitos microorganismos, desde saprófitas a parasitas obrigados. Frutos caídos são normalmen-

te invadidos por microrganismos do solo. A partir do fruto, as sementes podem ser diretamente infectadas. Sementes expostas de *Compositas* podem ser também infectadas diretamente por patógenos que desenvolvem-se em pétalas senescentes.

Sementes infectadas deterioradas são normalmente removidas nas operações de limpeza, mas aquelas levemente infectadas não são eliminadas constituindo-se um importante meio de disseminação seletiva de patógenos tipos virulentos para o hospedeiro considerado.

4 - PARTES DA SEMENTE CONTAMINADAS OU INFECTADAS

O conhecimento do tipo de associação entre a semente e a estrutura do patógeno que a acompanha, determina a escolha do método de detecção e a eficiência de diferentes tratamentos que podem ser adotados. Fundamentalmente, o correm três tipos de associação, quanto a localização, entre os diferentes grupos de patógenos e as sementes: infecção, contaminação e contaminação concomitante.

A semente está infectada quando a estrutura do patógeno está localizada no interior de seus tecidos e está contaminada quando a estrutura do patógeno está localizada na sua superfície, aderente a ela. Estruturas do patógeno podem ainda estar distribuídas entre as sementes, livres ou infectando fragmentos da planta, caracterizando a contaminação concomitante.

Infecção pode ocorrer em todas as partes da semente, tais como óvulo, embrião, endosperma e tegumento ou pericarpo, funcionando como casca, enquanto que a contaminação restringe-se às estruturas envoltórias como tegumento ou pericarpo e brácteas.

4.1 - Infecção do óvulo

Vírus e fungos são organismos usualmente citados como invasores de óvulos. Alguns vírus disseminados pelo pólen podem infectar o óvulo. Entretanto, nem todos os vírus invasores do óvulo são capazes de sobreviver durante o desenvolvimento da semente e conseqüentemente não são transmitidos; quando o vírus persiste, o embrião torna-se infectado. O vírus do mosaico comum do feijoeiro pode infectar o óvulo e persistir no embrião.

Vários fungos parasitas podem infectar o óvulo. Porém, normalmente, eles causam a deterioração de seus tecidos.

4.2 - Infecção do embrião

Vírus transmitidos pelas sementes comumente infectam o embrião. A partir da colonização sistêmica do hospedeiro ocorre a infecção e o estabelecimento de relação compatível entre o vírus e os tecidos do embrião. Entretanto, existem vírus que invadem o embrião mas não sobrevivem em sementes maduras.

Vários exemplos de fungos infectantes do embrião são encontrados na literatura. *Ustilago nuda* em cevada, *Diplodia zeae* em milho, *Fusarium* spp. e *Colletotrichum gossypii* em algodão são frequentemente encontrados no embrião.

Bactérias como *Corynebacterium michiganense*, agente do cancro do tomateiro, *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, *X. campestris* pv. *phaseoli*, etc., podem também infectar o embrião.

4.3 - Infecção do endosperma

É possível que vírus infectantes do embrião estejam presentes também no endosperma. Contudo, existem evidências para a hipótese de que o endosperma não seja responsável pela transmissão, via semente.

Diplodia zeae em milho, *Drechslera oryzae* em arroz e *Fusarium moniliforme* em sorgo, entre outras, são exemplos de fungos que infectam o endosperma. Em alguns casos, o micélio infecta concomitantemente o embrião e o endosperma; em outros, apenas o endosperma.

O endosperma está sujeito às infecções bacterianas. *Erwinia stewartii* é transmitida pelo endosperma de sementes de milho.

4.4 - Infecção do tegumento da semente

Alguns vírus altamente infectivos são transportados no tegumento da semente. Os vírus do mosaico comum do feijoeiro, mosaico do pepino e mosaico do fumo foram encontrados na testa da semente de seus hospedeiros. Possivelmente, a maioria dos vírus transportados no tegumento não são transmitidos.

A maioria dos fungos imperfeitos transmitidos pelas sementes infectam o tegumento, persistindo no interior dos tecidos na forma de micélio dormente.

Algumas bactérias como por exemplo, *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e *X. campestris* pv. *malvacearum*, além de infectarem o embrião, infectam também o tegumento.

4.5 - Infecção do pericarpo

Nos cariopses de *Gramíneas* e aquênio de *Compositas* o pericarpo atua como casca da semente. Muitas espécies de fungos parasitas de cereais e forrageiras estabelecem-se com o micélio dormente no pericarpo. Normalmente, a profundidade da infecção reflete a época da inoculação e invasões. Quando o cariopse é invadido ainda cedo, as camadas mais internas são infectadas. Quando ocorre próximo à maturação, somente as camadas mais externas são infectadas.

4.6 - Contaminação do tegumento e pericarpo

Muitos patógenos são transportados aderentes à superfície da semente, incluindo vírus, fungos, bactérias e nematóides.

O vírus do mosaico do fumo (TMV) adere externamente na testa de sementes de tomate e, da testa, a plântula é contaminada e infectada durante o transplante.

Esporos de fungos e outras estruturas são frequentemente transportados na superfície da semente. Muitos fungos transmitidos pelas sementes utilizam-se deste mecanismo de transmissão. Espécies de *Fusarium*, *Alternaria* e *Drechslera* constituem bons exemplos.

Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria* em tomate, *Corynebacterium flaccumfaciens* em feijão, *Pseudomonas lachrymans* em pepino e *X. campestris* pv. *campestris* em repolho são comprovadamente transportadas na superfície da semente.

O nematóide *Ditylenchus dipsaci* pode ser transportado aderente às sementes de cebola.

4.7 - Infecção ou contaminação das brácteas

Patógenos presentes nas brácteas, externa ou internamente, podem contaminar as sementes. *Drechslera teres* ocorre como micélio dormente nas glumelas de cevada. Em sementes de sorgo, oosporos de *Sclerospora sorghi* presentes nas glumelas dão origem a plântulas infectadas.

Aphelenchoides besseyi pode permanecer no interior das glumelas de sementes maduras de arroz.

4.8 - Contaminação concomitante

Pequenos fragmentos de plantas infectadas, órgãos reprodutivos do patógeno, estruturas de resistência, sementes infectadas mortas e outras impurezas, podem ocorrer misturadas com as sementes e estarem presentes na ocasião da semeadura. Este tipo de transmissão pode ocorrer frequentemente, sendo em alguns casos responsável pela disseminação de patógenos insuspeitos de serem disseminados pelas sementes. Durante o processo de beneficiamento há redução substancial da quantidade desse tipo de inóculo mas a prevenção total não pode ser esperada.

5 - MECANISMOS DE TRANSMISSÃO PLANTA-SEMENTE E SEMENTE-PLANTA DE PATÓGENOS

A disseminação de um patógeno pela semente não implica, necessariamente, na infecção da planta dela proveniente. A infecção da planta é a fase decisiva no processo de transmissão pela semente. Ocorre transmissão pela semente quando a infecção é demonstrada, excluindo-se outras possíveis vias de transmissão.

NEERGAARD (1979) estabeleceu oito tipos principais de ciclos de doenças transmitidas pelas sementes, classificados de acordo com o modo pelo qual o patógeno é transportado com a semente e com o subsequente desenvolvimento do patógeno durante o desenvolvimento da planta oriunda da semente infectada ou contaminada.

Infecção intra-embriônica seguida por infecção sistêmica - O embrião é infectado e o patógeno torna-se ativo durante a germinação da semente, penetrando através da haste ou seguido próximo aos pontos de desenvolvimento da planta; a planta colonizada pode exibir sintomas ou apresentar infecção latente. Ex.: Vírus do Mosaico Comum do Feijoeiro; *Colletotrichum dematium* var. *truncata*/soja; *Ustilago nuda*/cevada.

Infecção intra-embriônica seguida por infecções locais - O embrião infectado dá origem a lesões localizadas na parte aérea da planta, as quais produzem conídios que são disseminados pelos diversos agentes, atingindo outros órgãos da planta onde germinam; as hifas penetram nos tecidos da planta, produzindo novas lesões localizadas. Ex.: *Colletotrichum lindemuthianum*/feijoeiro; *Ascochyta pisi*/ervilha.

Infecção extra-embriônica seguida por infecção sistêmica - O patógeno infectante do endosperma, tegumento da semente ou pericarpo desenvolve-se

durante a germinação, infectando a planta através do desenvolvimento nos tecidos da haste ou acompanhando o crescimento meristemático da planta; a infecção pode ou não ser latente. Ex.: *Drechslera graminea*/cevada; Vírus do Mosaico do Pepino.

Infecção extra-embriônica seguida por infecções locais - O patógeno está no interior de tecidos de semente, exceto embrião, e durante a germinação o patógeno é transportado, passivamente, no endosperma ou tegumento da semente, e daí atinge a planta jovem; propágulos formados em lesões primárias são disseminados por diversos agentes dando origem a novas lesões locais. Ex.: *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*/feijoeiro; *Alternaria brassicicola*/brássicas.

Contaminação seguida por infecção sistêmica - O patógeno, aderente à superfície da semente, penetra no interior da plântula durante a germinação, seguindo-se uma colonização sistêmica. Ex.: Vírus do Mosaico do Fumo (TMV)/tomateiro; *Tilletia caries* e *T. foetida*/trigo, cevada.

Contaminação seguida por saprofitismo e posterior infecção sistêmica - A partir de sementes contaminadas, o patógeno sobrevive saprofiticamente por um período variável, invadindo posteriormente a planta e a colonizando sistematicamente. Ex.: *Fusarium oxysporium* f. sp. *callistephi*/âster.

Contaminação seguida por saprofitismo ou fase dormente e posteriores infecções locais - A partir de semente ou lote contaminado o patógeno vive como saprófita ou sobrevive sob dormência no solo ou em resíduos de plantas por um certo período; posteriormente, coloniza o hospedeiro através de lesões localizadas. Ex.: *Sclerotinia sclerotium*/soja, feijão, girassol, etc..

Contaminação por estruturas organo-específicas seguida por fase não parasítica e posterior infecção organo-específica direta - O ovário é transformado em esclerócio ou galha e esta estrutura acompanha as sementes, sendo distribuída no campo; o patógeno vive saprofiticamente ou sobrevive sob dormência por um determinado período, com posterior infecção de órgãos específicos do hospedeiro. Ex.: *Claviceps purpurea*/centeio; *Ustilaginoides virens*/arroz; *Anguina tritici*/trigo.

Estes tipos de ciclo de patógenos transmitidos por sementes não são totalmente exclusivos; um patógeno pode apresentar mais de um tipo de ciclo (Ex.: *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* pode apresentar infecção sistêmica ou local a partir de inóculo intra-embriônico). Outros tipos de ciclo podem existir.

6 - FATORES QUE INFLUEM NA TRANSMISSÃO DE PATÓGENOS PELAS SEMENTES

A simples constatação de presença de um microrganismo, mesmo patogênico, em determinada semente, não é suficiente para garantir que este patógeno irá infectar a planta proveniente desta semente. Entretanto, a associação patógeno-semente indica o potencial de transmissão e consequente estabelecimento de doença por ocasião da semeadura no campo. Inúmeros fatores afetam o estabelecimento e desenvolvimento de um patógeno disseminado pelas sementes: podem incluir os externos ao sistema patógeno/hospedeiro (fatores ambientais e bióticos) e os inerentes ao sistema, como os pertencentes ao patógeno (patogenicidade, virulência/agressividade, potencial de inóculo, etc.) e ao hospedeiro (suscetibilidade/resistência, mecanismos de resistência envolvidos, etc.). Todos estes aspectos vão se refletir na epidemiologia da doença cujo patógeno é transmitido pela semente; a plântula com sintomas, proveniente da semente com patógeno, se constitui apenas na fonte de inóculo responsável pelo início de uma epidemia, que terá uma determinada taxa de desenvolvimento sob condições de campo, causando determinada quantidade de doença nas fases críticas da cultura, com a conseqüente perda na quantidade e na qualidade da produção.

A influência de fatores inerentes ao sistema patógeno/hospedeiro será abordado resumidamente, já que se trata de assunto extensivamente discutido nos textos de fitopatologia; entretanto, detalhes poderão ser obtidos em NEERGAARD (1979).

6.1 - Influência de fatores do ambiente abiótico no estabelecimento e desenvolvimento de doença

Fatores físico-químicos do ambiente exercem influência no estabelecimento e desenvolvimento do patógeno, afetando tanto o hospedeiro, como o patógeno e a planta doente resultante da interação. Condições fisiológicas do hospedeiro também são importantes para o êxito do estabelecimento de infecção.

6.1.1 - Influência de fatores do ambiente na predisposição do hospedeiro

No período anterior à infecção os efeitos do ambiente tem marcado influência sobre a predisposição do hospedeiro, ou seja, sobre a condição de maior ou menor suscetibilidade determinada por fatores não genéticos, com conseqüente influência sobre o desempenho do patógeno.

Influência da umidade do solo

A umidade do solo exerce efeito marcante sobre a predisposição da planta hospedeira, quando comparada com umidade do ar. A falta ou excesso de umidade no solo pode tornar as plantas mais suscetíveis à ação de determinados patógenos. Por exemplo, a predisposição do tomateiro é aumentada para *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* e diminuída para *Corynebacterium michiganense*, sob condições de baixa umidade do solo.

Influência da temperatura

A influência da temperatura sobre a predisposição é variável, dependendo do sistema patógeno-hospedeiro considerado. Em certos sistemas a predisposição aumenta pela exposição das plantas a baixa temperatura, em outros pela exposição a alta temperatura e ainda pode ocorrer aumento da predisposição pela exposição a temperatura próxima ao ótimo para o desenvolvimento da planta hospedeira.

Influência de nutrientes

Assim como os fatores anteriormente mencionados, as quantidades de nutrientes disponíveis podem aumentar ou diminuir a suscetibilidade da planta a doenças, dependendo do sistema patógeno-hospedeiro. De um modo geral, elevados teores de nitrogênio tendem a aumentar a suscetibilidade, enquanto que elevados teores de potássio a reduzem. Entretanto, exceções podem ocorrer.

Outros fatores

Além da umidade, temperatura e nutrientes disponíveis, outros fatores como intensidade e período luminosos, teor de oxigênio no solo e na atmosfera e reação do solo (pH), podem alterar a suscetibilidade da planta a um certo patógeno.

6.1.2 - Propágulos

Patógenos disseminados pelas sementes, conhecidos infectantes de plântulas, tais como muitas cáries são grandemente influenciados pela umidade do solo. Outros tipos de patógenos que infectam partes do hospedeiro acima do solo, são predominantemente dependentes da umidade do ar. As condições de umidade do solo afetam a capacidade de germinação de esporos. Água livre ou alta umidade relativa do solo são pré-requisitos para a germinação. Umidade excessi

va, porém, pode conduzir à falta de oxigênio impedindo a germinação dos esporos. Do mesmo modo, patógenos da parte aérea requerem água livre para germinação dos esporos.

A temperatura ótima para germinação de esporos varia amplamente entre fungos diferentes. Entretanto, a temperatura não tem efeito limitante. *Tilletia caries* tem como ótimo para germinação temperaturas de 16-18°C, enquanto que para *Agropyron trachycaulum* é de 5°C. A temperatura também influencia a duração do período de germinação dos esporos.

Luz, pH do solo e concentrações de O_2 e CO_2 são outros fatores que podem influir na germinação dos esporos, embora em menor intensidade que temperatura e umidade.

6.1.3 - Penetração do patógeno

A umidade exerce marcante influência na penetração de organismos fitopatogênicos, especialmente as bactérias. Condições de alta umidade relativa ou água livre na superfície do hospedeiro permitem a multiplicação e a penetração de bactérias.

Luz e temperatura são fatores que também influenciam a penetração. Entretanto, as exigências de fitopatógenos quanto a estes fatores para que ocorra a penetração a nível ótimo podem diferir, dependendo do sistema patógeno-hospedeiro considerado.

6.1.4 - Interação patógeno-hospedeiro

Após o estabelecimento do patógeno no hospedeiro, o ambiente atuará sobre os dois componentes, conjuntamente. A reação do hospedeiro infectado ao ambiente é, certamente, dependente do sistema patógeno-hospedeiro e da influência do ambiente neste interrelacionamento específico. Em algumas infecções sistêmicas, tais como o carvão da cevada, sob qualquer condição, o desenvolvimento do patógeno e do hospedeiro é de tal modo coordenado que as espigas com carvão aparecem perfeitamente sincronizados com o florescimento do hospedeiro. Em outras, no entanto, as condições de crescimento podem aumentar ou suprimir os efeitos do patógeno. Por exemplo, a severidade das doenças vasculares, como aquelas causadas por *Fusarium*, é determinada por fatores do ambiente que influenciam a velocidade do fluxo de seiva bruta nos vasos, uma vez que a invasão ascendente do hospedeiro pelo patógeno é feita através dos esporos que

são carregados pelo movimento da seiva.

Fatores do ambiente podem ainda influenciar a duração do período compreendido entre a infecção e a produção de novas estruturas de reprodução do patógeno (período latente). A duração do período latente pode variar consideravelmente, principalmente em função das condições de temperatura e umidade.

6.1.5 - Época de infecção e o estágio de crescimento do hospedeiro

O grau de infecção da semente por um determinado patógeno pode ser relacionado com o estágio de crescimento do hospedeiro no qual ocorreu a infecção. Trabalhos realizados com *Septoria nodorum* em trigo mostraram uma clara relação entre o estágio de crescimento do hospedeiro no momento da inoculação e a taxa de infecção das sementes. Quando as inoculações foram realizadas após a emissão da folha bandeira a quantidade de infecção foi alta. Porém, quando realizadas próximas à maturação pequena ou nenhuma infecção ocorreu.

6.1.6 - Época de infecção e condições climáticas

As condições climáticas predominantes no período de florescimento e de desenvolvimento da semente são decisivos para ocorrência de infecção. A época exata da infecção dentro desse período novamente determina a extensão da infecção em sementes individuais e em número de sementes infectadas. O grau de infecção de sementes de algodão por *Colletotrichum gossypii* no momento da abertura das "maças" foi diretamente relacionado com a quantidade de chuva. A infecção das sementes de feijão, soja e ervilha por agentes de cretamentos bacterianos e antracnoses é também fortemente influenciado pelas chuvas e umidade do ar. Em viroses, a temperatura mostrou um marcado efeito na infecção das sementes. Feijoeiros foram inoculados com o Vírus do Mosaico Comum e mantidos sob duas diferentes temperaturas (20 e 17-18°C) antes e após a fertilização. Somente as temperaturas aplicadas antes da fertilização determinaram a ocorrência ou não de transmissão do vírus pelas sementes.

6.1.7 - Época de infecção e período de florescimento do hospedeiro

O momento da polinização, bem como o da fertilização, são pontos cruciais para ocorrência de infecção floral para muitos patógenos. A infecção da flor de trigo por *Ustilago tritici* pode ocorrer já no primeiro dia de floresci

mento, mas nesse caso, somente 50% dos primórdios de sementes são infectados. O período favorável situa-se entre dois e cinco dias após o início do florescimento, justamente após a fertilização. Após esse período a porcentagem de infecção diminui rapidamente tendendo a zero. Em centeio, *Claviceps purpurea*, agente causal do ergotismo, geralmente infecta o óvulo antes da fertilização. Como em centeio, a fertilização é cruzada, quando a flor abre expõe o estigma totalmente receptivo aos grãos de pólen e ao inóculo do fungo. *Drechslera graminea* infecta a cevada, mais severamente, imediatamente antes dos florescimento; a porcentagem de infecção reduz durante o florescimento e decresce rapidamente durante os dias imediatamente após. Resultados semelhantes foram obtidos com *D. oryzae* em arroz.

6.1.8 - Época de infecção e localização na semente

Estudos tem revelado existir relação entre a época de inoculação e localização do patógeno nas diferentes partes da semente. Quando *Fusarium culmorum* infecta o centeio durante o florescimento, a hifa penetra no hilo e primórdio de coleóptilo. O hilo é destruído, dificultando o transporte de nutrientes com conseqüente prejuízo ao desenvolvimento da semente. Quando a infecção ocorre mais tardiamente, durante a maturação, a semente é menos afetada. Neste caso, os tubos germinativos dos conídios são capazes de penetrar somente no pericarpo e o desenvolvimento da semente é normal. Com *Gloeotinia temulenta* em sementes de *Lolium perenne*, a localização também variou em função do tempo de infecção. Quando a infecção ocorreu durante o desenvolvimento da semente, a hifa alcançou o embrião, provocando a sua morte. Quando a infecção ocorreu próxima à maturação, o micélio atingiu somente os tecidos do pericarpo, os conídios desenvolveram-se na superfície da semente e a capacidade de germinação não foi afetada.

6.1.9 - Época de infecção e a flora fúngica disseminada pelas sementes

A época de infecção em relação ao estágio de desenvolvimento das sementes determina, não somente o grau de infecção e a localização de patógenos nas sementes como anteriormente mencionado, mas também a composição da flora fúngica por elas disseminada. Sementes de diferentes cultivares de soja representando cinco grupos de maturação apresentaram diferenças quanto à incidência de *Cercospora kikuchii* e *Phomopsis sojae*. *Cercospora* foi isolado mais frequen

temente de cultivares de maturação tardia e *Phomopsis* de cultivares de maturação precoce. De sementes verdes, imaturas, poucos fungos foram isolados, enquanto que 75 a 100 por cento das sementes maduras, com baixo teor de água, foram infectadas.

6.1.10 - Época de infecção e a transmissão de vírus pelas sementes

Para várias doenças viróticas, existe uma relação definida entre a época de infecção da cultura e a quantidade de infecção das sementes e transmissão. O Vírus do Mosaico Comum do feijoeiro é transmitido pelas sementes somente quando a planta-mãe é infectada antes do florescimento. O Vírus do Mosaico do Caupi é outro exemplo de redução da taxa de transmissão à medida que a idade da planta-mãe avança. Sementes de plantas inoculadas já tardiamente, ou seja, próximo ou após o florescimento, não transmitiram o vírus. Resultados semelhantes foram obtidos com o Vírus do Mosaico da Alface. Plantas inoculadas precocemente apresentaram maior taxa de transmissão do vírus pelas sementes, enquanto que sementes de plantas inoculadas após o florescimento não foram infectadas.

6.1.11 - Infecção ou contaminação durante a colheita

Após a maturação da semente ainda existe possibilidade de infecção. Isto pode ocorrer durante a secagem das sementes na cultura, enquanto as plantas são colhidas e colocadas em pilhas, durante a trilha e subsequente processamento, tal como secagem artificial e durante o armazenamento. Todo este processo pode fornecer condições favoráveis para disseminação de patógenos e saprófitas e para a ocorrência de contaminação ou infecção.

6.2 - Influência de fatores do ambiente biótico no estabelecimento e desenvolvimento de doença

A transmissão de patógenos pelas sementes é influenciada pelos diversos tipos e níveis de interações entre organismos que compõem a fauna e flora de uma cultura agrícola; esta influência pode ser estimulante ou inibidora às diferentes fases do processo de transmissão de um patógeno pela semente.

Relações entre insetos e bactérias

Aberturas naturais da planta e ferimentos de qualquer natureza constituem-se nas vias de penetração de bactérias. Insetos podem ser responsáveis por ferimentos necessários para a infecção primária em plântulas, bem como pela disseminação do patógeno na cultura. *Erwinia stewartii*, agente da murcha do milho, é disseminada por sementes contaminadas e penetra através de ferimentos produzidos por vários insetos.

Relações entre insetos e fungos

A importância da transmissão de fungos parasitas de plantas por insetos é bem conhecida. Alguns patógenos tem no inseto vetor o principal agente de transmissão. *Nematospora conrylii*, agente causal da mancha de levedura é transmitido para o feijoeiro através de insetos vetores, principalmente por espécies de *Nesara*. Em algodoeiro, algumas espécies de *Nematospora* tem como vetor *Dysdercus* spp. Outros exemplos de fungos disseminados pelas sementes são *Diplodia zeae*, *Fusarium moniliforme* e *F. graminearum*. Para estes fungos, a lagarta *Heliothis zea* e a broca *Pyrausta nubilalis* promovem a transmissão e auxiliam a rápida disseminação na cultura do milho.

Relações entre insetos e vírus

A influência dos insetos na infecção primária de vírus transmitidos pelas sementes ainda não está completamente determinada. Porém, os insetos vetores tem grande importância na disseminação secundária de vírus transmitidos pelas sementes.

Relações entre insetos e nematóides

Um exemplo conhecido, evidenciando a ocorrência de relações entre insetos e nematóides, refere-se ao *Pachytiplosis oryzae*, o qual foi demonstrado aumentar a incidência do nematóide da Ponta Branca do arroz, *Aphelenchoides besseyi*.

Relações entre ácaros e bactérias

Foi demonstrado que plantas de soja infestadas por ácaros (*Tetranychus telarius*) mostraram resistência ou imunidade ao Crestamento bacteriano, *Pseudomonas glycinea*. Esta reação aumentou com o aumento do número de ácaros e com o tempo de exposição das plantas antes da infecção pela bactéria.

Relações entre nematóides e bactérias

Nematóides podem atuar como vetores facultativos bem como sinergistas de bactérias fitopatogênicas.

Anguina tritici e *Corynebacterium tritici* estão associados na produção de uma doença de trigo. Essa associação entre os organismos é uma condição obrigatória de patogenicidade. Sozinhos, nenhum deles produz sintomas.

A marcha bacteriana da alfafa, *Corynebacterium insidiosum*, pode ser transmitida pelo nematóide *Ditylenchus dipsaci*, aumentando a porcentagem da marcha.

Relações entre nematóides e fungos

A associação entre nematóides e fungos fitopatogênicos é bem conhecida. Ainda no século passado foi descrita a relação entre *Meloidogyne incognita* e a severidade da marcha de *Fusarium* em algodoeiro, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. Como a infecção ocorre pela raiz, é enormemente favorecida por nematóides, ocorrendo um efeito sinérgico.

Nematóides de várias espécies, particularmente *Meloidogyne incognita*, *Belonolaimus longicaudatus* e *Rotylenchus reniformis* podem interagir com *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. O efeito dos nematóides não é o de simplesmente facilitar a penetração. Podem também predispor fisiologicamente o hospedeiro à atuação do fungo e influir no estado nutricional da planta.

Outros exemplos de nematóides que interagem com fungos são: *Heterodera marioni* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomate, *Pratylenchus penetrans* e *F. oxysporum* f. sp. *pisi* em ervilha, *Meloidogyne incognita* e *Verticillium albo-atrum* em tomate.

Relações entre nematóides e vírus

Inúmeros nematóides atuam como vetores obrigatórios de vírus disseminados pelas sementes.

Trichoderma e *Paratrichodorus* são vetores do vírus do enrolamento do fumo. O AMV (Arabid Mosaic Virus) é transmitido por *Xiphinema cori* e *X. diversicaudatum*; o Vírus da Mancha Anelar do Fumo por *X. americanum* e *X. cori*; o Vírus da Mancha Anelar da Framboesa por *Longidorus macrostoma* e *L. elongatus* e o Vírus da Folha em Leque da Videira ("fanleaf") por *Xiphinema index*. *X. americanum* pode também transmitir o Vírus da Mancha Anelar do Fumo em Pepino. Neste caso, porém, a transmissão por insetos é mais importante.

Relações entre fungos

Fungos introduzidos no solo com as sementes podem desenvolver com os habitantes normais deste ou entre si, diferentes interações. Estudos tem demonstrado a ocorrência de antagonismo, competição, parasitismo, alterações na pre disposição do hospedeiro e proteção cruzada.

O cultivo de plantas oriundas de sementes contaminadas em solos desinfestados pode conduzir ao desenvolvimento mais severo de doenças quando comparado ao cultivo em solo não tratado, evidenciando, neste caso, a ocorrência de antagonismo e competição.

Tem sido evidenciado, em diversos estudos realizados, que as propriedades antagônicas de diferentes espécies de fungos são exercidas pela produção de antibióticos não voláteis, ativos contra uma faixa de fungos. Entretanto, a produção de substâncias inibidoras é influenciada por um complexo de fatores que atuam sobre os fungos produtores, ou inerentes a eles, como por exemplo, pH, temperatura e umidade do solo, disponibilidade de nutrientes e o strain do fungo envolvido.

Na Tabela 1 são relacionados alguns fungos que revelaram propriedades antagônicas e os patógenos contra os quais atuam.

Interação entre fungos pode ocorrer também nas partes aéreas das plantas ou mesmo no interior delas. Tem sido demonstrado que *Cladosporium herbarum* tem mau efeito antagônico no desenvolvimento de *Botrytis cinerea* em frutos jovens de tomate, pela rápida colonização dos tecidos afetados pelo patógeno. *Cladosporium* cresce sob condições mais secas que outros fungos, incluindo *Botrytis* e portanto ele coloniza tecidos mais prontamente. Quando substâncias de crescimento foram usadas para evitar a queda de frutos, a colonização pelo saprofita foi favorecida e a infecção por *Botrytis* foi reduzida. A relação a seguir mostra o antagonismo entre fungos (extraído de NEERGAARD, 1979).

Fungos antagônicos	Patógenos contra os quais atuam
<i>Chaetomium cochlioides</i>	<i>Drechslera victorias</i>
	<i>Fusarium nivale</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Botrytis cinereae</i>
<i>Gliocladium virens</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
<i>Trichoderma terricola</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>
<i>Trichoderma viride</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
	<i>Macrophomina phaseolina</i>

Relações parasíticas também podem ocorrer entre fungos disseminados pelas sementes. A ação dos fungos *Gliocladium deliquescens* e *Acremonium* sp. sobre os patógenos do arroz *Drechslera oryzae* e *Pyricularia oryzae*, resultou em malformação ou desorganização das células hifálicas dos hospedeiros. Por outro lado, *Trichoderma longibrachiatum* e *T. polysporum* invadiram as hifas do hospedeiro, crescendo dentro dele, estabelecendo-se, então, uma relação parasítica direta em contraste ao micoparasitismo indireto de *Gliocladium* e *Acremonium*.

Um importante aspecto das relações entre fungos é o efeito da infecção prévia de um patógeno sobre a infecção subsequente por outro patógeno. *Tilletia*, em trigo, pode predispor o hospedeiro para infecção por *Fusarium* e *Drechslera*, mas pode reduzir a infecção por Oídio.

Trabalhos têm demonstrado, ainda a ocorrência de proteção cruzada entre fungos disseminados pelas sementes. *Drechslera sorokiniana*, em folhas banadeiras de cevada, inibiu o posterior desenvolvimento de *Septoria passerinii* nas bainhas foliares. *Cephalosporium* pré-inoculado em hospedeiros de *Fusarium oxysporum* mostrou efeito inibitório no desenvolvimento vascular de *Fusarium*. Com *Fusarium oxysporum*, foi demonstrado a ocorrência de proteção cruzada entre diferentes formas especiais desse fungo.

Relações entre bactérias e fungos

Sinergismo tem sido demonstrado entre bactérias e fungos. *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, agente da Mancha Angular do Algodoeiro intensifica o desenvolvimento de *Colletotrichum gossypii*, agente da antracnose. Quando o fungo está associado a bactéria, o número de lesões é substancialmente aumentado, comparado com os efeitos destes patógenos quando ocorrem individualmente. Sinergismo entre *X. campestris* pv. *phaseoli* e *Macrophomina phaseolina* em feijão entre *Pseudomonas glycine* e *Septoria glycines*, tem sido relatado.

Por outro lado, muitas espécies de *Bacillus* tem mostrado ter marcado efeito antagonico contra fungos patogênicos. *B. subtilis* mostrou-se antagonico para *Fusarium udum*, agente da murcha de ervilha, e *B. mycoides* para *Drechslera oryzae*. Ainda, bactérias e actinomicetos do solo desenvolvem antagonismo contra fungos fitopatogênicos.

Relações entre bactérias

Streptomyces é antagonico a muitas bactérias. A estreptomicina tem forte efeito contra bactérias como *Pseudomonas phaseolicola*, *Xanthomonas*

campestris pv. *phaseoli* e *X. vesicatoria*. Outros antibióticos oriundos de metabólitos bacterianos, estreptotricina e pleocidina, podem ser usados contra o cretamento bacteriano do feijoeiro. Em contraste, *Achromobacter* sp. mostrou forte efeito sinérgico com *P. phaseolicola*, aumentando significativamente o número de lesões, quando o contaminante esteve presente.

Relações entre bactérias e vírus

Tem sido relatado uma associação entre *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*, agente do cretamento comum do feijoeiro, e o Vírus do Mosaico comum. A bactéria parece agir não somente como disseminadora passiva do vírus, mas como vetor verdadeiro. Dois isolados da bactéria, um típico e um variante, foram capazes de transmitir o vírus. Outros relatos demonstram que folhas de tabaco com Vírus do Mosaico, desenvolveram resistência à queima bacteriana, *Pseudomonas tabaci*. A ocorrência de resistência foi correlacionada com o aumento da atividade da enzima peroxidase.

Relações entre bacteriófagos e bactérias

Alguns bacteriófagos têm sido testados quanto aos seus efeitos contra patógenos bacterianos disseminados pelas sementes. Em experimentos de campo, sementes de milho tratadas com o fago e inoculadas com *Xanthomonas stewartii*, originaram 1,4 por cento de plantas infectadas contra 18 por cento de plantas infectadas oriundas de sementes não tratadas. Citações indicam a existência de bacteriófagos ativos contra bactérias fitopatogênicas disseminadas pelas sementes, vários outros, como por exemplo, *X. campestris* pv. *phaseoli*, *Pseudomonas phaseolicola*, *X. campestris* pv. *oryzae* e *X. campestris* pv. *campestris*.

Relações entre vírus e fungos

De acordo com observações de campo realizadas em vários países, a Cercosporiose da beterraba açucareira causada por *Cercospora beticola*, mostrou-se predominante em plantas com sintomas amarelos de vírus. Inoculações combinadas confirmaram que os vírus dos amarelos da beterraba aumentam a suscetibilidade ao fungo *Cercospora beticola*.

Relações entre vírus

Diferentes cultivares de soja inoculadas com o Vírus do Mosaico da Soja, disseminado pelas sementes, e com o Vírus do Mosquedo do Feijão Vagem, não transmitido pelas sementes, apresentaram um mecanismo mais acentuado quan

do inoculadas com ambos os vírus em relação à inoculação de um vírus somente. O efeito sinérgico produzido pelas viroses combinadas manifestou-se também na produção. A transmissão do Vírus do Mosaico da Soja pelas sementes reduziu em algumas cultivares e aumentou em outras, pela presença do Vírus do Mosquiteiro do Feijão Vagem.

6.3 - Influência de fatores inerentes ao patógeno no estabelecimento e desenvolvimento de doenças

O patógeno pode afetar o estabelecimento e desenvolvimento da doença devido a diversos aspectos, como seu estado ontogênico, variabilidade em termos de patogenicidade e patótipos, potencial de inóculo presente e condições do patógeno.

1. Patogenicidade relacionada à fase do ciclo de vida do patógeno - De terminadas estruturas de patógenos não são capazes de causar infecção em plantas, em função de serem haplóides ou dicarióticas, ou ainda de estarem em sua fase perfeita ou imperfeita.

2. Patogenicidade relacionada a ocorrência de patógenos - Em testes de sanidade, a identificação do patótipo a uma determinada espécie é normalmente negligenciada; é impossível ressaltar que os patógenos podem apresentar variações em virulência (qualitativas) e em agressividade (quantitativas), sendo ambas importantes sob o ponto de vista de transmissão.

3. Concentração de inóculo - Alguns patógenos são capazes de estabelecer na planta se apenas um propágulo estiver presente na semente, enquanto outros necessitam de uma certa quantidade mínima. De maneira geral, quanto maior o inóculo presente na semente, maior a probabilidade de haver transmissão para a plântula, caso não ocorra a morte da semente ou plântula em pré-emergência.

4. Condição do inóculo - A presença do inóculo na semente não significa que a patogenicidade está mantida; alterações podem ocorrer durante o armazenamento.

6.4 - Influência de fatores inerentes ao hospedeiro no estabelecimento e desenvolvimento de doenças

Características do hospedeiro podem afetar o estabelecimento e desenvolvimento da doença devido a diversos aspectos morfológicos e fisiológicos;

existem três mecanismos pelos quais os hospedeiros se defendem dos patógenos: resistência, tolerância e evasão. Além destes aspectos, é importante ressaltar que os mecanismos do hospedeiro se alteram com a idade.

1. Suscetibilidade relacionada à fase do ciclo de vida da planta - Em geral, as plantas são mais suscetíveis na juventude e na senescência; outras plantas só são suscetíveis durante o período de florescimento.

2. Suscetibilidade relacionada à morfologia da planta - Além de mecanismos relacionados com resistência propriamente dita, a morfologia da planta também afeta a evasão (ou "escape"). Plantas que possibilitam um melhor arejamento, que apresentem flores fechadas, etc., são menos atacadas por patógenos.

3. Suscetibilidade relacionada à fisiologia da planta - Existem mecanismos de resistência que existem independente da infecção e aqueles formados em resposta ao ataque. Em ambos os casos, o patógeno tem sua reprodução impedida ou diminuída, evitando ou minimizando os danos. Existem mecanismos próprios da semente que impedem ou diminuem a transmissão planta-semente, independente da suscetibilidade da planta-mãe. Entretanto, pode-se generalizar que quanto maior a resistência da planta-mãe, menor será a transmissão do patógeno para a semente e menor será a transmissão da semente portadora do patógeno para a plântula.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, H.M.; FURLAN, S.H.; BUENO, J.T. & MENTEN, J.O.M. Localização de *Drechslera oryzae*, *Rhynchosporium oryzae* e *Trichoconiella padwickii* em sementes de arroz. Congresso Brasileiro de Sementes, 4., Brasília, DF. p. 118, 1985. (Resumo de Trabalhos Técnicos. Brasília, ABRATES, 1985).
- BAKER, K.F. Seed Pathology. In: KOZLOWSKI, T.T., ed. Seed Biology. New York, Academic Press, 1972, p. 318-432.
- BAKER, K.F. & SMITH, S.H. Dynamic of seed transmission of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 3: 311-344, 1966.
- BARRETO, M. Efeito da época de inoculação de plantas na transmissão de *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.) von Arx pelas sementes de diferentes cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Piracicaba, ESALQ/USP, 1980. 64 p. Tese (Mestrado).

- BERSI, M. Phases de la transmission de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de *Verticillium dahliae* par les semences de quelques variétés de tomate. *Phytopathology* Z., Berlin, 93: 148-163, 1978.
- CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 2ª ed. Campinas, Fundação Cargill, 1983. 429 p.
- CHAUDHARY, K.C.B. & MATHUR, J.B. Infection of sorghum seeds by *Colletotrichum graminicola*. 1. Survey, location in seed and transmission of the pathogen. *Seed Sci. & Technol.*, Zurich, 7: 87-92, 1979.
- DHINGRA, O.D.; FERNANDEZ, C.M.A. & KUSHALAPPA, A.C. Lack of relationship between field incidence of bean anthracnose and production of seeds transmitting *Colletotrichum lindemuthianum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 11(1): 95-101, 1986.
- GALLI, F. (Coord.). Manual de Fitopatologia, Vol. 1 - Princípios e conceitos. São Paulo, Ed. Agron. Ceres, 1978. 373p.
- KHARE, M.N. & CHACKO, S. Factor effecting seed infection and transmission of *Colletotrichum dematium* f. sp. *truncata* in soybean. *Seed Sci. & Technol.*, Zurich, 11: 853-858, 1983.
- KIDANE, A. & MATHUR, S.B. Seed transmission of *Drechslera miyabeyana* *Eragrostis tef* from Etiopia. *Plant Disease Reporter*, Beltsville, 62(1): 70-71, 1978.
- KUROZAWA, C.; NAKAGAWA, J.; DOI, T. & HELOITO, E. Comportamento de 13 cultivares de gergelim (*Sesamum indicum*) à *Cercospora sesami* sua transmissibilidade de por sementes e controle. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 10:123-128, 1985.
- LEACH, C.M. A theoretical consideration of the epidemiology of seed-borne plant pathogens. *Seed Pathology - Problems and Progress*, Lodrina, IAPAR. Proceedings First Latin American Workshop on Seed Pathology. 10-18/ abril/ /1977, 1979, p. 227-233.
- LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P. & COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* através da semente do algodoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 10: 99-109, 1985.
- MADEN, S; SINGH, D.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Detection and location of seed-borne inoculum of *Ascochyta rabiei* and its transmission in chickpea (*Cicer arietinum*). *Seed Sci. & Technol.*, Zurich, 3: 667-681, 1975.
- MARTIN, W.J.; NEWSON, L.D. & JONES, J.E. Relationship of nematodes to the development of *Fusarium* wilt in cotton. *Phytopathology*, Baltimore, 46: 285-289, 1956.

- MENTEN, J.O.M. Importância da sementes na transmissão de patógeno. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., Campinas, 1986. Campinas, Fundação Cargill, 1986. p.27-40.
- MOHAN, S.K. Seed transmission and epidemiology of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. Seed. Sci. & Technol., Zurich, 11: 819-865, 1983.
- NEAL, D.C. The reniform nematode on its relationship to the incidence of *Fusarium* wilt of cotton. Phytopathology, Baltimore, 44: 447-450. 1954.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London e Basingstoke, The Mac Millan Press, Ltd. 1979. V. I e II. 1187p.
- NUNES, JR., J. & MENTEN, J.O.M. Efeito da mancha púrpura na qualidade de sementes de soja (*Glycine max*) e na transmissão sistêmica de *Cercospora kikuchii*. II Simpósio Nacional de Pesquisa de Soja. Campinas-SP. 20-24/02/84. 7p. 1984 (em impressão).
- RAUT, J.G. Transmission of seed-borne *Macrophomina phaseolina* in sunflower. Seed Science and Technology, Zurich, 11(3): 807-814, 1983.
- SHETTY, H.S.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. *Sclerospora graminicola* in pearl millet seeds and its transmission. Trans. Br. Mycol. Soc., London, 74(1): 127-134, 1980.
- SINGH, D.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Histological studies of *Alternaria sesamicola* penetration in sesame seeds. Seed. Sci. & Technol., Zurich, 8: 85-93, 1980.
- SINGH, D.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Systemic seed Transmission of *Alternaria sesamicola* in *Sesamum indicum* Trans. Br. Mycol. Soc., London, 80(3): 570-572, 1983.
- TOLEDO, F.F. & MARCOS FILHO, P. Manual das sementes: tecnologia da produção. São Paulo, Ed. Agron. Ceres, 1977. 224 p.

CAPÍTULO VIII

MEDIDAS DE CONTROLE DAS DOENÇAS TRANSMITIDAS POR SEMENTES

Jaciro Soave ⁽¹⁾Sérgio Almeida de Moraes ⁽²⁾1 - INTRODUÇÃO

Controle é o emprego de medidas que procuram impedir ou diminuir a ocorrência ou a incidência de doenças visando evitar ou diminuir os prejuízos por elas causados.

A produtividade de uma cultura é uma função dependente de diversas variáveis, dentre elas o clima, variedade, solo, adubação, tratamentos culturais, pragas e doenças têm efeitos preponderantes. Cada variável pode agir como fator limitante, havendo a necessidade de se obter um equilíbrio entre elas.

Qualquer medida de controle para uma doença acarreta aumento no custo de produção, de modo que a decisão do uso de medidas eficientes é importante para o produtor.

Sabendo-se que doença é um processo resultante da interação do hospedeiro, patógeno e ambiente, há a necessidade de se conhecer muito bem cada um desses componentes para a escolha de um método eficiente de controle, que irá quebrar esse trinômio no seu ponto mais fraco.

No final da década de 20, Whetzel agrupou as medidas de controle das doenças em 4 princípios gerais: exclusão, erradicação, proteção e imunização.

⁽¹⁾ Engº Agrº, Dr., Pesquisador Científico, PqC-VI, Seção de Microbiologia Fitotécnica, Instituto Agronômico, Campinas, CPA/SA, Cx. Postal 28, 13020 Campinas - SP.

⁽²⁾ Engº Agrº, Dr., Pesquisador Científico, PqC-V, Seção de Microbiologia Fitotécnica, Instituto Agronômico, Campinas, CPA/SA, Cx. Postal 28, 13020 Campinas - SP

Hoje, inclui-se ainda, o princípio de terapia no que se chama Princípios de Whetzel.

Pela exclusão, procura-se evitar a entrada do patógeno numa área isenta. Como exemplo de exclusão, tem-se a Quarentena que, em âmbito internacional, é feita através de legislação fitossanitária estabelecida pelo governo, visando a fiscalização da entrada de plantas ou de material vegetal no país, incluindo-se as sementes. Essa fiscalização tem por objetivo impedir a introdução de patógenos exóticos no país, o que pode acarretar prejuízos desastrosos, visto que a população de hospedeiros que se desenvolve na ausência do patógeno pode sofrer seleção negativa, sendo, portanto, extremamente suscetível ao patógeno introduzido.

As medidas de Quarentena podem ter aplicação mais restrita, em caráter doméstico, dentro de um país. Desse modo, procura-se, pela exclusão, evitar que um patógeno de uma região do país se instale em outra região. Medidas nesse sentido, se fossem tomadas, evitariam que a marcha do algodoeiro, causada por *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum* fosse ocorrer em Goiás, onde não havia o patógeno. Hoje ocorre a doença devido a sementes adquiridas em São Paulo, onde o patógeno está bastante disseminado.

As medidas de exclusão podem ser aplicadas ainda em sentido mais restrito, pelo próprio produtor, quando usa sementes sadias. Esse é um dos campos mais críticos no Brasil. Se o país tivesse serviços de sementes certificadas visando sanidade, doenças como o cancro bacteriano do tomateiro e a antracnose do feijoeiro poderiam ser menos prejudiciais.

Com a erradicação, visa-se evitar o estabelecimento do patógeno já introduzido numa área. Em âmbito amplo, ela só é viável quando o patógeno tem baixa capacidade de disseminação, pequeno espectro de hospedeiros e se restringe a uma área geográfica insignificante. Geralmente, é regulamentada por legislação governamental específica.

Sob âmbito restrito, as medidas de erradicação incluem a eliminação de plantas ou partes vegetais doentes, eliminação de hospedeiros nativos, aração profunda do solo, destruição de restos de cultura, "roquiing", desinfestação ou limpeza do solo e tratamento de sementes.

Pela proteção, procura-se prevenir o contato do hospedeiro com o patógeno já estabelecido, evitando a penetração do patógeno.

A proteção de uma cultura comumente é feita pela aplicação de fungicidas, bactericidas, nematicidas e inseticidas (visando os vetores). A eficiência dessas medidas depende do produto protetor utilizado e da metodologia de

aplicação. O produto deve ser tóxico ao patógeno e possuir boa estabilidade no campo, sem causar danos à planta ou prejudicar o equilíbrio biológico. O método, a época e o número de aplicações também podem afetar a eficiência da medida de proteção. São as medidas que mais oneram o custo de produção, e geralmente, devem ser usadas em culturas de alta rentabilidade econômica e em cultivares melhoradas, que proporcionem alta resposta em produtividade.

Pela imunização, procura-se impedir o estabelecimento de relações parasíticas íntimas entre o patógeno e o hospedeiro.

A imunização de plantas consiste primordialmente na obtenção e uso de cultivares imunes, resistentes ou tolerantes ao patógeno. Essa medida de controle não onera diretamente o custo de produção, sendo a medida mais barata quando disponível ao produtor. Entretanto, pode implicar em diminuição da produtividade ou do valor comercial do produto.

Com o avanço dos estudos na área de imunização, hoje pode-se imunizar plantas através de substâncias químicas e de proteção cruzada ou pré-imunização.

Pela terapia, procura-se curar a planta doente, na qual ocorreu a relação parasítica íntima com o patógeno. Como exemplo de métodos terapêuticos ou curativos temos: cirurgia de lesões em tronco de árvores; eliminação de galhos doentes, uso de fungicidas sistêmicos e uso de fungicidas convencionais para oídios.

Posteriormente, foi sugerido o princípio da regulação, pelo qual se previne a doença através da manipulação do fator ambiente. Como exemplo de medidas de regulação temos o controle da temperatura, umidade e composição do ar, e controle das reações e fertilidade do solo.

Existem ainda medidas que não se enquadram corretamente nos princípios de Whetzel. Medidas como a escolha de áreas geográficas, local e época de plantio, profundidade de semeadura, espaçamento e uso de variedades precoces, se ajustam melhor no princípio de evasão ou fuga.

Pela evasão, procura-se fugir de áreas geográficas, locais e épocas em que o potencial de inóculo seja muito elevado, conduzindo-se a lavoura em condições em que o inóculo seja ineficiente, raro ou ausente.

Como exemplo de evasão, temos a produção de sementes de feijão em regiões áridas, com irrigação em sulcos, que vem sendo realizada nos Estados Unidos, para obtenção de sementes livres dos patógenos da antracnose e das bacterioses do feijoeiro.

Para se definir as medidas a serem utilizadas para o controle das doenças transmitidas por sementes, é necessário que se leve em consideração o

patógeno envolvido, o qual pode pertencer a uma das categorias epidemiológicas.

- a) Patógenos que dependem exclusivamente ou quase que exclusivamente da transmissão por sementes. Exemplos: fungos que causam os carvões e esporões em cereais e capins.
- b) Patógenos que são do solo ou de restos de cultura, para os quais a rotação de cultura é uma das medidas de controle indispensável. Exemplos: várias espécies de *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Septoria* que causam uma gama de doenças em muitas culturas, como podridões e crestamentos de plantas, podridões de colo e raízes, podridões de hastes e colmo, manchas foliares e podridões de frutos e sementes em muitas culturas.
- c) Patógenos cujo vetor desempenham um papel importante na disseminação. Exemplos: vírus do mosaico-da-alfaca e vírus do mosaico-comum-do-feijoeiro.
- d) Patógenos para os quais o vento é um fator importante na disseminação da sua forma perfeita. Exemplos: *Sclerotinia sclerotiorum*, em diversas culturas, e *Mycosphaerella pinodes*, em ervilha.
- e) Patógenos que dependem de ambiente propício para apresentarem uma alta taxa de aumento de infecção e que, embora sejam transmitidos por sementes, ocorrem com inóculo inicial baixíssimo. Exemplos: míldios e ferrugens, além de certas bactérias que produzem doenças em feijoeiro, algodoeiro e tomateiro.
- f) Patógenos que causam infecção sistêmica no hospedeiro e, frequentemente, não produzem sintomas. Exemplos: *Fusarium oxysporum* com suas "formas especiais" em diversas culturas, *Verticillium albo-atrum* em várias culturas e *Fusarium moniliforme* em arroz e milho.

No controle de doenças de plantas, cujos patógenos são transmitidos por sementes, geralmente, torna-se necessária a adoção de várias medidas. Ao uso consciente e racional de medidas de controle eficientes é que se denomina de controle integrado.

2 - QUARENTENA PARA SEMENTES

A semente é um dos veículos mais eficientes na disseminação de patógenos das culturas que alimentam a espécie humana, pois, qualquer microrganismo que sobreviva na semente, da colheita ao plantio seguinte, pode ser levado a qualquer parte do mundo, não havendo barreiras geográficas que o detenham. Isto é válido, também, para qualquer parte de uma planta utilizada na propagação vegetativa da mesma, mas as sementes oferecem um risco muito maior devido a

muitos fatores: a) são unidades pequenas e fáceis de manusear, sendo facilmente transportadas através dos continentes em envelopes e sua aparência sadia não revela os perigosos patógenos que podem conter; b) podem hospedar patógenos de grande longevidade e em tão baixos níveis de incidência que não são revelados por amostragem, embora esta seja representativa do lote - neste caso há a possibilidade dos testes de laboratórios utilizados não revelarem a presença do patógeno, tendo que se tomar outras medidas como inspeção de campo e testes de crescimento das plantas após a entrada da semente no país; c) na determinação de certos patógenos de sementes, são utilizados testes de laboratório, que requerem certas condições e pessoal treinado, ainda não disponíveis em muitos países.

2.1 - Disseminação internacional de patógenos através de sementes

Inúmeros são os exemplos de disseminação de patógenos, decorrente da importação e exportação de sementes. Citaremos apenas alguns:

Em 1942, a bactéria causadora do cancro-do-tomateiro (*Corynebacterium michiganense*) foi introduzida na Inglaterra através de sementes importadas dos Estados Unidos.

A bactéria causadora do crescimento da soja (*Pseudomonas glycinea*) foi introduzida na Escócia, em 1940, veiculada por sementes importadas da Suécia.

Outra bactéria bastante disseminada através da semente é a *Xanthomonas campestris*, causadora da podridão-negra das crucíferas. Foi encontrada nos Estados Unidos em vários lotes de sementes de crucíferas importados da Europa. Em 1961, essa bactéria causou grandes prejuízos em Portugal, atacando plantas de couve-flor oriundas de sementes provenientes da França. Recentemente, essa bactéria foi constatada na Índia causando sérios danos em couve-flor e outras crucíferas cujas sementes foram importadas principalmente da Holanda.

Em 1970, as bactérias causadoras do crestamento do feijoeiro (*Xanthomonas phaseoli*) e do crestamento fosco (*Xanthomonas phaseoli* var. *fusca*) foram introduzidas na Nova Zelândia através de sementes importadas da Holanda.

O fungo *Ustilago tritici*, causador do carvão-do-trigo, foi constatado pela primeira vez no Laos, em culturas provenientes de sementes de Israel.

Em 1924, o fungo *Urocystis cepulae*, causador do carvão-da-cebola, foi introduzido na Suíça através de sementes da França.

Durante a segunda Guerra Mundial, foram introduzidos nos Estados Uni-

dos, através de sementes, os fungos *Bettrytis ricini*, causador do mofo da mamoneira e *Sclerotium oryzae*, sério patógeno do arroz.

A doença denominada mancha zonada da folha do sorgo, causada por *Gloeosporospora sorghi*, foi observada pela primeira vez na Venezuela, em 1949, em cultura de sorgo proveniente de sementes importadas dos Estados Unidos.

O vírus do mosaico-da-abóbora foi introduzido nos Estados Unidos através de sementes provenientes do Irã e lá se disseminou veiculado pelo besouro do pepino. O patógeno foi erradicado após vários anos de intensivo trabalho e hoje é produzida semente livre do vírus.

2.2 - Princípios para estabelecer medidas de quarentena

Muitos países não levam em consideração, nos regulamentos de importação, os patógenos que podem ser transmitidos por sementes. As razões para esse descaso são muitas. Uma delas é a dificuldade de se detectar inóculo de semente que não pode ser revelado pela simples inspeção da semente seca a olho nu ou com auxílio de uma lupa. Outra é o lento desenvolvimento de métodos rotineiros de sanidade de sementes que começaram a ser padronizados internacionalmente somente nos últimos 25 anos. Para muitos patógenos importantes transmitidos por sementes, ainda não existem testes de rotina de laboratório que possam detectá-los. Certos patógenos podem ainda ocorrer em porcentagens de incidência tão baixas que a amostragem comumente utilizada pode não ser eficiente. As doenças causadas por tais patógenos podem ser de grande importância, sendo necessárias precauções especiais de quarentena, como acontece com míldios, certas viroses e bacterioses. Entretanto, normalmente não são considerados de modo especial. As diretrizes seguidas por muitos países para estabelecer medidas de quarentena não são precisas, não estabelecendo especificações de patógenos e métodos a serem utilizados para detectá-los, exigindo-se, simplesmente, um certificado Internacional de Sanidade de Semente, sem nenhuma orientação ao país exportador.

Para se estabelecer medidas de quarentena para sementes, deve-se, em primeiro lugar, levar em consideração três categorias de patógenos:

Categoria A - Patógenos que desenvolvem alta taxa epidemiológica. São perigosos e não ocorrem no país importador mas, uma vez introduzidos, podem se disseminar rapidamente. Nesta categoria, estão certos fungos causadores de míldio, de ferrugem, muitas bactérias inclusive algumas causadoras de mur-

cha. Neste caso, o problema de raças patogênicas dos microrganismos deve ser levado em consideração pelo país importador.

Muitos patógenos dessa categoria podem estar presentes em quantidades ínfimas no lote de semente. Por esse motivo, a amostragem e os testes de laboratório são ineficientes e o país importador deve assegurar-se de que o referido patógeno não ocorre no país exportador ou, quando possível, na região onde as sementes do lote foram produzidas. Quando houver a necessidade especial de aceitar pequenos lotes de sementes com provável presença de patógenos dessa categoria, deve ser feita inspeção pós-entrada do material através de plantio das sementes em casa de vegetação exclusiva para quarentena, convenientemente equipada para evitar que contamine o exterior.

Categoria B - Patógenos que desenvolvem uma moderada taxa epidemiológica e que têm distribuição restrita no país importador. Para esta categoria, pode ser aceita a amostragem do lote e inspeção da amostra através de testes de laboratório, geralmente, utilizando-se métodos de incubação das sementes. O teste a ser utilizado deve ser estipulado pelo país importador.

Categoria C - Patógenos de importância apenas no valor cultural da semente. Esta categoria de patógenos não é realmente objetivo de medidas de quarentena, sendo suficiente exigir um Certificado Internacional Laranja, estipulado pelo International Seed Testing Association (ISTA), e o país importador deve estabelecer os patógenos e os métodos para detecção dos mesmos.

As medidas de quarentena, em resumo, podem incluir os tópicos a seguir:

- a. Especificação de patógenos e procedimentos de inspeção.
- b. Controle de exportação.
 - b.1. certificado de isenção do patógeno no país ou na área de produção da semente. Exige-se o Certificado Internacional de Sanidade de Semente, também chamado de Certificado de Roma;
 - b.2. inspeção de campo na cultura produtora de semente para assegurar a ausência de infecção ou seguir os padrões de tolerância especificados pelo país importador. Exige-se, também, o Certificado Internacional de Sanidade de Semente;
 - b.3. inspeção do lote de semente tirando-se amostras representativas e testando-as de acordo com procedimento-padrões estabelecidos pelo importador. Neste caso, exige-se, também, o Certificado Internacional de Sanidade de Semente;
 - b.4. tratamento de semente. Deve ser feito sempre que viável e nunca deve

ser considerado como uma medida de segurança absoluta. Todo lote tratado deve ser acompanhado de Certificado de Sanidade, especificando-se o tratamento feito.

c. Controle de Importação:

- c.1. embargo - proibição total de importação de certas sementes ou restrição de importação sob emissão de uma permissão de importação;
- c.2. inspeção do lote de semente através de amostras representativas e testes padrões em laboratório;
- c.3. testes de pós-entrada de pequenos lotes de semente de grande importância, através do cultivo das plantas provenientes das sementes importadas em casa de vegetação. As sementes assim produzidas devem ser testadas novamente em laboratório e casa de vegetação. Após a liberação dessa geração de sementes, a cultura no campo deve ainda ser inspecionada para segurança da inexistência de patógenos.

As medidas de quarentena podem ser divididas em dois grupos:

- a. Controle pré-entrada da semente;
- b. Controle pós-entrada da semente.

Dentre as medidas de controle pré-entrada existem:

- a.1 importação de sementes de áreas livres do patógeno;
- a.2 inspeção de campo no país exportador;
- a.3 testes de laboratório no país exportador;
- a.4 tratamentos de sementes.

O controle pós-entrada compreende as seguintes medidas:

- b.1. quarentena fechada e produção de sementes livres do patógeno;
- b.2. testes de laboratório no país importador;
- b.3. inspeção de campo no país importador.

2.3 - Sucesso do trabalho de quarentena em diversos países

As medidas de quarentena, quando aplicadas corretamente, produzem excelentes resultados, como comprovam os numerosos exemplos de impedimento da entrada de perigosos patógenos em países onde os mesmos ainda não ocorriam.

Em 1969, o Brasil importou de Formosa uma nova variedade de arroz que foi plantada no Vale do Paraíba-SP, numa área de 5,5ha. As plantas mostraram sintomas de "bakanae" (*Fusarium moniliforme*). O nosso Serviço de Defesa Fitossanitária erradicou a cultura e deixou a área sob quarentena por cinco anos, não permitindo o cultivo ou o crescimento de gramíneas. Essas medidas possibi-

litaram a eliminação do patógeno.

Países como a Índia, Estados Unidos, Israel e Nova Zelândia, entre outros, têm mostrado muita eficiência em suas estações de quarentena.

A Índia, através de sua estação de quarentena em Madras, impediu a entrada no país dos fungos *Botryodiplodia theobromae* e *Phomopsis heveae*, causadores de doenças em seringueira, e que estavam presentes em sementes importadas da Malásia.

Nos laboratórios do Instituto Indiano de Pesquisa Agrícola, de Nova Delhi, foram interceptados importantes patógenos de soja, como *Colletotrichum dematium*, em sementes provenientes de Formosa, e *Myrothecium roridum*, em sementes vindas dos Estados Unidos. Interceptaram, ainda, o nematóide *Aphelenchoides besseyi* em sementes de arroz importadas das Filipinas.

De 1959 a 1970, o Serviço de Quarentena de Israel rejeitou cerca de 35 lotes de sementes que possuíam Certificado Internacional de Sanidade dos quais foram detectados patógenos que não existiam no país. Dentre os patógenos detectados havia: *Helminthosporium victoriae* em sementes de aveia e *Diplodia maydis* em sementes de milho, ambas provenientes dos Estados Unidos; *Colletotrichum gossypii* e *Xanthomonas malvacearum* em lotes de sementes de algodão, também provenientes dos Estados Unidos.

Na Nova Zelândia, foi interceptada a raça T de *Helminthosporium maydis*, em dois pequenos pacotes de pipoca vindos dos Estados Unidos.

A Estação Regional Central de Introdução de Plantas em Ames, Iowa, Estados Unidos, em relatório apresentado em 1962, mostrou a interceptação, através de inspeção de campo pós-entrada, de muitos patógenos e raças patogênicas de três espécies de fungos, todos inexistentes nos Estados Unidos. Ao todo, interceptaram: um patógeno introduzido do Afeganistão, três da Etiópia, um da China, três da Europa, dois da Índia, dois do Paquistão e dois da Turquia.

Esses exemplos esclarecem bastante a importância da Patologia de Sementes, contribuindo para a não disseminação de patógenos de um país a outro ou de uma para outra região do mesmo país, atuando no controle de doenças pela exclusão, que é um dos métodos mais econômicos, não permitindo a presença do patógeno junto ao hospedeiro.

2.4 - Certificados de sanidade para sementes

Existem dois certificados internacionais que podem ser utilizados para a documentação do estado sanitário de um lote de semente: a) Certificado Laranja da "International Seed Testing Association" e b) Certificado Fitossanitário Modelo FAO, também chamado Certificado de Roma.

O Certificado Laranja é um certificado padrão internacional usado para certificação da qualidade do lote de semente que se destina ao comércio internacional de semente. A emissão desse certificado se restringe aos laboratórios oficiais filiados à ISTA e é baseada em análises de uma amostra representativa do lote de semente, de acordo com as prescrições das Regras Internacionais para análise de sementes. As sementes são testadas para germinação, pureza, unidade e identidade genética. Raramente, são testadas para sanidade. Na verdade, somente são realizados testes sanitários detalhados quando solicitados pelo proprietário da semente. Desse modo, o lote pode ser classificado como de excelente qualidade e as sementes podem abrigar patógenos perigosos.

O Certificado de Roma é um certificado fitossanitário específico para quarentena, criado pela Convenção de Proteção de Planta realizada em 1951, em Roma. No Brasil, é emitido pelo Serviço de Defesa Sanitária Vegetal do Ministério da Agricultura. Este certificado diz claramente que o lote de semente se encontra praticamente livre de doenças e pragas nocivas e que está de acordo com a legislação fitossanitária do país importador. É evidente que o valor desse documento depende dos testes sanitários utilizados para a análise das sementes.

A legislação brasileira sobre quarentena de germoplasma se baseia no Decreto-Lei nº 24.114 de 12/04/34 e nas portarias complementares.

Os trabalhos de quarentena de material vegetal tanto de importação como de exportação, além da emissão de Certificado Fitossanitário, estão afetos ao Serviço de Defesa Sanitária Vegetal do Ministério da Agricultura, através das Delegacias Federais de Agricultura nos Estados ou através de outras entidades que tiveram delegação de poder para tal.

As portarias 224 e 1.111 do Ministério da Agricultura autorizaram o Centro Nacional de Recursos Genéticos, da EMBRAPA, a proceder a importação de germoplasma e a adotar as medidas de inspeção e quarentena.

3 - PRODUÇÃO DE SEMENTES LIVRES DE PATÓGENOS

A produção e o uso de sementes de boa qualidade sanitária são medidas muito eficientes para controle de: a) doenças causadas por microrganismos transmitidos por sementes; b) doenças causadas por microrganismos de solo, que podem, também, ser transmitidas por sementes.

Por outro lado, num esquema de produção de sementes, visando, também, sanidade, deve-se impor maior rigidez no controle dos campos de produção, nas medidas de controle das doenças e nas análises sanitárias de laboratório, nas fases iniciais de multiplicação da semente, que correspondem à semente genética e básica. Nessas fases, os lotes de sementes são menores, permitindo maiores cuidados e medidas mais rigorosas, sem onerar muito o sistema de produção.

Na produção de sementes livres de patógenos, abordaremos os cuidados mais importantes relacionados com a produção e o uso de sementes sadias.

3.1 - Localização de áreas apropriadas à produção de sementes

Clima e solo

A escolha de áreas apropriadas à produção de sementes sadias é baseada no fato de existir grande variabilidade de clima e de solo na planta. Como o nosso país possui grande dimensão, nele encontramos os mais variados tipos de solo e os mais diversos climas.

O solo deve ser escolhido quanto às suas características topográficas, propriedades físicas e químicas e fertilidade próprias à cultura que se deseja instalar. Não se pode esquecer que o solo pode estar contaminado com microrganismos que causam doenças na cultura e que podem ser transmitidos pelas sementes produzidas. É o caso das marchas-do-algodoeiro causadas por *Fusarium oxysporum* e *Verticillium albo-atrum*. Os campos de produção de semente de algodoeiro não devem ser localizados em solos infestados pelos agentes causadores das marchas porque, mesmo que esteja sendo cultivada uma variedade tolerante ao problema, suas sementes podem portar os fungos que, levados a uma área nova para a cultura, inoculariam o solo dessa nova região. Sabe-se que a sobrevivência desses fungos, tanto na semente como no solo, é bastante longa.

Solos de baixada, áreas com depressões e solos ácidos devem ser evitados para a produção de sementes sadias porque favorecem o desenvolvimento de doenças fúngicas causadas por *Claviceps purpurea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia trifoliorum* e *Colletotrichum lindemuthianum*, e de doenças bacterianas

causadas por *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*.

A correlação entre a constituição física do solo (limo, areia e argila) com a incidência de doenças é bastante controversa. Os resultados contraditórios obtidos até agora sugerem que a incidência de doenças deve estar relacionada com outros fatores edáficos mais importantes.

O clima pode interferir no desenvolvimento de uma planta, nos microrganismos causadores de doenças, como também no processo da doença.

As sementes são produzidas normalmente na região onde a variedade foi criada ou onde ela é cultivada em grande escala visando boas condições para o desenvolvimento da planta, embora, às vezes, deva-se fugir dessas regiões onde a concentração de inóculo de um patógeno pode ser elevada.

Muitas vezes, a espécie não produz sementes na região onde a variedade foi selecionada para plantio. Nesse caso, a área de produção de semente possui clima diferente da região onde a variedade será cultivada comercialmente e poderá possuir patógenos aos quais o material seja suscetível. As sementes produzidas nessas circunstâncias poderão introduzir patógenos em áreas de cultivo comercial.

Todas as regiões que apresentem fatores climáticos extremos, mesmo por curto período de tempo, como temperatura excessivamente alta ou baixa, falta ou excesso de chuvas, ventos exagerados, alta insolação ou excesso de nebulosidade e alta umidade relativa do ar devem ser evitados para localizar campos de produção de sementes.

Quanto à relação das doenças com fatores climáticos, sabe-se que os crestamentos de folhas, as manchas foliares, podridões de colmos e podridões de raízes podem causar problemas sérios a várias culturas em condições de muita umidade.

Em trabalhos realizados no Sudão, Tarr (1955) relacionou a severidade das doenças mais importantes com a ocorrência regional de chuvas. Assim, conclui que poucos patógenos transmitidos por sementes estão presentes em regiões áridas ou semi-áridas e, por outro lado, eles ocorrem abundantemente em regiões úmidas. Conclui, ainda, que os oídios ocorrem em áreas de pouca chuva e não ocorrem em áreas de alta pluviosidade. Doenças causadas por *Cercospora* e *Alternaria* ocorrem com intensidade nas regiões chuvosas, enquanto condições de baixa pluviosidade não favorecem o seu desenvolvimento. Já os carvões pouco dependem da umidade, porque causam infecção sistêmica, estando bem protegido no interior da planta. As marchas de *Fusarium* e de *Verticillium*, sendo também

doenças sistêmicas, são comuns em condições de clima seco. Condições de alto nível de umidade favorecem às infecções do parênquima como é o caso dos crescimentos, manchas e lesões foliares e míldios.

De modo geral, em clima semi-árido, existem menos condições para ocorrer doenças nas plantas e, conseqüentemente, suas sementes são menos infectadas ou contaminadas, resultando, tanto em porcentagens menores de lotes infectados, como em menores porcentagens médias de infecção nos lotes.

Existe indicação de que a umidade é mais importante que a temperatura para determinar a distribuição e a severidade de doenças, como foi mostrado por Frederiksen (1974), trabalhando com doenças do sorgo.

Também, de modo geral, as sementes colhidas em anos excessivamente chuvosos são mais infectados por patógenos que as colhidas em anos mais secos, conforme demonstram trabalhos desenvolvidos na Suécia, durante 23 anos.

Antes de 1925, a produção de sementes de feijoeiro nos Estados Unidos era localizada na região nordeste (Nova Iorque e Michigan) e a antracnose, causada pelo *Colletotrichum lindemuthianum*, além do cretamento bacteriano causada pela *Xanthomonas phaseoli* eram altamente disseminadas e destrutivas. Hoje, a produção de sementes de feijoeiro daquele país está localizada na região sudoeste (Idaho e Califórnia), onde as condições semi-áridas levaram à produção de sementes livres dos citados patógenos que, agora, estão sob controle.

Nem sempre a produção de sementes em regiões áridas ou semi-áridas dão a garantia de que os lotes não estejam infectados. Eles podem estar infectados, porém com baixos níveis de incidência de patógenos. Isto foi demonstrado por Leach (1960), no Estado de Oregon, nos Estados Unidos.

Áreas de baixada de um campo, onde ocorre orvalho por longo período pela manhã, favorecem a incidência e a severidade do cretamento bacteriano do feijão-branco, causado por *Xanthomonas phaseoli*, e da brusone do arroz, causada por *Pyricularia oryzae*.

As áreas com ventos moderados devem ser preferidas para produção de sementes porque a ventilação do campo reduz a umidade relativa do ar e, conseqüentemente, diminui a incidência e a severidade de muitas doenças foliares.

Rotação de culturas e descanso de áreas

Para produção de semente procura-se sempre instalar o campo em áreas ainda não cultivadas, evitando-se, desse modo, os solos já desgastados e contaminados com patógenos existentes em áreas velhas de cultivo.

Quando isso não é possível e o campo de produção de semente tem que

ser instalado em áreas de cultivo intensivo, a rotação de cultura pode ser uma medida adequada para o controle de muitas doenças transmitidas por sementes.

Muitos fungos, bactérias e nematóides importantes em sementes ou são habitantes ou invasores do solo. Contra os microrganismos habitantes do solo, como *Rhizoctonia solani* e algumas espécies de *Fusarium*, a rotação de cultura é uma medida inadequada. Os invasores do solo, como outras espécies de *Fusarium*, *Phoma lingam*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e *Pseudomonas phaseolicola*, sobrevivem no solo por tempo menor que os habitantes de solo, e o fazem através de estruturas de resistência ou através de saprofitismo. Contra estes microrganismos, a rotação de cultura é uma medida eficiente.

Para se fazer rotação de cultura é imprescindível o conhecimento das espécies e variedades cultivadas nos anos anteriormente. Quando isso não for possível, deve-se saber, pelo menos, qual foi a cultura anterior.

Nunca se deve plantar a mesma espécie dois anos consecutivos na mesma área. Assim, um campo para produzir sementes da maioria das gramíneas necessita, no mínimo, de um ano de descanso ou rotação. Quando se instala um campo para produção de semente de feijão, o terreno não deve ter sido cultivado no ano anterior, pelos menos, com essa leguminosa. As sementes da cultura anterior, que caem no solo, dão origem a plantas voluntárias que causarão mistura varietal e disseminação de doenças, devido ao aumento do potencial de inóculo no solo e nos restos da cultura.

Uma prática relacionada e bastante recomendada aos produtores de sementes é o cultivo de somente uma variedade na sua propriedade, não se aconselhando a produção de sementes em cultura consorciada.

Em regiões de clima temperado, onde as condições de inverno são rigorosas, os microrganismos invasores de solo sobrevivem por dois ou três anos, de modo que a rotação de cultura ou o descanso da área por três e quatro anos oferece segurança suficiente, porque a neve e o gelo eliminam os hospedeiros facultativos durante grande parte do ano.

Já em regiões tropicais e equatoriais, a vegetação espontânea de invasores e plantas voluntárias do último cultivo persistem durante o ano todo, hospedando patógenos, de modo que a rotação de cultura ou o descanso da área precisa ser por período de tempo maior. Quase não existe estudo nesse sentido para recomendações de descanso de áreas tropicais.

Para regiões de clima temperado, existem algumas recomendações. Chupp & Sherf (1960) indicam rotação de, pelo menos, quatro anos, como eficiente pa-

ra reduzir o inóculo de *Phoma lingam*, enquanto Shaad e White mostram que rotação por dois anos sem plantio de crucíferas é eficiente contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

São recomendadas rotações ou pousio de áreas de três a quatro anos para controle de *Xanthomonas carotae*, em cenoura; de três anos para *Phomopsis vexans*, em beringela; e *Colletotrichum lindemuthianum*, em feijão. São recomendadas, ainda, rotações de quatro anos ou mais para *Septoria lactucae*, em alface, para *Septoria lycopersici*, em tomate, para *Septoria pisi* e para o complexo *Ascochyta*, em ervilha.

Certos patógenos sobrevivem no solo mais facilmente e o período de tempo sem a cultura hospedeira deve ser maior. Assim, para ser uma medida eficiente de controle do nematóide *Ditylenchus dipsaci*, a ausência de hospedeiro tem que ser de oito anos ou mais. Para diminuir o inóculo de espécies de *Fusarium* que causam doenças em gramináceas, é necessária rotação por quatro anos, assim como para *Claviceps purpurea*. Para *Fusarium oxysporum* f. sp. *liri* são necessários cinco anos, para *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* necessitam-se de seis anos, para *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* são necessários seis anos ou mais.

A rotação de cultura é eficiente, também para diminuir o inóculo dos seguintes patógenos: *Colletotrichum gossypii* e *Ascochyta gossypii*, em algodão; *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pseudomonas pisi* e *Mycosphaerella pinodes*, em ervilha; *Alternaria porri* f. sp. *solani*, em batata e tomate; *Alternaria porri* f. sp. *dauci*, em cenoura; *Rhynchosporium oryzae*, em arroz; *Rhizoctonia solani*, em diversas culturas, e *Fusarium graminearum*, em trigo.

Embora os exemplos citados sejam de países de clima temperado, como existe muito pouca pesquisa sobre rotação de cultura visando o controle de doenças, os dados apresentados não devem ser encarados como recomendações, e sim, como referências aos trabalhos brasileiros.

A mesma escassez de pesquisa não permite a indicação de culturas que devam fazer parte da rotação. Há casos em que, mesmo espécies de famílias diferentes hospedam um patógeno e permitem a sua multiplicação e, conseqüentemente, o aumento do potencial de inóculo, sem mostrar sintomas.

Conclui-se que devam ser escolhidas áreas não cultivadas por longo período para se instalar campos de produção de sementes, embora as plantas silvestres de uma área possam hospedar patógenos e em condições tropicais elas vegetem o ano inteiro.

Isolamento do campo

Sob o ponto de vista sanitário, o isolamento do campo de produção de sementes deve ser considerado quanto a outros campos de sementes, campos de culturas comerciais e também quanto a plantas silvestres e invasoras.

Essa medida é muito importante, tanto que é prescrita através de legislação governamental de países ou estados que possuem esquema de produção de sementes.

As recomendações de isolamento são mais baseadas em pesquisas para produção de sementes com alta pureza do que visando a sanidade de sementes.

A Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo recomenda o isolamento por uma distância mínima de 450m, para sementes básicas. Para outras classes de sementes, a distância exigida é menor. No caso de plantas auto-polinizadas, como trigo, arroz, cevada, soja, aveia, feijão, etc., o isolamento necessário entre campos da mesma espécie é menor, variando de 5m para amendoim, arroz, trigo e soja até 50m para feijão. Já para as plantas de polinização cruzada, essa distância é bem maior, como 200m para milho híbrido, 500m para centeio e 1.000m para quiabo.

Sabe-se que essas exigências não são suficientes quando se visa a sanidade das sementes e que, muitas vezes, o isolamento do campo não é uma medida eficiente no controle de doenças, principalmente quando se refere a doenças causadas de vírus transmitidos por insetos vetores.

O isolamento do campo de semente de cevada de outro campo da mesma espécie, por uma distância de 50 a 100m mostrou-se uma medida eficiente no Canadá e na Alemanha Oriental, para a produção de sementes de cevada livres do carvão causado por *Ustilago nuda*.

Para doenças causadas por vírus, para as quais os insetos vetores são importantes na transmissão, é difícil de se estabelecer a distância mínima de isolamento. Na Inglaterra, campos de alface, plantados ao lado de campos mais velhos infectados pelo mosaico-da-alface, apresentaram 60% de plantas atacadas, enquanto campos isolados por uma distância de 700-800m apresentaram só 3% de plantas com o mosaico.

Para casos como este, a medida de controle mais eficiente seria a localização do campo de semente fora da região de produção comercial da cultura, em áreas onde a população dos insetos fosse mais baixa.

3.2 - Instalação e condução da cultura

Todas as práticas culturais que visem o bom desenvolvimento e produção da cultura podem ser consideradas, também, como medidas sanitárias, porque, de modo geral, a planta vigorosa e bem nutrida apresenta maior resistência aos agentes patogênicos, que a planta debilitada devido à concorrência em luz e nutrientes, além de outras causas.

Correções do solo

A reação de pH do solo pode ter influência na ocorrência e intensidade de certas doenças. Desse modo, as marchas de algodoeiro, ervilha, tomate, soja e outras culturas, causadas por diferentes raças patogênicas de *Fusarium oxysporum*, são favorecidas em condições de solos ácidos e, muitas vezes, controladas em solos de reação alcalina. Por outro lado, as marchas do algodoeiro, tomate, além de outras culturas, causadas por *Verticillium albo-atrum*, são favorecidas por solos levemente alcalinos (pH 7,5) e seus prejuízos podem ser diminuídos, ajustando-se o pH a 7,0.

Em certos lugares, são recomendadas medidas de controle visando diminuir o inóculo do solo. No norte da Europa, recomenda-se queimar a palha e os restos de culturas de cereais colhidos com combinadas, para baixar o potencial de inóculo de *Fusarium* spp. que causam podridões de raízes, ainda que se tenha dúvida quanto à eficiência dessa medida. Nos Estados Unidos, existem recomendações de distribuição e queima de restos de cultura de cavada forrageira, para controle do nematóide de semente *Anguina agrostis*, do fungo *Gloeotinia tremulenta*, causador da doença denominada "blind seed" e do esporão causado por *Claviceps purpurea*. Nesse caso, existe citação de sucesso do uso da prática no controle dessas doenças.

Outras medidas de controle para diminuição do inóculo do solo são recomendadas somente para áreas de cultivo intensivo ou viveiros, e para produção de sementes genéticas, devido a seu alto custo, em grandes áreas. Consistem na desinfestação ou esterilização de solo através de processos físicos ou químicos. Os processos físicos consistem na esterilização do solo através de a) calor úmido em autoclaves, para uso em casa de vegetação; b) calor úmido em campo, cobrindo o solo com plástico preto durante certo período de grande insolação; c) calor úmido ou seco, revolvendo o solo diversas vezes durante certo período de tempo, expondo as camadas inferiores do solo aos raios solares.

Os processos químicos consistem no tratamento do solo com fungicidas

ou nematicidas específicos ou com produtos fumigantes do solo.

A prática de irrigação do solo pode controlar algumas doenças, quando é executada logo após o plantio do campo.

Muitas vezes, a adubação tem importante efeito na incidência e severidade de doenças, podendo predispor a planta à colonização por agentes patogênicos. A adubação de um campo de semente deve ser equilibrada, baseando-se nas necessidades da cultura e na análise química do solo.

Sabe-se que a mancha parda do arroz causada por *Helminthosporium oryzae* ocorre de forma severa em condições de falta ou excesso de adubação. A brusone do arroz, causada por *Pyricularia oryzae*, é mais severa em lavouras que tenham sido adubadas com excesso de nitrogênio. A murcha do algodoeiro causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* é mais severa em solos com deficiência de potássio.

A severidade de muitas doenças depende da dose de nitrogênio aplicado. Desse modo, a mancha da folha do milho, causada por *Helminthosporium turcicum*, a podridão do colmo do milho, causada por *Fusarium moniliforme*, a murcha do tomateiro, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, a murcha do algodoeiro, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, a murcha da ervilha causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, a podridão de raízes do feijoeiro, causada por *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e a brusone do arroz são doenças cuja incidência e severidade são maiores quando se usa nitrogênio na forma amoniacal, diminuindo a sua severidade, quando se usa nitrogênio na forma de nitrato.

Por outro lado, as podridões do fruto e das raízes do tomateiro, causadas por *Colletotrichum gloeosporioides*, o cancro bacteriano do tomateiro, causado por *Corynebacterium michiganense*, a podridão do colmo do milho, causada por *Diplodia zeae* e a murcha do tomateiro, causada por *Verticillium albo-atrum* são doenças, cujos prejuízos são maiores, quando se utiliza nitrogênio na forma de nitrato, podendo ter seus danos diminuídos quando se utiliza adubação com nitrogênio amoniacal.

Época e técnicas de plantio

Para o plantio de campo de produção de sementes, devem ser usadas sementes certificadas e de sanidade comprovada através de análises patológicas, principalmente em campos de sementes genéticas e básicas. Essas sementes devem, ainda, ser tratadas física ou quimicamente, para evitar infecções ou contaminações não detectadas.

Quando, para produção de semente, há necessidade do plantio de raízes ou tubérculos, deve-se estocar esses órgãos em câmaras frigoríficas à baixa temperatura (alguns graus acima do congelamento do material) e baixa umidade, além de selecioná-los e desinfetá-los antes do armazenamento e antes do plantio. Patógenos, como *Phoma rostrupii* e *Alternaria radicina*, em cenoura, e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, em crucíferas, podem causar danos sérios ao campo de produção, se tais medidas não forem tomadas.

Como a estrutura do solo é importante para o desenvolvimento de plantas vigorosas, o preparo do solo deve ser feito cuidadosamente com arações e gradagens apropriadas à conservação do solo. Sabe-se que a incidência de *Helminthosporium sativum*, causando crestamento e redução de crescimento da cevada, é maior em solos compactos que em solos aerados. A aração profunda, expondo aos raios solares as camadas de solo até 40cm, pode oferecer um razoável controle de *Fusarium albo-atrum*, em algodoeiro.

O plantio em época adequada é uma medida eficiente de controle de muitas doenças e baseia-se no princípio de fuga. Para a severidade dos carvões que infectam o embrião não foram encontradas diferenças quanto à época de plantio da cevada e do trigo. Parece que, para essas doenças, a época de plantio não afeta a incidência dos respectivos patógenos.

De modo geral, o plantio logo no início da estação de cultivo da maioria das culturas é recomendado para se evitar as altas concentrações de inoculo de muitos patógenos da parte aérea que ocorrem no fim da estação. Desse modo, os plantios tardios dão origem a campos mais sujeitos à severidade das doenças da parte aérea de muitas culturas.

Em certos casos, o plantio tardio leva à produção de sementes de melhor qualidade sanitária. Isto foi demonstrado para a soja, na Índia, onde o plantio tardio diminui a incidência de sementes manchadas e a incidência de *Colletotrichum dematium* f. sp. *truncata*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Cercospora* e *Fusarium*, na cultura e nas sementes dela oriundas.

A profundidade de plantio exerce influência semelhante, na germinação e no desenvolvimento da plântula, àquela exercida pela época de plantio. A escolha da profundidade certa de plantio depende de fatores como o tamanho da semente, a época de semeadura e o tipo de solo. Para sementes pequenas e solos pesados, deve-se usar plantio raso. Plantio em época muito chuvosa deve ser mais profundo.

O plantio raso proporciona rápido crescimento e plantas mais vigorosas.

sas, encurtando a fase suscetível a muitas doenças. Normalmente, o plantio muito profundo dificulta a germinação e expõe a plântula por mais tempo aos agentes causadores do tombamento.

Já foi demonstrado o efeito da profundidade de plantio na incidência de muitas doenças. Plantios profundos aumentam a incidência de cáries e carvões dos cereais, dos tipos que infectam a plântula. Por outro lado, plantios profundos diminuem a incidência da cárie do trigo causada por *Tilletia contraversa*.

O crescimento de plântulas de aveia, causado por *Fusarium nivale* e *Fusarium culmorum*, tem sua incidência aumentada pelo plantio profundo, do mesmo modo que a incidência da estria da folha da cevada causada por *Helminthosporium gramineum* e a incidência da podridão de raízes do trigo causada por *Helminthosporium sativum* e espécie de *Fusarium*.

A densidade de semeadura pode ser outro fator importante para controlar a incidência de muitas doenças. Normalmente, o plantio denso em canteiros aumenta a incidência de tombamento de plântulas e isso pode acontecer devido à densa população de plantas que reduz a evaporação de água do solo, causando condições favoráveis ao desenvolvimento e disseminação dos patógenos.

A alta densidade de plantio além de aumentar o número de plântulas expostas à infecção diminui a distância entre elas, facilitando a disseminação do patógeno de uma plântula para outra.

Mesmo para doenças da parte aérea, a alta densidade de plantio dá origem a uma densa população de plantas, ocasionando um microclima propício ao desenvolvimento e disseminação de muitos patógenos foliares.

Essa densa população de plantas está diretamente ligada à ventilação da lavoura, que auxilia muito na diminuição da umidade relativa do ar, reduzindo, de modo geral, as condições para desenvolvimento dos patógenos e da evolução das doenças.

Medidas de higiene

O transplante de plântulas do canteiro para o campo é uma prática cujas vantagens e desvantagens precisam ser bem pensadas para muitas culturas.

Quando plântulas infectadas no canteiro são levadas ao campo seguramente haverá grande aumento do potencial de inóculo. Por isso, todo canteiro precisa ser eficientemente inspecionado, eliminando-se as plantas doentes ou eliminando-se o canteiro inteiro.

Foi demonstrado na Rússia que o transplante do tomateiro aumenta a

incidência do vírus do mosaico do fumo de 10 a 15 vezes, e que o cultivo sem o transplante aumenta a colheita em 19%, melhorando a qualidade dos frutos.

Normalmente, a utilização de canteiros para transplante implica a utilização de medidas de proteção com o uso de fungicidas, bactericidas, nematocidas ou inseticidas contra vetores de vírus, encarecendo mais o custo de produção.

Todas as práticas agrícolas, como o preparo do solo, adubação, plantio, desbaste, transplante, etc., e, tratos culturais, como capinas, aplicação de defensivos agrícolas, estaqueamento, desbrota, etc., podem ser eficientes meios para a disseminação de patógenos perigosos, através da própria mão do homem ou de seus equipamentos.

Desse modo, a antracnose e o crescimento bacteriano do feijoeiro são doenças que podem ser disseminadas facilmente de uma cultura por outra ou dentro da mesma cultura, no cultivo das águas.

A septoriose e a mancha de *Alternaria porri* f. sp. *solani* podem ser disseminadas em lavouras de tomate pelas mãos e roupas dos trabalhadores.

Muitos vírus também são disseminados pela mão do homem. Medidas de desinfecção das mãos e instrumentos de desbrota, poda e enxertia, de uso no campo, são eficientes para controle de inúmeras doenças causadas por vírus, cuja transmissão ocorre principalmente por meios mecânicos. Como exemplos, pode-se citar o vírus do mosaico-do-fumo (TMV), que pode se disseminar na cultura do fumo através do operador, durante a desbrota e estaqueamento.

Apesar de serem tomadas as medidas de controle de caráter preventivo adequadas, podem ocorrer doenças no campo de produção de semente, que necessitam do uso de fungicidas. Caso isso ocorra, as pulverizações deverão ser efetuadas conforme as prescrições de técnicos especializados, atendendo aos dados do registro dos produtos pelos fabricantes junto ao Ministério da Agricultura, bem como as precauções para seu manuseio, evitando contaminações do homem e do meio ambiente.

As recomendações de princípios ativos ou de produtos comerciais podem ser baseadas em publicações já existentes em nosso meio como A.B.E.T.A. (1974), COMPÊNDIO de defensivos agrícolas (1985), CARDOSO et al., (1976), CARDOSO et al., (1979), GALLI et al., (1978), GALLI et al., (1980) e PONTE (1975), que se baseiam nas indicações de uso para doença, cultura e dosagem que constam do registro do produto.

Deve-se sempre levar em conta que pulverizações sistemáticas de fungicidas nas lavouras só se justifiquem quando ela for destinada à produção de

semente genética ou básica. Para outras classes de sementes, as pulverizações devem ser balanceadas com a economicidade e com o risco do produtor em perder a lavoura ou ter seu campo reprovado para o uso da semente.

As recomendações de uso de produtos químicos para o controle de pragas e ervas daninhas devem seguir o mesmo raciocínio exposto para uso de produtos químicos no controle de doenças.

Não se pode esquecer que o controle de plantas invasoras que competem com a cultura é importante não somente para viabilizar a pureza genética e pureza física das sementes colhidas, como também, para eliminar plantas hospedeiras de patógenos importantes e assegurar boa produtividade do campo.

Reconhece-se hoje a eficiência e a economicidade do controle mecânico e químico das plantas invasoras, em grandes áreas, entretanto, socialmente, as capinas manuais são recomendadas quando viáveis.

Lembre-se, também, que o controle das pragas é importante não somente para assegurar boa produtividade do campo, como também para diminuir ou eliminar a população de muitos insetos vetores de importantes doenças causadas por vírus.

Para se indicar o controle químico de pragas podem ser consultadas obras como COMPÊNDIO de defensivos agrícolas (1985), GALLO et. al. (1978) e MARICONI (1976), e para indicar controle químico de ervas daninhas pode ser consultada a obra COMPÊNDIO de defensivos agrícolas (1985).

3.3 - Cuidados na colheita, beneficiamento e armazenamento

Normalmente, as sementes atingem o máximo de germinação e vigor por ocasião da maturidade no campo. Uma vez atingido esse máximo só podem perder qualidade.

O atraso desnecessário na colheita das sementes maduras contribui para a sua deterioração, pois equivale a armazenar as sementes no campo, em condições bastante desfavoráveis, expondo-as por maior período de tempo a agentes patogênicos. Geralmente, o atraso na colheita de uma cultura está diretamente correlacionado com a maior quantidade de patógenos presentes nas sementes colhidas.

Sementes de culturas como arroz e trigo, se deixadas no campo após a maturação, podem ficar em contato com o solo devido ao acanamento das plantas e inúmeros microrganismos irão fazer parte da flora fúngica dessas sementes, uns externamente outros internamente. Essas sementes terão mais probabilidade de

transmitir doenças bem como apresentarão problemas no armazenamento.

Durante a operação de colheita mecânica, a máquina precisa ser bem ajustada de acordo com a umidade da semente. Se a semente estiver muito seca, o pericarpo fica ressecado e pode se romper ou quebrar facilmente, aumentando o risco de penetração de microrganismos e reduzindo a tolerância ao tratamento químico da semente. Se a semente estiver muito úmida, ela fica tenra e pode sofrer lesões internamente, resultando em plântulas anormais, embora a superfície esteja intacta. De qualquer modo, essas sementes terão vida mais curta quando armazenadas ou apresentarão problemas sanitários.

Todas operações a que são submetidas as sementes após a colheita, como a secagem, beneficiamento, limpeza, separação e classificação podem causar danos mecânicos às mesmas. Esses danos podem ser desde quebras do pericarpo, de tamanhos microscópicos, até quebras grosseiras do pericarpo e da semente, facilmente visíveis a olho nu, além injúrias internas, no embrião, visíveis somente após a germinação da semente.

A ocorrência desses danos mecânicos nas sementes pode resultar em danos nos tecidos e perda da viabilidade, perda da capacidade de regular ou estabilizar a umidade da semente, aumento da suscetibilidade à penetração de microrganismos e aumento da suscetibilidade aos efeitos fitotóxicos, quando tratadas com fungicidas, inseticidas ou nematocidas.

A limpeza apropriada de um lote de sementes reduz o inóculo de muitos patógenos, particularmente daqueles que acompanham a semente, como contaminação concomitante, na forma de esclerócios, galhas, esporões, clamidospores ou micélio dormente, quer de forma solitária ou em restos de tecidos vegetais da planta na forma de impurezas que acompanham as sementes.

O tamanho e o peso específico das sementes, muitas vezes, são reduzidos devido à infecção por patógenos. Assim, o peso de sementes de grão-de-bico provenientes de vagens infectadas por *Ascochyta blight* podem pesar até 40% menos que as sementes provenientes de vagens sadias, devido ao pequeno desenvolvimento das sementes. Sementes de soja incrustadas com oosporos de *Peronospora manshurica* podem ficar de 12 a 26% mais leves que sementes sadias do mesmo lote. Nesses casos, a limpeza através da densidade das sementes é uma medida que pode reduzir o inóculo do lote, como já foi demonstrado, também, para sementes de alface infectadas pelo vírus do mosaico.

A limpeza e a classificação apropriadas das sementes removendo sementes pequenas, mal desenvolvidas e enrugadas podem reduzir a porcentagem de infecção do lote. Isto foi demonstrado para sementes de linho infectadas por

Septoria linicola, sementes de nabo infectadas por *Alternaria brassicae*, sementes de repolho infectadas por *Phoma lingam* e sementes de abóbora infectadas pelo vírus do mosaico-da-abóbora.

Mesmo que as sementes pequenas ou mal desenvolvidas de um lote não sejam infectadas, quando plantadas, sua germinação é lenta e as plântulas ficam expostas à infecção por período de tempo maior, causando prejuízos ao futuro campo.

Cuidados no armazenamento devem ser tomados visando a longevidade das sementes, que depende da umidade da mesma, da temperatura e da umidade relativa do ambiente.

Sabe-se que, se a semente possuir acima de 45% de umidade, a germinação pode ocorrer; acima de 18-10% pode ocorrer aquecimento; acima de 12-18% há a ocorrência de fungos de armazenamento; abaixo de 8-9% praticamente não ocorre atividade de insetos de armazenamento e, abaixo de 4-8%, o armazenamento é seguro.

Como se vê, a semente com alta umidade possui condições favoráveis para o estabelecimento e disseminação de fungos e bactérias. Além disso, ocorre o aumento da respiração e o aumento da temperatura da semente com o acúmulo de produtos tóxicos prejudiciais à sua vitalidade, resultando, no final, na perda da capacidade de germinação.

Quando a semente é armazenada à temperatura de 20°C, a umidade relativa do ambiente não deve exceder a 60%. Quando é mantida a 4-10°C, a umidade relativa deve ser de 50%, nunca excedendo a 70%.

Conforme as condições do armazenamento, os patógenos presentes nas sementes podem ter sobrevivência maior ou menor nas mesmas.

Dentre os fungos, os Hyphomycetes e os Uredinales são, na maioria, considerados como de curta longevidade na semente com sobrevivência variando de dois a oito anos. Os Melanconiales, Sphaeropsidales e Ascomycetes são considerados de média longevidade, com sobrevivência na semente de dois a mais de treze anos. Os da família Dematiaceae e da ordem Ustilaginales são considerados de grande longevidade, com sobrevivência de quatro até sessenta e quatro anos, nas sementes.

As bactérias podem sobreviver nas sementes por tempo que varia de alguns meses a 24 anos.

Os vírus podem ter sobrevivência também de alguns meses até 30 anos. O mesmo ocorre com alguns nematóides.

Conclui-se que, para os patógenos que sobrevivem por pouco tempo na

semente, o envelhecimento da semente visando a morte do patógeno pode reduzir o inóculo da semente, embora essa medida dificilmente consiga eliminar totalmente o patógeno, porque a semente perderia sua capacidade de germinação antes da eliminação total do patógeno.

De modo geral, pode-se concluir que o controle de patógenos de semente pelo envelhecimento da mesma é uma medida inviável.

4 - CONTROLE DA QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES

4.1 - Generalidades

O sistema de controle da qualidade é fundamental nos esquemas de produção de sementes e envolve uma série de inspeções de campo e análises de laboratório.

No Brasil, são reconhecidas as seguintes classes de sementes:

- a) genética: é a semente original, produzida e controlada pelo melhorista em pequena quantidade, para manter absoluta pureza e identidade genética;
- b) básica: é a proveniente da semente genética, produzida e controlada por técnicos especializados, com a finalidade de manter rigorosamente a pureza e a identidade genética;
- c) registrada: oriunda da semente básica ou da própria semente registrada, produzida e controlada por técnicos sem tanto rigor, devido ao ser maior volume, para atender a demanda;
- d) certificada: oriunda da semente básica ou registrada; é produzida e controlada por técnicos, no sentido de manter a pureza e a identidade genética satisfatórias e atender à demanda dos compradores, sendo comercializada, etiquetada e selada, com garantia de possuir um mínimo de qualidade exigida pelas normas de certificação.
- e) fiscalizada: oriunda de campos com características mínimas exigidas por normas pré-estabelecidas e análises que não a classificariam como certificada, mas que permitiriam sua produção em maior escala para atender à demanda.

A produção de cada classe de semente obedece a normas próprias, tanto de inspeção de campo como de análise de semente no laboratório. Essas normas são tanto mais rígidas quanto menor o volume de semente trabalhado. Desse modo, o rigor das normas decresce da semente genética, passando pela básica, registrada, certificada, indo até a fiscalizada, onde quase não há exigências.

4.2 - Inspecções de campo

A inspeção de lavouras para produção de sementes tem a finalidade de comparar a qualidade destas com os padrões mínimos estabelecidos para a classe de semente. Assim, as culturas são conduzidas para assegurar padrões desejáveis de pureza varietal, pureza física, germinação, etc. As inspeções de campo compreendem a verificação da origem da semente, a seleção da área de campo de produção, a verificação da condução do campo, observação do controle de plantas indesejáveis da mesma espécie ou de espécies silvestres, doentes ou atípicas, e observação da colheita apropriada com fiscalização das máquinas e amostragem dos lotes de sementes.

Todo controle da qualidade sanitária de sementes no Brasil se baseia, hoje, nas inspeções dos campos de produção, e essa medida muito tem contribuído para a qualidade sanitária de nossas sementes. No mínimo, duas inspeções sanitárias são necessárias durante o ciclo da cultura e devem ser feitas por pessoas bem treinadas no reconhecimento de doenças.

A primeira inspeção de campo deve ser feita em plena vegetação da cultura, permitindo que sejam tomadas medidas de controle como, eliminação de plantas doentes, eliminação de hospedeiros facultativos de patógenos, pulverizações com defensivos agrícolas ou, dependendo da importância e severidade da doença, aprovar ou cancelar o campo para sementes.

A segunda inspeção deve ser efetuada durante a floração, frutificação ou maturação das sementes, quando se fiscalizará a sanidade dos frutos e ou das sementes. Dependendo do estado sanitário da lavoura nessa fase, pode-se aprovar o campo, sugerir tratamento das sementes produzidas ou mesmo cancelar o campo.

Essas inspeções de campo geralmente são visuais, embora, ocasionalmente, sejam coletadas plantas ou partes das mesmas para exame em laboratório fitopatológico.

4.3 - Análises de laboratório

Como parte do controle da qualidade, as análises de sementes em laboratório são realizadas conforme regras pré-estabelecidas, para que os resultados sejam comparados com padrões que variam conforme a classe do lote de semente.

No Brasil, as regras para análises de sementes (R.A.S.) foram elabora

das e publicadas, pela primeira vez, no Estado de São Paulo, em 1956. Foram atualizadas em 1963, conforme as regras internacionais para análise de sementes estabelecidas pela "International Seed Testing Association" (ISTA). Sofreram nova revisão em 1967 e em 1976 pela equipe técnica de sementes e mudas do Ministério da Agricultura, sempre baseadas nas regras internacionais.

Normalmente, nas regras de análises de sementes, não são previstas análises patológicas das sementes e a simples inspeção visual de campo não é suficiente para o controle da qualidade sanitária da semente.

Já é do conhecimento científico a importância da semente na disseminação de patógenos pelos seguintes aspectos: a) as sementes abrigam patógenos que permanecem viáveis nela por período de tempo mais longo; b) através das sementes, os patógenos causam infecção mais precoce nas plântulas; c) através das sementes, o solo pode ser inoculado com patógenos perigosos ou com novas raças de patógenos já existentes; d) através das sementes, um campo normalmente é inoculado com agentes causadores de doenças, de modo uniforme, em toda sua extensão, dando origem a focos primários de infecção precoce e de difícil controle.

Como a semente pode ser portadora de agentes fitopatogênicos, como fungos, bactérias, vírus e nematóides, que normalmente nela se instalam sem produzir sintomas, para se conhecer a sua condição sanitária é necessário submetê-las à análise patológica, em laboratório.

A associação do patógeno com a semente pode ser dos seguintes modos: a) inóculo interno, geralmente na forma de micélio dormente, de fungos, talos bacterianos ou partículas de vírus, infectando o pericarpo e endosperma, como ocorre com *Phoma*, *Septoria*, *Phomopsis* e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, ou infectando o embrião, como ocorre com *Ustilago tritici*, *Ustilago nuda*, *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* e o vírus do mosaico comum do feijoeiro; b) inóculo superficial na forma de esporos, micélio, talos bacterianos, partículas de vírus ou nematóides, infestando a superfície das sementes, como ocorre com *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, carvões, cáries, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* e vírus do mosaico-do-fumo; c) inóculo como contaminação concomitante na forma de pedaços de planta doente, esclerócios, cistos e partículas de solo, que acompanham a semente, como ocorre com míldios, ferrugens, *Sclerotium*, *Botrytis*, etc.

O conhecimento da associação do patógeno com a semente é importante para selecionar a metodologia de detecção de patógeno. Desse modo, para detecção de inóculo interno poderiam ser utilizados métodos de incubação da semente

te, contagem de embrião ou sintoma na planta e nunca o método de lavagem e centrifugação da semente. Por outro lado, para se detectar o inóculo superficial poderiam ser utilizados os métodos de lavagem e centrifugação, incubação, etc.

O conhecimento da associação patógeno-semente é importante também para se escolher o método de controle adequado para o patógeno da semente. Quando se tem inóculo interno, a seleção de lotes de sementes sem o problema (limpeza dos lotes de semente) é uma medida eficiente de controle do patógeno. Se o inóculo for superficial, um simples tratamento da semente pode ser uma medida eficiente de controle e, se o inóculo estiver presente, como contaminação concomitante, a simples limpeza correta da semente, poderá ser uma medida eficiente para evitar a disseminação do patógeno.

A análise patológica da semente em laboratório é necessária e indispensável em qualquer sistema de controle da qualidade sanitária de sementes, pois, além de identificar os patógenos que poderão ocasionar problemas futuros, indica a natureza da associação do patógeno-semente, e o grau de intensidade da infecção ou infestação do lote de semente.

Os diversos métodos de análise sanitária de semente podem ser encontrados em capítulo próprio dessa publicação.

Em programa de controle da qualidade sanitária de semente, os métodos de análise devem revelar o máximo de patógenos presentes e o máximo de incidência de cada patógeno, mas isto é praticamente impossível. Diversos métodos já são mundialmente conhecidos e recomendados pela "International Seed Testing Association" pela sua eficiência na determinação de uma cultura.

Para um método ser considerado satisfatório em análise de rotina, ele deve ser econômico no uso de material e equipamento e deve ser rápido, oferecendo resultados em curto período de tempo. Além disso, seus resultados devem ser reproduzidos por outros laboratórios dentro de limites estatísticos e devem detectar, pelo menos, um patógeno com segurança.

Inúmeros métodos já foram desenvolvidos para detectar fungos imperfeitos em sementes das principais culturas, mas, para muitos patógenos importantes, como certos vírus e bactérias, ainda não existe método de detecção adequado.

Para análise sanitária de sementes em laboratório, visando o controle da sua qualidade sanitária, além da escolha do método eficiente para detecção de um patógeno, é muito importante que todos os laboratórios utilizem o mesmo método que deve apresentar reprodutibilidade.

Para que isso ocorra, há necessidade de padronização de métodos, como

existe para germinação e vigor. A padronização dos testes de germinação vem sendo realizada pela ISTA em seus 60 anos de testes comparativos, contando com a cooperação de pesquisadores e laboratórios de vários países. Nos últimos anos, essa Associação vem desenvolvendo a padronização dos testes de sanidade de sementes.

No Brasil, o Comitê de Patologia de Sementes (COPASEM), da Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes (ABRATES), vem desenvolvendo trabalho semelhante de aferição de métodos, visando a padronização de testes de análise sanitária de sementes de arroz, algodão, feijão e trigo, desde 1984.

4.4 - Padrões de tolerância

A finalidade dos testes de sanidade no controle da qualidade sanitária das sementes é verificar se a infecção de um lote de sementes, por determinado patógeno, está dentro do padrão de tolerância para ele permitido.

Definição

Define-se padrão de tolerância como o grau máximo de infecção que o lote de semente pode apresentar, para um determinado patógeno.

Conclui-se que há necessidade de se estabelecer padrão de tolerância para cada patógeno importante de cada cultura. Este estabelecimento de padrão de tolerância é uma tecnologia que não pode ser importada. Há necessidade de pesquisas brasileiras para sua determinação, e nem sempre o padrão obtido para uma área geográfica poderá ser utilizado para outra região do país, devido à extensão territorial continental do Brasil.

Fatores que influem no estabelecimento de padrões de tolerância

O principal motivo para se estabelecer padrão de tolerância deve ser a relação entre o inóculo da semente e os danos que podem ser por ele causados na cultura subsequente.

Sendo assim, muitos fatores influem no estabelecimento de padrões de tolerância para sanidade de sementes, destacando-se os que seguem.

a) Método de análise

O método de análise utilizado pelo laboratório deve determinar com precisão a quantidade de inóculo da semente. Deve fornecer, ainda, informações sobre o grau de severidade da infecção de acordo com procedimentos padroniza-

dos e conforme uma escala padrão, além de estimar a viabilidade do inóculo através da germinação de esporos, e a longevidade do patógeno na semente.

A sensibilidade do método deve ser considerado pelo laboratório de rotina. Como exemplo da variação de sensibilidade entre os métodos de análise sanitária de semente, pode-se citar que uma mesma amostra de semente de repolho infectada por *Alternaria brassicicola* foi analisada através de vários métodos. O método do papel de filtro revelou 6,5% de infecção; o método do plaqueamento em extrato de malte-agar detectou 93% de sementes infectadas e outros dois métodos mostraram 2 e 73% de infecção, e a inspeção direta da semente seca a olho nu nada detectou.

Por isso, quando se determina um padrão de tolerância, deve-se indicar qual o método de análise que deve ser utilizado pelo laboratório para a análise sanitária dos lotes de sementes, cujos resultados vão ser comparados com o referido padrão.

Quando se procura um método de rotina para estabelecer padrão de sanidade, deve-se dar preferência àquele que detecte maior número de sementes com o patógeno.

b) A importância econômica do patógeno

No estabelecimento de padrão de tolerância, tem-se que considerar se o patógeno é exclusivamente de sementes ou se ele é também de solo ou sobrevive em resíduos vegetais. Os patógenos exclusivamente de sementes podem ser eliminados eficientemente através do controle sanitário da semente. Os patógenos que também vivem no solo ou em resíduos vegetais são controlados pela semente, dependendo da importância do inóculo da semente no ciclo de vida do patógeno.

O potencial epidêmico do patógeno, determinado pela sua agressividade ou virulência, reprodução, disseminação e perpetuação, é de grande importância no estabelecimento do padrão de tolerância. Assim, para patógenos, onde leve traço de inóculo na semente pode dar origem a uma epidemia da doença em condições climáticas favoráveis, o padrão de tolerância deve ser zero.

c) O destino geográfico da semente

É evidente que as condições climáticas da região, onde as sementes irão ser utilizadas para o plantio, bem como a suscetibilidade das variedades cultivadas naquela região, vão ter grande influência na severidade das doenças transmitidas pela semente.

Se a semente se destina a uma área geográfica onde as condições climáticas são extremamente favoráveis ao desenvolvimento de epidemia de uma doença e a cultivar é suscetível, o padrão de tolerância para o patógeno responsável pela doença deve ser próximo a zero ou zero. Caso contrário, o padrão pode ser mais alto.

d) A possibilidade do tratamento químico da semente

Para algumas doenças, cujos agentes podem ser facilmente eliminados com o tratamento químico, essa prática poderá permitir um padrão de tolerância mais elevado.

Entretanto, para patógenos, onde traços de inóculo na semente podem dar origem a epidemias no campo, o estabelecimento de padrão de tolerância acima de zero, completando pelo tratamento da semente, tem levado a resultados desapontadores.

Certas doenças, como o carvão-do-trigo, causado por *Ustilago tritici*, e o carvão-da-cevada, causado por *Ustilago nuda*, exigem uma certa quantidade de inóculo na semente para causar problema epidêmico no campo. Nesse caso, o tratamento da semente, feito anualmente, mantém baixo o inóculo da semente, o que é eficiente no controle das citadas doenças.

No controle da qualidade sanitária da semente, o tratamento químico das mesmas deve ser utilizado para manter baixo o inóculo da semente, principalmente nas sementes genéticas e básicas. Nunca deve ser considerado como a salvação. Deve-se preferir a obtenção de sementes livres de patógenos, a remediá-las, com a utilização do tratamento químico das mesmas.

e) A frequência do patógeno nos lotes de semente

Há a necessidade de se conhecer previamente a frequência do patógeno nos lotes de semente para se determinar o padrão de tolerância.

A falta desse conhecimento pode trazer problemas sérios de disponibilidade de semente no mercado se for estabelecido um padrão de tolerância baixo e o patógeno estiver presente com infecção acima do padrão na maioria dos lotes.

f) A densidade de semeadura

A densidade de semeadura é o número ou o peso de sementes utilizadas para o plantio de uma unidade de área. Ela está diretamente relacionada com a densidade de inóculo no campo, que é o número de locais inoculados por unidade

de de área no campo. Esse tópico será abordado com mais detalhes, posteriormente.

Com uma mesma porcentagem de infecção por um determinado patógeno, para uma alta densidade de semeadura, o padrão de tolerância deve ser mais baixo do que para uma baixa densidade de semeadura.

Do mesmo modo, espécies de sementes pequenas, que geralmente são semeadas em maior número por unidade de área, levam maior número de sementes infectadas ao campo do que espécies de sementes grandes que tenham a mesma porcentagem de infecção em suas sementes.

4.5 - As taxas epidemiológicas em doenças transmitidas por sementes

Para se determinar padrão de tolerância, é preciso conhecer os prejuízos que o inóculo da semente pode acarretar na cultura, refletindo na redução da produtividade e no aumento de inóculo da semente produzida. Para isso, há a necessidade de se abordar alguns conceitos e de se conhecer uma série de taxas epidemiológicas, conforme mostra a figura 1.

a) Taxa de inóculo da semente

A quantidade de inóculo que a semente apresenta é determinada pelos métodos rotineiros de análise em laboratório de sanidade de semente. Pode ser expressa em porcentagem de sementes infectadas e/ou infestadas, peso de unidades do patógeno (esclerócios, esporos, clamidosporos, etc.) por unidade de peso de sementes, número de unidade do patógeno por um determinado número de sementes ou unidades do patógeno por semente.

Nem sempre a expressão da quantidade da semente desse modo é suficiente. Para certas doenças, como o carvão da cevada (*Ustilago nuda*), a semente é uma unidade infectiva, isto é, para a maioria das cultivares de cevada, cada semente que tenha seu embrião infectado, independentemente da quantidade de micélio presente, corresponderá a uma planta infectada ou doente.

Entretanto, para a maioria dos patógenos e das doenças, uma semente não corresponde a uma unidade de inóculo ou de infecção. Alguns patógenos conseguem causar infecção e produzir doença se um único esporo germinar em condições favoráveis junto ao hospedeiro. Outros só conseguem causar infecção e produzir doença, se certa quantidade de esporos germinar simultaneamente.

A quantidade de inóculo necessária ao estabelecimento da infecção é denominada "potencial de inóculo", que varia com a virulência ou agressividade

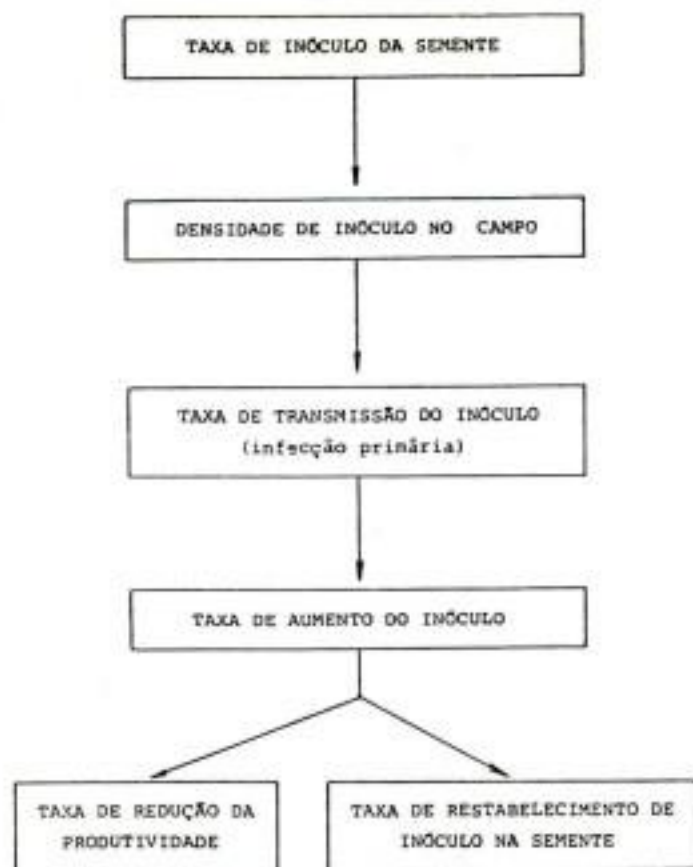


Figura 1. Seqüência de taxas epidemiológicas em doenças transmitidas por sementes (NEERGAARD, 1977).

do patógeno e com a resistência da cultivar do hospedeiro.

Como para a maioria dos patógenos uma semente não corresponde a uma unidade infectiva, como normalmente as sementes mostram individualmente uma ampla gama de graus de infecção, não sendo unidades uniformes, deve-se lançar mão do potencial de inóculo da semente que expressa melhor os resultados de laboratório e se correlaciona melhor com os prejuízos causados pela doença no campo. A determinação do potencial de inóculo da semente é de difícil execução.

Desse modo, estabelece-se uma escala padronizada de graus de infecção

da semente de acordo com o crescimento miceliano e esporulação do fungo sobre a semente no método do papel de filtro, ou de acordo com o diâmetro da colônia do patógeno no método do plaqueamento em meio agarizado.

Seguindo esse princípio, foram estabelecidos três graus de infecção de *Helminthosporium oryzae* em sementes de arroz e três graus de infecção de *Helminthosporium maydis* em sementes de milho. Esses graus apresentaram correlação com a infecção das plântulas. A simples porcentagem de sementes infectadas pelo patógeno geralmente não apresenta essa importante correlação, conforme NEERGAARD (1977).

Qualquer medição do inóculo da semente leva a resultados que são denominados, de modo geral, de taxa de inóculo da semente.

Para investigar a correlação entre a taxa de inóculo da semente e as taxas epidemiológicas no campo, devem ser feitas comparações, partindo-se de diferentes taxas de inóculo da semente. Essas diferentes taxas de inóculo da semente podem ser obtidas de vários modos: a) Partindo-se de diferentes lotes de sementes da mesma cultivar contendo diferentes taxas de inóculo; b) Partindo-se de um lote de semente com alta taxa de inóculo, e fazendo-se tratamento químico com dosagens crescentes do produto para se chegar a diferentes taxas de inóculo; c) Partindo-se de um lote de sementes com alta taxa de inóculo e diluindo-se essa taxa através da mistura de diferentes quantidades de sementes provenientes de um lote sadio da mesma cultivar; d) Partindo-se de um lote sadio e aplicando-se diferentes doses de inóculo, artificialmente. Este modo é o menos recomendado, devido à inoculação artificial das sementes.

Em todos os casos, cada lote preparado deve ser examinado pelo método padronizado de análise sanitária de semente que se vai utilizar.

b) Densidade de inóculo

Densidade de inóculo é a quantidade de inóculo presente no campo. É determinada pelo produto da quantidade de semente utilizada para o plantio de uma unidade de área pela porcentagem de infecção do lote de semente. Corresponde ao número de locais inoculados no campo.

Foi demonstrado que o plantio de semente doze sementes de feijão infectadas por acre pode resultar em epidemiologia na estação normal de cultivo do feijoeiro, em Wisconsin, Estados Unidos.

Pode ser calculada facilmente através das fórmulas:

$$DI = 10.q.s.p \quad \text{ou} \quad Di = \frac{q \cdot s \cdot p}{1.000}$$

- DI = densidade de inóculo por ha;
 Di = densidade de inóculo por m^2 ;
 q = quantidade de sementes em kg/ha (densidade de plantio);
 s = número de sementes por grama;
 p = porcentagem de infecção do lote de semente.

Alguns exemplos práticos de cálculo da densidade de inóculo

Alface - *Lactuca sativa* L.

- q = 1 kg de sementes/ha;
 s = 890 sementes/g;
 p = 2% de sementes infectadas pelo vírus do mosaico;
 DI = 17.800 locais inoculados/ha.

Algodão - *Gossypium hirsutum* L.

- q = 50kg de sementes/ha;
 s = 8 sementes/g;
 p = 0,1% de sementes infectadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*;
 DI = 400 locais inoculados/ha.

Arroz-de-sequeiro - *Oryza sativa* L.

- q = 35kg de sementes/ha;
 s = 30 sementes/g;
 p = 10% de sementes infectadas por *Helminthosporium oryzae*;
 DI = 105.000 sementes infectadas/ha ou 105.000 locais inoculados/ha.

Arroz irrigado - *Oryza sativa* L.

- q = 80kg de sementes/ha;
 s = 30 sementes/g;
 p = 10% de sementes infectadas por *Helminthosporium oryzae*;
 DI = 280.000 locais inoculados/ha.

Berinjela - *Solanum melongena* L.

- q = 0,25kg de sementes/ha;
 s = 230 sementes/ha;
 p = 5% de sementes infectadas por *Alternaria solani*;
 DI = 2.900 locais inoculados/ha.

Cebola - *Allium cepa* L.

q = 1kg de sementes/ha;

s = 340 sementes/g;

p = 5% de sementes infectadas por *Alternaria porri* f. sp. *porri*;

DI = 17.000 locais inoculados/ha.

Cenoura - *Daucus carotas* L.

q = 5kg de sementes/ha;

s = 825 sementes/g;

p = 5% de sementes infectadas por *Alternaria porri* f. sp. *dauci*;

DI = 206.000 locais inoculados/ha.

Feijão - *Phaseolus vulgaris* L.

q = 60kg de semente/ha;

s = 4 sementes/g;

p = 1% de sementes infectadas por *Colletotrichum lindemuthianum*;

DI = 2.400 locais inoculados/ha.

Soja - *Glycine max* Merrill

q = 60kg de sementes/ha;

s = 10 sementes/g;

p = 5% de sementes infectadas por *Phomopsis sojae*;

DI = 30.000 locais inoculados/ha.

c) Taxa de transmissão do inóculo da semente

A taxa de transmissão do inóculo da semente para a plântula corresponde ao número de plântulas doentes provenientes de uma taxa conhecida de inóculo da semente. Pode ser expressa em números absolutos, proporção ou porcentagem.

Os patógenos de muitas doenças sistêmicas, como os que infectam o embrião, apresentam taxa de transmissão próxima a 1:1, isto é, uma semente infectada dá origem a uma plântula doente. Como exemplo, temos o vírus do mosaico-da-alface, o vírus do mosaico comum do feijoeiro; fungo *Ustilago nuda* - causador do carvão solto da cervada, etc.

Para alguns patógenos, essa taxa já foi estabelecida em outros países. Assim, sabe-se que a taxa de transmissão da *Pseudomonas phaseolicola* (crestamento bacteriano em halo do feijoeiro) e da *Xanthomonas phaseoli* var.

fusca (crestamento bacteriano fosco do feijoeiro) é de cerca de 10%.

O conhecimento dessa taxa de transmissão do inóculo da semente para a plântula é importante para se determinar padrão de tolerância visando o controle da qualidade sanitária das sementes. Esses valores não podem ser extrapolados, nem podem ser utilizados os valores obtidos em outros países. Há necessidade de pesquisas nacionais para sua determinação, e só o acúmulo de conhecimentos nessa área poderá permitir a obtenção de valores confiáveis da taxa de transmissão de um patógeno.

Após a transmissão do patógeno da semente, causando doença nas plântulas, estas se constituirão em focos primários da doença que, normalmente, se distribuem de modo uniforme pelo campo e podem ser origem de epidemias.

d) Taxa de aumento de inóculo

Dependendo da taxa de aumento do inóculo no campo, poderá se ter uma epidemia ou não, dependendo da virulência ou agressividade do patógeno, suscetibilidade da cultivar e das condições de ambiente.

A taxa de aumento do inóculo é o quanto a doença aumenta no campo, a partir de uma quantidade conhecida de focos primários.

Normalmente, quando esse aumento é devido ao inóculo da semente, ocorrem reboleiras de modo generalizado no campo. Às vezes, essa característica se confunde com a causada pelo inóculo do solo.

Na determinação da taxa de aumento do inóculo, é difícil saber se o inóculo inicial foi proveniente da semente ou se foi originário de fora do campo. Normalmente, quando o inóculo vem de fora, o início do aparecimento da doença é mais tardio do que quando o inóculo provém da semente. Outra diferença é que, quando o inóculo provém da semente, os sintomas aparecem em reboleiras generalizadas, e quando o inóculo é originário de fora do campo, os sintomas vão aparecendo em progressão (caminhamento), geralmente na direção do vento predominante, que, muitas vezes, proporciona disseminação do patógeno mais importante que a própria semente.

A taxa de aumento do inóculo tem sido bastante estudada a partir de 1960 com os trabalhos de Van Der Plank (1963, 1968, 1975), Robinson (1969, 1971, 1973, 1976), Crill (1977) e Nelson (1973, 1978), não cabendo aqui maiores comentários.

e) Taxa de restabelecimento de inóculo na semente

Conforme a severidade da doença no campo, as sementes irão apresentar

infecção ou infestação variável.

A taxa de restabelecimento de inóculo na semente é a quantidade de inóculo que a semente produzida apresenta em relação a uma conhecida taxa de inóculo da semente originalmente plantada, ou a uma determinada taxa de transmissão com uma certa taxa de aumento do inóculo. Pode ser estabelecida também em relação à quantidade de doença presente no campo produtor da semente.

Essa taxa é extremamente variável de ano para ano, e de local para local, conforme as condições climáticas.

Para sua determinação, são necessários inúmeros experimentos em anos subsequentes e diferentes locais e só o acúmulo de informações permite uma determinação confiável dessa taxa extremamente importante nos programas de controle sanitário de sementes.

f) Taxa de redução da produtividade

Como o objetivo final da produção de sementes sadias é o aumento da produtividade, através do controle de doenças sem custos adicionais ao agricultor, o conhecimento dessa taxa é muito importante para se estabelecer padrão de tolerância a um determinado patógeno.

A taxa de redução da produtividade é o montante de perda quantitativa da produtividade de um campo em relação à taxa de inóculo da semente utilizada para o plantio desse campo. Pode ser considerada também em relação às outras taxas epidemiológicas, das quais ela é uma variável dependente.

Sua determinação também é difícil devido a apresentar extrema variabilidade de ano para ano e de local para local. São necessários inúmeros experimentos como para a taxa anterior, pois, só o acúmulo de informações permite o estabelecimento de números confiáveis para esta taxa.

Como se pode observar, é só com o conhecimento dessa sequência de taxas epidemiológicas, que é possível o estabelecimento de padrões de tolerância em bases sólidas e com resultados positivos no futuro.

5 - TRATAMENTO DE SEMENTES VISANDO CONTROLE DE DOENÇAS

5.1 - Introdução

O tratamento de sementes é um dos métodos mais baratos de controle direto de doenças dos vegetais. Baseia-se nos princípios de proteção e cura.

Basicamente, o tratamento de semente para controle de doenças visa

eliminar os patógenos de sementes e proteger tanto a semente como as plântulas dos patógenos do solo. Isto possibilita manter ou melhorar a qualidade sanitária da semente, proporcionando um bom stand inicial da lavoura e evitando a disseminação de microrganismos patogênicos.

Conforme o tipo de controle oferecido, o tratamento pode ser desinfetante quando atua sobre os patógenos que infestam a superfície da semente; erradicante, quando atua contra o patógeno que tenha infeccionado a semente; e protetor, quando protege a semente e a plântula de patógenos do solo ou dos restos de cultura.

As vantagens do tratamento de sementes prendem-se ao fato de ser uma medida econômica, de fácil aplicação e de oferecer boa eficiência nas fases iniciais de desenvolvimento da planta, além de, praticamente, não apresentar efeito danoso sobre o meio ambiente, fauna silvestre e microrganismos do solo.

Entre as limitações do tratamento de semente, podem-se citar: a) baixa eficiência, quando se trata de infecção de semente, onde os fungicidas sistêmicos apresentam melhor performance, entretanto, são altamente específicos; b) difícil aderência e má distribuição, principalmente quando se trabalha com fungicidas em pó seco; c) nunca um tratamento de semente apresenta 100% de eficiência e os patógenos que escapam ao tratamento podem provocar sérias epidemias.

Os métodos de tratamento de sementes podem ser divididos em processos físicos, bioquímicos, químicos e biológicos.

5.2 - Tratamento físico

O tratamento físico de semente se baseia na utilização do calor seco ou úmido para exterminar os patógenos.

O princípio básico do tratamento pelo calor fundamenta-se na sensibilidade diferencial entre o patógeno e a semente; a possibilidade de sucesso deste tratamento está diretamente relacionada com a diferença entre o ponto de inativação ou letal do patógeno e o ponto letal da semente. Quanto maior a diferença entre o ponto térmico letal (temperatura que provoca a morte) do patógeno e da semente, maiores serão as possibilidades de sucesso deste processo.

Alguns fatores podem alterar a diferença entre o ponto térmico letal do patógeno e do hospedeiro. Dentre eles, podem-se citar: a) teor de umidade da semente - quanto maior o teor de umidade da semente, mais baixa é a sua temperatura letal; b) dormência da semente - quando em estado de dormência, as

sementes são mais resistentes ao calor; c) idade e vigor da semente - as sementes mais novas e com maior vigor apresentam temperatura letal mais alta que as velhas e com menor vigor; d) danos mecânicos na camada externa da semente - a semente que apresenta danos mecânicos no tegumento apresenta temperatura letal mais baixa que a semente com tegumento intacto; e) condições intrínsecas da semente - algumas espécies apresentam maior resistência ao calor que outras, bem como dentro da mesma espécie pode existir cultivares cujas sementes apresentem maior ou menor temperatura letal; f) origem da semente - sementes provenientes de regiões equatoriais ou tropicais apresentam maior temperatura letal que as provenientes de regiões temperadas; g) condições do patógeno - quando o patógeno se encontra na forma de resistência na semente como micélio dormente, clamidosporos, etc. ele é mais resistente ao calor que quando se encontra na fase vegetativa.

No tratamento físico de semente, pode ser utilizado o calor úmido ou o calor seco.

Utilizando o calor úmido, temos o tratamento com vapor arejado e o tratamento com água quente.

Tratamento com vapor arejado

O tratamento com vapor arejado é bastante simples, causa menos sujeira e permite um melhor controle da temperatura sendo, normalmente, mais eficiente que o tratamento com água quente. Para melhor eficiência desse tratamento, alguns requisitos precisam ser seguidos. A temperatura deverá ser precisa e deve atingir rapidamente (menos de 2 minutos) toda a massa da semente. O tempo de tratamento deverá ser exato e a diferença entre as temperaturas do vapor na saída e na entrada não deverá ser superior a 1,5°C. O vapor precisa ser removido de cima para baixo, através das sementes, permitindo que a condensação escape para baixo e as sementes permaneçam secas até o final do tratamento. As sementes a serem tratadas não devem apresentar danos mecânicos, devem estar limpas e com bom vigor.

Este tratamento tem sido usado com sucesso no controle de: *Alternaria zinniae*, em sementes de zínia, utilizando-se a temperatura de 57°C durante 30 minutos; *Phoma lingam* e *Alternaria brassicae*, em sementes de repolho hidratadas por três dias, utilizando-se a temperatura de 56°C durante 30 minutos; *Fusarium oxysporum* f. sp. *matthiolae*, em sementes de goivo, com a temperatura de 54°C durante 15 minutos, e *Botrytis cinerea*, em sementes de beterraba açucareira, utilizando-se a temperatura de 52°C durante 10 minutos.

Tratamento com água quente

O tratamento com água quente foi o primeiro método de tratamento de semente utilizado pelo homem. Foi desenvolvido por Jensen em 1887, para controlar o carvão voador em sementes de trigo e tem sido um dos métodos físicos de tratamento mais utilizados, segundo DHINGRA (1980).

Para execução desse tratamento, alguns detalhes devem ser observados: as sementes, que devem estar limpas, apresentando bom vigor e sem danos mecânicos, devem ser acondicionadas em sacos trançados ou caixas de tela de modo a ficarem bem soltas em seu interior; esse material deve ser pre-aquecido, por 1 minuto, à temperatura de 5-6°C abaixo da temperatura do tratamento; a seguir, deve ser imerso no tanque de tratamento contendo água previamente aquecida, durante 5-10 minutos, à temperatura do tratamento para melhor homogeneidade da temperatura que deverá ser controlada exatamente até o final do tratamento através de termômetro sensível e preciso; a proporção entre o peso de sementes e o peso de água do tratamento não deve ser diferente de 1:5; o tempo de tratamento deverá ser controlado rigorosamente; durante o tratamento, deve haver constante agitação da água das sementes; após o tratamento, as sementes deverão ser resfriadas rapidamente e colocadas a secar, utilizando-se ventilação forçada a 37-38°C; após a secagem, recomenda-se ainda o tratamento químico das sementes com um fungicida protetor.

Este processo tem sido usado com sucesso para sementes de hortaliças, trigo e cevada. Para sementes de couve-de-bruxelas, espinafre, pimentão, repolho e tomate é utilizada a temperatura de 50°C durante 25 minutos. Para sementes de brócolo, cenoura, couve-flor, couve comum, couve-rábano, nabo e pepino, utiliza-se 50°C durante 20 minutos. Para sementes de mostarda e rabanete, utiliza-se 50°C durante 15 minutos. Sementes de pimenta são tratadas a 51,6°C durante 30 minutos. Sementes de alface e salsa são tratadas a 49°C durante 30 minutos. Para o tratamento de sementes de trigo e cevada, colocam-se as mesmas em imersão em água à temperatura ambiente durante 4-5 horas. A seguir, são colocadas em água a 48°C durante 5 minutos, e depois, são transferidas para outro tanque com água a 54°C durante 10 minutos ou a 52°C durante 13 minutos. Em seguida, são rapidamente resfriadas e secas, posteriormente, tratadas quimicamente com um fungicida protetor.

Tratamento com ar quente

O tratamento com ar quente é baseado no uso do calor seco. Este método, embora cause menos danos à semente e seja de execução mais fácil que os

anteriores, é menos utilizado devido a sua menor eficiência.

Para sua realização, poucas precauções devem ser tomadas: o controle da temperatura deve ser rígido, não podendo variar mais que 0,5°C e o tempo de tratamento deve ser seguido corretamente.

O tratamento pode ser realizado, utilizando-se uma estufa com controle de temperatura ou através da circulação forçada de ar quente através da massa de semente.

O tratamento com ar quente tem sido usado com sucesso no controle de *Colletotrichum gossypii*, em sementes de algodoeiro: as sementes são submetidas à temperatura de 60-65°C durante 20-24 horas para diminuir seu teor de umidade; a seguir, são tratadas à temperatura de 95-100°C durante 12 horas.

Tratamento com energia solar

Em países como Índia, Paquistão, Búria e Tânzania, em que as temperaturas durante o verão são altas em consequência da alta insolação, essas condições são aproveitadas para o tratamento de sementes de trigo, cevada, sorgo e painço, utilizando-se o calor seco proveniente da radiação solar, em sementes previamente umedecidas. Na Índia e Paquistão, por exemplo, este método tem sido utilizado com sucesso no controle do carvão-voador de sementes de trigo e cevada: as sementes são imersas em água à temperatura ambiente durante 4 horas; ao meio dia, elas são espalhadas em camadas finas, sob ação da luz solar, até às 16 horas, atingindo 48 a 54°C.

Embora o tratamento físico tenha mostrado ser uma medida eficiente no controle de muitos patógenos em sementes, ele não é completamente utilizado devido a alguns motivos: a) o tratamento físico não oferece proteção residual contra os patógenos do solo, de modo que as sementes que sofrem tratamento físico geralmente têm que ser tratadas quimicamente também; b) o tratamento físico praticamente não tem valor de venda comercial e, por isso, não são promovidos, como o tratamento químico, onde grandes empresas gastam muito dinheiro na propaganda de fungicidas; c) o tratamento físico é considerado, incorretamente, como de uso perigoso.

5.3 - Tratamento bioquímico

O tratamento bioquímico é baseado na fermentação anaeróbica que se processa na massa de semente como a produção de ácidos que inativam ou inibem o desenvolvimento do patógeno. Normalmente, causa menos danos às sementes que o

tratamento físico e é recomendado para onde não se dispõem de facilidades que proporcionem o tratamento físico rigoroso.

Este método tem sido utilizado com sucesso para controle de carvão em semente de trigo e cevada em que as sementes são imersas em água a 21°C durante 4 horas; a seguir, drena-se o excesso de água e as sementes são colocadas em barris secos, bem fechados, permanecendo 80 horas à temperatura média de 18°C, ou 70 horas, a 21°C, ou 60 horas, a 24°C, ou 50 horas, a 27°C, ou 40 horas, a 29°C, ou, ainda, 30 horas, a 32°C. Posteriormente, as sementes devem ser submetidas a uma corrente de ar para a secagem a 35°C.

A fermentação anaeróbica também tem se mostrado eficiente no controle de *Corynebacterium michiganense*, em sementes de tomateiro, que consiste no seguinte: os frutos maduros, escolhidos para a extração de sementes, são amontoados e fermentados anaerobicamente, à temperatura de 21°C durante 96 horas. Foi demonstrado que a porcentagem de sementes infectadas foi reduzida de 81,3% para 0,2%, após 96 horas de fermentação. Complementarmente, as sementes podem ser tratadas por imersão em ácido acético a 0,8% durante 24 horas, para posterior secagem.

5.4 - Tratamento biológico

O tratamento biológico é baseado no antagonismo que os microrganismos podem apresentar entre si. Em sementes, esse antagonismo já foi demonstrado entre alguns fungos e bactérias.

Normalmente, a semente apresenta, na sua superfície, uma flora microbiana composta de inúmeras bactérias e fungos saprofíticos que podem ser antagonicos a muitos patógenos que atacam as sementes e as plântulas.

Isso foi demonstrado, em 1947, por Simonds, trabalhando com sementes de trigo infectadas por *Helminthosporium sativum* (DHINGRA, 1980). Quando as sementes eram tratadas física ou quimicamente, davam origem a mais plântulas atacadas pelo patógeno que as sementes sem tratamento. Ocorria que o tratamento químico ou físico eliminava os microrganismos antagonicos e o patógeno se desenvolvia sem competição. Nos lotes não tratados, os microrganismos antagonicos da flora presente na superfície das sementes inibiam o desenvolvimento do patógeno.

O tratamento físico ou químico de semente, quando executado incorretamente, pode levar a resultados danosos como o exposto. Outro exemplo ocorre com o tratamento de sementes de aveia infectadas por *Helminthosporium victoriae*.

rise que, quando mal executado, propicia maior incidência do patógeno nas plântulas oriundas das sementes tratadas que nas oriundas de sementes não tratadas. Isto ocorre devido à presença de *Chaetomium globosum* e *C. cothlioides*, normalmente presentes nas sementes de aveia, no Brasil, que são antagonísticos ao patógeno, e que são eliminados pelo tratamento.

Muitos microrganismos antagonísticos de patógenos de sementes têm sido isolados da superfície de sementes e parece que o efeito antagonístico é devido à produção de substâncias antibióticas pelo saprófita, aos quais o patógeno é sensível.

O tratamento biológico consta da inoculação das sementes com inóculo de microrganismos saprófitos (esporos de fungos, talos bacterianos, etc.) que sejam antagonísticos aos patógenos da semente ou do solo.

Em certos casos, este tratamento tem sido utilizado com sucesso. O controle de *Fusarium graminearum* em sementes de aveia foi conseguido pelo tratamento das sementes com *Pseudomonas* sp. ou *Archromobacter* sp. O controle de *Fusarium roseum* f. sp. *cerealis* em sementes de milho tem sido conseguido pelo tratamento com *Bacillus subtilis* ou *Chaetomium globosum*.

Os seguintes microrganismos têm mostrado ação antagonística a patógenos de sementes ou de solo: *Pseudomonas* sp., *Archromobacter* sp., *Chaetomium cothlioides*, *C. globosum*, *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* sp., *Penicillium oxalicum*, *Trichoderma lignorum*, *Aspergillus aculeatus*, *Streptomyces venezuelae*, *Penicillium frequentans* e *Trichoderma viride*, *Cladosporium herbarum*.

O tratamento biológico de sementes é o mais novo dos processos de tratamento de sementes contra patógenos, de modo que poucos estudos foram realizados, até hoje, para seu desenvolvimento e para sua maior utilização.

5.5 - Tratamento químico

O tratamento químico se baseia na ação de produtos químicos inibindo ou matando os patógenos de sementes. Sua utilização consiste na mistura das sementes com fungicidas obtendo uma adequada cobertura e, em alguns casos, uma penetração correta do produto na semente.

É o método mais utilizado para tratamento de sementes devido à facilidade de sua aplicação em locais onde outros métodos não possam ser utilizados ou não sejam eficientes, além da forte propaganda das firmas produtoras de fungicidas para sementes.

Os objetivos do tratamento químico são: reduzir ou eliminar os patóge

nos das sementes e protegê-las, assim como as futuras plântulas, do ataque de patógenos do solo. Os tratamentos físicos e bioquímicos não conferem essa proteção à semente e as plântulas contra os patógenos vivos no solo.

Um dos problemas do tratamento químico de sementes residia no fato de os fungicidas tradicionais não controlarem os patógenos que infectam profundamente as sementes. Com o advento dos fungicidas sistêmicos, parece que essa restrição não existe mais, pois, hoje, muitos patógenos que causam infecção profunda na semente são controlados por esses produtos.

Métodos de tratamento químico

O tratamento químico de sementes pode ser realizado por via úmida e por via seca.

O tratamento por via úmida consiste na imersão das sementes numa solução ou suspensão do fungicida em água, durante um determinado tempo, e, posteriormente, as sementes são postas a secar. Este método não deve ser utilizado para tratar sementes que absorvem água com rapidez ocasionando a ruptura do tegumento (leguminosas), nem deve ser recomendado para sementes mucilaginosas que se aglomeram quando molhadas (linho), e nem para hidrófobas pela desuniformidade do tratamento. Pode ser recomendado para sementes que tenham tegumento duro, como a maioria das gramíneas e hortícolas.

Este método não é muito utilizado, pois além das desvantagens citadas, apresenta ainda contra si o fato de exigir muito tempo, trabalho e espaço para a secagem das sementes.

Existem hoje, muitas variações do método de tratamento por via úmida, destacando-se o método da suspensão viscosa e o método da molhagem rápida.

No método da suspensão viscosa, o fungicida formulado em pó molhável é aplicado às sementes, na forma de uma viscosa (semelhante ao mel de abelha) através de equipamento especial. Uma variação desse método consiste na aplicação do fungicida seco às sementes, adicionando-se a seguir, 5 a 20ml de água por kg de semente, misturando-se muito bem. Isto garante uma cobertura uniforme sem molhar muito as sementes. Tanto no método da suspensão viscosa, como nessa sua variação, não há necessidade da secagem posterior das sementes tratadas.

O método da molhagem rápida consiste na mistura bem feita de um pequeno volume de uma solução de fungicida volátil (20 a 40ml por kg de sementes) com as sementes. Este método também não requer secagem posterior e pode ser indicado para sementes de sorgo, algodão, linho, arroz, trigo, aveia, etc. Em

vez de água, podem ser utilizados óleos, como era recomendado em nosso meio.

O tratamento por via seca consiste no tratamento da semente seca com fungicidas em pó, ou ainda, por fumigação, ou através de peletização.

Este tipo de tratamento evita a embebição da semente e a posterior secagem. Entretanto, apresenta a desvantagem de levantar o pó fungicida durante o tratamento, sendo muito mais perigoso aos operadores dos equipamentos, além de ser problemático para o tratamento de sementes muito pilosas ou muito lisas, que podem reter muito ou pouco fungicida, acarretando toxidez ou ineficiência do tratamento, respectivamente.

O tratamento de sementes via seca exige cuidados especiais com os operadores dos equipamentos: a sala de tratamento deve ter exaustores para a retirada do pó que fica suspenso no ar; os operários deverão ter a boca e o nariz protegidos por máscara com filtro de ar ou contra gás; devem ainda usar óculos e luvas para proteção; tomar banho com sabão, após cada período de trabalho, e não fumar durante a operação; as sementes tratadas devem ser acondicionadas em sacos que não permitam o levantamento de pó, com o qual foram tratadas.

A fumigação é outro método de tratamento químico de semente via seca. Consta da exposição das sementes ao efeito de fungicidas voláteis dentro de ambiente hermeticamente fechado, durante um determinado período de tempo. Este método elimina somente os patógenos da superfície das sementes, sem protegê-las contra os patógenos do solo.

A peletização de sementes consta do envolvimento das mesmas com um adesivo que geralmente é o acetato de celulose em solução diluída. A seguir, aplica-se um fungicida em pó que adere à semente, formando uma camada protetora. Desse modo, a semente fica envolta por uma camada constituída do fungicida e poderá, ainda, ter outra camada de material inerte, ficando de tamanho regular, o que facilita a operação de plantio e camufla a semente, evitando que seja consumida por pássaros no campo. Este tratamento tem sido utilizado com sucesso para sementes de pimentão, couve-flor, cenoura, cebola e milho.

A aplicação de fungicidas, tanto por via úmida como por via seca, geralmente, apresenta problema de cobertura das sementes. Tem-se tentado utilizar solventes orgânicos para possibilitar a penetração dos fungicidas no interior das sementes. A maioria dos solventes orgânicos testados tem se mostrado altamente tóxicos às sementes, de modo geral, principalmente quando eles entram em contacto com o embrião. Alguns deles mostraram bons resultados.

As sementes de soja, quando imersas em mistura de ciclorometano e be

nomil ou tiabendazol, durante um período de 15 minutos até 24 horas, permitiram a penetração desses fungicidas sistêmicos nas sementes. O mesmo procedimento, utilizando-se captan ou tiram, não proporcionou a penetração destes fungicidas.

Devido ao problema dos solventes orgânicos, pesquisadores norte-americanos testaram solução aquosa de polietileno-glicol 6000, que não é tóxico para as sementes nem para os operadores, permeabilizando o tegumento das sementes aos fungicidas sistêmicos e antibióticos.

Não se pode esquecer que toda semente tratada quimicamente deve ser embalada em recipientes apropriados, para reduzir a perda do fungicida, durante o manuseio da embalagem até o plantio. Nunca devem ser armazenados junto com grãos para consumo humano ou animal, nem junto com rações para animais.

A embalagem das sementes tratadas deve conter dizeres e símbolos bem visíveis, alertando que são impróprias ao consumo humano ou animal e, em hipótese alguma, poderão ser utilizadas para tal fim.

Características dos fungicidas para tratamento de sementes

Qualquer tratamento de semente deve ser baseado na análise sanitária do lote, pois, somente após conhecermos qual patógeno está envolvido, poderemos indicar um fungicida que seja eficiente.

As seguintes características são importantes nos fungicidas para tratamento de sementes:

- fungitoxicidade - o fungicida para tratamento de semente, seja ele específico ou de amplo espectro de ação, deve ser eficiente em eliminar o patógeno da semente e protegê-la dos patógenos do solo;
- fitotoxicidade - o fungicida não deve ser fitotóxico nas doses recomendadas pelo fabricante;
- distribuição e cobertura - é essencial que o fungicida apresente distribuição uniforme e cobertura completa na semente;
- aderência - é importante que o fungicida para tratamento de semente fique aderente à superfície da semente, não se soltando facilmente;
- tenacidade - o produto tem que resistir à ação de intempéries, não se decompor facilmente nem ser facilmente lavado pela água de chuva;
- toxidez ao homem e à fauna silvestre - o fungicida deve ser pouco tóxico ao homem e não agredir a natureza;
- compatibilidade - o fungicida deve ser compatível com outros fungicidas e com inseticidas para tratamento de sementes;

h) economia - o produto deve ser utilizado visando o aspecto econômico.

É evidente a dificuldade de se encontrar um fungicida perfeito, com todas as características adequadas para seu uso. Entretanto, essas características têm que ser levadas em consideração, para melhorar a eficiência do tratamento químico e não causar problemas ecológicos.

Principais fungicidas utilizados

Os fungicidas encontram-se formulados no comércio na forma de: pó seco, pó molhável, concentrado emulsionável, solução concentrada, etc.: compostos de ingredientes ativos, que é a substância química com ação contra o patógeno, e materiais inertes. Nas formulações líquidas espalhantes, dispersantes, emulsionantes e estabilizantes fazem parte da composição do produto. Nos pós molháveis agentes que permitem a suspensão do pó são adicionados nas formulações.

Os principais ingredientes ativos comumente utilizados para tratamento de sementes são os descritos a seguir.

Benomyl - fungicida sistêmico benzimidazólico, pouco tóxico ao homem (DL_{50} = 9.59 mg/Kg para ratos) e formulado em pó molhável. É eficiente no controle de Ascomicetos e Fungos Imperfeitos (exceto Dematiaceae) e agentes de carvões e cáries, e ineficientes para Fomicetos e bactérias. Indicado para tratamento de sementes de algodão, amendoim, aveia, cevada, cucurbitáceas, ervilha, fava, feijão, milho, soja, sorgo, trigo e vagem.

Captafol - fungicida heterocíclico nitrogenado de baixa toxicidade ao homem (DL_{50} = 6.200 mg/Kg para ratos), embora algumas pessoas sejam alérgicas a ele. Formulado na forma líquida em pó molhável. Indicado para tratamento de sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, feijão, milho, soja, sorgo, trigo e vagem.

Captan - fungicida heterocíclico nitrogenado de baixa toxicidade ao homem (DL_{50} = mg/Kg para ratos). Formulado em pó seco e pó molhável, além de formulado em mistura com PCNB. Indicado para sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, feijão, florestais, milho, soja, sorgo, trigo e vagem.

Carbendazim - fungicida sistêmico benzimidazólico, pouco tóxico ao homem (DL_{50} = 6.400 mg/kg para ratos) e formulado em pó molhável ou dispersão oleosa. Indicado para tratar sementes de aveia, cevada, milho, sorgo e trigo.

Carboxin - fungicida sistêmico do grupo das anilidas, pouco tóxico aos mamíferos (DL_{50} = 3.820 mg/Kg para ratos) e formulado em pó molhável. Indicado para o tratamento de sementes de algodão amendoim, arroz, aveia, café, cevada,

ervilha, fava, feijão, hortaliças, milho, soja, sorgo, trigo e vagem. Tem ação contra Basidiomicetos (ferrugens, carvões e cáries) e contra *Rhizoctonia solani*.

Chloroneb - fungicida sistêmico aromático de baixa toxicidade a animais (DL_{50} = 11.000 mg/kg para ratos) e formulado em pó molhável. Apresenta eficiência no controle de *Pythium* e *Rhizoctonia* spp. Indicado para o tratamento de sementes de algodão, amendoim, ervilha, feijão, soja e vagem.

Clorotetraciclina - antibiótico sistêmico do grupo das tetraciclinas, encontrado no comércio com o nome de Aureomicina, com 100% de cloridrato de clorotetraciclina. Utilizado de 1 a 2 g por litro de água. As sementes são imersas nessa suspensão durante 30 minutos e, posteriormente, são imersas por 30 minutos numa solução de 20 g de cloreto de sódio por litro de água para evitar o efeito fitotóxico do produto. É indicado para tratamento de sementes de crucíferas contra *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

DAPA - ingrediente ativo aromático, eficiente contra fungos dos gêneros *Pythium* e *Phytophthora*, mas altamente tóxico ao homem (DL_{60} = 60 mg/kg para ratos). Existe no mercado com o nome de Lesan que é uma mistura de 10% de DAPA com 75% de PCNB, aumentando a eficiência devido à ação de PCNB contra *Rhizoctonia* spp. Indicado para o tratamento de sementes de algodão, ervilha, fava, feijão, florestais, soja e vagem.

Dichlone - fungicida quimônico, pouco tóxico ao homem (DL_{50} = 1.300 mg/kg para ratos) e formulado em pó molhável. Indicado para tratar sementes de amendoim, arroz, ervilha, espinafre, feijão, milho, pimenta e tomate.

Estreptomicina - antibiótico sistêmico, pouco tóxico ao homem (DL_{50} = 9.000 mg/Kg para ratos), formulado em pó molhável com 20% de sulfato de estreptomicina (Distreptine-20). Indicado para tratamento de semente de algodão com *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, sementes de crucíferas com *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, para o controle de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e *Pseudomonas phaseolicola*, em sementes de feijão e de vagem, *Corynebacterium michiganense*, em semente de tomate, e *Xanthomonas vesicatoria*, em sementes de pimenta e pimentão.

Ethazol (Terrazol) - fungicida sistêmico heterocíclico nitrogenado de baixa toxicidade a mamíferos (DL_{50} = 2.000 mg/Kg para ratos) e formulado junto com PCNB em líquido e pó seco. Eficiente contra *Pythium* spp. e *Rhizoctonia* spp. Indicado para o tratamento de sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, ervilha, feijão, soja, sorgo, trigo e vagem.

Mercuriais

- a) Acetado de fenilmercúrio;
- b) Cloreto de metoxil mercúrio;
- c) Cloreto de mercúrio;
- d) Hidróxido de etoxietil mercúrio;
- e) Silicato de etoxietilmercúrio;

Hoje, esses produtos têm uso proibido pela legislação vigente no Brasil, devido aos prejuízos que causam ao homem e aos animais.

Metiram - fungicida tiocarbâmico polimérico, pouco tóxico ao homem (DL_{50} = 6.400 mg/Kg para ratos) e formulado em pó molhável. Indicado para o tratamento de sementes de amendoim, ervilha, fava, feijão, hortaliças, soja e vagem.

Pyracarbolid - fungicida sistêmico do grupo das anilidas, muito relacionado ao Carboxin, apresenta baixa toxicidade a mamíferos (5.976 mg/Kg para ratos) e formulado em dispersão, concentrado emulsionável, pó seco e pó molhável. Específico para controle de Basidiomicetos, principalmente carvões, câries e ferrugens, além de *Rhizoctonia* spp. Indicado para tratamento de sementes de algodão, arroz, aveia, cevada, milho, sorgo e trigo.

Quintozene (PCNB) - fungicida aromático, de baixa toxicidade ao homem (12.000 mg/Kg para ratos) e eficiente no controle de *Rhizoctonia* spp. Formulado em pó seco e pó molhável e indicado para tratamento de sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, ervilha, fava, feijão, milho, sorgo, trigo e vagem. No mercado, é encontrado formulado em mistura com DAPA ou Captan ou Ethazol.

TCMTB - fungicida heterocíclico nitrogenado, de baixa toxicidade ao homem (DL_{50} = 1.590 mg/Kg para ratos), formulado em concentrado emulsionável, apresentando ação bactericida e inseticida. Indicado para tratamento de sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, café, cevada, ervilha, feijão, milho, soja, trigo e vagem.

Thiabendazol - fungicida sistêmico benzimidazólico, pouco tóxico a animais (DL_{50} = 3.330 mg/Kg para ratos) e formulado em líquido, com corante, em pó seco e em pó molhável. Apresenta grande espectro de ação semelhante ao benomyl, sendo, também, ineficiente contra Flocomicetos. Indicado para o tratamento de sementes de amendoim, arroz, aveia, cevada, cucurbitáceas, ervilha, feijão, milho, soja, sorgo, trigo e vagem.

Thiram (TMTD) - fungicida tiocarbâmico polivalente de toxicidade média ao homem (DL_{50} = 780 mg/Kg para ratos), formulado em pó seco, suspensão

aquosa ou emulsão cremosa com óleo mineral, sempre com pigmento rosa. Indicado para tratar sementes de algodão, amendoim, arroz, aveia, café, melancia, melão, milho, pinus, pimentão, soja, sorgo, trigo e vagem.

Tiofanato metílico - fungicida sistêmico benzimidazólico de baixa toxicidade a mamíferos (DL_{50} = 6.640 mg/Kg para ratos). Apresenta espectro de ação semelhante ao benomyl e ao thiazabendazol e é formulado em pó molhável sozinho ou em mistura com chlorotalonil ou com thiram. Indicado para tratamento de sementes de aveia, milho, sorgo e trigo.

Tricyclazole - fungicida sistêmico específico para tratamento de sementes de arroz contra *Pyricularia oryzae*.

A comercialização dos fungicidas é um processo extremamente dinâmico. Anualmente, são retirados produtos do mercado e, ao mesmo tempo, novos produtos são lançados para comercialização. Atualmente, estão sendo testados experimentalmente produtos como Guazatine, Imazanil, Iprodione e Nuarimol, além de outros, que poderão estar no mercado em futuro próximo.

Eficiência do tratamento químico

O sucesso do tratamento químico depende das características do patógeno, da semente, do fungicida e do processo de tratamento.

Um lote de semente não deve ser tratado indiscriminadamente. O tratamento só pode ser prescrito após a análise sanitária das sementes, em laboratório para a identificação dos patógenos e sua possível localização na semente.

Os patógenos que se localizam na superfície da semente são facilmente controlados por diversos fungicidas. Quando se localizam no pericarpo, o controle químico é mais fácil e os fungicidas tradicionais geralmente apresentam controle parcial. Quando o patógeno se localiza no embrião, o controle é mais problemático ainda. Nesse caso, o tratamento físico apresenta controle satisfatório, como o apresentado pelos fungicidas sistêmicos. Quando o patógeno está presente na semente, como contaminação concomitante, o tratamento químico da semente não apresenta eficiência aceitável, sendo mais recomendada, nesse caso, a limpeza mecânica do lote de semente.

Para o controle de microrganismos presentes no solo, muitos princípios ativos são eficientes, embora por curto período do ciclo da planta.

O sucesso do tratamento químico depende das características da superfície da semente, de seu vigor e do seu teor de umidade. A superfície da semente, se lisa, enrugada ou pilosa, influi na dosagem do produto. Sementes apresentando baixo vigor, alto teor de umidade ou muitos danos mecânicos não devem

ser tratadas quimicamente, porque o tratamento poderá trazer-lhes mais prejuízos que vantagens.

As características do fungicida, como foi visto anteriormente, pode afetar a eficiência do tratamento químico, não se devendo esquecer também, que muitos patógenos têm habilidade de adquirir resistência a muitos ingredientes ativos tóxicos. A dosagem do produto sempre deve ser muito bem observada.

O processo de tratamento pode afetar substancialmente a eficiência do tratamento químico, quando executado por equipamentos para tratamento de grandes quantidades de sementes. As máquinas devem ser muito bem reguladas e seu funcionamento verificado constantemente.

6 - VARIETADES RESISTENTES

O uso de variedades resistentes é um dos mais eficientes métodos de controle de doenças das plantas cultivadas. Sempre que existam fontes com resistência satisfatória que possibilitem a obtenção de variedades resistentes, esse meio de controle deve ser utilizado por ser a medida mais econômica e que menos afeta o custo de produção.

Entretanto, a obtenção de variedade resistente a patógeno é uma tarefa árdua. Até a década de 60, a obtenção de variedade resistente era encarada como um programa contínuo, pois, pelos conhecimentos da época, a variabilidade do patógeno não permitia que se obtivesse uma variedade resistente para sempre.

Hoje o modo de pensar dos pesquisadores que trabalham nessa área está mudando. Isso ocorreu após o aparecimento das obras de Van der Plank (1963, 1968, 1975), propondo uma série de novas estratégias, baseadas em dinâmica de populações e conceitos para a obtenção de variedades resistentes para sempre.

A resistência de uma variedade a um patógeno não significa que ela não vai possuir esse patógeno em suas sementes, mas isso pode ocorrer e, às vezes, mesmo que o patógeno ocorra na semente, ele não infectará as plantas no campo.

A resistência de uma variedade a um patógeno ou a uma raça do patógeno pode ajudar na identificação da variedade, no laboratório ou no campo.

6.1 - Histórico

A história do melhoramento de plantas para resistência a patógenos

compreende várias fases ou eras:

a) Era Mendeliana.

Até o fim do século passado, não se conhecia a genética da resistência de plantas a patógenos. Essa era iniciou por volta de 1.900, com a publicação dos trabalhos de Biffen (1905) e outros que publicaram as leis de Mendel às relações patógeno-hospedeiros. Essa fase se caracterizou pelos trabalhos realizados, visando obter "variedades resistentes ao patógeno".

b) Era da raça fisiológica ou da raça patogênica.

Essa fase iniciou em 1911, com o trabalho de Barrus sobre a variação da patogenicidade de dois isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* a diferentes cultivares de feijoeiro. Nessa fase, começaram a aparecer os primeiros conceitos sobre a variabilidade do patógeno. Ela durou cerca de 40 anos e se caracterizou pelo volume de trabalhos realizados por Stakan, identificando raças de patógenos e obtendo variedades resistentes a raças patogênicas.

c) Era do gene para gene.

Essa era teve início na década de 40, com a teoria de Flor do gene para gene.

FLOR (1942), baseando-se em trabalhos de JOHNSON & NEWTON (1940), enunciou a teoria do gene para gene, trabalhando com a ferrugem do linho, causada por *Melampsora lini*. Diz essa teoria: "Para cada gene de resistência do hospedeiro, existe um gene complementar de virulência no patógeno, e vice-versa; para cada gene de virulência do patógeno, existe um gene de resistência no hospedeiro".

Hoje, são conhecidos muitos exemplos, onde relação gene para gene já foi demonstrada: *Puccinia sorghi*, em milho; *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *P. striiformis*, *P. recondita*, *Ustilago tritici*, *Tilletia caries*, *T. controversa* e *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*, em trigo; *Puccinia helianthi*, em girassol; *Hemileia vastatrix*, em café; *Venturia inaequalis*, em maçã; *Phytophthora infestans*, em batata; *Cladosporium fulvum*, em tomate; *Pyricularia oryzae*, em arroz; *Heterodera rostochiensis*, em batata; *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, em algodão e vírus do mosaico-do-fumo e do vira-cabeça, em tomateiro.

d) Era da interação genética patógeno-hospedeiro.

Essa era teve início na década de 60, com a divulgação das teorias de Van der Plank. Até essa época, os sistemas não consideravam o caráter quantitativo da resistência do hospedeiro ou da patogenicidade do microrganismo. Desse modo, a planta, ou era resistente ou era suscetível, não se considerando os níveis intermediários da resistência ou da suscetibilidade. Nessa fase, surgi-

ram trabalhos de pesquisadores, como ROBINSON (1969, 1971, 1973, 1976), CRILL (1977) e NELSON (1973, 1978), que consolidaram as teorias de Van der Plank.

6.2 - Conceitos fundamentais

O conhecimento de alguns conceitos básicos se faz necessário para se entender o que é resistência de uma planta a um patógeno.

Em primeiro lugar, o correto é se referir à "resistência do hospedeiro ao patógeno" e não à doença, mas o uso de resistência à doença já é consagrado na literatura, não podendo ser considerado como errado.

Considera-se como resistência, uma reação de defesa do hospedeiro em consequência da soma de fatores que tendem a diminuir a patogenicidade do agente causal, a partir do momento em que este e o hospedeiro estejam em contato. Como esses fatores, que podem conferir resistência, são variáveis, a reação de defesa e, conseqüentemente, a resistência também pode ser variável. Assim, o hospedeiro pode se apresentar, num extremo, como altamente resistente ou até imune, e no outro extremo, como altamente suscetível. Entre um extremo e outro, pode haver hospedeiros com diferentes níveis ou graus de resistência ou de suscetibilidade. A medida que se afasta do extremo de maior resistência, esta vai diminuindo à medida que aumenta a suscetibilidade.

Do ponto de vista genético, resistência é qualquer característica herdável do hospedeiro que diminua o efeito do patógeno.

O termo imune é sempre tomado em sentido absoluto e representa a incapacidade de estabelecimento das relações entre o patógeno e o hospedeiro, o que significa que não ocorre o processo doença. O conceito de imunidade não admite quantidade. O hospedeiro ou é ou não imune.

Considera-se como hipersensibilidade, uma reação local muito forte do hospedeiro em resposta ao ataque do patógeno. Essa reação local violenta compreende a morte rápida das células adjacentes ao local da penetração, impedindo a colonização do tecido do hospedeiro. Do ponto de vista prático, uma variedade hipersensível é altamente resistente ao patógeno, pois o mesmo não consegue desencadear o processo doença no hospedeiro.

Denomina-se tolerante uma planta que é atacada pelo patógeno no mesmo nível ou grau de suscetibilidade que outra planta, mas consegue conviver com o referido patógeno, sofrendo menos danos ou prejuízos que a outra. Esses danos se referem à produtividade, tanto quantitativa como qualitativamente.

Para doenças causadas por fungos e bactérias, a resistência e a sus-

etibilidade resultam em menor ou maior desenvolvimento do patógeno nos tecidos do hospedeiro, causando menor ou maior índice ou quantidade de doença.

Em doenças causadas por vírus, esses conceitos são um pouco diferentes. Resistência e suscetibilidade a vírus resultam em menor ou maior capacidade de multiplicação do vírus nos tecidos do hospedeiro. Todavia, essa capacidade de multiplicação do vírus não significa maior ou menor severidade da doença. Em certos casos, os hospedeiros suportam alta concentração do vírus em seus tecidos (plantas suscetíveis), mas não sofrem danos e não mostram sintomas da doença (são tolerantes).

6.3 - Classificação da resistência

A resistência de plantas a patógenos pode ser classificada de três modos: a) quanto ao aspecto genético; b) quanto à natureza; c) quanto ao aspecto epidemiológico.

a) Classificação genética.

Do ponto de vista genético, a resistência de planta a patógenos pode ser oligogênica e poligênica.

Diz-se que a resistência é oligogênica quando ela for governada por poucos genes. Nesse caso, ela pode ser estudada em detalhe com a identificação de cada gene envolvido, sua herdabilidade, a dominância ou a recessividade. A segregação de populações permite a separação das plantas em grupos distintos, devido à resistência conferida ser bem definida. Este tipo de resistência é pouco influenciada pelo ambiente.

b) Classificação quanto à natureza da resistência.

Quanto à natureza, pode-se classificar a resistência em: resistência à penetração e resistência ao desenvolvimento.

A resistência à penetração pode ser dividida em resistência de natureza física, geralmente na forma de barreiras mecânicas, e resistência química, quando constituída por características citoplasmáticas das células epidérmicas do hospedeiro.

Como exemplo de resistência à penetração de natureza física temos hospedeiros da família Rosaceae, que possuem pilosidade (*Prunus* spp.) ou cerosidade (*Malus* spp.) da epiderme, constituindo-se em barreiras para a adesão do inóculo à superfície dos frutos. A estrutura, o número e o tamanho de estôma-

tos também podem conferir resistência de natureza física à penetração.

Quanto à resistência à penetração de natureza química, temos o exemplo da cebola ao *Colletotrichum circinans*, em que as variedades com escamas coloridas são resistentes e as que apresentam escamas brancas são suscetíveis. As variedades com escamas coloridas produzem catecol, um composto fenólico não permitindo a germinação dos esporos e, conseqüentemente, a penetração no hospedeiro.

De um modo geral, a resistência à penetração do patógeno funciona como uma barreira passiva e não envolve resposta do hospedeiro.

A resistência ao desenvolvimento do patógeno é mais importante que a resistência à penetração, pois esta pode ser vencida por ferimentos ocasionados facilmente por muitos fatores, como insetos, nematóides, poeira e ventos, granizo, tratos culturais, ruptura natural do córtex, etc.

A resistência ao desenvolvimento do patógeno envolve processos fisiológicos, tanto do hospedeiro como do patógeno. Os fatores de resistência ao desenvolvimento podem atuar nas fases iniciais da colonização ou durante todo o processo da doença, refletindo na severidade da mesma.

Os fatores, que atuam contra o desenvolvimento do patógeno e/ou da doença, podem ser classificados em estáticos, quando já existentes no hospedeiro, ou dinâmicos, quando são resultantes da resposta da planta ao patógeno.

Como exemplo de fator estático, temos a avenacina, uma toxina pré-existente em plantas de aveia, que inibe o desenvolvimento de muitos patógenos a outros hospedeiros, como o *Ophiobolus graminis*. A forma especial *avenae* desse fungo consegue causar doença em aveia porque produz avenacinaze, um enzimo que neutraliza a atividade fungicida da avenacina. Sintetizando, conclui-se que os fungos patogênicos à aveia produzem avenacinaze e os não patogênicos à aveia não produzem esse enzimo.

A resistência dinâmica é devida à atividade fisiológica do hospedeiro, desenvolvendo substâncias químicas em resposta à presença do patógeno. É resultante da interação do metabolismo do hospedeiro com o do patógeno, dando origem ao metabolismo do tecido doente. Já foi demonstrado, em inúmeros casos, que o patógeno nos tecidos do hospedeiro produz toxinas que induzem o hospedeiro a produzir compostos fenólicos e fitoalexinas, como resposta à invasão, e esses produtos químicos conferem resistência ao hospedeiro contra o patógeno específico.

c) Classificação epidemiológica da resistência.

Quanto às conseqüências epidemiológicas, a resistência pode ser horizontal e vertical.

Quando se inoculam diferentes variedades com diferentes isolados do patógeno, classificando-se a resistência das variedades em níveis de 1 a 5, pode ocorrer (Quadro 1) ou não (Quadro 2) interação diferencial significativa entre variedades e isolados.

Quadro 1. Presença de interação diferencial

Raça	Variedade		
	A	B	C
X	5	1	1
Y	1	5	1
Z	1	1	5

Quadro 2. Ausência de interação diferencial

Raça	Variedade		
	A	B	C
X	3	4	5
Y	2	3	4
Z	1	2	3

No Quadro 1, para cada variedade escolhida, tem-se sempre uma ordem diferente de raças no sentido da maior para a menor capacidade de causar doença. Do mesmo modo, para cada raça escolhida, tem-se sempre uma ordem diferente de variedades no sentido do maior para o menor nível de resistência. Este é um exemplo típico da presença de interação diferencial.

No Quadro 2, para qualquer variedade escolhida, têm-se sempre as raças na ordem X, Y, Z, no sentido da maior para a menor capacidade de causar doença. Da mesma forma, qualquer que seja a raça escolhida, têm-se sempre as variedades na ordem A, B, C, no sentido do maior para o menor nível de resistência. Este é um exemplo característico da ausência de interação diferencial.

A resistência é denominada de vertical, quando ocorre a interação diferencial significativa e as raças são chamadas de raças virulentas.

Por outro lado, quando não ocorre a interação diferencial significativa, a resistência é definida como horizontal e as raças são denominadas raças agressivas.

Outra diferença entre dois tipos epidemiológicos de resistência é que a resistência vertical é eficiente contra algumas raças do patógeno, enquanto que a resistência horizontal é eficiente contra todas as raças do patógeno.

A resistência vertical envolve mecanismos de defesa do hospedeiro que

estão dentro da capacidade de exercer do patógeno. Geralmente, ela é conferida por poucos genes (oligogênica) e a ela se aplica a teoria do gene para gene de Flor, além de não estar associada ao maior vigor da planta.

A resistência horizontal envolve mecanismos de defesa do hospedeiro que estão além da capacidade de vencer do patógeno. Geralmente, ela é poligênica e a ela não se aplica a teoria de Flor, além de estar associada ao maior vigor da planta.

A resistência vertical somente atrasa o início de uma epidemia, não tendo influência na taxa de aumento da doença no campo, ao passo que a resistência horizontal não atrasa o início da epidemia, mas tem influência na taxa de aumento da doença, de modo que não ocorra epidemia.

Muitas vezes, uma variedade apresenta resistência a um patógeno em condições de campo e não se conhece que tipo de resistência ela apresenta, pois, em condições controladas de casa de vegetação, ela é suscetível a esse patógeno. Erradamente, essa resistência é chamada de resistência horizontal e, nesse caso, deveria ser chamada, apenas, de resistência de campo.

6.4 - Obtenção de variedades resistentes

Os trabalhos para obtenção de variedades resistentes a patógenos devem ser planejados e executados pelo melhorista e pelo fitopatologista em conjunto. Isto porque não se deseja obter uma variedade que só seja resistente ao patógeno, mas sim, uma variedade que possua inúmeras características genéticas desejáveis, que varia de cultura para cultura, associada à resistência.

Muitas variedades obtidas de trabalhos isolados do melhorista ou do fitopatologista não puderam ser recomendadas para uso dos agricultores, porque não apresentavam resistência a patógenos importantes, ou porque, embora resistentes aos patógenos, não apresentavam características agrônomicas, industriais ou culinárias desejáveis.

O primeiro passo para iniciar um trabalho de obtenção de uma variedade resistente é conhecer a importância econômica das doenças da cultura, onde vão ser trabalhados e selecionados os patógenos mais importantes para os quais serão obtidas variedades resistentes. É preciso saber, também, se a planta é de autofecundação ou de polinização cruzada e quais as taxas de cruzamentos naturais.

A seguir, são necessários conhecimentos sobre as características do patógeno, sabendo-se se é parasita obrigatório ou facultativo, tipo de reprodução,

sua sobrevivência na natureza, seu ciclo de vida, condições para seu desenvolvimento, esporulação e, principalmente, sobre sua variabilidade.

Com base na variabilidade do patógeno, determina-se qual método de melhoramento ideal, qual o tipo de resistência desejado. Exemplificando: se o patógeno apresentar pouca variabilidade, pode-se trabalhar com resistência vertical; se a variabilidade for muito grande, deve-se trabalhar no sentido de obtenção de resistência horizontal.

São necessários, ainda, conhecimentos sobre características do processo-doença, isto é, dos sintomas e das condições de ambiente para o desenvolvimento da interação patógeno-hospedeiro.

O passo seguinte será o da procura de fontes de resistência ao patógeno concomitantemente com os estudos da herança da resistência.

A procura de fontes de resistência pode ser feita em coleção de germoplasmas nativos ou exóticos introduzidos do exterior. Às vezes, a simples introdução de germoplasma alienígena pode resultar diretamente numa variedade resistente, como ocorreu com as cultivares IR-665, IR-841 e IR-899 de arroz irrigado que, após introduzidas no exterior, foram lançadas com cultivares recomendadas para plantio, em alguns estados brasileiros. Na época de lançamento, além de outras qualidades, eram resistentes ao brusone.

Para a detecção de fontes de resistência, é necessária a execução de testes para detectar os materiais resistentes.

Esses testes para detectar resistência são extremamente variáveis, em função das variáveis planta, patógeno e ambiente. Vários critérios podem ser utilizados para classificar as reações das plantas à doença, entre eles: tipo de infecção (clorótico, necrótico, pontos, presença de halo, etc); número de lesões; tamanho de lesões; porcentagem de tecido doente do hospedeiro; porcentagem de plantas doentes; limiar de infecção numérica (potencial de inóculo necessário para causar porcentagem igual da doença); severidade do curso de doença; critérios epidemiológicos envolvendo os parâmetros monocíclicos e os parâmetros policíclicos; redução da produção, etc.

A realização desses testes pode envolver desde teste em condições controladas dos fatores de ambiente e de inóculo, em laboratório, câmaras de crescimento e casa de vegetação, até testes em condições naturais no campo, sem inoculação artificial. Mas, todo e qualquer teste tem um aspecto em comum: as comparações das reações das plantas sempre são feitas em relação a germoplasmas de reação conhecida de resistência e de suscetibilidade ao patógeno.

Detectadas as fontes de resistência, o passo seguinte será escolher os

germoplasmas que deverão entrar no programa de melhoramento da cultura para obter variedades resistentes. Geralmente, parte-se de cultivares comerciais, já com ampla adaptação no local de cultivo, com o maior número possível de características desejáveis, que variam de cultura a cultura. Esses materiais irão ser cruzados com as fontes de resistência.

De posse das fontes de resistência e dos outros materiais que irão entrar no programa de melhoramento, vários caminhos podem ser seguidos, dependendo do método de melhoramento a ser utilizado.

Os métodos de melhoramento genético para produção de variedades resistentes não diferem dos métodos gerais de melhoramento, a não ser quanto ao aspecto do envolvimento de duas entidades variáveis, a planta e o patógeno. Geralmente, a variabilidade do patógeno é muito maior que a da planta e a obtenção de variedade resistente interfere no equilíbrio existente na natureza entre a planta e o patógeno.

Para que o método de melhoramento seja eficiente, é necessário que a resistência obtida abranja toda a variação genética de patogenicidade existente na população do patógeno. Se este objetivo não for conseguido, em pouco tempo, os indivíduos, biótipos ou patótipos não controlados pela variedade resistente, tenderão a aumentar e restabelecer o equilíbrio entre planta e patógeno, redundando no fracasso da variedade que passa a ser suscetível.

Os métodos de melhoramento podem ser encontrados com detalhes em ALLARD (1960). A escolha de método adequado de melhoramento depende de inúmeros fatores condicionados principalmente pela planta, patógeno, ambiente, tipo de resistência, herança da resistência, herdabilidade.

Assim, para obter um híbrido de milho resistente a um patógeno, deve-se introduzir o(s) fator(es) de resistência nas linhagens que irão compô-lo. Para se obter uma variedade resistente de uma espécie alógama, cuja resistência é monogênica e alta mente herdável, pode-se selecionar dentro das primeiras populações segregantes sem muito rigor para não se perder a variabilidade para outras características importantes para a cultura. Para se obter uma variedade resistente de uma espécie autógama, se os caracteres de resistência foram conhecidos por fatores monogênicos e altamente herdáveis, a seleção nas primeiras gerações segregantes é satisfatória e pode ser rigorosa. Nesse caso, se os fatores que conferem resistência foram poligênicos e de baixa herdabilidade, a seleção nunca poderia ser nas primeiras gerações segregantes, e sim, talvez, na quinta ou sexta geração segregante, evitando, com isso, a eliminação de muitas progênies que estariam segregando para resistên-

cia, mas que teriam outras características desejáveis.

A seleção de materiais resistentes deve ser feita pelo mesmo teste, para detectar fonte de resistência. Não se pode esquecer que a reação das plantas sempre deve ser avaliada comparativamente a um ou mais materiais de comportamento conhecido (controle) de resistência ou de suscetibilidade.

São citados vários exemplos de variedades resistentes que foram obtidas e utilizadas pelos agricultores. Citaremos apenas alguns como: trigo resistente a *Puccinia striiformis*; trigo resistente a *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*; trigo resistente a *Puccinia recondita*; cevada resistente a *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*; arroz resistente a *Pyricularia oryzae*; milho resistente a *Helminthosporium maydis*; milho resistente a *Puccinia sorghi*; café resistente a *Hemileia vastatrix*; tomate resistente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; tomate resistente a *Cladosporium fulvum*; sorgo resistente a *Sphacelotheca sorghi*; algodão resistente a *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum*; feijão resistente a *Colletotrichum lindemuthianum*; algodão resistente a *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*; tomate resistente a *Corynebacterium michiganense*; fumo resistente ao vírus do mosaico-ão-fumo.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- A.B.E.T.A. Manual de Fungicidas. São Paulo, Abeta Ed., 1974. 108p.
- ALLARD, R.W. Principles of plant breeding. New York, John Wiley & Sons Inc., 1960. 485p.
- BUTLER, E.J. & JONES, S.G. Plant Pathology. London, McMillan & Co. Ltd., 1949. 979p.
- CAMPINAS. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Descrição de cultivares em multiplicação pelo Departamento de sementes, mudas e matrizes. Campinas, 1983.
- CAMPINAS. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Normas de certificação de sementes. Campinas, 1983.
- CAMPINAS. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Padrões de sementes para 1985. Campinas, 1985. 32p.
- CAMPINAS. Instituto Agrônomo. Instruções Agrícolas para o Estado de São Paulo. 2ª Ed. Campinas, 1980. 273p. (Boletim 200).

- CARDOSO, C.O.N.; CARDOSO, E.J.B.N.; TOLEDO, A.C.D.; KIMATI, H. & SOAVE, J. Guia de Fungicidas. Ed. 1. Piracicaba, Summa Phytopathologica Ed., 1976. 209p.
- CARDOSO, C.O.N.; CARDOSO, E.J.B.N.; TOLEDO, A.C.D.; KIMATI, H. & SOAVE, J. Guia de Fungicidas. Ed. 2. Piracicaba, Summa Phytopathologica Ed., 1979. 235p.
- CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência e tecnologia e produção. Ed. 2. Campinas, Fundação Cargill, 1983. 429p.
- CHESTER, K.S. Nature and prevention of plant diseases. Philadelphia, The Blakiston Co., 1947. 525p.
- CHU, M. Incidence of *Rhizoctonia* in a cultivated and a fallow soil in Hong Kong. Nature, Washington, 211: 862-863, 1966.
- CHUPP, C. & SHERF, A.F. Vegetable diseases and their control. New York, The Ronald Press Co., 1960. 693p.
- CIOCCARONE, A. Zonate leaf spot of sorghum in Venezuela. Phytopathology, Lancaster, 39: 760-761, 1949.
- COMPÊNDIO de defensivos agrícolas. São Paulo, Organização Andrei Editora Ltda., 1985. 448p.
- CRILL, P. An assessment of stabilizing in crop variety development. Ann. Rev. Phytopathol., Palo Alto, 15: 185-202, 1977.
- DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J. & CRUZ FILHO, J. Tratamento de sementes - controle de patógenos. Viçosa, Imprensa Universitária UFV., 1980. 121p.
- DIMOND, A.E. Objectives in plant chemotherapy. Phytopathology, Worcester, 52: 1115-1118, 1962.
- DUNLEAVY, J. Races of *Peronospora manshurica* in the United States. Am. J. Bot. 58: 209-211, 1971.
- ELLIS, M.A.; FOOR, S.R. & SINCLAIR, J.B. Dichloromethane: nonaqueous vehicle for systemic fungicides in soybean seeds. Phytopathology, Adelaide, 66: 1249-1251, 1976.
- FLOR, H.H. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. Phytopathology, Lancaster, 32: 653-659, 1942.
- FREDERIKSEN, R.A. The role of plant quarantine in control of millet and sorghum diseases. Inter-American Symp. on the role of plant protection in crop improvement in Africa. Ibadan, Nigéria, 7-12 October, 1974. 10p.
- GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P. de C.T.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N. & SALGADO, C.L. Manual de Fitopatologia - doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 1968. 640p.

- GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P. de C.T.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O. N.; SALGADO, C.L.; KRUGNER, T.L.; CARDOSO, E.J.B.N. & BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. V.1. Princípios e Conceitos. 2ª Ed. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 1978. 381p.
- GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P. de C.T.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O. N.; SALGADO, C.L.; KRUGNER, T.L.; CARDOSO, E.J.B.N. & BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia. Vol. II. Doenças das Plantas Cultivadas. Ed.2. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 1980. 600p.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.F.; ZUCCHI, R.A. & ALVES, S.B. Manual de entomologia agrícola. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 1978. 531p.
- GAUMANN, E. Principles of plant Infection. London, Crosby Lockwood & Son, 1950. 543p.
- HALFON-MEIRI, A. Infection of chickpea seeds by *Ascochyta rabiei* in Israel. Pl. Dis. Repr., Beltsville, 54: 442-445, 1970.
- HEITEFUSS, R. & WILLIAMS, P.H. Physiological Plant pathology. Berlin, Springer-Verlag, 1976. 890p.
- HEPPERLY, P.R. & SINCLAIR, J.B. Aqueous polyethylene glycol solutions for treating soybean seed with antibiotics. Seed Sci. & Technol., Zurich, 5: 727-733, 1977.
- HEWETT, P.D. Seed standards for disease in certification. J. Natn. Inst. Agric. Bot. 15: 373-384, 1981.
- HEWITT, W.B. & CHIARAPA, L. Plant health and quarantine in international transfer of genetic resources. Cleveland, CRC Press, 1977. 346p.
- HOFFMANN, J.A. & PURDY, L.H. Effect of stage of development of winter wheat on infection by *Tilletia contraversa*. Phytopathology, Worcester, 57: 410-413, 1967.
- HORSFALL, J.G. Principles of fungicidal action. Massachussets, Chronica Botanica Co., 1956. 280p.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International Rules for Seed Testing. Proc. Int. Seed Test. Ass. 31: 1-152, 1966.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. Handbook on seed health testing. Working Sheets. Section 2. Zurich, ISTA, 1982.
- ISSA, E.; REGIS, J.M.N. de; VIEIRA, M.L.; ARAÚJO, J.T. de & MIYASAKA, S. Primeiros estudos para a produção de sementes sadias de feijão em regiões áridas do nordeste brasileiro. Arq. Inst. Biol., São Paulo, 31: 21-25, 1964.

- ITO, M.F.; SOAVE, J.; PARADELA FILHO, O. & ALMEIDA, L.D. Localização de área adequada para produção de semente sadia de feijão no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 7 (1,2): 18. 1981.
- KERNKAMP, M.F. & HAMARICK, G.A. Alfafa seed lots due to *Ascochyta imperfecta* Pk. (blackstem). *Phytopathology*, Baltimore, 42: 468. 1952.
- KOEHLER, B. & BEVER, W.M. Effect of fungicide and storage temperature on fungicide injury to wheat seed. *Pl. Dis. Repr.*, Beltsville, 40: 490-492, 1956.
- KOLK, H. Seedling diseases of cereals in Sweden. *Proc. Int. Seed Test. Ass.*, udade, 35: 51-67, 1970.
- KOMMEDAHL, T. & CHANG MEN, I.P. Biocontrol of corn root infection in the field by seed treatment with antagonists. *Phytopathology*, St. Paul, 65: 296-300, 1975.
- KOMMEDAHL, T. & WINDELS, C.E. Evaluation of biological seed treatment for controlling root diseases of pea. *Phytopathology*, Worcester, 58:1087-1096, 1978.
- KREUTZER, W.A. Selective toxicity of chemicals to soil microorganisms. *Ann. Rev. Phytopathol.*, Palo Alto, 1: 101-126. 1963.
- LAMBAT, A.K.; RAYCHAUDHURI, S.P.; LELE, V.C. and NATH, R.P. Fungi intercepted on imported soybean seed. *Indian Phytopath.* 22: 327-330. 1969.
- LASCA, C.C. Patologia e certificação de sementes. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 7: 7-9, 1981.
- LASCA, C.C. Sanidade de sementes. In: SEMINÁRIO PAULISTA DE SEMENTES E MUDAS, 1, São Paulo, 1984. *Anais. São Paulo, Ministério da Agricultura*, 1984. p. 363-378.
- LEACH, C.M. Phytopathogenic and saprophytic fungi associated with forage legume seed. *Pl. Dis. Repr.*, Beltsville, 44: 364-369, 1960.
- LEPPIK, E.E. Some epiphytotic aspects of squash mosaic. *Pl. Dis. Repr.*, Beltsville, 48: 41-42, 1964.
- MACKIE, W.W.; WILLIAM, C. & SMITH, F.L. Production in California of snap-bean seed free from blight and anthracnose. *Univ. California*, 1945. 23p. (Agric. Exp. Sta. Bull. 689).
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M. & TOLEDO, F.F. de. Manual de análise de sementes. 3 Ed. Piracicaba, Escola Sup. de Agric. "Luiz de Queiroz". 1983. 112p.
- MARICONI, F.A.M. Inseticidas e seu emprego no combate às pragas. São Paulo, Nobel, 1976. 466p. tomo 2.
- MARSH, R.W. Systemic Fungicides. New York, John Wiley & Sons, 1972. 321p.

- MACDONALD, W.C. Gray leaf spot of rape in Manitoba. Can. J. Pl. Sci. 39: 409-416, 1959.
- MEAD, H.W. Environmental relationships in a seed-borne disease of barley caused by *Helminthosporium sativum* Pammel, King and Bakke. Ca. J. Res. 20: 525-538, 1942.
- MELOTT, E.; DOI, T.; KUROSAWA, C. & ROSA, V.E. Tratamento de sementes de algodão com fungicidas como medida de controle de "rizoctoniose". Revista de Agricultura, Piracicaba, 51: 149-156, 1976.
- MENEZES, J.R. de. Estabelecimento de tolerância a patógenos associados a semente. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 1., Piracicaba - SP, 1984: Situação e perspectivas da patologia de sementes no Brasil. Anais, Piracicaba, CENA/USP-CNEN; Brasília, ABRATES, 1984. p. 124-125.
- MIDDLETON, J.T. Seed transmission of squash-mosaic virus. Phytopathology, Lancaster, 34: 405-410, 1944.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regras para análise de sementes. Brasília, Ministério da Agricultura, 1976. 188p.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Legislação da inspeção e fiscalização da produção e do comércio de sementes e mudas. Brasília, Ministério da Agricultura, 1979. 75p.
- MONTEITH, J.Jr. Seed transmission and overwintering of cabbage black rot. Phytopathology, Lancaster, 11: 53-54, 1921.
- MOORE, W.C. Seed-borne diseases. Ann. Appl. Biol. 33: 228-231, 1964.
- NEERGAARD, P. Tolerance in seed health testing a discussion on basic principles. Proc. Int. Seed Test. Ass., Wageningen, 27: 386-399, 1962.
- NEERGAARD, P. The infection percentage as a relative value in assessing disease tolerances for seed health testing. Proc. Int. Seed. Test. Ass., Wageningen, 27: 400-413, 1962.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. England, The Mac Millan Press Ltd. 1979. V.I-II. 1187p.
- NEERGAARD, P. A review on quarantine for seed. Copenhagen. Danish Government Institute for Seed Pathology for Developing Countries, 1980. 36p. (Contributions from the Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, 74).
- NELSON, R.R. Breeding Plants for Disease Resistance Concepts and Applications. Pennsylvania, The Pennsylvania University Press, 1973. p.401.
- NELSON, R.R. Genetics of horizontal resistance to plant diseases. Ann. Rev. Phytopathol., Palo Alto, 16: 359-378, 1978.

- NICHOLSON, J.F. & SINCLAIR, J.B. Effect of planting data, storage conditions and seed-borne fungi on soybean quality. Pl. Dis. Repr., Beltsville, 57: 770-775, 1973.
- NOBLE, M. Seed pathology. Nature, Washington, 168: 534-537, 1951.
- NOBLE, M. & MONTGOMERIE, I.G. *Griphosphaeria nivalis* (Schaffnit) Muller and von Arx and *Leptosphaeria avenaria* Weber on oats. Trans. Br. Mycol. Soc., London, 39: 449-459, 1956.
- PARLEVLIET, J.E. & ZADOKS, J.C. The integrate concept of disease resistance: a new view including horizontal and vertical resistance in plants. Euphytica, Wageningen, 26: 5-21, 1977.
- PERSON, C.; GROTH, J.V. & MYLYK, O.M. Genetic change in host-parasite population. Ann. Rev. Phytopathol., Palo Alto, 14: 177-188, 1976.
- PINTO-GANHÃO, J.F. *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson, uma nova bacteriose para Portugal. Agros., Lisboa, 45: 167-168, 1962.
- PONTE, J.J. Fitopatologia: princípios e aplicações. Vol. I. Fitopatologia Geral. Portaleza, Imprensa Universitária, UFCE, 1975. 250p.
- REDDY, D.B. Loose smut on wheat (in Laos). Roma, FAO, 1970. 140p. (Prot. Bull. 18).
- ROANE, C.W. Trends in breeding for disease resistance in crops. Ann. Rev. Phytopathol., Palo Alto, 11: 463-486, 1973.
- ROBINSON, R.A. Disease Resistance Terminology. Rev. Appl. Mycol., London, 48: 593-606, 1969.
- ROBINSON, R.A. Vertical resistance. Rev. Plant. Pathol., Palo Alto, 50: 233-239, 1971.
- ROBINSON, R.A. Horizontal resistance. Rev. Plant. Pathol., Palo Alto, 52: 483-501, 1973.
- ROBINSON, R.A. Plant Pathosystems. Berlin, Springer-Verlag, 1976. 184p.
- ROCHA, H.M. Contribuição do serviço de quarentena como limitante à disseminação de patógenos por sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE PATOLOGIA DE SEMENTES, 1., Piracicaba, 1984: Situação e perspectivas da patologia de sementes no Brasil. Anais, Piracicaba, CENA/USP-CNEN; Brasília, ABRATES, 1984. p. 55-59.
- RUSSEL, G.E. Plant breeding for pest and disease resistance. London, Butterworths & Co. Publishers Ltd, 1978. 485p.
- SACKSTON, W.E. Effect of pasmo disease on seed yield and thousand kernel weight of flax. Can. J. Bot., Ottawa, 28: 493-512, 1950.

- SCHAAD, N.W. & WHITE, W.C. Survival of *Xanthomonas campestris* in soil. Phytopathology, St. Paul, 64: 1518-1520, 1974.
- SCOTT, D.J. The importance to New Zealand of seed-borne infection of *Helminthosporium maydis*. Pl. Dis. Repr., Beltsville, 55: 966-968, 1971.
- SIMMOND, P.M. The influence of antibiosis in the pathogenicity of *Helminthosporium sativum*. Sci. & Agric. 27: 625-632. 1947.
- SOAVE, J. Quarentena para sementes. Summa Phytopathologica, Piracicaba, 7: 9-12, 1981.
- SOAVE, J. Perspectivas e prioridades de pesquisa em patologia de sementes no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 1., Piracicaba-SP, 1984: Situação e perspectivas da patologia de sementes no Brasil. Anais, Piracicaba, CENA/USP-CNEN; Brasília, ABRATES, 1984. p. 47-53.
- STAKMAN, E.C. & HARRAR, J.G. Principles of plant pathology. New York, The Ronald Press Company, 1957. 581p.
- STAKMAN, E.C. & HARRAR, J.G. Princípios de Patologia Vegetal. Buenos Aires, Editorial Universitario de Buenos Aires, 1963. 603p.
- STROBEL, G.A. & MATHRE, D.E. Outlines of Plant Pathology. New York, Van Nostrand Reinhold Company, 1970. 465p.
- TARR, S.A.J. The Fungi and Diseases of the Sudan. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1955. 127p.
- TARR, S.A.J. The Principles of Plant Pathology. London, McMillan & Co. Ltd., 1972. 632p.
- TAYLOR, J.D. The quantitative estimation of the infection of bean seed with *Pseudomonas phaseolicola* (Burkh.) Dowson. Ann. Appl. Biol. 66: 29-36, 1970.
- TOLEDO, F.F. de & MARCOS FILHO, J. Manual das sementes-tecnologia da produção. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 1977. 224p.
- TVIT, M. & MOORE, M.B. Isolates of *Chaetomium* that protect oats from *Helminthosporium victoriae*. Phytopathology, Baltimore, 44: 686-689. 1954.
- VAN DER PLANK, J.E. Plant Diseases: Epidemics and Control. New York, Academic Press, 1963. 349p.
- VAN DER PLANK, J.E. Disease Resistance in Plants. New York, Academic Press, 1968. 206p.
- VAN DER PLANK, J.E. Principles of Plant Infection. New York, Academic Press, 1975. 216p.
- VEIGA, R.F.A.; ARANHA, C. & OLIVEIRA, W.R. Informações sobre o serviço de introdução de plantas do Instituto Agronômico. Campinas, Instituto Agronômico, 1983. 35p. (Circular 122).

- WALKER, J.C. Plant Pathology. New York, McGraw-Hill Book Company Inc., 1950. 699p.
- WALKER, J.C. Patologia Vegetal. Barcelona, Ediciones Omega, 1965. 818p.
- WALKER, J.C. Use environmental factors in screening for disease resistance. Ann. Rev. Phytopathol., Palo Alto, 3: 197-208, 1965.
- WALKER, J.C. Plant Pathology, 3rd ed. New York, McGraw-Hill Book Company, 1969. 819p.
- WALKER, J.C. & STAKMANN, M.A. Chemical nature of disease resistance in plants. Ann. Rev. Plant. Physiology 6: 351-366, 1955.
- WATSON, D.R.W. Bean common blight and fuselous blight in New Zealand. Pl. Dis. Reprt., Beltsville, 54: 1068-1072, 1970.
- WATSON, I.A. Changes in virulence and population shifts in plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol., Palo Alto, 8: 209-230, 1970.
- WETZEL, M.M.V. da S.; BETTIOL, E.M. & FAIAD, M.G.R. Bibliografia brasileira de patologia de sementes. Brasília, EMBRAPA/DID, 1981. 177p.
- WHEELER, B.E.J. An introduction to plant diseases. London, John Wiley & Sons Ltd., 1974. 374p.
- WILHELM, S.; SAGEN, J.E.; TIETZ, H. & GEORGE, A. Vertical distribution of fungus suggests rigolen plowing for control of *Verticillium* wilt in cotton. California Agric. 21(5): 2-4, 1967.

CAPÍTULO IX

FUNGOS DO ARMAZENAMENTO

Maria Magaly Velloso da Silva Wetzel ⁽¹⁾1 - INTRODUÇÃO

As sementes são suscetíveis à invasão de fungos durante o seu crescimento, na maturação, e, mesmo após a colheita, no armazenamento.

Os microorganismos que atacam as sementes no campo, são capazes de causar danos tais como o aborto do óvulo fecundado, a má formação da semente, a redução da capacidade germinativa, o aparecimento de manchas, etc. Após a colheita, no armazenamento, os danos causados pelos microorganismos podem continuar, provocando a redução ou perda da capacidade germinativa, a descoloração ou formação de manchas, transformações bioquímicas, perdas de peso e a produção de toxinas.

Os danos causados pelos microorganismos às sementes durante o seu crescimento e a maturação, são bastante conhecidos e estudados. Entretanto, os danos causados pelos microorganismos às sementes ou grãos durante o armazenamento são o resultado de estimativas. A FAO (NEERGAARD 1977) estima em 5% as perdas de todos os alimentos produzidos no mundo, em forma de grãos, do período da colheita até o consumo. Este prejuízo pode aumentar para 30% ou mais, se considerarmos um país em particular ou uma região. A estimativa destas perdas de alimentos, principalmente no caso de grãos, é um processo bastante complexo, pela falta de estudos neste campo. Estas perdas representam valores tão significativos que a Organização das Nações Unidas, em 1975, estabeleceu um plano de trabalho visando a sua redução ("National Academy of Sciences").

Segundo CHRISTENSEN & KAUFMANN (1969) um programa para evitar as

⁽¹⁾ Eng^a Agr^a, M.Sc., CENARGEN/EMBRAPA, Caixa Postal 10.2372, 70.770 Brasília, DF.

perdas durante o armazenamento dos produtos agrícolas, resultaria em um aumento de 10-20% de alimentos para os povos.

No armazenamento pode, também, ocorrer o ataque de insetos e roedores, que juntamente aos ataques de fungos, chegam a ocasionar a diminuição do peso do produto, fermentação, ranço, e outros processos que modificam as suas qualidades organolépticas. Quanto a perda ocasionada por insetos, estima-se que no Brasil esteja entre 12 e 30%. Além da própria ação direta do inseto, com uma conseqüente redução de peso e de valor dos alimentos, ocorrem os danos indiretos, tais como: aquecimento da massa, fermentação, maior ataque de microrganismos, liberação de ácidos graxos, etc. (PUZZI, 1973).

Grãos e sementes, são produtos agrícolas diferenciados que requerem tecnologias adequadas e diferenciadas de produção e armazenamento. No armazenamento de sementes, as perdas citadas ocorrem com o detrimento da qualidade e afeta o estabelecimento da nova lavoura. O controle das condições para armazenamento de sementes é mais rigoroso do que para o armazenamento de grãos. Entretanto, mesmo tratando-se de grãos, se o armazenamento não for adequado pode ocorrer a presença de micotoxinas, compostos tóxicos produzidos pelos fungos que são prejudiciais ao homem e aos animais, podendo ocasionar até a morte.

Os fungos que atacam as sementes e grãos são classificados como fungos de campo e do armazém. São considerados fungos de campo aqueles que atacam a semente ou grão antes da colheita, ou seja, no período do seu crescimento e maturação. A maioria dos fungos de campo, que infectam o produto agrícola antes da colheita requerem para o seu crescimento uma unidade relativa em torno de 90-95%. Em sementes amiláceas isto significa um teor de unidade da semente em torno de 25%, na base úmida. Estes organismos não continuam a crescer quando o teor de unidade da semente decresce e a temperatura do armazém for baixa. Portanto, o desenvolvimento do fungo do campo em sementes depende do teor de unidade e da temperatura do ambiente (CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1969). Os danos causados por estes fungos ocorrem no campo, entretanto, eles podem sobreviver por anos em sementes armazenadas com baixos teores de unidade e baixas temperaturas (CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1965; WETZEL et al., 1983). CHRISTENSEN & KAUFMANN (1965) informaram que os fungos dos gêneros *Fusarium* e *Helminthosporium* desaparecem dos grãos em poucos meses, quando as condições são para o armazenamento de alimentos. E WETZEL et al. (1983) constataram que o fungo *Phomopsis sojae* sobreviveu por 3 anos em sementes de soja armazenada, à 10°C e 25% UR, em condições de armazenamento de sementes.

Após as sementes serem colhidas e armazenadas, elas estão sujeitas a invasão e injúria por um grupo de fungos, designados de fungos do armazém. Estes fungos, principalmente dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, são adaptados a ambientes com baixa umidade, podendo se desenvolverem em materiais cujos conteúdos de umidade estejam em equilíbrio com umidade relativa de 65-90%. Alguns deles, como *Aspergillus halophilicus* e *A. restrictus* requerem alta pressão osmótica para crescerem, e se desenvolvem muito pouco em meio de agar, se este não contiver consideráveis quantidades de açúcar ou sal. Por exemplo o *A. halophilicus* requer mais de 10% NaCl, ou mais de 40% de sucrose no meio para crescer. Espécies de *Penicillium* usualmente são encontradas em lotes de grãos armazenados a baixa temperatura e com conteúdo de umidade dos grãos acima de 16%.

Cada espécie de *Penicillium* tem o seu próprio limite mínimo de umidade relativa (ou conteúdo de umidade no grão) para se desenvolver. Por exemplo, o limite mínimo da umidade do grão na base úmida, de *A. restrictus* é de 13,2%, para *A. candidus* é de 15,0% e para *A. flavus* é de 180,0%. Portanto, o tipo de fungo em um dado lote de grão, usualmente, indica o conteúdo de umidade do produto agrícola armazenado. Baseado no fato de que cada microrganismo requer um determinado teor de umidade no grão para o seu desenvolvimento, e de também requerer uma determinada temperatura e uma determinada atmosfera interna do volume armazenado, PELHATE (1979) desenvolveu o trabalho sobre evolução da microflora em sementes armazenadas, concluindo que à medida que as condições ambientais variavam havia uma predominância transitória para diferentes espécies de fungos.

Normalmente os fungos do armazenamento não invadem os grãos antes da colheita, entretanto, eles tem sido encontrados nos testes realizados em grãos recém-colhidos, em uma percentagem muito baixa, em torno de 1%. Eles podem estar presentes no grão, não apenas como contaminantes, mas também como micélio dormente dentro dos tecidos do tegumento. Plantas em fase reprodutiva, inoculadas com fungos de armazenamento, não apresentam uma alta percentagem de sementes infectadas. TUIE (1959), cultivou em meio de cultura, 73.200 grãos superficialmente desinfetados, originados de 732 amostras de trigo do Estado de Indiana, E.U.A., de campos que tinham tido suas colheitas retardadas devido a fortes chuvas, e obteve apenas 25 grãos infectados, uma relação de 1 grão infectado para cada 100, mostrando que o campo não é uma boa fonte de inóculo para estes fungos.

Uma das características destes microrganismos é justamente o seu alto

poter de propagação, e, embora presentes no campo em percentagem baixíssima, se multiplicam tremendamente em poucos dias, desde que tenham condições de ambiente favorável. São conhecidos casos em que a semente de milho é colhida, transportada para o armazém e, em poucas horas, apresenta um violento crescimento de fungos.

Os silos do armazém são considerados outras fontes de inóculo, talvez, a maior. Já foram realizados testes, nos quais, placas com meio de cultura próprio para estes organismos foram colocadas nas saídas de ar dos silos, por alguns segundos, e apresentaram altíssima percentagem de fungos, especialmente *Aspergillus restrictus*, *A. repens*, *A. candidus*, *A. ruber*, entre outros.

2 - CONDIÇÕES QUE FAVORECEM O DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS NO ARMAZENAMENTO

As principais condições que favorecem o desenvolvimento de fungos no armazém são: (1) umidade; (2) temperatura; (3) período de armazenamento; (4) grau de contaminação; (5) impurezas; (6) insetos; (7) taxa de oxigênio; (8) colheita e beneficiamento; e (9) condições do grão ou da semente.

Umidade - Cada espécie de fungo requer um mínimo de umidade no grão necessário ao seu desenvolvimento. Por exemplo: se o trigo for armazenado com 14-14,5% de umidade a uma temperatura de 22°C, será fracamente invadido por *A. restrictus*; à medida que aumentar o teor de umidade do grão e a temperatura, a invasão será proporcional (CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1969). Também, à medida que o teor de umidade da semente for decrescendo a ocorrência das espécies de fungo vão variando. Em geral, as espécies do gênero *Penicillium* se desenvolvem em sementes com teores de umidade maiores que as espécies do gênero *Aspergillus*. (Quadro 1).

Temperatura - Os fungos do armazenamento em geral, crescem mais rapidamente à 30-32°C. Entretanto, algumas raças de *Aspergillus glaucus* crescem lentamente próximas de 0°C, e certas espécies de *Penicillium* podem crescer à temperatura de alguns graus abaixo de zero. Em geral, estes fungos têm para o seu máximo desenvolvimento, uma temperatura ótima em torno de 30-40°C (Quadro 1). A maioria dos fungos de campo são sensíveis a altas temperaturas e usualmente desaparecem em tais condições. Entretanto, *Alternaria tenuis* pode se desenvolver a temperaturas acima de 40°C (NEERGAARD, 1977). Pelo controle de umidade e temperatura do grão ou da semente pode-se reduzir a incidência e

Quadro 1. Temperaturas mínimas, ótimas e máximas e umidades relativas mínimas para o desenvolvimento de fungos do armazenamento (CHRISTENSEN, 1972)

FUNGOS	Temperatura			Umidade Relativa mínima
	Mínima	Ótima	Máxima	
	°C			%
<i>Aspergillus halophilicus</i>				68
<i>A. restrictum</i>	5-10	30-35	40-45	70
<i>A. glaucus</i>	0-05	30-35	40-45	73
<i>A. candidus</i>	10-15	45-50	50-55	80
<i>A. flavus</i>	10-15	40-45	45-50	85
<i>Penicillium</i>	(-5)-00	20-25	35-40	85

a população de fungos no armazenamento, (CHRISTENSEN, 1973)

Período de armazenamento - Período longo de armazenamento pode ser uma condição favorável ao desenvolvimento de fungos. O período de armazenamento de grãos pode variar de poucos dias à meses, e de acordo com o período, existem tabelas que indicam qual a temperatura e a umidade do grão adequada à manutenção das qualidades organolépticas do produto (PUZZI, 1973). Em se tratando de armazenamento de sementes, as condições requeridas vão estar também, na dependência da finalidade desse mesmo armazenamento. Quando se trata de armazenamento entre safra, as sementes devem ser secas a valores médios de 12%, e mantidas em armazém, unidade de armazenamento ou galpões com boa aeração, a fim de assegurar temperaturas médias baixas. Porém, se o período do armazenamento for maior, é requerido que a umidade da semente seja menor do que 12% e temperaturas relativamente baixas. Para o armazenamento por longos períodos, usado para conservação de germoplasma-semente, são recomendadas as condições de -18°C com teores de umidade das sementes em torno de 6-7%.

O armazenamento com vistas a conservação de germoplasma apresenta uma situação particular: resultados de pesquisas realizadas com o germoplasma armazenado tem mostrado que os chamados fungos do campo estão sobrevivendo por anos nas sementes e mantendo sua patogenicidade. Como exemplo temos: *Helminthosporium oryzae*, em sementes de arroz, *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão, *Cercospora* spp em sementes de gergelim, *Fusa-*

rium sp em sementes de milho, *Colletotrichum dematium* em sementes de soja, entre outros, (WETZEL, 1987).

Grau de contaminação - Denomina-se grau de contaminação a quantidade de esporos ou micélio de fungos que os grãos ou sementes possam conter. Quanto maior for esta incidência inicial, maior potencial de crescimento existirá no material a ser armazenado.

O grão com alto grau de contaminação por fungos, se for imediatamente armazenado após a colheita e encontrar condições favoráveis ao desenvolvimento destes microrganismos, uma elevada porcentagem de danos ocorrerá em um curto período de tempo. Por outro lado, se as condições de unidade e temperatura não forem favoráveis ao desenvolvimento dos fungos, o período de armazenamento poderá se prolongar, sem detrimento do produto. Deve ser considerada a possibilidade de contaminação de um lote de sementes ao chegar para o armazenamento pela simples passagem nos elevadores da unidade de beneficiamento.

Impurezas - As impurezas consistem em partículas menores que as próprias sementes, pedaços destas, sementes de ervas daninhas, fragmentos de plantas, partes de insetos, solo etc, contido na massa da semente. Este material pode ser portador dos fungos que irão invadir a semente no armazenamento, e além disto, contribuir para o aumento da umidade dentro do volume armazenado favorecendo o desenvolvimento dos fungos do armazenamento.

Insetos - Os insetos oferecem condições favoráveis ao desenvolvimento dos fungos por dois fatores: a) aumentam o teor de umidade do lote armazenado; b) aumentam a disseminação dos fungos carregando os seus esporos entre e dentro dos grãos. AGRANAL et al. (1957) encontraram uma constante relação entre a lagarta dos grãos e fungos do armazenamento. A medida que aumentava a infestação de insetos, aumentava a porcentagem de fungos nos grãos armazenados. A fumigação pode matar os insetos, porém este tratamento tem pouco ou nenhum efeito sobre os fungos do armazenamento, que continuam a se desenvolver após a morte dos insetos.

Taxa de oxigênio - Quanto à necessidade de oxigênio para sobrevivência das espécies, os microrganismos podem ser divididos em anaeróbicos - os que vivem na ausência de oxigênio livre, e os aeróbicos que necessitam de oxigênio. Pode-se encontrar bactérias nos dois grupos, mas, os fungos são predom-

minantes aeróbicos, não se desenvolvendo em ambiente no qual a taxa de oxigênio for baixa. Existem fungos que não apresentam crescimento micelial ou germinação de esporos em ambientes com taxas de oxigênio de 1%. Esta paralização de suas atividades é independente das outras condições ambientais, como temperatura, umidade, etc.

Colheita e beneficiamento - A colheita e beneficiamento podem predispor o produto a uma maior atividade de fungos no armazenamento. Por exemplo, se o teor de umidade das sementes ou grãos na colheita for muito alto pode favorecer o aparecimento de "mofo", de exigindo maior período de tempo de secagem, o que poderá induzir a um aquecimento em determinado produto. Os danos mecânicos que ocorrem na colheita e beneficiamento destroem a barreira natural à entrada de microrganismos, que é oferecida pelo tegumento. Portanto, as rachaduras que podem ocorrer por dano mecânico ou por processamento inadequado (secagem rápida, quedas, etc.) podem colocar os fungos diretamente em contato com o tecido de reserva da semente, favorecendo a sua atividade.

Condições do grão ou da semente - Algumas sementes apresentam certas características inerentes às espécies vegetais, como por exemplo, sementes que são mais suscetíveis a rachaduras e a quebras do que outras, conseqüentemente, tornando-as mais suscetíveis à invasão dos fungos do armazenamento. O fator idade ou grau de deterioração da semente pode oferecer condições de maior predisposição ao ataque de fungos. Assim, quanto mais velha ou mais deteriorada, maior predisposição ao ataque de fungos. O ataque de insetos na lavoura, e outros danos podem favorecer o desenvolvimento de fungos. Observa-se que algumas espécies de sementes como as de amendoim, algodão e mamona são suscetíveis à maior incidência e diversidade de fungos do que sementes de cereais.

3 - DANOS CAUSADOS POR FUNGOS EM SEMENTES OU GRÃOS ARMAZENADOS

Os principais danos causados por fungos em sementes ou grãos armazenados e o aparecimento de eventos desfavoráveis, são: (1) decréscimo de germinação; (2) descoloração de parte ou de todo o grão; (3) aquecimento e "mofo"; (4) transformações bioquímicas; (5) produção de toxinas; (6) modificações celulares, e outros.

Em qualquer caso de contaminação por fungos podem ocorrer os três primeiros fatores, e dependendo do caso, pode também ocorrer transformações

bioquímicas, produção de toxinas e perda de peso. Qualquer destas mudanças, incluindo produção de toxinas, pode ocorrer sem que o fungo responsável por elas se torne visível a olho nu.

Decréscimo de germinação - Os fungos do armazenamento podem matar as sementes que invadem, pois o embrião é o principal e mais favorito lugar de infecção destes microrganismos.

FIELDS & KING (1962) trabalhando em experimentos de conservação de sementes de ervilha, ao comparar sementes contaminadas com fungos de armazenamento com sementes limpas, demonstraram que as sementes contaminadas armazenadas à 85% de umidade relativa e 30% de temperatura, após 6 meses não apresentavam germinação, enquanto que as sementes livres de fungos mantiveram-se a 95%. CHRISTENSEN & LOPEZ (1963) indicam, no Quadro 2, a extensão da perda da germinação das sementes invadidas por fungos sob diferentes condições ambientais. As sementes de milho, trigo e sorgo mantiveram a percentagem de germinação de 90-95%, com um conteúdo de umidade e temperatura não tão favoráveis, enquanto que sementes inoculadas com fungos do armazenamento perderam sua germinação em poucas semanas ou meses.

Como cada microrganismo tem seu limite mínimo de umidade para se desenvolver, qualquer pequena diferença no conteúdo de umidade da semente é suficiente para favorecer o desenvolvimento destes organismos e, conseqüentemente, diminuir a percentagem de germinação da semente. Novamente, CHRISTENSEN & LOPEZ (1963) apresentaram um exemplo com sementes de trigo, que foram armazenadas com diferentes teores de umidade à 20-25°C por 100 dias. No final do período, a amostra com 14,4% de umidade apresentou 570.000 colônias de *A. restrictus* por grama de grão; a amostra com 14,6% de umidade apresentou 2.710.000 colônias do fungo por grama e a com 14,9% tinha 4.910.000 colônias. Indicam esses dados que pequenas diferenças, nem sempre fáceis de se detectar na semente, são suficientes para favorecer o crescimento deste organismo e ocasionar o decréscimo ou a perda total da germinação.

HARMAN & PFLIEGER (1974) trabalhando com diversos isolados de diversas espécies de *Aspergillus* e com sementes de várias culturas (trigo, ervilha, abóbora e tomate) obtiveram diferentes respostas. As sementes de trigo foram suscetíveis a todos os isolados de *Aspergillus*, afetando a sua germinação e tendo o fungo se localizado no embrião; as sementes de ervilha apresentaram decréscimo de germinação apenas quando inoculadas com *A. glaucus* e *A. restrictus*, e os fungos mantiveram-se nas camadas de células mortas entre o

Quadro 2. Redução da percentagem de germinação das sementes causada por fungos do armazenamento

Semente	Unidade da Semente	Temperatura	Armazenamento	Fungos de Armazenamento	Germinação
	%	°C	meses		%
Milho	17,0-18,0	15	24	Livre de fungos	96
				Inoculada com fungos de armazenamento	00
	18,5	20	03	Livre de fungos	97
Trigo				Inoculada com <i>A. glaucus</i>	56
	15,5-15,7	20-25	1,5	Livre de fungos	95
		25		Inoculada com <i>A. restrictus</i>	05
	16,0-16,4	25	02	Livre de fungos	90
				Inoculada com <i>A. candidus</i>	25
Sorgo	15,8	28	1,5	Livre de fungos	95
				Inoculada com fungos de armazenamento	35

FONTE: CHRISTENSEN & LOPEZ, 1963.

tegumento e o embrião; as sementes de abóbora inoculadas embora tivessem sofrido o processo de infecção, a germinação não foi afetada com a inoculação de *A. flavus*, e os fungos mantiveram-se em células mortas entre o tegumento e o embrião; as sementes de tomate não foram afetadas por nenhum dos isolados de *Aspergillus*. Este trabalho sugere que os isolados de *Aspergillus* testados apresentaram diferentes patogenecidades e localizaram-se no embrião e no tegumento das sementes das espécies estudadas.

Descoloração - Em grãos de cereais, os embriões escurecidos são considerados como danificados, e o trigo com tais embriões são referidos comercialmente como doentes. No laboratório, este tipo de dano pode ser produzido por diversos fatores, mas na prática, o embrião danificado ou escurecido está sempre associado com uma grande incidência de fungos. Para a produção de farinha este fator é importante, pois o embrião não se separa facilmente do endosperma, produzindo uma farinha com pontuações escurecida, desvalorizando esse produto e tornando-o impróprio ao consumo, CHRISTENSEN & KAUFMANN, 1965).

Aquecimento e "mofo" - Qualquer material orgânico úmido é capaz de se aquecer quando armazenado. O aquecimento espontâneo do adubo composto pode ser utilizado para manter uma temperatura favorável ao crescimento e desenvolvimento de cogumelos. O aquecimento é o resultado da alta taxa de respiração dos grãos ou sementes úmidas contaminada com microorganismos. Em alguns produtos foi constatado que os microorganismos são responsáveis por aquecimento de até 75°C. A presença de insetos, também contribui para o aquecimento e a disseminação dos fungos dentro do ambiente de armazenamento. Temperaturas altas, resultante do aquecimento e umidades altas são responsáveis pela rápida deterioração das sementes. No início do processo de aquecimento há um decréscimo e, posteriormente, a conseqüente perda da germinação das sementes. No prosseguimento do processo ocorrem as transformações bioquímicas, perda de peso, produção de toxinas, que vão tornar o produto impróprio para o consumo. O aparecimento de micélio de fungos envolvendo os grãos, chamado vulgarmente de "mofo", é uma conseqüência do processo.

Transformações bioquímicas - O processo de deterioração, que ocorre em grãos armazenados, pode ser acompanhado pelo aumento de ácidos graxos, constituindo-se o ranço. Este ranço resulta da oxidação ou hidrólise da matéria graxa, pela catalização da enzima lipase dando origem aos ácidos graxos

livres. Quando os grãos são armazenados com alto teor de umidade em temperaturas elevadas, há a conseqüente formação de ácidos graxos livres, sendo este processo acelerado pela ação dos fungos presentes. Estas transformações são de suma importância para grãos oleaginosos, como algodão, que podem ter o seu óleo impróprio para o consumo humano.

Produção de toxinas - Muitos fungos de campo ou armazém produzem substâncias que são venenosas, e algumas vezes fatais ao homem e aos animais. A produção de micotoxinas depende da espécie do fungo e das condições ambientais para o seu desenvolvimento. A mais comum, até o presente, é a aflatoxina, produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, porém existem outras, tais como: ochratoxina (*Aspergillus ochraceus*); rubratoxina (*Penicillium rubrum*) e haptoxina (*Penicillium viscidicatum*). Desde 1934, há relatos a respeito de mortes de animais causados pela ingestão de "rações mofadas", porém, só em 1962, com a ocorrência da morte de 100.000 perús na Inglaterra, alimentados com ração de amendoim portadora da aflatoxina, é que foi dada a devida importância às micotoxinas.

Atualmente, a pesquisa têm indicado que outros fungos, além dos tradicionalmente considerados saprófitas, produzem toxinas. Diversas espécies de *Fusarium*, quando desenvolvidos em certas condições ambientais podem produzir toxinas, que causam sérios problemas em suínos, como a infertilidade, lesões internas ou externas e, dependendo da quantidade ingerida, até a morte (CHRISTENSEN, 1978).

O ergotismo, que tantos prejuízos causou na Idade Média ao ser humano, difere das demais micotoxicoses, porque nele para ocorrer a doença é necessário o consumo de considerável quantidade de tecido do fungo, nos quais as toxinas são encontradas. O fungo *Claviceps purpurea* infecta as flores de gramineas, silvestres ou cultivadas, formando uma massa micelial, o esporão, que ingerido causa a intoxicação ou morte.

O conhecimento da ação das toxinas produzidas pelos fungos em sementes armazenadas ainda é pequeno. Entretanto, HARMAN, GRANETT & NASH (1972) sugerem que a toxina produzida por *Aspergillus ruber* afeta a germinação em sementes de ervilha, causando injúrias nas membranas, em especial das mitocôndrias, mais diretamente do que a própria invasão física do fungo nos tecidos do hospedeiro.

Modificações celulares - ANDERSON et al. (1970) sugerem que ocorrem

mudanças ultraestruturais no embrião de trigo quando as sementes são infectadas com o fungo *Aspergillus glaucus*. A maior transformação foi observada pela formação de material amorfo, que presumiram ser da união dos corpos de lipídios. Também foi observado uma maior fragilidade para a ruptura de plasmalema e o aumento de passagem de suco celular, provavelmente devido a presença de fitotoxinas produzidas pelo fungo.

BERJAK (1987), observou modificações a nível celular em sementes infectadas por fungos durante o armazenamento. Afirma que estas alterações, em especial pela ordem de ocorrência, são diferentes das que aparecem no processo de deterioração. Na fase final da deterioração das sementes, as modificações celulares são semelhantes, ficando difícil distinguir as alterações advindas pelo envelhecimento em si ou aquelas resultantes da atividade dos fungos. A autora indica as modificações observadas e a sua seqüência: a) manchas com granulidade densa na parede celular; b) depósitos granulosos pouco densos, associados com gotículas de lipídios (parede celular); c) extrusão de lipídios e evaginação da plasmalema; d) vesiculação da plasmalema; e) mudanças superficiais nas gotículas periféricas de lipídios (efeito halo-periférica da célula); f) confluência dos lipídios periféricos com as vesículas formadas pela plasmalema; g) fusão das vesículas com organelas; h) densos depósitos de grão de amido associados e ácidos nucleicos associados; i) modificação no conteúdo vacuolar; j) confluência de lipídios em grande quantidade.

4 - CONTROLE DOS FUNGOS DO ARMAZENAMENTO

As condições do ambiente do armazenamento e as da própria semente ou do grão armazenado influenciam na qualidade final desses produtos. Segundo NEERGAARD (1977) um armazenamento seguro depende, essencialmente do teor adequado de unidade na semente ou no grão e condições intactas do tegumento. Embora, estas condições sejam de suma importância, todos os itens que foram abordados, afetando a atividade dos fungos do armazenamento, devem ser controlados.

O resultado de um bom e seguro armazenamento, vai estar na dependência da qualidade do produto armazenado, e para a obtenção de um material com qualidade, os cuidados devem iniciar na lavoura. Danos mecânicos, ataques de insetos nas sementes ainda no campo, e o atraso na colheita, vão afetar a qualidade, propiciando condições favoráveis ao desenvolvimento de fungos e podem induzir a uma maior velocidade de deterioração do produto armazenado. Uma rá-

pida secagem preliminar do material é de extrema importância, assim como técnicas adequadas de trilha e transporte. Todo o equipamento de colheita e beneficiamento deve ser limpo, para que não se torne um foco de contaminação do material. Tegumentos danificados ou sementes quebradas facilitam e favorecem a invasão dos fungos, portanto, NEERGAARD (1977) valoriza estes danos como de suma importância no armazenamento. Dados de pesquisa, confirmam que os cereais debulhados manualmente, sem danos no tegumento, são menos invadidos por fungos do que os debulhados mecanicamente.

Independente do grau de tecnologia usado para o armazenamento de grãos ou sementes, a limpeza do local, onde será armazenado o produto agrícola, é de fundamental importância. Todos os restos de produtos anteriormente armazenados devem ser eliminados, as paredes e tetos inspecionados, e os reparos necessários realizados. Todo o cuidado deve ser observado para prevenir o ataque de insetos e roedores, que possam favorecer o desenvolvimento dos fungos no local.

O controle dos roedores poderá ser feito pela vedação do armazém e por iscas venenosas. Para os insetos poderão ser usados produtos químicos, ou o controle da temperatura e umidade do volume armazenado. Temperaturas próximas à 0°C inativam ou matam larvas e insetos adultos. Teores baixos de umidade no grão ou semente não favorecem a sua proliferação e o seu desenvolvimento. No armazenamento de sementes, pode ser usado o controle químico, através dos inseticidas. Estes produtos podem ser aplicados diretamente na semente, em forma de pós, com auxílio de equipamentos especiais ou através de fumigações. O produto químico volátil, é muito usado pela facilidade de aplicação, distribuição uniforme e não apresenta resíduos no produto armazenado. Por este motivo o seu efeito não é prolongado e o tratamento deve ser periódico, quando houver necessidade do armazenamento por longos períodos.

Sementes ou grãos livres de impurezas, vão contribuir para um bom armazenamento. Portanto, a limpeza do produto é fundamental importância. Os fungos do armazenamento são aeróbicos, e as taxas baixas de oxigênio favorecem o seu controle.

De todos os fatores abordados, a umidade e a temperatura são os principais itens a serem considerados no armazenamento do produto agrícola, seja semente ou grão. Se o controle da umidade dos grãos ou da semente não for realizado eficientemente, pouco contribuirá o controle dos demais fatores que afetam a atividade dos fungos. Quanto menor for o teor de umidade dos grãos ou sementes mais eficiente e prolongado poderá ser o armazenamento. O mesmo

deverá ser considerado com relação a temperatura; quanto mais baixa for a temperatura no armazém, maior controle dos fungos e melhores condições para manutenção das qualidades do produto armazenado. Assim, o período seguro de armazenamento vai estar na dependência destes dois fatores. A aeração favorece a redução da temperatura e da umidade, evitando o desenvolvimento dos microrganismos e, portanto, deve ser sempre considerada.

A avaliação dos efeitos, nas sementes ou nos grãos, das condições que favorecem o desenvolvimento dos fungos do armazenamento, deve ser realizada através de testes conduzidos no material antes, durante e ao final do período de armazenamento. O resultado destas avaliações permitirão orientar as medidas de controle a serem adotadas.

5 - TESTES DE AVALIAÇÃO E MÉTODOS DE DETECÇÃO DOS FUNGOS DO ARMAZENAMENTO

Diversos testes devem ser conduzidos no início, durante e ao final do armazenamento, com o objetivo de avaliar a qualidade do produto e tomar as providências necessárias a sua manutenção. A determinação do teor de umidade do grão ou da semente, a verificação dos danos mecânicos, o grau de infestação ou infecção de fungos, a deterioração do produto, o grau de descoloração, as transformações bioquímicas, a presença de toxinas, etc., podem ser avaliadas através de testes, que devem orientar as medidas de controle a serem adotadas, e prever a capacidade de armazenamento do produto.

O "Seed Storage Committee" instituído pela "International Seed Testing Association (ISTA)" vem trabalhando nos problemas que afetam o armazenamento das sementes. Este comitê, recentemente, criou um grupo de trabalho para estudar os efeitos dos fungos do armazenamento sobre a viabilidade das sementes. BERJAK (1984), coordenadora do grupo, salientou que o trabalho foi retardado pela dificuldade de encontrar pesquisadores na área. Uma das primeiras sugestões do grupo é o estabelecimento de métodos padrões para a detecção dos fungos do armazenamento. E também, recomendam alguns procedimentos básicos, para o isolamento de *Penicillium* e *Aspergillus* de sementes, a seguir descritos. a) lavar as sementes em água destilada. b) Realizar a esterilização superficial por 5 minutos com uma solução de 1% de hipoclorito de sódio, contendo 1 a 2 gotas de um agente molhável por 100 ml de solução. c) Lavar as sementes por três vezes em água destilada. d) Cortá-las, longitudinalmente, através do embrião, com bisturi esterilizado. e) Colocar a parte cortada em contato com o meio de cultura. f) Manter as placas à 25°C por 10 dias.

O grupo de trabalho sugere dois meios de culturas a serem adotados como padrões para isolar os fungos *Penicillium* e *Aspergillus*.

1º Meio de Cultura: BDA - 12,5g; Bacto Agar - 7,5g; Cloreto de Sódio - 30,0g; Água Destilada - 450 ml. Este meio deve ser esterilizado à 121°C por 20 minutos. O meio, antes de ser vertido nas placas de Petri, deve ser homogeneizado, para que as partes não se separem. As placas de Petri com o meio devem ser armazenadas, antes do seu uso, à 6°C.

2º Meio de Cultura (Meio de Cultura Czapek - Dox): Agar - 15,0g; NaNO_3 - 3,0g; K_2HPO_4 - 1,0g; MgSO_4 - 0,5g; KCl - 0,5g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,01g; Sacrose - 30,0g; água destilada - 1.000 ml. Os componentes, exceto o agar, devem ser misturados em 500 ml de água quente, e o agar, em outros 500 ml de água quente. Após misturar ambos, e ajustar o pH para 6,6.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, N.S.; CHRISTENSEN, C.M. & HOODSON, A.C. Grain storage fungi associated with the granary weevil. J. Econ. Entomol., Washington, D.C., 50: 659-63, 1957.
- ANDERSON, J.D.; BAKER, J.E. & WORTHINGTON, E.K. Ultrastructural changes of embryos in wheat infected with storage fungi. Plant Physiology, Lancaster, 46: 857-59, 1970.
- BERJAK, P. Report of the Seed Storage Committee Working Group on the "Effects of storage fungi on seed viability". Seed Sci. & Technol., Zurich, 12:233-53, 1984.
- BERJAK, P. Stored seeds: the problems caused by microorganisms. Durban, South Africa, Department of Biology, University of Natal, 1987. (no prelo).
- CHRISTENSEN, C.M. & LOPEZ, L.C. Pathology of stored seeds. Proc. Int. Seed Test. Ass., Wageningen, 28(4): 701-11, 1963.
- CHRISTENSEN, C.M. & KAUFMANN, H.H. Deterioration of stored grains by fungi. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, 3: 69-84, 1965.
- CHRISTENSEN, C.M. & KAUFMANN, H.H. Grain storage. The Role of Fungi in Quality Loss. Minneapolis, University of Minnesota Press., 1969.
- CHRISTENSEN, C.M. Microflora and Seed Deterioration. In: ROBERTS, E.H., ed. Viability of Seeds. Great Britain, Syracuse University Press, 1972. p. 59-93.

- CHRISTENSEN, C.M. Loss of viability in storage: microflora. *Seed Sci. & Technol.*, Zurich, 1(3): 547-62, 1973.
- CHRISTENSEN, C.M. Fungi and seed quality. *Agric.*, London, 9(5): 209-13, 1978.
- FIELDS, R.W. & KING, T.H. Influence of storage fungi on deterioration of stored pea seed. *Phytopat.*, Worcester, 52: 336-39, 1962.
- HARMAN, G.E.; GRANETT, A.L. & NASH, G. Seed deterioration by storage fungi. *New York's Food and Life Sci.*, New York, 5(2): 19-22, 1972.
- HARMAN, G.E. & PFLEGER, F.L. Pathogenicity and infection sites of *Aspergillus* species in stored seeds. *Phytopat.*, St. Paul, 64: 1339-1344, 1974.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. National Research Council. Washington D. C. Postharvest Food Losses in Developing Countries. Washington, D.C. p. 26-46, 1978.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London and Basingstoke, Macmillan Press, Ltda. 1977. 1187 p.
- PELHATE, J. Evolution de la mycoflore des semences au cours du stockage. *Ann. Phytopathol.* 11(4): 539-69, 1979.
- PUZZI, D. Conservação de Grãos Armazenados. Armazéns e Silos. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres Ltda. 1973.
- TUITE, J.F. Low incidence of storage molds in freshly harvested seed of soft red winter wheat. *Plant Dis. Rep.*, London, 43: 470, 1959.
- WETZEL, M.M.V.S.; URBEN, A.F. & FAIAD, M.G.R. Sobrevivência de *Phomopsis sojae* Lehmann, em sementes de soja armazenada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 16., Belém, 1983. Resumos. Belém, 1983, p. 102.
- WETZEL, M.M.V.S. Patologia de Sementes para Bancos de Germoplasma. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 12., Montevideo, Uruguay, 1987. Resumos. Montevideo, 1987.

CAPÍTULO X

METODOLOGIA DOS TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES

Orlando Antonio Lucca Filho ⁽¹⁾1 - INTRODUÇÃO

A simples indicação das percentagens de pureza e de germinação de um lote de sementes, não é suficiente para caracterizar o seu verdadeiro estado fisiológico, pois, nestes testes, além da pureza física, apenas é avaliada a capacidade que a semente possui para formar plântulas normais sob condições ótimas à germinação. Desde a década passada, a concepção de vigor vem recebendo a grande atenção, na tentativa de melhor caracterizar e/ou identificar os lotes de sementes de alta qualidade fisiológica, correlacionando-os com o futuro desempenho no campo. Dentro deste contexto, a sanidade das sementes se reveste de uma importância significativa, uma vez que certos microrganismos associados às mesmas podem se constituir em fator altamente negativo no estabelecimento de uma população inicial.

As sementes apresentam a capacidade de transportar uma série de microrganismos, incluindo fungos, vírus, bactérias e nematóides. Devido a características inerentes a cada microrganismo, o mesmo pode estar aderido à superfície das sementes (ex. esporos de fungos), misturados com as sementes (ex. esclerócios de fungos e galhas de nematóides), ou, ainda, localizados no interior dos tecidos de reserva e do próprio embrião das sementes. Quando os microrganismos se encontram aderidos à superfície das sementes, ou com elas misturados, diz-se que a semente se encontra infestada; quando o microrganismo estiver localizado no interior da semente, a mesma estará infectada.

Existem vários testes que podem ser empregados para caracterizar o estado sanitário das sementes. A escolha do método a ser utilizado está na dependência do patógeno a ser detectado, da infraestrutura disponível no labora

⁽¹⁾ Eng^o Agr^o, M.Sc., Professor Adjunto da Universidade Federal de Pelotas, Técnico do CETREISEM. Caixa Postal 354, 96.100, Pelotas, RS.

tório, da espécie de semente a ser testada, do próprio objetivo do teste e do grau de treinamento do pessoal envolvido com a interpretação do referido teste.

Para que um teste sanitário de sementes possa ser aplicado de forma rotineira, deve-se atender a certos requisitos básicos de eficiência e economicidade, fornecendo informações condizentes com o desempenho das sementes no campo; fornecendo resultados reproduzíveis; o tempo, o trabalho e os equipamentos necessários para a condução do teste devem ser mantidos dentro de limites econômicos, e os testes, que exigem incubação, devem ser relativamente rápidos.

2 - OBJETIVOS DOS TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES

Os objetivos dos testes sanitários de sementes estão relacionados com a finalidade dos mesmos, abrangendo desde a obtenção de cultivares até o sistema de produção de sementes. A técnica a ser utilizada dependerá, invariavelmente, da importância do patógeno transportado pela semente e do potencial que este patógeno possui para estabelecer doenças nos campos de produção.

No serviço quarentenário, onde geralmente se trabalha com material de alto valor (sementes ou outros tipos de material propagativo) deve-se usar o método de sintoma em plantas em crescimento, a fim de que seja possível detectar possíveis patógenos em todo o ciclo da cultura. Este tipo de teste é muito oneroso, razão pela qual o mesmo só é empregado para material de alto valor. Entretanto, outros testes podem ser usados, como é o caso do método em placa de agar e o teste em papel filtro. São testes superficialmente sensíveis, capazes de detectar apenas traços de infecção, permitindo, deste modo, a eliminação de lotes contaminados com patógenos, evitando a distribuição de sementes contaminadas com patógenos altamente virulentos.

Para o esquema de certificação de sementes, o qual deve buscar a obtenção de estoques de sementes livres de patógenos, necessário se faz o uso de testes que detectam o máximo de patógenos possível, devendo usar também testes bastante sensíveis, como testes de inoculação, testes em placa de agar e teste em papel filtro.

Quando se busca avaliar o valor cultural de uma determinada espécie, o teste sanitário assume o mesmo objetivo que o do teste de germinação, visam do estimar a emergência no campo e, por inferência, o estado sanitário da planta adulta. Entretanto, a correlação entre os resultados de laboratório e

os de campo nem sempre pode ser estabelecida, devido a inúmeros e, muitas vezes, imprevisíveis fatores que ocorrem no campo. De um modo geral, a correlação entre resultados de laboratório e de campo depende de dois fatores principais: do teste utilizado e da transmissão e taxa de crescimento do patógeno. Neste caso, devem ser utilizados testes que permitam não apenas determinar a presença ou ausência de patógenos, mas também, verificar a influência dos mesmos sobre as plântulas. Deste modo, será possível o estabelecimento de níveis de tolerância, especialmente para microrganismos capazes de provocar epidemias nos campos de produção. Para estes patógenos, o nível de tolerância deve ser zero.

Outra finalidade do teste de sanidade é determinar a necessidade do tratamento de sementes, o qual fornece três alternativas: a semente pode ser semeada sem sofrer tratamento; a semeadura pode ser realizada desde que a semente seja adequadamente tratada; e a semente não pode ser utilizada para a semeadura, mesmo sendo tratada. Para atender esta finalidade, podem ser usados testes que indiquem o sintoma de doenças em plântulas.

Além destas finalidades, existem outras em que o teste sanitário é empregado, como por exemplo na avaliação da eficiência do tratamento de sementes, na determinação da qualidade de sementes armazenadas (se estão aptas para serem semeadas ou para serem consumidas) e para a determinação da resistência da semente a patógenos.

3 - NECESSIDADES BÁSICAS DE UM LABORATÓRIO PARA ANÁLISE SANITÁRIA DE SEMENTES

Há vários equipamentos básicos de um laboratório para análise sanitária de sementes.

Microscópios

O uso de bons microscópios é um fator imperativo para a correta avaliação dos resultados dos testes sanitários de sementes. Existem dois tipos de microscópios que devem fazer parte do equipamento do laboratório: microscópio binocular e microscópio estereoscópico (lupa). O microscópio binocular deve ser dotado de alto poder de ampliação, permitindo o exame detalhado do microrganismo envolvido. O microscópio estereoscópico deve ser dotado de um conjunto de lentes que permitam uma ampliação até 60X, de duas lâmpadas frias, sendo a luz dirigida de duas posições diferentes, evitando a formação de sombras sobre o objeto focado. Ambos os microscópios, estereoscópico e bino-

cular, devem, se possível, ser dotados de equipamentos fotográficos.

Câmara de incubação

A câmara de incubação deve ser dotada de controle de luz (fria) e de temperatura. O tamanho e modelo são variáveis, podendo-se usar unidade pequenas (similares a germinadores de sementes) ou unidades montadas, salas, onde é possível a circulação de pessoas em seu interior. Também neste tipo de câmara é indispensável o controle de luz e de temperatura, a qual deve situar-se entre 20 a 25°C, e o regime luminoso ser de 12h de luz e 12h de escuro.

Luz

Para estimular a esporulação, as câmaras devem possuir luz com comprimento de onda entre 320 e 420 nm, o qual é conseguido usando-se tubos de luz negra (NUV) ou tubos de luz fluorescente comum. Estes tubos devem ser localizados a 20 cm um do outro e a 40 cm de distância das placas de Petri.

Recipientes

As sementes podem ser incubadas em vários tipos de recipientes. Tanto placas de Petri (vidro pirex), bem como, placas plásticas podem ser usadas, uma vez que o vidro pirex e o plástico transparente permitem a passagem de luz com o comprimento de onda desejado.

Casa de vegetação

A casa de vegetação é necessária para detecção de microrganismos que não são identificados em plântulas, como por exemplo, certos parasitas obrigatórios e viroses;

Substrato

Papel mata-borrão ou papel filtro perfeitamente limpos, de preferência produzido e embalado sob condições esterilizadas, são necessários. O meio de cultura para o teste em placas de agar, bem como, as placas, devem também ser esterizados. Os meios de cultura mais comuns são: Batata + dextrose + agar e Extrato de malte + agar.

Outros equipamentos

Outros equipamentos necessários nos laboratórios de patologia de sementes estão mais diretamente relacionados com o tipo de teste utilizado pa-

ra a detecção de patógenos. Para o teste da lavagem das sementes, é necessária a utilização de uma centrífuga de 3.000 RPM e um agitador mecânico. Para o método do embrião, é necessária a utilização do funil de "Fenwick". Outro equipamento bastante necessário é a autoclave, utilizada para a esterilização de diferentes substratos. O contador a vácuo de sementes pode constituir-se em um equipamento auxiliar para a semeadura de sementes. Além destes, outros equipamentos, especialmente vidrarias (lâminas, lamínulas, placas de Petri, bequers, pipetas, tubos de ensaios, etc.) e vasos plásticos, também são necessários.

4 - AMOSTRAGEM

Praticamente todo o teste sanitário é realizado sobre uma amostra relativamente pequena do lote de sementes. Os procedimentos utilizados para a obtenção de uma amostra representativa do lote e divisão desta amostra média em amostra de trabalho são, portanto, fundamentais para a obtenção de resultados uniformes, acurados e reproduzíveis.

Tamanho do lote de sementes

De acordo com as Regras para Análise de Sementes, a qual determina, entre outras técnicas, a metodologia para amostragem de lotes de sementes, o tamanho do lote é variável de acordo com a espécie. Deste modo, para sementes de grandes culturas, o tamanho máximo do lote é de 20.000 kg para sementes com dimensões iguais ou superiores às do trigo, e, para sementes menores que estas, 10.000 kg. Para sementes de olerícolas e essências florestais, o tamanho do lote é de 5.000 kg para sementes de tamanho igual ou superior às de quiabo, e de 1.000 kg para sementes menores que estas. Para sementes de graminas e leguminosas forrageiras, até o máximo de 12.000 kg para sementes de dimensões iguais ou maiores que as de sorgo granífero, e 5.000 kg para sementes menores que essas. Lotes com quantidades maiores que as prescritas devem ser subdivididos e receber nova identificação.

Amostra

Várias amostras são retiradas de diferentes partes do lote. Cada uma destas amostras individuais recebe o nome de amostra simples. Estas amostras são combinadas, formando uma única amostra, chamada de amostra composta, a qual é, geralmente, bem maior que a requerida, razão pela qual a mesma será

homogeneizada e dividida, dando origem à amostra média. Esta amostra é enviada ao laboratório. A partir desta amostra média, que após homogeneizada e dividida no laboratório, obter-se-á a amostra de trabalho, sobre a qual os testes serão realizados.

Técnica para obtenção da amostra média

Na amostragem, aproximadamente igual quantidade de sementes deve ser retirada de cada recipiente (saco) amostrado, ou de cada local amostrado, no caso de sementes a granel (carroceria de caminhão, vagões, correias transportadoras, etc.), através do uso de equipamentos apropriados, denominados caladores. No caso de sementes que deslizem com dificuldade, amostragem pode ser feita com as mãos, ao invés do uso de caladores.

A amostragem, durante as fases de beneficiamento de sementes, deve ser realizada de tal modo que toda a seção transversal da corrente de sementes seja amostrada. As amostras deverão ser realizadas em intervalos regulares de tempo.

Intensidade da amostragem

Quando se coletam amostras de sementes a granel, ou durante o processo de beneficiamento, deve-se observar a seguinte intensidade de amostragem: para lotes de até 50 kg, não menos que três amostras simples; para lotes de 51 a 500 kg, pelo menos cinco amostras simples; para lotes de 501 a 3.000 kg, uma amostra simples para cada 300 kg, porém, não menos que cinco amostras simples; e, para lotes de 3.001 a 20.000 kg, uma amostra de cada 500 kg, porém, não menos que dez amostras simples. As sementes a granel devem ser amostradas ao acaso, em diferentes lugares e em diferentes profundidades.

Para sementes embaladas em sacos, a amostragem deve obedecer à seguinte intensidade: para lotes de até cinco sacos, coletar amostras de todos os sacos, obtendo-se, no mínimo, cinco amostras simples; para lotes de seis a 30 sacos, deve-se retirar uma amostra de cada três sacos, porém, não menos que dez amostras simples; para lotes de 31 a 100 sacos, obter, no mínimo, uma amostra de cada cinco sacos, porém, não menos que dez amostras simples; e, para lotes de 101 ou mais sacos, no mínimo, 30 sacos deverão ser amostrados;

Peso mínimo da amostra média

As Regras para Análise de Sementes prescrevem o peso mínimo que as amostras médias devem conter, quando remetidas ao laboratório. Achan-se pres-

critos os pesos mínimos para um grande número de espécies, incluindo espécies de grandes culturas, olerícolas, florestais e frutíferas. Para culturas como o milho, o trigo, o arroz, a soja e o feijão, o peso mínimo da amostra média é de 1.000 g. para olerícolas, como o tomate e a cebola, o peso mínimo é de 80 e 30 g, respectivamente. A amostra média de essências florestais, como o *Pinus elliottii*, deve pesar, no mínimo, 160 g. O peso mínimo de espécies frutíferas, como o pêssego e a pera, é de 1.500 e 180 g, respectivamente.

Identificação, embalagem, selagem e remessa da amostra

Cada amostra deve ser identificada de maneira a permitir a sua conexão com o lote que representa, contendo informações sobre a espécie e variedade, número do lote, representatividade, ano de cultivo, remetente e outras. Tratando-se de amostras que terão o resultado da análise expresso em boletins oficiais, as embalagens que contêm as amostras médias deverão ser seladas (lacradas) por órgãos oficiais responsáveis pela amostragem dos lotes de sementes, providenciando-se a imediata remessa da mesma ao laboratório de análise.

Obtenção da amostra de trabalho

Todos os esforços devem ser dirigidos no sentido de se obter uma amostra perfeitamente representativa da amostra média.

De acordo com as Regras para Análise de Sementes, existem diferentes métodos que podem ser utilizados para a obtenção da amostra de trabalho, a partir da homogeneização e divisão manual da amostra média, ou através do uso de divisores mecânicos (cônico, solo, centrífugo e tabuleiro contador). O uso dos divisores mecânicos apresenta o inconveniente de permitir a contaminação de uma amostra a partir de outra amostra subsequente contaminada. Por isso, para a homogeneização e divisão da amostra média, visando a obtenção da amostra de trabalho para análise sanitária, recomenda-se a utilização do método de copos casualizados, de tamanho e número condizentes com o peso da amostra média. Para evitar a contaminação entre amostras, os copos devem ser descartados após terem sido usados para uma amostra.

Tamanho da amostra de trabalho

Para o exame da qualidade sanitária de um lote de sementes, necessita-se analisar um número suficiente de sementes que permitam a detecção de baixos níveis de infecção. De um modo geral, para os testes que envolvem incubação das sementes, o tamanho da amostra de trabalho deve ser no mínimo de

400 sementes, e, para o exame de semente seca, o tamanho da amostra de trabalho é igual ao da análise de pureza para a espécie em questão.

5 - MÉTODOS USADOS PARA A DETECÇÃO DE MICROORGANISMOS EM SEMENTES

Existem vários testes que podem ser aplicados para a detecção de microrganismos associados às sementes. Estes testes variam quanto à sensibilidade e objetivo, sendo que alguns métodos exigem incubação das sementes, enquanto outros permitem a identificação de patógenos através de descolorações e anormalidades do tegumento das mesmas, sem prévia incubação.

5.1 - Exame da semente não incubada

a) Método da semente seca

Este teste é conduzido juntamente com a análise de pureza. A amostra é examinada cuidadosamente, classificando o material encontrado em três classes: sementes puras, outras sementes e material inerte. As sementes classificadas como puras devem ser examinadas, visando-se encontrar sinais ou sintomas indicativos da presença de microrganismos. Na fração material inerte, são agrupados os restos de plantas, pedaços de hastes e vagens, esclerócios, galhas, etc. Este material, após satisfeitas as exigências da análise de pureza, deve ser incubado para complementar as informações obtidas a partir do exame das sementes secas.

Para facilitar a condução do teste e interpretação dos sintomas detectados nas sementes, a amostra de trabalho deve ser examinada com o auxílio de um microscópio estereoscópico, com poder de ampliação de até 60X.

Sementes secas podem mostrar sintomas de diferentes intensidades, devido a necroses ou descolorações produzidas por microrganismos, como também, podem ser detectados corpos frutíferos, massa de esporos ou células bacterianas aderidas à superfície das sementes.

Este método pode ser aplicado para um grande número de patógenos e espécies de sementes, desde que o patógeno envolvido produza sobre a semente algum indicativo característico de sua presença. Em sementes de feijão, ervilha e em outras leguminosas, manchas marrons geralmente são indicativas da presença de fungos, como o caso de *Colletotrichum lindemuthianum*, em feijão, e *Ascochyta pisi* e *Mycosphaerella pinodes*, em sementes de ervilha.

Sementes de soja são freqüentemente atacadas pelo fungo *Cercospora*

kikuchii, o qual provoca descoloração do tegumento, produzindo manchas de coloração púrpura. Outro fungo encontrado no tegumento das sementes de soja, *Peronospora manshurica*, produz uma crosta branca, composta por oosporos do referido patógeno.

Em milho, descolorações azul-esverdeadas do escutelo são produzidas por fungos de armazenamento, geralmente pelo gênero *Aspergillus*. Sementes de milho apresentando estrias no endosperma são portadoras de *Fusarium*.

Um complexo de fungos, entre eles patógenos e saprófitas, são os responsáveis pelo dano conhecido por "ponta-preta" em sementes de trigo. Entre os fungo envolvidos, destacam-se *Curvularia*, *Alternaria* e *Helminthosporium*.

O exame de sementes secas pode ser favorecido pela utilização de luz ultravioleta, uma vez que certos patógenos produzem fluorescência característica em determinados hospedeiros. *Ascochyta pisi* produz fluorescência amareló-azulada em trigo e de cor creme em feijão. *Septoria nodorum* produz fluorescência esverdeada em trigo. O teste de fluorescência deve ser conduzido como um teste complementar, sendo útil para uma rápida estimativa do nível de infecção dos patógenos.

Certos microrganismos têm sua identificação facilitada, embebendo-se as sementes em água ou lactofenol (*Septoria* e *Gloeotinia*). Os nematóides *Aphelenchoides besseyi* e *Ditylenchus angustus* são facilmente identificados em sementes, quando estas são embebidas em água.

O método da semente seca permite obter uma rápida informação sobre o estado sanitário das sementes, não requerendo muitos equipamentos, além de poder ser conduzido juntamente com a análise de pureza sem muito trabalho adicional. É um teste indispensável para a detecção de esclerócios de fungos e galhas de nematóides, complementando as informações obtidas a partir dos testes com incubação das sementes.

Entretanto, somente os patógenos causadores de sintomas facilmente visíveis externamente são detectados através deste método. Deste modo, os microrganismos carregados por sementes, localizados no interior das mesmas, não serão detectados, a menos que produzam sintomas típicos no tegumento. Além disso, não se tem informação sobre a viabilidade do patógeno, sendo necessária a condução de outro método para obtenção destes dados.

b) Método da lavagem da semente

Este método baseia-se na imersão, em água destilada, de 100 g de sementes (duas repetições de 50 g de sementes), as quais são colocadas em um er

lenmeyer de 100 ml. A estas sementes, adicionam-se 10 ml de água, agitando-se por 10 minutos, a fim de remover os esporos e outras estruturas aderidas à superfície das mesmas. Retira-se a água da lavagem, colocando-a em tubos de centrífuga. Este material será centrifugado por 15 minutos a 2.500 RPM. Terminada a centrifugação, elimina-se o sobrenadante e o restante será examinado em microscópio binocular, com o auxílio de um hamacitômetro, visando a contagem dos números de esporos encontrados na suspensão. O resultado do teste é expresso em número de esporos por grama de sementes.

Este método é grandemente utilizado para a detecção quantitativa de esporos de cáries em cereais, como também, na identificação de outros fungos aderidos à superfície das sementes, a exemplo de *Alternaria*, *Stemphylium*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Pyricularia* e outros.

O método da lavagem das sementes é adequado para contaminações que estão presentes exclusivamente na superfície das sementes. Foi demonstrado que os fungos *Ustilago avenae* e *U. Hordei* só produzirão infecção no campo se existirem esporos localizados entre as glumas e as cariopses, enquanto que os esporos aderidos à superfície das sementes não produzirão infecção. Como consequência, a quantidade destes esporos não é uma verdadeira expressão do potencial de inóculo. O mesmo é verdadeiro para fungos que apresentem esporos aderidos à superfície e micélio dormente no interior das sementes.

O teste de tetrazólio pode ser usado para determinar a viabilidade de esporos, como por exemplo, os de *Peronospora manshurica*, em soja, e de outros fungos causadores de míldio.

c) Método da contagem de embriões

Neste método, utiliza-se uma amostra de no mínimo 2.000 sementes, as quais são pré-condicionadas a 22°C em solução de 10% de NaOH, com 0,2 g de Trypan blue, ou anilina azul, por litro de solução. A quantidade desta solução a ser adicionada às sementes deve ser suficiente para cobrir as mesmas. As sementes são deixadas em contato com essa solução durante o período de uma noite, a uma temperatura de 22°C. No dia seguinte, as sementes são colocadas em um recipiente apropriado (Funil de Fenwick) onde, com o auxílio de corrente de água morna (50 a 70°C), os embriões são separados dos endospermas e coletados em um conjunto de peneiras de malhas diferentes (3,5; 2,0 e 1,0 mm), isolando-se os embriões dos endospermas. Após, os embriões são transferidos para um bequer de 100 ml, aos quais é adicionado lactofenol para a clarificação dos mesmos. Esta clarificação é realizada, colocando-se a suspensão em ba

nho-maria por 10 a 20 minutos. Após clarificados, faz-se a remoção do restante de endosperma que ainda permanece junto aos embriões, através de um funil dotado de cano de borracha e presilha. Uma vez adequadamente isolados, os embriões são examinados individualmente com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Para tal, os embriões devem ser distribuídos em uma placa de Petri contendo uma sobreplaca com ranhuras (fendas), dentro das quais os mesmos serão espalhados. Deste modo, a avaliação dos testes e identificação dos embriões infectados são facilitadas. Será considerado infectado o embrião que apresentar em seu interior micélio do fungo. Este micélio é facilmente distinguível pelo fato de permanecer com a coloração azul adquirida do corante.

Este método é grandemente utilizado para a detecção do carvão em cevada e trigo, fornecendo resultados altamente correlacionados com a infecção no campo.

5.2 - Exame da semente incubada

A metodologia dos testes, a seguir descritos, incluem a incubação das sementes sob condições controladas, de modo a facilitar o crescimento, esporulação e indução de sintomas, permitindo a identificação mais rápida e segura do patógeno envolvido.

a) Método do papel de filtro

Neste teste, são avaliadas, no mínimo, 400 sementes. Estas são distribuídas em repetições, de número variável, em função do tamanho dos recipientes e das sementes. Usando-se sementes de soja em placas de Petri, não incubar mais de dez sementes por placa; quando se usam caixas gerbox, não colocar mais que 25 sementes por caixa. Para sementes menores, como as de trigo, pode-se incubar maior número de sementes por recipiente, tendo o cuidado de observar certa distância entre as mesmas, evitando-se, desse modo, contaminação de uma semente para outra. O substrato a ser utilizado pode ser papel de filtro ou papel mata-borrão, colocando-se três folhas de papel de filtro ou duas de papel mata-borrão por recipiente. O papel substrato deve ser previamente umedecido em água destilada e esterilizada. Logo após, as sementes são distribuídas sobre o substrato e incubadas a uma temperatura de 22 a 25°C, por um período de sete a oito dias, sob regime luminoso de 12h de luz e 12h de escuro. A luz deve ter um comprimento de onda entre 320 e 420 nm, de modo a promover a esporulação dos fungos. Este comprimento de onda é obtido usan-

do-se luz fluorescente fria ou luz negra (NUV). A avaliação é realizada após o período de incubação, examinando-se, individualmente, todas as sementes, através de um microscópio estereoscópico com poder de ampliação de 50 a 60X. Caso não seja possível a identificação do patógeno através deste equipamento, deve-se montar lâminas com material do fungo desejado e examiná-lo em um microscópio binocular.

Este método pode ser utilizado para todos os tipos de sementes, tendo a vantagem de detectar um grande número de fungos associados à amostra. O teste em papel de filtro pode ser descrito com um híbrido entre a câmara úmida usada em patologia vegetal e o teste de germinação, combinando as vantagens da investigação "in vitro" com as observações "in vivo". Através deste método, é possível avaliar a viabilidade do inóculo inicial presente nas sementes, estimar a viabilidade das sementes e, por inferência, o efeito dos fungos sobre a germinação das mesmas.

Apesar de sua grande aplicação, este método apresenta certas limitações, entre elas a dificuldade de identificarem-se bactérias patogênicas; fungos de crescimento vegetativo muito lento podem ser rapidamente encobertos por outros mais vigorosos; não detectar fungos causadores de míldio, em razão das condições de incubação não serem favoráveis ao surgimento da forma perfeita sobre as sementes; e por permitir o rápido crescimento de fungos contaminantes (*Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus* e outros), sendo necessário, neste caso, a realização do pré-tratamento das sementes com hipoclorito de sódio.

Este método apresenta algumas variantes, como a utilização do congelamento rápido e a de herbicida, visando evitar a germinação das sementes, as quais permanecerão com suas posições inalteradas sobre o substrato, facilitando a avaliação do teste.

Quando se deseja utilizar a técnica do congelamento, as sementes, após terem sido semeadas sobre o substrato previamente umedecido com água destilada e esterilizada, são incubadas por um dia sob condições normais ao do teste em papel filtro. Durante este período de incubação, as sementes irão absorver umidade suficiente para a retomada dos processos metabólicos e início da germinação. Após este período, as sementes são transferidas para um freezer, com temperatura de -20°C , onde permanecerão por mais 24h. Devido ao rápido congelamento, haverá a formação de cristais de gelo, os quais romperão a estrutura celular, matando a semente. Realizado o congelamento, as sementes retornam à câmara de incubação, onde permanecerão por um período de sete

dias, quando então serão examinadas. A percentagem de infecção obtida com esta técnica é bastante próxima à observada em meio de cultura, especialmente devido à falta de resistência do hospedeiro. Esta técnica é bastante útil, especialmente para sementes de cereais, pois, além de facilitar a avaliação do teste, favorece o surgimento de certos fungos (*Drechslera*, *Fusarium*, *Septoria*, *Phoma* e outros).

Outra técnica que pode ser utilizada para manter as sementes em suas posições originais é a utilização de herbicida (2,4-D), em solução com a água empregada para o umedecimento do substrato. A concentração da solução de herbicida é de 0,2%. As condições de incubação são idênticas às descritas para o método do papel de filtro.

b) Método em placa de agar

As sementes são colocadas em placas de Petri contendo quantidade suficiente de agar, distanciadas umas das outras de acordo com o tamanho das sementes. O meio de cultura mais utilizado é o composto por batata, dextrose e agar (BDA). Antes de serem colocadas sobre o meio de cultura, as sementes devem ser pré-tratadas com hipoclorito de sódio a 1% por 10 minutos, de modo a evitar o surgimento de fungos saprófitas. As sementes após pré-tratadas são semeadas e incubadas sob regime luminoso de 12h de luz e 12h de escuro e temperatura constante de 22°C, por um período de cinco a sete dias. Recomenda-se a incubação do material inerte em separado. O princípio de avaliação deste método é o exame macroscópico das colônias formadas pelos fungos, levando-se em consideração as características das mesmas (forma, tamanho, coloração), observando-se as duas faces da placa de Petri.

Este método é geralmente empregado, quando o teste em papel de filtro não oferece condições adequadas para o crescimento vegetativo, esporulação e indução de sintomas nas sementes ou plântulas ou quando se deseja detectar patógenos que produzem colônias características em meio de cultura.

Para a detecção de fungos de armazenamento, é aconselhável a adição de 18% de NaCl ao meio de cultura.

Quando o teste é empregado ocasionalmente, o analista hesitará quanto à identificação do patógeno, perdendo muito tempo no exame das colônias e na montagem de lâminas para exame em microscópio binocular. Geralmente, fungos de rápido crescimento impedem a identificação de fungos de crescimento mais lento. Além disso, podem surgir mais de uma colônia a partir da mesma semente, o que torna difícil a identificação dos fungos, pois uma pode mascarar

e até mesmo inibir o crescimento da outra. Este teste, se comparado com o teste em papel de filtro, é um teste mais caro e mais trabalhoso, pois envolve a utilização e esterilização do meio de cultura.

c) Método do sintoma em plântulas

O substrato utilizado nos testes de papel de filtro e em meio de cultura é completamente artificial. Um caminho para estabelecimento de condições mais naturais é obtido pela semeadura das sementes em solo, areia, ou material similar, previamente autoclavado. Sob condições controladas de temperatura e umidade, sementes e plântulas podem desenvolver sintomas comparáveis com aqueles encontrados sob condições de campo. Para alguns patógenos, o uso deste teste permite obter informações pertinentes ao desempenho do lote de sementes no campo, em relação a doenças transmitidas por sementes.

Existem várias metodologias utilizadas para a detecção de patógenos baseadas nos sintomas em plântulas. A seguir, serão abordadas três técnicas mais utilizadas.

c.1. Método do tijolo moído (Hiltner's Method) - Neste teste, o substrato utilizado é tijolo moído, moído, tendo suas partículas um tamanho máximo de 3 a 4 mm de diâmetro. Este material é empregado devido à sua capilaridade e capacidade de retenção de umidade. Com sementes de cereais (trigo, cevada, aveia, outras) são convenientemente distribuídas em um recipiente contendo uma camada de $\pm$ 8 cm de substrato previamente umedecido. Após semeadas, as sementes são cobertas por uma camada de $\pm$ 3 cm e incubadas por duas semanas, sob condições de temperatura ambiente e na ausência de luz. A avaliação é feita retirando-se do substrato as plântulas e sementes não germinadas, observando-se os sinais de doenças nas plântulas inteiras, anotando-se também o número daquelas que não conseguiram emergir. Para a detecção de *Fusarium*, recomenda-se incubação em temperaturas mais baixas (10-12°C), por um período de três semanas.

Este método é de grande aplicação para sementes de cereais, podendo também ser usado para ervilha e feijão.

c.2. Método da areia - A metodologia é a mesma que a do teste anterior, variando apenas o substrato. Neste método, ao invés de utilizar-se tijolo moído, usa-se areia, a qual deve ser de granulometria fina. A camada necessária para cobrir as sementes após a semeadura terá uma espessura variável em

função do tamanho da semente a ser testada.

Este método pode ser utilizado para um grande número de espécies, incluindo sementes de cereais, leguminosas, olerícolas e florestais, sendo útil na detecção de *Drechslera*, *Fusarium* e *Septoria*, em cereais, e *Colletotrichum gossypii*, em algodão.

c.3. Método do solo padronizado - O substrato a ser utilizado envolve um solo previamente preparado, composto de 6 partes de turfa, 4 parte de argila e fertilizante completo. Para cada 3 partes desse composto, adiciona-se 1 parte de areia. Após perfeitamente homogeneizado, adiciona-se 0,6 partes de água, uniformemente distribuída. O substrato é colocado em potes plásticos, semeando-se três a cinco sementes por pote. A incubação tem um período variável entre duas a quatro semanas, em temperaturas de 20 a 10°C, respectivamente. É aconselhável envolver os potes em sacos plásticos para evitar a evaporação de umidade. O substrato é criar um microclima altamente favorável ao desenvolvimento do patógeno. O substrato pode ser reutilizado, desde que autoclavado à temperatura não inferior a 95°C por 20 minutos.

Este método é usado para a detecção de *Fusarium*, *Septoria* e *Drechslera* em sementes de cereais.

As limitações destes métodos estão relacionadas com o período prolongado de incubação e com o fato de não detectarem patógenos que ocorrem no fim do ciclo da cultura.

5.3 - Inspeção da planta após o estágio de plântula

Certos patógenos associados às sementes, para que possam ser detectados, necessitam de um período de incubação maior do que o usualmente fornecido pelos métodos de sintomas em plântulas. Para estes patógenos, especialmente bactérias e vírus, a avaliação do teste deve ser realizada quando a planta se encontrar em uma fase adiantada de desenvolvimento.

a) Método do sintoma em plantas em crescimento

As sementes são semeadas em solo previamente autoclavado, colocado em recipientes plásticos (vasos ou bandejas) e incubadas sob condições de temperatura controlada.

Algumas metodologias deste teste já foram padronizadas, visando facilitar a detecção do Lettuce Mosaic Virus, Barley Stripe Mosaic Virus e outras

doenças sistêmicas como fusarioses em olerícolas.

Neste método são testadas 200 sementes previamente tratadas com hipoclorito de sódio a 2% durante 10 minutos. Após pré-tratadas, as sementes são semeadas em solo padronizado, adequadamente umedecido e incubadas a uma temperatura de 25°C na ausência de luz. A primeira avaliação dos sintomas é realizada no estágio de três folhas e a avaliação final dez dias após a primeira.

Este método é de grande valia para postos de serviços quarentenários, para avaliação de lotes de sementes importadas.

Apesar de sua utilidade, este método não é empregado em análise de rotina pelo fato de ocupar muito espaço; exigir uma câmara específica ou casa de vegetação para incubação do material, havendo a necessidade do efetivo controle da temperatura, umidade e oleosidade, e pelo fato de ser um teste muito demorado. Além de ser útil para a detecção de bacterioses e viroses, pode também ser empregado para míldios e ferrugens.

b) Método de ensaios a campo

Para a detecção de certos patógenos associados às sementes, os testes comumente empregados em laboratório, por várias razões, não são aplicáveis. Nestes casos, uma amostra representativa do lote de sementes pode ser avaliada em ensaios a campo.

A metodologia a seguir descrita é aplicável para as culturas de trigo e cevada.

Cada amostra deve ser semeada em quatro blocos. Dois blocos são semeados em uma lavoura e os outros dois em localidade diferente. A instalação dos blocos da mesma área deve ser realizada em épocas diferentes. Cada bloco é formado por seis linhas de 9 m de comprimento, distanciadas 25 cm uma da outra, totalizando 54 m lineares de linhas. A distância entre blocos deve ser de 1 m. O número de sementes a ser semeado deve corresponder a uma densidade de 3.000 plantas por bloco.

Quando as plantas emergiram, e antes do perfilhamento, faz-se a contagem do número de plantas encontradas em 1 m linear da linha, em quatro diferentes locais, para cada bloco. Multiplicando-se o número de plantas encontradas por 13,5, tem-se o número de plantas para cada bloco ($13,5 \times 4 = 54$ m). O controle sanitário é realizado através do exame de todo o bloco, sendo as plantas infectadas arrancadas e examinadas minuciosamente. Este método é empregado para detecção de *Drechslera* e *Ustilago* podendo ser usado pelos melhoristas e multiplicadores de sementes do sistema de produção.

Uma das limitações deste método reside na morte de plantas no período compreendido entre a primeira e última contagem. Normalmente, é esperado, na contagem final, um número de plantas de 80 a 20% do número original. Entretanto, devido a vários fatores (danos por insetos, por exemplo) esse número não é atingido. Face a isto, ter-se-á uma percentagem de infecção irreal, caso não seja aplicada uma devida correção. Como este teste é conduzido em época normal de cultivo, a avaliação dos danos causados por microrganismos é realizada quando a semente já foi semeada pelos agricultores. No entanto, para sementes genéticas e/ou básicas, ou mesmo para pequeno número de lotes de sementes certificadas, este método pode ser conduzido em casa de vegetação.

c) Método da inspeção do campo de produção de sementes

O método da inspeção do campo de produção de sementes é, para muitas doenças, o meio mais efetivo de controle, permitindo a rejeição de lotes antes mesmo de serem colhidos. Entretanto, para que este método possa ser aplicado, faz-se necessário o prévio estabelecimento dos padrões de campo para determinadas doenças, definindo o nível máximo de infecção que uma lavoura pode conter para ser utilizada como semente. Sem a inclusão destes níveis de infecção nos padrões de campo, este método é inviável.

Em qualquer esquema de certificação ou fiscalização de sementes, no mínimo duas inspeções do campo de produção devem ser realizadas. A primeira é geralmente efetuada quando a planta se encontra em pleno crescimento, e a segunda, por ocasião da floração, ou após, por ocasião da maturação. Detalhes quanto às técnicas de avaliação de infecções nos campos de produção dependem da espécie cultivada e do patógeno envolvido. Entretanto, como é impossível avaliar todas as plantas individualmente, é imprescindível a adoção de uma amostragem representativa da área, através do exame de um número suficiente de plantas e de vários pontos de amostragem.

Todo o esquema de certificação ou fiscalização de sementes está primariamente baseado na inspeção dos campos de produção, contribuindo significativamente para o aumento da produção agrícola. Uma vez estabelecidos e observados os padrões mínimos de qualidade sanitária, os níveis de incidência de patógenos serão mantidos em valores baixos, e, se o esquema de produção de sementes for efetivamente eficiente, os padrões de infecção poderão ser reduzidos a níveis ideais, ou seja, tolerância zero.

Este método deve ser aplicado especialmente para as culturas de maior importância econômica, como a soja, o trigo, o arroz, o milho, o algo-

ção e o feijão. Para cada cultura, existe um determinado número de patógenos economicamente importantes e que são transmitidos por sementes. Nestas situações, este método é de importância incalculável.

Os investimentos necessários para a condução deste método são relativamente elevados, especialmente no que diz respeito a trabalho e transporte. Entretanto, é possível sanar estes inconvenientes, através da combinação das inspeções sanitárias com inspeções de outros propósitos (mistura varietal, in vasoras) comumente realizadas nos campos de produção de sementes. Outro fator negativo deste método é a possibilidade da não detecção de determinado patógeno no momento da realização das inspeções. Face a isto, testes laboratoriais devem ser realizados visando a complementação das informações obtidas do campo de produção inspecionado. A dificuldade para caracterização de um microrganismo responsável por determinada doença é outro que se reveste de importância negativa, uma vez que dois ou mais patógenos podem provocar sintomas similares, ou agirem simultaneamente sobre a planta, dificultando a identificação do agente causal. Além disso, há o efeito do meio ambiente sobre o estabelecimento do patógeno e desenvolvimento da doença, tornando variável o grau de incidência e a importância econômica dos mesmos, entre anos de cultivo e entre regiões geográficas.

5.4 - Análises através de bioensaios ou procedimentos bioquímicos

a) Método de inoculação em planta indicadora

O inóculo em sementes infestadas ou infectadas pode ser usado de várias formas para produzir sintomas em plântulas ou plantas saudáveis, estas usadas como plantas indicadoras.

Injeção hipodérmica de material oriundo de sementes infectadas com *Xanthomonas phaseoli* ou *X. phaseoli* var. *fusca* em plantas indicadoras é um método bastante sensível e eficiente para a detecção destes microrganismos. Uma amostra de 500 g de sementes não tratadas de cada lote de feijão são desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 2,6% por 15 minutos, sendo em seguida lavadas com água esterilizada. A amostra pré-tratada com hipoclorito de sódio é incubada por 18 a 24 h em 1.200 ml de água esterilizada. Após o período de incubação, o qual é realizado sob condições ambientais, faz-se a inoculação do líquido remanescente através de injeções no nó das primeiras folhas das plântulas de feijão (10 dias aproximadamente). A reação positiva é observada através de grandes lesões, seguidas de necrose sistêmica.

Existe um grande número de plantas indicadoras com eficiência comprovada para a detecção de viroses transmitidas por sementes. Entre as espécies mais usadas, destacam-se *Chenopodium album*, *C. quinoa*, *C. amaranticolor*, *Cucumis sativus*, *Glycine max*, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum*, *Phaseolus mungo*, *P. vulgaris* (algumas variedades específicas), *Pisum sativum* e *Vigna unguiculata*.

Este teste, embora possuindo metodologia padronizada para a detecção de viroses, é pouco usado em análises de rotina, devido, principalmente, à dificuldade de obtenção de plantas indicadoras.

A metodologia preconizada para a detecção do vírus do mosaico-da-alface, através do método de inoculação em planta indicadora, prevê a análise de 400 sementes por amostra, a qual é dividida em quatro repetições de 100 sementes. Cada repetição é colocada em uma placa de Petri, à qual adiciona-se 1 ml de buffer. Usando-se as mãos devidamente limpas, as sementes são rigorosamente esmagadas com o auxílio de uma colher de plástico, pressionando-se a colher contra as sementes. Adiciona-se uma pitada de carvão ativado em cada placa de Petri e mistura-se bem. As folhas das plantas indicadoras (*Chenopodium quinoa*) são preparadas para receber o inóculo, através de leves fermentos produzidos pela raspagem de carborundum sobre as mesmas. O inóculo é aplicado através de cotonetes sobre a superfície de três folhas por planta, inoculando-se duas plantas por repetição. Após dois a quatro minutos, lava-se o excesso do material depositado sobre as folhas inoculadas, com uma rápida borrifada de água. A incubação das plantas inoculadas a 25°C, sob regime luminoso de 16h de luz e 8h de escuro, por um período de dez a doze dias, envolvendo as mesmas em sacos plásticos no primeiro dia de incubação. Aconselha-se o uso de testemunhas, usando-se duas plantas não inoculadas e outras duas inoculadas apenas com buffer + carvão ativado + carborundum.

Para outras viroses, pode-se inocular o extrato de folhas com sintomas de doentes, seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente.

b) Método da placa de fago

Este método é utilizado para a detecção de bactérias patogênicas, tendo sido inicialmente estabelecido para a detecção de *Xanthomonas phaseoli* e *Pseudomonas phaseolicola* em sementes de feijão e, posteriormente, para *P. phaseoli*, em sementes de ervilha.

Uma amostra de 250 g de sementes é superficialmente esterilizada com solução de hipoclorito de sódio a 2% durante 10 minutos. A seguir são macera-

dos em 1 litro de calda nutritiva (NB), em um liquidificador. Esta pasta é incubada por 24 h, visando a multiplicação da bactéria. Porções de 10 ml são removidas assepticamente para frascos esterilizados e adiciona-se uma suspensão contendo 4.000 a 5.000 partículas de fago. Amostras de 0,1 ml desta mistura são imediatamente, e após 6 a 12h, espalhadas em placas previamente inoculadas com bactéria indicadora. Cada partícula de fago forma uma zona característica (placa) e estas são contadas. A presença de bactérias homólogas é indicada pelo aumento significativo do número de placas no segundo isolamento.

Este teste vem sendo freqüentemente utilizado por pesquisadores. Apesar de sua grande sensibilidade e eficiência, não tem sido empregado em análise de rotina.

A sensibilidade do teste pode decrescer em sementes de feijão, substancialmente contaminadas com bactérias saprófitas, situação esta freqüentemente detectada quando as condições climáticas foram adversas por ocasião da maturação ou quando as vagens permaneceram em contato com solo úmido por um período mais longo que o normal.

Este método é perfeitamente aplicável em análise de rotina, especialmente quando grande número de amostras necessitam ser tratadas. Não envolve a utilização de equipamentos sofisticados e onerosos, além de ser facilmente avaliado, desde que se disponha de bacteriófagos ativos e específicos para as bactérias que necessitam ser detectadas.

c) Métodos sorológicos

Os métodos sorológicos são amplamente usados em patologia animal e humana, tendo sido adotado para um considerável número de patógenos de plantas, especialmente para vírus e bactérias.

O princípio do teste baseia-se na introdução de um organismo (vírus) em um animal, provocando a formação de anticorpos no sangue. As substâncias que induzem a formação de anticorpos são chamadas de antígeno. O sangue do animal inoculado com o antígeno contém anticorpos na globulina do soro e este soro contendo anticorpos é chamado de anti-soro. Os testes sorológicos estão baseados na reação "in vitro" entre o antígeno e o anticorpo. Estas reações podem ocorrer na forma de aglutinação ou precipitação.

A descrição dos principais testes sorológicos encontra-se no Plant Pathologist's Pocketbook do Commonwealth Mycological Institute.

Entre os testes sorológicos existentes, serão abordados sucintamente os testes de microprecipitação, difusão dupla, latex e Elisa.

Para o método de microprecipitação, podem-se testar tanto sementes como plântulas originárias de sementes infectadas. Obtém-se o extrato das sementes ou das folhas, sendo este material testado com o anti-soro específico para o vírus ou bactéria responsável pela doença. Em tubo capilar de 1,3 mm de diâmetro e 10 cm de comprimento, introduz-se inicialmente o anti-soro, preenchendo aproximadamente 1,3 cm do tubo, sendo o restante preenchido com o material supostamente infectado (antígeno). Através de movimentos oscilatórios, mistura-se o antígeno com o anti-soro. A formação de microprecipitações (coagulações) pode ser observada quando ocorrer reação entre o antígeno e o anti-soro, indicando que o patógeno responsável pela doença é o correspondente ao anti-soro empregado.

No método da Difusão Dupla ("Ouchterlony Test"), também se podem testar sementes ou folha de plântulas. Para tal, em uma placa de Petri contendo água de agar previamente solidificado (1% agar, 0,85% de cloreto de sódio e 0,02% de azoto de sódio), são realizados seis orifícios no substrato, circundando um orifício central. No orifício do centro, é colocado o anti-soro e nos circundantes são colocados alternadamente o extrato do material infectado, com três diluições, e o material sadio. Os orifícios podem ser preenchidos com tubos capilares. Realizada a distribuição do material, a placa é tampada e incubada à temperatura ambiente por um a dois dias. A reação positiva é caracterizada pela formação de uma zona de precipitação entre o orifício do anti-soro e do antígeno, assumindo a forma de um arco de coloração branco-opaca.

Em outro método sorológico, método do látex, minúsculas esferas de latex são sensibilizadas com frações de globulina do anti-soro, visando facilitar a visualização do precipitado (floculado) originário da reação entre o antígeno e o anti-soro. Esta técnica tem sido usada para a detecção do vírus do mosaico-da-soja, para a qual se utiliza plúmulas e cotilédones de plântulas. Este material é separado do restante da plântula e macerado em 5 ml de solução salina normal (0,85% de NaCl em água destilada). Uma gota do material oriundo desta maceração é misturada com 0,025 ml da suspensão de latex sensibilizado, de preferência em cavidade de lâminas de vidro. Estas lâminas, contendo o antígeno e o anti-soro com latex, são incubadas durante 1 h à temperatura de 20°C em câmara úmida para evitar evaporação. A observação é feita com o auxílio de um microscópio estereoscópico, em fundo escuro e com luz refletida. Esta técnica pode ser realizada em tubos capilares. Para este método, 200 sementes são incubadas por uma semana em placas de Petri (25 sementes por pla

ca) com papel filtro previamente umedecido em água destilada e esterilizada. Com uma tesoura, separam-se, em outras placas, as plúmulas e cotilédones do restante das plântulas, formando-se quatro repetições de 50 sementes. Em cada repetição são adicionados 2 ml de buffer. Com o auxílio de uma colher plástica, o material é esmagado, pressionando-se a colher contra o mesmo. A seiva oriunda deste macerado é deixada em repouso por 2h, com a placa de Petri fechada. Após a incubação, as placas são levemente agitadas. Em um tubo capilar perfeitamente limpo introduz-se 1 cm da suspensão de latex sensibilizado com vírus e 2 cm da seiva oriunda do material macerado. Prepara-se um tubo capilar com buffer e latex para servir como testemunha. Para cada repetição deve haver um tubo capilar, totalizando cinco tubos por amostra (1 controle + 4 repetições). A homogeneização do antígeno com o anti-soro é realizada através de um homogeneizador automático, ou manualmente, fixando-se os tubos capilares em lâmina de vidro por meio de fitas adesivas. Após 15 minutos de homogeneização (movimentos oscilatórios), os tubos capilares são examinados em microscópio estereoscópico. Dependendo da intensidade de floculação, a mesma pode ser visualizada a olho nú.

O método Elisa ("Enzyme Linked Immunosorbent Assay") apresenta grande sensibilidade para a identificação do vírus, uma vez que o anti-soro terá sua reação com o antígeno favorecida pela hidrólise enzimática. Neste método, utiliza-se uma placa especial composta por pequenos alvéolos justapostos. No alvéolo, é colocado inicialmente uma porção de anti-soro específico, sendo, em seguida, incubada a 37°C por 4 horas, com posterior lavagem do alvéolo. Adiciona-se o antígeno e incuba-se por 16 horas a 6°C. Novamente, as placas são lavadas, ficando as partículas do vírus retidas às do anti-soro fixado nas paredes do alvéolo. A fase seguinte consta na adição de anticorpos conjugados à enzima, a qual visa propiciar a coloração da suspensão. A placa é novamente incubada a uma temperatura de 37°C por 6 horas. A placa é novamente lavada, ficando as partículas do anti-soro conjugado à enzima fixado nas partículas do antígeno anteriormente aderido. A seguir, adiciona-se o substrato enzimático misturado com buffer. Este substrato será hidrolizado pela enzima, produzindo uma coloração amarelada indicadora da reação positiva entre o antígeno e o anti-soro. Por meio deste método, uma semente infectada pode ser detectada entre 1.000 sementes sadias.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. Prova del latex para la detección rutinaria de virus de la papa. Circular 8. Vol. VI, Lima, Perú, 1978.
- DANISH GOVERNMENT INSTITUTE OF SEED PATHOLOGY FOR DEVELOPING COUNTRIES. Serological tests for the identification of seed-borne plant virus. Copenhagen, 1976.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International rules for seed testing. Proc. Int. Seed Test. Ass., Wageningen, 31: 1-152, 1966.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regras para Análise de Sementes. Brasília, Ministério da Agricultura, 1976. 188 p.
- NEERGAARD, P. Seed pathology. London, The Macmillan Press Ltd, 1979.

CAPÍTULO XI

FATORES QUE AFETAM OS RESULTADOS DOS TESTES DE SANIDADE
ENVOLVENDO INCUBAÇÃOJosé Tadashi Yorinori ⁽¹⁾1 - INTRODUÇÃO

A finalidade dos testes de sanidade podem ser resumidos em: a) determinação do tipo de patógeno associado com a semente; b) determinação da quantidade de inóculo; c) determinação da distribuição ou frequência do inóculo num lote de semente; e d) determinação do vigor do inóculo, no mesmo teste (NEERGAARD, 1979).

Cada um dos Itens mencionados acima pode ser alterado, dependendo da idade das sementes em relação à data da colheita, e do manuseio e condições de armazenamento (temperatura, umidade, tipo de embalagem, etc.), após a colheita.

A relativa vitalidade e virulência do inóculo podem ser medidas em termos da 1) rapidez de desenvolvimento micelial (pelo teste em agar), 2) rapidez de desenvolvimento micelial, mais esporulação, habilidade em produzir sintomas (pelo teste em "blotter"), 3) habilidade em reduzir a emergência em campo e a produção de doenças em plântulas (pelo teste em solo, em areia, etc.), 4) habilidade em produzir doença em plântulas cultivadas a partir de sementes testadas, e 5) habilidade em produzir doença em plantas indicadoras (NEERGAARD, 1979).

Para se poder fazer uma análise patológica representativa do nível de infecção do lote de semente, é essencial que se tenha, primeiro, uma amostra representativa do lote. A uniformidade do lote de semente quanto à infecção pode ser menor do que com relação ao poder germinativo e pureza. Portanto, a amostra a ser testada deve ser obtida de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras Internacionais de Testes de Sementes do "International Seed

⁽¹⁾ Engº Agrº, Pesquisador, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, - CNPSO/EMBRAPA, Londrina, Paraná.

Testing Association" - ISTA (ISTA, 1976).

A condição e o tempo de armazenamento da amostra, entre a retirada do local de armazenamento do lote e a realização dos testes patológicos, podem variar grandemente os resultados. Dependendo dessas condições, alguns fungos podem apresentar longevidade maior ou menor do que a semente. A fim de se poder avaliar a influência da condição de armazenamento sobre inóculo, a Comissão de Fitopatologia do ISTA (NEERGAARD, 1979) recomenda que uma amostra comparativa seja mantida a uma temperatura não superior a 10°C e 50% de umidade relativa.

As sementes colhidas no campo freqüentemente apresentam altos níveis de contaminação com microrganismos que não afetam a cultura mas que podem influir nos resultados dos testes, exigindo um tratamento antes da realização do teste.

A finalidade do tratamento prévio da semente é eliminar os saprófitos que possam competir com os patógenos e mascarar os resultados. O tratamento deve ser suficiente para diminuir os saprófitos, sem contudo, reduzir o inóculo dos patógenos. O tratamento mais comumente usado consiste em imergir as sementes em uma solução de hipoclorito de sódio (Q-Boa comercial), contendo aproximadamente 1% de cloro ativo. O tempo de imersão pode variar de um a três minutos para sementes de feijão, milho e sorgo, e de dez minutos, para arroz e algodão.

2 - SELEÇÃO DO TESTE

A seleção do tipo de teste a ser utilizado depende do conhecimento prévio da maneira como o patógeno está associado com a semente (externa e/ou internamente) e da forma como irá se expressar (através de esporulação, crescimento micelial, sintoma em plântulas etc.), para que possa ser identificado.

Basicamente, há cinco tipos principais de testes baseados na incubação de sementes em meios apropriados de cultura (NEERGAARD, 1979).

a) Teste baseado apenas no crescimento do patógeno. Neste caso, os testes são realizados utilizando-se diferentes tipos de meios de cultura à base de agar (agar-água, agar-batata-dextrose, com ou sem a adição de substâncias seletivas para o crescimento específico do(s) patógeno(s)). O resultado é baseado na porcentagem de sementes com um determinado patógeno e na rapidez de crescimento das colônias.

b) Teste baseado no crescimento da plântula e do patógeno. As observações são feitas nos testes em "blotter", onde se pode verificar a porcentagem

de sementes infectadas, a rapidez de crescimento micelial e a virulência do inóculo pela intensidade ou severidade de infecção, de acordo com graus de infecção pré-estabelecidos.

c) Teste baseado no crescimento das plântulas e desenvolvimento de sintomas. A finalidade deste teste, denominado de "teste em plântulas", é prever o efeito dos patógenos na emergência em campo do lote de semente de análise. As sementes são plantadas em solo, areia ou em meio inerte semi-estéril com vermiculita e outros materiais. Este método freqüentemente permite avaliar o vigor de germinação da semente, assim como, o potencial dos inóculos dos patógenos associados com a semente. O teste é excelente para avaliação de sementes testadas.

d) Testes baseados no crescimento do hospedeiro além da fase de plântula e no desenvolvimento de sintomas. Neste caso, as plantas são cultivadas até o estágio de maturação para se verificar as doenças que aparecem somente em plantas adultas. O método é freqüentemente utilizado para controle de material em quarentena, após a entrada no país. É utilizado para a detecção de míldio, certas doenças sistêmicas do tipo vascular e viroses. Após a constatação da ausência de doenças, as sementes colhidas podem ser liberadas para plantio.

e) Testes baseados no cultivo de plantas indicadoras e inoculação com patógenos localizados no interior das sementes testadas. Este teste é usado na detecção e identificação de vírus transmitidos pelas sementes e para testes de viabilidade de certos patógenos.

3 - FATORES ENVOLVENDO A CONDIÇÃO DA SEMENTE

O resultado de um teste de sanidade pode ser grandemente influenciado pela condição da semente no momento do teste. Sementes com baixo vigor, devido à colheita prematura ou tardia, ou afetadas por efeitos físicos ou fisiológicos durante o desenvolvimento ou armazenamento, podem favorecer o desenvolvimento de microrganismos saprófitos que marcaram a presença dos patógenos.

O envelhecimento das sementes pode causar uma alteração na relação semente-patógeno, pela diferença de longevidade entre ambos. Muitos patógenos tendem a reduzir o potencial de inóculo, à medida que a semente envelhece. Essa redução é geralmente mais rápida quanto mais superficialmente estiverem alojados os propágulos nas sementes. Exemplos disso são os fungos *Pyricularia oryzae* cav., causador da brusone do arroz, e *Phomopsis oryzae* (*Diaporthe phaseolorum* var. *sojae*) que podem ocorrer em alta porcentagem logo após a colheita,

porém, poderão sofrer grande redução em poucos meses, em condição de armazenamento. Todavia, assim como as populações de patógenos podem ser reduzidas com o envelhecimento da semente, também as populações de fungos antagonísticos podem diminuir, favorecendo a recuperação de maior porcentagem de fungos patogênicos.

Sementes, com baixo vigor e alta porcentagem de contaminação com fungos saprófitas, podem ser melhoradas para fins de teste, pelo tratamento com desinfetante. Neste caso, o tratamento com uma solução de hipoclorito de sódio a 1% de princípio ativo (cloro), durante um a dez minutos, dependendo do tipo de semente, pode dar bons resultados. Após o tratamento, as sementes podem ser testadas pelo método de "Blotter" ou batata-dextrose-agar (BDA).

4 - QUANTIDADE, VIGOR E LOCALIZAÇÃO DO INÓCULO NA SEMENTE

A rapidez de crescimento do patógeno associado com a semente, em qualquer tipo de teste depende, principalmente, de três fatores: a) da quantidade de inóculo; b) do vigor do inóculo, e c) do ponto de infecção ou contaminação.

Em geral, quanto maior a quantidade de inóculo, do vigor e de sua localização na superfície da semente, maior a possibilidade de ser detectado. Quanto mais profundamente localizado na semente, maior tempo levará para que o inóculo se desenvolva, estando, portanto, mais sujeito a ser encoberto por microrganismos saprófitos. No caso, a desinfecção superficial da semente poderá ser necessária.

5 - RESPOSTA DO PATÓGENO ÀS CONDIÇÕES DO TESTE

O resultado de um teste de sanidade depende da reação do patógeno à condição de incubação. Assim, os testes padrões usados em laboratórios são aqueles que permitem detectar a presença de certos grupos de patógenos que são capazes de produzir abundante micélio e/ou esporular em meio de agar, e aqueles que são capazes de produzir micélio, esporular ou produzir sintomas no teste em "Blotter".

Atualmente, através de inúmeros testes comparativos realizados anualmente pela Comissão de Patologia de Sementes do "International Seed Testing Association" (NEERGAARD, 1979) e Workshops (YORINORI et al., 1979), têm-se desenvolvido métodos padrões para detecção de diversos patógenos de várias culturas. Na relação a seguir são apresentados os tipos de testes mais adequados

para alguns patógenos das culturas de algodão, arroz, feijão, milho, soja e sorgo, segundo NEERGAARD, (1979) e YORINORI et al. (1979).

Cultura/patógeno	Teste recomendado
<u>Algodão</u>	
<i>Ascochyta gossypii</i>	"blotter" e agar
<i>Glomerella gossypii</i>	agar
<i>Xanthomonas malvacearum</i>	plântula
<u>Arroz</u>	
<i>Curvularia oryzae</i>	"blotter" e agar
<i>Drechslera oryzae</i>	"blotter", agar e plântula
<i>Pyricularia oryzae</i>	"blotter"
<i>Trichocoenionis padwickii</i>	"blotter" e agar
<i>Xanthomonas oryzae</i>	plântula
<i>Phoma</i> sp.	"blotter" e BDA+Sulfato de Streptomicina
<u>Feijão</u>	
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	"blotter", agar e plântula
<i>Corynespora cassiicola</i>	"blotter" e agar
<i>Macrophomina phaseolina</i>	"blotter" e agar
<i>Pseudomonas phaseolicola</i>	plântula
<i>Isariopsis griseola</i>	"blotter"
<u>Milho</u>	
<i>Diplodia maydis</i>	"blotter" e agar
<i>Fusarium moniliforme</i>	"blotter", agar e plântula
<u>Soja</u>	
<i>Phomopsis sojae</i>	"blotter"
<i>Colletotrichum dematium</i> var <i>truncata</i>	"blotter"
<i>Cercospora sojae</i>	"blotter"
<i>Cercospora kikuchii</i>	"blotter"
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	"blotter"
<u>Sorgo</u>	
<i>Curvularia lunata</i>	"blotter" e agar
<i>Drechslera rostrata</i>	"blotter", agar e plântula
<i>Fusarium graminearum</i>	"blotter", agar e plântula

Como já foi mencionado, a escolha do tipo de teste a ser efetuado depende do conhecimento prévio do hábito de crescimento e características morfo-

lógicas dos patógenos. Em geral, fungos de crescimento lento são facilmente encobertos por outros e, freqüentemente, há necessidade de se fazer observações periódicas durante o período de incubação.

6 - FATORES DE VARIAÇÃO NA INCUBAÇÃO

A fim de se poder identificar devidamente os patógenos associados com a semente, é essencial que se conheça também os fatores do meio ambiente do teste que favoreçam o crescimento e frutificação do patógeno e o desenvolvimento de sintomas na planta.

Esses fatores dependem do fungo a ser testado e precisam ser bem controlados. A ausência de um fator que seja essencial pode causar a falha total do teste.

Os principais fatores que devem ser considerados durante a incubação são discutidos a seguir (NEERGAARD, 1979).

Condições de incubação

Material usado para câmara de incubação

Espaçamento das sementes na câmara de incubação

Meio de cultura

Temperatura

Umidade (principalmente no teste em "Blotter")

Luz

Tempo de incubação

Leitura das ocorrências

Condições da leitura (fonte da luz e aumento do microscópio estereoscópico)

Habilidade e experiência do analista

Estimativa (entre infecção/contaminação e sadia/não contaminada)

6.1 - Condições de incubação

6.1.1. - Material usado para câmara de incubação

Há uma grande variedade de recipientes que podem ser utilizados para o teste em "blotter", incluindo recipientes de vidro e plástico. O tipo de re-

recipiente usado não influi grandemente no resultado do teste. Todavia, os recipientes de plástico transparente freqüentemente estimulam a esporulação por permitir a transmissão de luz com maior comprimento de onda do que os recipientes de vidro, com exceção do vidro Pyrex. No Brasil, além de difícil obtenção, o elevado custo das placas de Petri de Pyrex e plástico tornam proibitivos o uso desses recipientes para testes rotineiros. Como alternativa, está se tornando cada vez mais comum o uso das caixas plásticas GERBOX (dimensões: 3,5 cm (altura) x 13,5 cm x 13,5 cm), fabricadas pela Sementes Corradini, São Paulo.

6.1.2 - Espaçamento da semente na câmara de incubação

O espaçamento entre as sementes irá depender do tamanho das sementes, do tipo de teste ("blotter" ou agar), da rapidez de crescimento dos microrganismos associados, do tempo de incubação e da temperatura adotada. Fungos de crescimento rápido, como *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*, tornam quase impossível determinar a porcentagem de infecção após o período padrão de sete dias de incubação, devido ao rápido crescimento sobre as sementes vizinhas. Nesses casos, há necessidade de se observar as sementes periodicamente, durante o período de incubação.

6.1.3 - Meio de cultura, ou substrato

O tipo de papel de filtro usado no teste em "blotter" parece não influir significativamente nos resultados. Todavia, devido ao alto custo desse material é comum optar-se pelo uso de papel toalha ou papel chupão. Geralmente, esses materiais contêm substâncias tóxicas ao fungo e à germinação das sementes, podendo comprometer os resultados. Portanto, no caso de se optar pelo uso de outros materiais, como medida de segurança, sugere-se que seja feito um teste preliminar comparativo com papel de filtro e outros materiais.

Também o pH do papel usado no teste em "blotter" pode causar variação na porcentagem de infecção das plântulas. Estudos têm mostrado que o ideal para detecção de *Drechslera oryzae* em "blotter", foi entre pH 7 e 9, com o máximo de pH 8; para *Trichococonis padwickii*, entre pH 4 e 6, com o máximo ao pH 5.

No caso do teste em agar, a escolha do meio adequado é de maior importância. Os meios de nutriente-agar, extrato de malte-agar e batata-dextro-

se-agar (BDA) são mais comumente usados. O meio de BDA é especialmente indicado para a detecção de espécies de *Fusarium*.

A variação na concentração dos ingredientes, pH, modo de preparo dos meios em agar e quantidade de meio por recipiente, pode influir no desenvolvimento dos fungos. Como padrão, é adotado o meio de BDA com pH 5,6 a 25°C.

O uso de água de torneira pode ser também uma das causas de variação. O pH e a concentração de minerais na água pode variar gradativamente de um local para outro. Deve-se, portanto, usar sempre água destilada com padrão tanto para "blotter" como para o preparo de meios de agar.

Para a detecção de certos gêneros ou espécies de fungos é comum adicionar certos ingredientes ao meio de agar. O fungicida PCNB (pentacloronitrobenzeno) adicionado ao meio de peptona - agar na dose de 1000 ppm mostrou-se altamente eficiente para detecção de *Fusarium*. O fungicida benomyl (Benlate), na dosagem de 0,1 a 1,0 ppm suprimiu o desenvolvimento de vários fungos como *Ascochyta*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Fusarium* e outros, enquanto que permitiu o crescimento de *Alternaria*, *Drechslera* (*Helminthosporium*) e *Stemphylium*.

6.1.4 - Temperatura

Resultados dos testes de patologia são grandemente influenciados pela temperatura de incubação a qual afeta a germinação, crescimento, reprodução e outras atividades dos microrganismos. As temperaturas mínimas, ótimas e máximas para cada processo vital varia de acordo com os microrganismos. Assim, a temperatura para esporulação pode ser bem diferente da temperatura para um máximo crescimento micelial. Na relação abaixo são apresentadas as temperaturas ótimas para crescimento micelial em BDA, de alguns fungos transmitidos pela semente de algodão, arroz, feijão, milho, soja e sorgo, segundo NEERGAARD (1979) e YORINORI et al. (1979).

Cultura	Fungo	Temperatura ótima °C
Feijão	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	20
Todas	<i>Botrytis cinerea</i>	23-24
Algodão	<i>Verticillium albo-atrum</i>	22-25
Feijão, soja	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	24
		continua

Continuação

Cultura	Fungo	Temperatura ótima °C
Milho, sorgo	<i>Fusarium graminearum</i>	24-27
Sorgo	<i>Drechslera rostrata</i>	25
Milho	<i>Drechslera turcica</i>	27
Milho, sorgo, arroz, soja	<i>Fusarium moniliforme</i>	27-30
Arroz	<i>Helminthosporium oryzae</i>	28
Algodão	<i>Fusarium oxysporum f.</i> <i>vasinfectum</i>	28
Arroz	<i>Trichocoelia padwickii</i>	28
Arroz	<i>Pyricularia oryzae</i>	28
Milho	<i>Diplodia maydis</i>	28-30
Milho	<i>Helminthosporium maydis</i>	30
Todas	<i>Macrophomina phaseolina</i>	30-35
Soja	<i>Cercospora kikuchii</i>	17-18

Variações no crescimento dos fungos submetidos a temperaturas ótimas podem ocorrer, dependendo a) do tipo de contaminantes presentes, b) da diferença na rapidez de crescimento dos diferentes fungos associados, c) do antagonismo entre os fungos e d) da localização do patógeno sobre ou no interior da semente.

6.1.5 - Umidade

Principalmente no teste em "blotter", o teor de umidade na placa de incubação pode ser limitante ao crescimento dos fungos. Uma umidade deficiente não irá permitir o crescimento dos microrganismos e a germinação das sementes. Da mesma forma, o excesso de umidade pode causar a inibição do crescimento dos fungos de interesse e favorecer o desenvolvimento de fungos saprófitos e bactérias antagonicas. Em geral, as sementes não germinam bem em excesso de umidade. A quantidade de umidade em "blotter" deve ser suficiente para que o teste possa ser concluído sem necessidade de adição durante o período de incubação.

Todavia, com a variação da umidade relativa do ar, da temperatura, e

da quantidade e tamanho das sementes colocadas em cada placa, podem variar a duração da umidade do "blotter". Quando a incubação é feita em condições de baixa umidade, alta temperatura (28 a 30°C) e diversas sementes grandes (Ex.: milho, feijão e soja), freqüentemente, há a necessidade de adicionar uma pequena quantidade de água. Como exemplo, comparando-se dez sementes de milho a 20 sementes de arroz, por placa, a quantidade de água deverá ser maior no "blotter" para milho.

6.1.6 - Luz

A variação do comportamento dos fungos em relação à luz deve ser levada em consideração em todo teste de patologia de sementes. Cada fungo responde diferentemente à presença ou ausência de luz. De acordo com a reação dos fungos à luz, estes podem ser classificados em três categorias: a) aqueles em que a luz estimula a esporulação, b) aqueles cuja esporulação é inibida pela luz, e c) aqueles que são insensíveis à luz (LEACH, 1979).

As luzes, especialmente a ultravioleta azul, podem influenciar a rapidez de crescimento, cor e morfologia das colônias, esporulação, tamanho e forma dos esporos, cujas características são importantes para a identificação dos fungos (LEACH, 1979). Conídios de *Drechslera maydis* que são curvos a 20°C e 28°C sob luz negra e luz fluorescentes, no escuro, tornam-se retos, consideravelmente menores e com menor número de septos (SINGH, MATHUR e NEERGAARD, 1974).

As luzes negras comumente utilizadas em testes de patologia de sementes emitem ondas longas da radiação ultravioleta e são consideradas ideais para tais testes (NEERGAARD, 1979; SRINIVASAN et al., 1971) (Exemplo: tubo de luz-negra da Sylvania, modelo F30 T12/LN, de 90 cm). A luz fria fluorescente de 40 watts pode substituir adequadamente a luz negra na maioria dos casos.

Na falta de luz artificial, a luz natural indireta recebida através de janelas de vidros pode ser satisfatória.

Alguns fungos que esporulam em completa escuridão (exemplo: certos isolados de *Pyricularia oryzae*) têm a fase conídiana que é inibida pela luz azul-luz negra.

Como recomendação padrão, os testes devem ser realizados sob um regime de 12 h de luz e 12 h de escuro (ISTA, 1976).

6.1.7 - Tempo de incubação

A duração do período de incubação é determinada pela velocidade de crescimento e condições ambientes do teste. Entre os fatores do ambiente, a temperatura é especialmente importante. Testes sob temperatura inferior a 20°C , para cuja condição recomendam-se sete dias de incubação, o período de incubação deve ser prolongado (RAM NATH, NEERGAARD, MATHUR, 1970). Da mesma forma, sob temperaturas acima de 20°C , duração da incubação poderá ser reduzida. Exemplos de diferenças na velocidade de crescimento de alguns fungos de semente em meio de batata-dextrose-agar, a 20°C , ao 7º dia de incubação são apresentados na relação a seguir, tendo como fonte NEERGAARD (1979).

Velocidade de crescimento (diâmetro)	Organismo	Cultura
Lento < 2 cm	<i>Cercospora oryzae</i> <i>Pyricularia oryzae</i>	arroz arroz
Médio De 2 a 6 cm	<i>Colletotrichum graminicola</i> <i>Drechslera</i> spp. (<i>Helminthosporium</i>) maioria das espécies <i>Fusarium</i> spp. <i>Trichoconia padwickii</i> <i>Diplodia zeae</i>	sorgo arroz, milho, sorgo arroz, milho, sorgo algodão, feijão arroz milho
Rápido > 6 cm	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Nigrospora oryzae</i> <i>Rhizoctonia solani</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	milho, sorgo arroz feijão algodão, arroz, feijão milho e sorgo feijão

Em sementes de arroz, o fungo *Pyricularia oryzae* pode ser facilmente detectado em teste em "blotter" aos quatro ou cinco dias de incubação. Neste

caso, a leitura aos sete dias de incubação pode ser afetada pelo desenvolvimento de outros fungos de crescimento mais rápido, o desenvolvimento de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho e arroz é muito lento no tempo em "blotter" a 20°C. O aumento do período de incubação para três semanas para milho (NEERGAARD, 1979), e até 15 dias, para arroz (RAM NETH, NEERGAARD e MATHUR, 1970), aumentou a contagem desse fungo. Frequentemente, o aumento da temperatura de incubação, de 20 para 25°C, pode sentir o mesmo efeito.

6.2 - Leitura das ocorrências

6.2.1 - Condições da leitura (fonte de luz e aumento do microscópio)

Testes comparativos realizados entre membros de diversos países da Comissão de Fitopatologia do ISTA tem mostrado que, provavelmente, o maior fator de discrepância entre os resultados dos testes comparativos internacionais é o fator humano. (NEERGAARD, 1979).

A iluminação para leitura das placas deve ser adequada e colocada a uma distância que não aqueça ou seque as colônias dos fungos.

Para testes rotineiros, é também necessário ter um microscópio com objetiva intercambiável com possibilidade de aumentos de 10 a 60.

6.2.2 - Habilidade e experiência do analista

Em testes de rotina, em que é necessário observar um grande número de amostras em curto espaço de tempo, é essencial que o analista tenha a habilidade de distinguir rapidamente entre fungos e sintomas semelhantes. Em geral, a falta de prática é a principal causa de variação em testes comparativos (NEERGAARD, 1979). O desenvolvimento da habilidade de reconhecer infecções leves e detectar a presença de certo patógeno ao primeiro sinal de micélio, mesmo antes de esporulação, pode ser decisivo. A familiaridade com as características morfológicas do micélio (cor, tipo de micélio e colônia), cor e forma dos conidióforos e forma, tamanho e disposição dos conídios são essenciais para se poder distinguir em patógeno associado com fungos saprófitos na mesma semente.

6.2.3 - Estimativa

Finalmente, um ponto de muito controvérsia é a decisão sobre quando

considerar uma semente sadia ou infectada (NEERGAARD, 1979). Há casos em que não há margem para dúvida, quando as sementes já estão deterioradas, ou totalmente tomadas pelo fungo, ou com sintoma bem característico de infecção. Todavia, há muitos casos em que a decisão é uma questão de interpretação. Uma semente aparentemente sadia, sem sintoma, porém, com presença de sinal do patógeno na superfície, seria classificada como sadia ou infectada? A decisão pode depender de conhecimento da patogenicidade do organismo nesse tipo de associação com a semente. Se a simples presença do inóculo na superfície acarretar a inviabilidade da semente ou comprometer a produção dessa planta, ou ainda, for uma forma de disseminação do fungo no campo, então, é conveniente que se considere como semente infectada.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- ISTA. International Rules for Seed Testing. Rules, 1976. Seed Sci. & Tech., Zurich, 4: 3-49, 1976.
- KANG, C.S.; NEERGAARD, P. and MATHUR, S.B. Seed health testing of rice. VI. Detection of seed-borne fungi on blotter under different conditions of light and temperature. Proc. Int. Seed. Test. Ass., Norway, 37: 371-740, 1972.
- LEACH, C.M. Environmental conditions and incubation period in seed health testing, pp. 89-102. In: YORINORI, J.T.; SINCLAIR, J.B.; MEHTA, Y.R. and MOHAN, S.K., ed. Seed Pathology, Problems and Progress. Proc. First Latin Amer. Workshop on Seed Pathol., April 10-18, 1977. Inst. Agron. Paraná, Brazil, 1979. 274p.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. Vol. 1 (2nd. ed.). London, The MacMillan Press Ltd., 1979. 839p.
- NOBLE, M. and M.J. RICHARDSON. An Annotated List of Seed-borne Diseases. Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute. 1968. 191p.
- RAM NATH; NEERGAARD, P. and MATHUR, S.B. Identification of *Fusarium* species on seeds as they occur in blotter test. Proc. Int. Seed Test. Ass. Vollebakk, 35: 121-144, 1970.
- RICHARDSON, M.J. (eds.). A Annotates List of Seed-borne Disease. 3ed. Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute, 1979. 320p.

- SINGH, D.V.; MATHUR, S.B. and NEERGAARD, P. Seed health testing of maize. Evaluation of testing techniques, with special references to *Drechslera maydis*. Seed Sci. & Tech., Zurich, 2: 349-365, 1974.
- SRINIVASAN, M.C.; CHIDAMBARAM, P.; MATHUR and NEERGAARD, P. A simple method for inducing sporulation in seed-borne fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc., London, 56-31-35, 1971.
- YORINORI, J.T.; SINCLAIR, J.B.; MEHTA, Y.R. and MOHAN, S.K. (eds). Seed Pathology, Problems and Progress. Proc. First Latin Amer. Workshop on Seed Pathol., April 10-18, 1977. Inst. Agron. Paraná, Brazil. 274p. 1979.

CAPÍTULO XII

TÉCNICAS AUXILIARES EM LABORATÓRIO DE PATOLOGIA
DE SEMENTESMaria Aparecida Souza Tanaka (¹)1 - INTRODUÇÃO

Os trabalhos desenvolvidos em Patologia de Sementes muitas vezes requerem a utilização de técnicas básicas de Fitopatologia. Essas técnicas, rotineiras e elementares para um fitopatologista experimentado, não podem, porém, deixar de ser mencionadas, uma vez que delas depende o sucesso de qualquer investigação que envolva o manuseio de microrganismos.

2. LIMPEZA E ESTERILIZAÇÃO DO INSTRUMENTAL E VIDRARIA

O primeiro e principal cuidado a ser tomado, e que é o alicerce de todas as outras técnicas, consiste na limpeza e esterilização criteriosa de todo o material a ser utilizado. Todo o instrumental (pinças, bisturis, tesouras, alças de platina, etc.) deve ser flambado em chama de bico de Bunsen ou lamparina a álcool.

Placas de Petri, tubos de ensaio, erlenmeyers e demais vidrarias devem ser esterilizados em calor seco (150-170°C) por duas horas, utilizando-se estufas para esterilização a altas temperaturas (fornos Pasteur). As placas de Petri devem ser embrulhadas em papel antes de serem colocadas no forno e só desembrulhadas no momento da utilização.

Meios de cultura, contidos em erlenmeyers ou tubos de ensaio vedados com tampões de algodão, são esterilizados em autoclaves (calor úmido), por 15-20 minutos, a 121°C e pressão de 1,5 atm.

(¹) Eng² Agr², M.S. em Fitopatologia, Pesquisadora do Centro Regional de Pesquisa do Triângulo e Alto Paranaíba (CRTP/EPAMIG); Caixa Postal - 351, 38.100, Uberaba, MG.

Também são esterilizados em autoclave: água para a realização de isolamentos e conservação de microrganismos, óleo, solo e areia. Nestes dois últimos casos, o tempo de esterilização deve ser de duas horas, repetindo-se a operação no dia seguinte. Não se recomenda utilizar recipientes grandes e nem enchê-los demasiadamente para que o calor atinja todo o volume a ser esterilizado.

De modo geral, para se obter uma boa esterilização, o volume do material colocado no interior do frasco a ser autoclavado não deve ser superior à metade do volume total do frasco. Tal procedimento evita que os líquidos, ao entrarem em ebulição, molhem o tampão de algodão encharcando-o.

A assepsia das câmaras de isolamento pode ser conseguida com limpeza freqüente. Antes de qualquer isolamento, deve-se limpar a mesa de trabalho com solução de hipoclorito de sódio a 1%, ou álcool 70%, e pulverizar álcool 70% no seu interior, procurando atingir todos os cantos. No final de semana, é conveniente pulverizar formol a 4-5% e só abrir a câmara para o reinício dos trabalhos, na segunda-feira. Os operadores devem usar aventais limpos, mãos e braços desinfetados com álcool, após serem lavados com água e sabão, e máscaras esterilizadas de pano ou papel. A mesa de trabalho deve ser coberta com pano umedecido com água ou solução de hipoclorito de sódio a 1%.

Quando se utilizam fluxos laminares, não há necessidade de pulverizar álcool nem formol para a assepsia do mesmo, não se dispensando, porém, os demais cuidados.

3. PREPARO DE MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura são substratos que fornecem aos patógenos os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento e permitem seu cultivo fora da planta hospedeira, facilitando o seu estudo mais aprofundado.

Os meios de cultura podem ser líquidos (sem adição de agar) ou sólidos (nos quais são adicionados 1,5 a 2,0% de agar). O cultivo em meio líquido deve ser mantido em mesa agitadora, para permitir a aeração e uniformidade de crescimento no seu interior.

São vários os meios de cultura utilizados para o cultivo de fitopatógenos, porém, o meio de batata-dextrose-agar (BDA) é universalmente empregado em isolamentos de rotina. Neste meio, cresce e esporula a maioria dos microrganismos fitopatogênicos.

O BDA tem a seguinte composição: batata inglesa - 200 g, dextrose -

20 g, agar - 15 a 20 g, água destilada - 1000 ml. A sua preparação consta basicamente dos seguintes passos:

a) cozinhar a batata, cortada em fatias, em 500 ml de água destilada, até que fique macia. Filtrar em tela de nylon ou gaze fina;

b) fundir o agar nos outros 500 ml de água, em autoclave (o frasco a ser empregado deve ser de 1000 ml) ou em banho-maria;

c) juntar o filtrado da batata ao agar fundido e adicionar a dextrose. Completar o volume até 1000 ml;

d) ajustar o pH para 7,0, adicionando solução de NaOH a 1%, gota a gota, sob agitação;

e) distribuir o meio ainda fundido em tubos de ensaio ou erlenmeyers, de modo que o volume do meio não ultrapasse a metade do volume total do frasco. Vedar os frascos com tampões de algodão;

f) esterilizar em autoclave por 15-20 minutos, a 121°C e 1,5 atm. de pressão.

Após retirar os tubos da autoclave, os mesmos devem ser deixados em posição inclinada até que esfriem e o agar se solidifique. Desta maneira, obtem-se maior superfície do meio dentro do tubo.

O meio esterilizado contido nos erlenmeyers pode ser vertido em placas de Petri assim que atinja a temperatura de aproximadamente 45-50°C, ou es tocado em refrigerador, após ter esfriado, para utilizar futuramente. Neste caso, por ocasião do uso, deve-se fundir novamente o meio, utilizando-se auto clave ou banho-maria.

A temperatura ideal para se verter o meio é determinada na prática da seguinte maneira: segurando-se o erlenmeyer com as mãos, verifica-se que está quente, porém suportável.

Além do BDA, alguns outros meios, como o Czapek-agar e os meios indicados para bactérias são também muito usados.

O meio de Czapek oferece condições para o crescimento de quase todas as espécies de fungos fitopatogênicos, apresentando a vantagem de ser transparente e de fácil preparação. A sua composição é a seguinte: NaNO_3 - 1,0 g, K_2HPO_4 - 1,0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5 g, KCl - 0,5 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,01 g, sacarose - 30,0 g, agar - 15 g e água destilada - 1000 ml. Para o seu preparo, dissolver todos os componentes, menos o açúcar e o agar, em 500 ml de água, aque cer e filtrar. Nos 500 ml de água restantes, dissolver o agar e a sacarose. Juntar as duas partes ainda quentes, ajustar o pH para 7,0, acondicionar em tubos ou erlenmeyers e autoclavar, de modo semelhante ao descrito para o BDA.

Para isolar e cultivar bactérias fitopatogênicas podem ser usados os meios que utilizam extrato de carne (extrato de carne - 3,0 g, peptona - 5,0 g, agar - 15 g e água destilada - 1000 ml ou o meio básico para bactérias (ca-seína ácida hidrolisada - 8,0 g, extrato de levedura - 4,0 g, K_2HPO_4 (anidro) - 2,0 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,3 g, sacarose - 10 g, agar - 15 g e água destilada - 1000 ml). O modo de preparo é semelhante ao do Czapek-agar.

Durante o preparo dos meios de cultura, alguns cuidados adicionais devem ser tomados, como por exemplo:

a) ao se adicionar o meio fundido nos tubos de ensaio, utilizar funil, evitando derramar nos bordos, pois haverá aderência no tampão, favorecendo o aparecimento de contaminações. Proteger a parte externa dos tampões com papel, para evitar que se molhem durante a autoclavagem;

b) os tubos devem ser esterilizados dentro de recipientes perfurados, como cestas de metal, pois o ar retido no seu interior pode não permitir que o calor atinja os tubos totalmente;

c) quanto maior o volume a ser autoclavado, mais tempo se gasta para o calor atingir o centro da massa de meio do interior do frasco, e promover uma esterilização perfeita. Portanto, evitar a utilização de grandes volumes de uma só vez;

d) para facilitar o crescimento de fungos, deve-se deixar o meio ligeiramente ácido, ao passo que as bactérias se desenvolvem melhor em meios alcalinos ou neutros;

e) o meio não deve ser vertido fervendo nas placas, pois ocasiona a formação de gotas de condensação na tampa, que caem sobre a superfície do meio, podendo provocar contaminações;

f) cada placa deve receber quantidade de meio apenas o suficiente para cobrir uniformemente o fundo, até uma camada de aproximadamente 5 mm;

g) as placas contendo meio devem ser usadas logo após o seu preparo, não sendo conveniente guardá-las por muitos dias, pois com o tempo aparecem contaminações;

h) somente após ter esfriado e solidificado no interior das placas é que as mesmas poderão ser utilizadas;

i) ao se verter o meio, não se esquecer que as placas devem ser abertas apenas o suficiente para ser introduzido o gargalo do frasco que contém, e a operação deve ser feita próxima a uma chama de bico de Bunsen ou lamparina a álcool.

4 - ISOLAMENTO DE FITOPATÓGENOS

Para se realizar estudos mais aprofundados com os patógenos associados às sementes, torna-se necessário o seu isolamento e cultivo em meio de cultura artificial. Excetuando os parasitas obrigatórios, os patógenos podem ser isolados, utilizando-se uma série de procedimentos que visam manter condições de assepsia e permitir o crescimento do microrganismo sem a interferência de contaminantes.

O método de isolamento pode ter algumas variações, porém, certas práticas são comuns: as sementes devem ser lavadas e, dentro da câmara asséptica ou fluxo laminar, proceder primeiramente à desinfestação superficial, que consiste na imersão em álcool 50% por alguns segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio ou cálcio a 1% durante um a cinco minutos (dependendo da consistência e espessura da semente). As sementes devem ficar totalmente submersas no desinfetante. Por último, passar para um recipiente com água esterilizada. Cada operação descrita deve ser feita com pinça flambada, mergulhando-a primeiramente em álcool e passando-a na chama de bico de Bunsen ou lamparina a álcool.

A passagem rápida em álcool 50% tem por finalidade eliminar pequenas bolhas de ar que podem ficar nas reentrâncias da semente, dificultando o contacto perfeito do líquido com a mesma.

Muitas vezes, interessa o estudo de patógenos localizados em determinados tecidos, como o embrião, os cotilédones ou o tegumento. Neste caso, recomenda-se deixar a semente imersa em água esteril por duas a doze horas (conforme a semente), para facilitar o seccionamento e retirada apenas do tecido de interesse.

Após a desinfestação superficial, as sementes ou seções dos tecidos são colocados, com o auxílio da pinça flambada, na superfície do meio de cultura contido em placas de Petri, pressionando levemente. Esta operação deve ser feita próximo à chama de bico de Bunsen ou lamparina, abrindo-se a placa apenas o suficiente para a introdução do material no seu interior. A distância entre as sementes ou seções de tecidos deve ser de cerca de 2 cm, a fim de que haja um espaço livre para o crescimento das colônias.

Para o isolamento de patógenos localizados em outros órgãos vegetais, como folhas, hastes, raízes, etc., o procedimento é semelhante, e o tempo de desinfestação depende da consistência do material.

Uma vez efetuado o isolamento, as placas devem ser etiquetadas e in-

cupadas em torno de 26°C ou à temperatura ambiente. O uso da luz negra (NUV - "near ultraviolet light") em alternância de doze horas de escura induz a esporulação de muitos fungos, facilitando a identificação.

Assim que se observar crescimento, deve-se efetuar a repicagem para tubos com meio inclinado, utilizando-se alça de platina flambada. Os tubos com a cultura devem ser conservados adequadamente até o momento de sua utilização.

5. PROVAS DE PATOGENICIDADE

As sementes, sendo ricas em muitos nutrientes, favorecem o crescimento de vários microrganismos. Muitos deles, no entanto, não mantêm qualquer relação parasitária com a plântula durante ou após a germinação, e nem mesmo com a planta adulta. São chamados saprófitas ou oportunistas.

Dependendo do trabalho que está sendo desenvolvido, é necessária a comprovação da patogenicidade dos microrganismos associados às sementes. Para a maioria dos patógenos, esta comprovação pode ser feita através das "provas de patogenicidade", fundamentadas nos postulados de Koch, que consistem basicamente dos seguintes passos: uma vez isolado da semente, o microrganismo é inoculado em plantas saudáveis, da mesma espécie vegetal e mesma variedade. Se aparecerem sintomas de doença, isola-se o microrganismo das plantas, fazendo-se a comparação com aquele que foi isolado inicialmente. Para que seja comprovada a patogenicidade, ambos os isolados devem ser idênticos, sob todos os aspectos observados (forma e cor da colônia, morfologia dos esporos, etc).

5.1 - Inoculação das plantas

Uma vez isolados, os patógenos podem ser inoculados nas plantas, através de diversos procedimentos.

a) Contacto do inóculo com a superfície externa do hospedeiro: utiliza-se esse processo quando o patógeno é capaz de penetrar no hospedeiro através da epiderme, sem necessidade de ferimento. Consiste em colocar sobre a superfície do hospedeiro uma suspensão de inóculo, através de pulverização, por exemplo. Pode-se também utilizar a própria água de irrigação para veicular o inóculo.

b) Inoculação através de ferimentos: Consiste em ferir a epiderme do hospedeiro com agulha, escalpelo, abrasivos (carborundum), palitos, etc. e de

positar o inóculo sobre a região ferida. Pode-se, também, injetar o inóculo com seringa hipodérmica ou introduzir no hospedeiro os próprios palitos impregnados com o inóculo.

c) Inoculação do solo: O método é utilizado para patógenos de raiz ou causadores de marcha (por exemplo, *Fusarium* ou *Verticillium*). Consiste em misturar ao solo esterilizado esporos do patógeno, secos, em solução aquosa, ou juntamente com o próprio meio de cultura onde estava se desenvolvendo. Este último procedimento não é muito aconselhado, uma vez que a fermentação do meio pode interferir no resultado.

d) Inoculação de sementes: As sementes podem ser inoculadas de diversas maneiras, dependendo da natureza do patógeno. Pode-se misturar às sementes, sadias e desinfestadas superficialmente, esporos secos ou fragmentos de micélio de fungos. Um outro procedimento consiste em mergulhar as sementes em suspensão de inóculo durante cinco a dez minutos, e deixar à sombra antes da semeadura.

e) Inoculação de raízes: As raízes podem ser inoculadas pelo contato com solo infestado, ou através de fermento e inoculação direta.

Em qualquer tipo de inoculação a ser adotado, alguns cuidados devem ser tomados.

Todo o material utilizado deve ser rigorosamente limpo, e se possível esterilizado.

Os pulverizadores devem ser bem lavados, e não terem sido utilizados anteriormente para a aplicação de defensivos.

A concentração de inóculo deve ser calibrada, de acordo com o patógeno e a doença com que está trabalhando.

Deve-se manter o hospedeiro inoculado em ambiente saturado de umidade (câmara úmida) durante cerca de 48 horas. A câmara úmida pode ser conseguida recobrimo-se a planta ou o órgão inoculado com plástico, por exemplo.

Quando se faz inoculação artificial de bactérias, deve-se ter em mente que a penetração ocorre pelas aberturas naturais ou ferimentos na superfície do hospedeiro.

Não se deve proceder à inoculação nas horas mais quentes do dia, e sim à tardinha.

Se a inoculação for realizada a campo e ocorrer chuva até as 24 horas seguintes, deve-se repetir toda a operação.

6 - CONSERVAÇÃO DE MICRORGANISMOS

Os microrganismos fitopatogênicos, uma vez isolados, necessitam ser conservados adequadamente, de modo que a sua virulência e características culturais e genéticas sejam preservadas. Existem várias técnicas que podem ser adotadas para este fim. A maioria delas visa basicamente a paralização ou redução do crescimento das culturas originais, evitando-se a necessidade de repicagens frequentes, que levam à perda da virulência, além de riscos de contaminação.

A escolha do método de conservação depende da natureza do microrganismo, do tempo que se deseja estocar e da finalidade do trabalho de pesquisa que será desenvolvido.

6.1 - Principais métodos utilizados

Transferências periódicas

A transferência (ou repicagem) periódica é o método mais usado rotineiramente. Consiste na remoção de fragmentos da cultura em tubo inclinado, com meio de agar, para um novo substrato nutritivo, igual ou diferente daquele da cultura original. Após a formação de colônias de tamanho e esporulação satisfatórias, os tubos são mantidos em temperatura ambiente, em refrigerador (5-8°C) ou em "freezer" (-20°C). Se a estocagem for feita em temperatura ambiente ou refrigerador, novas transferências devem ser realizadas uma ou duas vezes ao ano, ou assim que se observar o esgotamento ou desidratação do meio. Se a conservação for em "freezer" não há necessidade de repicagens frequentes.

Este método é trabalhoso, principalmente quando é usado para grande número de culturas ao mesmo tempo. Podem também favorecer alterações indesejáveis, tanto nas características culturais como na virulência de muitos organismos. Além disso, as constantes operações de repicagem podem provocar contaminações por outros organismos.

Óleo mineral

É um método simples, porém quase sempre eficiente e de larga aplicação. Tanto pode ser usado para fungos como para bactérias.

Primeiramente, obtém-se um crescimento vigoroso do organismo na superfície do meio inclinado do tubo de ensaio, que é, então, coberta com óleo

mineral de alta pureza, esterilizado em autoclave por 45 minutos a 121°C. A altura do óleo deve atingir cerca de 1 cm acima da extremidade superior da superfície inclinada do meio e o tubo deve ser fechado, de preferência, com tampa de rosquear.

A maioria das culturas pode ser conservada dessa maneira, por vários anos, a 5-10°C.

Água estéril

O método consiste na transferência de pequenas porções de micélio, esporos ou colônias em ágar, para frascos contendo água destilada estéril.

Por este processo pode-se manter a viabilidade de grande número de gêneros de fungos fitopatogênicos por dez anos ou mais, sem a necessidade de repicagens. É um método bastante recomendado por ser extremamente barato, exigir pequeno espaço para estocagem, e permitir a conservação das principais características do microrganismo.

Solo ou areia estéril

É um método bastante prático, de fácil execução, e indicado para fungos e bactérias que possuem boa capacidade de esporulação ou formam estruturas de resistência, como por exemplo, *Fusarium* spp.

Consiste em transferir uma suspensão concentrada do microrganismo para solo ou areia estéril, contidos em pequenos frascos, de modo que o solo fique úmido, porém não encharcado.

Decorridos três a dez dias após a transferência, os frascos podem ser estocados em refrigerador ou mantidos em temperatura ambiente.

Basicamente, todas as características da cultura original são mantidas por esse processo, por longos períodos de tempo.

Tecidos secos de plantas

A maioria dos fungos fitopatogênicos sobrevive muito tempo em contato com os tecidos secos da planta doente (por um ano ou até mais). Os tecidos podem ser guardados em condições ambientais, em refrigeradores ou no interior de "freezers", neste caso, aumentando o tempo de conservação dos microrganismos.

Congelamento

O método consiste na utilização de temperaturas em torno de -20°C.

É recomendado para bactérias e alguns parasitas obrigatórios, congelando-se as partes da planta infectada, como pedaços de folhas, frutos, caules ou raízes. Desse modo, pode-se conservar o patógeno por até mais de um ano.

Também podem-se congelar culturas de fungos em agar, recomendando-se a utilização de frascos com tampa de alumínio provida de vedação de borracha. A tampa deve ser afrouxada durante o crescimento do organismo e apertada ao se proceder o congelamento.

Deve-se manter o material congelado durante todo o tempo de estocagem, descongelando-o apenas no momento da sua utilização, pois congelamentos e descongelamentos sucessivos podem danificar o microorganismo.

Liofilização

Consiste em congelar os esporos e submetê-los a uma secagem e armazenamento a vácuo, em pequenas ampolas de vidro. É um método sofisticado e caro, recomendado para a conservação de microrganismos por longos períodos de tempo.

Fungos (inclusive leveduras), bactérias e actinomicetos podem ser conservados por este processo. Há relatos de preservação de fungos por mais de dez anos, com todas as características da cultura original.

Método criogênico

Consiste na estocagem do material em nitrogênio líquido, garantindo a sua preservação por muitos anos.

As culturas, tecidos de plantas doentes ou suspensões de esporos, são, inicialmente, tratadas com glicose ou sacarose a 10%, ou glicerol a 10-20% e colocadas em ampolas de vidro de 2,0 ml, antes de serem submetidas ao nitrogênio líquido.

É um método sofisticado e dispendioso, recomendado principalmente para organismos que não são preservados satisfatoriamente por liofilização.

7 - PREPARAÇÃO PARA EXAME AO MICROSCÓPIO

A observação das estruturas de um fitopatógeno ao microscópio é indispensável para a sua identificação, assim como para uma diagnose segura.

Para que essas observações sejam realizadas, os microrganismos necessitam ser montados em lâminas, utilizando-se como líquido de montagem e água destilada ou diversos corantes preparados para esse fim. Os corantes geralmen-

te permitem melhor visualização das diferentes estruturas dos patógenos, além de impedir ou retardar o ressecamento com o passar do tempo, que se verifica com o uso de água destilada.

Os principais líquidos de montagem utilizados estão relacionados a seguir.

Lactofenol de Anann - ácido láctico p.a. - 100 ml, glicerina p.a. - 90 ml, fenol cristalizado - 10 g, água destilada - 10 ml.

Azul de Anann - lactofenol de Anann mais azul de algodão a 0,1-0,5%.

Azul de Metileno - azul de metileno - 5 ml, água destilada - 195 ml.

Lactofucsina - fucsina ácida - 0,1 g, ácido láctico - 100 ml.

As estruturas do patógeno a serem observadas podem ser obtidas de diversas maneiras.

Raspagem de superfície de lesões: com a extremidade de um estilete limpo e umedecido no líquido de montagem, raspa-se suavemente a superfície da lesão. Esta operação é facilitada pelo uso da lupa. Transfere-se o material coletado para uma lâmina devidamente preparada com uma gota do líquido de montagem. Cobre-se com lamínula e examina-se ao microscópio. As lâminas preparadas podem ser guardadas durante alguns meses, desde que seja retirado o excesso do corante e seja feita a vedação com esmalte ou outro material similar.

Esmagamento ou fragmentação: esta técnica é usada para estruturas rígidas como picnídios, peritécnicos, etc. Coloca-se a estrutura a ser examinada sobre a gota do líquido de montagem da lâmina e cobre-se com lamínula. Com o auxílio do cabo do estilete, comprime-se suavemente o material sob a lamínula.

Estruturas retiradas de culturas em meio artificial: as estruturas são retiradas e montadas em lâminas. Conforme a natureza do material, faz-se ou não o esmagamento e examina-se ao microscópio.

Um artifício muitas vezes de utilizada na prática é o uso da fita adesiva (durex, de preferência de dupla face). Comprime-se suavemente um pedaço de fita sobre as estruturas do patógeno, monta-se sobre lâmina e examina-se ao microscópio. É um método grosseiro, porém rápido e útil para fungos cujas estruturas se "quebram" com facilidade ao serem montados pelos métodos usuais.

O uso de câmara úmida, muitas vezes, é um excelente auxiliar na indução do crescimento e esporulação de muitos fungos, facilitando a montagem de lâminas. Para tanto, podem ser utilizados recipientes com tampas, como cubas

de vidro, placas de Petri, gerbox, etc, forrados com papel de filtro úmido ou tendo no interior um chumaço de algodão umedecido com água. O material vegetal com as lesões, após lavagem e desinfestação superficial com hipoclorito de sódio a 1% durante um a três minutos (dependendo da consistência), é colocado na câmara, e após o desenvolvimento satisfatório do patógeno, montam-se as lâminas.

Como recomendação geral, convém lembrar que as lâminas e lamínulas devem ser conservadas imersas em álcool 50%, em recipientes próprios. Por ocasião do uso, devem ser enxugadas com pano macio ou papel absorvente. Uma vez usadas, recomenda-se colocá-las imersas separadamente em álcool. Tanto as lâminas como as lamínulas devem ser lavadas em solução de detergente e enxaguadas com água em abundância.

8 - MEDIÇÕES E CONTAGENS AO MICROSCÓPIO

8.1 - Medições micrométricas

Para se dimensionar bactérias, esporos ou outras estruturas fúngicas, utiliza-se, como unidade de medida o micron (μ), que corresponde à milésima parte do milímetro.

As medidas podem ser feitas mediante uma ocular micrométrica, que é uma lente com uma pequena escala gravada, dividida em partes iguais. Essa escala deve ser calibrada da seguinte maneira: coloca-se sobre a platina do microscópio um micrômetro objetivo, que é uma lâmina com uma escala no centro, de 1mm, dividida em 100 partes, de modo que cada parte corresponda a 0,01 mm. Através da focalização, primeiro com o parafuso macrométrico e depois com o micrométrico, faz-se coincidir o 0,0 (zero) da escala da lente ocular micrométrica com o 0,0 (zero) do micrômetro objetivo. A seguir, procura-se qual o outro traço da lente ocular que coincide com um outro da escala do micrômetro objetivo (lâmina). Contar o número de divisões de ambas as escalas, compreendidas entre os traços que coincidiram. Suponhamos que a cada 70 divisões da ocular micrométrica correspondem 30 divisões (0,3 mm) da escala do micrômetro objetivo. Isto significa que 70 divisões do micrômetro ocular medem 0,3 mm (300 μ). Dessa maneira, cada divisão da ocular micrométrica mede:

$$\frac{300}{70} = 4,2\mu.$$

Uma vez conhecido o valor de cada divisão da escala da ocular micro-

métrica, as medições são feitas apenas com a utilização desta escala, substituindo o micrômetro objetivo pela lâmina contendo o organismo que se deseja medir.

A calibração depende da combinação entre a ocular e a objetiva. Portanto, toda vez que for mudada a dimensão da objetiva, deve-se fazer nova calibração. As medidas mais exatas são obtidas com as objetivas de maior aumento, por exemplo 60X.

As medições podem ser feitas utilizando-se um micrômetro ocular, ao invés da ocular micrométrica. Este consiste de um pequeno disco de vidro, com uma escala gravada, idêntica à da ocular micrométrica, que é colocada no interior da lente ocular, tomando-se cuidado para que a face gravada fique voltada para baixo. O procedimento para a tomada das medidas é em tudo semelhante àquela descrita anteriormente.

8.2 - Determinação da concentração de inóculo

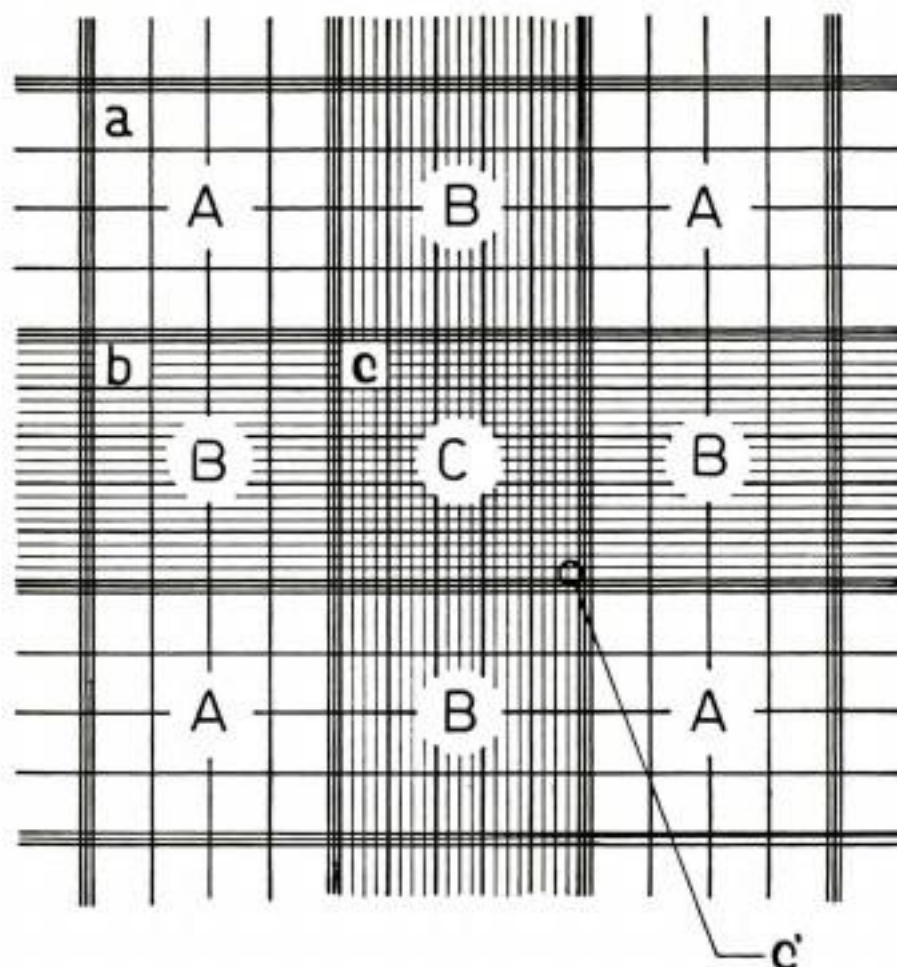
Antes de se efetuar qualquer inoculação é necessário que se faça uma estimativa da concentração do inóculo a ser aplicado. Isto pode ser conseguido com a utilização de lâminas especiais para esse fim, denominadas de hemacitômetros.

Embora existam algumas variações, o modelo mais usado é o hemacitômetro de Neubauer, que é uma lâmina retangular, tendo no centro dois compartimentos delimitados, um ao lado do outro, cada um com superfície de 9 mm^2 e profundidade de $0,1 \text{ mm}$, circundados por uma pequena canaleta. Cada um dos dois compartimentos descritos é, por sua vez, dividido em 9 subcompartimentos de 1 mm^2 de área, conforme a Figura 1. Esses 9 subcompartimentos são de três tipos: "A" - localizados nos quatro cantos e subdivididos em 16 quadrados ("a"), de $0,0625 \text{ mm}^2$ cada um; "B" - localizados entre os compartimentos "A" e subdivididos em 20 retângulos ("b"), de $0,05 \text{ mm}^2$ cada um; "C" - localizado no centro e subdividido em 25 quadrados ("c"), de $0,04 \text{ mm}^2$ cada um. O volume de qualquer um dos compartimento e subcompartimentos descritos corresponde à sua respectiva área multiplicada pela profundidade de $0,1 \text{ mm}$.

A precisão da contagem depende de alguns cuidados que devem ser tomados.

a) A suspensão de esporos ou células deve ser agitada para que haja uniformidade e a alíquota tomada seja representativa.

b) Recobrir a lâmina com a laminula apropriada e colocar delicadamen



$$a = \frac{A}{16} \quad b = \frac{A}{20} \quad c = \frac{A}{25} \quad c' = \frac{A}{400}$$

Nº médio de esporos em A $\times 1,0 \times 10^4$ = esporos/ml;

Nº médio de esporos em a $\times 1,6 \times 10^5$ = esporos/ml;

Nº médio de esporos em b $\times 2,0 \times 10^5$ = esporos/ml;

Nº médio de esporos em c $\times 2,5 \times 10^5$ = esporos/ml;

Nº médio de esporos em c' $\times 4,0 \times 10^6$ = esporos/ml.

Figura 1. Esquema de um hemacitômetro tipo Neubauer.

te uma gota da suspensão em um dos cantos da lâmina. Inclinar a lâmina aos poucos, para que o líquido preencha os compartimentos, porém sem extravassar para as canaletas.

c) Uma vez preparada a lâmina com a suspensão, aguardar dois a três minutos antes de efetuar a contagem, a fim de que haja uma perfeita distribuição das células.

d) Muitas células ficam exatamente sobre as linhas de demarcação interna dos subcompartimentos. Para se evitar que as mesmas sejam contadas duas vezes, recomenda-se a seguinte convenção: contam-se apenas as células que estiverem nas linhas da esquerda e superior do mesmo campo de observação.

Quando se trabalha com suspensões mais diluídas ou células grandes, recomenda-se efetuar a contagem em cada um dos quatro compartimentos "A" e utilizar a fórmula:

$$\text{Média do número de células em "A"} \times 10^4 = \text{células/ml}$$

Se a suspensão de células a ser contada for moderadamente concentrada, utilizam-se os compartimentos "B". Recomenda-se efetuar contagens separadas em dois subcompartimentos ("b") dos cantos, localizados em diagonal e em um da parte central. Calcula-se a média das três contagens e aplica-se a fórmula:

$$\text{Média do número de células em "b"} \times 2 \times 10^5 = \text{células/ml.}$$

Para suspensões de células muito concentradas ou células pequenas, normalmente, usa-se o compartimento "C". Recomenda-se efetuar contagens individuais nos quatro subcompartimentos "c" dos cantos e no do centro. Calcula-se a média das cinco contagens e aplica-se a fórmula:

$$\text{Média do número de células em "c"} \times 2,5 \times 10^5 = \text{células/ml.}$$

LITERATURA BÁSICA

- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. New York, Academic Press, 1969. 629 p.
- ALEXOPOULOS, C.J. Introductory mycology. 2 ed. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1962. 613 p.
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. 3 ed. Minneapolis, Burgess Publ. Co., 1972. 241 p.
- BARNES, E.H. Principles of sterile technique. In: BARNES, E.H. Atlas and manual of plant pathology. New York, Appleton-Century Crofts Division of

- Meredith Corporation, 1968. 3,25-32.
- BUEL, C.B. & WESTON, W.H. Applications of mineral oil conservation method to maintaining collections of fungus cultures. *Ann: Jour. Bot.* 34: 555 - 361, 1947.
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *J. Trop. Med. & Hyg.* 24: 270-276, 1939.
- CHAVES, G.M., CARVALHO, M.G., CRUZ FILHO, J. & ROMEIRO, R.S. Roteiro das aulas práticas de fitopatologia I. Viçosa, UFV. Imp. Univ. 1973, 58 p.
- FENNEL, D. Conservation of fungous culture. *Bot. Rev.* 26: 79-241, 1960.
- FIQUEIREDO, M.B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. *O Biológico*, São Paulo, 33(1): 9-15, 1967.
- FIQUEIREDO, M.B. & PIMENTEL, C.P.V. Métodos utilizados para conservação de fungos na micoteca da seção de micologia fitopatológica do Instituto Biológico. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 1(4): 297-302, 1975.
- FULTON, J.P.; SLACK, D.A.; FULTON, N.D.; DALE, J.L.; GOODE, M.J. & TEMPLETON, G. E. *Plant Pathology. laboratory Manual*, Burgess, Minneapolis, Minnesota, Burgess, 1962. 95 p.
- JOHSON, A. & BOOTH, C. Mycological techniques. In: *Plant pathologist's pocketbook*. 2 ed., London, Comm. Mycol. Inst., 1983. 324-343.
- KIRALY, Z.; KEMENT, Z.; SOLYMOSY, F. & VOROS, J. *Methods in plant pathology*. New York, Elsevier Scientific Publ. Co., 1974. 509 p.
- LEACH, C.M. Sporulation of diverse species of fungi under near-ultraviolet radiation. *Can. J. Bot.*, Ottawa, 40: 151-61, 1962.
- MARTIN, S.M. Conservation of Microorganisms. *Ann. Rev. Microbiol.* 18: 1-16, 1964.
- MÖLLRING, F.K. *Microscope from the very beginning*. Oberkochen/West Germany, Zeiss, sd, 66 p.
- ROMEIRO, R.S. Identificação de bactérias fitopatogênicas. Viçosa, Imp. Univ., UFV., 1976. 90 p.
- TUITE, J. *Plant pathological methods*. Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1969. 239 p.
- VALIELA, M.V.F. *Introducción a la fitopatologia*. 2 ed. Buenos Aires, Talleres Gráficos Gadola, 1952. 872 p.
- VIEGAS, A.P. *Dicionário de Fitopatologia e Micologia*. Campinas, SP, IAC-Brasil, Nordeste, BNB e SUDENE, 1979. 882 p.

SEGUNDA PARTE

OS TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES

- Capítulo XIII - Testes de sanidade de sementes de algodão. PIZZINATTO, M. A.
- Capítulo XIV - Testes de sanidade de sementes de amendoim. MORAES, S.A.
- Capítulo XV - Testes de sanidade de sementes de arroz. AMARAL, H.M.
- Capítulo XVI - Testes de sanidade de sementes de caupi. CHOUDHURY, M.M.
- Capítulo XVII - Testes de sanidade de sementes de essências florestais. CARNEIRO, J.S.
- Capítulo XVIII - Testes de sanidade de sementes de feijão. MENEZES, J.R.
- Capítulo XIX - Testes de sanidade de sementes de forrageiras. URBEN, A.F.
- Capítulo XX - Testes de sanidade de sementes de milho. LUCCA FILHO, O.A.
- Capítulo XXI - Testes de sanidade de sementes de soja. HENNING, A.A.
- Capítulo XXII - Testes de sanidade de sementes de sorgo. PINTO, N.F.J.A.
- Capítulo XXIII - Testes de sanidade de sementes de trigo. NASSER, L.C.B.

CAPÍTULO XIII

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE ALGODÃO

Maria Angélica Pizzinatto⁽¹⁾1. MICROORGANISMOS ENCONTRADOS NAS SEMENTES

Na cultura do algodoeiro, há redução na produção devido à ocorrência de várias doenças, cujos agentes causais são transmitidos por sementes. Além desses microrganismos conhecidamente patogênicos à cultura, ocorrem também microrganismos cuja patogenicidade não foi pesquisada: microrganismos de armazenamento, principalmente fungos e microrganismos saprófitas.

Os seguintes microrganismos foram constatados em sementes de algodão (*Gossypium* spp.), conforme RICHARDSON (1979; 1981, 1983):

Alternaria macrospora Zimm.; *Ascochyta gossypii* Woronichin.; *Botryodiplodia theobromae* Pat.⁽²⁾; *Cochliobolus spicifer* Nelson (*Helminthosporium spicifera* (Bain) Nicot.); *Cochliobolus lunatus* Nelson & Haasis; *Colletotrichum gossypii* South⁽²⁾; *Colletotrichum indicum* Dastur; *Eurotium chevalieri* Mangin. (*Aspergillus chevalieri* (Mangin) Thom & Church.); *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc.⁽²⁾; *Fusarium moniliforme* Sheld.⁽²⁾; *Fusarium oxysporum* Schlecht. ex Fr. f.sp. *vasinfectum* (Ath.) Snyder & Hans.⁽²⁾; *Fusarium scirpi* Lamb & Fautr.; *Fusarium semitectum* Berk. & Rav.⁽²⁾; *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.⁽²⁾; *Fusarium poae* (Peck) Wollenweber⁽²⁾; *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Gold⁽²⁾; *Myrothecium noronhai* Tode ex Fr.; *Nematospora gossypii* Ashby & Nowell; *Nigrospora gossypii* Jaczewski; *Rhizoctonia solani* Kuhn; *Rhizopus arrhizus* Fischer; *Rhizopus nodosus* Namysl; *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr.) Lind; *Verticillium dahliae* Kleb; *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (E. F. Smith) Dowson.

(1) Eng. Agr., Mestre em Fitopatologia, Pesquisadora Científica, Pq C-3, Seção de Microbiologia Fitotécnica, Instituto Agronômico, Cx.P.28, CEP: 13020, Campinas, CPA/SA, SP.

(2) Microrganismos constatados também no Brasil.

No Brasil, além dos microrganismos já mencionados, foram também observados os seguintes fungos em sementes de *Gossypium hirsutum* L. e *G. hirsutum* var. *Marie-Galante* Hutch. (LIMA et al., 1982; MENEZES et al., 1979 ; 1982 a, b; PIZZINATTO et al., 1984; TANAKA & PAOLINELLI, 1984).

Alternaria tenuis Nees; *Aspergillus* spp. Link; *Aspergillus niger* Van Tiegh; *Aspergillus flavus* LK. ex Fr.; *Chaetomium* sp. Kunze; *Choanephora* sp. Currey; *Cladosporium* sp. Link; *Curvularia* spp. Boedijn; *Curvularia lunata* (Walker) Boedijn; *Doratomyces* sp. Corda; *Fusarium* sp. Link ; *Fusarium concolor* Reinking; *Fusarium culmorum* (W.G.Smith) Sacc.; *Fusarium fusarioides* (Frag. & Clf.) Booth; *Fusarium larvarum* Puckel; *Fusarium sambucinum* Fuckel; *Fusarium sulphureum* Schlecht ; *Fusarium xylarioides* Steyaert; *Helminthosporium* sp. Link; *Monilia* sp. Pers.; *Nigrospora* sp. Zimm.; *Penicillium* sp. Link; *Phoma* sp. Desm.; *Pythium* sp. Pringsh.; *Rhizoctonia* sp. DC. ex Fr.; *Rhizopus* sp. Ehrenb. ex Corda; *Sclerotium* sp. Tode; *Trichoderma* sp. Pers.; *Trichothecium roseum* Link.; *Verticillium* sp. Nees.

Dentre os microrganismos citados, devem-se ressaltar aqueles que são agentes causais de doenças no algodoeiro (CIA,1977; KIMATI,1980; WATKINS, 1981): Murcha de *Fusarium* - *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*; Murcha de *Verticillium*- *Verticillium dahliae*; Antracnose - *Colletotrichum gossypii*; Ramulose - *C. gossypii* var. *cephalosporioides*; Mancha Angular - *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*; Tombamento - complexo de microrganismos (*Ascochyta gossypii*, *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii*, *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* e *Xanthomonas campestris* var. *malvacearum*); Podridão de Maças - complexo de microrganismos (*Ascochyta gossypii*, *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gossypii*, *Fusarium* spp., *Phoma* sp., *Rhizoctonia solani* e *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*); e Manchas Foliares (*Alternaria tenuis* e *Ascochyta gossypii*).

Nos Estados Unidos, no período de 1953 a 1977, as porcentagens médias de perdas, devido às principais doenças do algodoeiro, foram: Murcha de *Fusarium* - 0,92%; Murcha de *Verticillium* - 2,45% ; Mancha Angular - 1,22%; Tombamento de Plântulas - 2,88% e Podridão de Maças - 2,43% (WATKINS,1981).

Além de transportar e/ou transmitir microrganismos patogênicos, as sementes de algodão podem também apresentar três tipos de deterioração: no campo em pré-colheita, no armazenamento e no campo em pré-emergência (podridão). A deterioração requer alta umidade na semente e condições que favoreçam o desenvolvimento de microrganismos principalmente fungos: *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Colletotrichum gossypii*, *Fusarium* spp. e *Rhizopus* spp. Sementes que tenham sido infestadas e infectadas por fungos antes da colheita ou durante o armazenamento, provavelmente, poderão apodrecer no solo prejudicando o "stand" da cultura (WATKINS, 1981).

LIMA et al. (1984) estudaram a influência de *Aspergillus niger*, *A. flavus* e *Rhizopus* sp. na deterioração de sementes de algodão armazenadas, demonstrando que a presença desses microrganismos prejudicou a germinação e o vigor das sementes.

2. MICRORGANISMOS MAIS IMPORTANTES ECONOMICAMENTE

2.1. *Fusarium oxysporum* Schlecht. ex Fr. f.sp. *vasinfectum* (Atk.) Snyd. & Hans. - Murcha de Fusarium

A Murcha de Fusarium ocorre em todas as regiões de cultivo do algodoeiro, com exceção do oeste da África, Turquia e Austrália (WATKINS, 1981). No Brasil, esta doença foi relatada nos Estados de Goiás, Paraíba, Paraná, Pernambuco e São Paulo (CIA, 1977), sendo favorecida por solos ácidos com temperatura de 28 a 30°C e presença de nematóides.

F. oxysporum f.sp. *vasinfectum* é um invasor de solo considerado persistente. Rotações de cultura por período de dez a doze anos são necessárias para eliminar ou reduzir o inóculo no solo. Sua transmissão pela semente (ELLIOT, 1923), tanto externa como internamente, foi determinada por VIEGAS (1961) e TÖFFANO & SILVEIRA (1963), como sendo da ordem de 0,2 a 0,6%. Este fungo penetra no sistema vascular da planta, através do funículo, para o interior da semente. Embora seja predominantemente um fungo de solo, mesmo uma baixa incidência de transmissão pela semente pode ser de grande importância, se essa semente for semeada em solo não infestado pelo patógeno (NEERGAARD, 1977).

Conforme WATKINS (1981), foram descritas cinco raças fisiológicas de *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum*, distinguidas pelas reações de dife-

rentes hospedeiros (*Gossypium arboreum* 'Rozi', *G. barbadense* 'Ashmouni' e 'Sakel', *G. hirsutum* 'Acala', *Glycine max* 'Yelredo' e *Nicotiana tabacum* 'Gold Dollar').

Os sintomas dessa doença podem aparecer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. Em plântulas, os cotilédones e as folhas murcham, amarelecem e caem, e o sistema vascular torna-se descolorido.

Nas plantas adultas, no início da fase de florescimento, as folhas inferiores também murcham, amarelecem e caem. No sistema vascular observa-se uma descoloração parda-escura. As plantas infectadas não se desenvolvem e podem morrer.

Controle: Uso de cultivares resistentes (IAC 19 e IAC 20), rotação de cultura com mucuna preta (*Stilozobium aterrimum*) e amendoim (*Arachis hypogaea*) e uso de sementes sadias.

2.2. *Xanthomonas campestris* pv. malvacearum (E.F. Smith)

Dowson - Mancha Angular

A Mancha Angular ocorre praticamente em todas as regiões produtoras de algodão, apresentando máximo desenvolvimento em condições de alta umidade relativa, com temperatura diurna entre 30 e 36°C, e noturna, ao redor de 19°C (KIMATI, 1980; WATKINS, 1981).

Esta bactéria apresenta, até o momento, 19 raças fisiológicas descritas (WATKINS, 1981; RUANO & MOHAN, 1982). No Brasil, as raças 3, 8 e 10 ocorrem no Estado de São Paulo (KIMATI, 1980), enquanto que, as raças 18 e 19 foram relatadas no Estado do Paraná (RUANO & MOHAN, 1982).

A infecção das maçãs do algodoeiro por este patógeno frequentemente resulta na infecção do embrião das sementes, através da chalaza (TENNYSON, 1936; BRINKERHOFF & HUNTER, 1963). A bactéria é muito persistente, permanecendo viável interna e externamente na semente por mais de quatro anos e meio (HUNTER & BRINKERHOFF, 1964). Sua transmissão pela semente é considerada muito importante (NEERGAARD, 1977), sendo que, conforme relato de TARR (1955) 0,017% de infecção na semente provocou perda da cultura no campo. BRINKERHOFF & HUNTER (1963) relataram que 7 a 24% de sementes descoloridas, procedentes de maçãs doentes, encontravam-se infectadas internamente pelo patógeno.

O inóculo presente na semente ou nos restos de cultura podem ser responsáveis por lesões escuras nos cotilédones e no hipocótilo da plântula, provocando seu tombamento.

Os sintomas típicos desta doença em plantas desenvolvidas são manchas foliares angulosas, de coloração parda e delimitadas pelas nervuras. Nas hastes, pecíolos e pedúnculos podem também ser observadas lesões alongadas de coloração escura ('black arm'). Nas maçãs, ocorrem lesões arredondadas ou irregulares, inicialmente de coloração verde e aspecto encharcado e, posteriormente, escuras. Como, aparentemente, a presença da bactéria facilita a infecção das maçãs, por *Colletotrichum gossypii* (WEINDLING & MILLER, 1941), a parte central dessas lesões tornam-se deprimidas, devido à ação deste fungo.

Controle: Uso de cultivares resistentes (IAC 19 e IAC 20), deslintamento das sementes com ácido sulfúrico, tratamento químico das sementes com antibiótico (estreptomycina) e fungicidas (chloroneb e TCMB), tratamento térmico das sementes (água a 56°C por 10 minutos), queima de restos de cultura e rotação de cultura.

2.3. *Colletotrichum gossypii* South. - Antracnose

A antracnose ocorre em todas as regiões produtoras de algodão (WATKINS, 1981).

C. gossypii vive, saprofiticamente, nos restos de cultura, podendo permanecer viável no solo, por vários meses, nos períodos secos. As condições de ambiente propícias ao seu desenvolvimento são temperatura entre 18 e 30°C e alto teor de umidade por vários dias (KIMATI, 1980).

Através das lesões nas maçãs, *C. gossypii* pode atingir a semente, desenvolvendo-se no embrião. ARNDT (1953) observou a sobrevivência desse patógeno em sementes armazenadas com 8, 10 e 12% de umidade, a 1°C, por treze anos e meio. Em condições normais de armazenamento, KIMATI (1980) citou que o fungo permanece viável no interior das sementes por até três anos.

As sementes também podem se contaminar externamente, durante o beneficiamento. MILLER (1943) observou que esporos remanescentes nos equipamentos foram suficientes para a contaminação de sementes originalmente livres desse patógeno. Nessas condições, a sobrevivência do fungo nas sementes é de cerca de nove meses.

Tanto as sementes contaminadas como as infectadas por *C. gossypii* constituem a principal via de disseminação da Antracnose pois, conforme as condições climáticas predisponentes, essas sementes poderão originar plântulas com sintomas de Tombamento. Essas plântulas apresentam lesões deprimidas, pardo-avermelhadas a pardo-escuras, na raiz, no colo e nos cotilédones, podendo ocorrer a morte das mesmas.

Nas lesões das plântulas e nos restos de cultura presentes no solo, ocorre a formação abundante de esporos do patógeno, propiciando, assim, o inóculo da doença dentro da cultura, que é disseminado principalmente pelos respingos de chuva.

Nas plantas adultas, podem surgir manchas pardas nas folhas e nos caules. Nos capulhos pode-se ter dois tipos de sintomas: manchas circulares, pardas, deprimidas e com margens avermelhadas, no caso de infecção de capulho parcialmente desenvolvido; e podridão-seca do capulho, resultante de infecção através do pistilo (KIMATI, 1980).

Controle: Tratamento químico das sementes (Captan e PCNB + thiram), deslincamento das sementes com ácido sulfúrico e rotação de cultura.

2.4. *Colletotrichum gossypii* Scuth. var. *cephalosporioides*

A.S. Costa - Ramulose

A primeira constatação desta doença foi realizada no Estado de São Paulo, em 1936 (COSTA & FRAGA, 1937). Posteriormente, a Ramulose veio a ocorrer em outros estados brasileiros: Bahia, Goiás, Paraíba, Paraná, Pernambuco e Rio Grande do Norte, (CIA, 1977) e também na Venezuela (MALAGUTTI, 1955) e no Paraguai (MATHIESON & MANGANO, 1985).

Este patógeno é uma variedade fisiológica do agente causal da Antracnose, *C. gossypii*, sobrevive em solo contaminado e ocorre em condições de alto índice pluviométrico e de temperatura entre 25 a 30°C (KIMATI, 1980). Pode ser levado internamente e externamente em sementes de plantas afetadas, com transmissão maior que 1% (COSTA, 1941).

A infecção das sementes por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* está relacionada com o estágio de desenvolvimento da planta, por ocasião da infecção pelo patógeno, e com as condições climáticas. Porém, não se correlaciona com o grau de severidade da Ramulose (LIMA et al., 1985). Em plan

tas inoculadas, quando se apresentavam com as maçãs completamente desenvolvidas, foram observadas, em média, as mais altas porcentagens de sementes infectadas e de transmissão desse fungo: 1,5 e 0,77%, respectivamente.

Essa doença pode se manifestar em qualquer idade da planta (CIA, 1977), apresentando os seguintes sintomas: tombamento de plântulas; porte reduzido; maior ramificação dos galhos; internódios curtos; nós intumescidos; folhas enfezadas, que podem apresentar manchas necróticas arredondadas ou alongadas; maturação retardada e frutificação reduzida.

Controle: Uso de cultivares resistentes (IAC 19, IAC 20, Texas 700 e linhagem HR-21-T16), uso de sementes saudáveis, rotação de cultura e queima de restos de cultura.

2.5. *Verticillium dahliae* Kleb. - Murcha de *Verticillium*

A Murcha de *Verticillium* ocorre em todas as regiões, onde o algodoeiro é cultivado. Nos Estados Unidos, a perda em fibra, devida, somente, à incidência desta doença é bastante significativa (WATKINS, 1981). Conforme KIMATI (1980), esta doença apresenta importância secundária em nosso País. Normalmente, sua ocorrência é favorecida em solos alcalinos e pela presença de *Meloidogyne incognita* var. *acrita* (KHOURY & ALCORN, 1973).

Este fungo de solo ataca mais de 160 espécies vegetais em 40 famílias diferentes (WATKINS, 1981). Na ausência de plantas hospedeiras, este patógeno tende a desaparecer rapidamente do solo por ser um fraco competidor (KIMATI, 1980). É encontrado em sementes de vários hospedeiros, penetrando do sistema vascular da planta, através do funículo, para o interior da semente. Entretanto, sua transmissão pela semente é subestimada (NEERGAARD, 1977).

No campo, os sintomas de Murcha de *Verticillium* são semelhantes aos da Murcha de *Fusarium*, manifestando-se em plantas isoladas ou em reboleiras (CIA, 1977). Usualmente, a infecção das plantas é evidente 35-40 dias após a emergência ou após as primeiras frutificações (WATKINS, 1981).

Controle: Uso de cultivares resistentes (IAC 19 e IAC 20), deslaminamento das sementes com ácido sulfúrico e rotação de cultura com gramíneas.

2.6. Complexo de microorganismos - Tombamento

Esta doença abrange um complexo de várias espécies de agentes causais e outro complexo de efeitos distintos e relacionados sobre as plântulas do algodoeiro.

O complexo de efeitos ou sintomas inclui deterioração da semente antes da germinação, "damping-off" de pré e pós-emergência e podridão radicular das plântulas.

Os principais agentes causais envolvidos no Tombamento e frequentemente encontrados associados à sementes de algodão são:

Colletotrichum gossypii (vide Antracnose);

Colletotrichum gossypii var. *cephalosporioides* (vide Ramulose);

Xanthomonas campestris pv. *malvacearum* (vide Mancha Angular);

Rhizoctonia solani (fase perfeita *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers) - é um fungo de solo, que apresenta um grande número de raças, diferenciadas através das respostas a vários fatores fisiológicos, especialmente temperatura e espécies hospedeiras (WATKINS, 1981). O cultivo contínuo de uma planta hospedeira normalmente promove um aumento da raça virulenta do fungo sobre a cultura. PEEPLES & BAIN (1966) observaram baixa porcentagem de sementes infectadas pelo patógeno, e relataram que a disseminação de partículas de solo infestado poderia, possivelmente, explicar a infecção de maçãs e de sementes de algodão por *R. solani*.

Fusarium spp. - várias espécies deste fungo de solo que são transmitidas por sementes, têm sido observadas em plântulas doentes (RAY & McLAUGHLIN, 1942; RONCADORI et al., 1971; DAVIS, 1977): *F. chlamydosporum* (sin. *F. fusarioides*), *F. equiseti* var. *bullatum* (sin. *F. equiseti*), *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. roseum* (sin. *F. concolor*), *F. roseum* 'Gibbosum' (sin. *F. equiseti*), *F. sciapi* (sin. *F. equiseti*), *F. sciapi* var. *acuminatum* (sin. *F. acuminatum*), *F. semitectum*, *F. solani* e *F. trincictum* (sin. *F. poae*).

Controle: Tratamento químico das sementes com fungicidas: captafol, captan, carboxin, chloroneb, PCNB, TCNTB, thiram, benomyl + thiram + chloroneb, carboxin + benomyl, carboxin + captafol e PCNB + thiram (CIA, 1977; WATKINS, 1981; MINTON et al., 1982; 1983) e rotação de cultura com gramíneas.

3. MÉTODOS DE DETECÇÃO NAS SEMENTES

Nos testes de sanidade de sementes de algodão encontram-se relatos sobre a eficiência de diversos métodos que, por sua vez, também envolvem diferentes processos de pré-tratamento (deslintamento e desinfecção superficial) e de incubação das sementes. Contudo, para a detecção de um determinado patógeno ou de vários patógenos em sementes, deve-se procurar empregar e, se possível, padronizar um método sensível, rápido, simples e reproduzível.

CRAWFORD (1923) constatou diversas espécies de fungos em sementes deslintadas com ácido sulfúrico, tratadas por 2 minutos em uma solução de cloreto de mercúrio (1:1000), lavadas com água esterilizada e plaqueadas em placas de Petri, contendo papel mata-borrão umedecido. Vários fungos foram também isolados de sementes deslintadas com ácido sulfúrico e de embriões por RONCATORI et al., (1971). Para facilitar a remoção dos embriões, as sementes foram imersas em água por 30 minutos. Ambos foram pré-tratados em uma solução de hipoclorito de sódio (0,525%) e etanol (5%), por 2 minutos, e submetidas ao método do agar (agar-água 2%). Após quatro dias, as amostras foram observadas e os microrganismos em desenvolvimento foram transferidos para BDA (batata-dextrose-agar) para posterior identificação.

DAVIS (1977) também utilizou sementes deslintadas com ácido sulfúrico e empregou o método do agar (BDA). As sementes foram previamente tratadas em clorox (10%) por 5 minutos, enxaguadas três vezes em água destilada esterilizada e secas sobre papel de filtro esterilizado. A incubação foi a 25°C por cinco dias, tendo sido detectada *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, além de vários fungos de importância fitopatogênica ao algodoeiro.

O método do agar (BDA acidificado) foi também empregado por PEEPLES & BAIN (1966) para a detecção de *Rhizoctonia* sp. em sementes com linter e deslintadas com ácido sulfúrico. O pré-tratamento foi efetuado em uma solução alcoólica de cloreto de mercúrio (50% - 1:1000), por 2 minutos, no caso de sementes deslintadas, e por 30 segundos, para as sementes com linter.

LEHMAN (1938) determinou *Fusarium* spp., *F. moniliforme* e *Glonella gossypii* (*Colletotrichum gossypii*), através do exame microscópico de

sementes e plântulas infectadas no teste padrão de germinação (papel toalha umedecido e esterilizado, e incubação a 28°C). Também observou significativa redução nas porcentagens de infecção, quando utilizou sementes deslinteradas e pré-tratadas em solução de cloreto de mercúrio (1:1000), por 5 a 10 minutos, em substituição às sementes com linter.

Para a detecção de um patógeno específico, no caso *Verticillium*, há relatos de diferentes métodos que se mostraram eficientes. YUEN & TAN (1960) submeteram sementes deslinteradas com ácido sulfúrico e lavadas em água corrente, por 24 horas, ao método do agar (agar-água 1,7%), com incubação a 22°C por 15 dias. O método do agar foi também empregado em sementes com linter por CHEN et al. (1965), que desenvolveram um meio de cultura seletivo para o patógeno: farinha de sementes de algodão (10 g), álcool 95% (17 ml), estreptomicina (100 ppm), agar (7,5 g) e água (1000 ml). EVANS et al. (1966) utilizaram o método da lavagem e sedimentação em sementes deslinteradas mecanicamente, realizando contagem direta de microescleródios de *Verticillium* e plaqueamento em BDA.

BRINKERHOFF & HUNTER (1963) detectaram infecção interna de *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* em sementes de algodão, através dos seguintes métodos: sintoma em plântulas, utilizando vaso com solo esterilizado; ensaio de campo; inoculação em plantas indicadoras; e plaqueamento em meio de cultura de suspensão bacteriana obtida de semente esmagada individualmente.

Em Israel, HALFON-MEIRI & VOLCANI (1977) desenvolveram o método do sintoma em plântulas para detecção combinada de *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* e de *Colletotrichum gossypii* em sementes deslinteradas com ácido sulfúrico. O método é utilizado em serviço de quarentena e se baseia no desenvolvimento de sintomas típicos das doenças provocadas por cada patógeno, em diferentes partes das plântulas com quatorze dias de idade. As sementes foram imersas em água (100 sementes/30ml), por 17 horas, antes de serem semeadas em areia esterilizada e umedecida. A incubação foi realizada em câmara de crescimento, sob luz do dia, a 25-28°C e 85-90% de umidade relativa. Os sintomas decorrentes das infecções por *X. campestris* pv. *malvacearum* e *C. gossypii* manifestaram-se, respectivamente, como manchas aquosas e translúcidas nos cotilédones e lesões necróticas nos hipocótilos das plântulas. Este método mostrou-se bastante sensível, sendo que ambos patógenos puderam ser detectados em amostras de sementes com 1% de infecção.

VERMA et al. (1979) também citaram a eficiência do método do sintoma em plântulas e do bacteriófago para a detecção de *X. campestris* pv. *malvacearum*.

Nos levantamentos de patógenos em sementes de algodão produzidas no Brasil, tem-se também verificado o emprego de diferentes metodologias, que propiciaram a observação de fungos de importância patogênica a esta cultura.

MENEZES et al. (1979) submeteram sementes de algodão herbáceo, deslintadas com ácido sulfúrico, e sementes de algodão-mocó ao método do agar (BDA). As sementes foram pré-tratadas em solução de bicloreto de mercúrio (1:1000) durante 2 minutos e, em seguida, imersas em água esterilizada por duas vezes consecutivas. A incubação foi realizada à temperatura ambiente de aproximadamente 28°C, durante oito dias.

A comparação dos métodos do papel de filtro e os sintomas em plântulas para detecção de fungos em sementes de algodão foi efetuada por RUANO (1980). No método do papel de filtro, foram utilizadas sementes com linter, tratadas com solução de hipoclorito de sódio (5%), por 10 minutos, submergidas em água esterilizada e incubadas a 23-26°C, sob regime de luz alternada (12 horas NUV e 12 horas escuro), por sete dias. No segundo método, sementes com linter foram semeadas, uma a uma, em copos plásticos com areia esterilizada, que foram colocados em bandejas plásticas contendo água esterilizada, e cobertos com plástico para manutenção da umidade relativa acima de 90%. A incubação foi efetuada a 23-26°C, sob regime de luz alternada (12 horas luz do dia e 12 horas escuro), durante quatorze dias. Decorrido este período, partes dos tecidos das plântulas infectadas foram submetidas ao teste do papel de filtro, por quatro dias, para possibilitar a identificação dos patógenos. O método do sintoma em plântulas mostrou-se mais adequado que o método do papel de filtro, para detecção de *C. gossypii*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* e *Verticillium* spp.

LIMA et al. (1982) também compararam métodos de análise sanitária de sementes de algodão, utilizando o método do agar (BDA acidificado - pH 6,0), do papel de filtro e do sintoma em plântulas (areia esterilizada). No método do agar, foram, ainda, testados três processos de desinfecção superficial de sementes com linter: 1. tratamento com etanol (60%), durante 30 segundos, e com hipoclorito de sódio (1%), durante 5 minutos, e lavagem com água esterilizada; 2. tratamento com bicloreto mercúrio (1:1000) durante

4-5 minutos, e lavagem com água esterilizada; e 3. tratamento com hipoclorito de sódio (1%), durante 5 minutos. No método do papel de filtro, sementes com linter foram desinfetadas superficialmente com hipoclorito de sódio (5%), durante 10 minutos, e lavadas em água esterilizada. A incubação das sementes foi realizada a 23-25°C, em regime de luz alternada (12 horas luz do dia e 12 horas escuro), por sete a oito dias. No terceiro método testado, utilizaram-se sementes com linter, sem desinfecção superficial. Considerando-se a sensibilidade para detecção de alguns dos principais patógenos do algodoeiro (*Fusarium* spp., *M. phaseolina*, *Pythium* sp., *Alternaria* sp.), o método do agar (BDA acidificado) com desinfecção superficial (processo nº 3) se mostrou eficiente para testes de sanidade de sementes com linter.

O método do papel de filtro, modificado pelo emprego do papel su-
perposto em esponja de náilon umedecida em água esterilizada, propiciou o levantamento de fungos associados a sementes de algodão herbáceo e mocó (MEENEZES et al., 1982 a; b). A incubação das sementes foi realizada em condições de laboratório, com temperatura ao redor de 28°C, por sete dias. As sementes de algodão - mocó foram pré-tratadas em solução de hipoclorito de sódio (2%), por 2 minutos, e enxaguadas por duas vezes consecutivas com água esterilizada; enquanto que, as de algodão herbáceo foram somente deslintadas com ácido sulfúrico.

PIZZINATTO et al. (1984) também utilizaram o método do papel de filtro em testes de sanidade de sementes deslintadas com ácido sulfúrico, pré-tratadas em solução de hipoclorito de sódio (1%), durante 3 minutos, e incubadas a 22°C, sob regime de luz alternada (12 horas NUV e 12 horas escuro), por doze dias. Este mesmo método, modificado pelo emprego de gerbox contendo uma folha de papel mata-borrão umedecida com água destilada e esterilizada, foi empregado em testes com sementes com linter e deslintadas com ácido sulfúrico (TANAKA & PAOLINELLI, 1984). O período de incubação foi de sete a dez dias, a 26°C, sob luz do dia contínua. O deslintamento químico facilitou o exame e a detecção de patógenos, que ficam mascarados pelos microorganismos contaminantes presentes no linter das sementes de algodoeiro.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- ARNOLD, C.H. Survival of *Colletotrichum gossypii* on cotton seeds in storage. *Phytopathology*, Baltimore, 43: 220, 1953.
- BRINKERHOFF, L.A. & HUNTER, R.E. Internally infected seed as a source of inoculum for the primary cycle of bacterial blight of cotton. *Phytopathology*, Worcester, 53: 1397-1401, 1963.
- CHEN, C.T.; CHEN, S.S. & WANG, J.Y. Studies on the isolation and identification of seed and soil-borne *Ventricillium* wilt organism of cotton. *Review of Applied Mycology*, London, 44: 398, 1965.
- CIA, E. Ocorrência e conhecimento das doenças de algodoeiro *Gossypium hirsutum* L. no Brasil. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 3: 167-193, 1977.
- COSTA, A.S. & FRAGA JUNIOR, C.G. Superbrotamento ou ramulose do algodoeiro. *Revista da Agricultura*, Piracicaba, SP, 12: 249-259, 1937.
- COSTA, A.S. Investigações sobre a ramulose. Campinas, SP, Instituto Agrônomo, 1941, 42 p. (Relatório da Seção de Algodão).
- CRAWFORD, R.F. Fungi isolated from the interior of cotton seed. *Phytopathology*, Lancaster, 13: 501-503, 1923.
- DAVIS, R.G. *Fusarium* species in the internal microflora of Mississippi cotton seed. *Seed Science & Technology*, Zurich, 5: 587-591, 1977.
- ELLIOT, J.A. Cotton-wilt, a seed-borne disease. *Journal of Agricultural Research*, Washington, 23: 387-393, 1923.
- EVANS, G.; WILHELM, S. & SNYDER, W.C. Dissemination of the *Ventricillium* wilt fungus with cotton seed. *Phytopathology*, Worcester, 56: 460-461, 1966.
- HALFON-MEIRI, A. & VOLCANI, Z. A combined method for detecting *Colletotrichum gossypii* and *Xanthomonas malvacearum* in cotton seed. *Seed Science & Technology*, Zurich, 5: 129-139, 1977.
- HUNTER, R.E. & BRINKERHOFF, L.A. Longevity of *Xanthomonas malvacearum* on and in cotton seed. *Phytopathology*, Worcester, 54: 617, 1964.

- KHOURY, F.Y. & ALCORN, S.M. Effect of *Meloidogyne incognita* acrita on the susceptibility of cotton plants to *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, St. Paul, 63: 485-490, 1973.
- KIMATI, H. Doenças do Algodoeiro - *Gossypium* spp. In: F. GALLI, ed. In: Manual de Fitopatologia. São Paulo. Editora Agronômica Ceres. 1980, Vol. II. p. 29-48.
- LEHMAN, S.G. Seed infestation with *Glomerella* and *Fusarium* in the 1936 cotton crop in North Carolina. *Plant Disease Reporter*, 22:4-6, 1938.
- LIMA, E.F.; CARVALHO, L.P. & CARVALHO, J.M.F.C. Comparação de métodos de análise sanitária e ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7: 401-406, 1982.
- LIMA, E.F.; VIEIRA, R.M. & CARVALHO, J.M.F.C. Influência de *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* na deterioração de sementes de algodoeiro armazenadas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 9: 555-560, 1984.
- LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P. & COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através da semente de algodoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 10: 105-115, 1985.
- MALAGUTTI, G. La escobilla del algodón en Venezuela. *Agronomía Tropical*, Maracay, 5: 73-86, 1955.
- MATHIESON, J.T. & MANGANO, V. Ramulose, a new cotton disease in Paraguay caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 11: 115-118, 1985.
- MENEZES, M.; BEZERRA, J.L. & RAMOS, R.L.B. Microflora fúngica de sementes de quatro cultivares de algodão. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 4: 129, 1979.
- MENEZES, M.; BARROS, S.T.; COELHO, R.S.B. & FERNANDES, M.J.S. Inventário fúngico de sementes de cultivares de algodão herbáceo, *Gossypium hirsutum* L. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7: 470, 1982 a.
- MENEZES, M.; BARROS, S.T.; MARIANO, R.L.R. & COELHO, R.S.B. Inventário fúngico de sementes de cultivares de algodão mocó, *Gossypium hirsutum* var. Marie-Galante Hutch. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 7:471, 1982b.

- MILLER, P.R. The dissemination of fungus spores from contaminated seed cotton during ginning in relation to the germination of the seed and diseases of the seedlings. Plant Disease Reporter Supplement, 140:72-78, 1943.
- MINTON, E.B.; PAPAIVIZAS, G.C. & LWEIS, J.A. Effect of fungicide seed treatments and seed quality on seedling diseases and yield of cotton. Plant Disease, St. Paul, 66: 832-835, 1982.
- MINTON, E.B. & GARBBER, R.H. Controlling the seedling disease complex of cotton. Plant Disease, St. Paul, 67: 115-118, 1983.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. Volume I & II. London, The Macmillan Press Ltd., 1977, 1187 p.
- PEEPLES, K.L. & BAIN, D.C. Infection of cotton seed by *Rhizoctonia*. Plant Disease Reporter, Beltsville, 50: 770-772, 1966.
- PIZZINATTO, M.A.; SOAVE, J. & CIA, E. Levantamento de patógenos em sementes de seis cultivares de algodoeiro em diferentes localidades do Estado de São paulo. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 9: 101-108, 1984.
- RAY, W.W. & McLAUGHLIN, J.H. Isolation and infection tests with seed and soil-borne cotton pathogens. Phytopathology, Lancaster, 32: 233-238, 1942.
- RICHARDSON, M.J. An Annotated List of Seed-Borne Diseases. 3^a Ed. Kew Surrey, Commonwealth Mycol. Inst. & ISTA, 1979, 320 p. (Phytopathological Papers n^o 23).
- RICHARDSON, M.J. An Annotated List of Seed-Borne Diseases. 3^a ed. Supplement 1, Zurich, ISTA, 1981, 78 p.
- RICHARDSON, M.J. An Annotated List of Seed-Borne Diseases. 3^a ed. Supplement 2, Zurich, ISTA, 1983, 107 p.
- RONCADORI, R.W.; McCARTER, S.M. & CRAWFORD, J.L. Influence of fungi on cotton seed deterioration prior to harvest. Phytopathology, St. Paul, 61: 1326-1328, 1971.
- RUANO, O. Comparação de métodos para detecção de fungos associados às sementes de algodoeiro. In: Reunião Nacional do Algodão, 1^a, 1980. Londrina, p. 120.

- RUANO, O. & MOHAN, S.K. Nova raça de *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye no Estado do Paraná. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 7: 439-443, 1982.
- TANAKA, M.A.S. & PAOLINELLI, G.P. Avaliação sanitária e fisiológica de sementes de algodão produzidas em Minas Gerais. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, 6: 71-81, 1984.
- TARR, S.A.J. Diseases of economic crops in the Sudan. FAO Plant Protection Bulletin, Roma, 3: 113-116, 1955.
- TEBBSYSON, G. Invasion of cotton seed by *Bacterium malvacearum*. Phytopathology, Lancaster, 26: 1083-1085, 1936.
- TÓFFANO, W.B. & SILVEIRA, A.P. Transmissibilidade da Fusariose do algodoeiro pela semente. Ciência e Cultura, São Paulo, 15: 230, 1963.
- VERMA, J.P.; NAYAK, M.L. & SINGH, R.P. Elimination of *Xanthomonas malvacearum* from cotton seeds by hot water. Review of Plant Pathology, London, 58: 147, 1979.
- VIEGAS, A.P. Murcha do algodoeiro. Bragantia, Campinas, SP, 20: 547-556, 1961.
- WATKINS, G.M. Compendium of Cotton Diseases. Minnesota, The American Phytopathological Society, 1981, 87 p.
- WEINDLING, R. & MILLER, P.R. The relation of *Bacterium malvacearum* to anthracnose boll rot of cotton. Phytopathology, Lancaster, 31: 24, 1941.
- YUEN, C. TAN, C. A method for the inspection and isolation of seed borne *Verticillium* from cotton seeds. Review of Applied Mycology, London, 39: 106, 1960.

CAPÍTULO XIV

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE AMENDOIM

Sérgio Almeida de Moraes⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma planta leguminosa herbácea originária da América do Sul. As sementes apresentam cerca de 50% de óleo e 20% de proteína e são aproveitadas para extração de óleo comestível ou para o consumo alimentar, através de processamento industrial ou não. Os subprodutos podem ser consumidos em rações animais.

Os agricultores de amendoim dispõem de poucas opções para plantio, em termos de variedades cultivadas. Das duas cultivares recomendadas pela pesquisa, o 'Tatu' é plantado em cerca de 90% da área, no Estado de São Paulo (responsável por cerca de 80% da produção nacional).

Entre os componentes de custo que mais oneram a cultura destacam-se os gastos com: sementes (são necessárias 100 a 200 kg de sementes para o plantio de um hectare, representando até 60% do custo do plantio), pulverizações para o controle de pragas e doenças e a mão-de-obra, principalmente na colheita⁽²⁾.

2. MICROORGANISMOS NAS SEMENTES

O amendoim difere significativamente dos cereais e outras leguminosas pelo fato de suas vagens se desenvolverem sob a superfície do solo e das sementes conterem fontes concentradas de nutrientes, prontamente utilizáveis por numerosos microrganismos. Assim, os fungos presentes no solo

(1) Eng^o Agr^o, Doutor, Pesquisador Científico PqC V, Seção de Microbiologia Fitotécnica, Inst. Agrônomo, Campinas, CPA/SA, Cx. Postal 28, 13020, Campinas, SP.

(2) Fonte: Coordenadoria da Pesq. Agropecuária. Programa Integrado de Pesq. de Oleaginosas-Sub-programa: Amendoim. SP, Secret. de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 1984, 53 p.

e no ar podem invadir as sementes antes da colheita e/ou durante a secagem e o armazenamento, numa sucessão ecológica de microrganismos, determinada pela unidade, temperatura, tempo, luz, movimento de ar e danos físicos e biológicos nas vagens. Em vista disso, os fungos associados às sementes e vagens de amendoim podem ser considerados em dois grupos: fungos de campo e fungos de armazenamento (DIENER et al., 1982).

O grau de desenvolvimento de fungos em sementes depende de alguns fatores, que inclui o teor de unidade das sementes, a temperatura de armazenamento e, provavelmente, a habilidade de competição entre os fungos, que é influenciada pelo potencial de inóculo inicial nas sementes (MOUBASHER et al., 1980).

Durante o beneficiamento e o armazenamento, os ferimentos produzidos por ocasião do descascamento e o teor de unidade das sementes são os principais fatores que afetam a germinação. Os ferimentos propiciam, em ambiente favorável, condições para o desenvolvimento de fungos e bactérias presentes no solo ou levados pelas próprias sementes (DHINGRA et al., 1980). A influência do teor de unidade das sementes e de fatores ambientais na incidência de microrganismos patogênicos têm sido pouco pesquisados; os trabalhos realizados têm avaliado estes fatores, principalmente em relação à longevidade ou à incidência de fungos produtores de micotoxinas, como o *Aspergillus flavus*.

Embora cerca de 150 espécies de fungos tenham sido isoladas de sementes armazenadas de amendoim, em Israel e EJA (JOFFE, 1969; HANLIN, 1973), pequeno número de gêneros está envolvido com a deterioração das sementes.

Os fungos podem se originar de sementes com danos visíveis ou de sementes com danos ocultos ("concealed damage"), ou seja, sementes com descoloração ou necroses internas que não são detectadas quando intactas. Os fungos patogênicos mais comumente constatados em sementes de amendoim são os indicados a seguir.

Aspergillus flavus Link ex Fr. (causador de doença em semente não germinada e plântulas - "yellow mold").

Aspergillus niger Van Tiegh. (podridão-do-colo, "crown rot").

Diplodia gossypina (Cke.) McGuire & Cooper (podridão-do-colo de *Diplodia*, "Diplodia collar rot"). Principal responsável por danos ocultos ("concealed damage") nas sementes.

Sinônimos: *Butryodiplodia theobromae* Pat.; *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl.; *Diplodia theobromae* (Pat.) Nowell; *Diplodia natalensis* Pole Evans; *Physalospora rhodina* (Berk. & Curt.) Cooke (forma perfeita de várias *Diplodia* sp.).

Fusarium spp. (doenças de *Fusarium*, "Fusarium diseases"). Principalmente: *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. oxysporum* Schlecht emend Snyd. & Hans.; *F. roseum* (DK.) emend Snyd. & Hans.

Macrophomina phaseolina (Tassi) Gold. (podridão-seca, podridão-cinzenta, podridão de *Macrophomina*, "charcoal rot").

Sinônimos: *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby; Fase micelial estéril: *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Britton-Jones; Sin.: *Sclerotium bataticola* Taub.

Mycosphaerella arachidis Deighton (mancha castanha, "early leaf spot").

Sinônimo: *Mycosphaerella arachidicola* Jenk.

Forma imperfeita: *Cercospora arachidicola* Hori.

Mycosphaerella berkeleyi Jenk. (mancha-preta, "late leaf spot").

Forma imperfeita: *Cercosporidium personatum* (Berk. & Curt.) Deighton.

Sinônimo: *Cercospora personata* (Berk. & Curt.) Ell. & Ev.

Puccinia arachidis Speg. (ferrugem-da-folha, "rust").

Rhizoctonia solani Kuhn. (doenças de *Rhizoctonia*, "Rhizoctonia diseases").

Rhizopus spp. (doenças de *Rhizopus*, "Rhizopus diseases").

Espécies: *R. arrizus* Fisch.; *R. stolonifer* (Ehr. ex.Fr.) Lind. *R. vagae* Went & Geerlings ; *R. nigricans* Ehr.

Sclerotinia minor Jagg. (queima de *Sclerotinia*, "Sclerotinia blight"). Não relatado no Brasil.

Sclerotium rolfsii Sacc. (marcha de *Sclerotium*, "stem rot"). Responsável também pela descoloração azulada das sementes ("blue damage"), através da ação do ácido oxálico ou fitotoxina produzida pelo fungo. (*Pellicularia rolfsii* (Curzi) West).

Thielaviopsis basicola (Berk & Br.) Ferr. ("Blackhull"). Não relatado no Brasil.

Sinônimo: *Chalara elegans* Nag Raj & Kendrick.

Além dessas espécies de fungos patogênicos, outras, consideradas saprófitas e de armazenamento, são normalmente encontradas associadas às sementes de amendoim em níveis variáveis, dependendo da amostra, ou seja, *Penicillium* spp. (*P. funiculosum* Thom., *P. citrinum* Thom., *P. rubrum* Stoel); *Gliocladium* spp. (*G. catenulatum* Gilm. & Abb., *G. roseum* (IK) Bain, *G. virescens* J.J. Miller, Giddens & Foster); *Fusarium* spp. [*F. accuminatum* Ell & Ev., *F. equiseti* (Corda) Sacc.]; *Aspergillus* spp. (*A. fumigatus* Fres., *A. terreus* Thom., *A. parasiticus* Speare, *A. repens* de Bary); *Cladosporium*, *Helvum* Lx. ex.Fr.; *Curvularia lunata* (Wakker) Boed; *Trichoderma viride* Pers. ex.Fr.; *Phomopsis* sp., *Chaetomium* sp., *Phoma* spp. (AMARAL & USBERTI, 1983; DIENER et al., 1982; HANLIN, 1969 e 1973; JOFFE, 1969; MOUBASHER et al., 1980; URBEN et al., 1983).

Entre as viroses do amendoim, as sementes são responsáveis pela fonte inicial de inóculo do "peanut mottle virus" (PMV) (0-8,5% de transmissão por sementes, dependendo do strain do vírus, cultivar e ambiente); no Brasil, não se tem relato da ocorrência desta doença. Nos casos de "groundnut rosette virus" (GRV), virose restrita à África e considerada a mais destrutiva das viroses nessa região, e de "tomato spotted wilt", única virose descrita no Brasil, não existem evidências de transmissão por sementes. Outros vírus como "peanut stunt virus", "Marginal chlorosis virus" e "ring spot virus", podem ser transmitidos por sementes, porém, com pouco significado econômico (RICHARDSON, 1979; PORTER et al., 1982).

Para a murcha bacteriana do amendoim, causada por *Pseudomonas savatzenae* E.F. Sm. (única bactéria patogênica ao amendoim), existem indicações de que isolados altamente patogênicos ao amendoim possam ser disseminados a longas distâncias, via sementes infectadas. Este potencial de disseminação deve ser considerado antes da introdução de sementes de áreas que apresentem problemas com esta doença (PORTER et al., 1984).

Os trabalhos com sementes de amendoim realizados no Brasil, na sua maioria estão relacionados a tratamento químico, conservação e longevidade das sementes; são raros os trabalhos publicados que objetivaram a detecção de microrganismos e a sua importância na sanidade das sementes.

3. MICROORGANISMOS MAIS IMPORTANTES CONSTATADOS EM SEMENTES

A cultura do amendoim está sujeita a um número relativamente grande de doenças, causadas por fungos, vírus, nematóides e uma bactéria, consideradas como doenças foliares, doenças de solo e doenças causadas por nematóides (PORTER et al., 1982 e 1984).

Entre os fungos mais comumente constatados em sementes de amendoim, apenas alguns gêneros são considerados importantes como patógenos, enquadrados no grupo de doenças de solo. Entre eles, destacam-se *Aspergillus niger*, *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*, pela frequência que ocorrem e pela sua ação sobre as sementes, prejudicando a germinação ou causando danos às plântulas. NEERGAARD (1977) cita que, de um modo geral, um total de 15% de perdas são atribuídos a estes fungos. Outros fungos que infectam as sementes são considerados importantes na qualidade das mesmas, como *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp. e *Botryodiplodia* sp.

No caso das doenças foliares causadas por *Cercospora arachidicola* e *Cercosporidium personatum*, consideradas as mais importantes para a cultura do amendoim e responsáveis pela diminuição de 15 a 50% na produção, a transmissão por sementes não é tida como importante, devido a estas doenças serem endêmicas nas regiões produtoras.

3.1. Sintomas

3.1.1. Doenças de Rhizoctonia (*Rhizoctonia solani*)

Sintomas

O fungo *R. solani* pode causar o tombamento de plântulas, podridão de raízes e ramos, podridão de "legs" e vagens e queima de folhas.

O fungo invade e destrói sementes ou plântulas causando o tombamento de pré ou pós-emergência. Algumas vezes as sementes são mortas antes ou durante a germinação.

No hipocótilo das plântulas, região mais comumente atacada, ocorre o desenvolvimento do micélio do fungo e a penetração de seus tecidos. Na emergência das plântulas infectadas são encontrados nesta região lesões alongadas marron-escuro, que quando aumentam e coalescem causam a morte das mesmas.

3.1.2. Podridão do colo (*Aspergillus niger*)

Sintomas

A podridão do colo ("crown rot") pode afetar plantas de amendoim em qualquer estágio de desenvolvimento, desde sementes germinando, plântulas, até plantas bem desenvolvidas, mas é mais comum nas primeiras.

O fungo *A. niger* ataca as sementes tão logo elas são plantadas. As sementes apodrecem rapidamente, tornando-se moles e cobertas por uma densa massa de conidióforos e conídios.

As plântulas infectadas apresentam lesões no hipocótilo logo acima, no nível do solo. A podridão no hipocótilo é caracterizada por uma lesão amarelo-escura, que se estende para o interior dos tecidos. Na superfície de áreas afetadas, usualmente podem ser vistas massas pretas de conidióforos e conídios do fungo. O súbito murchamento e seca de plantas novas são os sintomas mais evidentes da podridão-do-colo de *A. niger*.

3.1.3. Doenças de Fusarium (*Fusarium* spp.)

Sintomas

Todas as partes da planta, incluindo sementes, plântulas, raízes, ramos, "pegs" e vagens são atacadas por espécies de *Fusarium*.

Fusarium spp. geralmente ataca as plântulas pouco antes da emergência. Os tecidos infectados tornam-se de cor parda, encharcados e se cobrem com hifas do fungo. As sementes e plântulas são mais suscetíveis a *Fusarium* spp. quando plantadas em solos úmidos e frios. Nestas condições, as sementes infectadas geralmente deterioram, tornam-se encharcadas e muitas apodrecem. As plântulas infectadas têm seu desenvolvimento prejudicado; a raiz principal se torna escurecida e seca, sendo o hipocótilo rapidamente invadido.

Os sintomas de murcha são causados principalmente por *F. solani* e *F. oxysporum*, enquanto que as podridões-de-vagem são devidas a um complexo de fungos envolvendo *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* e *Pythium myriotylum*.

As vagens infectadas com *F. oxysporum* e *F. solani* apresentam muitas sementes com a película pálida e, algumas vezes, com uma pigmentação púrpura.

3.1.4. Doenças de Rhizopus (*Rhizopus* spp.)

Sintomas

Este fungo, comum na maioria dos tipos de solo onde se cultiva o amendoim, pode causar podridão de sementes e podridão das plântulas em pré-emergência. A infecção ocorre no início da germinação das sementes, que apodrecem rapidamente (dois a três dias) e ficam envolvidas pelo micélio do fungo. Lesões necróticas são encontradas na plúmula e nos cotilédones.

Em plântulas, a infecção se inicia nos cotilédones ou nos tecidos do hipocótilo, espalhando rapidamente para as raízes primárias e epicótilo. As plântulas infectadas são definhadas e geralmente morrem.

3.1.5. Podridão de Macrophomina - "charcoal rot" (*Macrophomina phaseolina*)

Sintomas

As plantas de amendoim são normalmente atacadas por *M. phaseolina* no nível do solo. Entretanto, raízes, ramos, folhas e vagens, em qualquer estágio de desenvolvimento, são suscetíveis.

Os sinais de infecção se iniciam na raiz principal ou na parte inferior da haste principal da planta, próximo ao nível do solo. Os tecidos infectados apresentam coloração marrom-claro. Na parte aérea, as folhas amarelecem e murcham mas não caem. Quando morre, a planta inteira é colonizada por *M. phaseolina*, tornando-se preta e apresentando um grande número de microescleródios em seus tecidos.

3.2. Controle

Devido às características dos fungos mais importantes constatados em sementes (*R. solani*, *A. niger*, *M. phaseolina*, *Fusarium* spp. e *Rhizopus* spp.), o tratamento químico das sementes com fungicidas torna-se uma prática obrigatória para o amendoim.

Como os danos às sementes e plântulas são devidos a mais de um organismo, apenas os fungicidas de espectro mais amplo ou combinações de fungicidas podem proporcionar uma proteção adequada (PORTER et al., 1982). Dentre os fungicidas testados em sementes de amendoim, os produtos à base de Thiram, Captan, Carboxin, e misturas de Thiram + Benomyl e Thiram + PCNB proporcionam bom controle de fungos presentes nas sementes, protegem as sementes contra

fungos do solo, não afetam a germinação e não apresentam sintomas de fitotoxicidade nas doses recomendadas (MORAES & MARIOTTO, 1984).

O método de tratamento químico das sementes por "via úmida" não é adequado para plantas leguminosas, como o amendoim, visto que as sementes absorvem água com muita rapidez, ocasionando a ruptura do tegumento. A desinfecção por "via seca", em geral, é mais eficiente, além de ser mais prática a sua execução (DHINGRA et al., 1980).

Embora o tratamento das sementes seja o método de controle mais indicado para os principais fungos associados às sementes, outras práticas podem ser recomendadas para melhorar a eficiência do tratamento, ou seja: usar sementes de alta qualidade e que tenham sido beneficiadas e armazenadas convenientemente; evitar sementes com ferimentos; aplicar os fungicidas recomendados de modo que todas as sementes fiquem revestidas; escolher, dentro de um limite razoável, a melhor época de beneficiamento e tratamento das sementes; considerar, quando possível, as condições ambientais que favoreçam uma rápida germinação.

Para a produção de sementes de amendoim com alto vigor e sanidade adequada, as técnicas indicadas para a condução de cultura devem ser seguidas à risca, principalmente em relação: à rotação de culturas, à utilização das recomendações de controle fitossanitário; à identificação correta do ponto de maturação; e à secagem das sementes após a colheita (teores de umidade ideais: 8-10% para sementes e 10-12% para amendoim em casca).

4. MÉTODOS DE DETECÇÃO NAS SEMENTES

O método utilizado para detecção dos microrganismos associados às sementes de amendoim, segundo vários trabalhos realizados no exterior (HAN LIN, 1969; JOFFE, 1969; McDONALD, 1970; WELTY & COOPER, 1968), segue basicamente os seguintes passos: as vagens inteiras da amostra são inicialmente lavadas em água e, a seguir, mergulhadas em solução desinfetante à base de cloro ou mercúrio, durante um a três minutos, sendo novamente lavadas várias vezes em água esterilizada. Destas vagens, as sementes são cuidadosamente retiradas, mantendo a película intacta. As sementes, em número de 100 por amostra, são desinfetadas do mesmo modo citado para as vagens, sendo lavadas três a quatro vezes em água esterilizada, antes de serem plaqueadas (quatro a cinco sementes por placa) em meio de cultura, contendo ágar. Os trabalhos, no entan

to, não mostram padronização quanto à metodologia de desinfecção das sementes (desinfetante e tempo de desinfecção), das condições de incubação (fotoperíodo e temperatura), do período de incubação e de identificação dos microrganismos.

A desinfecção das sementes tem sido utilizada em todos os trabalhos, porém, com variações quanto ao agente químico, concentração e tempo de desinfecção. Os agentes químicos normalmente utilizados são: solução aquosa com 1% de hipoclorito de sódio (McDONALD, 1970; WELTY & COOPER, 1968); solução contendo 10 ml de hipoclorito de sódio a 5,25%, 10 ml de álcool etílico 96% e 80 ml de água destilada (HANLIN, 1969); e cloreto de mercúrio a 0,1% (GARREN & HIGGINS, 1947; JOFFE, 1969).

Os meios de cultura utilizados para o plaqueamento de sementes variam em sua composição: meio de Czapek com pH 4,0 (JOFFE, 1969); Czapek Dox - rosa bengala estreptomicina-agar (McDONALD, 1970); Rosa bengala-agar e estreptomicina a 0,06 g/l (HANLIN, 1969); 2% de extrato de malte (Difco), 10% de cloreto de sódio e 2% de agar (WELTY & COOPER, 1968); agar-água acidificado (GARREN & HIGGINS, 1947) e batata-dextrose-agar (URBEN et al., 1983).

A incubação das sementes tem sido realizada à temperatura ambiente e na ausência de luz. A avaliação da micoflora tem sido feita com períodos variáveis de quatro dias a três semanas, através da observação direta nas placas ou através de repicagens das colônias associadas às sementes, para posterior identificação do microrganismo.

O teste do papel de filtro ("blotter test") também tem sido utilizado em alguns trabalhos de detecção de fungos associados às sementes de amendoim (AMARAL & USBERTI, 1983; URBEN et al., 1983).

Pelo que foi observado na literatura relacionada a sementes de amendoim, verifica-se a necessidade de realização de testes comparativos entre métodos de detecção, incluindo a desinfecção de sementes, métodos de plaqueamento e condições de incubação (temperatura, luz e período de incubação).

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- AMARAL, H.M. & USBERTI, R. Detecção de fungos em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) armazenadas com e sem fungicida. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3ª, Campinas, 1983. p. 80 (Resumos).
- DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J. & CRUZ Fº., J. Tratamento de sementes (controle de patógenos). Viçosa, Imprensa Universitária da U.F. Viçosa, 1980. 121 p.
- DIENER, U.L.; PETTIT, R.E. & COLE, R.J. Aflatoxins and other mycotoxins in peanuts. In: PATTEE, H.E. & YOUNG, C.T. ed. Peanut Science and technology Texas, American Peanut Research and Education Society, Inc., 1982. p. 486-519.
- GARREN, K.H. & HIGGINS, B.B. Fungi associated with runner peanut seeds and their relation to concealed damage. *Phytopathology*, Lancaster, 37: 512 - 522, 1947.
- HANLIN, R.T. Fungi in developing peanut fruits. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, The Hague, 38: 91-100, 1969.
- HANLIN, R.T. The distribution of peanut fungi in the southeastern United States. *Mycopathologia et e Mycologia Applicata*, The Hague, 49:277-243 , 1973.
- JOFFE, A.Z. The mycoflora of fresh and stored groundnut Kernels in Israel. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, The Hague, 39: 255-264, 1969.
- MCDONALD, D. Fungal infection of groundnut fruit before harvest. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, London, 54: 453-460, 1970.
- MORAES, S.A. & MARIOTTO, P.R. Diagnóstico da patologia de sementes de amendoim no Brasil. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 7(1): 41-43 , 1985.
- MOUBASHER, A.H.; ABDEL-HAFEZ, S.I.I.; EL-HISSY, F.T. & HASSAN, S.K.M. Effect of temperature and moisture content on egyptian peanut seed-borne fungi. *Mycopathologia*, The Hague, 70: 49-54, 1980.

- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London, The Macmillan Press Ltd., 1977. V. I. 839 p.
- PORTER, D.M.; SMITH, D.H. & RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Peanut plant disease. In : PATTEE, H.E. & YOUNG, C.T. ed. Peanut Science and technology Texas. Texas, American Peanut Research and Education Society, Inc., 1982. p. 326-410.
- PORTER, D.M.; SMITH, D.H. & RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. ed.. Compendium of peanut Diseases. St. Paul, The American Phytopathological Society, 1984. 73 p.
- RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. England , Commonwealth Mycological Institute, 1979. 320 p.
- URBEN, A.F.; WETZEL, M.M.V.S. & VALLS, J.F.M. Ocorrência de fungos em germe plasma/semente do gênero *Arachis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES , 3^a, Campinas. 1983. p. 91. (Resumos).
- WELTY, R.E. & COOPER, W.E. Prevalence and development of storage fungi in peanut *Arachis hypogaea* seed. Mycopathologia et Mycologia Applicata, The Hague, 35: 290-296, 1968.
- WETZEL, M.M.V.S.; BETTIOL, E.M. & FAIAD, M.G.R. Bibliografia Brasileira de patologia de sementes. BRASÍLIA, EMERAPA-CENARGEN, 1981. 256 p.

CAPÍTULO XV

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE ARROZ

Heloisa Morato do Amaral⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é a cultura mais extensamente plantada no mundo, constituindo-se a base da alimentação de vários países, inclusive o Brasil.

Grandes perdas de produção ocorrem devido ao ataque de vários microrganismos patogênicos no campo, dos quais o fungo *Pyricularia oryzae* Cav., causador da brusone é, mundialmente, o mais importante pelos danos econômicos que causa.

Cochliobolus miyabeanus (Ito & Kur.) Drechs., estágio imperfeito *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subr. & Jain, fungo causador da mancha parda ou helminthosporiose vem a seguir, estando presente em áreas de produção de arroz, causando morte de plântulas e redução na produção devido ao ataque nas folhas e nas panículas.

Embora existam outros meios de disseminação, esses dois patógenos são transmitidos por sementes, facilitando sua disseminação a longas distâncias para regiões até então isentas dos patógenos ou aumentando progressivamente o inóculo nas regiões onde já existem (NEERGAARD, 1962).

Outros patógenos atacam a cultura do arroz, danificam a parte aérea causando manchas foliares, reduzindo a produção e a panícula, manchando os grãos, depreciando o valor econômico das sementes ou comprometendo o êxito do plantio subsequente. Esses patógenos variam de local para local dependendo das condições climáticas.

⁽¹⁾ Eng^o Agr^o, Laboratório Central de Análise de Sementes, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI/S.A.), Campinas, SP.

Testes de sanidade realizados em laboratório devem detectar a composição da microflora das sementes podendo-se correlacionar as condições climáticas ocorridas durante a maturação e a colheita das sementes (NEERGAARD, 1970).

2. PRINCIPAIS PATÓGENOS ASSOCIADOS A SEMENTES DE ARROZ

Cerca de 90 microrganismos já foram relatados como associados as sementes de arroz, segundo RICHARDSON (1979, 1981 e 1983). Os indicados a seguir com asterisco já foram detectados no Brasil.

**Alternaria longissima*; **Alternaria* sp.; **Alternaria tenuis*; **Ascochyta oryzae*; **Aspergillus* sp.

Balansia oryzae; *Balansia oryzae-sativa*; *Brachysporium* sp.

**Cercospora oryzae* (Mancha estreita); **Chaetomium* spp.; **Cladosporium* sp.; **Curvularia* spp. (*C. cymbopogonis*, *C. eragrostis*, *C. geniculata*, *C. intermedia*, *C. lunata*, *C. oryzae*, *C. pallescens*).

Diplodia oryzae; *Diplodia* sp.; *Drechslera australiensis*; **Drechslera halodes*; *Drechslera hawaiiensis*; *Drechslera longirostrata*; **Drechslera oryzae* (Mancha parda ou helmintosporiose); **Drechslera rostrata*; **Drechslera* sp.; *Drechslera tetramera*.

Entyloma oryzae; **Epicoccum purpurascens*; **Epicoccum* sp.

Fusarium spp. (*F. dimerum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. heterosporum*, *F. lateritium*, *F. moniliforme* (Bakanae), *F. nivale*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani*).

**Gerlachia oryzae* (sin. *Rhynchospirium oryzae*) (Escaldadura das folhas).

**Helminthosporium* sp.; *Hendersonia oryzae*.

Magnaporthe salvarii; *Melanomma glumarum*; *Monascus purpureus*; *Mycosphaella danubialis*; *Mycosphaerella shiraiana*; **Myrothecium verrugaria*.

**Nigrospora oryzae*.

Oospora oryzae; *Ophiobolus oryzae*.

Penicillium puberulum; **Penicillium* sp.; *Phaeotrichoconis crocalariae*;

**Phoma* spp. (*P. glumarum*, *P. glumicola*, *P. necalve*); **Pithomyces charlae*; **Pithomyces* sp.; **Pyricularia oryzae* (Brusone).

**Rhizoctonia oryzae* (Mancha das bainhas); **Rhizoctonia solani* (Queima das bainhas); **Rhizopus* sp.; **Rhizopus stolonifer*.

Sarocladium attenuatum; **Sarocladium oryzae* (Podridão do colar das bainhas); *Sclerotium oryzae* (Podridão do pé); **Sclerotium rolfsii* (Tombarrento); *Septoria oryzae*.

**Tilletia barclayana* (Cárie ou Carvão preto); *Trematosphaerella oryzae*; **Trichoconiella padwickii* (Mancha das folhas); **Thichodesma* sp.; **Taicholium* sp..

Ulocladium sp.; **Ustilaginoides virens* (Falso carvão).

Waltia decolorans.

**Pseudomonas luscovaginae* (FROSI et al., 1986); *Pseudomonas syringae*.

Xanthomonas campestris pv. *ilovana*; *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*;

Xanthomonas campestris pv. *oryzicola*.

Anguina sp.; *Aphelenchoides besseyi* (Ponta Branca).

Ditylenchus angustus.

3. PATÓGENOS ASSOCIADOS A SEMENTES ECONOMICAMENTE IMPORTANTES

3.1. *Pyricularia oryzae* Cav. - Brusone

A brusone é considerada a doença mais importante da cultura em todas as regiões onde se cultiva o arroz, uma vez que afeta diretamente a formação dos grãos, diminuindo a produtividade.

Pode atacar toda a parte aérea: colmos, folhas e panículas. Causa manchas nas folhas, colmos, panículas e grãos. Nas folhas, os sintomas se iniciam por manchas elípticas castanho-avermelhadas que são normalmente circundadas por um halo amarelado. O tamanho e forma dessas lesões variam de acordo com as condições ambientais, com a idade das lesões e com a resistência da cultivar plantada (CARDOSO & KIMATI, 1980).

Nas cultivares suscetíveis as manchas nas folhas podem ser em grande número e determinar a morte destas. Nas cultivares resistentes, o halo mostra-se maior que nas cultivares suscetíveis.

Nos colmos, as lesões de brusone são encontradas nos nós, formando um anel de coloração semelhante as manchas das folhas. Com a evolução da doença ocorre um bloqueamento dos vasos, impedindo a circulação da seiva. Quando o ataque aos colmos ocorre nos nós inferiores, geralmente se dá o acamamento.

mamento das plantas e quando este ataque ocorre no nó da base da panícula, esta forma grãos chochos e com seu peso ela tomba, dando ao sintoma o nome de "Pescoço quebrado" ou "brusone de pescoço" (RIBEIRO, 1979).

Nas panículas o fungo pode afetar todos os grãos ou parte deles, causando manchas. Os grãos contaminados apresentam manchas sobre as glumas e junto ao pedicelo e em casos mais severos manchas nas glumelas. Quando o ataque ocorre na fase de formação dos grãos o fungo pode infectar os tecidos do embrião.

Durante todo o desenvolvimento as plantas mostram-se suscetíveis, mas as fases de maior suscetibilidade ocorrem quando as plantas encontram-se com 3-4 folhas e na floração, porém para que exista ataque é importante a ocorrência de condições ecológicas favoráveis (temperatura, umidade relativa do ar, adubação do solo).

O agente causal da brusone, *Pynicularia oryzae* Cav., é um Deu teromiceto da Ordem Moniliales. Sobrevive de um ano para outro em restos de cultura, plantas hospedeiras e sementes contaminadas. A disseminação de um local para outro pode ocorrer pela ação do vento transportando esporos e pelas sementes, nas quais pode se localizar interna ou externamente.

Devido a grande variabilidade do fungo *P. oryzae*, que possui cerca de 35 raças já detectadas no Brasil, torna-se quase impossível o uso de cultivares resistentes. Os programas de melhoramento realizados atualmente, visam principalmente a obtenção de cultivares com resistência de campo, as quais poderão ser utilizadas por maior período de tempo.

Desta forma, o controle racional da doença deve ser obtido de maneira integrada, através do manejo das práticas culturais: uso de sementes sadias, adubação equilibrada, destruição de restos de cultura, mudança periódica das cultivares plantadas, uso de cultivares mais resistentes e por último, o uso de defensivos agrícolas, que encarecem muito o custo de produção.

3.2. *Cochliobolus miyabeanus* (Ito & Kur.) Drechs. estágio imperfeito *Drechslera oryzae* (Breda de Hann) Subr. & Jain-Mancha Parda ou Helminthosporiose

A Mancha parda ou Helminthosporiose do arroz é uma doença mun dialmente disseminada nas regiões produtoras de arroz. No Brasil é considera

da de importância econômica secundária devido a incidência de Brusone, ocorrendo muitas vezes confusão na identificação das duas doenças.

A presença de *B. oryzae* nas sementes causa queda na porcentagem de emergência, formação de plântulas anormais e morte de plântulas (GUERRERO et al., 1972). Nas plantas adultas, causa manchas foliares e manchas nas panículas.

Os sintomas nas folhas são manchas castanho-escuras, de forma oval e com bordos lisos. Sintomas semelhantes ocorrem no colmo e quando a doença ataca a panícula, mancha os grãos depreciando as sementes e comprometendo o plantio seguinte.

O período de maior suscetibilidade das plantas à doença ocorre na emergência, causando damping-off de pré e pós-emergência quando as plantas possuem 2-3 folhas e no período da floração.

As condições favoráveis ao aparecimento da doença estão ligadas a temperatura, umidade relativa do ar e deficiências nutricionais do solo, principalmente potássio e microelementos.

O agente causal da Mancha Parda, o fungo *B. oryzae*, pertence à família Dematiaceae, ordem Moniliales. Sobrevive de um ano para outro em restos de cultura, hospedeiros intermediários e, principalmente, em sementes contaminadas.

Normalmente não são adotadas medidas de controle específicas para a doença uma vez que as já adotadas para Brusone também previnem o aparecimento da Mancha Parda. O uso de sementes sadias, a eliminação de hospedeiros intermediários e de restos de cultura e, o plantio de cultivares tolerantes são medidas de controle a serem adotadas. O tratamento das sementes com fungicidas pode ser uma medida a ser adotada.

3.3. Manchas nas sementes

São vários os fungos causadores de manchas nas sementes além dos já citados. Entre eles temos: *Curvularia* spp., *Drechslera* spp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Nigrospora oryzae*, *Phoma* spp. e *Taichocniella padwickii*.

Alguns podem causar também manchas foliares entre eles *Phoma* spp. (*Phyllosticta* sp.) e *Taichocniella padwickii*, cuja incidência vem aumentando

do nestes últimos anos nos Estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.

Apesar de não causarem danos com respeito a produtividade da cultura causam desvalorização das sementes pela sua má aparência.

A fase mais importante para o aparecimento de tais fungos é entre a emissão da panícula e a fase de grão leitoso.

T. padwickii embora não tenha importância econômica no Brasil, pode causar formação de plântulas anormais e mesmo sua morte (MATHUR et al., 1972).

As medidas de controle recomendadas são uso de cultivares mais tolerantes a esses fungos e plantio na época normal.

3.4. *Geotrichia oryzae* (sin. *Rhynchosporium oryzae*) Escaldadura da folha

A escaldadura é uma doença que vem crescendo nestes últimos anos em várias regiões produtoras de arroz no Brasil. Caracteriza-se pela formação de manchas oblongas nas pontas das folhas, com a formação típica de áreas concêntricas mais escuras e mais claras (bandas). Nas bainhas e inflorescências ocorrem manchas castanho-escuras e nos grãos são encontradas manchas de coloração rosada.

A fase de maior suscetibilidade da cultura é depois do perfilhamento quando existe grande número de folhas e que são atacadas, passando destas para as panículas e para os grãos.

As condições favoráveis ao aparecimento da doença são excesso de adubação nitrogenada favorecendo a formação de plantas com maior massa verde.

O agente causal, o fungo *Geotrichia oryzae* (sin. *Rhynchosporium oryzae*) é um Deuteromiceto, da ordem Moniliales e sobrevive de um ano para outro principalmente em sementes contaminadas.

As medidas de controle a serem adotadas são: adubação nitrogenada equilibrada, uso de sementes saudáveis e de cultivares resistentes ou tolerantes. A aplicação de fungicidas na parte aérea para controle da Brusone auxilia no controle da Escaldadura. O tratamento de sementes pode ser recomendado ocasionalmente.

3.5. *Cercospora oryzae* Miyake - Mancha estreita

É uma doença que ataca a cultura no fim do ciclo, desta forma causando poucos prejuízos nas nossas condições (MATALLO & LASCA, 1978).

Quando o ataque é severo, dependendo para isso da suscetibilidade da cultivar, da idade da planta afetada e das condições ambientais, pode causar a morte prematura das folhas, acamamento e prejudicar a qualidade das sementes.

Os sintomas aparecem principalmente nas folhas, na forma de manchas estreitas e alongadas no sentido longitudinal, de cor pardo-avermelhadas. Às vezes, as manchas podem ocorrer no colmo e nas panículas.

A disseminação do fungo ocorre através de sementes contaminadas ou pela ação do vento distribuindo os esporos, atacando as plantas no final do ciclo. As plantas originárias de sementes contaminadas mostram poucos sintomas desde a sementeira até pouco depois da floração. O aparecimento de sintomas está relacionado com a presença de condições favoráveis para o desenvolvimento do fungo, tais como temperatura elevada e alta umidade relativa.

O patógeno sobrevive de um ano para outro nas sementes contaminadas, nos restos de cultura e em plantas hospedeiras, como o arroz vermelho (RIBEIRO, 1979).

Como medidas de controle recomenda-se o uso de sementes sadias , eliminação do arroz vermelho, e rotação de cultura. O uso de produtos fungici das não é recomendado especificamente para controle da Mancha Estreita, mas a aplicação de fungicidas no controle da Brusone, controla o aparecimento da quela.

3.6. *Aphelenchoides besseyi* Christie - Ponta Branca

Aphelenchoides besseyi é o nematóide agente causal da Ponta Branca do arroz.

No Brasil, existem poucos relatos sobre danos causados por este nematóide devido ao plantio de cultivares tolerantes.

O sintoma caracteriza-se pelo aparecimento de uma clorose no ápice das folhas do arroz. Na folha bandeira nota-se, também, um encrespamento ou espiralamento da folha, que se enrola na panícula dificultando sua emis

são. Pode ocorrer nas panículas a formação de grãos estéreis, panículas menores e mais leves. Muitas cultivares podem não mostrar sintomas (ISHY, 1975).

A disseminação do nematóide é feita principalmente através de sementes infectadas. Pode permanecer de um ano para outro além das sementes, em plantas hospedeiras. Não sobrevive bem no solo.

As condições que favorecem o aparecimento da Ponta Branca são : condições de umidade da planta, formando um filme d'água sobre as folhas permitindo o caminhar dos nematóides, temperaturas pouco elevadas, semeadura tardia e crescimento vegetativo vigoroso.

O uso de sementes saudáveis ou o plantio de cultivares tolerantes são os métodos de controle mais indicados. O tratamento das sementes com água quente (52-53°C/10-15 minutos) (RIBEIRO, 1977) ou o emprego de produtos nematicidas pode ser recomendado, uma vez que reduz a população de nemátodes (OLIVEIRA & RIBEIRO, 1978).

4. MÉTODOS DE DETECÇÃO DE MICROORGANISMOS EM SEMENTES DE ARROZ

A microflora das sementes de arroz, parasita ou saprófita, responsável pela redução da qualidade, tanto pelas manchas como pelos danos mais profundos que causa, varia grandemente de local para local, de acordo com as condições de clima e solo. Esta composição, detectada em laboratório, deve portanto, retratar o ocorrido no campo.

Há vários métodos utilizados na detecção dos principais patógenos associados às sementes de arroz.

4.1. Método do Papel de Filtro ("blotter test")

Consiste na utilização de sementes com ou sem assepsia superficial com solução de hipoclorito de sódio 1%, por 5 minutos. As sementes são semeadas em placas de Petri ou outro recipiente similar, contendo 3 folhas de papel de filtro previamente umedecidos em água destilada. São dispostas 25 sementes por placa de Petri.

A seguir, as placas contendo as sementes são incubadas em ambiente controlado, geralmente $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com alternância de luz e escuro de 12 horas. A luz deve ser colocada 40 cm acima das sementes, podendo ser 2 lâmpadas (separadas entre si 20 cm) de 40 W de luz próximo da ultravioleta (Near

ultraviolet light - MUV) ou por 2 lâmpadas de 40 W de luz fluorescente comum (day light - DL) (AULAKH et al., 1974). Após o período de incubação normal de 7 dias, as sementes são examinadas, uma a uma, sob microscópio este reoscópico com aumento de 25-40 vezes e os microrganismos são identificados e anotados. A identificação é feita com base na esporulação dos fungos.

Para cada amostra de sementes recomenda-se testar 400 sementes, selecionadas ao acaso da amostra de trabalho, sendo o resultado do teste expresso em porcentagem de cada fungo detectado.

Este método é uma combinação dos princípios de avaliação "in vivo" e "in vitro". É aplicado na detecção da maioria dos fungos em sementes de arroz.

4.2. Método do Papel de Filtro com congelamento ("deep freezing method")

Este método consiste em uma pequena variação do método anterior, no qual elimina-se a germinação das sementes através da exposição das sementes à temperatura de -20°C .

As sementes são semeadas da mesma forma já descrita anteriormente, mas após as primeiras 24 horas de incubação a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ as placas contendo as sementes são retiradas e colocadas em um freezer a -20°C por 24 horas. Em seguida, voltam para o ambiente normal de incubação até completação aos 7 dias, quando então são avaliadas.

O choque de frio, após as sementes absorverem água nas primeiras 24 horas de incubação, prejudica a germinação normal destas e apenas os microrganismos se desenvolvem durante a incubação, facilitando a execução da avaliação.

Esse método pode ser utilizado para a detecção de fungos, como o anterior.

4.3. Método de plaqueamento em meio de cultura

Inicialmente as sementes necessitam sofrer assepsia superficial em solução de hipoclorito de sódio 1%, por 5 minutos, com a finalidade de eliminar microrganismos saprófitas que aderem superficialmente as sementes.

As sementes são então distribuídas em placas de Petri, contendo meio de cultura (Batata-dextrose-agar ou extrato de malte agar) (AZLEM ,

1964) em número de 5 por placa, bem espaçadas para evitar contaminação de uma semente para outra. As placas são colocadas para incubar em ambiente à 28°C, sob fotoperíodo de luz e escuro de 12 horas. A luz utilizada é a mesma para os métodos anteriores.

A avaliação será realizada após 7-8 dias de incubação baseando-se na identificação das colônias que se desenvolveram sobre o meio de cultura.

Este método pode ser utilizado para a detecção de fungos em sementes de arroz, mas deve-se tomar o cuidado de verificar que alguns fungos tem crescimento mais lento que outros e podem passar despercebidos por este método. Para *Trichoconiella padwickii*, de crescimento lento, recomenda-se o prolongamento do período de incubação por mais 2 dias (MATHUR & NEERGAARD, 1969).

4.4. Método do tubo de ensaio com agar-água

A semente é semeada nos tubos de ensaio de 16mm de diâmetro, uma semente por tubo, contendo agar-água, 10 ml e os tubos incubados à 20°C ou outra temperatura adequada, de acordo com o patógeno a detectar, sob alternância de luz e escuro de 12 horas. As fontes de luz são as mesmas descritas em 4.1.. Inicialmente, os tubos são fechados com tampão de algodão para não perderem umidade.

A duração do período de incubação depende do aparecimento dos sintomas nas plântulas. Para *Drechslera oryzae*, uma incubação de 10 dias é suficiente.

Este método pode ser utilizado para detecção de *D. oryzae* e verificação dos danos que causa nas plântulas. É um método bastante ilustrativo, embora para trabalho de rotina seja muito demorado, ocupe muito espaço na câmara de incubação e requeira muita mão-de-obra para sua instalação.

4.5. Métodos para extração de *A. besseyi*

Não existe ainda uma metodologia padronizada para extração de *A. besseyi* das sementes de arroz, para ser utilizada em laboratório de rotina.

Pode-se utilizar o método de moagem e peneiramento das sementes, que consiste em se fazer 2 repetições de 100 sementes, escolhidas ao acaso da amostra de trabalho. Cada repetição é deixada imersa em água destilada por um período de 2 horas, após o que são moídas em um liquidificador por 1-2 minutos, deixadas em repouso e então, passadas nas peneiras de malhas 0,149 e 0,037 mm para a coleta dos nematóides retidos nesta última. São coletados cerca 20 ml de água contendo os nematóides retidos na última peneira. A leitura é feita em lâmina de Peters (AMARAL et al., 1986).

Esse método, embora rápido de ser preparado para ser utilizado em laboratório de rotina, permite a perda de muitos nematóides pela ação das pás do liquidificador.

O método de separação manual das glumelas do restante das sementes e a imersão destas últimas em água destilada por uma noite, permite a leitura em lâmina de Peters de nematóides em movimento e com menores perdas.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- AMARAL, H.M.; GOTO, R. & VICTOR, O. *Aphelenchoides besseyi* Christie, causa dor da Ponta Branca do Arroz: incidência em 5 cultivares produzidas em São Paulo em 1985-1986. *Summa Phytopatologica*, Piracicaba, 13, (1-2):16, 1987.
- AULAKH, K.S.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Seed Health Testing of rice and comparison of fiel incidence with laboratory counts of *Drechslera oryzae* and *Pyricularia oryzae*. *Seed Sci. & Technol.*, Zurich, 2: 393-98, 1974.
- AZLEM, S. Method of detection of *P. oryzae* and *Helminthosporium oryzae* on malt agar. *Pakist. J. Sci. Res.*, 7: 228-230, 1964.
- CARDOSO, C.O.N. & KIMATI, H. Doenças do arroz. IN: GALLI, F. et al. Manual de Fitopatologia, 2ª Ed., Editora Ceres, São Paulo, 1980, Vol. II, p. 75-86.
- FROSI, J.F.; ZIEGLER, R. & PULVER, R. Identificação de *Pseudomonas fuscovirginea* no Brasil e sua possível influência na mancha de grãos de arroz. IN: RELATÓRIO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 15. Porto Alegre, 1986. Anal. Porto Alegre, IRGA, p. 331-336.
- GUERRERO, F.C., MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Seed Health of rice. V. Seed-borne fungi associated with abnormal seedlings of rice. *Proc. Int. Seed Test. Ass.*, Norway, 37: 985-997, 1972.
- ISHY, T. Ponta branca do arroz. *Lavoura Arrozeira*, Porto Alegre, 290: 48-51, 1975.
- MATALLO, M.R.V. & LASCA, C. de C. Doenças transmitidas pela semente. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 1978, 15 p. (Boletim Técnico).
- MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Seed Health Testing of rice II. Seed-borne fungi of rice in Philippines, India, Portugal and Egypt. *Investigations on Trichoconis padwickii*. *Indian Phyt.*, New Delhi, 22: 69-81, 1969.
- MATHUR, S.B.; MALLIA, J.I. & NEERGAARD, P. Seed-borne infection of *Trichoconis padwickii* in rice, distribution and damage to seed and seedlings. *Proc. Int. Seed Test. Ass.*, Norway, 37: 803-810, 1972.

- MIA, M.A.T.; CHAUHAN, R.K.S. & MATHUR, S.B. *Geolachia oryzae*. ISTA Handbook on Seed Health Testing, ISTA, Zurich, Working Sheet n° 62. 1986.
- NEERGAARD, P. Seed Health Testing of rice I. A contribution to development of laboratory routine testing methods. Indian Phytopathology, New Delhi, 15: 85-111, 1962.
- _____. Seed Pathology of rice. Plant Diseases Problems. International Symposium on Plant Pathology, 1. New Delhi, 1970. Proceedings. Vol. I. p. 57-68.
- _____. Seed Pathology. 1ª ed. London, England, 1977. V. I e II. 1187 p.
- OLIVEIRA, J.V. & RIBEIRO, A.S. Efeito do tratamento de sementes no controle do nematóide *A. besseyi* Christie em arroz irrigado. IN: Reunião Geral da Cultura do Arroz, 4. Porto Alegre, 1978. Anais. Pelotas, EMBRAPA/IRGA, 1978. p. 207-211.
- RIBEIRO, A.S. Doenças fúngicas do arroz de interesse para a Patologia de Sementes. IN: CURSO NACIONAL DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., Pelotas, 1979. 20 p. (Apóstila mimeografada).
- RIBEIRO, A.S. Tratamento de sementes de arroz irrigado para controle da disseminação do nematóide *A. besseyi* Christie. IN: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ, 7., Porto Alegre, 1977, Anais. Pelotas, EMBRAPA/IRGA, p. 138-142.
- RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3ª ed., Phytopathological Papers n° 23, Kew, Surrey, Commonwealth Mycol. Inst. & ISTA, 1979. 320 p.
- _____. An annotated list of seed-borne diseases. 3ª ed. Supplement 1. Zurich, ISTA, 1981. 78 p.
- _____. An annotated list of seed-borne diseases. 3ª ed. Supplement 2. Zurich, ISTA, 1983. 107 p.

CAPÍTULO XVI

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE CAUPI

Mohammad M. Choudhury⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

A cultura do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. subsp. *unguiculata*), ou feijão-de-corda, feijão-macáçar, feijão-pardo, feijão-chocha-bunda, feijão-verde, feijão-de-moita, feijão-fradinho, feijão-manteiga, é considerada uma das mais importantes culturas anuais de várias regiões tropicais e sub-tropicais do mundo, pois, além de alto valor energético, constitui uma fonte de proteína de boa qualidade. África, Brasil e Índia são as principais regiões produtoras do caupi. Existem vários fatores que influenciam a qualidade de sementes do caupi, entre os quais, destacam-se os genéticos, fisiológicos e sanitários. A qualidade sanitária de sementes depende da incidência de microorganismos (anexo 1) e vírus nas mesmas. A cultura está atacada por diversos microorganismos e vírus que podem ser disseminados pelas sementes, provocando-lhes apodrecimento (das sementes), baixa germinação, baixo vigor, redução do "stand" inicial e produção de plantas doentes. Assim, a utilização de sementes sadias é um dos principais requisitos para a obtenção de alta produtividade de caupi.

Neste capítulo, citam-se microorganismos associados a sementes de caupi, os métodos mais utilizados para detectá-los, sintomas das fitomoléstias transmissíveis pelas sementes e seu controle.

2. MICROORGANISMOS TRANSMITIDOS POR SEMENTES DE CAUPI

A literatura se refere a vários fungos e bactérias, como fitopatógenos transmissíveis pelas sementes de caupi, além de microorganismos de armazenamento. No Brasil, os mais importantes são: *Rhizoctonia solani*, *Ma*

(1) Fitopatologista, Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico

Semi-Árido (CPATSA/EMBRAPA). Cx. Postal 23, 56.300 - Petrolina - PE.

Macrophomina phaseolina, *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, *Pseudocercospora cruenta*, *Cercospora canescens*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Sphaceloma* sp. e *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola*.

Várias são as fitodoenças causadas por estes fitopatógenos.

2.1. Podridão radicular

As podridões radiculares de caupi são causadas por diferentes espécies de fungos fitopatogênicos do solo. *Rhizoctonia solani* Kuhn é um dos mais freqüentes dentre estes fitopatógenos.

Sintomas e transmissão pela semente: As sementes infectadas mostram tegumentos levemente amarelados ou esbranquiçados e apodrecem no solo antes ou durante a germinação. Nas raízes e na parte do caule, abaixo e logo acima do nível do solo, esta fitomoléstia causa as lesões avermelhadas, deprimidas, bem delimitadas e alongadas que podem ocasionar tombamento ("damping-off") de plântulas. O fungo é transmitido pelas sementes.

Controle:

- 1) Utilização de sementes sadias
- 2) Tratamento químico de sementes com benomyl + thiram
- 3) Plantio de cultivares resistentes

2.2. Podridão-cinza-do-caule

O agente causal desta fitodoença é o fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Esta enfermidade ocorre com maior freqüência na região semi-árida brasileira, sendo favorecida por temperaturas elevadas e baixa umidade do solo.

Sintomas e transmissão pela semente: Sementes infectadas ou contaminadas podem apodrecer no solo. Quando isto não ocorre, as plântulas provenientes de sementes infectadas mostram lesões escuras, deprimidas, localizadas no caule e na base dos cotilédones. Posteriormente, a infecção estende-se para baixo, em direção ao sistema radicular, e para cima, atingindo os pecíolos das folhas primárias. Quando as condições são favoráveis, a fitomoléstia pode progredir rapidamente e as plântulas apresentam escurecimento e apodrecimento do caule em pouco tempo. Nas plantas adultas, pontuações es

curas, correspondentes aos picnídios e escleródios do fungo, formam-se nas lesões. As plantas doentes apresentam, posteriormente, uma coloração cinzenta na haste, amarelecimento e murchamento dos folíolos. O fitopatógeno pode ser transmitido pelas sementes em níveis elevados (cerca de 50%).

Controle:

- 1) Uso de sementes livres de fitopatógenos
- 2) Tratamento de sementes com benomyl + thiram
- 3) Aração profunda do solo
- 4) Emprego de cultivares resistentes

2.3. Podridão-radicular-seca

Fusarium solani (Mart.) Appel & Wollenw. f. sp. *phaseoli* (Burk) Snyder. & Hans é o agente causal desta fitomoléstia. O fungo produz macroconídios, microconídios e clamidósporos, e pode sobreviver vários anos na ausência de plantas hospedeiras, em forma de clamidósporos. A fitomoléstia causada pelo fungo é favorecida em solos ácidos e moderadamente úmidos, conjugados a uma temperatura elevada.

Sintomas e transmissão pela semente: O ataque do fitopatógeno inicia-se, geralmente, pela raiz principal, estendendo-se, mais tarde, pela parte mais baixa do caule. Os tecidos infectados apresentam uma descoloração avermelhada. Essa descoloração atinge progressivamente toda extensão da raiz principal, torna-se de cor marrom e é, geralmente, acompanhada por fissuras longitudinais. Em caso de infecção severa, a raiz principal e a parte mais baixa do caule tornam-se secas. Com a morte das raízes laterais, às vezes a planta doente desenvolve raízes secundárias acima da lesão, perto da superfície do solo. Na época de seca, as folhas da planta tornam-se amareladas e secam em profusão. As folhas podem cair e a planta produzir poucas vagens com sementes diminutas. Em caso de infecção muito severa, a planta morre sem produzir vagens.

O fitopatógeno é transmitido pela semente, provavelmente aderido, na forma de esporos, à superfície do tegumento.

Controle:

- 1) Emprego de sementes sadias
- 2) Tratamento de sementes com benomyl + thiram

3) Uma rotação adequada

4) Adição ao solo de resíduos culturais de plantas não hospedeiras de alta relação C:N, com milho, sorgo, cevada ou trigo

5) Utilização de cultivares resistentes

2.4. Murcha-de-fusarium

A fitomoléstia geralmente ocorre em todas as regiões onde se cultivam o caupi. Ela é causada pelo fungo *Fusarium oxysporium* f. sp. *tracheiphilum* (E.F. Smith) Snyder and Hans.

Sintomas e transmissão pela semente: Os sintomas nas plantas afetadas se manifestam na redução do crescimento, amarelecimento dos folíolos, progressivamente, de baixo para cima. À medida que a fitomoléstia se torna mais severa, o amarelecimento acentua-se progressivamente e ocorre perda de turgescência e queda prematura dos folíolos. Finalmente, ela provoca murcha e morte das plantas. Cortando a haste das plantas doentes, os tecidos vasculares mostram uma coloração amarronzada. Nas plântulas, pode ocorrer um murchamento rápido e, conseqüentemente, causa a morte das mesmas. O fitopatógeno fúngico é transmitido através de sementes, provavelmente, externamente.

Controle:

- 1) Plantio de sementes sadias
- 2) Tratamento de sementes com benomyl + thiram
- 3) Rotação de culturas por longos períodos
- 4) Uso de cultivares resistentes

2.5. Mancha-de-cercospora

Esta fitomoléstia é causada por *Pseudocercospora cauenta* (Sacc.) Deighton e *Cercospora canescens* Ell. & Mart. Ambos os fungos ocorrem em muitas regiões de temperatura elevada.

Sintomas e transmissão pela semente: *C. canescens* causa manchas redondas e irregulares de coloração avermelhada a vermelho-amarronzada em ambas as faces foliares, enquanto manchas foliares provocadas por *P. cauenta* aparecem na face superior dos folíolos, e são inicialmente cloróticas. Posteriormente, estas manchas crescem e tornam-se necróticas. A face inferior

dos folíolos infectados fica coberta com manchas pardo-acinzentadas compostas por conidióforos e conídios do fungo.

Ambos os fitopatógenos podem ser transmitidos através de sementes.

Controle:

- 1) Utilização de sementes sadias
- 2) Pulverização foliar com fungicida cúprico ou chlorothalonil
- 3) Plantio de cultivares resistentes

2.6. Antracnose

A antracnose do caupi é provocada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scrib. Esta fitomoléstia pode causar prejuízos sérios por ocasião de sua ocorrência se o tempo permanecer mais frio e úmido e, normalmente, se precedido de um período seco.

Sintomas e transmissão pela semente: A infecção pode ocorrer em todas as partes aéreas da planta, principalmente na haste. As lesões são alongadas ou circulares, de coloração castanha a marrom. O tamanho e a distribuição das lesões depende do grau de suscetibilidade da cultivar. Nas cultivares suscetíveis, elas são grandes e numerosas, geralmente coalescendo, chegando a cobrir toda a haste, ramos, pedúnculos e pecíolos. A fitodoença também provoca o aparecimento de lesões nas vagens. As lesões nas sementes são, geralmente, arredondadas ou ovaladas. O fitopatógeno é facilmente transmitido através de sementes.

Controle:

- 1) Uso de sementes sadias
- 2) Tratamento de sementes com benomyl + thiram ou thiabendazol
- 3) Rotação com culturas não suscetíveis ao fungo fitopatogênico

2.7. Sarna

A fitomoléstia é causada pelo fungo *Sphaceloma* sp. que pode ocasionar severos danos à cultura, desde que condições ambientais sejam favoráveis ao seu desenvolvimento. No Nordeste brasileiro, foram observadas perdas totais de lavoura, por causa desta enfermidade.

Sintomas e transmissão pela semente: A doença provoca o aparecimento de lesões pequenas, circulares e brancas nos folíolos. Posteriormente, estas lesões se rompem, permanecendo os folíolos com pequenas perfurações de margens esbranquiçadas. Outros sintomas caracterizam-se pelo aparecimento de lesões ovaladas ou circulares nos caules, pecíolos, pedúnculos e vagens. Essas lesões são normalmente profundas, com centro esbranquiçado e bordos marrons, podendo alcançar até 5 mm de comprimento. Quando as plantas são severamente atacadas no início da frutificação, os danos são muito graves, devido ao abortamento de vagens, que se tornam torcidas e secam, resultando em grandes perdas na produção de grãos. O fitopatógeno vive em restos culturais e, provavelmente, pode sobreviver em sementes.

Controle:

- 1) Utilização de sementes sadias
- 2) Tratamento de sementes
- 3) Rotação de culturas
- 4) Plantio de cultivares resistentes

2.8. Crestamento bacteriano

O crestamento bacteriano é provocado por *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola*, (Burk.) Dye. É enfermidade de disseminação na maioria das regiões onde o caupi é cultivado. Esta fitomoléstia bacteriana pode causar prejuízos severos, especialmente em regiões com alta temperatura e alta umidade.

Sintomas e transmissão pela semente: Os sintomas iniciais do crestamento bacteriano caracterizam-se pelo aparecimento de pontos encharcados nos folíolos. Estes pontos crescem irregularmente e coalescem com lesões adjacentes. A área atacada fica com aparência flácida. Inicialmente, é circundada por um bordo estreito amarelo-limão difuso e, mais tarde, torna-se parda e necrótica, dando às plantas a aparência de que foram queimadas. No caule, aparecem lesões em forma de pequenas manchas umedecidas, que crescem gradualmente e adquirem coloração avermelhada. A infecção pode também causar câncros nos caules. Nas vagens, inicialmente, aparecem manchas pequenas e úmidas, que gradualmente aumentam de tamanho. Quando as vagens estão infectadas, a bactéria fitopatogênica pode passar para as sementes, provo

cando dois sintomas distintos: encarquilhamento e alteração na sua coloração típica, geralmente para o avermelhado. O fitopatógeno é transmitido através de sementes. Relatou-se que ocorreram 62% de plantas doentes, provenientes de sementes infestadas ao nível de 1%.

Controle:

- 1) Plantio de sementes sadias
- 2) Rotação de culturas
- 3) Plantio de cultivares resistentes

A cultura do caupi é sujeita a perdas causadas por diversos vírus, destacando-se o vírus do mosaico-do-caupi, transmitido por afídeos (CAMV, "cowpea aphid-borne mosaic virus"), vírus do mosaico-do-blackeye - caupi (BICMV, "blackeye cowpea mosaic virus") e vírus do mosaico-do-pepino (CMV, "cucumber mosaic virus") que podem ser transmitidos pelas sementes de plantas doentes.

3. VÍRUS TRANSMITIDOS POR SEMENTES

A cultura do caupi é sujeita a perdas causadas por diversos vírus, destacando-se o vírus do mosaico-do-caupi, transmitido por afídeos (CAMV, "cowpea aphid-borne mosaic virus"), vírus do mosaico-do-blackeye - caupi (BICMV, "blackeye, cowpea mosaic virus"), vírus do mosqueado-severo-do-caupi (VMqSC) e vírus do mosaico-do-pepino (CMV, "cucumber mosaic virus"), que podem ser transmitidos pelas sementes de plantas doentes.

3.1. Vírus do mosaico do caupi transmitido por afídeos (CAMV) e vírus do mosaico do blackeye-caupi (BICMV)

Sintomas: CAMV e BICMV são dois potyvírus estreitamente relacionados, mas aparentemente distintos. CAMV é considerado como o vírus mais comum do caupi, onde esta cultura é explorada. A natureza e a severidade dos sintomas variam com a cultivar. As plantas infectadas, geralmente, mostram um grau variável de clorose entre as nervuras, deformação dos folíolos e requitismo. A transmissão dos dois vírus pelas sementes de caupi pode variar com a cultivar (0-40%).

3.2. Vírus do mosqueado-severo-do-caupi (VMqSC)

Sintomas: Caracteriza-se pelos folíolos infectados e por apresentar alternância de grandes áreas cloróticas, com áreas verdes normais. Podem aparecer sintomas do tipo faixa verde das nervuras. Às vezes, os folíolos infectados apresentam-se enrolados, principalmente no ápice. Plantas severamente infectadas apresentam o porte reduzido. Relataram-se baixas taxas de transmissão deste vírus através de sementes.

3.3. Vírus do mosaico-do-pepino (CMV)

Sintomas: Dependendo da cultivar, pequenas manchas em forma de anéis aparecem nos folíolos com mosaico. Estes sintomas e os de mosaico são geralmente fracos e, às vezes, desaparecem à medida que as plantas vão crescendo. A taxa de transmissão do CMV pode variar com a cultivar (4-26%).

Controle:

- 1) Uso de sementes sadias
- 2) Plantio de cultivares resistentes
- 3) Controle de insetos vetores

4. MÉTODOS DE DETECÇÃO DE MICROORGANISMOS E DE VÍRUS EM SEMENTES DE CAUPI

4.1. Fungos em sementes

Para a detecção da microflora associada a sementes de caupi, os métodos mais utilizados são os descritos a seguir.

Método do papel de filtro (Blotter Test)

Duzentas ou quatrocentas sementes escolhidas ao acaso serão desinfestadas através da imersão das sementes em uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante 2 a 5 minutos, e em seguida, lavadas duas vezes com água destilada esterilizada. Após o pré-tratamento, as sementes são equidistantemente distribuídas à razão de dez sementes por placa de Petri ou de vinte sementes por caixa plástica (gerbox) sobre três folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada e esterilizada. Incubar as placas ou caixas plásticas contendo sementes em câmaras com temperatura de 24 a 28°C, sob um regime de alternância de luz e escuridão de doze horas, durante sete ou

oito dias. A iluminação com luz negra ou luz do dia pode ser fornecida por duas lâmpadas fluorescentes Phillips de 40w, espaçadas de 20 cm entre si e colocadas em prateleiras, a 40 cm das placas ou caixas plásticas. Após o período da incubação, a contagem das sementes associadas à identificação dos fungos associados é efetuada, baseada nas características morfológicas dos fungos, observadas com auxílio de microscópio estereoscópico e microscópio ótico.

Método do plaqueamento em água (agar-plating)

As sementes selecionadas ao acaso são submetidas à assepsia superficial, conforme a técnica do pré-tratamento descrito anteriormente. A seguir, estas sementes são acondicionadas em placas de Petri contendo meio de cultura de Batata-Dextrose-Ágar (BDA), cinco sementes por placa. As condições de incubação, a contagem de sementes associadas e a identificação dos fungos vão ser as mesmas mencionadas para o método do papel de filtro.

4.2. Bactérias em sementes

Com relação à metodologia empregada para a detecção de bactérias em sementes de caupi, as informações são escassas. De uma maneira geral, as sementes escolhidas ao acaso são semeadas em bandejas plásticas ou caixões de madeira, contendo solo esterilizado. As lesões típicas provocadas por bactérias fitopatogênicas aparecerão nas folhas primárias das plântulas durante dez a quatorze dias após o plantio. Para isolar os fitopatógenos bacterianos das lesões, deve-se escolher a lesão mais nova disponível, preferivelmente a que apresenta um fluxo bacteriano abundante. A seguir, realiza-se o procedimento de isolamento de bactérias em placas de Petri contendo meio de cultura de ágar nutriente ou de nutriente-dextrose-ágar. Após obtenção de culturas puras, efetua-se a identificação de bactérias isoladas das amostras de sementes.

4.3. Vírus em sementes

Para detecção de vírus em sementes de caupi, podem ser empregados vários métodos.

Plantio direto complementado com sorologia

Oitocentas a mil sementes selecionadas ao acaso são semeadas em bandejas plásticas ou caixões de madeira, contendo solo esterilizado em casa telda. Duas semanas após a semeadura, realiza-se um desbaste, arrancando-se todas as plântulas bem desenvolvidas e sem nenhum sintoma aparente de infecção viral. Após um período adicional de dez dias, as plantas restantes são testadas pelo teste sorológico de dupla difusão em ágar e agrupadas nas seguintes categorias: a) plantas, aparentemente, sadias; b) plantas com suspeitas de infecção viral e c) plantas com sintomas de infecção viral.

A seiva das plantas (antígenos) a serem testadas e os anti-soros são colocados em arranjos hexagonais, nos quais os orifícios centrais são reservados aos anti-soros e os orifícios externos aos antígenos. Para os testes com os potyvírus, o meio de ágar deve ser preparado com 0,85% de ágar nobre, 1,0% de NaN_3 e 0,5% de dodecil sulfato de sódio (SDS), enquanto que os testes para os comovírus são realizados em meio de ágar contendo 0,6% de ágar nobre, 0,86% NaCl e 0,05% de NaN_3 .

Sorologia com discos de hipocótilos de sementes germinadas

As sementes escolhidas por acaso são desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante dez minutos. Após esse tratamento, as sementes são lavadas duas vezes em água esterilizada, distribuídas sobre duas folhas de papel de filtro ("germ test") umedecida, medindo 39 x 28 cm, e, posteriormente, cobertas com uma única folha de papel do mesmo tamanho. Em seguida, as três folhas são dobradas dois centímetros ao longo da maior dimensão e enroladas em sentido perpendicular. Os rolos de papel são colocados na vertical com a margem dobrada para baixo e incubados numa câmara com, praticamente, 100% de umidade relativa e temperatura alternada de 20°C/16 horas e 30°C/8 horas, durante cinco dias. Os hipocótilos devem ser cortados individualmente em discos, com espessura de 1 a 2 mm, com auxílio de lâminas de barbear. Os discos são testados individualmente pela técnica sorológica, que envolve o teste de dupla ou de simples difusão em ágar. No último teste, os anticorpos são incorporados diretamente, no meio de ágar, a sua preparação.

Sorologia de extratos de hipocótilos de sementes germinadas

Este método é basicamente semelhante ao citado anteriormente. Em lugar de discos, extratos de hipocótilos de plantas podem ser submetidos a teste sorológico de dupla ou de simples difusão em ágar.

Sorologia de microscopia eletrônica

A técnica consiste em se revestir telinhas de cobre cobertas com filme de Parlodion, com anti-soros específicos para vírus de caupi. Os anti-soros utilizados são diluídos em tampão de 0,05 M de TRIS, pH 7,2 na proporção de 1:100 e 1:1000. As telinhas contendo os anti-soros são lavadas com 0,05 M de TRIS e, a seguir, tratadas com extratos obtidos das amostras de semente de caupi. Depois, são lavadas com solução tamponada e água destilada e coradas com 1,0% de acetato de uranila, preparado em 50% de ethanol. As telinhas são lavadas mais uma vez com 50% de ethanol, e secadas, antes de serem observadas no microscópio eletrônico.

5. CONCLUSÕES

Com respeito às metodologias empregadas para a detecção de fungos em sementes de caupi, os procedimentos não têm sido padronizados. Os trabalhos com relação às bactérias fitopatogênicas ou saprófitas são escassos. Para a detecção de vírus transmitido por sementes, poucos laboratórios de sementes estão equipados para realizar os testes sanitários. De uma maneira geral, é necessário padronizar os métodos de detecção de fungos, bactérias e vírus em sementes de caupi, com níveis de tolerância de infecção.

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN, D.J. The pathology of tropical food legumes: disease resistance in crop improvement. Chichester, J. Wiley, 1983. 413 p. 11..
- ARAÚJO, E. Diagnóstico de patologia de sementes de caupi. *Vigna unguiculata* (L.) walf, no Brasil. R. Bras. Sementes, Brasília, 7(1): 91-103, 1985.
- BARROS, S.T. de; SILVA, I.S. & MENEZES, M. Influência de fungicidas no controle de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Scrib., inoculado artificialmente em sementes de feijão macassar, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., cultivar alagoano. Fitopatol. Bras., Brasília, 6(1):465-8, 1981.
- BATISTA, M. de F. Fungos associados a sementes de caupi. IPEAN v. 69. Manaus, EMBRAPA-UEPAE de Manaus, 1981, 2 p.(EMBRAPA-UEPAE de Manaus . Pesquisa em andamento, 22).
- BOLKAN, H.A.; COSTA, C.L. & FERREIRA, R.C. Fungos isolados de 43 variedades de feijoeiro e *Vigna* cultivadas em vários estados do Brasil. Fitopatol. Bras., Brasília, 3(1): 77-8, 1978.
- CHODHURY, M.M. Detecção e controle químico de *Macrophomina phaseolina* nas sementes de caupi, In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 2, Recife, PE, 1981. Resumos dos trabalhos técnicos. Brasília, ABRATES, 1981. p.45.
- CHODHURY, M.M. Situação atual e potencialidade de produção de sementes de alta qualidade sanitária em regiões árida e semi-árida brasileiras. R. Bras. Sementes, Brasília, 7(2): 21-31, 1985.
- EMECHERE, A.M. & MEDONALD, D. Seed-borne pathogenic fungi and bacteria of cowpea in Northern Nigeria. PANS, 25(4): 401-4, 1979.
- LIMA, J.A.A. Teste sorológico para identificação de vírus de leguminosas. Fitopatol. Bras.. Brasília, 4(3): 215-25, 1979.
- LIMA, J.A.A.; OLIVEIRA, F.M.W.; KITAJIMA, E.W. & LIMA, M.G.A. Propriedades biológicas e sorológicas de um potyvirus isolado de feijão de corda no Ceará. Fitopatol. Bras., 6(2): 205-16, 1981.

- LIN, M.T.; SANTOS, A. & KITAJIMA, W.A. Host reactions and transmission of two seed-borne cowpea viruses, from Central Brasil. Fitopatol. Bras., Brasília, 6(2): 193-203, 1981.
- NEERGAARD, P. Seed pathology 2. ed. London, The MacMillan Press, 1979. 1191 p.
- PRASANNA, K.P.R. Seed health testing of cowpea with special reference to anthracnose caused by *Colletotrichum lindemuthianum*. Seed Sci. Technol., Zurich, 13(3): 821-7, 1985.
- RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed borne diseases. London, CMI/ISTA, 1979. 320 p.
- SHEGHAWAT, G.S. & PATEL, P.N. Seed transmission and spread of bacterial blight of cowpea and leaf spot of green gram in summer and monsoon seasons. Plant Dis. Rep., Beltsville, 61(5): 390-2, 1977.
- SILVEIRA, L.F.S. & LIMA, J.A.A. Identificação de "cowpea aphid - borne mosaic vírus" e "cucumber mosaic vírus" em sementes de caupi comercializadas no Estado do Ceará. Fitopatol. Bras., Brasília, 11(2): 369, 1986. Resumo.
- SINGH, S.R. & ALLEN, D.J. Cowpea pests and diseases. Ibadan, ISTA, 1979. 113 p. il. (Manual Series, 2).
- SINHA, O.K. & KHARE, M.N. Seed-borne fungi of cowpea and their significance. Indian Phytopathol., New Delhi, 30(4): 469-72, 1977.
- SURYANARAYANA, D. Seed pathology. New Delhi, Vikas Publishing House Pvt Ltd, 1978, 111 p.

Anexo I - Relação de microorganismos isolados das sementes de caupi, em diversos países onde esta cultura é explorada.

Fungos	Países	Fungos	Países
<i>Ascidia</i> spp.	Brasil	<i>Cladosporium vigneae</i>	Estados Unidos
<i>Alternaria alternata</i>	Brasil	<i>Cochliobolus heterostrophus</i>	Índia
<i>Alternaria raphani</i>	Brasil	<i>Colletotrichum capsici</i>	Nigéria
<i>Alternaria</i> sp.	Brasil, Porto Rico	<i>Colletotrichum dematium</i>	Brasil
<i>Alternaria tenuissima</i>	Brasil	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ..	Brasil
<i>Ascochyta phaseolorum</i>	Rodesia	<i>Colletotrichum graminicola</i>	Brasil
<i>Ascochyta</i> spp.	Brasil, Nigéria	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> ..	Brasil, Nigéria
<i>Aspergillus efesus</i>	Brasil	<i>Colletotrichum truncatum</i>	Nigéria
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	Brasil	<i>Conyospora cassicola</i>	
<i>Aspergillus flavus</i>	Brasil, Índia	<i>Curvularia eragrostidis</i>	Brasil
<i>Aspergillus niger</i>	Brasil, Índia	<i>Curvularia lunata</i>	Brasil
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Brasil	<i>Curvularia senegalensis</i>	Brasil
<i>Aspergillus oryzae</i>	Brasil	<i>Curvularia</i> spp.	Brasil
<i>Aspergillus tamaris</i>	Brasil	<i>Curvularia verruculosa</i>	Índia
<i>Aspergillus repens</i>	Brasil	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	Índia
<i>Aspergillus</i> spp.	Brasil	<i>Diplodia</i> sp.	Brasil
<i>Aspergillus sydowii</i>	Brasil	<i>Diplodina</i> sp.	Brasil
<i>Aspergillus terreus</i>	Índia	<i>Drechslera hawaiiensis</i>	Índia
<i>Aspergillus versicolor</i>	Brasil	<i>Drechslera</i> spp.	Brasil
<i>Botrytis cinerea</i>	Índia	<i>Epicoecum</i> sp.	Brasil
<i>Botrytis</i> spp.	Brasil	<i>Fusarium concolor</i>	Índia
<i>Botryodiplodia</i> sp.	Brasil	<i>Fusarium equiseti</i>	Brasil, Índia
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	Brasil, Costa Rica	<i>Fusarium oxysporum</i>	Índia
<i>Cacumisporium</i> sp.	Índia	<i>Fusarium moniliforme</i>	Brasil, Índia
<i>Candida</i> sp.	Brasil	<i>Fusarium moniliforme</i> f.sp.	
<i>Cephalosporium</i> spp.	Índia	<i>subglutinans</i>	Brasil
<i>Cercospora canescens</i>	Nigéria	<i>Fusarium oxysporum</i>	Brasil, Nigéria
<i>Cercospora</i> spp.	Brasil	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.	
<i>Chaetomium</i> sp.	Brasil, Índia	<i>phaseoli</i>	Brasil
<i>Chlamydomyces</i> sp.	Brasil	<i>Fusarium roseum</i>	Brasil
<i>Cladosporium</i> spp.	Brasil, Porto Rico	<i>Fusarium roseum</i> f.sp.	
		<i>anthrosporivides</i>	Brasil

Continua

Anexo I - Continuação

<u>Fungos</u>	<u>Países</u>	<u>Fungos</u>	<u>Países</u>
<i>Fusarium roseum</i> f.sp.		<i>Penicillium</i> spp.	Brasil, Índia
<i>avenaceum</i>	Brasil	<i>Penicillium steckii</i>	Brasil
<i>Fusarium roseum</i> f.sp.		<i>Pestalotia mangifera</i>	Índia
<i>graminearum</i>	Brasil	<i>Pestalotia</i> sp.	Brasil
<i>Fusarium semitectum</i>	Brasil, Porto Rico	<i>Phoma bakeriana</i>	Índia
<i>Fusarium solani</i>	Brasil, Nigéria	<i>Phoma</i> spp.	Brasil
<i>Fusarium</i> spp.	Brasil	<i>Phomopsis sojae</i>	Brasil
<i>Fusarium tracheiphilum</i>	Estados Unidos	<i>Phomopsis</i> spp.	Brasil, Porto Rico
<i>Gliocladium roseum</i>	Brasil	<i>Pithomyces</i> sp.	Brasil, Índia
<i>Gliocladium</i> sp.	Brasil	<i>Pleospora infectoria</i>	Índia
<i>Helminthosporium</i> sp.	Brasil	<i>Pseudocercospora cruenta</i>	
<i>Heterosporium</i> sp.	Brasil	<i>Rhizoctonia bataticola</i>	Índia
<i>Lasioidiploia theobromae</i> ..	Porto Rico	<i>Rhizoctonia solani</i>	Brasil, Nigéria, Senegal
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Brasil, Nigéria, Costa Rica, Índia, Estados Unidos	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Brasil
<i>Memnoniella</i> sp.	Brasil, Índia	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Brasil, Índia
<i>Mumilia</i> sp.	Brasil	<i>Rhizopus conii</i>	Brasil
<i>Mucor</i> spp.	Brasil	<i>Rhizopus nigricans</i>	Brasil
<i>Myrothecium leucotrichum</i>	Índia	<i>Rhizopus nodosus</i>	Brasil
<i>Myrothecium noronhai</i>	Índia	<i>Rhizopus</i> sp.	Brasil, Costa Rica
<i>Myrothecium verrucaria</i>	Nepal	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Brasil
<i>Nigrospora</i> spp.	Brasil, Índia	<i>Septoria vignae</i>	Nigéria
<i>Paecilomyces</i> sp.	Brasil	<i>Stachybotrys</i> sp.	Índia
<i>Populasporea</i> sp.	Brasil, Costa Rica	<i>Stachylidium</i> sp.	Brasil
<i>Penicillium brevi-</i>		<i>Stilbum</i> sp.	Brasil
<i>-compactum</i>	Brasil	<i>Syncephalastrum racemosum</i> ..	Índia
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Brasil	<i>Torula</i> sp.	Brasil
<i>Penicillium crustosum</i>	Índia	<i>Trichoderma</i> sp.	Brasil
<i>Penicillium frequentans</i>	Brasil	<i>Trichoderma viride</i>	Brasil
<i>Penicillium notatum</i>	Costa Rica	<i>Trichotecium roseum</i>	Brasil
<i>Penicillium raistrickii</i>	Costa Rica	<i>Ulocladium chartarum</i>	Índia
<i>Penicillium rubrum</i>	Brasil, Índia	Bactérias	
		<i>Pseudomonas syringae</i>	Estados Unidos
		<i>Xanthomonas campestris</i>	
		pv. <i>vignicola</i>	Nigéria, Brasil, Índia

CAPÍTULO XVII

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE ESSÊNCIAS FLORESTAIS

Jane Silveira Carneiro⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

O estudo das essências florestais nativas ou exóticas adaptadas à região, quer sejam frutíferas silvestres ou madeiras nobres, é de grande importância para a Silvicultura, visto que as sementes de alto valor (espécies que serão utilizadas como matéria na fabricação de papel de celulose) permitem um aumento do potencial de plantação e uma redução nos custos de implantação.

Apesar do conhecimento que se tem sobre perdas de produtividade e de qualidade de madeiras em algumas essências florestais exóticas, devido a problemas de etiologia infecciosa, é grande a escassez de informações sobre a metodologia de análise de suas sementes, especialmente em nosso país, visando uma avaliação qualitativa das mesmas. Em relação às espécies florestais nativas, praticamente, não se têm relatos na literatura.

Este fato deve-se, provavelmente, à existência de poucas doenças observadas nessas culturas, até o momento.

Pouco se conhece sobre perdas econômicas significativas devido à presença de patógenos transmitidos por sementes em essências florestais. Essências exóticas como Pinus, Eucalipto e Acácia-negra, de maior interesse econômico, têm apresentado poucos problemas de sanidade de semente.

2. PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS EM ESSÊNCIAS FLORESTAIS NO BRASIL E EXTERIOR

Os maiores problemas ligados a doenças ocorrem durante a germinação de sementes e formação de mudas nos viveiros pelo uso de uma tecnologia inadequada. Porém, poucas são as doenças de maior importância.

(1) Eng^o Agr^o, Mestre, IBDF/CENARGEN/EMBRAPA, SAIN-L4-DPq.
70.770 - Brasília-DF.

"Damping-off" - Entre as doenças mais conhecidas destaca-se o "damping-off" que é uma enfermidade comum nestas culturas. Em coníferas, os patógenos mais importantes associados a esta doença são os fungos dos gêneros *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Cylindrocladium*, *Sclerotium* e, esporadicamente, *Botrytis* e *Curvularia*, sendo que estes dois últimos causam danos eventuais. O "damping-off" afeta tanto as sementes no período de germinação, destruindo-as ("damping-off" de pré-emergência), como as plântulas recém-emergidas ("damping-off" de pós-emergência).

Sintomatologia: Na sintomatologia é verificada a presença de lesões na região do colo da mudinha, de aspecto encharcado inicialmente, depois, adquirindo coloração escura resultante da degeneração dos tecidos. A destruição dos tecidos provoca tombamento e morte da mudinha. Como sintomas secundários, destacam-se a murcha, enrolamento e seca dos cotilédones e das primeiras folhas verdadeiras, quando as mudas conseguem sobreviver ao ataque destes microrganismos.

Controle: O tratamento químico das sementes, apesar de ser uma técnica fácil e não muito dispendiosa, na realidade, pouco contribui para o controle do "damping-off" de pós-emergência, visto que sementes transportam pequena quantidade destes produtos em sua superfície e, normalmente estes são perdidos no solo. Recomenda-se o uso de um sistema de peletização das sementes ou pré-tratamento das sementes com fungicidas sistêmicos.

"Die-Back" - Além do "damping-off", outra doença conhecida em sementes de coníferas é o "die-back" provocado por fungos como *Cylindrocladium brasiliensis* (Batista & Ciferri) Feerally, *Diplodia pinea* (Desm.) Kirck, *Botryodiplodia pinea* (Desm.) e *Fusarium* spp.. Estes patógenos têm sido encontrados associados a sementes de várias espécies de Pinus e Eucalipto.

Sintomatologia: No "die-back" ocorre declínio geral da mudinha, necrose do sistema radicular, iniciando-se pelas raízes mais novas e tenras, seca e morte da plântula em sementeira.

Controle: O controle químico é feito de forma preventiva, através do uso de fungicidas sistêmicos. Outra forma de se controlar a doença é através do uso de variedades resistentes e utilização de sementes sadias

para plantio. Para controle de *Cylindrocyladium* spp. os sistêmicos Benlate , Tecto e Syccosin têm se destacado.

Outras doenças: Além destas duas doenças abordadas ocorrem ou tras de menor relevância como é o caso de podridão-do-topo e morte de acicu las em mudas de Pinus em sementeiras, atribuídas aos fungos *Helminthosporium sativum* Parm. e *Ascohyta piniperda* Lind.. O fungo *Pestalotia* sp. causa uma doença conhecida como "needle cast", em pináceas.

Insucessos na produção de mudas de coníferas ocorrem, devido à desfolhação e curvatura dos ponteiros provocados por *Alternaria tenuis* Auct.

A diminuição no poder germinativo e a podridão de sementes podem estar relacionadas à presença de patógenos como *Phoma* sp., *Phomopsis* sp. , *Trichotecium* sp. e *Geniculodendron pyrilorum* Salt., como já foi verificado em *Larix* spp., *Picea* spp. e *Pinus* spp. em países de clima temperado.

As sementes infectadas pelo fungo *Geniculodendron pyrilorum* Salt. são facilmente separadas das normais e viáveis pelo fato de este patógeno causar descoloração azulada no tegumento e no endosperma da semente.

Controle: De modo geral, o tratamento das sementes é feito com Dithane M-45, Captan ou Thiran.

3. ESTUDOS COM ESSÊNCIAS FLORESTAIS NATIVAS E EXÓTICAS NO BRASIL

Devido à necessidade de ampliação da área coberta por florestas, para fins de exploração comercial das essências, tem-se observado maior in teresse em relação às espécies nativas brasileiras. Porém, alguns fracassos ocorreram pelo desconhecimento ou falta de informações sobre problemas na formação de mudas. Para se obter uma boa muda, é necessário conhecer a sani dade e qualidade da semente utilizada. Para o melhor conhecimento destas cul turas o Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEN/EMBRAPA) vem reali zando testes de sanidade com espécies nativas e exóticas provenientes de di versos locais do Brasil.

3.1. Métodos de detecção de patógenos

Os métodos presentemente utilizados correspondem aos descritos pela Associação Internacional de Análise de Sementes ("Internacional Seed Testing Association" - ISTA).

Para os testes de sanidade, foram escolhidas, ao acaso, quatro centos (400) sementes de cada um dos gêneros e espécies estudadas (Quadro 1). Para a detecção de fungos associados internamente às sementes das espécies *Manihara bella* Monack e *M. huberi* (Ducke) Standt, as mesmas foram quebradas em prensas, a fim de apresentarem melhores resultados na análise. Das sementes de *Vochysia maxima* Ducke e *Tabebuia* sp., retiraram-se as expansões ali-formes para diminuir a porcentagem de contaminantes superficiais.

Exame direto: As amostras foram examinadas a olho nu e com auxílio de um microscópio estereoscópico. Os fungos foram identificados em microscópio com aumento de até 40 vezes de magnitude.

Método de papel de filtro ("blotter test"): Neste método, foram utilizadas caixas de plástico, com tamanho de 11 cm x 11 cm, previamente desinfetadas com álcool a 70% e onde foram colocadas duas folhas de papel de filtro (esterilizadas em autoclave por 15 minutos a 127°C) e umedecidas em água destilada. As sementes foram depositadas sobre o papel de filtro (em média 20/25 sementes/caixa - dependendo da espécie) separadas entre si, de pelo menos 2 cm e, em seguida, as caixas foram colocadas em incubador com temperatura controlada de 20°C e 28°C. Este teste foi realizado com oito e dez repetições. O período de incubação foi de até dez dias, havendo alternância de luz e escuro por ciclos de doze horas. Utilizaram-se lâmpadas de luz negra a 40 cm das caixas, visando a melhor esporulação de alguns fungos. A identificação dos microorganismos foi feita com o auxílio de microscópio estereoscópico e microscópio (40 vezes magnitude).

Método de agar: No método de plaqueamento em agar, utilizou-se como meio nutriente o BDA (batata-dextrose-agar), em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. As sementes foram pré-tratadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 1% durante cinco minutos. Para as espécies de sementes grandes, plaquearam-se cinco sementes por placa de Petri, com 40 repetições, observando-se a distância mínima de 2 cm, enquanto que, para as espécies com sementes pequenas, a média foi de dez sementes por placa, com 20 repetições, incubando-se as placas por um período de até dez dias a 20°C e 28°C, com alternância de luz e escuro. A identificação foi realizada através das características morfológicas e culturais das colônias, com o auxílio de microscópio estereoscópico e microscópio. Os fungos foram classificados a nível de gênero e alguns, de espécies.

Quadro 1 - Importância das essências florestais e gêneros de fungos associados a suas sementes.

Procedência	Nome científico	Nome vulgar	Importância	Gêneros de fungos detectados em sementes
Espírito Santo	<i>Manihota bella</i>	Paraçu	Obras externas, vigas, pisos, tacos de assoalho, telas de estrutura de fábricas	<i>Curvularia</i> *, <i>Taichodema</i> *, <i>Monocillium</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Penicillium</i> *
Belém	<i>Manihota huberi</i>	Maçaranduba	Produção de latex (balata); frutos comestíveis.	<i>Taichodema</i> *, <i>Penicillium</i> *, <i>Aspergillus</i> *
Belém	<i>Cordia goeldiana</i>	Freijó	Fabricação de cororinha, móveis, pernianas, embarcações leves, tabuados, alizares, etc.	<i>Fusarium</i> *, <i>Alteanaria</i> *, <i>Curvularia</i> *, <i>Cephalosporium</i> *, <i>Epicoecum</i> *, <i>Pestalotia</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Penicillium</i> *
Pará	<i>Mezilaurus itauba</i>	Itauba amarela	Carpintaria, obras externas e dormentes, construção naval.	<i>Fusarium</i> *, <i>Phoma</i> *, <i>Cephalosporium</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Penicillium</i> *, <i>Taichodema</i> *
Pará	<i>Pseudobombax munguba</i>	Munguba	Lâminas médias para compensados e chapas de particuladas.	<i>Fusarium</i> *, <i>Phoma</i> *, <i>Macrophoma</i> *, <i>Curvularia</i> *, <i>Monocillium</i> *, <i>Penicillium</i> *, <i>Gibberella</i> *, <i>Cephalosporium</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Monilia</i> *
Manaus (INPA)	<i>Enteolobium entolobisiliquium</i>	Orelha de negro	Fabricação de canoas, ripado, tabuado ornamental (Paraguai).	<i>Botryodiplodia</i> *, <i>Aspergillus</i> *
Belém	<i>Cedrela odorata</i>	Cedro	Comércio, carpintaria, esquadria, moldura, construção naval, aeronautica, etc.	<i>Fusarium</i> *, <i>Botryodiplodia</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Phomopsis</i> *
Pará	<i>Gmelina ardens</i>	Gmelina	Celulose, papel	<i>Fusarium</i> *, <i>Macrophoma</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Penicillium</i> *, <i>Trichia</i> *, <i>Monilia</i> *
D. Federal	<i>Tabebeira</i> sp.	Ipê	Ornamental, construção pesada e estruturas externas, civis e navais, pontes, postes, quadros, palitos de fósforos, barcos, etc.	<i>Fusarium</i> *, <i>Curvularia</i> *, <i>Phoma</i> *, <i>Nigrospora</i> *, <i>Macrophoma</i> *, <i>Phoma</i> *, <i>Monocillium</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Cumulosporium</i> *
Pará	<i>Vochysia maxima</i>	Quaruba	Embarcações, caixotaria, pastade papel, carpintaria, esquadrias, etc.	<i>Botryodiplodia</i> *, <i>Taichodema</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Monilia</i> *, <i>Penicillium</i> *
INPA	<i>Jacarananda copaia</i>	Caroba	Arborização.	<i>Fusarium</i> *, <i>Curvularia</i> *, <i>Phoma</i> *, <i>Aspergillus</i> *, <i>Penicillium</i> *, <i>Pestalotia</i> *

Continua

Quadro 1 - Continuação

Procedência	Nome científico	Nome vulgar	Importância	Gêneros de fungos detectados em sementes
INPA	<i>Fayata</i> sp.	Tananqueira	Tanancos, lápis, pranchetas, violões, brinquedos, molduras, saltos de sapato, peças de armações para embarcações	<i>Phoma</i> *, <i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Rhizoctonia</i> *
Floresta Nacional do Tapajós	<i>Dagassa guianensis</i>	Tatajuba	Corante, exportação, frutos, cones tíveis, construção, carpintaria.	<i>Fusarium</i> *, <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i>
INPA	<i>Apulia leiocarpa</i>	Garapa	Construção, marcenaria, decoração de interior, vigas, postes, tacos, carrocerias de caminhão, etc..	<i>Alternaria</i> *, <i>Nigrospora</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Monilia</i>
Santa Catarina	<i>Pinus elliotti</i>	Pinheiro	Carpintaria, marcenaria, tabuados ripados, instrumentos musicais, tanhoaria, reflorestamento, etc..	<i>Botryodiplodia</i> *, <i>Pestalotia</i> *, <i>Penicillium</i> , <i>Verticillium</i>
Santa Catarina	<i>Pinus taeda</i>	Pinheiro	Construção civil, carpintaria, marcenaria, caixotaria, ripados, com pensados, reflorestamento, etc..	<i>Fusarium</i> *, <i>Alternaria</i> *, <i>Botryodiplodia</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Pestalotia</i> *, <i>Chaetomium</i>
Santa Catarina	<i>Eucalyptus viminalis</i>	Eucalipto	Reflorestamento, construção, papel, implementos agrícolas, moveis, em barcações, carvão, carpintaria, etc..	<i>Alternaria</i> *, <i>Cladosporium</i> , <i>Epicoccum</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Pestalotia</i> *, <i>Aspergillus</i> , <i>Camarosporium</i>

(*) Possíveis patógenos para essências florestais.

Os gêneros dos fungos detectados pelo método de papel de filtro foram: *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Phoma*, *Nigrospora*, *Cephalosporium*, *Macrophoma*, *Botrydiplodia*, *Monocillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Pericillium*, *Monilia*, *Taichoderma*, *Chaetomium*, *Torula*, *Gilmaniella* e *Rhizoctonia*.

Pelo método de plaqueamento em agar, diferenciaram-se do método anterior os seguintes gêneros: *Phomopsis*, *Epicoccum*, *Camarosporium*, *Montia*, *Staphylotrichum*.

De modo geral, o método de papel de filtro ("blotter test") apresentou maior porcentagem nos microorganismos detectados, porém, pelo método de plaqueamento em agar, verificou-se uma maior variabilidade entre os gêneros obtidos. Alguns fungos como *Botrydiplodia* sp., *Macrophoma* sp. e *Pestalotia* sp., desenvolveram-se melhor à temperatura de 28°C.

Dentre os gêneros de fungos detectados pelos métodos acima citados, destacam-se *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Alternaria*, *Phomopsis*, *Botrydiplodia*, *Pestalotia* e *Curvularia*, como possíveis patógenos a essências florestais. Além destes, o fungo *Aspergillus* spp. que produz toxinas prejudiciais ao homem e animais foi frequentemente encontrado nas sementes, juntamente com *Pericillium* spp. e *Rhizopus* spp., diminuindo, por vezes, o poder germinativo destas, em outros testes realizados.

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Como as sementes são veículos de disseminação de patógenos em áreas agrícolas ainda não existentes e servem como inóculo à propagação de novas doenças, é de grande importância que se conheça melhor a microflora associada às sementes destas culturas para minimizar futuros problemas.

A proteção de essências florestais das doenças é necessária, a fim de aumentar, no mercado, o volume de produção em termos de qualidade.

LITERATURA CITADA

- ANDERSON, R.; MISTRETTA, P.; MILLER, T.; AFFELTRANGER, C.; STARKEY, D. ; KNIGHTEN, J.; COVINGTON, S. & CENTRY, T. Occurrence of seed fungi from 37 Loblolly seedlots collected in 19 seed orchards. USA Forest Service. Southern Region. Forest Pest Management, Asheville, NC, Report, 83: 1-15. 8p.
- BLOOMBERG, W.J. The Occurrence of Endophytic Fungi in Douglas-Fir Seedlings and Seeds. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 44: 413-420, 1966.
- BLOOMBERG, W.J. Diseases of Douglas-Fir (*Pseudotsuga menziesii*) seeds during cone storage. Forest Science, 15(2): 176-181, 1969.
- GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T.; BALMER, E.; KMATI, H.; CARDOSO, C. & SALGADO, C.L. Manual de Fitopatologia: doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Ed. Ceres, 1968. 640 p.
- GRAHAM, H.J. & LINDERMAN, R.G. pathogenic Seedborne *Fusarium oxysporium* from Douglas-Fir. Plant Disease Reporter, Beltsville, 67(3): 323 - 325 , 1983.
- HOCKING, C. Fungi associated with damping-off and healthy pine seedlings and with seed in east African pine nurseries. Trans. Brit. Mycol. Soc. , London, 51(2): 221-226, 1968.
- KRUGNER, T.L. Principais doenças de *Eucalyptus* e *Pinus* no Brasil: uma análise da situação atual. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 6ª, Curitiba, 1984. Anais. Curitiba, EMBRAPA/URPFCS, 1984. p. 57-62.
- LASCA, C.C.; SAMPAIO, A.S.T. & CINTRA, A.F. Condições fitossanitárias de sementes importadas de *Pinus*. O Biológico, São Paulo, 37: 287-292, 1971.
- LASCA, C.; NOGUEIRA, E.M.C. & GUANABARA, P.B. Condições fitossanitárias de sementes de *Pinus elliotti* Engelm. produzidas no Estado de São Paulo. Summa Phytopathologica, Piracicaba, 4(1): 12, 1978.
- LINK, D. & COSTA, E.C. Alguns problemas fitossanitários em viveiros de essências florestais do Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 6ª, Curitiba, 1984. Anais. Curitiba, EMBRAPA/URPFCS, p. 51-54.

- MASON, G.C. & VAN ARSDELL, E.P. Fungi associated with *Pinus taeda* seed development. Plant disease Reporter, Beltsville, 62(10): 864-867, 1978.
- MITTAL, R.K. Studies on the mycoflora and its control on the seeds of some forest trees I. *Cedrus deodara*. Can. J. Bot., Ottawa, 61:197-201, 1983.
- MUCCI, E.S.F. & YOKOMIZO, S.N.K. Aspectos fitossanitários e de controle de doenças florestais. São Paulo, Instituto Florestal/SAA, 1979. p. 1-23. (Boletim Técnico 32).
- MUNIAL, R.J. & SHARMA, D.A. Mycoflora of conifer seeds. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 5(2): 145-148, 1975.
- PAWUK, W.H. Damping-off container grown long leaf pine seedlings by seed - borne *Fusaria*. Plant Disease Reporter, Beltsville, 62: 82-84, 1978.
- RICHARDSON, M.J. An Annotated List of Seed - Borne Disease. Surrey , Commonwealth Agricultural Bureaux, 1979. 320 p.
- RIZZINI, C.T. Árvores e madeiras úteis do Brasil. Manual de Dendrologia Brasileira. 2ª ed., São Paulo, Edgard Blücher Ltda., 1978. 320 p;
- VAARTAJA, O. Damping-off Pathogen in South Australian Nurseries. Phytopathology, Worcester, 57: 765-768, 1967.
- WICKLOW, N.C.H. & SKUJINS, J. Infection of Engelmann spruce seed by *Geri culdendron pyriforme* in Western North America. Mycologia, New York, 72: 406-410, 1980.
- WOODS, T.A.D.; FARRIS, H.S. & SUTHERLAND, R.J. Penetration of Sitka spruce seeds by the pathogenic fungus *Caloscypha fulgens*. Can. J. Bot., Ottawa , 60: 544-548, 1981.

CAPÍTULO XVIII

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO

José Roberto de Menezes⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

A determinação da qualidade sanitária de semente de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) envolve a identificação de fungos, bactérias e vírus. Fungos: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *Alternaria brassicae* (Schw) Wilts, *Alternaria* sp, *Ascochyta phaseolorum* Sacc., *Aspergillus* spp., *Botryodiplodia theobromae* Pat., *Botrytis cinerea* Pers., ex.fr., *Cercospora canescens*, Ellis & Martin, *Cercospora* sp, *Chaetomium* sp, *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link ex.fr., *Cladosporium* sp, *Colleotrichum dematium* (Pers. ex.fr.) Grove, *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) scrib, *Colleotrichum* sp, *Cosmosporea* sp, *Curvularia lunata* (Walker) Boedijn, *Curvularia intermedia* Boedijn, *Curvularia* sp, *Drechslera halodes* (Drechs) Subram e Jain, *Drechslera hawaiiensis* (Bugnicourt) Subram e Jain, *Drechslera ovata* (Drechs.) Richardson e Fraser, *Drechslera tetramera* (McKinney) Subram e Jain, *Drechslera* sp, *Epicoccum* sp, *Eurotium* sp, *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium moniliforme* Sheld, *Fusarium oxysporum* Schlecht ex. fr., *Fusarium semitectum* Wollenw, *Fusarium solani* (Mart) App & Wollenw, *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Isariopsis griseola* Sacc., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Gold, *Monilia* sp, *Mucor* sp, *Myrothecium roridum* Tode ex. fr., *Periconia* sp, *Pestalotia* sp, *Phoma* sp, *Phomopsis* sp, *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Rhizopus* sp, *Rosellinia* sp, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Sphacelia* sp, *Trichoderma* sp, *Trichothecium* sp, *Vesticillium* sp. Bactéria: *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. Vírus: Vírus: Mosaico comum do feijoeiro (FAID & WETZEL, 1987; LASCA, 1978; MENEZES, 1985; MENEZES et al., 1981; MENTEN, 1978; NOBLE & RICHARDSON, 1968 e TANAKA & DESLANDES, 1978).

(1) Engº Agrº, Dr., Pesquisador do Instituto Agronômico do Paraná IAPAR - Cx.Postal, 1331 - CEP: 86.001 - Londrina - Paraná.

No Brasil considerando os danos causados, os principais patógenos de semente de feijão são : *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Isariopsis griseola*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* e o vírus do mosaico comum do feijoeiro (CARDONA et al., 1982; COSTA, 1972; MOHAN et al., 1980 e VIEIRA, 1983).

2. PRINCIPAIS DOENÇAS TRANSMITIDAS ATRAVÉS DA SEMENTE DE FEIJÃO

2.1. Antracnose

A doença é causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. Está distribuída em todas as regiões produtoras, porém ocorre com maior severidade na região sul e partes alta da região central do Brasil. Sob condições climáticas de temperatura próximas de 20°C, alta umidade relativa com chuvas, o patógeno pode causar grandes prejuízos. O fungo ataca toda parte aérea da planta. As sementes infectadas apresentam lesões circulares, deprimidas e escuras. Nos testes de incubação a colônia do fungo pode ser identificada pelo crescimento de micélio marrom seguido por pontuações escuras e a formação de áreas cor de mel devido aos acérvulos. O fungo possui acérvulo com seta, conídios retos, cilíndricos, obtuso nos ápices e tamanho de 9.5 - 11.5 x 3.5 - 4.5 μ (KULSHRESTHIA et al., 1986 e SUTTON, 1980). Pode ser facilmente identificado através da observação visual, teste de papel de filtro e papel toalha, etc. As folhas afetadas apresentam pequenas manchas necróticas acompanhadas de clorose e tendem a curvar-se para baixo. O sintoma característico da doença são as lesões necróticas, marrom escura ou parda, observadas nas nervuras da face inferior da folha. No caule e pecíolo as lesões são deprimidas marrom escura de bordo amarelado e centro claro. Nas vagens as lesões são de forma circular, pardo escura, deprimidas, com bordos salientes e pardo avermelhado e centro rosado devido a esporulação do fungo. A semente infectada é a principal fonte inicial de inóculo da doença. O uso de semente sadia, variedade resistente, catação manual e o tratamento químico da semente e parte aérea são as principais medidas de controle.

2.2. Mancha angular

A doença é causada pelo fungo *Isariopsis griseola*. Está distribuída em toda as regiões produtoras, porém ocorre com maior intensidade na re

gião central e na região sul durante a safra da seca. A doença é favorecida por temperaturas amenas (18 - 25°C), períodos de alta umidade para infecção e condições secas para disseminação dos esporos. Tem sido observada com mais intensidade após o início de florescimento, mas pode ocorrer desde o estágio inicial da cultura. O patógeno não causa sintoma característico na semente, portanto para sua identificação recomenda-se o método de papel de filtro. As estruturas do fungo são observadas com maior frequência na região do Hiló. O fungo possui sinemata escuro, formado de conídiosporos individuais e conídios no ápice ou próximo dele; conídios escuro a pálido, com duas ou mais células, cilíndrico a obclavado e frequentemente curvado (ELLIS, 1971). Ataca toda a parte aérea da planta. Nas folhas cotiledonares causa lesões circulares a irregulares, porém nas folhas verdadeiras as lesões são angulares, delimitadas pelas nervuras e apresentam coloração parda a acinzentada devido a esporulação do fungo. Nas vagens as lesões são circulares, marrom ou marrom avermelhada. O patógeno é transmitido pela semente, porém sua importância é pouco conhecida. As principais medidas de controle são rotação de cultura, época de plantio, variedade resistente e controle químico.

2.3. Podridão radicular de *Rhizoctonia*

A doença também conhecida por tombamento é causada pelo fungo *Rhizoctonia solani*. Está distribuída em todas as regiões produtoras. Sob condições favoráveis o fungo causa podridão de semente, morte de plântulas e destruição do sistema radicular, dificultando a capacidade da planta de absorver nutriente e água. As sementes infectadas podem apresentar manchas deprimidas, marrom e serem parcialmente cobertas pelo micélio do fungo. Normalmente, as sementes infectadas não germinam e são destruídas pelo patógeno durante o período de incubação. O rápido crescimento micelial do fungo sobre a semente e substrato facilita a identificação do patógeno, todavia, pode contaminar as sementes vizinhas, tornando difícil quantificar a porcentagem de sementes infectadas. Pertence ao grupo "micélio sterília" portanto não produz esporos e tem como característica morfológica as ramificações em ângulo de 90° com pequena constrição no ponto de ramificação (ZAUENEYER & THOMAS, 1957). Pode ser identificado utilizando-se os testes de papel de filtro, papel toalha, ágar, etc. As raízes e a parte do caule imediatamente abaixo ou acima do solo, apresentam lesões avermelhadas, deprimidas, bem delimitadas e sob condições favoráveis, pode provocar a morte da plântula. O fungo

ataca várias culturas, sobrevive no solo por períodos prolongados e é transmitido por semente. Recomenda-se como medida de controle o uso de semente sadia, plantio em condições favoráveis para a rápida emergência das plântulas e catação e tratamento químico da semente.

2.4. Podridão radicular seca

A doença é causada pelo fungo *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*. Está distribuída em todas as regiões produtoras. As sementes infectadas não apresentam sintomas característicos, portanto para detectar a presença do patógeno recomenda-se o teste de papel de filtro, papel toalha, ágar ou 2-4-D. Após o período de incubação as sementes infectadas são cobertas com micélio do fungo, que normalmente apresenta aspecto cotonoso e se concentra sobre a mesma. O gênero *Fusarium* se caracteriza pela presença de macro conídios de forma fusóide com célula de pé. As principais características do *F. solani* são ausência de esporo em cadeia, presença de micro e macro conídios, formação de clamidosporos e presença de fialides longas (BOOK, 1971 e NATH et al., 1970). Os sintomas iniciam com descoloração da raiz principal, a qual progressivamente torna-se marrom e apresenta fissuras longitudinais. As raízes laterais são destruídas, podendo ocorrer formação de raízes secundárias acima da área lesionada. Sob condições seca ocorre desfolha e malformação da semente. Pode também afetar a parte aérea causando morte parcial ou total dos ramos, os quais secam e tornam-se alaranjados devido a esporulação do fungo. As principais medidas de controle são rotação de cultura com gramíneas, uso de semente sadia e tratamento químico da semente.

2.5. Murcha de Fusarium

A doença é causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*. Ocorre em todas as regiões produtoras, sendo que o nível de incidência, depende da porcentagem de infestação do solo e infecção da semente. As sementes infectadas não apresentam sintomas característicos. Para detectar a porcentagem de infecção na semente recomenda-se o teste de papel de filtro, papel toalha, ágar e 2-4-D. As colonias do fungo são semelhantes as de *F. solani*. A principal diferença entre as duas espécies é que em *F. solani*, as fialides são longas e em *F. oxysporum* elas são curtas (BOOK, 1971 e NATH et al., 1970). O patógeno coloniza o sistema vascular da planta, causando amarelimento e desfolha de baixo para cima. Com o avanço da doença as folhas

secam e caem. Além da descoloração interna do caule, sob condições de alta umidade as plantas severamente atacadas apresentam intensa esporulação do fungo nas hastes e ramos. O fungo é transmitido por semente e pode sobreviver no solo por vários anos. As principais medidas de controle são rotação de cultura, semente sadia e tratamento químico da semente.

2.6. Podridão cinzenta do caule

A doença é causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*. Ocorre em todas as regiões produtoras, porém é favorecida por condição de alta temperatura, baixa precipitação e solos compactados. Grande parte das sementes infectadas apresentam pontuações escuras no tegumento evidenciando a presença do patógeno. Estes sintomas são mais visíveis nas sementes infectadas, normalmente não germinam e são destruídas pelo fungo. O patógeno causa escurecimento das sementes e plântulas, cresce rapidamente no substrato (papel ou ágar), produz grande quantidade de esclerócios e pode contaminar as sementes vizinhas. As principais características morfológicas do fungo é a grande produção de micro escleródios (50 - 300µ) e picnídios (100 - 200µ de diâmetro) com esporos hialinos sem septos, retos, cilíndrico a fusiforme, paredes finas, lisas, tamanho 14 - 30 x 5 x 10 µ (SUTTON, 1980). Pode ser detectado pelos métodos de papel de filtro, papel toalha, ágar e 2-4-D. No caule os sintomas iniciam como lesões escuras que se evoluem para cinza, com pontuações escuras, devido a presença de escleródios e picnídios do fungo. As plantas doentes amarelecem, murcham e morrem precocemente. O fungo é transmitido pela semente, possui ampla faixa de hospedeiro e pode sobreviver no solo e resto de cultura por vários anos. Como medida de controle, sugere-se uso de semente sadia, rotação de cultura, descompactação do solo, catação manual e tratamento químico da semente.

2.7. Mofo branco ou murcha de Sclerotinia

A doença é causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Está amplamente disseminada, porém é mais importante em regiões frias e úmidas. Pode ser disseminada através das sementes, como contaminantes em forma de escleródios ou internamente como micélio dormente. Os escleródios são escuros, de forma e tamanho variável e podem ser identificados a olho nu. A porcentagem de infecção pode ser determinada através do teste de papel de filtro, in

cubando-se as sementes por um período de 10 a 15 dias. Este período é necessário para a formação dos escleródios, principal característica morfológica do fungo (ZAUMYER & THOMAS, 1957). As sementes infectadas normalmente não germinam e são cobertas pelo micélio do fungo de aspecto otonoso. O patógeno cresce rapidamente sobre a semente e substrato. A partir do décimo dia de incubação, surgem os escleródios inicialmente claros, tornando-se pretos após alguns dias. As principais medidas de controle são uso de semente e tratamento químico de semente e parte aérea.

2.8. Crestamento bacteriano comum

A doença é causada pela bactéria *Xanthomonas campestris phaseoli*. Está distribuída em todo o território nacional, porém os danos são mais severos sob condições de temperatura moderada a alta, chuvas frequentes intercaladas por períodos secos e muito orvalho. Os cotilédones apresentam manchas oleosas e amarelas. O patógeno pode ser detectado através do teste com plantas indicadoras (SAETTLER, 1971). Nas folhas os sintomas iniciam como pequenas manchas encharcadas, oleosas, verde escura e translúcidas. As lesões crescem de forma irregular, coalescem e a área necrosada, torna-se marrom, apresentando aspecto de crestamento ou requieira. A infecção no caule pode ser observada no primeiro nó acima do nó-cotiledonar, que adquire coloração avermelhada e finalmente quebra da planta na área necrosada. Nas vagens, causa inicialmente, pequenas manchas encharcadas e oleosas, que aumentam de tamanho, coalescem e causam podridão das áreas afetadas (MUIHAN et al., 1983). Como medida de controle, recomenda-se uso de semente sadia, variedade resistente, rotação de cultura e catação de semente.

2.9. Mosaico comum

A doença é causada pelo vírus do mosaico comum do feijoeiro, que pertence ao grupo Y da batata. Ocorre em todas as regiões produtoras. Possui grande potencial de danos, mas devido a resistência das cultivares recomendadas, é de pouca importância econômica. O vírus não causa sintoma característico na semente, mas pode ser detectado através dos testes de crescimento e plantas indicadoras (PHATAK, 1974 e MEERGAARD, 1979). Nas plantas, os sintomas variam de acordo com a temperatura, cultivar ou estirpe do vírus. O sintoma mais característico, são as áreas irregulares verde clara intercala

das por áreas verde escura. Quando o ataque for severo, pode formar bolhas, ou enrugamento ao longo das nervuras. Os folíolos tornam-se retorcidos e com o limbo enrolado para baixo (CARDONA et al., 1982; MOHAN et al., 1983). O uso de variedade resistente, semente sadia e controle químico dos vetores são as principais medidas de controle.

3. MÉTODOS DE DETECÇÃO NAS SEMENTES

Existem vários métodos para análise da qualidade sanitária da semente de feijão, os quais diferem quanto a sensibilidade, reprodutividade e exigem diferentes níveis de treinamentos e tipos de equipamentos. A escolha do teste irá depender do(s) patógeno(s), condições de trabalho e objetivos do teste (ISTA, 1976; NEERGAARD, 1979).

3.1. Teste sem incubação da semente

São teste rápidos, porém de menor precisão que os de incubação da semente.

Observação direta - As amostras são analisadas a olho nu e/ou com o auxílio de lupas, microscópio estereoscópico e microscópio comum. É utilizado para diagnóstico de doenças que causam sintomas na semente, formas estruturas de resistência (Sclerócios) ou possuem suas estruturas aderidas a semente. Exemplo: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, etc.

Lavagem das sementes - Consiste na imersão da amostra em água ou outro líquido e agitar vigorosamente por dez minutos. Esta operação objetiva remover a estrutura dos organismos aderidos à semente. O excesso de líquido pode ser removido por filtração, centrifugação ou evaporação. Utilizando-se microscópio comum, examina-se o material descartado para identificação e quantificação dos microorganismos presentes. Para uma determinação quantitativa, faz-se a contagem dos esporos no hemacytômetro e apresenta o resultado em número de esporos por grama de semente. A viabilidade dos patógenos poderá ser testada plaqueando-se as amostras em meio de cultura. Pode ser utilizado para constatação de *Alternaria* sp., *Colletotrichum lindemuthianum*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* spp., etc.

3.2. Método com incubação da semente

Após um período específico de incubação, que varia de acordo com o patógeno, metodologia e objetivo do teste, examina-se as amostras para identificar os microorganismos associados. Ver capítulo sobre Metodologia dos Testes de Sanidade de Sementes.

3.2.1. Teste de papel

O método de papel de filtro é o mais utilizado porque possibilita a identificação quantitativa dos principais fungos, é fácil de ser conduzido, possui baixo custo e fornece dados sobre a patogenicidade dos fungos. Apresenta muitas adaptações de acordo com os objetivos e facilidade locais.

Papel de filtro - As sementes, sem pré-tratamento para desinfecção superficial, são equidistantemente distribuídas a razão de 20 sementes por caixa plástica de 10,8 x 10,8 x 3,0 cm (gerbox), sobre três folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada e esterilizada. Deve-se manter a unidade durante todo o período de incubação. As sementes são incubadas em câmara com temperatura de 20 a 25°C e 12/12 horas de luz e obscuridade durante sete dias. A identificação dos fungos e a determinação da porcentagem de infecção deve ser realizada sete dias após a montagem, utilizando-se microscópio estereoscópico e microscópio comum.

Papel toalha - As sementes sem pré-tratamento para desinfecção superficial, são equidistantemente distribuídas sobre duas folhas de papel de filtro ("Germ test"), umedecido, medindo 38 x 28 cm e posteriormente cobertos com uma folha do mesmo tamanho. Em seguida as folhas são dobradas ao longo da maior dimensão e enroladas no sentido perpendicular a mesma. Os rolos de papel são colocados na vertical, com a margem dobrada para baixo e incubadas em câmaras com praticamente 100% de umidade relativa e temperatura alternada de 20°C/16 horas e 30°C/8 horas, durante cinco dias (MENEZES, et al., 1981).

As observações para germinação são feitas segundo a recomendação da I.S.T.A. (1976). Após o período de incubação, anota-se a porcentagem de germinação e o número de plântula aparentemente sadia. As plântulas anormais e/ou infectadas e as sementes, são incubadas em gerbox durante três dias. As condições de incubação e os procedimentos para identificação dos fungos são os mesmos utilizados para o método de papel de filtro.

Outros variantes utilizando-se papel ou outros substratos "2-4-Blotter", "Deep-Freezing Blotter", "Malte-Blotter" e método de ágar, podem ser utilizados com resultados satisfatórios (NEERGAARD, 1979).

3.2.2. Teste baseado no crescimento de plântulas e desenvolvimento de sintomas

O método tem como objetivo, a detecção dos patógenos que apresentem sintomas no hospedeiro durante o estágio de plântula, além de indicar o vigor e a porcentagem de germinação da semente. Os resultados são semelhantes aos obtidos a campo, sendo muito utilizado para testar sementes tratadas (NEERGAARD, 1979). Outros substratos tais como: areia, solo, vermiculita BDA e ME também podem ser utilizados. A seleção do substrato dependerá das facilidades locais e objetivos do teste.

3.2.3. Teste com plantas indicadoras

Consiste no crescimento de plantas saudáveis e posterior inoculação dos patógenos presentes na amostra em teste, durante o estágio de maior suscetibilidade do hospedeiro. Pode ser utilizado para mosaico comum do feijoeiro (PHATAK, 1974) e crestamento bacteriano comum causado por *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (COPELAND et al., 1975 e SAETTLER, 1975). As sementes são incubadas em água esterilizada por 24 horas, batidas em liquidificador com água esterilizada e a suspensão inoculada por aspersão ou fermento nas plântulas indicadoras, 10 dias após a emergência.

BIBLIOGRAFIA

- BOOTH, C. The genus *Fusarium*. Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute, 1971, 237 p.
- CARDONA, C.; FLOR, C.A.; MORALES, F.J. PASTOR CORRALES, M. Problemas de campo en los cultivos de frijol en América Latina. 2 ed. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1982.
- CHUAIPRASIT, C.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. The light factor in seed health testing. Seed Science and technology, Zurich, 2(4): 457-475, 1974.
- COPELAND, L.D.; ADAMS, M.W. & BELL, D.C. An Improved Seed Programme for maintaining disease - Free seed of field beans (*Phaseolus vulgaris*). Seed Science and Technology, Zurich, 3(3/4): 719-724, 1975.
- COSTA, A.S. Investigações sobre moléstias de feijoeiro no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FEIJÃO, 1. Viçosa, 1972. Anais. Viçosa, Minas Gerais, Universidade Federal de Viçosa, 1972. p. 305-311.
- ELLIS, M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute, 1971, 608 p.
- FAIAD, M.G.R. & WETZEL, M.M.V. das. Sobrevida de fungos em sementes de feijão armazenado. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 12(2): 153 1987 (Resumo).
- I.S.T.A. (International Seed Testing Association). Seed Health Testing Seed Science and Technology, Zurich, 4: 3-49, 1976.
- KULSHRESTHA, D.P.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Identification of Seed-borne species of *Colletotrichum*. Friesia, 11: 116-125, 1976.
- IASCA, C.C. Estudos sobre a flora fúngica de semente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). O Biológico, São Paulo, XLIV: 125-134, 1978.
- MENEZES, J.R. de. Diagnóstico da patologia de semente de feijão no Brasil Revista Brasileira de Sementes, Brasília, 7(1): 49-53, 1985.
- MENEZES, J.R. de; MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A. & SOUZA, G.L. Qualidade sanitária de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) no Estado do Paraná. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 6: 497-508, 1981.

- MENTEN, J.O.M. Sanidade, Germinação e vigor de semente de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Summa Phytopathologica, Piracicaba, 4: 105-110, 1978.
- MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A. & MENEZES, J.R. de. Doenças do feijoeiro no Estado do Paraná - Guia para identificação e controle. Londrina, Paraná, IAPAR, 1983, 56 p.
- MOHAN, S.K.; MENEZES, J.R. de & BIANCHINI, A. Doenças e seu controle. In: CULTURA DO FEIJÃO NO ESTADO DO PARANÁ. Londrina, Paraná, IAPAR, Circular 18, 1980, p. 47-53.
- NATH, R.; NEERGAARD, P. & MATHUR, S.B. Identification of *Fusarium* species on seeds as they occur in Blotter Test. Proc. Int. Seed Test Ass., Vollebekk, 35(1): 121-144, 1970.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. 1 ed. London, The MacMillan Press Ltd., 1979. V.I. B39 p.
- NOBLE, M. & RICHARDSON, M.J. An annotated list of Seed-borne Diseases. 2 ed., Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1968, 191 p.
- PHATAK, H.C. Seed-borne Plant Viruses: Identification and Diagnosis in Seed Health Testing. Seed Science and Technology, Zurich, 2(1): 3-155, 1974.
- SAETTLE, A.W. Seedling infection as an aid in identifying bean blight bacteria. Plant Disease Reporter, Beltsville, 55(8): 703-706, 1971.
- SUTTON, C.B. The coelomycetes, Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696 p.
- TANAKA, M.A.S. & DESLANDES, J.A. Principais fungos associados às sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em alguns municípios de Minas Gerais. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 3: 108, 1978. (Resumos).
- VIEIRA, C. Doenças do feijoeiro. Viçosa, Minas Gerais, Imprensa Universitária/UF Viçosa, 1983, 231 p.
- ZAUMEYER, W.S. & THOMAS, H.R. A monographic study of Bean Diseases and Methods for their control. Washington, U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1957. 255 p. (Tech. Bull. nº 868).

CAPÍTULO XIX

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE FORRAGEIRAS

Arailde Fontes Urban⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

A crescente importância das forrageiras cultivadas, na rentabilidade da pecuária, tem sido destacada em todos os países, inclusive no Brasil. Durante muito tempo, somente as plantas nativas eram usadas como forrageiras. Todavia, com o aumento dos rebanhos, e dada a incapacidade dessas plantas nativas de suprirem todas as necessidades nutritivas dos animais, surgiu um enorme interesse no cultivo de plantas forrageiras, sobretudo as leguminosas e gramíneas, como também, daquelas tidas como promissoras para esse fim.

As sementes são longamente utilizadas como órgãos de propagação e também são eficientes veículos de disseminação de fitopatógenos em campos agrícolas, sendo as principais fontes de inóculos de microrganismos. Como as sementes contribuem com aproximadamente 90% para a propagação das culturas, muitos fungos podem apresentar-se associados às mesmas, causando severos danos às culturas. Diversos são os danos causados por sementes infectadas ou contaminadas. Dentre eles, destacam-se:

1. redução da produtividade e da qualidade, quando as sementes são infectadas antes da colheita;
2. redução do stand, quando sementes infectadas são utilizadas no plantio;
3. as sementes infectadas servem como fonte de inóculo podendo iniciar uma epidemia sob condições favoráveis à ocorrência das doenças de plantas;

(1) Bióloga, MS., Pesquisadora do CETARGEN/EMBRAPA,
Caixa Postal:10.2372 - CEP: 70770 - Brasília-DF.

4. introdução de doenças numa região que está livre de ocorrência das mesmas;

5. as sementes altamente infectadas, embora tenham sido tratadas com fungicidas, podem disseminar doenças em outra área, uma vez que a eficiência dos fungicidas não pode ser considerada 100%.

O levantamento de fungos em sementes de forrageiras utilizadas como germoplasma inclui 27 gêneros de Leguminosae e 24 de Graminae, procedentes da Argentina, Austrália, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Estados Unidos, França, Índia, Israel, Itália, Moçambique, Nova Zelândia e Síria. Foram analisadas sementes de forrageiras da família Leguminosae pertencentes aos seguintes gêneros: *Acacia*, *Aeschynomene*, *Cajanus*, *Calopogonium*, *Crotalaria*, *Cassia*, *Centrosema*, *Dactylis*, *Desmodium*, *Dolicho Lab-Lab*, *Galactia*, *Indigofera*, *Lupinus*, *Lotus*, *Leucaena*, *Macropitilium*, *Medicago*, *Melilotus*, *Psoralea*, *Pueraria*, *Sesbania*, *Stylosanthes*, *Trifolium*, *Vigna*, *Vicia*, *Zizyphus* e *Zornia*. Da família Graminae, foram analisadas sementes dos seguintes gêneros: *Agropyron*, *Andropogon*, *Atriplex*, *Axonopus*, *Becheropsis*, *Brachiaria*, *Bromus*, *Cenchrus*, *Chloris*, *Cynodon*, *Dichanthium*, *Echinochloa*, *Festuca*, *Hemarthria*, *Hyparrhenia*, *Lolium*, *Melinis*, *Panicum*, *Paspalum*, *Phalaris*, *Pennisetum*, *Setaria*, *Sorghum* e *Tenodes*. Os gêneros acima relacionados são considerados os mais importantes em pastagens. No Anexo 1 encontra-se a relação das forrageiras introduzidas pelo CENARGEM/EMBRAPA de 1980 a 1985.

Um número elevado de microrganismos tem sido encontrado em sementes de forrageiras procedentes do Brasil ou de várias regiões do mundo.

Entre as doenças que atacam as sementes de forrageiras no Brasil, a literatura cita a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc.. No que se refere à leguminosa forrageira *Stylosanthes*, de origem brasileira, todas as variedades e cultivares sofrem severos danos depois da época de chuva, chegando até a morte por essa doença (SAKURAI, 1980) e manchas em grãos, causadas por *Phomomyces chararum* (Berk & Curt) M.B.Ellis. É relevante a constatação desse fungo pelo fato de ser ele conhecido como produtor de uma toxina que induz a eczema facial em ovinos, equínos e bovinos (AMARAL, 1976).

A importância dos patógenos transmitidos através das sementes é evidente, porém, existe falta de informações específicas sobre a qualida

de sanitária das sementes utilizadas atualmente pelos agricultores brasileiros. Para o desenvolvimento de medidas de controle, objetivando reduzir os prejuízos ocasionados pela baixa qualidade sanitária de sementes, é imprescindível o conhecimento da microflora associada às sementes.

2. MÉTODOS DE DETECÇÃO

As análises foram realizadas a partir de subamostras de germo plasma de forrageiras, analisadas durante o período de janeiro de 1980 a maio de 1985, procedentes de diferentes países, inclusive do Brasil.

Método do papel de filtro (blotter test) - Foram utilizadas, em média, 50 sementes de cada acesso. As sementes após terem sido tratadas assepticamente, foram semeadas em caixas plásticas de dimensões 12x12x4 cm, contendo três folhas de papel de filtro previamente embebidas em água destilada (25 sementes por caixa). As caixas foram conservadas à temperatura de 20°C, durante oito dias, em regime de alternância de luz negra (3000-4000 Å) e escuro, 12/12 horas. Após esse período, as sementes foram examinadas sob microscópio estereoscópico para identificação dos fungos. A identificação foi feita através de observações das características das colônias dos fungos, presença de frutificação e esporos em lâminas, com o auxílio de microscópio Wild Orthoplan, com um aumento de até 3000 vezes.

Método de plaqueamento em meio de cultura (BDA) - Uma média de cinco a dez sementes por placa (total de 25 sementes) foram colocadas em placas de petri contendo meio de batata-dextrose-agar, depois de tratadas com solução de hipoclorito de sódio (1% de cloro ativo), durante três minutos. Após a semeadura, as placas foram incubadas sob luz fluorescente contínua, à temperatura de 25-28°C durante oito dias. A detecção e identificação dos fungos foram feitas com base nas suas características culturais e morfológicas.

Método de exame direto - O material foi examinado diretamente sob microscópio estereoscópico, e os fungos identificados em microscópio, com aumento de até 3000 vezes.

3. FUNGOS DETECTADOS

No Anexo 2, estão relacionados os microrganismos encontrados em cada espécie, assim como a indicação do país de origem.

Todos os fungos presentes nestas amostras foram examinados e classificados a nível de gêneros e, em alguns casos, a nível de espécie. Os fungos identificados estão figurados de modo amplo; assim, não só aparecem os de importância econômica, como os saprófitas.

Os resultados apresentados no Anexo 2 indicam que numerosos patógenos estão presentes nas sementes.

Método de papel de filtro (Anexo 2) - A maior incidência de fungos ocorreu nos seguintes gêneros: *Centrosema*, *Stylosanthes*, *Setaria*, *Medicago*, *Cajanus*, *Trifolium*, *Chloris*, *Andropogon*, *Panicum*, *Pennisetum*, *Bracharia*, *Vicia* e *Acacia*.

Os principais organismos que ocorreram nas sementes foram: *Alternaria tenuis*, *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Phyllosticta* sp., *Helminthosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Pyrenochaeta* sp., *Rhizopus* sp. e *Aspergillus niger*. Fungos saprófitas como: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. e *Epicoccum* sp., foram encontrados com frequência nas amostras testadas. Embora estes fungos sejam considerados apenas contaminantes, podem afetar a viabilidade das sementes em condições de armazenamento.

Método de plaqueamento em meio de cultura (Anexo 2) - As maiores incidências de fungos ocorreram nos seguintes gêneros: *Stylosanthes*, *Setaria*, *Trifolium*, *Chloris*, *Pennisetum*, *Panicum* e *Vicia*.

Verificou-se que o método de BDA apresentou menor número de espécies de fungos do que o método de papel de filtro. Isto se deveu ao fato de que a quantidade de material recebido para análise foi pequena, havendo a necessidade de optar por um único método.

Os principais organismos que ocorreram nas sementes foram: *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Helminthosporium* sp., *Aspergillus*, *Thizopus* sp. e *Nigrospora* sp. Destes, apenas o *Helminthosporium* sp. causa danos consideráveis à viabilidade das sementes. Os demais são considerados fungos saprófitas ou parasitas secundários.

Método de exame direto - Apenas cinco germoplasmas foram examinados por esse método: *Lupinus* sp., *Calopogonium* sp., *Axonopus* sp., *Hemarthria* sp. e *Opuntia* sp. Deste último, examinou-se material de propagação vegetativa.

Os gêneros *Aspergillus* e *Cladosporium* foram encontrados em quase todas as amostras.

No Quadro do Anexo 3, estão citados os fungos considerados mais importantes economicamente, os sintomas que causam na semente e/ou sua transmissão por sementes, como também, a doença e os sintomas que causam na planta e o seu controle.

4. AFERIÇÃO DOS TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE FORRAGEIRAS

Os métodos aqui utilizados em testes de sanidade correspondem àqueles descritos pela Associação Internacional de Análise de Sementes (Internacional Seed Testing Association - ISTA). Observou-se que, embora os fungos em ambiente tropical esporulam em uma faixa de temperatura compreendida entre 25-30°C, as espécies fúngicas detectadas apresentam uma boa esporulação a uma temperatura de 20 e 28°C, pelos métodos de papel de filtro e plaqueamento em BDA, respectivamente.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Numerosos patógenos estão presentes nas sementes, as quais geralmente constituem um dos veículos mais importantes da disseminação de doenças a longa distância.

Grande parte dos fungos detectados são possíveis patógenos e a sua associação às sementes pode causar sérios problemas fitossanitários às pastagens, tais como queda da produção e qualidade das sementes e perda do poder germinativo, resultando em uma baixa população final.

As espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Pithomyces*, considerados fungos secundários, são comprovadamente toxicogênicos podendo causar sérias doenças em bovinos, equinos e ovinos (ANARAL, 1976).

BIBLIOGRAFIA

- AMARAL, R.E. de M. Ocorrência de fungo *Pithomyces chartarum* (Berk & Curt) M.B. Ellis em grãos de forrageiras no Brasil. Revista Sociedade Bras. de Fitopatologia, 9: 23-24, 1976.
- BARNETT, H.L. & HUNTER, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. 3 ed. Minnesota, Burgess Publishing Company, 1972. 241 p.
- CARDOSO, C.O.N.; CARDOSO, E.J.B.N.; TOLEDO, A.C.D. de; KIMATI, H. & SOAVE, J. Guia de fungicidas. São Paulo, Summa Phytopathologica, 1976. 209 p.
- CARDOSO, J.E. & VALENTIN, J.F. Ocorrência de antracnose em *Stylosanthes* spp. no Acre e comportamento do material genético introduzido em relação ao agente causal (*Colletotrichum gloeosporioides*). Fitopatologia Brasileira, Brasília, 7: 17-22, 1982.
- CHARYA, M.A.S. & REDDY, S.M. Toxic effect of *Fusarium oxysporum* on Seed germination and growth of mung (*Vigna radiata*). Indian Botanical Reporter, New Delhi, 1(2): 169-170, 1982.
- COSTA NETO, J.P. da. Lista de fungos sobre gramíneas (capinas e cereais) no Rio Grande do Sul. R. Fac. Agron. UFRGS, Porto Alegre, 1(2): 43-78, 1976.
- DAVIS, R.D. & IRWIN, J.A.G. Leaf lesions on *Stylosanthes guianensis* caused by *Curvularia eragrostidis* in North Queensland. Australasian Plant Pathology, 11(4): 59, 1982.
- ELLIS, M.A.; FERGUSON, J.E.; GROF, B. & SINCLAIR, J.B. Transmission of *Colletotrichum gloeosporioides* and effect of sulfuric acid scarification on internallyborne fungi in seeds of *stylosanthes* spp. Plant Dis. Repr., Beltsville, 60: 844-846, 1976.
- ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Index of plant disease in the United States. Washington, D.C., 1970. 531 p. (USDA. Agriculture Handbook, 165).
- FREIRE, F.C.O.; SERRÃO, E.A.S. & ALBUQUERQUE, F.C. Cárrie do sino, uma séria doença da panícula do capim colômbio. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 4(1): 111, 1979. (Resumo).

- GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P. de C.T. de; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N. & SALGADO, C.L. Manual de Fitopatologia: doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1968. 640 p.
- GRIFFITHS, B. & AMIN, S. Effects of *Botrytis fabae* infection and mechanical defoliation on seed field beans (*Vicia faba*). Ann. Appl. Biol., London, 86: 359-367, 1977.
- MUNGHATE, A.G. & RAUT, J.G. Efficacy of nine different fungicides against fungi frequently associated with sorghum seed. Pesticides, Bombay, 8:16-18, 1982.
- NAKAMURA, K. & GIMENES-FERNANDES, N. Avaliação da severidade da antracnose em alguns genótipos comerciais de sorgo. Científica, São Paulo, 10(1):135-139, 1982.
- NOBLE, M. & RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne disease. 2ed. Kew, Eng., Commonwealth Mycological Institute, 1968. 191 p.
- PEGG, G.F. & PARRY, D.W. Infection of lucerne (*Medicago sativa*) by *Fusarium* species. Ann. Appl. Biol., London, 103: 45-55, 1983.
- PETTIT, R.E. & TABER, R.A. Fungi involved in the deterioration of grain sorghum. M.P. Tex. Agric. Exp. STN, 1375: 32-41, 1978.
- PINHEIRO, J.M. & COSTA NETO, J.P. da. Identificação de organismos fúngicos em sementes de sorgo granífero. Agron. Sulriograndense, Porto Alegre, 15(1): 127-133, 1979.
- SAXENA, A.K.; JAIN, S.K. & SAKSENA, S.B. A note on new disease caused by *Alternaria alternata*. National Academy Science Letters, 4(7): 267, 1981.
- SIDDARAMAIAH, A.L.; DESAI, S.A. & HEGDE, R.K. The seed-borne nature of *Taraxacum roseum* Link, in *Dolichos Lab-lab*. Current Research, Bangalore, 10(8): 131-132, 1981.
- VIEGAS, A.P. Índice de fungos da América do Sul. Campinas, Instituto Agrônomo de Campinas, 1961. 961 p.

Anexo 1 - Relação das forrageiras introduzidas pelo CENARGEN e inspecionadas para análise micológicas no período de janeiro de 1980 até maio de 1985.

<u>Espécie</u>	<u>Família</u>	<u>Nome vulgar</u>
<i>Acacia albida</i>	Leguminosae	Acacia
<i>Aeschynomene</i> sp.	Leguminosae	
<i>Agropyron</i>	Gramineae	
<i>Andropogon gayanus</i>	Gramineae	Andropogon
<i>Atriplex</i> sp.	Gramineae	
<i>Axonopus compressus</i>	Gramineae	Grana tapete
<i>Beckeropsis wisera</i>	Gramineae	
<i>Brachiaria</i> spp.	Gramineae	Brachiaria
<i>Bromus</i>	Gramineae	
<i>Cajanus cajan</i>	Leguminosae	Guandu
<i>Calopogonium</i> sp.	Leguminosae	Calopogônio
<i>Cassia</i> sp.	Leguminosae	
<i>Cenchrus</i> sp.	Gramineae	Capim buffel
<i>Centrosema</i> spp.	Leguminosae	Centrosema
<i>Crotalaria</i>	Leguminosae	Crotalaria
<i>Choris</i> sp.	Gramineae	Capim-de-rodas
<i>Cynodon Plectostachum</i>	Gramineae	
<i>Dactylis</i>	Leguminosae	
<i>Desmodium</i> spp.	Leguminosae	Desmódio
<i>Dichanthium annulatum</i>	Gramineae	
<i>Dolichos lab-lab</i>	Leguminosae	Lab-lab
<i>Echinochloa</i> sp.	Gramineae	
<i>Festuca</i> sp.	Gramineae	
<i>Galactia</i> sp.	Leguminosae	
<i>Hemarthria</i> sp.	Gramineae	
<i>Hyparrhenia diplandra</i>	Gramineae	
<i>Indigofera</i> sp.	Leguminosae	
<i>Lolium</i>	Gramineae	

Continua

Continuação - Anexo 1.

<u>Espécie</u>	<u>Família</u>	<u>Nome vulgar</u>
<i>Lupinus</i> sp.	Leguminosae	Tremoço
<i>Lulus</i>	Leguminosae	
<i>Leucaena leucocetala</i>	Leguminosae	Leucena
<i>Macroptilium</i> sp.	Leguminosae	
<i>Medicago</i> spp.	Leguminosae	Alfafa
<i>Melilotus</i> sp.	Leguminosae	
<i>Melinis minutiflora</i>	Gramineae	Capim-gordura ou Meloso
<i>Opuntia</i> sp.	Cactaceae	Palma-forrageira
<i>Panicum maximum</i>	Gramineae	Colonião
<i>Paspalum</i> spp.	Gramineae	
<i>Prosopis</i> sp.	Leguminosae	
<i>Pueraria</i> sp.	Leguminosae	
<i>Setaria</i> spp.	Gramineae	Setária
<i>Sesbania bispinosa</i>	Leguminosae	
<i>Sorghum</i> spp.	Gramineae	Sorgo
<i>Phalaris</i> sp.	Gramineae	
<i>Pennisetum</i> sp.	Gramineae	
<i>Setaria auceps</i>	Gramineae	Setária
<i>Sorghum Alburn</i>	Gramineae	Garavi, Sorgo-negro
<i>Stylosanthes</i> spp.	Leguminosae	
<i>Tenodes gigantea</i>	Gramineae	
<i>Trifolium</i> sp.	Leguminosae	Trevo
<i>Vigna unguiculata</i>	Leguminosae	Feijão-miúdo (caupi)
<i>Vicia</i> sp.	Leguminosae	
<i>Zizyphus rotundifolia</i>	Leguminosae	
<i>Zornia</i> spp.	Leguminosae	

Anexo 2 - Relação de fungos detectados em amostras de sementes de forrageiras pelos métodos de exame direto (=), papel de filtro, "blotter test", (+) e plaqueamento em meio de cultura, BDA, (Ø), durante o período de janeiro de 1980 a maio de 1985.

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
Acacia	Austrália	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+)
	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+)
<i>Aeschynomene</i>	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+)
<i>Agropyron</i>	Rússia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+)
<i>Andropogon</i>	Brasil	<i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Penicillium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pyrenochaeta</i> sp.(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+)
	Colômbia	<i>Aspergillus niger</i> (+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Trichoderma</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Fusarium oxysporum</i> (+), <i>Fusarium acuminatum</i> (=)
	Israel	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Cephalosporium</i> sp.(+)
<i>Axonopus</i>	Brasil	<i>Cladosporium</i> sp.*(=), <i>Penicillium</i> sp.*(+)
<i>Brachiaria</i>	Brasil	<i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pyrenochaeta</i> sp.(+), <i>Rhizopus</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+)
	Austrália	<i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Nigrospora</i> sp.(Ø)
	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+Ø), <i>Fusarium</i> sp.(+Ø), <i>Phyllosticta</i> sp.(+Ø), <i>Trichoderma</i> sp.*(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+Ø), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Fusarium oxysporum</i> (+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Trichothecium</i> (+), <i>Vorticillium</i> sp.(+), <i>Nigrospora</i> sp.(+), <i>Trichothecium roseum</i> (+), <i>Curvularia lunata</i> , sp. var. <i>aerea</i> (+)
<i>Bromus</i>	E.U.A.	<i>Phyllosticta</i> sp.(+)
	Nova Zelândia	<i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+)

Continua

Continuação - Anexo 2.

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
<i>Cajanus</i>	Costa Rica	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Phomopsis</i> sp.(+)
	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> * (0), <i>Aspergillus flavus</i> * (+), <i>Alternaria tenuis</i> (0+), <i>Fusarium</i> sp. (+), <i>Botrytis</i> sp. (0)
	Índia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Alternaria</i> sp.(+)
<i>Calopogonium</i>	Colômbia	<i>Cladosporium</i> sp.*(=), <i>Fusarium</i> sp.(=), <i>Phyllosticta</i> sp.(=), <i>Colletotrichum</i> sp.(=), <i>Alternaria</i> sp.(=), <i>Leptosphaeria</i> sp.(=), <i>Pyrenochaëta</i> sp.(=), <i>Dinemasporium</i> sp.*(=), <i>Phomopsis</i> sp.(=)
<i>Cassia</i>	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+)
<i>Cenchrus</i>	Brasil	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Fusarium</i> sp.(+)
	Itália	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+)
<i>Centrosema</i>	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Epicoccum</i> *(+), <i>Colletotrichum</i> sp.(+), <i>Fusarium oxysporum</i> (+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Phomopsis</i> sp.(+)
<i>Chloris</i>	Austrália	<i>Penicillium</i> sp.*(+0), <i>Aspergillus</i> sp.*(+0), <i>Aspergillus niger</i> * (0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+0), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Nigrospora</i> sp.(+), <i>Periconia</i> sp.*(+)
	Brasil	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> * (+)
<i>Crotalaria</i>	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> * (0), <i>Aspergillus flavus</i> (0+), <i>Alternaria tenuis</i> (0+), <i>Fusarium</i> sp. (0+), <i>Rhizoctonia solani</i> (0)
<i>Cynodon</i>	Brasil	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> sp. (+)

Continua

Continuação - Anexo 2

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
<i>Dactylis</i>	Austrália	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+)
	E.U.A.	<i>Alternaria tenuis</i> (+)
	Holanda	<i>Aspergillus niger</i> *(0), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Cephalosporium</i> sp.(+)
	Argentina	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+)
	Austrália	<i>Fusarium</i> sp.(0+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Nigrospora</i> sp.(+0)
	Brasil	<i>Penicillium</i> sp.*(+)
	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+)
<i>Dichanthium</i>	Brasil	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+)
<i>Echinochloa</i>	E.U.A.	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Trichoderma</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+)
<i>Festuca</i>	Holanda	<i>Aspergillus niger</i> *(0), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+)
	Portugal	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Chaetomium</i> sp.(+)
<i>Hemathria</i>	Brasil	<i>Fusarium</i> sp.(=), <i>Cladosporium</i> sp.*(=), <i>Epicoccum</i> sp.*(=), <i>Periconia</i> sp.*(=), <i>Curvularia</i> sp.(=), <i>Phyllosticta</i> sp.(=), <i>Nigrospora</i> sp.(=), <i>Basidiobotrys</i> sp.(=), <i>Pseudomicrocera</i> sp.(=)
<i>Hyparrhenia</i>	Brasil	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+)
<i>Indigofera</i>	Moçambique	<i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> (+), <i>Colletotrichum falcatum</i> (+), <i>Monilia</i> sp.(+)
<i>Lab-lab</i>	E.U.A.	<i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Fusarium</i> sp.(+)
<i>Leucaena</i>	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+)
	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+)
<i>Lolium</i>	Alemanha	<i>Alternaria</i> sp.(+0), <i>Nigrospora</i> sp.(0)

Continua

Continuação - Anexo 2.

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
<i>Lolium</i>	E.U.A.	<i>Helminthosporium</i> sp.(+)
	Austrália	<i>Cladosporium</i> sp. *(+), <i>Fusarium</i> sp. (+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp. *(+)
	Holanda	<i>Aspergillus flavus</i> *(0), <i>Aspergillus niger</i> * (0), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Alternaria</i> sp. (0), <i>Alternaria tenuis</i> (+0), <i>Fusarium equise- til</i> (+)
<i>Lotus</i>	E.U.A.	<i>Penicillium</i> sp. *(+), <i>Cladosporium</i> sp. *(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp. *(+)
	Portugal	<i>Penicillium</i> sp. *(+), <i>Epicoccum</i> sp. *(+)
<i>Lupinus</i>	Brasil	<i>Cladosporium</i> sp. *(=0), <i>Alternaria tenuis</i> (=), <i>Epicoccum</i> sp. *(0), <i>Helminthosporium</i> sp. (=), <i>Fusarium oxysporum</i> (=0), <i>Monilia</i> sp. *(0)
	E.U.A.	<i>Alternaria tenuis</i> (+)
<i>Macroptilium</i>	Austrália	<i>Penicillium</i> sp. *(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp. *(+)
	Brasil	<i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Fusarium</i> sp. (+), <i>Cladosporium</i> sp. *(+), <i>Monilia</i> sp. * (+), <i>Penicillium</i> sp. *(+0)
<i>Medicago</i>	Austrália	<i>Penicillium</i> sp. *(+), <i>Aspergillus</i> sp. *(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Cladosporium</i> sp. *(+), <i>Fusarium</i> sp. (+), <i>Phyllosticta</i> sp. (+), <i>Rhizopus</i> sp. *(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp. *(+), <i>Chaetomium</i> sp. *(+), <i>Fusarium oxysporum</i> (+)
	Brasil	<i>Fusarium</i> sp. (0), <i>Cladosporium</i> sp. *(+), <i>Penicillium</i> sp. (+), <i>Alternaria</i> sp. (+), <i>Aspergillus</i> sp. *(+), <i>Epicoccum</i> sp. *(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+)
	E.U.A.	<i>Penicillium</i> sp. *(+), <i>Fusarium</i> sp. (+), <i>Trichoderma</i> sp. (+)
<i>Melilotus</i>	Argentina	<i>Penicillium</i> sp. *(+0), <i>Aspergillus</i> sp. *(+), <i>Fusarium</i> sp. (0), <i>Epicoccum</i> sp. *(0)
<i>Melinis</i>	Brasil	<i>Penicillium</i> sp. *(+)
<i>Opuntia</i>	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> *(=), <i>Aspergillus flavus</i> * (=), <i>Rhizopus</i> sp. *(+), <i>Cladosporium</i> sp. *(+), <i>Alternaria tenuis</i> (=), <i>Fusarium</i> sp. (=), <i>Trichoderma</i> sp. (=), <i>Alternaria</i> sp. (=), <i>Curvularia</i> sp. (=), <i>Nigrospora</i> (=), <i>Fumago</i> sp. (=), <i>Verticillium</i> sp. (=), <i>Ascochyta</i> sp. (=), <i>Trichothecium</i> sp. (=), <i>Gloeosporium</i> sp. (=)

Continua

Continuação - Anexo 2.

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
Panícu	Brasil	<i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(=0), <i>Alternaria</i> sp.(+0), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (0), <i>Hendersonia</i> sp.(+), <i>Trichocanis</i> sp.(+), <i>Septoria</i> sp.(+), <i>Trichoderma</i> sp.(+), <i>Nigrospora</i> sp.(0), <i>Aspergillus niger</i> *(0), <i>Su-rosporum</i> sp.(+)
	Colômbia	<i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+)
	França	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Colletotrichum</i> sp.(+), <i>Ascochyta</i> sp.(+), <i>Pyrenochaeta</i> (+), <i>Melanospora</i> sp.(+), <i>Chaetophoma</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+)
Paspalum	Brasil	<i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+)
	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+)
	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Curvularia</i> sp. (+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Nigrospora</i> sp.(+), <i>Fumago</i> sp.(+)
Pennisetum	Brasil	<i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pyrenochaeta</i> sp.(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+)
	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Colletotrichum</i> sp.(+), <i>Fumago</i> sp.(+), <i>Verticillium</i> sp.(+)
	Índia	<i>Penicillium</i> sp.*(0), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Trichoderma</i> sp.(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Alternaria</i> sp.(+)

Continua

Continuação - Anexo 2

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
<i>Prosopis</i>	E.U.A.	<i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+)
<i>Pueraria</i>	Colômbia	<i>Aspergillus</i> sp.*(+)
<i>Sesbania</i>	Índia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Pestalotia</i> sp.(+)
<i>Setaria</i>	Brasil	<i>Fusarium</i> sp.(+0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+0), <i>Monilia</i> sp.(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+0), <i>Alternaria</i> sp.(+0), <i>Curvularia</i> sp.(0), <i>Helminthosporium</i> sp.(0+), <i>Pyrenochaeta</i> sp.(+), <i>Rhizopus</i> sp.(+), <i>Epicoccum</i> (+0), <i>Melanospora</i> sp.(+), <i>Nigrospora</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+)
<i>Sorghum</i>	Argentina	<i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Fusarium moniliforme</i> (+)
	Brasil	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+)
	E.U.A.	<i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Alternaria tenuis</i> (0+), <i>Fusarium</i> sp.(+0), <i>Botrytis</i> sp.(+), <i>Taichoderma</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Alternaria</i> sp.(+0), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Gonatobotrys</i> sp.*(+), <i>Sporospora</i> sp.(0), <i>Fusarium moniliforme</i> (+), <i>Nigrospora</i> sp.(+)
	França	<i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Colletotrichum</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium moniliforme</i> (+)
	Índia	<i>Penicillium</i> sp.(+0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+0), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+0), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Alternaria</i> sp.(+0), <i>Fusarium moniliforme</i> (+), <i>Macrophoma sorghicola</i> (+), <i>Nigrospora</i> sp.(+0), <i>Fusarium oxysporum</i> (0), <i>Chaetomium</i> sp.*(+0)
	Rússia	<i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Curvularia</i> sp.(+)
<i>Stylosanthes</i>	Brasil	<i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+0)

Continua

Continuação - Anexo 2.

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
<i>Stylosanthes</i>	Brasil	<i>Periconia</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp. (+), <i>Curvularia lunata</i> (+), <i>Phyllosticta</i> sp. (+), <i>Nigrospora</i> sp.(0), <i>Pithomyces chartarum</i> (+0), <i>Colletrichum</i> sp.(0+), <i>Agrostalagmus</i> sp. (0), <i>Tarchothecium</i> sp.(+), <i>Tubercularia</i> sp. (+), <i>Coinothyrium</i> sp.(+), <i>Pestalotia</i> sp.(+), <i>Chaetophoma</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+0), <i>Xylaria</i> sp.(0), <i>Nematospora</i> sp.(0), <i>Pleospora</i> sp.(+), <i>Nectria</i> sp.(0), <i>Trichoderma</i> sp.*(+)
	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Rhizopus</i> sp.(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+), <i>Aspergillus flavus</i> *(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Pithomyces chartarum</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Fusarium oxysporum</i> (+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+)
	Itália	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Chaetophoma</i> sp.(+)
<i>Timeda</i>	Brasil	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(+), <i>Curvularia</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+)
<i>Trifolium</i>	Argentina	<i>Penicillium</i> sp.*(+0), <i>Aspergillus</i> sp.*(0), <i>Aspergillus niger</i> * (0), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Alternaria</i> sp.(+0)
	E.U.A.	<i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+)
	Austrália	<i>Penicillium</i> sp.*(+0), <i>Aspergillus</i> sp.*(0), <i>Aspergillus niger</i> * (0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Phyllosticta</i> sp.(0+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+0), <i>Trichoderma</i> sp.(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Alternaria</i> sp.(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+), <i>Nigrospora</i> sp.(+), <i>Fusarium oxysporum</i> (+), <i>Cephalosporium</i> sp. (+), <i>Horvudendrum</i> sp.(+)
	Nova Zelândia	<i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Alternaria tenuis</i> (+), <i>Epicoccum</i> sp.*(+)
<i>Vicia</i>	Argentina	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Fusarium</i> sp.(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Alternaria</i> sp.(0), <i>Chaetophoma</i> sp.(0)
	Brasil	<i>Fusarium</i> sp.(+0), <i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.(+), <i>Rhizopus</i> sp.*(+), <i>Epi</i>

Continua

Continuação - Anexo 2.

Forrageira (Gênero)	País	Fungo (Gênero ou espécie)
Vicia	Brasil	<i>Coccium</i> sp.*(+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+0), <i>Aspergillus flavus</i> *(+0), <i>Pestalotia</i> sp.(+), <i>Verticillium</i> sp.(+), <i>Trichotecium roseum</i> (+).
	Síria	<i>Penicillium</i> sp.*(+0), <i>Aspergillus</i> sp.*(+0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus niger</i> *(+0), <i>Rhizopus</i> sp.(+0), <i>Epicoccum</i> sp.*(+)
	Itália	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+), <i>Fusarium</i> sp.(0), <i>Rhizopus</i> sp.*(+)
Zornia	Brasil	<i>Fusarium</i> sp. (+), <i>Penicillium</i> sp.*(+)
	Colômbia	<i>Penicillium</i> sp.*(+), <i>Aspergillus</i> sp.*(+0), <i>Cladosporium</i> sp.*(+), <i>Trichoderma</i> sp.*(+), <i>Helminthosporium</i> sp.(+), <i>Fusarium oxysporum</i> (+), <i>Chaetomium</i> sp.*(+)

* Fungo saprófita

Anexo 3.

Quadro - Relação de fungos potencialmente patogênicos associados a sementes de forrageiras: sinais e sintomas. Doenças, sintomas e controle na planta e semente.

Produto	Fungo	Sintomas na semente	Doença/Sintoma/Planta	Controle químico	
				Planta(1)	Semente
Acúcia	<i>Alternaria</i> sp.	Conidióforo e conídios de coloração marrom-escuro no tegumento da semente. Sintomas <u>na</u> semente.	Mancha de <i>Alternaria</i> . Lesões necróticas foliares	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos de coloração roséa.	Tombamento das mudinhas. Em secção transversal do caule ou da raiz, <u>se</u> de-se notar descoloração dos feixes vasculares, no caso de murcha.	Benomyl	Benomyl
Antipagum	<i>Alternaria</i> sp. <i>Phyllosticta</i> sp. <i>Cutculatella</i> sp. <i>Helminthosporium</i> sp. <i>Pyrenochaeta</i> sp. <i>Pithomyces chartarum</i>	Desenvolvimento do fungo no tegumento ou tegmen da semente, de coloração marrom-escuro a preta, normalmente próxima ao hilo.	Mancha da folha. Causa lesão necrótica foliar pardacentas.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos de coloração roséa-alaranjada.	Queima das folhas e morte prematura das plantas. Podridão de raízes.	Benomyl	Benomyl
Atriplex	<i>Alternaria</i> sp.	Conidióforo e conídio de coloração marrom-escuro no tegumento da semente.	Mancha da folha. Causa lesões necróticas foliares pardacentas.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Cephalosporium</i> sp.	Conidióforo e conídios dispersos na superfície da semente.	Murcha vascular.	Benomyl	Benomyl
Brachiaria	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos roséa ou alaranjada.	Tombamento das mudinhas.	Benomyl	Benomyl
	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Cutculatella</i> sp. <i>Helminthosporium</i> sp. <i>Pyrenochaeta</i> sp.	Desenvolvimento do fungo no tegumento ou tegmen da semente, de coloração marrom-escuro a preta, normalmente próximo ao hilo.	Mancha da folha. Causa lesões necróticas foliares pardacentas.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
Bomus	<i>Phyllosticta</i> sp.	Picnídios negros no tegumento ou tegmen da semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
Cajanus cajan	<i>Alternaria</i> sp. <i>Cutculatella</i> sp.	Conidióforos e conídios de coloração marrom-escuro.	Mancha da folha.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Phyllosticta</i> sp.	Picnídios(pontuações negras) brilhantes e pretos.	Mancha da folha.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos roséa ou alaranjada.	Tombamento das mudinhas e podridão de raízes. Caule e raiz com descoloração dos feixes vasculares em caso de murcha.	Benomyl	Benomyl

Continua

Produto	Fungo	Sintomas na semente	Doença/Sintoma/Planta	Controle químico	
				Planta(1)	Semente
<i>Cajanus cajan</i>	<i>Ascochyta</i> sp.	Necrose nos tecidos, sobre o qual desenvolve a frutificação (conidióforos e conídios) do fungo de coloração cinza.	Bolor cinzento. Também conhecida pelas podridões de trânsito e amarelecimento. Provoca necrose dos tecidos. Na fase de produção de sementes, os primórdios florais podem ser atacados pelo fungo e, como consequência, as hastas florais não se desenvolvem e apresentam podridão descendente das flores para o tronco da planta.	Maneb, Zineb ou Cupric picloram	Captan, Thirazin e Benomyl
	<i>Phoma</i> sp.	As sementes infectadas apresentam-se enrugadas, de tamanho menor, com o tegumento rompido e geralmente coberto pelo micélio do patógeno, de coloração branca.	Queima da haste e da vagem. Os sintomas podem ocorrer em quase todos os órgãos da planta, principalmente nas hastas, vagens e sementes.	Uso de variedades resistentes ou Thiabendazol	Benomyl
<i>Calopogon quadrifidus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp. <i>Phylllosticta</i> sp. <i>Lophophloeum</i> sp. <i>Pyrenochaeta</i> sp. <i>Dendrospora</i> sp. <i>Colletotrichum</i> sp.	Fungo no tegumento da semente com coloração marrom-escura a preta, normalmente próximo ao hilo.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Benomyl
	<i>Phoma</i> sp.	Sementes infectadas apresentam-se enrugadas e geralmente cobertas pelo micélio do patógeno, de coloração branca.	Queima da haste e da vagem. Os sintomas podem ocorrer em quase todos os órgãos da planta, principalmente nas hastas, vagens e sementes.	Benomyl	Benomyl
<i>Cenchrus</i>	<i>Alternaria</i> sp. <i>Phylllosticta</i> sp.	Conidióforo e conídios (<i>Alternaria</i>) e picnidios (<i>Phylllosticta</i>) escuros.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thirazin ou Captan
	<i>Curvularia</i> sp. <i>Phylllosticta</i> sp. <i>Helminthosporium</i> <i>Pythomyces charitum</i> <i>Alternaria</i> sp.	Fungo no tegumento da semente sob a forma de conidióforo, conídios ou picnidios, de coloração marrom-escura.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thirazin ou Captan
	<i>Colletotrichum</i>	Mancha marrom deprimida. Massas alaranjadas de esporos nos tecidos jovens oriundos da semente germinada.	Antracnose. Lesões necróticas circulares ou elípticas.	Maneb ou Zineb	Benomyl
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos de coloração roséa-alaranjada.	Tombamento das mudinhas. Em secção transversal no caule ou na raiz, observa-se descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
<i>Chenopodium</i>	<i>Phylllosticta</i> sp. <i>Curvularia</i> sp.	Picnidios de coloração escura (<i>Phylllosticta</i>) e conidióforo e conídios (<i>Curvularia</i>).	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thirazin ou Captan

Continua

Anexo 3 - Quadro. (Continuação)

Produto	Fungo	Sintomas na semente	Doença/Sintoma/Planta	Controle químico	
				Planta(1)	Semente
<i>Crotalaria</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos rósea-alaranjada.	Podridão das raízes. Descoloração da raiz principal. Inicialmente avermelhada, posteriormente marron. Plantas afetadas reduzem o seu desenvolvimento, murcham ou morrem.	Benomyl e rotação de culturas	Benomyl
	<i>Helicoverpa virescens</i>	Apresenta manchas pardacentas nas sementes. Estas manchas também são observadas nos cotilédones.	Podridão das raízes. A podridão pode se manifestar tanto abaixo como acima do nível do solo, na forma de lesões pardo-avermelhadas, deprimidas, bem delimitadas, alongadas no sentido do comprimento do caule.	Benomyl	Benomyl
<i>Perennial</i>	<i>Cuticola</i> sp. <i>Phyllosticta</i> sp.	Conidióforo e conídios (<i>Cuticola</i>) e picnidios (<i>Phyllosticta</i>) no tegumento da semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos de coloração rósea-alaranjada.	Tombamento das mudinhas. Em secção transversal no caule ou na raiz, observa-se descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
<i>Dichanthium annulatum</i>	<i>Cuticola</i> sp. <i>Helicoverpa virescens</i> sp.	Conidióforos e conídios, visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. A doença afeta também as sementes. Nas folhas, apresenta manchas necróticas de cor marron.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
<i>Dalichos Lup-Lup</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos rósea-alaranjado.	Tombamento das mudinhas. Em secção transversal no caule ou na raiz, observa-se descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl ou tratamentos de solo em áreas pequenas com fungicidas à base de PCNB	Benomyl
<i>Echinochloa</i>	<i>Helicoverpa virescens</i>	Conidióforo e conídios visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
<i>Festuca</i>	<i>Helicoverpa virescens</i>	Conidióforo e conídios visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
<i>Hamathia</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos de coloração rósea-alaranjada.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
	<i>Cuticola</i> sp. <i>Phyllosticta</i> sp. <i>Ascochyta</i> sp.	Conidióforo e conídios (<i>Cuticola</i> e <i>Ascochyta</i>) e picnidios (<i>Phyllosticta</i>) escuros visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Ascochyta</i> sp.	Conidióforo e conídios na semente.	Podridão vascular da madeira. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl

Continua

Produto	Fungo	Sintomas na planta	Doença/Sintoma/Planta	Controle químico		4- h ch
				Planta(1)	Semente	
<i>Hypocrepia diphylla</i>	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Curvularia</i> sp.	Picnídios (<i>Phyllosticta</i>) e conidióforo e conídios (<i>Curvularia</i>) na semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas folia- res.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan	
<i>Indigofera</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl	
	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.	Picnídios (<i>Phyllosticta</i>) e conidióforo e e conídios (<i>Alternaria</i>) na semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas folia- res.	Maneb ou Zineb		
<i>Euphorbia</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos rosado-alaranjado.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl	
	<i>Pythomyces chaetani</i> <i>Helminthosporium</i> sp.	Conidióforo e conídios de cor marrom so- bre as sementes.	Mancha da folha. Lesões necróticas folia- res.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan	
<i>Euphorbia</i>	<i>Helminthosporium</i> sp.	Conidióforo e conídios visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas folia- res.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan	
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos rosado-alaranjado.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl	
<i>Acrocephalum</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos rosado-alaranjado.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl	
<i>Andropogon</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e em massa massa de esporos.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares, murcha.	Benomyl	Benomyl	
	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Pythomyces chaetani</i>	Picnídios e conidióforo e conídios visí- veis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas fo- liares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan	
<i>Heliotropium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e em massa de es- poros.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl	
<i>Panicum maximum</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl	
	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Helminthosporium</i> sp. <i>Pythomyces chaetani</i> <i>Alternaria</i> sp. <i>Ascochyta</i> sp. <i>Pyrenochaeta</i> sp. <i>Chaetophoma</i> sp. <i>Curvularia</i> sp. <i>Colletotrichum</i> sp. <i>Hendersonia</i> sp. <i>Septoria</i> sp.	Conidióforos e conídios e picnídios escu- ros sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas folia- res.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan	

Continua

Produto	Fungo	Sintomas na planta	Doença/Sintoma/Planta	Controle químico	
				Planta(1)	Semente
<i>Panicum maximum</i>	<i>Syntherisma</i> sp.	Massa de esporos (clamidósporos) em espigas da planta afetada.	Cárie. O micélio atravessa toda a planta parasitando, desde a germinação da semente até a planta florescer. O micélio, então, alcança os órgãos florais, produzindo tumores ou hipertrofias. Os órgãos da planta quando atacados ficam revestidos por uma massa pulverulenta negra ou parda constituída por uma grande quantidade de clamidósporos.	Var. <u>re-</u> sistentes	Benomyl
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
<i>Periploium</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e uma massa de esporos.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Curvularia</i> sp. <i>Pirrenopeziza chalarum</i>	Picnidios e conidióforo e conídios de coloração escura visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas lires.	fo Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
<i>Pennisetum</i>	<i>Curvularia</i> sp. <i>Helminthosporium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp. <i>Phyllosticta</i> sp. <i>Pyrrenopeziza</i> sp. <i>Pirrenopeziza chalarum</i>	Conidióforo e conídios e picnidios de coloração escura visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas lires.	fo Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
<i>Phalaris</i>	<i>Helminthosporium</i>	Conidióforos e conídios escuros sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas lires.	fo Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
<i>Setaria</i>	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Alternaria</i> sp. <i>Curvularia</i> sp. <i>Helminthosporium</i> sp. <i>Pyrrenopeziza</i> sp.	Picnidios e conidióforo e conídios visíveis a olho nu sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas lires.	fo Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
<i>Sesbania bispinosa</i>	<i>Phyllosticta</i> sp. <i>Pestalotia</i> sp.	Sob a forma de picnidios marron e acórvulo de coloração escura e massa de esporos negro, sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas lires.	fo Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan

Produto	Fungo	Sintomas na planta	Doença/Sintoma/Planta	Controle químico	
				Plantão	Semente
<i>Sorghum</i> sp.	<i>Phylllosticta</i> sp. <i>Colletotrichum</i> sp. <i>Cutculaccia</i> sp. <i>Helminthosporium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp. <i>Sporisorium</i> sp. <i>Macrophoma nigricaulis</i> <i>Phoma</i> sp.	Estruturas fúngicas escuras (picnidios, acervulos e conidióforo e conídios) sobre a semente	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Botrytis</i> sp.	Conidióforo e conídios de coloração cinza sobre a semente.	Bolor ou mofo cinzento. Provoca necrose nas folhas e podridão dos tecidos, principalmente, os suculentos, de coloração esverdeada.	Fungicidas cupicos ou Zineb	Benomyl
<i>Stylosanthes</i>	<i>Fusarium</i> sp.	Micélio aéreo colono e massa de esporos rosea a alaranjado.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
	<i>Alternaria</i> sp. <i>Cutculaccia</i> sp. <i>Phylllosticta</i> sp. <i>Pithecolites chasteum</i> <i>Colletotrichum</i> sp. <i>Acrostalagmus</i> sp. <i>Coniothyrium</i> sp. <i>Pestalotia</i> sp. <i>Chaetophoma</i> sp. <i>Helminthosporium</i> sp. <i>Pleospora</i> sp. <i>Nectria</i> sp.	Estruturas fúngicas (conidióforo e conídios, picnidios, acervulos e peritécios) sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb, Zineb ou fungicidas cupicos	Thiran ou Captan. Ácido sulfúrico 36% N (3°) para <i>Colletotrichum</i>
<i>Tenax</i>	<i>Phylllosticta</i> sp. <i>Cutculaccia</i> sp.	Picnidios e conidióforos e conídios de coloração escura sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
<i>Trifolium</i> sp.	<i>Helminthosporium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp. <i>Phylllosticta</i> sp.	Conidióforo e conídios e picnidios de coloração escura sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusarium</i> sp. <i>Cephalosporium</i> sp.	Micélio aéreo colono e massa de esporos (<i>Fusarium</i>) e conidióforo e conídios (<i>Cephalosporium</i>) sobre a semente.	Tombamento das mudinhas (<i>Fusarium</i>) e murcha vascular (<i>Cephalosporium</i>). Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl

Continua

Anexo 3 - Quadro. (Continuação)

Produto	Fungo	Sintomas na planta	Doença/Sintoma/Planta	Controle químico	
				Planta(1)	Semente
Ficus	<i>Chaetophoma</i> sp.	Plenídios de coloração escura sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusicium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl
Cuscuta	<i>Helicostictium</i> sp.	Conidióforo e conídios de coloração marrom-negra sobre a semente.	Mancha da folha. Lesões necróticas foliares.	Maneb ou Zineb	Thiran ou Captan
	<i>Fusicium</i> sp.	Micélio aéreo cottonoso e massa de esporos rosá.	Tombamento das mudinhas. Descoloração dos feixes vasculares.	Benomyl	Benomyl

(1) Produtos indicados mostram efeito fungicida ou fungistático "in vitro".

CAPÍTULO XX

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE MILHO

Oriundo Antonio Lucca Filho⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

O milho é uma das culturas mais difundidas em nosso país. É cultivado em diferentes regiões, com características ambientais próprias. Em vista disso, as diferenças quanto ao grau de incidência e importância econômica de determinado patógeno é bastante variável, especialmente, entre anos agrícolas e entre regiões de cultivo.

Um dos meios mais eficientes de disseminação de doenças é a semente, especialmente, considerando que é através das sementes que os patógenos podem ser transportados a grandes distâncias e introduzidos em novas áreas. Grande número de microorganismos são transportados por sementes de milho, incluindo não apenas fungos, mas também bactérias e vírus. Os microorganismos já detectados em sementes de milho são: *Alternaria* spp.; *Aspergillus* spp.; *Botryodiplodia* sp.; *Cephalosporium maydis* Samra, Sabet & Hingorani ; *Cladosporium* spp.; *Claviceps gigantea* Fuentes et al.; *Helminthosporium carbonum* Ullstrup.; *H. halodes* Drechs.; *H. maydis* Nisikl; *H. turcicum* Pass.; *H. setariae* Saw.; *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils.; *Curvularia* spp.; *Diplodia fauvelii* Ell. & Ev.; *D. macrospora* Earle; *D. maydis* (Berk) Sacc.; *Epicoecium* spp.; *Fusarium graminearum* Schwabe; *F. moniliforme* Shel; *Gonatobotrys zeae* Futrell & Bain; *Nigrospora oryzae* (Berk & Br.) Petch ; *Macrophoma zeae* Tehon & Daniel; *Puccinia sorghii* Schw.; *Penicillium* spp.; *Phomopsis* sp.; *Rhizoctonia zeae* Voorhees; *R. solani* Kuhn; *Rhizopus* spp.; *Sclerospora macrospora* Sacc.; *S. maydis* (Racib.) Butler.; *S. philippinensis* Weston.; *S. sacchari* Miyake; *S. sorghii* Western & Uppal; *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary ;

(1) Engº Agrº, M.Sc., Adjunto da Universidade Federal de Pelotas, Técnico do CETREISEM, Caixa Postal, 354 - CEP.: 96.100 - Pelotas - RS.

Sclerotium rolfsii Curzi; *Setophphaeria prolata* Leonard & Suggs; *Sphacelote ca seiliana* (Kühn) Clint.; *Taichoderma koningii* Oud.; *Ustilaginividea vires* (Cooke) Tak.; *Ustilago maydis* (DC.) Corda; *Corynebacterium nebraskense* Schuster, Hoff, Maudel & Lazar; *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey et al.; *E. stewartii* (E.F. Smith) Dye; *Pseudomonas andropogonis* (E.F. Smith) Stapp.; *P. lapsa* (Ark) Starr & Burkholder; *P. syringae* van Hall; *Xanthomonas maydis* Rangammy, Prasad & Easwaran; Maize leaf spot virus; Maize mosaic virus; Sugarcane mosaic virus; Wheat streak mosaic virus e Corn stunt (micoplasmas).

A seguir, serão abordados os principais patógenos transmitidos por sementes de milho, relacionando-os com os danos causados.

2. PODRIDÃO DE SEMENTES E MORTE DE PLÂNTULAS

Fungos que sobrevivem no solo, na forma de estruturas de resistência, ou aqueles que sobrevivem sobre ou no interior das sementes podem causar o apodrecimento das sementes e a morte das plântulas, no estágio de pré ou pós-emergência.

Condições de solo úmido e frio (10-13°C) favorecem a ocorrência destas infecções, causando a podridão das sementes pela destruição do embrião e podridão mole do coleóptilo, próximo ao nível do solo.

Os organismos comumente associados a estas infecções são: *Fusarium moniliforme*, *Diplodia maydis*, *Penicillium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium* spp., *Colletotrichum graminicola*, *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Rhizopus* sp., *Phoma* sp. e *Curvularia* sp. Destes fungos, destacam-se, em importância, *Diplodia maydis*, *Rhizoctonia solani* e *F. moniliforme*.

As medidas de controle a serem adotadas para estes fungos estão relacionadas com o uso de sementes sadias, com o oferecimento de condições ótimas para a germinação e emergência (semeadura em solo não úmido) e com o tratamento das sementes.

3. DOENÇAS DA PARTE AÉREA

3.1. Helminthosporioses

Existem três espécies de *Helminthosporium* que podem ocorrer em nossas condições, causando destruição dos tecidos foliares e debilitando as plantas, tornando-as mais suscetíveis a outros patógenos.

a.1.) *Helminthosporium turcicum* Pass. - Agente causal da mancha da folha ("leaf blight"), o *H. turcicum* tem sua ocorrência favorecida em regiões úmidas e de temperaturas moderadas (18 a 27°C). Quando em condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do patógeno, o mesmo pode aparecer sobre a plântula, causando o crestamento desta. Surge nas folhas inferiores, formando pequenas manchas de coloração púrpura-avermelhada ou amarelada, as quais aumentam de tamanho, coalescem e matam a folha. Posteriormente, com o aumento da severidade, progride para as folhas superiores. Os principais danos são causados, quando a doença surge antes do embonecamento.

A fase sexuada corresponde a *Trichomelasphaeria turcica*, cuja ocorrência ainda não foi registrada no Brasil.

a.2.) *Helminthosporium maydis* Nisik - Agente causal da requeima das folhas ("leaf blotch" ou "southern leaf blight"), até a década passada, se constituía em problema secundário, mas com o aparecimento da nova raça (T) do patógeno, sérios prejuízos têm sido causados à cultura do milho, principalmente em regiões de cultivo onde ocorrem temperaturas de 20 a 32°C e elevada umidade relativa. A outra raça, raça O, normalmente ataca apenas a folha, enquanto a raça T ataca também a bainha, o colmo, a bráctea e a espiga.

As lesões causadas pela raça T são de formato elíptico a fusiforme, de coloração castanha, podendo apresentar halos cloróticos. Com o passar do tempo, geralmente os bordos das lesões ficam mais escuros. As lesões da raça T são maiores que as produzidas pela raça O, além de serem mais escuras.

a.3.) *Helminthosporium carbonum* Ullstrup. - Doença conhecida pelo nome comum de Mancha Foliar de *Helminthosporium* ("leaf spot"), é uma doença secundária, não ocorrendo, facilmente, nas lavouras de milho. Entretanto, trabalhos de melhoramento citam o aparecimento deste fungo com certa intensidade, em linhagens, nos campos experimentais.

Existem três raças deste patógeno, as quais apresentam quase o mesmo tipo de sintoma, principalmente nos estágios iniciais de desenvolvimento do patógeno. Nos estágios avançados de desenvolvimento, tornam-se mais facilmente distintos, quando, então são observadas variações quanto ao tamanho das lesões (0,5 a 1,0 cm de largura e 1,0 a 2,5 cm de comprimento), quanto ao formato das lesões (oval a circular) e quanto à coloração das mesmas. Além das folhas, o patógeno pode também atacar as espigas.

a.4.) Controle de Helminthosporioses - As medidas de controle a serem adotadas, visando minimizar a ocorrência de *Helminthosporium* spp. nas lavouras de milho, são: uso de sementes sadias, provenientes de lavouras livres de infecção destes patógenos; uso de cultivares resistentes; limpeza dos campos de produção, através da erradicação de plantas infectadas e destruição das mesmas; rotação de cultura e tratamento de sementes.

3.2. Antracnose

A antracnose é causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils., tendo como forma perfeita a *Glomerella tucumanensis* Van Arx & Muller.

As lesões de antracnose podem ocorrer nas folhas, na forma de manchas alongadas, no sentido da nervura principal, recobertas por frutificações do fungo, e sobre as nervuras secundárias e bordos foliares. No colmo, as lesões apresentam-se na forma de manchas alongadas, acompanhando o sentido das fibras, provocando o aparecimento do mesmo. Este fungo também é responsável pela podridão radicular.

A antracnose tem seu desenvolvimento favorecido por altas temperaturas (25 a 30°C), podendo surgir desde o período inicial de estabelecimento da cultura, causando a morte de plântulas. Entretanto, os maiores danos são causados na fase adulta da planta, pela destruição do colmo.

O controle da antracnose pode ser feito através de uso de sementes sadias; uso de cultivares resistentes, destruição de restos de cultura, rotação de cultura e fertilização equilibrada.

3.3. Míldio

O agente causal do míldio ("dowry mildew") é o fungo *Sclerospo* *ra sorghi* Western & Uppal. Este fungo também é o agente causal do míldio do sorgo. Outros fungos, também causadores do míldio, como é o caso de *S. macrospora*, *S. maydis*, *S. philippinensis* e *S. sacchari*, ainda não foram detectados em milho, sendo, portanto, justificável a adoção de medidas de controle que visem impedir a entrada destes patógenos no Brasil.

O míldio é uma doença importante para o milho, uma vez que o fungo provoca deformações nas espigas, desde que haja condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, reduzindo o valor econômico da cultura.

As plantas infectadas por mildio apresentam-se cloróticas, ou com meias folhas doentes, com uma margem bem distinta entre o tecido sadio e o infectado. Instalando-se nas espigas, haverá a formação de uma crosta branca sobre as sementes, a qual nada mais é do que uma massa de oósporos do fungo.

Este patógeno tende a desaparecer durante o período de armazenamento sob condições ambientais, ou mesmo, a própria secagem das sementes tende a inativar o fungo. Sementes secas a 9% de umidade ou armazenadas por quatro meses mostraram uma baixa porcentagem de oósporos ativos.

Além da secagem, outras medidas de controle a serem adotadas são o uso de variedades resistentes, rotação de cultura (no mínimo três anos, não cultivando sorgo nesta área) e destruição dos restos de cultura (especialmente evitando a colheita de espigas contaminadas).

3.4. Podridão de *Diplodia*

Esta doença é também conhecida pelos nomes de podridão branca ou podridão seca ("dry rot of ears and stalks"), sendo bastante difundida em várias regiões do Brasil. Causa graves perdas na colheita, devido à destruição das espigas.

O agente causal é o fungo *Diplodia maydis* (Berk) Sacc., podendo ser detectada no caule, nas espigas, nas palhas e nas bainhas. Nas espigas, desenvolve uma massa de coloração branca, a qual ocupa os espaços entre os grãos. Em espigas atacadas, a palha torna-se descolorida em contraste com as espigas saudáveis. A podridão do caule também é notada com facilidade, uma vez que o fungo causa ruptura do mesmo, antes da completa maturação da planta, provocando perda total das espigas.

Pode também ocorrer outra espécie de *Diplodia* em milho, *Diplodia macrospora*, apresentando esporos bem maiores que os produzidos por *D. maydis*.

Os principais danos são observados quando a incidência do patógeno ocorre no estágio de formação dos grãos (grãos leitosos), especialmente favorecido pelas temperaturas elevadas (28 a 30°C), alta umidade relativa do ar, excesso de Nitrogênio, deficiência de Potássio e injúrias causadas por insetos.

As medidas de controle mais indicadas para a redução da incidência de *D. maydis* são o uso de sementes saudáveis, destruição das espigas atacadas, fertilização equilibrada, uso de variedades resistentes e rotação de cultura.

3.5. Podridões de *Fusarium*

Geralmente, são encontradas duas espécies de *Fusarium* causando podridões em milho. Os patógenos envolvidos são *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wollenw. e *Gibberella zeae* (Schw.) Petch., cujas formas imperfeitas correspondem a *Fusarium moniliforme* e a *Fusarium graminearum*, respectivamente. A incidência mais comum é de *F. moniliforme*, cuja forma perfeita dificilmente é detectada em testes sanitários de sementes.

O fungo *F. moniliforme* causa podridão do colmo e podridão da espiga. É uma doença de fim de ciclo, manifestando-se no colmo algumas semanas após a polinização, secando a planta prematuramente. Tanto as raízes, como também a parte basal do colmo, podem apresentar lesões que evoluem para podridões, enfraquecendo os internódios basais, podendo resultar no tombamento da planta por ocasião de ventos fortes. Os tecidos afetados do caule apresentam alterações na coloração da medula, que variam de esbranquiçado a rosa do. Em fases mais avançadas da infecção, há o dilaceramento dos tecidos.

Nas espigas, o patógeno provoca a podridão das sementes e da espiga, surgindo, entre as sementes, o crescimento de um micélio cottonoso com esporos, provocando alteração na coloração das sementes, as quais assumem uma coloração que varia de rosa a marrom-avermelhada.

As principais medidas de controle estão relacionadas com o uso de sementes saudáveis, rotação de cultura, uso de variedades resistentes, adubação equilibrada e eliminação de restos de cultura, incluindo a destruição das espigas atacadas.

3.6. Crestamento amarelo da folha

O agente causal do crestamento amarelo da folha ("yellow leaf blight") é o fungo *Phylllosticta maydis* Arny & Nelson, produzindo lesões nas folhas. A forma das lesões é retangular a oval, variando em comprimento, podendo aparecer não apenas nas folhas, mas também nas bainhas e nas espigas. Os picnídios se desenvolvem sobre estas lesões, e, sob condições de alta umi-

dade, produzem grande quantidade de conídios, sendo estes os responsáveis pelas infecções secundárias.

As medidas de controle deste fungo estão relacionadas com o uso de sementes saudáveis, rotação de cultura e manutenção da cultura limpa, uma vez que outras gramíneas também são hospedeiras deste patógeno.

3.7. Carvão-do-milho

No milho, ocorrem três doenças conhecidas pelo nome de carvão, sendo elas o carvão comum, o carvão do topo e o falso carvão. O carvão mais facilmente encontrado nas lavouras de milho é o carvão comum, cujo agente causal é o fungo *Ustilago maydis* (DC.) Corda. A doença varia quanto ao local de incidência e quanto à frequência com que ocorre, podendo surgir em plantas isoladas ou atingir níveis de infecção de até 10% de plantas atacadas, especialmente em material suscetível.

Os sintomas podem ser observados em toda a parte aérea da planta, mas o mais importante economicamente é observado nas espigas, uma vez que estas são completamente tomadas por galhas, contendo no seu interior uma grande quantidade de clamidósporos, representados por uma massa preta que é liberada com o rompimento do tecido que envolve a galha.

As medidas de controle indicadas para este patógeno são o uso de cultivares ou híbridos resistentes, uso de fertilidade balanceada, destruição de plantas e espigas atacadas e rotação de cultura.

3.8. Outras doenças fúngicas

Outros fungos podem causar danos à cultura do milho, atacando não apenas as folhas, mas também o caule e as espigas. Entre essas doenças, podem ser citados os fungos *Curvularia* spp., *Nigrospora oryzae* e *Macrophoma* spp.

Dois espécies do gênero *Curvularia* ocorrem na cultura do milho, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn e *Curvularia pallens* Boedijn, causando lesões na folha e nas espigas.

Nigrospora oryzae (Berk & Br.) é outro fungo que pode causar danos à cultura do milho, por provocar podridão das espigas. As espigas atacadas ficam leves, as sementes ficam manchadas, desprendendo-se com facilidade

da espiga. Pode-se observar a olho nú sobre as espigas a formação de uma massa de coloração preta, constituída de esporos do fungo. A incidência de Ni*grovospora* é favorecida pela debilidade da planta, especialmente após a mesma ter sido atacada por outros microorganismos. As medidas de controle, preconizadas para diminuir a incidência destes fungos nos campos de produção de milho, estão relacionadas com o uso de sementes sadias, uso de variedades resistentes (especialmente a podridões do colmo e *Helminthosporioses*), o tratento de sementes e a destruição das espigas atacadas pelo fungo.

A podridão acinzentada causada pelo fungo *Physoctenaria zae* Stout (sinônimo de *Macrophoma zae* Tehon & Daniel) também provoca podridão das espigas, as quais, quando atacadas, assumem uma coloração preta, formada por pequenos esclerócios dispersos pela espiga inteira. As principais medidas de controle para este fungo são o uso de sementes sadias e a destruição de espigas atacadas.

3.9. Viroses

Os vírus detectados em sementes de milho são "Maize leaf spot virus" e "Maize stunt" (semelhante a micoplasma). Entretanto, os prejuízos causados pelos mesmos, em nossas condições, não são economicamente importantes, a não ser em casos de ocorrência em material altamente suscetível em campos experimentais, ou em plantios realizados fora da época normal.

O melhor método de controle recomendado para o controle de viroses nos campos de produção é o uso de cultivares resistentes. Entretanto, cutras medidas de controle podem ser empregadas, como o controle dos vetores e destruição de invasoras que se constituem em hospedeiras destes vírus.

3.10. Bacterioses

As bacterioses mais comuns em lavouras de milho são as produzidas pelos gêneros *Erwinia*, *Corynebacterium* e *Pseudomonas*. Entretanto, estas doenças são consideradas de importância secundária, devido à baixa percentagem de incidência com que ocorrem nos campos de produção. As doenças mais comuns produzidas por bactérias são as conhecidas pelos nomes de murcha bacteriana e mancha bacteriana.

A murcha bacteriana, produzida pela bactéria *Erwinia stewartii*, se caracteriza por formar lesões nas folhas, as quais variam de tamanho. As

lesões são de bordos irregulares, de coloração verde-claro, passando, posteriormente, para marrom, devido à seca dos tecidos.

A medida de controle mais indicada para o controle de bactérias em milho é o uso de cultivares resistentes.

4. METODOLOGIA PARA DETECÇÃO DE PATÓGENOS EM SEMENTES DE MILHO

a) Método para detecção de fungos - O método mais utilizado para a detecção de fungos em sementes de milho é o teste em papel filtro (Blotter Test). Neste teste, as sementes são distribuídas sobre três folhas de papel filtro (ou sobre duas folhas de papel mata-borrão) previamente umedecido em água destilada e esterilizada. Os recipientes que contêm o papel substrato (filtro ou mata-borrão) podem ser placas de petry (vidro pirex) ou placas gerbox (plástico transparente). Após a distribuição das sementes sobre o papel substrato, as mesmas são incubadas a uma temperatura de 25°C por um período de oito dias, sob regime luminoso alternado de 12 h de luz e 12 h de escuro. Ao término do período de incubação, as sementes são analisadas individualmente, com o auxílio de um microscópio estereoscópico, expressando-se a percentagem de cada microrganismo detectado.

Para cada amostra, devem ser testadas, no mínimo, 200 (duzentas) sementes. Nas placas de petry, não colocar mais que dez sementes por placa; nos gerboxes, não mais que vinte sementes por placa.

Sugere-se que esta metodologia seja testada, incluindo-se a avaliação da técnica do congelamento ("Deep freezing").

b) Método para a detecção de bactérias - A detecção de bactérias em sementes é de difícil realização, especialmente quando se pensa determinar não apenas o gênero, mas também a espécie do patógeno envolvido, para a qual, geralmente, é necessária uma série de meios de cultura diferenciais.

Uma técnica bastante simples, que pode ser utilizada para a determinação de gêneros de bactérias que ocorrem em sementes de milho, é o exame do exudato das sementes. Nesta técnica, 1000 sementes são colocadas dentro de um bequer contendo etanol 96%, durante 30 segundos. Após este período, as sementes são retiradas e colocadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% por dez minutos. A seguir, as sementes serão enxaguadas em água destilada esterilizada deionizada, (enxaguar, no mínimo, três vezes). Terminada a fase

de preparação da amostra, dividir a mesma em grupos de cem sementes, sendo cada grupo colocado em placas de petry esterilizadas. Em cada placa de petry, adiciona-se 1,0 ml de água destilada deionizada. A seguir, as sementes serão incubadas por 24 h (vinte e quatro horas) a uma temperatura de 22-24°C, visando extrair as bactérias das sementes. Após este período, com o auxílio de um bastão de vidro, transferem-se duas gotas da suspensão bacteriana de cada placa, para outras placas contendo meio de cultura, usando-se o método de estrias. Cada uma destas placas com meio de cultura são etiquetadas e incubadas a 24°C por um período de três dias, no escuro. Após este período de incubação, faz-se o exame das colônias de bactérias que se desenvolveram.

c) Métodos para detecção de vírus - Devido à baixa percentagem de transmissão de vírus por sementes, faz-se necessário que a técnica a ser utilizada para a detecção dos mesmos seja bastante sensível. Face a isto, a técnica mais promissora é a "ELISA". Entretanto, existem outras técnicas que também podem ser usadas como a microprecipitação e a difusão dupla. O grande empecilho para a realização destas técnicas está relacionado com a dificuldade para a obtenção do antisoro. Por isso, uma técnica mais simples vem sendo empregada, sendo a identificação dos vírus feita através da observação de sintomas nas plântulas, e se necessário, uma posterior inoculação em plantas indicadoras.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O. & LENG, E.R. Modern Corn Production. Illinois, USA, A & L. Publications, 1978. 378 p.
- ALMEIDA, A.M.P.; TROMBETA, I.A.; WINK, R.F. & OLIVEIRA, M.R. Avaliação da incidência de microorganismos em espigas e sementes de milho. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 29., Porto Alegre, 1984. Anais. Porto Alegre, Instituto de Pesquisas Agronômicas, 1984.
- FERNANDEZ VELIELA, M.V. Introduccion a la Fitopatologia. Coleccion Científica, Buenos Aires, I.N.T.A., 1969.
- GALLI, F. Doenças das Plantas Cultivadas. In: MANUAL DE FITOPATOLOGIA. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., vol. 2. 1980.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology. London, MacMillan Press, v. 1., 1979.
- PATERNIANI, E. Melhoramento e Produção do milho no Brasil. Piracicaba, ESALQ, Marprint, 1978. 650 p.
- PINTO, N.F.J.A. Doenças do Milho. In: Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 6(72), 1980.
- PONS, A.L. & BRESOLIN, M.A. A cultura do milho: In: TRIGO E SOJA. Porto Alegre, Edições Fecotriga, 57: 3-38, 1981.
- RICHARDSON, M.J. An Annotated List of Seed-Borne Diseases. London, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1979. 320 p.

CAPÍTULO XXI

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE SOJA

Ademir Assis Henning⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) no campo é infectada por um grande número de doenças fúngicas e algumas bacterianas, além de viroses e nematóides. Dentre estas, as doenças causadas por fungos são consideradas muito importantes, não somente devido ao maior número, mas pelos prejuízos causados, tanto no rendimento quanto na qualidade das sementes. Além disso, muitos desses microrganismos têm, na semente, o seu principal veículo de disseminação e de introdução em novas áreas de cultivo, onde, sob condições favoráveis de ambiente, poderão causar sérios danos à cultura.

No Brasil, com a expansão da cultura para as Regiões Central e Norte, os problemas para a produção de sementes de alta qualidade têm aumentado. A ocorrência de condições climáticas desfavoráveis como chuvas e altas temperaturas durante as fases de maturação e colheita, afeta, além da qualidade fisiológica, a sanidade das sementes (FRANÇA NETO & HENNING, 1984a).

Até o presente, foram identificados inúmeros microrganismos em sementes de soja, porém, poucos são os que merecem destaque por serem economicamente importantes. A relação a seguir são dos comumente encontrados e além desses, outros foram encontrados (SINCLAIR, 1982), porém não existe evidência suficientemente documentada de que os mesmos são comuns ou causam doenças nessa leguminosa.

(1) Eng^o Agr^o, MSc., Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Soja (EMBRAPA-CNPSo), Londrina, PR.

Fungos

- Alternaria*⁽²⁾
Aspergillus⁽³⁾
Botryodiplodia⁽⁴⁾
Botrytis⁽²⁾
Cephalosporium⁽²⁾
Cercospora sojae⁽⁴⁾
Cercospora kikuchii⁽⁴⁾
Chaetomium⁽²⁾
Cladosporium⁽²⁾
Colletotrichum⁽²⁾
C. dematium var. *taurcata*⁽⁴⁾
Conyospora⁽²⁾
C. cassicola⁽⁴⁾
Curvularia⁽²⁾
Diaporthe phaseolorum var. *caulivora*⁽⁵⁾
Diaporthe phaseolorum var. *sojae*⁽⁵⁾
Drechslera (*Helminthosporium*)⁽²⁾
Epicoccum⁽²⁾
Fusarium⁽⁴⁾
Gliocladium⁽²⁾
Glomerella glycines⁽⁴⁾
Macrophomina phaseolina⁽⁴⁾
Monilia⁽²⁾
Mucor⁽²⁾
Myrothecium roridum⁽⁴⁾
Nematospore coxii⁽⁴⁾
Penicillium⁽²⁾
Periconia⁽²⁾
Peronospora manshurica⁽⁴⁾
 (crosta de oosporos)
Phialophora gregata⁽⁵⁾
Phomopsis⁽⁴⁾
Phoma⁽²⁾
Phylllosticta⁽⁵⁾
Phytophthora megasperma⁽⁵⁾
Pithomyces⁽²⁾
Rhizoctonia solani⁽⁴⁾
Rhizopus⁽²⁾
Septoria glycines^(4,5)
Sclerotinia sclerotiorum⁽⁴⁾
Sclerotium rolfsii⁽⁴⁾
Stemphylium⁽²⁾
Taichoderma⁽²⁾
Taichothecium⁽²⁾
Ulocladium⁽²⁾
Verticillium⁽²⁾
Bactérias
Bacillus subtilis⁽⁵⁾
Corynebacterium flaccumfaciens⁽⁵⁾
Pseudomonas solanacearum⁽⁵⁾
Pseudomonas tabaci⁽⁴⁾
Xanthomonas glycines⁽⁴⁾
Vírus
 Vírus do Mosaico comum da soja (SMV)⁽⁴⁾
 Vírus da Necrose Anelar do Fumo⁽⁵⁾
 (Tobacco Ringspot Vírus-TRV)
 Vírus da Necrose Branca do Fumo⁽⁴⁾
 (Tobacco Streak Vírus-TSV)
Nematóides
Heterodera glycines⁽⁴⁾
 (contaminação solos)⁽⁵⁾

(2) Contaminantes e/ou saprófitas.

(3) *Aspergillus*: importante fungo de armazenagem.

(4) Patógenos comumente causadores de doença em soja.

(5) Relatados no exterior (RICHARDSON, 1979, 1981).

2. PATÓGENOS IMPORTANTES NAS SEMENTES E DOENÇAS NA CULTURA

2.1. *Phomopsis* sp. - Queima da haste e da vagem

Esta doença ocorre naturalmente na maioria das lavouras de soja, sem causar sérios prejuízos ao rendimento. Porém, pode reduzir a qualidade das sementes, especialmente quando ocorrem períodos chuvosos associados com altas temperaturas durante a fase de maturação (Figura 1). Os sintomas da doença na planta aparecem durante a fase final do ciclo, sendo caracterizados por pontuações pretas (picnídios), que são formados linearmente na haste e pecíolos e, ao acaso, sobre as vagens. As sementes infectadas, após o período de incubação apresentam normalmente o micélio branco, compacto, sob o qual aparecem os picnídios. Não raramente, *Phomopsis* sp. apresenta apenas picnídios sobre a semente. Nesses casos, a identificação segura deve ser feita com o auxílio de microscópio biológico, usando-se aumentos de até 400 vezes, para observar a presença dos esporos alfa e beta. Muitas vezes, ambos os tipos de esporos são produzidos no mesmo picnídio (característica da espécie), porém, algumas vezes, são produzidos apenas alfa ou beta num picnídio. O fungo torna o teste padrão de germinação (rolo de papel, 25°C) inviável em lotes de sementes com altos índices de infecção. Todavia, não afeta a germinação em areia ou a emergência de plântulas no solo. Por essa razão, deve-se, em tais circunstâncias, substituir o teste padrão de germinação pelo de germinação em areia ou pelo teste de tetrazólio, que em conjunto com o teste de sanidade, fornece um diagnóstico completo da qualidade da semente (HEINING & FRANÇA NETO, 1984).

Durante a armazenagem em condição ambiente, *Phomopsis* sp. perde viabilidade rapidamente, ocorrendo, ao mesmo tempo, um aumento gradual na porcentagem de germinação em laboratório (Figura 2). Este "aumento" na germinação depende também da qualidade fisiológica da semente. Danos mecânicos, deterioração por umidade e danos por percevejo, são, frequentemente, responsáveis pela baixa qualidade da semente e, não raramente, estão associados com *Phomopsis* sp. Nesses casos, mesmo que o fungo tenha perdido sua viabilidade durante a armazenagem, a germinação poderá não

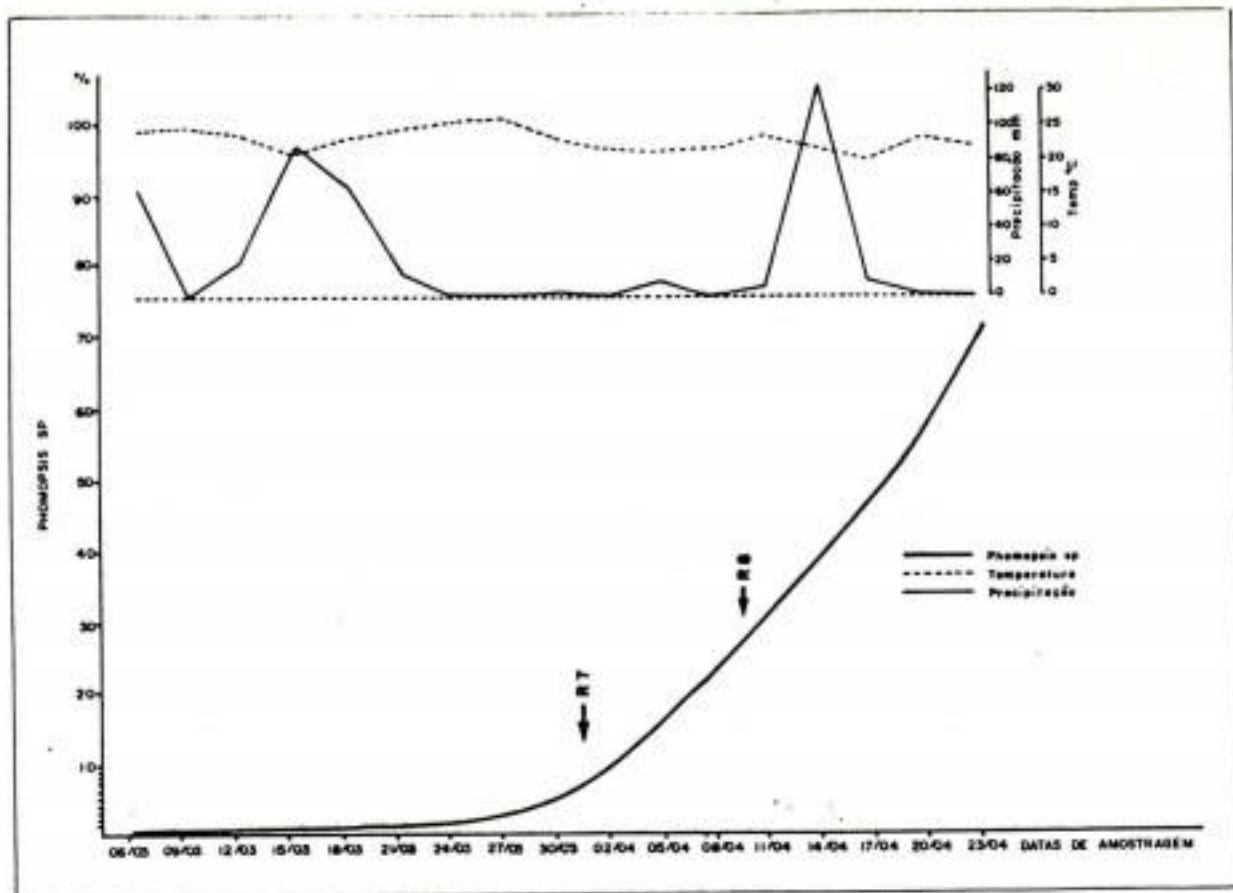


Figura 1 - Evolução da incidência de *Phomopsis* sp. em sementes de soja "Bossier", associada à condições climáticas, na safra 1979/80, em Londrina, Pr. (EMBRAPA, CNPSo, Londrina, Pr. , 1984). Modificado de FRANÇA NETO et alii (1984a).

alcançar o padrão mínimo necessário para sua comercialização (Figura 3), razão pela qual o tratamento da semente com fungicida antes ou durante o período de armazenagem não é recomendado. O tratamento pode ser realizado, se necessário, imediatamente antes da semeadura, quando esta for efetuada: 1) em solo seco; 2) em solo com umidade excessiva e/ou baixas temperaturas; 3) quando se utiliza semente de vigor inferior (padrão B) ou; 4) com a finalidade de controlar patógenos específicos (HENNING et al., 1984).

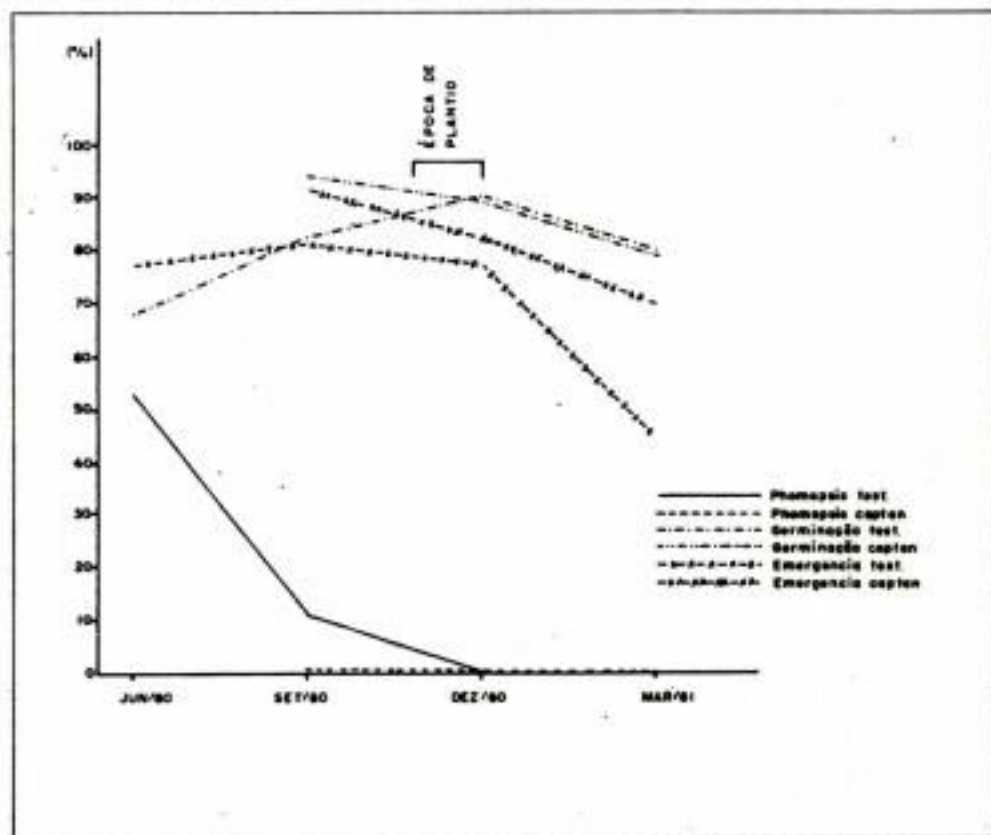


Figura 2 - Efeito do período de armazenagem sobre o índice de sementes infectadas por *Phomopsis* sp. e a qualidade fisiológica da soja "Paraná" (EMBRAPA, CNPSo, Londrina, PR., 1981).

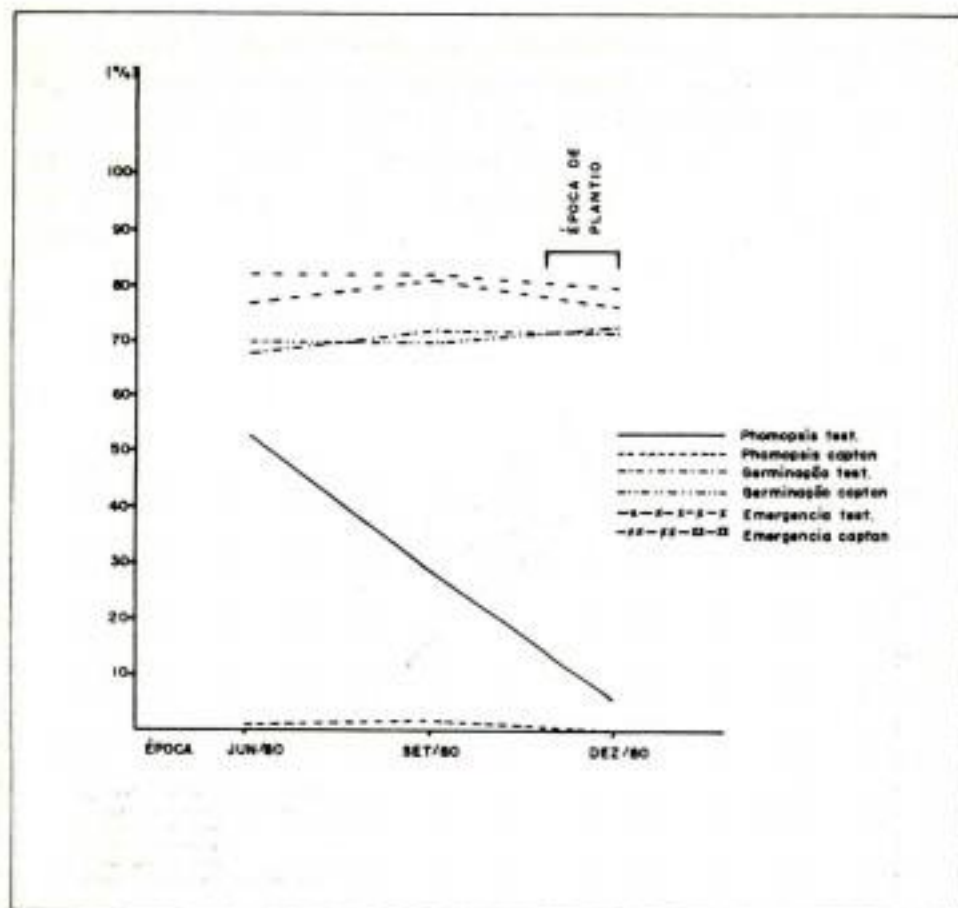


Figura 3 - Efeito do período de armazenagem sobre o índice de sementes infectadas por *Plasmopara* sp. e a qualidade fisiológica da soja "Bossier". (EMBRAPA, CNPSo, Londrina, PR., 1981).

Finalmente, ressalta-se a ocorrência de isolados de *Phomopsis* sp. que diferem em patogenicidade quando inoculados artificialmente em sementes de soja. Aparentemente, a ocorrência dos isolados mais patogênicos é insignificante sob nossas condições, já que não têm sido observados problemas de emergência em lotes com alta porcentagem de *Phomopsis* sp.

2.2. *Colletotrichum dematium* (Pers. ex.fr.) Grove var. *truncata* (Schw.) Von Arx. - Antracnose

Ao contrário da anterior, esta doença pode ser detectada visualmente, desde as fases iniciais de desenvolvimento da planta, ocasionando lesões na haste e nos ramos, os quais após secarem ficam tomados por pontuações escuras, os acérvulos, onde são observadas inúmeras setas escuras.

Com a expansão da cultura para a região do Brasil Central, em algumas safras, tem sido observado um aumento considerável na ocorrência de *C. dematium* var. *truncata* em sementes de soja. FRANÇA NETO et al. (1984b) relataram porcentagens de infecção superiores a 50%. Índice elevado de infecção de sementes como este só havia sido relatado na Índia (AGARWAL, 1981).

O fungo pode causar deterioração da semente, morte de plântulas (TIFFANY, 1951) e infecção sistêmica em plantas adultas (NEERGAARD, 1979). Devido à sua baixa ocorrência em sementes, pouco se sabe, até o presente, sobre as implicações que um lote com alta incidência de *C. dematium* var. *truncata* poderia trazer se fosse aprovado em teste de germinação com tratamento da amostra de sementes. Por esta razão, ao invés de recomendar tal prática, por medida de precaução, até que haja resultados completos da pesquisa, é preferível a utilização do teste de sanidade nos laboratórios de análise de sementes. Os sintomas em plântulas são tipicamente lesões escuras nos cotilédones e hipocótilos onde, com o auxílio de uma lente de bolso (10 ou 20 aumentos), pode-se observar os acérvulos típicos da espécie que é também a característica utilizada para a identificação do patógeno nas sementes, após o período de incubação.

2.3. *Cercospora kikuchii* (Matsui. & Tomoy.) Gardner - Mancha-púrpura

Embora o sintoma característico causado por *C. kikuchii* na semente seja a mancha-púrpura, nem todas as sementes infectadas apresentam esta coloração do tegumento. O fungo pode também atacar as vagens, hastes e pe

cíolos, causando manchas castanho-avermelhadas, e as folhas, causando cresta mento foliar (WALTERS, 1980). A fase de crestamento foliar, que provoca a desfolha prematura e ocorre simultaneamente com *Septoria glycines*, pode cau sar redução da produtividade pela diminuição do peso das sementes (WALTERS , 1984 e YORINORI, 1983). Quando a infecção nas sementes ocorrer na fase de en chimento das vagens, poderá ocorrer necrose nos cotilédones, afetando a ger minação (WALTERS, 1984). Por outro lado, HENNING et al. (1981) não observa ram nenhum efeito negativo do fungo sobre a qualidade da semente, em ensaios conduzidos no Estado do Paraná. Sementes das cultivares Paraná, Davis e Bossier com 0, 5, 10, 20 e 40% de mancha-púrpura não diferiram entre si com relação à germinação (25°C rolo de papel), emergência a campo e rendimento. O maior índice de infecção por *C. hihuchii* observado na semente colhida foi de 2,12% , indicando que, nas condições em que o estudo foi realizado, a ta xa de transmissão semente-planta-semente foi bastante baixa.

No teste de sanidade, a presença da coloração púrpura no tegumen to facilita, sobremaneira, a identificação do fungo, bastando observar o crescimento do mesmo e/ou esporulação. Os conídios longos, hialinos e septa dos são produzidos em fascículos e distinguem-se dos conidióforos que são de cor marrom-escuro. O tratamento das sementes com os fungicidas thiram 1,4 g i.a./ha ou thiaabendazol 0,2 g i.a./kg poderá ser adotado como medida preventiva na disseminação do patógeno para novas áreas, onde sob condições adequadas de temperatura e umidade, poderá causar severos danos à soja e per manecer viável nos restos da cultura.

2.4. *Cercospora sojina* Hara - mancha "olho-de-rã"

Nas folhas, o sintoma mais característico da doença é a presença de lesões castanho-cinza claro com bordas avermelhadas, as quais aparecem próximo à fase de floração. O fungo pode atacar também as hastes, vagens e as sementes. Nas hastes, as lesões são alongadas, com bordas pardas , as quais são mais evidentes no final do ciclo. As sementes infectadas podem pos suir coloração cinza esverdeada no tegumento que, frequentemente, apresenta rachaduras. A utilização de cultivares resistentes à doença tornou esporádi ca a presença do patógeno em amostras de semente. Hoje, com o aumento no cul tivo de variedades suscetíveis, a tendência será aumentar a incidência de *C. sojina* nas sementes. Para reduzir a possibilidade da transmissão e intro

dução do patógeno em novas áreas de cultivo. YORINORI (1984) recomenda o tratamento da semente antes do plantio, com thiram ou thiabendazol.

Após o período de incubação, no teste de sanidade, a presença dos fascículos com conidióforos escuros e conídios hialinos, septados, são as características utilizadas para diferenciar *C. kikuchii* de *C. sojae*, cujos esporos são bem menores.

2.5. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid - Podridão preta das raízes

A doença ocorre com bastante freqüência e pode causar prejuízos, em condição de clima seco. Este problema pode ser agravado em lavouras, onde o preparo do solo não é adequado, permitindo a formação do pé-de-grade e, conseqüentemente, as plantas desenvolvem sistema radicular mais superficial, não suportando veranicos. A transmissão por semente, embora ocorra, parece não ser importante, uma vez que o inóculo existe na maioria dos solos.

As plantas atacadas no campo apresentam deterioração do sistema radicular, com formação intensa de microesclerócios sob a epiderme, os quais matam as plantas prematuramente. Na semente, após o período de incubação em gerbox, o fungo normalmente apresenta formação de micélio escuro com abundante produção de microesclerócios pretos sobre a semente mas, que podem espalhar-se sobre o papel de filtro. Esta característica permite a identificação do patógeno com bastante segurança, mesmo a olho nu.

2.6. *Rhizoctonia solani* Kühn - Tombamento e morte em reboleira

Este fungo pode causar doença tanto na fase de plântula (tombamento) quanto na fase adulta (morte em reboleira), durante o período de floração. Os sintomas nas plântulas são caracterizados por lesões marron-avermelhadas, na região do colo. Nas plantas adultas, as reboleiras começam a aparecer aproximadamente durante a fase de floração com o amarelecimento das folhas, clorose ao longo das nervuras, murchamento das folhas jovens e broto apical. Finalmente, ocorre murcha e morte das plantas, que retém os pecíolos voltados para baixo (FERREIRA et al., 1979). O microrganismo é um habitante do solo, permanecendo viável em restos de cultura. Em algumas regiões do sul, em áreas novas de cultivo, têm sido relatadas severas perdas em lavouras, porém, de modo geral, após dois ou três anos de cultivo, a incidência da doença diminui tendendo a desaparecer na maioria dos casos. A taxa

de transmissão do fungo por semente é baixa e sua importância é questionável, já que o mesmo ocorre naturalmente nos solos. A identificação do fungo no teste de sanidade de semente é feita com base na característica do micélio marrom, onde as hifas septadas possuem ramificação em 90° , já que o mesmo não produz esporos.

2.7. Sclerotinia sclerotiorum Lib (De Bary) - Podridão-branca da haste e da vagem

A doença pode causar severas perdas em anos chuvosos e com temperaturas amenas em algumas regiões do sul do Paraná e Minas Gerais. As plantas atacadas apresentam o micélio branco, algodinoso, que se desenvolve sobre a haste e ramos da soja, onde, posteriormente, são formados os esclerócios. Tais estruturas de resistência podem igualmente ser produzidas no interior da haste, adquirindo a forma cilíndrica. Durante a colheita, os esclerócios são espalhados no solo, onde podem permanecer viáveis por vários anos.

A transmissão por semente pode ocorrer tanto através de micélio dormente (interno) quanto por esclerócios misturados às sementes. Todavia, a transmissão por esclerócios pode ser reduzida, uma vez que, durante o beneficiamento, podem ser eliminados no separador espiral. Porém, mesmo que a taxa de transmissão por micélio dormente seja bastante baixa num lote de semente, a sua importância reside na possibilidade de introdução do inóculo em novas áreas de cultivo. O fungo, devido à formação de estruturas de resistência (esclerócios), é de difícil erradicação após introduzido numa área. O tratamento de sementes com os fungicidas thiabendazol ou thiram poderá ser adotado como medida de segurança para reduzir tal risco.

No teste de sanidade de sementes, rotineiramente empregado (pa-pel de filtro, $25^\circ\text{C}/7$ dias), dificilmente o fungo é detectado. Melhores resultados foram obtidos quando a temperatura foi reduzida para $7-10^\circ\text{C}$ e o período de incubação aumentado para 28 dias (HENNING & FRANÇA NETO, 1985). A identificação é feita com base na presença do micélio branco típico e formação de esclerócios.

2.8. Fusarium semitectum Berk. & Rav.

Diversas espécies de *Fusarium* têm sido relatadas, porém, em nossas condições, *Fusarium semitectum* é o mais comum em sementes de soja. Este

fungo, considerado por alguns autores como parasita fraco ou saprófita, foi propositadamente incluído entre os fungos fitopatogênicos, por causar problemas de germinação em laboratório, de maneira semelhante ao *Phomopsis* sp.. O fungo está comumente associado às sementes que sofreram atraso de colheita ou deterioração por umidade no campo (HENNING & FRANÇA NETO, 1980). *Fusarium semitectum*, apesar de isolado de cotilédones de plântulas anormais, oriundas de sementes naturalmente infectadas, não produziu nenhum sintoma de doença, quando inoculado em plantas de soja e girassol, em casa de vegetação.

O sintoma típico de *Fusarium semitectum* em sementes de soja, após o período de incubação, é a presença de micélio normalmente branco, porém variando do amarelado-pêssego até o marrom (dependendo da idade da cultura) e com aspecto algodinoso e denso. Sob o microscópio estereoscópico (50 aumentos) é possível observar as frutificações típicas do fungo. os conídios são produzidos livremente sobre as hifas.

Além desses patógenos, outros como *Myrothecium roridum* (mancha-de-mirotécio) *Corynespora cassicola* (mancha-alvo) e *Sclerotium rolfsii* (murcha-de-esclerócio), podem eventualmente ocorrer nas sementes.

3. MÉTODO DE DETECÇÃO DOS PATÓGENOS NAS SEMENTES

O principal método utilizado na análise sanitária de sementes de soja é o do papel de filtro ("blotter"). A experiência tem comprovado que este método é perfeitamente viável e o mais eficaz para a cultura. Em casos específicos, o método pode ser alterado, variando-se a temperatura e o período de incubação para detectar patógenos como *Sclerotinia sclerotiorum*, por exemplo.

Para a execução do teste, as caixas plásticas (gerbox) podem ser utilizadas por muito tempo, bastando que as mesmas sejam lavadas com detergente, após cada uso, e depois enxaguadas e secas devem ser desinfetadas com hipoclorito de sódio a 1,05% (Q-bou a 20%).

O papel filtro (80 g/m²) deve ser cortado em folhas de 10,5 cm x 10,5 cm, acondicionado em sacos de papel, e esterilizado em estufa a 160°C, por 20 minutos. Após este período, aguardar o resfriamento da estufa antes de abri-la.

Para a montagem, colocam-se quatro folhas de papel filtro em cada gerbox previamente esterilizado, adicionando-se água (autoclavada de preferência).

rência), suficiente para umedecer o papel, (evitar o excesso que favorece a ocorrência de bactérias e *Alternaria* spp.).

Posteriormente, são tonadas aleatoriamente 20 sementes que são colocadas no gerbox, na forma de 5 x 4. Montam-se 20 gerbox (total de quatrocentas sementes) por amostra. Após a montagem, o material deve ser mantido em ambiente (câmara com ar condicionado, germinador, etc.) a $\pm 25^{\circ}\text{C}$, por sete dias.

A avaliação é feita em cada semente individualmente, sendo anotada em ficha apropriada, a ocorrência dos diversos patógenos (*Phomopsis* sp., *Colletotrichum dematium* var. *truncata*, *Fusarium* spp., *F. semitectum*) e outros. Não é necessário contar os fungos saprófitas, porém *Aspergillus* spp. (*A. flavus*) e *Penicillium* spp., devem ser contados por serem fungos de armazenagem, responsáveis pela completa deterioração das sementes em casos específicos (umidade e temperaturas elevadas).

Vale ressaltar que a luz não é fator limitante nos testes de sanidade da soja. Bons resultados são obtidos com luz branca fluorescente ou mesmo com luz natural.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

- AGARWAL, V.K. Seed-borne fungi and viruses of some importance crops. Pantnagar, Govind Ballabh Pant University of Agriculture and Technology , 1981. n.p. (Research Bulletin, 108).
- FERREIRA, L.P.; LEHMAN, P.S. & ALMEIDA, A.M.R. Doenças da soja no Brasil. Londrina, EMBRAPA-CNPSo, 1979. 41 p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 1).
- FRANÇA NETO, J.B.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A.; ALMEIDA, A.M.R. & BARRETO, J.N. Efeito da aplicação de fungicidas foliares, sobre a maturação fisiológica de sementes de soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3, Campinas, SP, 1984. Resumos. Londrina, EMBRAPA-CNPSo, 1984a. p. 136.
- FRANÇA NETO, J.B.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A.; ZUFFO, N.L.; BARRETO, J.N. & PEREIRA, L.A.G. Efeito da época de semeadura sobre a qualidade da semente de soja no Mato Grosso do Sul. Campo Grande, EMPAER, 1984b. p.9. (EMPAER. Pesquisa em Andamento, 3).
- FRANÇA NETO, J.B. & HENNING, A.A. Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja. Londrina, EMBRAPA-CNPSo, 1984a. 39 p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 9).
- HENNING, A.A. & FRANÇA NETO, J.B. Problemas na avaliação de germinação de semente de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp.. Rev. Bras. Sem. , Brasília, 2(5): 9-22, 1980.
- HENNING, A.A. & FRANÇA NETO, J.B. Effect of *Phomopsis* spp. on soybean seed quality in Brazil. In: CONFERENCE ON THE DIAPORTHE / DIAPORTHE DISEASE COMPLEX OF SOYBEAN. Fort Walton Beach, 1984. Proceedings. Springfield , 1984. p. 66-7.
- HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J.B. & COSTA, N.P. Avaliação dos efeitos de diferentes níveis de sementes com mancha púrpura, sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro nacional de Pesquisa de Soja. Londrina, PR. Resultados de pesquisa de soja 1980/81. Londrina, 1981.

- HENNING, A.A.; FRANÇA NETO, J.B. & COSTA, N.P. Recomendação de fungicidas para o tratamento de sementes de soja. Londrina, EMBRAPA-CNPSO, 1984. 4p. (EMBRAPA-CNPSO. Comunicado Técnico, 31).
- HENNING, A.A. & FRANÇA NETO, J.B. Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary and *Alternaria* spp., in sunflower seeds. In: INTERNATIONAL SUNFLOWER CONFERENCE, 11., Mar del Plata, 1985. Proceedings. Mar del Plata, 1985. p. 475-8.
- NEERGAARD, P. Seed pathology. 2ed. London, MacMillan Press, 1979. 2v.
- RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3 ed. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1979. 320 p.
- RICHARDSON, M.J. Supplement to an annotated list of seed-borne diseases. 3ed., Zurich, International Seed Testing Association, 1981. 78 p.
- SINCLAIR, J.B. Compendium of soybean diseases. 2ed., Minnesota, American Phytopathological Society, 1982. 104 p.
- TIFFANY, L.M. Delayed sporulation of *Colletotrichum* on soybean. Phytopathology, Lancaster, 41: 975-85, 1951.
- WALTERS, H.J. Purple seed stain and *Cercospora* leaf blight caused by *Cercospora kikuchii*. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 3., Iowa, 1984. Program and Abstract. Ames, Iowa State University, 1984. p.5.
- WALTERS, H.J. Soybean leaf blight caused by *Cercospora kikuchii*. Plant Dis., St. Paul, 64: 961-2, 1980.
- WILCOX, J.R. & ABNEY, T.S. Effects of *Cercospora kikuchii* on soybeans. Phytopathology, St. Paul, 63: 796-7, 1973.
- YORINORI, J.T. Avaliação de danos causados por *Septoria glycines* em cultivares de soja. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, PR. Resultados de pesquisa de soja 1982/83. Londrina, 1983.
- YORINORI, J.T. Tratamento de sementes de soja para controle da disseminação de *Cercospora sojina* Hara (mancha olho-de-rã). In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3, Campinas, SP, 1984. Resumos. Londrina, EMBRAPA - CNPSO, 1984. p.33.

CAPÍTULO XXII

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE SORGO

Nicésio Filadelfo Janssen de Almeida Pinto⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o sorgo ocupa o quinto lugar mundial em área cultivada com cereais. No Brasil, o seu plantio é relativamente recente. A produção brasileira está concentrada, principalmente, nos Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo. O incremento de área tem ocorrido, principalmente, no Oeste do Paraná, Triângulo Mineiro, Sul de Goiás, Bahia e Pernambuco.

A cultura do sorgo está sujeita à incidência de um número relativamente alto de doenças, cujos patógenos são, na maioria, transmitidos pelas sementes. A transmissão desses patógenos torna-se mais importante na cultura de sorgo em virtude da arquitetura de suas panículas. As sementes são muito suscetíveis às infecções pelos fungos do ar, em condições de campo, por estarem totalmente expostas e agrupadas nas panículas, criando condições ideais ao desenvolvimento de microrganismos, principalmente em áreas onde a umidade relativa é alta por ocasião da maturação fisiológica.

Outrossim, as sementes de sorgo destinadas à comercialização, normalmente, não são submetidas a testes de sanidade para a detecção de microrganismos que as infectam ou infestam. Não obstante, até o momento, poucos trabalhos foram realizados, visando avaliar testes de sanidade de sementes mais específicos na detecção dos mais importantes patógenos dessa cultura.

2. MICRORGANISMOS DETECTADOS EM SEMENTES DE SORGO

A literatura especializada em patologia de sementes reporta os seguintes microrganismos associados às sementes de sorgo: *Acromoniella* sp.;

(1) Eng^o Agr^o, Mestre e Doutor em Agrônômia, Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, EMBRAPA, Sete Lagoas, MG.

Acrothecium lunatum; *Alternaria alternata*, *A. longissima*, *A. tenuis*, *A. tenuissima*, *A. trititica*; *Aspergillus candidus*, *A. chevalieri*, *A. flavus*, *A. glaucus*, *A. japonicus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. oryzae*, *A. ruber*, *A. tamarii*, *A. terreus*; *Botrytis cinerea*; *Cephalosporium* sp.; *Cephalothecium* sp.; *Cercospora sorghi*; *Chaetomella* sp.; *Chaetomium* sp.; *Chaetopsis* sp.; *Choanephora* sp.; *Cladosporium herbarum*, *C. tenuissimum*; *Cladotrichum* sp.; *Cochliobolus spicifer*; *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. graminicola*; *Conyospora cassicola*; *Cunninghamella* sp.; *Curvularia cymbopogonis*, *C. eragrostidis*, *C. geniculata*, *C. lunata*, *C. intermedia*, *C. pallescens*, *C. protractata*, *C. trifolii*, *C. verruculosa*; *Cylindrocarpum* sp.; *Dendrophoma* sp.; *Drechslera dematioides*, *D. halodes*, *D. hawaiiensis*, *D. longirostrata*, *D. maydis*, *D. monoceras*, *D. oryzae*, *D. rostrata*, *D. sativa*, *D. sorghicola*, *D. sorghiniana*, *D. speciosa*, *D. tetramera*; *Epicoccum* sp.; *Fusarium acuminatum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. fusarioides*, *F. graminearum*, *F. incarnatum*, *F. lateritium*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. roseum*, *F. semitectum*, *F. solani*; *Fusidium* sp.; *Gibberella fujikurui*, *G. zeae*; *Gloeocercospora sorghi*; *Glomerella cingulata*; *Gonatobotrys*; *Helicosporae* sp.; *Homodendron* sp.; *Leptosphaeria* sp.; *Macrophoma phaseolina*; *Memmoniella* sp.; *Monilia* sp.; *Mucor* sp.; *Mycosphaerella* sp.; *Myrothecium roridum*; *Nigrospora oryzae*, *N. sphaerica*; *Oidium tenellum*; *Olivitrichum* sp.; *Paecilomyces* sp.; *Penicillium brevi-compactum*, *P. herquei*, *P. islandicum*, *P. lividum*, *P. oxalicum*, *P. variabile*, *P. varians*; *Periconia circinata*; *Peronosclerospora sorghi*; *Pestalotia guipini*; *Phaeotrichum* sp.; *Phoma insidiosa*, *P. sorghina*; *Phylloticta sorghina*; *Pillicularia* sp.; *Pseudomonas andropogoni*, *P. syringae*; *Ramularia* sp.; *Ramulispora sorghi*; *Rhizotrichum* sp.; *Rhizoctonia solani*; *Rhizopus nigricans*, *R. oryzae*, *R. tritici*; *Sordaria* sp.; *Sphacelia sorghi*; *Sphacelotheca cruenta*, *S. seiliana*, *S. sorghi*; *Stemphylium* sp.; *Thielavia* sp.; *Tolyposporium ehrenbergii*; *Trichoderma* sp.; *Trichothecium roseum*; *Verticillium* sp. e *Xylaria* sp..

3. FUNGOS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA PARA AS SEMENTES

Os fungos que atacam as sementes de sorgo causam perdas na produção e qualidade das sementes. Produzem descolorações e as suas estruturas de frutificações (picnídios, acérvulos, etc.) e micélio aparecem no pericarpo, ou internamente no endosperma e embrião.

As sementes infectadas, comumente, exibem uma redução na germinação e emergência, o que leva a uma baixa população de plantas no campo. Em adição, as plântulas podem ser mortas após a emergência ou terem o seu desenvolvimento reduzido. Estes problemas tornam-se mais importante, quando o agricultor cultiva variedades de sorgo e guarda suas sementes para a próxima safra.

A grande maioria dos fungos detectados nas sementes de sorgo é patogênica a elas, e podem invadir os florículos na antese. Contudo, fungos saprófitas também poderão se desenvolver nas sementes se elas forem deixadas no campo de produção, por longo período após a maturação fisiológica e as condições forem propícias ao desenvolvimento destes microrganismos.

Geralmente, fungos de armazenamento como *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp. ocorrem, com frequência muito baixa, em sementes de sorgo. A presença de fungos patogênicos, como *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. etc., pode também inibir o desenvolvimento dos fungos de armazenamento.

3.1. Danos provocados nas sementes

Nos sintomas iniciais da colonização fúngica das sementes de sorgo aparece um desenvolvimento micelial branco ou cinza na ráquis, glumas e anteras. As sementes tornam-se descoloridas, e por ocasião da maturação fisiológica, são observadas, por exemplo, as seguintes descolorações: preta para *Curvularia* spp., rosa para *Fusarium* spp., branco-neve para *Ophiostoma* spp. e cinza para *Alternaria* spp. ou *Drechslera* spp.. Os corpos de frutificação de *Phoma* sp. (picnídios) e de *Colletotrichum* sp. (acérvulos) aparecem como pequenos pontos escuros elevados.

A produção extracelular de toxinas por *Colletotrichum graminicola*, *Fusarium moniliforme*, *Drechslera tritimeri*, *Curvularia lunata* e de aflatoxina por *Aspergillus flavus* e *A. niger* é responsável pela inibição da germinação das sementes. As toxinas produzidas por *Trichothecium roseum* e *Claudioseum* sp. inibem a germinação e alongamento da raiz e do coleóptilo. Ademais, *Fusarium moniliforme* e *Curvularia lunata* causam podridão das sementes e mortalidade de pré e pós-emergência. *F. moniliforme*, em particular, comumente inicia a colonização na região escutelar e esta proximidade com o embrião explica a reduzida germinação, devido à destruição indireta do embrião pela interferência na translocação de carboidratos do endosperma.

para o embrião, durante a germinação. *F. semitectum* produz mínima descoloração nas sementes e nenhuma degradação dos tecidos do endosperma e embrião.

Sementes infectadas com *Colletotrichum graminicola* apresentam externamente lesões escuras e alongadas, onde é observada a presença de acérvulos, isolados ou em grupos e, algumas vezes, coalescendo e recobrimdo toda a semente. O desenvolvimento micelial é comumente fraco, de cor branca a laranja-claro. Os danos causados na semente são muito variados: a) apodrecimento das sementes ou morte prematura das plântulas, reduzindo o "stand"; b) tombamento das plântulas; c) sementes infectadas, que podem servir como fonte primária de inóculo para as plantas sadias, durante o período de desenvolvimento da cultura. Em sementes severamente infectadas, observaram-se 90% de podridão de sementes e 100% de mortalidade das plântulas.

Phoma sorghina e *P. incidirosa* produzem, comumente, pequenos picnídios escuros, imersos numa matriz esbranquiçada, na superfície das sementes, podendo deteriorá-las.

3.2. Localização de fungos nas sementes

Colletotrichum graminicola está presente, frequentemente, no pericarpo, ocasionalmente, no endosperma e, raramente, no embrião. *Fusarium moniliforme* e *F. semitectum* foram detectados com freqüência no hilo, na área estilar (oposta ao hilo), no pericarpo, nos endospermas córneo e farináceo, e no embrião da semente. *Alternaria tenuis*, *Curvularia lunata* e *Drechslera sorghicola* só não foram detectadas no embrião. *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. candidus* e *Rhizopus nigricans* foram detectados interna e externamente nas sementes, enquanto que *Aspergillus tamari*, *Cladosporium fulvum* e *Pericillium* sp. foram detectados apenas externamente nas sementes.

3.3. Interação entre fungos

Há uma correlação de antagonismo entre *Curvularia* e *Fusarium*, visto que o primeiro predomina no início do desenvolvimento da semente, e o segundo, na maturidade. *Fusarium* está negativamente correlacionado com *Drechslera* e *Colletotrichum*, enquanto que *Curvularia* está positivamente correlacionada com *Drechslera*, *Alternaria* e *Cladosporium*.

3.4. Doenças incitadas na planta de sorgo

No Brasil, a antracnose (*Colletotrichum graminicola*) é, no momento, a doença mais importante da cultura do sorgo, devido à frequência e à severidade de ataque, chegando, às vezes, a se constituir em fator limitante para a cultura. A helmintosporiose (*Helminthosporium turcicum* e *H. sorghicola*), a cercosporiose (*Cercospora sorghi*), e a podridão de colmo (*Macrophoma phaseolina*), têm sua importância variando com os anos e localidades. O míldio do sorgo (*Peronosclerospora sorghi*) ainda se constitui numa doença em potencial. As seguintes doenças transmitidas pelas sementes de sorgo têm sido observadas, mas ainda se constituem problemas para a cultura de sorgo: carvão-da-panícula (*Sphacelotheca reiliana*), mancha-zonada (*Gloeocercospora sorghi*), estria-fuliginosa (*Ramulispora sorghi*), carvão-coberto (*Sphacelotheca sorghi*), bacteriose das folhas (*Pseudomonas andropogoni*) e fusariose (*Fusarium moniliforme*).

1. Antracnose - *Colletotrichum graminicola* (Cesati) G.W. Wilson

Nas folhas, as lesões são circulares a ovais com $\pm$ 0,5 cm de diâmetro e de coloração avermelhada ou amarelada, dependendo da cultivar. No centro das lesões, são observadas frutificações do fungo. nas nervuras e pedúnculo, as lesões são circulares a elípticas, e em condições de alta umidade são cobertas por uma massa de esporos de cor rosa. No colmo, os sintomas são semelhantes aos do pedúnculo, podendo ocorrer o tombamento das plantas.

2. Helmintosporiose - *Helminthosporium turcicum* Pass.
 (*Drechslera turcica*) Subram. e Jain
 - *Helminthosporium sorghicola* Lefebvre e Sherwin
 (*Drechslera sorghicola*) Richardson e Fraser

H. turcicum causa lesões alongadas e elípticas nas folhas, com 5 a 10 cm de comprimento, de coloração palha a acinzentada e com os bordos bem definidos. Em cultivares suscetíveis, as lesões podem coalescer, conferindo às folhas um aspecto de queima.

H. sorghicola também causa lesões alongadas, porém alternando áreas de tecido vermelho-escuro com áreas necróticas e de uma forma concêntrica.

3. Cercosporiose - *Cercospora sorghi* Ellis & Everhart

As lesões foliares são estreitas e geralmente limitadas pelas nervuras, de coloração vermelha e amarela, dependendo da cultivar. Outro sintoma típico em algumas cultivares é o aparecimento de pequenas áreas circulares necrosadas no interior das lesões, dando-lhes a aparência de uma corrente.

4. Podridão-seca-do-colmo - *Macrophomina phaseolina* (Masub) Ashby

No interior do colmo infectado, há destruição dos tecidos, permanecendo somente os vasos, os quais são recobertos por pequenas e numerosas estruturas esféricas pretas (esclerócios), dando ao colmo uma coloração acinzentada.

5. Fusariose - *Fusarium moniliforme* Sheldon

Invade os tecidos da inflorescência matando os florículos, chegando à completa destruição da panícula. Nos tecidos internos da panícula desenvolve-se uma coloração vermelha a castanha, a qual estende ascendentemente aos ramos da inflorescência. Em ataques severos, pode ocorrer quebra do pedúnculo.

6. Míldio-do-sorgo - *Peronosclerospora sorghi* (West e Upall) G.G. Shaw.

Caracteriza-se pelo aparecimento de faixas cloróticas nas folhas, paralelas às nervuras, sobre as quais, em condições de alta umidade, ocorre o desenvolvimento de uma massa esbranquiçada, formada pelos esporos do fungo. Com o progresso da infecção, a parecem estrias necróticas ao longo das faixas cloróticas e as folhas se rasgam. O fungo também ataca o sistema reprodutivo das plantas, tornando-as estéreis e, por conseguinte, acarretando redução na produção.

3.5. Controle de microrganismos associados às sementes

Os únicos métodos práticos e econômicos, para o controle de microrganismos que infectam ou infestam as sementes de sorgo, são o escape (alteração na época de plantio, evasão da cultura, etc.), o uso de cultivares resistentes e, em última instância, o tratamento químico das sementes.

Pelo método da evasão da cultura, as sementes de sorgo devem ser produzidas em áreas desfavoráveis ao desenvolvimento dos microrganismos. Assim, por exemplo, têm sido produzidas no período do inverno, no Triângulo Mineiro e no Vale Agroindustrial de Jaíba, em MG, em Barbalha, CE e em Petrolina, PE.

Mister-se faz identificar cultivares de sorgo resistentes aos microrganismos associados às sementes ou mesmo incorporar gene(s) nas cultivares comerciais suscetíveis, como métodos ideais para a obtenção de sementes livres de patógenos. As características de sorgo, que induzem resistência das sementes aos patógenos, incluem: panículas abertas com sementes agrupadas em ramos longos e finos; sementes com tanino; presença de pigmentos na testa das sementes; taxa de absorção e de saída de água das sementes; resistência a danos provocados por insetos durante a maturação das sementes; tipo de endospermas (relação córneo/farináceo); resistência a rachaduras do pericarpo etc. As sementes das cultivares IS-14332 e SPV-102 são relacionadas como resistentes a *Fusarium*, *Curvularia* e *Phoma*. A resistência das sementes a *Colletotrichum graminicola* é encontrada na cultivar SC 748-5.

Devido ao profuso desenvolvimento de *Fusarium* spp. e *Curvularia* spp., a resistência das sementes de algumas cultivares a fungos de armazenamento ou a *Phoma* spp. somente pode ser detectada após as resistências a estes patógenos terem sido desenvolvidas. O mesmo acontece para espécies de *Alternaria* e *Drechslera*.

Pulverizações profiláticas das panículas, com fungicidas, durante o estágio de desenvolvimento das sementes, seguida por tratamentos durante o armazenamento, podem proteger a viabilidade das sementes por longo período.

As sementes de sorgo com 11 a 12% de umidade e armazenadas de 4 a 5°C estão resguardadas da grande maioria dos fungos de armazenamento. Como estas temperaturas estão fora dos limites usados no Brasil, compreende-se a importância do tratamento químico das sementes armazenadas.

Os seguintes tratamentos são usados para controlar os fungos associados às sementes de sorgo (100 kg):

a) 300 g de Captan 75 SP, ou Thiram (Rhodauran 75 SP), ou Captan fol (Orthodifolatan 50 PM) para *Aspergillus* spp., *Rhizopus nigricans*, *Drechslera tuscica*, *Alternaria tenuis* e *Fusarium* spp.;

b) 570 g de Ridomil (Apron) para *Peronosclerospora sorghi*;

c) 100-200 g de Thiazendazole (Tecto 10 PS) para *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cercospora sorghi* e *Colletotrichum graminicola*.

d) 3,0 g de Acetato fenil mercúrio (Neantina seco) ou 50 g de Benomyl (Benlate) para *Sphacelotheca* spp..

Os seguintes tratamentos de sementes são usados para controlar os fungos do solo (100 kg de sementes):

a) 200 g de PCNB (Brassicol 75 PS) para *Rhizoctonia solani*;

b) 300 g de Captan 75 SP ou Thiram (Rhodiauran 75 SP) para *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*;

c) 130 g de Terra-Coat SD-205 para *Rhizoctonia*, *Pythium* e *Fusarium*.

4. MÉTODOS DE DETECÇÃO DE MICROORGANISMOS

Os testes de sanidade de sementes de sorgo mais utilizados são relatados a seguir.

1. Método sem incubação das sementes (exame direto) - Não indica a viabilidade dos patógenos das sementes de sorgo. Apenas assinala a presença de estruturas como acêrvulos, picnídios etc. ou os sintomas dos mesmos (descolorações). As sementes são analisadas a olho nu, ou com o auxílio de lupas, microscópio estereoscópico e, em alguns casos, complementados com o exame de lâminas em microscópio.

Este método tem sido utilizado na detecção de *Fusarium moniliforme* (descoloração alaranjada), *Colletotrichum graminicola* (pontuações escuras-acêrvulos), *Phoma sorghina* (pontuações escuras-picnídios), *Curvularia lunata* (descoloração escura), *Drechslera turcica* e *D. sorghicola* (descoloração cinza) etc.

2) Método de sintomas em plântulas - Pode ser conduzido usando-se tubos de ensaio ou placas de Petri. 10 ml de ágar-água a 1% são adicionados a tubos de ensaio de 160 x 16 mm. Seguindo a autoclavagem a 120°C por 20 minutos, os tubos são deixados inclinados num ângulo de 60 graus, para

a solidificação do meio. Este ângulo facilita o exame dos fungos associados às sementes não germinadas. Uma semente de sorgo é semeada por tubo e cada tubo é fechado com papel aluminizado ou algodão, os quais são removidos cinco dias após a semeadura, antes da plântula atingir o topo. As sementes são incubadas a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por doze a quatorze dias sob doze horas de ciclos alternados de luz do dia artificial (LDA) e escuro. A luz é promovida por lâmpadas fluorescentes de forma tubular de 40 watts, colocadas horizontalmente a 60 cm acima das sementes. As sementes não germinadas são examinadas sob microscópio estereoscópico para a identificação dos patógenos e, nas plântulas infectadas, os coleóptilos e radículas são examinados visualmente para a análise dos sintomas.

Sementes de sorgo infectadas com *Colletotrichum graminicola* e/ou *Fusarium moniliforme* e *F. semitectum* mostram germinação extremamente baixa, e redução do comprimento do coleóptilo e das radículas. Apresentam um pronunciado acastanhamento nas mesmas, devido à necrose dos tecidos. Nos tecidos lesados do coleóptilo, observam-se os acérvulos de *C. graminicola*. Este método tem sido usado para testar e avaliar tratamentos químicos das sementes e para demonstrar a transmissão de patógenos pelas sementes de sorgo.

3) Método da placa de ágar (com ou sem pré-tratamento das sementes) - O tempo requerido para testar lotes de sementes por este método é pequeno, devido aos fungos serem comumente identificados pelo exame visual, baseando-se nas características de suas colônias. A identificação de fungos diferentes, mas similares na aparência das colônias, pode exigir o uso de um microscópio estereoscópico.

Placas de Petri de 9 cm de diâmetro, de vidro Pyrex ou plástico transparente, recebem, cada uma, cerca de 10 ml de BDA (batata-dextrose-ágar). Normalmente, faz-se o pré-tratamento das sementes com hipoclorito de sódio a 1%, durante 10 minutos, para eliminar os saprófitas. A seguir, procede-se o plaqueamento de 25 sementes por placa e estas são incubadas por sete dias a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sob ciclos alternados de doze horas de luz do dia artificial (LDA) e escuro, com a fonte de luz distando 40 cm da superfície das sementes. Após a incubação, as sementes são examinadas visualmente ou, com raras exceções, em microscópio estereoscópico. Devido à semelhança de suas colônias, há dificuldades de discernimento, por exemplo, entre as colônias escuras produzidas

por *Drechslera* spp. e *Alternaria tenuis*; colônias vermelhas brilhantes de *Fusarium graminearum* e *Epicoccum* spp., etc.

Fusarium moniliforme apresenta um profuso desenvolvimento em sementes não tratadas, quando se utiliza este método.

4. Método do papel de filtro (com ou sem pré-tratamento das sementes) - Este método fornece dados da viabilidade das sementes de sorgo e da patogenicidade de grande número de fungos.

Vinte e cinco sementes de sorgo são colocadas em cada placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo três papéis de filtro bem umedecidos com água esterilizada. Incubam-se as sementes a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por sete dias, sob ciclos alternados de doze horas de luz (LDA) e escuro. Após o período de incubação, as sementes e plântulas são examinadas quanto aos sintomas ou presença de microrganismos, com o auxílio de microscópio estereoscópico (25-50x) ou em microscópio.

Plântulas oriundas de sementes colonizadas por fungos patogênicos podem ser transplantadas para vasos com solo esterilizado, para o estudo de desempenho dessas plantas, uma vez que o fungo, embora não tenha afetado a germinação, venha a colonizar a planta em estágio mais avançado de desenvolvimento.

5. Método do papel de filtro com 2,4-D (com ou sem pré-tratamento das sementes) - A metodologia é a mesma do item 4, apenas substitui-se a água utilizada para o umedecimento do papel de filtro por uma solução 0,2% de sal de sódio do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) ou 8 ml do herbicida comercial DPA 806 BR (670 g/l de 2,4-D) em um volume final de 1000 ml de solução. Este procedimento visa inibir a germinação das sementes, com um menor risco de mascaramento dos resultados, pela contaminação de uma semente sadia pela semente doente do lado.

Colletotrichum graminicola e *Phoma sorghina* têm sido eficientemente detectados por este método.

6. Método do papel de filtro com congelamento (com ou sem pré-tratamento das sementes) - Após o plaqueamento das sementes, como descrito no item 4, segue-se a incubação, primeiro a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas para a em

bebição e início da germinação, e depois, as placas com sementes são transferidas para um freezer (-20°C) por 24 horas. Subseqüentemente, as placas são novamente incubadas a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por cinco dias, sob ciclos alternados de luz (LDA) e escuro. Após a incubação, as sementes são examinadas sob microscópio estereoscópico (25-50x) para a identificação dos microrganismos.

Penicillium spp. e *Rhizopus stolonifer* são grandemente mascarados em sementes de sorgo, quando se utiliza este método, por terem seus desenvolvimento comprometidos.

Em todos os testes descritos, o pré-tratamento das sementes com hipoclorito de sódio a 1% não tem efeito expressivo na quantidade de *Drechslera* spp., mas decresce significativamente a quantidade de *Fusarium moniliforme*. Ademais, *Alternaria tenuis*, *Epicoccum* sp., *Penicillium* spp., *Rhizopus stolonifer* e *Cladosporium* spp., são quase que completamente eliminados pelo pré-tratamento.

4.1. Padronização de métodos de detecção

Comparando-se os métodos do papel de filtro e papel de filtro com congelamento, ambos sem o pré-tratamento, com o método da placa de ágar com o pré-tratamento das sementes, na detecção de *Fusarium moniliforme* e *F. semitectum* em sementes de sorgo, encontrou-se a maior frequência desses patógenos quando se utilizou o papel de filtro com congelamento. Também ficou demonstrado posteriormente, ser o papel de filtro sem o pré-tratamento das sementes mais eficiente do que o método da placa de ágar (BDA), na detecção dos seguintes gêneros de fungos: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Acromoniella*, *Cephalothecium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Colletotrichum*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Fusidium*, *Gonatobotrys*, *Drechslera*, *Penicillium* e *Rhizopus*. O método da placa de ágar foi superior na detecção de *Curvularia*, *Leptosphaeria*, *Nigrospora*, *Phaeotrichum*, *Phylllosticta* e *Stemphylium*.

Do exposto, observa-se que apenas três dos seis testes de sanidade de sementes mais utilizados em sorgo foram comparados. Não obstante, sugere-se, na falta de uma comparação conjunta desses, a utilização dos métodos: papel de filtro sem pré-tratamento para *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus stolonifer*; papel de filtro com pré-tratamento para *Ma*

crophoma phaseolina; papel de filtro com 2,4-D para *Colletotrichum graminicola* e *Phoma sorghina*; papel de filtro com congelamento sem pré-tratamento para *Fusarium moniliforme*, *F. semitectum*, *Alternaria tenuis*, *Epicoecium* sp., *Cladosporium* sp. e *Curvularia lunata*; papel de filtro com congelamento com pré-tratamento para *Daechlera turcica* e *D. sorghicola*; e placa de ágar para *Fusarium graminearum*.

BIBLIOGRAFIA

- AGUIAR, N.T.O.; BARROS, S.T.; FERNANDES, M.J. e AGUIAR, L.A.B. População fúngica de sementes de sorgo, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, procedentes de quatro municípios do Estado de Pernambuco e toxigenidade dos *Aspergillus flavus* isolados. Fitopatologia Brasileira, Brasília, 7(3):471, 1982. (Resumo).
- ANANDSUR, K.H. Toxic effect of the culture filtrate of *Trichothecium roseum* on seed germination and growth of sorghum. Indian Phytopathology, New Delhi, 29(3): 278-80, 1976.
- BHAGAVAT, V.Y. and PEDGOANKAR, S.M. Studies on the head moulds of jowar, effect of individual fungus on seed viability during storage. Sorghum News Letter, 16: 65-6, 1973.
- BHALE, M.S. and KHARE, M.N. Seed-borne fungi of Sorghum in Madhya Pradesh and their significance. Indian Phytopathology, New Delhi, 35(4): 676-78, 1982.
- BRANÇÃO, N.; RAUPP, A.A.A.; AZAMBUJA, N.H.B. e MARTINS, R.M. Levantamento de fungos de grãos de sorgo armazenado (Constatação). In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL, 12., Pelotas, 9 a 12/8, 1983. Pelotas, RG. EMBRAPA/UEPAE, 1983, p. 45-51.
- CHAUDHARY, K.C.B. & MATHUR, S.B. Infection of sorghum seeds by *Colletotrichum graminicola*. 1. Survey, location in seed and transmission of the pathogen. Seed Sci. & Technol., Zurich, 7: 87-92, 1979.
- FERNANDES, F.T. Doenças do Sorgo. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 5(56): 35-41, 1979.
- INTERNATIONAL WORKSHOP ON SORGHUM DISEASES, Hyderabad, 1978. Proceedings. Patancheru, ICRISAT, 1980. 469 p.
- MATHUR, S.B. Testing seeds of tropical species for seed-borne diseases. Seed Sci. & Technol., Zurich, 11: 113-28, 1983.
- MATHUR, S.K., MATHUR, S.B. and NEERGAARD, P. Detection of seed-borne fungi in sorghum and location of *Fusarium moniliforme* in the seed. Seed Sci. & Technol., Zurich, 3: 683-90, 1975.

- MINUSSI, E. e KIMATI, H. Alguns fungos sobre sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Rev. Centro Ciências Rurais, 8(4): 307-11, 1978.
- MISHRA, A. and SIRADHANA, B.S. Chemical control of anthracnose of sorghum. Indian Phytopathology, New Delhi, 31(2): 225-7, 1978.
- NEERGAARD, P. Seed Pathology, Surrey, England, MacMillan Press LTD, v.1. , 1977. 839 p.
- PETTIT, R.E. and TABER, R.A. Fungi involved in the deterioration of grain sorghum. In: WEATHERED SORGHUM GRAIN. Texas, USA, Texas A & M University, College Station, 1978, p. 33-42.
- PINHEIRO, J.M. e COSTA NETO, J.P. Identificação de organismos fúngicos em sementes de sorgo grânifero *Sorghum bicolor* (L.) no Rio Grande do Sul. Agronomia Sulriograndense, Porto Alegre, 15(1): 127-33, 1979.
- PINTO, N.F.J.A. Diagnóstico da patologia de sementes de sorgo no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 1., Piracicaba. Situação e perspectivas da patologia de sementes no Brasil. Piracicaba, ABRATES, 1984. p. 105-5.
- PINTO, N.F.J.A. Resistência a patógenos associados às sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 1., Piracicaba. Situação e perspectivas da patologia de sementes no Brasil. p. 130-3.
- SIDOQUI, M.R.; MATHUR, S.B. and NEERGAARD, P. Longevity and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. in seed stored at 5°C. Seed Sci. & Technol. , Zurich, 11: 353-61, 1983.
- SUBBARAJA, K.T. Studies on the effect of four saprophytic fungi on seed quality of Hybrid CSH-1. Sorghum News Letter, 16: 37-40, 1973.
- TAKEDA, A.S.; NAKAMURA, K.; FERNANDES, N.G.; KRONKA, S.N.; GOMES, G.; INOUE, L.T. Efeito do tratamento químico de sementes sobre o controle do míldio do sorgo (*Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw.) em milho e sorgo vassoura. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 3., Jaboticabal, 1980. Resumo. p. 11.
- TRIPATHI, P.K. head fungi of sorghum, phytotoxins and their effects on seed germination. Indian Phytopathology, New Delhi, 28: 499-501, 1974.
- VIDHYASEKARAN, P.; THULASIDAS, G.; RAMASAMY, K.R. and KANDASWAMY, T.K. Preservation of viability of sorghum seeds by controlling seed - borne fungi. Indian Phytopathology, New Delhi, 33(2): 225-30, 1980.

CAPÍTULO XXIII

TESTES DE SANIDADE DE SEMENTES DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.)Luiz Carlos Bhering Nasser⁽¹⁾1. INTRODUÇÃO

Doenças causadas por *Helminthosporium* spp., *Septoria* spp. e *Fusarium* spp. são, entre outros fatores, um dos que limitam a produtividade de trigo no sul do Brasil, especialmente nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Estas doenças ocorrem todos os anos e causam perdas, de acordo com as condições climáticas da região. Em anos considerados bons para a triticultura, os níveis de infecção são relativamente baixos, devido às condições climáticas favoráveis, principalmente menor umidade, situando-se a produtividade média das lavouras em torno de 1.110 kg/ha. Em anos considerados ruins, com altas umidades relativas, algumas lavouras de trigo, dependendo de certas microrregiões, poderão não atingir produção de 400 kg/ha. Nas últimas décadas, o número de anos considerados ruins parecem estar próximo do número de anos considerados bons para a triticultura no sul do país.

Mesmo sob as melhores condições para a triticultura, as condições climáticas, nessa região, tendem a favorecer grandes perdas por doenças. Por essa razão, existe atualmente a tendência de mudança das regiões de produção de trigo para locais menos úmidos, principalmente para a região central do país, denominada região dos Cerrados (10% das terras aráveis do mundo).

O Ministério da Agricultura, através da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), entidade envolvida direta e indiretamente

⁽¹⁾ Eng^o Agr^o, Ph.D., Fitopatologista, EMBRAPA/CPAC, Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados. Caixa Postal - 70.0023, CEP.: 73300, Planaltina - DF.

no Sistema Cooperativo de Pesquisa, tem planos, a longo prazo, de aumentar a produtividade de trigo, no Brasil. Atualmente, há, em execução, um programa de pesquisa enfocando vários aspectos, visando atingir esse objetivo.

Os aspectos de pesquisa com trigo enfocados atualmente são:

1) melhoramento de plantas, visando a obtenção de variedades e doenças;

2) desenvolvimento de técnicas avançadas para melhorar as condições dos solos e manejo de culturas;

3) teste de fungicidas e inseticidas para controle de doenças e pragas das partes aéreas do trigo.

Obviamente que, num programa de pesquisa arrojado e muito amplo como esse, pois abrange diversas regiões do Brasil, certos aspectos não receberam a devida atenção e necessitam ser enfatizados em futuros programas de pesquisa, se altas produtividades necessitam ser atingidas.

Um aspecto não relevado diz respeito à qualidade de sementes. É verdade que pesquisas e leis têm ajudado a melhorar o padrão de sementes selecionadas, no aspecto de germinação e pureza. Aspectos para melhorar as condições sanitárias das sementes, entretanto, têm sido quase que totalmente negligenciados. Atualmente, não existe, no Brasil, um programa unificado para o monitoramento de microorganismos associados a sementes de trigo, metodologia adequada para testes de sanidade ou legislação específica que regulamente o uso de sementes livres de patógenos e/ou obrigue o uso de tratamento com fungicidas, em caso de lotes de sementes infeccionados - detectados através de laboratórios de análise sanitária de sementes credenciados para tal função - devido à falta de informação sobre as condições sanitárias de sementes de trigo, produzidas nas diversas microrregiões do Brasil. Fitopatologistas de certas regiões produtoras de trigo têm relatado populações de microorganismos - especialmente fungos patogênicos - associados a lotes de sementes de trigo, produzidos, principalmente, nos Estados do Rio Grande do Sul e Paraná; porém, os testes foram realizados, usando-se métodos e condições de laboratório diferentes. Os artigos publicados até agora, no Brasil, indicam que as sementes de trigo produzidas estão altamente contaminadas com patógenos.

Existe um grande potencial para se desenvolver em técnicas e metodologias padronizadas para melhorar a qualidade sanitária das sementes de trigo, através da introdução de legislação apropriada, de metodologias e níveis de tolerância, bem como, recomendações baseadas em testes sanitários de rotina, seguidos de recomendações de fungicidas específicos, para auxiliar na elevação da produtividade de trigo no país.

2. MICROORGANISMOS TRANSMISSÍVEIS POR SEMENTES DE TRIGO

O principal e mais eficiente meio de disseminação da maioria das doenças é a semente, especialmente, se considerarmos que, através das sementes, os microorganismos podem ser transportados a grandes distâncias e introduzidos em novas áreas. De acordo com R.J. Richardson, cerca de 28 microorganismos associados a sementes de trigo já foram relatados mundialmente, incluindo não apenas fungos, mas também bactérias, vírus e nematóides. Os microorganismos já detectados em sementes de trigo são: *Alternaria*, spp., *Aspergillus* spp., *Calonectria nivallis*, *Cephalosporium gramineum*, *Cladosporium* spp., *Claviceps purpurea*, *Drechslera* spp. (*Helminthosporium* spp.), *Curvularia* spp., *Dilophospora alopecuri*, *Fusarium* spp., *Ophiobolus graminis*, *Leptosphaera* spp., *Nigrospora* spp., *Puccinia* spp., *Sclerophthora macrospora*, *Sclerotium rolfsii*, *Selenophoma denecis*, *Septoria* spp., *Tilletia* spp., *Urocystis agropyri*, *Ustilago nuda*, *Corynebacterium* spp., *Ewaria rhapontici*, *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., Barley stripe mosaic virus - BSMV, *Anguina tritici*.

3. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS PRINCIPAIS DOENÇAS DA PARTE AÉREA DO TRIGO, TRANSMISSÍVEIS POR SEMENTES, QUE OCORREM NO BRASIL

Nas condições climáticas do Sul do Brasil, dependendo de microrregiões e ano agrícola, a precipitação anual média varia entre 1.700 a 2.000 mm (média dos últimos 30 anos = 1.769 mm), o que acarreta condições de alta umidade.

Em consequência disso, a parte aérea da cultura é atacada por vários patógenos, os quais, individualmente ou em combinação, afetam a qualidade sanitária das sementes, além de determinarem os níveis de produtividade da lavoura. Entre os patógenos que atacam mais frequentemente as plantas de trigo podemos destacar as espécies de *Drechslera* (*Helminthosporium*), *Septo*

ria, *Fusarium* e *Puccinia*. Ocorrendo com certa freqüência, espécies de *Alternaria*, *Phoma* e *Cladosporium*, cujo papel no desfolhamento e/ou redução dos rendimentos não foram ainda bem estudados. Dos gêneros de fungos acima mencionados, transmissíveis por sementes, destacam-se, *Helminthosporium sativum*, *Septoria nodorum* e *Fusarium graminearum*.

a) Helminthosporiose, mancha-marrom ou ponta-preta - O agente causador da doença é o *Cochiobolus sativus* = (*Drechslera sorokiniana*) (Ito & Kurib) Drech. Ex. Dastur, forma imperfeita *Helminthosporium sativum* Pam King & Bakke. O fungo afeta diversas partes da planta, podendo atacar em qualquer estágio de desenvolvimento da mesma. Nas folhas, os sintomas, são de início manchas ovais, de coloração marrom-escura a negra. Essas manchas coalescem, formando outras maiores, tipicamente elípticas, com esporulação abundante. Em condições ótimas para o desenvolvimento da doença - alta umidade e temperatura entre 20 e 25°C - os grãos infectados mostram sintomas característicos de ponta-preta.

Estudos de levantamento de perdas causadas por *Helminthosporium* em lavouras de trigo reportaram que esta doença pode ocasionar perdas de até 30% da produção, além de infectar e ser transmissível pelas sementes. Dependendo da época do ano e das condições climáticas em que as sementes foram produzidas, de 10 a 100% das sementes de trigo podem ser infectadas por *D. sorokiniana*. Esta informação não deixa dúvidas de que o patógeno não ataca apenas as folhas, espigas e sementes das plantas de trigo, no campo, mas é também, freqüentemente transmitido por sementes. Levantamentos sobre as condições sanitárias de sementes de trigo, realizados em diferentes Estados da Federação, reportaram que 70,4% das amostras de sementes estavam infectadas com *D. sorokiniana*.

O cultivo contínuo de soja-trigo usado intensivamente favorece também o acúmulo do inóculo de *Drechslera* no solo. A combinação de diversificação de cultura, rotação por períodos de, pelo menos, três anos, com hospedeiro não suscetível, e uso de sementes livres do patógeno e/ou tratadas com fungicidas, evitaria perdas e possibilitaria a produção de sementes saudáveis.

b) Giberela, fusariose ou sarna - O agente causal da fusariose é o fungo *Giberela zeae* (Schw) Petch, forma imperfeita *Fusarium graminearum*

Schwebe, o qual pode atacar planta em qualquer estágio de desenvolvimento. Quando o ataque ocorre na floração, resulta no abortamento de flores e/ou os grãos ficam chochos. Temperaturas entre 24°C e 30°C e umidades elevadas, principalmente na fase de floração, favorecem a formação de uma massa de coloração rosada, formada pelo micélio do fungo, nas espiguetas ou em toda a espiga, ocasionando perdas de até 70%. É muito rara a ocorrência isolada da giberela, pois as condições climáticas favorecem também o aparecimento de outras doenças. A Giberela raramente ocorre isoladamente.

c) Septoríose ou mancha-da-gluma - O agente causal da septoríose é o fungo *Leptosphaeria nodorum* Muller. Forma imperfeita *Septoria nodorum* (Berk.). Infecta folhas, colmos, espigas e sementes. Nas folhas, os sintos manifestam-se inicialmente com manchas irregulares, de cor marrom-clara a escura. Temperaturas entre 15 a 20°C e altas umidades favorecem a doença, podendo os nós atacados tornarem-se enrugados e quebradiços, e as glumas de coloração marrom-escura.

A septoríose está, atualmente, sendo considerada como um dos patógenos potencialmente mais destrutivos em trigo; estudos mostram que o ataque de *S. nodorum*, logo após o espigamento, pode causar perdas de até 65%.

Revisando a literatura mundial referente à patologia de sementes de trigo, constata-se que a metodologia para detecção de patógenos é usada de diferentes maneiras, sendo difícil a comparação de resultados, pois as variações são diferentes e de grandes amplitudes. Entretanto, os resultados dos artigos demonstram claramente a transmissibilidade de patógenos através de sementes e a importância dos programas de produção de sementes sadias. Torna-se claro que a melhoria da qualidade sanitária da semente resultará em elevação de produtividade.

As medidas de controle recomendadas para estas três doenças (Helmintosporíose, Giberela e Septoríose) transmitidas principalmente através das sementes, são:

- 1) uso de cultivares tolerantes;
- 2) destruição dos restos de cultura;
- 3) rotação de culturas;
- 4) eliminação de plantas voluntárias e/ou hospedeiras;

5) uso de sementes sadias, e/ou tratadas com fungicidas específicos;

6) pulverizações das partes aéreas com fungicidas.

4. METODOLOGIA PARA DETECÇÃO DE PATÓGENOS EM SEMENTES DE TRIGO

O objetivo do teste de sanidade é a obtenção de informações quantitativas e qualitativas sobre os microorganismos associados às sementes, visando orientar o usuário no procedimento com relação a um determinado lote de sementes, como, por exemplo: necessidade de tratar as sementes com fungicidas, que fungicida usar, existência de patógeno na região de cultivo, necessidade de pulverizações para obtenção de plantas sadias e saber se houve mudança na microflora associada às sementes durante o armazenamento.

Atualmente, há necessidade de padronização, a nível de pesquisa, da metodologia para detecção de patógenos em sementes de trigo. Esforços nesse sentido estão sendo feitos pela Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, através do Comitê de Patologia de Sementes - Coordenação Trigo - visando a geração de metodologias adequadas às nossas necessidades, para, em seguida, sugerir ao Ministério da Agricultura mudanças nas normas metodológicas para detecção de patógenos atualmente em vigor.

O método a ser usado dependerá do patógeno e do objetivo do teste. A seleção do método e a avaliação dos resultados requerem conhecimento dos métodos existentes e experiência com os mesmos. Os métodos recomendados para sementes de trigo atualmente em vigor são os descritos a seguir:

1) Exame direto - A amostra média ou uma amostra de trabalho é examinada com um estereoscópio ou à vista desarmada, na pesquisa de cravagem e outros esclerócios, galhas de nematóides, carvão, insetos, ácaros e evidência de doenças e pragas na semente ou o material inerte, tais como corpos frutíferos, descoloração e danos.

2) Exame após a incubação - Depois de um período especificado de incubação, a amostra de trabalho é examinada para verificar a presença ou sintoma de doenças, pragas e distúrbios nas sementes ou plântulas. O exame pode ser superficial ou interno. Três métodos podem ser usados:

a) O papel de filtro é usado quando é requerido desenvolver os patógenos das sementes ou examinar as plântulas. As sementes, com ou sem pré-tratamento, são espaçadas durante a incubação, de maneira a evitar a contaminação secundária. Quando necessário, são fornecidas condições calculadas de luz, para estimular a esporulação de fungos. A inibição da germinação por produtos químicos ou outros meios é, algumas vezes, desejável. Alguns patógenos podem ser identificados sem aumento, mas o microscópio estereoscópio ou um microscópio composto são, muitas vezes, necessários para a identificação dos esporos.

b) Areia, compostos artificiais e meios similares podem ser usados para certos patógenos. As sementes, normalmente sem pré-tratamento, são semeadas no meio de cultura, em espaços adequados, de maneira a evitar as infecções secundárias de organismos e incubadas em condições favoráveis para a expressão dos sintomas.

c) Placas de ágar são usadas para obter o desenvolvimento de organismos identificáveis das sementes. São requeridas precauções rigorosas de esterelização. As sementes, normalmente após o pré-tratamento, são espaçadas sobre a superfície de ágar, são identificadas, macro ou microscopicamente. A iluminação é, algumas vezes, útil e podem ser usados inibidores de germinação.

3) Exame de plantas em crescimento - O exame de sintomas de doenças de plantas desenvolvidas a partir de sementes é, algumas vezes, o procedimento mais prático para determinar se estão presentes, na amostra, bactérias, fungos ou vírus. As sementes da amostra sob teste podem ser semeadas ou o inóculo obtido da amostra pode ser usado para teste de infecção em plântulas saudáveis ou partes de plantas. As plantas precisam estar protegidas contra infecções acidentais externas e exigem cuidadosas condições de controle.

Amostra de trabalho: quatrocentas sementes.

Meio: papel filtro umedecido e colocado em recipiente fechado, de maneira que alta umidade seja mantida; distância entre sementes, no mínimo, de 2 cm.

Incubação: o trigo a 10°C por 14 dias. Para estimular a esporulação de certos fungos, é interessante usar um ciclo de 12 horas de luz escu-

ra, com a luz próxima da ultravioleta (luz negra). Para o trigo, é preferível um período de escuridão durante o período de temperatura mais baixa de incubação requerido para a *Septoria nodorum*.

Exame: examinar sob um microscópio de pouco aumento.

Trigo: particularmente, para *Septoria nodorum*, *Fusarium nivale*, *F. graminearum* e *Drechslera sorokiniana*.

Amostra: colher uma amostra pelo método de amostragem adotado e usar quatrocentas sementes por ensaio.

Pré-tratamento: mergulhar as sementes durante 10 minutos numa solução de hipoclorito de sódio, contendo, aproximadamente, 1% de cloro ativo em peso e deixar escorrer o excesso de líquido.

Meio: depois do pré-tratamento, colocar as sementes em placas de Petri (9,5 cm) com ágar de extrato de malte a 2%, à razão de dez sementes por placa. Para este trabalho, devem ser utilizadas pinças, cujas pontas são esterilizadas depois da colocação de cada dez sementes.

Incubação: seis dias a 22°C.

Pesquisa de *Fusarium* spp., *Drechslera*, *D. sorokiniana* e *D. victuariae* - Examinar as placas ao fim de seis dias, a olho nu. Devem ter se desenvolvido colônias características dos fungos. Pode, ocasionalmente, ser necessário usar lupa ou microscópio, para confirmação e, em especial, para a diferenciação de espécies de *Fusarium*⁽²⁾.

4) Cálculo e informação dos resultados - Os resultados são expressos em percentagem, por número de sementes afetadas ou por número de or

(2)

Nota 1: as espécies de *Fusarium* a seguir indicadas podem ser identificadas sem muita dificuldade: *F. nivale* (Fr.) Ces., *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. culmorum* (Sm.) Sacc., e *F. poae* (Peck) Wr.. É necessário, às vezes, examinar os esporos, para poder-se fazer a identificação.

Nota 2: os fungos transmitidos pelas sementes tendem a morrer com o decorrer do tempo. Se for retardada a observação, há de se esperar resultados mais baixos do que os obtidos em uma pesquisa imediata. Esta observação aplica-se, particularmente, a certas *Fusarium* spp., contaminadores de sementes e cereais.

ganismo por peso da amostra examinada. Quando o remetente solicitar um ensaio de sanidade, o Boletim de Análise respectivo deverá incluir a indicação da presença de organismos causadores de doenças, pragas ou outras condições que possam afetar a qualidade do produto em observação. No preenchimento do Boletim, deverá ser respeitada a seguinte indicação: se a informação é exigida em relação a uma ou mais espécies de organismos ou condições, a sua presença deve ser registrada juntamente com a incidência de cada uma. Se a observação não revela tal presença, o fato deve registrar-se do seguinte modo.

- Esta semente foi examinada para pesquisa de Resultados negativos.

- O resultado deve ser relatado em Boletim específico e os nomes dos organismos expressos em latim.

- No resultado devem constar o método usado, incluindo qualquer pré-tratamento aplicado, e a quantidade da amostra ou da fração examinada.

- A ausência de uma declaração concernente à condição de sanidade não implica necessariamente que esta seja satisfatória.

LITERATURA CITADA

- ANÔNIMO. Subprograma de apoio governamental a implantação do plano nacional de sementes. In: as atividades do AGIPLAN e seus reflexos na produção de sementes. Brasília, Distrito Federal, Brasil, 16-20 p., 1976.
- ANÔNIMO. Informação sobre a produção de semente fiscalizada de trigo CEST/RS - In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 9., Londrina, Paraná, 1976. 26 p.
- ANÔNIMO. Trigo, mais da metade da lavoura já foi colhida, O Interior, número 356. Rio Grande do Sul, Brasil. 4 p., 1981.
- ANSELME, C. Importance en culture de organismes pathogenes transmis par les semences. Seed Science and Technology, Zurich, 9: 689-695, 1981.
- BAIER, A.C. Eficiência de fungicidas e inseticidas em trigo e triticales. PESQUISA AGROPECUÁRIA BRASILEIRA, Brasília, 17: 85-91. 1982.
- BOUGLE, B.R. Tentative approach to the wheat-roon problem in southern Brazil. In: SYMPOSIUM ON THE SOIL/ROOT SYSTEM, 1981, 153-172 p.
- CAETANO, V.R.; CASTRO, J.A.D. & SANTIAGO, J.C. Efeito dos problemas fitossanitários na produção de trigo CV. lagoa vermelha sob condições controladas de campo de 1972. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 5., Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 1972, 1-10 p.
- DICKSON, J.G. Diseases of field crops. New York, McGraw-Hill, 1947, 429p.
- DIEHL, J.H. Podridão comum de raízes de trigo. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 11., Porto Alegre, RS, 1980. 176 p., Resumos e Comunicados técnicos.
- DOMINGUES, W.M.S. Evolução da produção de sementes de trigo e soja no estado do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS., 1980. 62 p.
- FERNANDES, J.M.C.; PICININI, E.C.; SARTORI, J.F.; PRESTES, A.M. & PIEREBON, C.R. Tolerância de cultivares de trigo a *Septoria nodorum* Berk. em casa-de-vegetação. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, Porto Alegre, RS, 1980, Fitossanidade, p. 57-103.

- GAUDÊNCIO, C.A.; PETUCCI, G.L.E.H. Influência da sanidade e do tratamento de sementes com "thiram" no poder germinativo, no vigor e na emergência de duas cultivares de trigo, em determinações de laboratório e de campo. Agron. Sulriograndense, Porto Alegre, 13: 237-47.
- HEWITT, P.D. Disease testing in a seed improvement program. In: LATIN AMERICAN WORKSHOP ON SEED PATHOLOGY, 1, Londrina, PR., 1977. Proceedings. IAPAR, p. 72-88.
- KIETREIBER, M. Detection of *Septoria nodorum* in wheat seed based on fluorescent phenomena of the fungus. Wien, Bundesanstalt für Pflanzenbau und Samenprüfung Jahrbuch Bundesanstalt für Pflanzenbau und Samenprüfung. 1977. p. 101-1.
- LINHARES, A.G. Tratamento de semente de trigo no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 7., Passo Fundo, RS, 1975. p. 1-15.
- LINHARES, A.G. and W.C. LUZ. Efeito do tratamento de semente com fungicida sobre rendimento, em trigo. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 11., Porto Alegre, RS, 1980. Resumos e Comunicados técnicos. p. 23.
- LUZZARDI, G.C. Incidência de *Alternaria tenuis* Ness. em folhas de trigo. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 11., Porto Alegre, RS, 1980. Resumos e Comunicados técnicos. p. 159.
- LUZZARDI, G.C.; LUZ, W.C. & C.R. PIEREBOM. Ocorrência de *Xanthomonas translucens* f. sp. undulosa e *Pseudomonas syringae* em trigo no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 11., Porto Alegre, RS. Resumos e Comunicados técnicos, 69 p.
- MEHTA, Y.R. Doenças do trigo e seu controle. São Paulo, Editora Agronômica Ceres, 1978. 190 p.
- NASSER, L.C.B. Studies on microorganisms carried by cereal seeds produced in Brazil and Washington: their influence on seedling vigor, chemical and biological control, and histology of *Septoria nodorum* on wheat seed. Pullman, Wa., Washington State University, 195 p. Tese (Doutorado).

- NASSER, L.C.B.; D. BRUNETTA, E., BISCAIA, R.C. Controle químico da "Helminthosporiose" da cevada. *Fitopathologia Brasileira*, Brasília, 3:100-104, 1978.
- NEERGAARD, P. Seed pathology, New York, John Wiley and Sons, 1977. 839 p.
- POPINIGIS, F. Produção de sementes básicas na EMBRAPA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, Curitiba, PR., 1979. Anais, 35 p.
- PRESTES, A.M. & MUNES, J.C. Controle químico da *Septoriose* (*Septoria nodorum* Berk.) em 1979. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 11., Porto Alegre, RS, 1979. Resumos e Comunicados técnicos, p. 150-151.
- REIS, E.M.; PICININI, E.C. & SIMON, A.P. Levantamento sanitário de fungos transmitidos pela semente de trigo. *Trigo e Soja*, 1: 3-9, 1975.



impresso por

R. VIEIRA - GRÁFICA E EDITORA LTDA.

Rua do Açúcar, 244 - Tel.: (0192) 41-5813

CAMPINAS - SP - CEP 13065