DOENÇAS FÚNGICAS E BACTERIANAS EM ALGUMAS ESPÉCIES DE ARACEAE

JULIANA PIRES LACERDA

2006

JULIANA PIRES LACERDA

DOENÇAS FÚNGICAS E BACTERIANAS EM ALGUMAS ESPÉCIES DE ARACEAE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza

LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL 2006

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFLA

Lacerda, Juliana Pires

Doenças fúngicas e bacterianas em algumas espécies de *Araceae /* Juliana Pires Lacerda. -- Lavras : UFLA, 2006.

78 p.: il.

Orientador: Ricardo Magela de Souza. Dissertação (Mestrado) – UFLA. Bibliografia.

1. Planta ornamental. 2. Diagnose. 3. Fungo. 4. Bactéria. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.924

JULIANA PIRES LACERDA

DOENÇAS FÚNGICAS E BACTERIANAS EM ALGUMAS ESPÉCIES DE ARACEAE

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 17 de março de 2006

Prof. Dr. Eduardo Alves UFLA

Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning UFLA

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva UFLA

Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza Departamento de Fitopatologia/UFLA (Orientador)

> LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus, A meus pais, pelo amor, apoio e dedicação,

DEDICO

Ao meu filho, Luís Filipe, por ser minha inspiração. Às minhas irmãs, Ana Paula e Patrícia, pela amizade e incentivo Aos meus padrinhos, José Lázaro e Idezinha, pelo carinho e apoio, **OFEREÇO.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e vitória conquistada.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Dr. Ricardo Magela de Souza, pelo incentivo, orientação, amizade e confiança.

Aos professores Dr. Eduardo Alves e Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva, pelas sugestões e participação na banca examinadora.

Ao professor Ludwig H. Pfenning, pelas sugestões, isolados cedidos e participação na banca examinadora.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos adquiridos durante o curso.

À empresa CLONAGRI, de Holambra, SP, pelas mudas cedidas.

Aos colegas do Departamento de Fitopatologia, em especial a minha turma de mestrado (Marcela, Amanda, Edson, Nina, Dagma, Elida, Helena, Jean, Luciana, Fernanda e Flávio) e ao Edinho, pela amizade, apoio e companheirismo.

Aos amigos do Laboratório de Bacteriologia, Ana Maria, Ana Beatriz, Juliana Barbosa, Carol, Simone, Alessandra, Henrique e Gustavo, pela ajuda e apoio nos momentos difíceis.

Aos meus familiares, pela compreensão, amor, dedicação e carinho, em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, que me ensinaram a amar o próximo, valorizar a vida e as grandes amizades conquistadas.

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Floricultura e Paisagismo.

Aos funcionários do viveiro de plantas ornamentais.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Aspectos gerais da floricultura	3
2.2 Família Araceae	4
2.3 Doenças em aráceas	8
2.3.1 Doenças fúngicas	8
2.3.1.1 Antracnose.	8
2.3.1.2 Manchas foliares	9
2.3.1.3 Ferrugens.	11
2.3.1.4 Murchas vasculares	12
2.3.1.5 Podridões de hastes e raízes	12
2.3.2 Doenças bacterianas	15
2.3.2.1 Manchas foliares causadas por espécies de <i>Xanthomonas</i>	16
2.3.2.2 Podridões moles	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Coleta de amostras	19
3.2 Diagnose	19
3.3 Identificação dos isolados de fungos fitopatogênicos	20
3.3.1 Testes de patogenicidade	21
3.3.2 Inoculação cruzada de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. em diferentes	
hospedeiros para verificar a especificidade	22
3 3 2 1 Prenaro das mudas	22

3.3.2.2 Preparo do inóculo e inoculação	22		
3.3.2.3 Avaliações	23		
3.3.2.4 Delineamento experimental e análise estatística			
3.4 Identificação dos isolados de bactérias fitopatogênicas	23		
3.4.1 Obtenção de isolados	23		
3.4.2 Reação de hipersensibilidade	25		
3.4.3 Teste de patogenicidade	25		
3.4.4 Inoculação em órgãos de reserva.	26		
3.4.5 Características bioquímicas para determinação dos gêneros			
fitopatogênicos	27		
3.4.5.1 Reação de Gram	27		
3.4.5.2 Utilização de asparagina	28		
3.4.5.3 Produção de xanthomonadinas	28		
3.4.6 Características bioquímicas para a determinação de espécies			
fitopatogênicas	29		
3.4.6.1 Gênero <i>Erwinia</i>	29		
3.4.6.2 Gênero <i>Xanthomonas</i>	30		
3.4.7 Caracteristicas moleculares	32		
3.4.7.1 Extração do DNA genômico	32		
3.4.7.2 Reação de amplificação do DNA	33		
3.4.7.3 Corrida em gel de agarose	34		
3.4.8 Inoculação cruzada de isolados de Xanthomonas spp. em diferentes			
hospedeiros para verificar a especificidade.	34		
3.4.8.1 Preparo das mudas	34		
3.4.8.2 Preparo do inóculo e inoculação	35		
3.4.8.3 Avaliações			
3.4.8.4 Delineamento experimental e análise estatística			

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Doenças fúngicas e agentes etiológicos	44
4.1.1 Antúrio (Anthurium Schott.)	44
4.1.2 Copo-de-leite (Zantedeschia aethiopica (L.) Spreng.)	48
4.1.3 Lírio-da-paz (Spathiphyllum spp. Regel)	50
4.1.4 Singônio (Syngonium spp. Schott)	52
4.2 Inoculação de isolados de Colletotrichum gloeosporioides e C. falcatum	
em diferentes hospedeiros para verificar a especificidade	55
4.3 Doenças bacterianas e agentes etiológicos	57
4.3.1 Antúrio (Anthurium Schott.)	57
4.3.2 Copo-de-leite (Zantedeschia aethiopica (L.) Spreng.)	59
4.3.3 Inoculação de isolados de Xanthomonas spp. em diferentes hospedeiros	62
para verificar a especificidade	
4.3.4 Características moleculares.	63
4.4 Outras doenças	65
5 CONCLUSÕES	66
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXO A	77

RESUMO

LACERDA, Juliana Pires. **Doenças fúngicas e bacterianas em algumas Araceae**. 2006. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Dentre as plantas ornamentais tropicais cultivadas, as da família Araceae se destacam, pela beleza, durabilidade, exoticidade de formas e grande aceitação no mercado externo. No entanto, fitopatógenos, tais como fungos e bactérias, podem reduzir a qualidade das inflorescências e folhagens e consequentemente o valor comercial destas plantas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi fazer o levantamento das doenças fúngicas e bacterianas mais frequentes em Aráceas. Procederam-se as coletas de aráceas com sintomas de doenças no viveiro de plantas ornamentais da UFLA, em canteiros domésticos e comerciais de Lavras e Tiradentes, MG, Rio Verde, GO, Rio de Janeiro, RJ e Registro, SP, no período de janeiro a novembro de 2005. A diagnose foi feita nos Laboratórios de Micologia e Bacteriologia do Departamento de Fitopatologia, por exame direto das lesões e lâminas ao microscópio, exsudação em gota, isolamento, patogenicidade, reação de hipersensibilidade, testes bioquímicos, extração de DNA e PCR. Os materiais vegetais estudados foram herborizados e, juntamente com as lâminas das estruturas fúngicas, arquivados no Laboratório de Bacteriologia. Quatro tipos básicos de sintomas foram identificados. Os fungos dos gêneros Colletotrichum e Glomerella e as bactérias dos gêneros Xanthomonas e Erwinia foram os patógenos mais frequentes. Glomerela cingulata e Colletotrichum gloeosporioides foram observados em antúrio e singônio, Colletotrichum falcatum em espatifilum e singônio, Cercospora richardiaecola em copo-de-leite, Xanthomonas spp. em antúrio e copo-de-leite e Erwinia spp. apenas em copo-de-leite. Nos testes de patogenicidade cruzada, os isolados de C. gloeosporioides e C. falcatum induziram lesões necróticas nas mudas de antúrio, pimentão, lírio-da-paz e singônio. Os isolados de Xanthomonas sp. induziram lesão necrótica em todas as mudas de aráceas, mas não em pimentão. Xanthomonas vesicatoria causou lesões apenas nas mudas de tomate e copo-de-leite.

^{*} Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza – DFP/UFLA (Orientador),

Eduardo Alves DFP/UFLA e Patrícia Duarte de Oliveira

Paiva DAG/UFLA (Co-orientadores)

ABSTRACT

LACERDA, Juliana Pires. **Fungicals and bacterials diseases in some Araceae species**. 2006. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Among the cultivated tropical ornamental plants, those belonging to the Araceae family are among the most important ones, because of its unique features such as beauty, durability, exoticity of forms and high acceptance in the international market. However, plant pathogens, such as fungi and bacteria, can damage inflorescence and shoot quality, consequently reducing plant trade. Thus, this work was performed with the objective to know fungal and bacterial diseases on aroids. For that, symptomtics parts were sampled from plants belonging to Araceae, from January to November 2005 from commercial growers of UFLA, Registro – SP, domestic backyards in Lavras – MG, Tiradentes – MG, Rio Verde - GO and Rio de Janeiro - RJ. Those samples were analyzed for micologycal and bacteriological studies in the Laboratories of Mycology and Bacteriology of the Department of Plant Pathology from the Universidade Federal de Lavras, by direct examination of lesions on microcope, hangin drop slide test, isolation, pathogenicity tests, hypersensitive reaction, DNA extraction and PCR. The studied plant materials were herborized and shelved in the Laboratory of Bacteriology and glass slides containing structures of the studied fungi were stored. Four basics disorders were identified. Fungi from the genera Colletotrichum and Glomerella, and the bacteria from the genera Xanthomonas and Erwinia were the most frequent. Glomerela cingulata and Colletotrichum gloeosporioides were observed in anthure and singonio, Colletotrichum falcatum in peace lilies and singonio, Cercospora richardiaecola in calla lilies, Xanthomonas spp. in anthure and calla lilies, and Erwinia spp. was observed only in calla lilies. In cross pathogenicity tests, the isolates of Colletotrichum gloeosporioides and C. falcatum induced necrotic lesions in anthure, green pepper, peace lily and singonio plants. Strains of Xanthomonas sp. induced necrotic lesions in all aroids plants, but not in tomato. Xanthomonas vesicatoria induced lesions only for calla lily and tomato plants.

^{*} Guidance comitee: Ricardo Magela de Souza – DFP/UFLA (Advisor),

Eduardo Alves DFP/UFLA and Patrícia Duarte de
Oliveira Paiva DAG/UFLA(Co-advisors)

1 INTRODUÇÃO

O uso de flores e plantas ornamentais constitui um costume desde a Antigüidade (Aki & Perosa, 2002). Naquela época, as flores eram cultivadas em jardins e se destinavam à ornamentação das casas, palácios e templos. Com o passar do tempo, a demanda por flores e plantas ornamentais se tornou intensa e incentivou o cultivo para fins comerciais. Atualmente, é um setor competitivo, em plena fase de expansão e movimenta bilhões de dólares em todo o mundo. No Brasil, a floricultura tem se destacado como importante segmento da agricultura, com grande crescimento nas exportações. Este crescimento deve-se ao enorme potencial nacional para a produção de diversas espécies de flores em função da amplitude de climas e solos (Dias, 2005).

As plantas ornamentais tropicais, flores e folhagens, destinadas principalmente para corte são perenes e de grande beleza por seu porte e formas exóticas. Estas plantas são apreciadas em arranjos florais e nos jardins, devido à rusticidade e ao valor ornamental que apresentam (Luz et al., 2005). Dentre as espécies tropicais cultivadas, as pertencentes à família Araceae se destacam pela beleza, durabilidade, exoticidade de formas e grande aceitação no mercado externo.

Geralmente, plantas pertencentes à família Araceae exigem temperaturas entre 16°C e 30°C, alta umidade relativa e solos férteis com alto teor de matéria orgânica. Essas condições climáticas, associadas à alta densidade de plantio e ao manejo inadequado, favorecem a ocorrência de doenças, principalmente fúngicas e bacterianas. O conhecimento destas doenças torna-se prática imprescindível para a adoção de medidas de manejo integrado, visando aumentar a qualidade das inflorescências e, conseqüentemente, a produtividade.

Entretanto, poucos trabalhos têm sido publicados no Brasil sobre as relações entre as espécies da família Araceae e fitopatógenos (Tombolato, 2004).

Para aprimorar esses conhecimentos, o estudo de doenças em aráceas é importante, pois permite catalogar dados de ocorrência em locais diferenciados. Esses dados poderão ser utilizados em trabalhos de biologia sobre determinado patógeno, permitindo desenvolver estudos epidemiológicos diversos, métodos de controle das doenças, melhoramento genético, manejo integrado, entre outros. Na extensão rural, poderá ser utilizado na orientação de medidas de manejo dos cultivos, incluindo medidas legislativas para impedir o deslocamento dos patógenos na região.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivos:

Diagnosticar doenças causadas por fungos e bactérias e avaliar a especificidade destes patógenos em plantas da família Araceae no Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da floricultura

A floricultura, em seu sentido amplo, abrange o cultivo de plantas ornamentais, desde flores de corte e plantas envasadas, floríferas ou não, até a produção de sementes, bulbos e mudas de árvores de grande porte.

Dentre os segmentos produtivos e agroindustriais que se destacam de forma crescente nos cenários nacional e internacional, a floricultura é um dos mais dinâmicos e promissores. A produção comercial, inicialmente restrita a países como Holanda, Itália, Dinamarca e Japão, provavelmente em virtude de hábitos culturais, tem se expandido para outras regiões do mundo, principalmente aquelas em que há condições edafoclimáticas favoráveis e disponibilidade de mão-de-obra. Em função disso, o mercado internacional de flores e plantas ornamentais está em plena fase de expansão, tornando-se um importante segmento para a Organização Mundial do Comércio (OMC) (Dias, 2005).

No Brasil, a profissionalização e o dinamismo comercial da floricultura são fenômenos relativamente recentes. No entanto, a atividade já contabiliza números significativos, comparada a outros setores da agricultura. O país possui mais de quatro mil produtores de flores e plantas ornamentais, cultivando uma área de 5,2 mil hectares distribuídos em todo o país. Atualmente, as exportações brasileiras registram números expressivos, contribuindo para o crescimento da balança comercial (Junqueira & Peetz, 2004).

Apesar desse crescimento, a produção brasileira de flores e plantas ornamentais ainda é pequena, considerando o potencial de exploração do país em função da diversidade de climas e solos (Claro et al., 2001). Geralmente, a

floricultura brasileira é implantada em pequenas áreas e utiliza mão-de-obra familiar. Entretanto, caracteriza-se como uma grande geradora de empregos (Kiyuna et al., 2002).

A produção e o mercado de flores e plantas ornamentais estão distribuídos por todo o país, de forma bastante diversificada, englobando a produção de bulbos, plantas para jardins, plantas para vaso e flores de corte. Atualmente, o uso de tecnologia e de modernização em todo o processo produtivo das espécies ornamentais é essencial para atender à demanda e às exigências dos consumidores (Aki & Perosa, 2002).

O cultivo de plantas ornamentais tropicais é um dos setores da floricultura que mais utiliza tecnologia para produção, desde o plantio até a póscolheita (Aki & Perosa, 2002). Dentre as espécies tropicais cultivadas, as da família Araceae se destacam devido à beleza, durabilidade, exoticidade de formas e grande aceitação no mercado externo (Luz et al., 2005).

2.2 Família Araceae

A família Araceae pertence à divisão Angiospermae, classe Monocotyledonae e ordem Spathiflora e destaca-se entre as demais flores tropicais por ser facilmente adaptável e exigir poucos cuidados. Esta família apresenta cerca de três mil espécies e 106 gêneros. A maioria das espécies é terrestre, havendo, no entanto, várias epífitas e um gênero aquático (*Pistia*). Existem, ainda, aráceas tóxicas, como *Dieffenbachia* (comigo-ningém-pode) e algumas comestíveis, como *Alocasia esculenta* (inhame) e *Xanthosoma violaceum* (mangarito) (Corrêa et al., 2005).

A família Araceae é bem distribuída por todo Brasil, ocorrendo espécies desde as áreas subtropicais mais sulinas até as florestas equatoriais do extremo norte. As espécies desta família são indicadas para cultivo em regiões de clima ameno (Corrêa et al., 2005). No estado de Minas Gerais, a região Centro-Sul

apresenta características climáticas favoráveis para o cultivo destas espécies.

Dentre as aráceas mais cultivadas destacam-se os seguintes gêneros: *Aglaonema* spp. (aglaonema), *Alocasia* spp. (inhame), *Anthurium* spp. (antúrio), *Dieffenbachia* spp. (comigo-ninguém-pode), *Philodendron* spp. (filodendro), *Monstera deliciosa* (monstera), *Spatiphyllum* spp. (líro-da-paz), *Syngonium* spp. (singônio) e *Zantedeschia* spp. (copo-de-leite).

Antúrio

O antúrio (*Anthurium andraeanum*) é a segunda planta ornamental tropical mais comercializada no mundo, entretanto, são poucas as informações técnicas para o cultivo dessa espécie no Brasil (Vivekanda et al., 2003). É uma das flores tropicais mais utilizadas para ornamentação e seu uso como flor de corte cresce a cada dia. Atualmente, são conhecidos mais de 600 espécies e híbridos com diferentes colorações (Luz *et al.*, 2005). As Américas do Sul e Central constituem os principais centros de origem dessa espécie.

O cultivo de antúrio deve ser feito em locais com temperaturas entre 20°C e 30°C, sob sombreamento e com alta umidade relativa. O melhor desenvolvimento desta espécie é obtido em solos férteis, bem drenados e com alto teor de matéria orgânica (Luz *et al.*, 2005). No Brasil, as principais regiões de cultivo são Holambra e Vale do Ribeira, SP.

Copo-de-leite

O copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica*), planta originária da África do Sul, é cultivada desde os tempos mais remotos, tanto para flor de corte quanto para composição de jardins (Almeida & Malavolta Jr., 1998). As suas inflorescências são utilizadas, por serem versáteis na composição de vários estilos de arranjos florais. Ainda, as folhas também são utilizadas, aumentando as vantagens do cultivo dessa espécie. Atualmente, existem no mercado novas

variedades de copo-de-leite, com várias cores, porém, a cor branca constitui a preferência do consumidor (Almeida & Paiva, 2004).

O copo-de-leite, na sua forma nativa, ocorre em terrenos úmidos ou na margem de lagos, entretanto, o seu cultivo, geralmente, é feito em áreas bem drenadas, porém, com irrigação constante, mantendo a umidade elevada. Esta espécie desenvolve-se melhor em regiões com temperaturas entre 16°C e 22°C (Almeida & Malavolta Jr., 1998). No Brasil, é produzido, principalmente, na região sudeste (Almeida & Paiva, 2004).

Lírio-da-paz

O lírio-da-paz (*Spathiphyllum spp*.) tem como centro de origem as Américas do Sul e Central. Destaca-se por suas inflorescências brancas e por não apresentar perfume. Atualmente, são conhecidas, aproximadamente, 41 espécies (Schott & Endlicher, 1999).

O melhor desenvolvimento desta planta é obtido em solos férteis, bem drenados e com alto teor de matéria orgânica. O cultivo é feito sob sombreamento, com alta umidade relativa. A produção dessa espécie é realizada no estado de São Paulo, principalmente em Holambra.

Singônio

O singônio (*Syngonium* sp.) é planta semi-herbácia ascendente, de clima tropical, muito cultivada em vasos e utilizada para decorar ambientes internos ou como forração, à meia sombra em jardins. Seu maior atrativo comercial são as folhas que formam uma massa verde fechada (Souza & Jasmim, 2004).

Exige temperaturas entre 18°C e 21°C e alta umidade relativa, sendo o melhor desenvolvimento desta espécie obtido em solos férteis, bem drenados, com alto teor de matéria orgânica e sob sombreamento. É produzido no estado de São Paulo, principalmente em Holambra.

Outras espécies de importância

Aglaonema

A aglaonema (*Aglaonema* spp.) é uma planta herbácea, cultivada em regiões de clima úmido e sob sombreamento. As folhas variegadas constituem seu principal atrativo comercial. Atualmente, são conhecidas, aproximadamente, 21 espécies (Chen *et al.*, 2004).

Alocasia

A alocasia (*Alocasia* spp.) é uma planta herbácea, de importância ornamental secundária. Cultivada em vasos, jardineiras ou formando conjuntos isolados, em canteiros à meia-sombra. Não tolera temperaturas baixas, sendo recomendada apenas para regiões tropicais e subtropicais (Long & Liu, 2001).

Comigo-ninguém-pode

O comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia* spp.) é uma planta herbácea, cultivada em regiões de clima tropical e sob sombreamento (Young, 1986). As folhas são tóxicas. Atualmente são conhecidas, aproximadamente, 135 espécies (Croat, 1997).

Filodendro

O filodendro (*Philodendron* spp.) é uma planta hemiepifitica escandescente, arborescente ou acaulescentes, com caule trepador ou rastejante a rizomatoso. Cultivada em locais úmidos e sob sombreamento, não tolera baixas temperaturas, sendo indicado para regiões de clima tropical e subtropical. Apresenta, aproximadamente, 400 espécies (Coelho, 2000).

Monstera

A monstera (Monstera deliciosa) é um planta semi-herbácea e rizomatosa, cultivada em locais úmidos e sob sombreamento (Peppard, 1992).

2.3 Doenças em aráceas

De modo geral, as plantas pertencentes à família Araceae exigem temperaturas entre 16°C e 30°C, alta umidade relativa e solos férteis com alto teor de matéria orgânica. Este microclima, aliado à alta densidade de plantio e ao manejo inadequado, favorece a incidência de doenças, principalmente fúngicas e bacterianas.

As informações sobre doenças em Aráceas ainda são escassas e, em consequência, o controle, geralmente, é realizado baseando-se em dados existentes para outras famílias de plantas ornamentais.

2.3.1 Doenças fúngicas

As doenças de origem fúngica em aráceas podem afetar inflorescências, folhas, caules, rizomas e raízes, sendo mais severas quando as plantas sofrem estresses hídrico e nutricional, bem como adensamento da população. Neste grupo de doenças, destacam-se a antracnose, as manchas foliares, as ferrugens, a murcha vascular e as podridões de hastes e raízes. Tais doenças causam redução na produtividade e qualidade das flores, aumentam o custo de produção e limitam o cultivo de espécies de maior valor comercial (RPD, 1998; Kelemu *et al.*, 1999; Jones & Averre, 2000; Shaw, 1991).

2.3.1.1 Antracnose

A antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, destacase pela ocorrência comum e pelos danos às plantas. O ataque é mais severo em épocas úmidas, com temperaturas em torno de 25°C. Afeta várias espécies de aráceas, desenvolvendo-se em qualquer parte da planta, reduzindo a produtividade e desvalorizando as flores para comercialização.

Dependendo da parte da planta afetada, apresenta diferentes sintomas. Nas folhas, observam-se manchas encharcadas, inicialmente pequenas, de coloração escura e deprimidas, de forma circular ou elíptica, geralmente circundadas por um halo amarelo, podendo coalescer e ocupar grandes áreas do tecido afetado. Os sintomas iniciam-se das bordas para o centro. Nas flores, são observadas manchas pequenas, de coloração escura e deprimidas, de forma circular ou elíptica (Deshmukh *et al.*, 1999; Alvarez & Alvarez, 2001).

Deshmukh et al. (1999) constataram a presença de *Colletotrichum gloeosporioides* causando antracnose em antúrio, na Índia, por meio de teste de patogenicidade e estudo da gama de hospedeiro, verificando que o fungo infectava também outras ornamentais da família Araceae, como aglaonema, inhame e singônio. Na Argentina, sintomas de antracnose causados por *Colletotrichum dematium* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram observados em folhas de aglaonema e singônio, respectivamente (Alvarez & Alvarez, 2001). Bushe et al. (2004) também relataram a ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* causando antracnose em flores de antúrio nos Estados Unidos.

2.3.1.2 Manchas foliares

Vários fungos são responsáveis por manchas em inflorescências e folhagens de plantas da família Araceae, causando importantes danos na produção.

Kubota & Hirano (1995) relataram a ocorrência de manchas foliares em *Monstera deliciosa* (costela-de-adão), causadas por *Phoma exigua*. Zheng et al. (2000) identificaram três novas espécies de fungos causando mancha foliar em filodendro: *Phomopsis philodendri*, *Sphaeropsis philodendri* e *Alternaria*

philodendri. O fungo *Sphaerobolus stellatus* foi relatado por Bushe et al. (2004) causando manchas em flores de antúrio.

Entretanto, os gêneros que freqüentemente provocam manchas foliares em aráceas são *Alternaria, Cercospora* e *Phyllosticta* (USDA, 2005).

Mancha de Alternaria

Manchas foliares causadas por *Alternaria* estão entre as mais comuns em aráceas. A doença inicia-se com pequenas manchas de coloração marromescura a preta. É característico o desenvolvimento de anéis concêntricos. Normalmente, as folhas baixeiras, mais velhas, são atacadas primeiro, mas os sintomas progridem para as folhas de cima, as quais tornam-se amareladas e senescentes, podendo secar ou cair precocemente (Melton et al., 2000).

A ocorrência de mancha de alternaria foi relatada em antúrio, alocasia, comigo-ninguém-pode, copo-de-leite, jibóia, filodendro, lírio-da-paz e singônio nos Estados Unidos (USDA, 2005).

Cercosporiose

Manchas foliares causadas por *Cercospora* são caracterizadas por serem pequenas, cerca de 3 a 5 mm de diâmetro, mais ou menos circulares, com os bordos escuros e o centro cinza-claro, fino, papiláceo, podendo se desprender formando furos. As manchas podem permanecer pequenas e separadas ou coalescerem resultando em grandes áreas necróticas (Vieira & Barreto, 2004).

Cercospora sp. foi relatada em comigo-ninguém-pode, filodendro, lírio-da-paz e singônio, nos Estados Unidos e Cercospora callae e Cercospora richardiaecola para antúrio, jibóia e copo-de-leite, nos Estados Unidos, Porto Rico, África do Sul e Ilhas Virgens (USDA, 2005).

Mancha de Phyllosticta

Os sintomas iniciais são manchas pequenas, com aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, de coloração marrom-escura com halo amarelado. Os bordos são irregulares e, algumas vezes, apresentam manchas de formatos variados, concentradas nos bordos das folhas, seguindo em direção à nervura central. Geralmente, ocorre o coalescimento das lesões, dando o aspecto de queima nas áreas necrosadas (Cerezine et al., 1995).

Manchas foliares causadas por *Phyllosticta* sp. foram relatadas para antúrio, em Barbados, Estados Unidos, Guatemala e Panamá e para jibóia, comigo-ninguém-pode, filodendro, lírio-da-paz e singônio, apenas nos Estados Unidos (USDA, 2005).

2.3.1.3 Ferrugens

As ferrugens ocorrem com maior frequência nos períodos de baixa temperatura e alta umidade relativa, quando as perdas causadas podem ser elevadas. Os sintomas são observados em folhas e hastes. Nas folhas, são caracterizados, inicialmente, por manchas descoloridas, que evoluem e rompem a pústula, na parte abaxial correspondente à estrutura reprodutiva do fungo (Pernezny & Kucharek, 2003).

Puccinia paullula f. sp. monsterae foi o agente etiológico da ferrugem em costela-de-adão e em jibóia, na Austrália (Shaw, 1991, 1995). Sintomas de ferrugem causados por *Uredo alocasiae* foram relatados para inhame em Nova Guiné e por *Uredo anthurii* para várias espécies de antúrio no Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, República Dominicana, França, Gautemala, México, Panamá, Porto Rico e Ilhas Virgens. *Uredo anthurii-colombianae* foi relatado apenas para antúrio, na Colômbia. Nos Estados Unidos, foi relatada a ocorrência de *Uromyces ari-triphylli* em copo-de-leite e *Uromyces* sp. em singônio (USDA, 2005).

2.3.1.4 Murchas vasculares

As murchas vasculares caracterizam-se pela perda de turgidez das folhas e outras partes da planta infectada, as quais tornam-se flácidas, de coloração verde-clara a amarelada, evoluindo para murcha, amarelecimento, escurecimento e morte. As folhas murchas podem apresentar enrolamento dos bordos. Brotos jovens murcham e morrem rapidamente (Chase & El Gholl, 1982).

Esta doença resulta da presença e atividade do patógeno nos vasos do xilema da planta. Em cortes transversais da haste de plantas murchas, podem-se observar áreas de descoloração do sistema vascular. A obstrução dos vasos é conseqüência de géis e gomas produzidos pelo acúmulo e oxidação de produtos da célula vegetal quebrados pelo fungo.

Fusarium é o principal fungo causador de murchas vasculares em aráceas (USDA, 2005). Fusarium solani foi relatado causando murchas em comigo-ninguém-pode, filodendro, singônio e antúrio nos Estados Unidos e Barbados (Chase & El Gholl, 1982). Fusarium oxysporum em antúrio e singônio, nos Estados Unidos, e Fusarium sp. em antúrio, lírio-da-paz, singônio e copo-de-leite, na África do Sul e nos Estados Unidos (USDA, 2005).

2.3.1.5 Podridões de hastes e raízes

As podridões podem ser secas ou úmidas, com ou sem odor desagradável, podendo atingir raízes, bulbos, hastes e estacas. No caso de bulbos, as podridões ocorrem no campo e prosseguem no armazenamento, ocasionando grandes perdas (Jones & Averre, 2000).

Os agentes causadores de podridão são, em sua maioria, fungos habitantes de solo, que podem viver saprofiticamente, sob condições de alta umidade (Jones & Averre, 2000).

Os gêneros *Pythium, Phytophthora, Rhizoctonia e Sclerotium* são os principais responsáveis por causar podridões de hastes e raízes em aráceas (USDA, 2005).

Pythium splendens e Pythium sp. foram relatados causando podridão de raiz em antúrio, comigo-ninguém-pode, jibóia, lírio-da-paz, filodendro, singônio e inhame nos Estados Unidos (USDA, 2005).

Phytophthora meadii, P. parasitica, Phytophthora nicotianae var. parasitica e Phytophthora sp. foram relatadas causando podridão de raiz em aglaonema, antúrio, comigo-ninguém-pode, jibóia, filodendro e singônio em Taiwan, Venezuela e Estados Unidos (Ann, 1992; Aponte et al., 2003; USDA, 2005).

Podridão de raiz, causada por *Rhizoctonia solani*, foi relatada para inhame e antúrio nos Estados Unidos, e para lírio-da-paz nos Estados Unidos e Grécia. *Rhizoctonia solani* também foi relatado, causando podridão de hastes e raízes em jibóia e copo-de-leite, na Argentina e nos Estados Unidos (USDA, 2005).

Sclerotium rolfsii foi relatado causando podridão de hastes e raízes, apenas em jibóia, na Flórida (USDA, 2005).

No Brasil, existem poucos relatos sobre doenças fúngicas ocorrendo em Aráceas, sendo a maioria baseada em revisões bibliográficas, nos quais os patógenos são descritos de forma incompleta, geralmente até o nível de gênero (Tabela 1).

TABELA 1 Relação de espécies fúngicas ocorrendo na Família Araceae, no Brasil. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Agente etiológico	Hospedeiro	Autor
Colletotrichum sp.	Antúrio	Pitta et al., 1989
	Copo-de-leite	Pozza, 1994
		Pitta, 1995
		Souza et al., 2001
C. gloeosporioides	Antúrio	Pozza et al.,1996
		Souza et al., 2001
		D. Neto et al., 2003
		Warumby et al., 2004
C. gloeosporioides	Caládio	Souza et al., 2001
	Comigo-ninguém-pode	D. Neto et al.,2003
	Filodendro	
	Singônio	
Uredo anthurii	Antúrio	Pitta <i>et al.</i> , 1989
		Pozza, 1994
		Pozza et al., 1996
		Pitta, 1995
		Souza et al., 2001
		Warumby et al., 2004

...continua...

TABELA 1, Cont.

Tribella 1, cont.		
Fusarium oxysporum	Antúrio	Pitta et al., 1989
		Souza et al., 2001
Fusarium sp.	Comigo-ninguém-pode	Pitta, 1995
Phytophthora sp.	Comigo-ninguém-pode	Pitta, 1995
Phytophthora parasitica	Lírio-da-paz	Fischer et al., 2004
	A	Piu 1 1000
Cladosporium sp.	Antúrio	Pitta et al., 1989
Phomopsis sp.		Pozza, 1994
Septoria sp.		Pozza et al., 1996
Phoma sp.		Souza et al., 2001
Alternaria sp.	Costela-de-adão	Pozza, 1994
	Copo-de-leite	Pozza et al., 1996
Helmintosporium sp.	Copo-de-leite	Pozza, 1994
		Pozza et al., 1996
Phyllosticta sp.	Filodendro	D. Neto et al., 2003
Cultin In al. Itanian and the Italia	I (nia da na-	Dain at al. 2004
Cylindrocladium spathiphylli	Lírio-da-paz	Reis et al., 2004
Cercospora richardiaecola	Copo-de-leite	Vieira & Barreto, 2004
cereospora rienaranaceota	copo de leite	7 1011 a Barretto, 2007

2.3.2 Doenças bacterianas

Cerca de 100 espécies de bactérias causam doença em plantas, sendo considerados mais importantes os gêneros *Pseudomonas, Ralstonia, Xanthomonas, Agrobacterium, Streptomyces, Erwinia* e *Xylella*. Os sintomas causados pelas fitobactérias variam bastante, podendo ocorrer sob a forma de manchas foliares, requeima, podridões moles, murchas, galhas no caule, sarna e cancro (Malavolta Jr. *et al.*, 1995).

2.3.2.1 Manchas foliares causadas por espécies de Xanthomonas

Plantas da família Araceae, como antúrio, comigo-ninguém-pode, filodendro e singônio, entre outras, são afetadas por *Xanthomonas*. Os sintomas são caracterizados por lesões em folhas e na espádice, inicialmente pequenas, aquosas e de coloração amarelada que, posteriormente, coalescem, adquirindo a coloração castanho-avermelhada. Quando a penetração ocorre por hidatódios, a lesão fica confinada aos bordos da folha (Chase *et al.*, 1992).

Em antúrio, as lesões são escuras, irregulares, tomando grandes áreas do limbo a partir dos bordos, circundadas por um halo amarelo. Entretanto, a infecção pode ser sistêmica, havendo, neste caso, clorose generalizada das folhas mais velhas e quebra de pecíolos, os quais apresentam descoloração vascular. A infecção sistêmica pode causar manchas foliares em qualquer parte das folhas, ao passo que as manchas resultantes de infecções foliares ficam restritas às margens (Fukui *et al.*, 1996).

Xanthomonas campestris pv. dieffenbachiae foi o agente causal de manchas em folhas de antúrio nos Estados Unidos e Filipinas (Cooksey, 1985; Natural e Alvarez, 1990). Xanthomonas axonopodis pv. dieffenbachiae foi identificada em antúrio, comigo-ninguém-pode e aglaonema, na Turquia, Estados Unidos, China e Ilhas Maurício (Aysan & Sahin, 2003; Bushe, 2004; Ji et al., 2004; Guan et al., 2004; Khoodoo et al., 2005).

Cortes (1991) identificou *X. campestris* pv. *syngonii* causando manchas em folhas de singônio, em Porto Rico e Lee et al. (2004) constataram *X. campestris* pv. *zantedeschiae* causando manchas foliares em copo-de-leite, na Turquia.

2.3.2.2 Podridões moles

As podridões moles ocorrem com freqüência em aráceas. São caracterizadas pelo colapso aquoso do tecido vegetal, normalmente em órgãos de reserva como tubérculos, rizomas, bulbos, folhas tenras e carnosas, hastes e frutos. As bactérias que normalmente incitam podridão mole são *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones, 1991; Dye *et al.*, 1923), *E. carotovora* subsp. *atroseptica* (Van Hall) Dye (1969), *E. chrysanthemi* (Burk Holder *et al.*, 1953) e algumas espécies de *Pseudomonas* do grupo fluorescente. Essas bactérias produzem enzimas, chamadas genericamente de pectinases, que atuam sobre as substâncias pécticas da lamela média do tecido vegetal, fazendo com que este perca sua rigidez, tornando-se mole e aquoso. Na seqüência, ocorrem fermentações e também a invasão do tecido por saprófitas, provocando a liberação de gases com odores desagradáveis (Almeida *et al.*, 1997).

As podridões moles podem ocorrer tanto no campo quanto em póscolheita. Essas bactérias penetram o hospedeiro tipicamente por ferimentos. Assim, a incidência da doença aumenta, quando as plantas são injuriadas durante as práticas culturais, pela ação dos ventos, chuva de granizo, ataque de insetos sugadores e mastigadores, principalmente pragas de solo. Alta umidade é fator essencial para a ocorrência de podridões moles, uma vez que *Erwinia* spp. é dependente de água livre sobre o tecido (Almeida *et al.*, 1997).

Segundo Snijder et al. (2004), a podridão mole causada por *Erwinia* carotovora subsp. carotovora é a principal doença de copo-de-leite. Cetinkaya et al. (2004) e Cho et al. (2005) identificaram *Erwinia carotovora* subsp.

carotovora, causando podridão mole, em comigo-ninguém-pode, na Turquia e em copo-de-leite, na Coréia.

Erwinia chrysanthemi foi relatada causando podridão mole em filodendro, nos Estados Unidos e em singônio, na Califórnia (Miller & Fadden,1961; Lai et al.,1978; Haygood et al.,1982).

No Brasil, também são poucos os relatos sobre doenças bacterianas em Aráceas, entretanto, elas ainda são mais estudadas do que as doenças fúngicas.

Por meio de isolamentos e testes de patogenicidade, *Pseudomonas* sp. foi identificada causando mancha foliar em antúrio (Malavolta Jr. et al., 1995; Sugimori et al., 1980). *P. fluorescens* e *P. cichorii* foram caracterizadas por testes bioquímicos, fisiológicos, culturais e de patogenicidade, causando crestamento bacteriano em folhas de filodendro (Robbs et al., 1983; Malavolta Jr. et al., 2001).

Xanthomonas campestris pv. dieffenbachiae foi relatada para antúrio, caládio, comigo-ninguém-pode e filodendro, por Malavolta Jr. et al. (1995) e Souza et al. (2001). Estes mesmos autores relataram, também, a ocorrência de X. campestris pv. syngonii em singônio.

Testes bioquímicos, fisiológicos, culturais e de patogenicidade permitiram constatar a ocorrência de *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* e *E. chrysanthemi*, em plantas de comigo-ninguém-pode, copo-de-leite e filodendro e antúrio (Almeida et al., 1996; 1997; Almeida & Malavolta Jr., 1998; Souza et al., 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento de fungos e bactérias associados às plantas da família Araceae foi realizado no período entre janeiro e novembro de 2005. As análises dos materiais doentes foram realizadas nos Laboratórios de Bacteriologia e Micologia do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O material vegetal estudado foi coletado no viveiro de plantas ornamentais da UFLA, em canteiros domésticos de Lavras, MG, Tiradentes, MG, Rio Verde, GO e Rio de Janeiro, RJ e em cultivos comerciais de Registro, SP.

3.1 Coleta de amostras

Foram estudadas 4 espécies da Família Araceae (Anexo B), antúrio (Anthurium sp. Schott.), copo-de-leite (Zantedeschia aethiopica (L.) Spreng.), lírio-da-paz (Spathiphyllum wallisi Regel) e singônio (Syngonium angustatum Schott). Para a coleta das amostras, foram retiradas partes das plantas que apresentavam qualquer tipo de sintoma de doença. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel, dentro de sacos plásticos e imediatamente levadas para o laboratório.

3.2 Diagnose

No Laboratório de Bacteriologia, o material coletado foi cadastrado em fichas individuais, com o objetivo de se obter o máximo de informações, as quais poderiam ajudar na diagnose. Além disso, as amostras foram submetidas a uma triagem para se determinar a etiologia da doença, averiguando-se a natureza fúngica ou bacteriana, por meio de câmara úmida, teste de exsudação em gota, isolamento, teste de patogenicidade e reação de hipersensibilidade.

3.3 Identificação dos isolados de fungos fitopatogênicos

As folhas, previamente desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2%, foram submetidas à câmara úmida em sacos plásticos contendo algodão umedecido com água estéril. Os sacos plásticos contendo o material doente foram deixados à temperatura ambiente. Após 24 horas de incubação, foram observadas as estruturas fúngicas desenvolvidas nas lesões.

Para o isolamento indireto, utilizou-se o meio MA 2% (malte-ágar). Foram cortados quatro pequenos pedaços medindo de 5 a 10 mm² da área marginal à lesão. No mesmo corte, havia tecido saudável e tecido doente. Os cortes foram submersos em álcool 50% por 30 segundos, hipoclorito de sódio 2% por 60 segundos e lavados três vezes em água estéril, nesta seqüência. Após a secagem com papel de filtro esterilizado, os pedaços de tecido vegetal foram colocados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, as quais continham meio MA 2%, utilizando-se uma pinça previamente flambada em chama. Todo esse procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar. Posteriormente, as placas de Petri contendo os cortes de tecido vegetal foram levadas à câmara de incubação regulada para 25°C e fotoperíodo de 24 horas onde permaneceram até o desenvolvimento e frutificação dos fungos. A seguir, foi feita a transferência para placas de Petri contendo meio apropriado para a sua manutenção e estudo.

Os materiais vegetais contendo sintomas de origem fúngica foram fotografados, herborizados à temperatura ambiente e arquivados, assim como as lâminas contendo estruturas fúngicas. Foram também preenchidas fichas com o resultado do diagnóstico. Estas foram arquivadas no Laboratório de Bacteriologia do DFP/UFLA.

Para a preparação microscópica foram utilizadas lâminas e lamínulas de vidro, estiletes para a raspagem das estruturas fúngicas e lâminas de barbear para a preparação de cortes. Os líquidos de montagem utilizados foram azul de bromotimol para estruturas hialinas e solução de água-glicerol para estruturas

apresentando coloração natural. As lâminas foram seladas com esmalte de unhas. Foram observadas e mensuradas as estruturas fúngicas e a identificação foi feita baseando-se nas descrições de Sutton (1980), Hanlin (1990), Alexopoulus et al. (1996), Cannon (1991) e Vieira & Barreto (2004).

3.3.1 Testes de patogenicidade

Foram seguidos os postulados de Koch para se confirmar a patogenicidade dos isolados, inoculando-os em mudas de antúrio, singônio e lírio-da-paz (Liyanage et al.,1992; Kelemu et al., 1996) e em folhas destacadas de copo-de-leite (Hodges & Ferreira, 1981).

Para se averiguar a patogenicidade de *Colletotrichum* sp. em mudas de antúrio, singônio e lírio-da-paz, foram utilizadas suspensões de esporos em água destilada, na concentração 1x 10⁶ conídios/mL. A inoculação foi realizada por pulverização da suspensão de esporos sobre as mudas, até o ponto de escorrimento. Utilizou-se também uma planta, da mesma espécie, como testemunha, na qual foi empregada água destilada esterilizada.

As mudas foram mantidas em câmara úmida durante 24 horas antes e 72 horas após a inoculação. O ensaio foi instalado em câmara climatizada à temperatura de 26 +/- 2°C e fotoperíodo de 12 horas.

O método de inoculação em folhas destacadas foi utilizado para se determinar a patogenicidade de *Cercospora sp.* ao copo-de-leite. Foram aplicados seis discos de micélio do fungo em folhas isentas de qualquer sintoma, as quais foram previamente destacadas das plantas e submetidas à desinfecção superficial com hipoclorito de sódio a 2%, seguida de lavagem em água estéril. Três discos foram colocados na parte adaxial e outros três na parte abaxial das folhas. Seis folhas com discos contendo somente meio de cultura serviram como testemunha. A seguir, estas foram acondicionadas em câmara úmida, até o surgimento de sintomas.

3.3.2 Inoculação cruzada de isolados de *Colletotrichum* spp. em diferentes hospedeiros para verificar a especificidade

Os isolados de *Colletotrichum* sp. utilizados no ensaio foram obtidos das amostras H02, H08, H14, H16 e H18 (Tabela 2) e CML 620 proveniente de pimentão. Os isolados foram transferidos do tubo de ensaio, onde estavam conservados em meio de aveia, para placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura e incubados a 25°C, sob iluminação contínua, para favorecer a esporulação.

3.3.2.1 Preparo das mudas

Para a inoculação dos isolados de *Colletotrichum* sp. em mudas de pimentão (Família Solanaceae) foi realizada a semeadura em bandejas de 288 células contendo o substrato Plantmax. Com um mês de idade, as mudas foram transplantadas para vasos contendo a mistura solo, areia e esterco curtido (1:1:1), obtendo-se 30 mudas de pimentão. Utilizou-se pimentão para avaliar a especificidade dos isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos no presente estudo.

As mudas de antúrio, lírio-da-paz e singônio utilizadas no ensaio foram obtidas da empresa Clonagri, Holambra (SP).

3.3.2.2 Preparo do inóculo e inoculação

Para as inoculações, as suspensões de esporos de cada um dos cinco isolados mencionados no item 3.3.2 foram ajustadas, separadamente, para cerca de 1 x 10⁶ conídios/mL e misturadas, visando eliminar possíveis efeitos da variabilidade e possível adaptação patogênica do fungo.

As mudas foram mantidas em câmara úmida 24 horas antes e 72 horas após a inoculação, realizada por pulverização da suspensão de esporos, sobre as mesmas, até o ponto de escorrimento. O ensaio foi instalado em câmara climatizada com temperatura de 26 +/- 2°C e fotoperíodo de 12 horas.

Os tratamentos utilizados, para cada isolado, foram: T1, testemunha não inoculada e T2, planta inoculada com suspensão de esporos.

3.3.2.3 Avaliações

As avaliações foram realizadas com base na incidência da doença na fase de mudas, contando-se o número de mudas com sintomas de folhas necrosadas. As avaliações foram feitas aos sete dias após a inoculação (DAI), medindo-se o diâmetro das lesões em dois sentidos diametralmente opostos.

Foram feitos o reisolamento dos isolados em cultura pura e a comparação com as colônias inoculadas.

3.3.2.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 4 (5 isolados x 4 espécies de plantas), com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de 1 muda. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, para a comparação das médias.

3.4 Identificação de isolados de bactérias fitopatogênicas

3.4.1. Obtenção dos isolados

Os materiais com suspeita de infecção por bactérias foram submetidos ao teste de exsudação em gota. Foram cortados pequenos fragmentos medindo de 5 a 10 mm² da área marginal à lesão. Os cortes foram transferidos para uma lâmina de vidro, sobre a qual se depositou uma gota de água observando-se ao microscópio com objetiva de menor aumento. No caso de resultado positivo foram visualizadas células bacterianas, fluindo lentamente a partir da borda do fragmento do tecido (Hayward, 1983). Posteriormente, o material foi submetido ao isolamento.

Após desinfecção superficial, conforme descrito anteriormente (álcool 50% por 30 segundos, hipoclorito de sódio 2% por 60 segundos e lavados três vezes em água estéril), os fragmentos de plantas, com sintomas de lesão local, foram transferidos para uma gota de água destilada e esterilizada e macerados. Em seguida, este macerado foi transferido com uma alça de platina para placas de Petri contendo MB1 (meio 523, Kado & Heskett, 1970) pelo método de estria paralela. Após o crescimento, foram observadas a pureza do isolado, a cor e a morfologia das colônias. As colônias individualizadas e devidamente caracterizadas foram repicadas para tubos de ensaio contendo MB1 inclinado. A partir das colônias em tubos de ensaio foram realizados os testes bioquímicos para determinação do gênero, a inoculação em plantas hospedeiras, o teste de hipersensibilidade e as inoculações cruzadas.

Para o isolamento de bactérias, a partir de órgãos deteriorados, com sintomas de podridão-mole, adotou-se o método indireto, usando iscas biológicas (Takatsu, 1983). Lavaram-se cuidadosamente, tubérculos sadios de batata com água e sabão para a remoção dos resíduos de terra. Mergulhou-se o material em álcool absoluto e flambou-se. Com escalpelo flambado e resfriado, cortou-se superficialmente o tecido, tendo o cuidado de não aprofundar muito a incisão. O tubérculo foi quebrado expondo-se a parte interna. Com estilete flambado e resfriado, tocou-se o tecido exibindo podridão mole e em seguida, realizou-se a punção na região central de uma das faces internas do tubérculo. A duas faces foram unidas por meio de um elástico. Os tubérculos foram acondicionados em sacos plásticos com algodão umedecido, proporcionando uma câmara úmida e incubados à temperatura de 28°C, por 24 a 48 horas. Após o aparecimento dos sintomas de podridão mole, com uma alça de platina flambada, os isolados bacterianos foram transferidos para placas de Petri contendo MB1, pelo método de estria paralela.

Após o crescimento, foram observadas a pureza do isolamento, a cor e a morfologia das colônias. As colônias individualizadas e devidamente caracterizadas foram repicadas para tubos de ensaio, contendo MB1 inclinado. A partir das colônias em tubos de ensaio foram realizados os testes bioquímicos para a determinação do gênero, a inoculação em plantas hospedeiras e as inoculações cruzadas. A descrição dos isolados bacterianos obtidos no presente estudo foi feita com base nas descrições de Krieg & Holt (1984) e Schaad et al. (2001).

3.4.2 Reação de hipersensibilidade

A reação de hipersensibilidade foi feita para se comparar a patogenicidade dos isolados. Uma suspensão bacteriana na concentração aproximada de 10⁸ ufc/mL foi infiltrada nos espaços intercelulares da região dorsal das folhas de fumo, de tomate e de pimentão, por meio de seringa hipodérmica de 10 mL. A picada no tecido foi feita com a parte em bisel da agulha voltada para baixo. As folhas infiltradas foram etiquetadas e as plantas colocadas em ambiente seco, à temperatura máxima de 30°C. As avaliações foram realizadas 24 horas após o teste, observando-se o aparecimento de lesões necróticas, dessecadas e localizadas (Mariano & Silveira, 2005).

3.4.3 Teste de patogenicidade

Foram seguidos os postulados de Koch para se confirmar a patogenicidade dos isolados bacterianos em mudas de antúrio e copo-de-leite (Fukui et al., 1996; Mariano & Silveira, 2005).

Para se averiguar a patogenicidade de isolados do gênero *Xanthomonas*, trinta dias após o transplante, as mudas de antúrio e copo-de-leite foram pulverizadas com a suspensão bacteriana na concentração de $1x10^8$ ufc/mL ($A_{600} = 0,12$). As mudas foram mantidas em câmara úmida durante 24 horas antes e

depois da inoculação. Nas mudas testemunhas, pulverizou-se água destilada esterilizada. As mudas foram isoladas umas das outras, por uma proteção plástica, evitando-se, dessa forma, contato entre mudas inoculadas com isolados diferentes. As avaliações foram realizadas aos dez dias após a inoculação.

Para se averiguar a patogenicidade de isolados de *Erwinia*, procedeu-se a inoculação em mudas de copo-de-leite, trinta dias após o transplante. Palitos comuns de madeira foram previamente esterilizados, imersos em suspensão bacteriana e introduzidos no ponto de inserção da folha no caule, deixando-se o palito no caule. Na testemunha, foi empregada água destilada esterilizada. As mudas foram isoladas umas das outras, com uma proteção plástica, evitando, dessa forma, contato entre mudas inoculadas com isolados diferentes.

3.4.4 Inoculação em órgãos de reserva

Para a inoculação em órgãos de reserva, foram utilizados frutos de pimentão, bulbos de cebola, tubérculo de batata e raízes de cenoura, os quais foram lavados cuidadosamente com água e sabão para a remoção dos resíduos de terra. Em seguida, o material foi mergulhado em álcool absoluto e flambado. Com escalpelo esterilizado, cortaram-se pequenos fragmentos do tecido vegetal. Com estilete flambado e resfriado, tocou-se várias vezes nas colônias do patógeno com 24 a 48 horas e, em seguida, realizou-se a punção na região central do tecido vegetal. Os fragmentos inoculados foram acondicionados sobre um suporte dentro de placas de Petri contendo papel filtro umedecido. As placas foram incubadas à temperatura de 28°C, por 24 a 48 horas. Observou-se o surgimento de sintomas de podridão mole (Romeiro, 2001).

3.4.5 Características bioquímicas para a determinação dos gêneros fitopatogênicos

3.4.5.1 Reação de Gram

Para a reação de Gram foram utilizados os métodos de coloração e de solubilidade em KOH (Schaad et al., 2001).

Coloração de Gram

Utilizando-se lâminas limpas, preparou-se um esfregaço a partir de uma suspensão bacteriana diluída em água destilada. Com uma alça de platina, flambada e resfriada, uma gota da suspensão foi espalhada na superfície da lâmina. O esfregaço foi coberto com solução de cristal violeta por 1 minuto. Lavou-se rapidamente com água corrente e cobriu-se com lugol por 1 minuto, lavando-se novamente com água corrente. Foi realizada a descoloração com álcool etílico por 30 segundos e a contrastação com safranina por 30 a 60 segundos. Lavou-se em água corrente e secou-se ao ar. As colônias foram observadas em objetiva de imersão. As células gram-positivas ficam com coloração violeta e as gram-negativas tornam-se avermelhadas.

Método rápido de Ryu para reação de Gram

Com uma pipeta de Pasteur ponta fina, colocou-se uma pequena gota de solução de hidróxido de potássio (KOH 3%) sobre uma lâmina limpa. A partir de uma cultura bacteriana com 24 a 48 horas, a 28°C em MB1, transferiu-se com a alça de repicagem, flambada e resfriada, um pouco do crescimento para a gota de KOH, com agitação rápida e circular. Após 5 a 10 segundos, elevou-se e baixou-se a alça, acima da superfície da lâmina, para se detectar o efeito cordão ou fio. O teste é considerado positivo se a viscosidade da gota aumentar e o fio se formar dentro de 15 segundos. Para resultados positivos, a bactéria é do tipo

gram-negativa, pois as gram-positivas geralmente são dispersas dentro do KOH, não aumentando a viscosidade do mesmo.

3.4.5.2 Utilização de asparagina

Isolados bacterianos foram cultivados em MB1 líquido por 24 a 48 horas e transferidos com alça de platina, para tubos contendo meio de asparagina (asparagina - 10 g; KH₂PO₄ - 0,5 g; MgSO₄.7H₂O - 0,5 g; água destilada - 1000 mL). Os tubos foram incubados a 28°C, observando se houve ou não crescimento bacteriano, por sete dias (Mariano & Silveira, 2005).

3.4.5.3 Produção de xanthomonadinas

Isolados de *Xanthomonas* foram cultivados em placas de Petri contendo MB1, a 28°C por 24 a 48 horas. Preparou-se a suspensão bacteriana em água destilada. As células bacterianas foram coletadas por centrifugação a 7.000 rpm, por 10 minutos, ressuspendidas em água destilada e centrifugadas novamente, descartando-se o sobrenadante. O sedimento foi transferido para tubos de ensaio contendo metanol (grau de pureza analítico), de modo a formar uma suspensão concentrada. Os tubos foram acondicionados em béquer contendo água a 90°C, por 10 minutos. A seguir, realizou-se nova centrifugação por 10 minutos, recolhendo-se o sobrenadante para leitura em espectofotômetro. O espectro de absorção foi determinado de 400 a 500nm (Schaad et al., 2001).

Xanthomonadinas, tipicamente, dão um pico de absorção máxima a 443 nm e dois ombros, um a 420 nm e outro a 467 nm.

Como controle, para efeito de comparação, foi utilizada uma cultura pura de *Xanthomonas vesicatoria*.

3.4.6 Características bioquímicas para determinação de espécies fitopatogênicas

3.4.6.1 Gênero Erwinia

Crescimento a 37°C

Isolados de *Erwinia* foram cultivados em MB1 líquido, a 28°C, por 24 horas. Tubos contendo MB1 foram pré-aquecidos em banho-maria, por 30 minutos. Após, os tubos foram levados para a câmara de fluxo laminar, procedendo-se a repicagem com uma alça de platina. Manteve-se um tubo sem repicagem como controle. Os tubos foram acondicionados, novamente, em banho-maria, a 37°C, por 48 horas (Schaad et al., 2001).

Sensibilidade à eritromicina

Isolados de *Erwinia* foram cultivados em MB1 líquido, a 28°C por 24 horas. Transferiu-se uma alíquota de 100 μl da suspensão bacteriana para tubos contendo MB1 semi-sólido. Agitou-se a suspensão, vertendo-a em placas de Petri contendo MB1. Esperou-se solidificar e acondicionaram-se quatro discos de sulfato de eritromicina em cada placa. As placas foram incubadas a 28°C, por 24 horas. Um halo de inibição ao redor dos discos é tido como resposta positiva à sensibilidade (Schaad et al., 2001).

Produção de gás a partir de glicose

Isolados de *Erwinia* foram cultivados em MB1 líquido, a 28°C, por 24 horas. Preparou-se o meio de cultura básico líquido (NH₄H₂PO₄ – 0,5g; K₂HPO₄ – 0,5g; MgSO₄. 7H₂O – 0,2g; NaCl – 5,0g; extrato de levedura – 1,0g; água destilada – 1.000 mL), acrescido do indicador de pH azul de bromotimol na concentração de 0,0016g/ 100 mL de meio. Preparou-se uma solução de glicose a 10%. Após, adicionaram-se 0,5 mL da solução de glicose e um tubo de

Duhram, com a abertura voltada para baixo, aos tubos contendo o meio. Com uma alça de platina, transferiu-se uma gota da colônia bacteriana para os tubos. Manteve-se um tubo sem repicagem como controle. Os tubos foram incubados a 28°C, por 7 dias. A produção de gás é indicada pelo acúmulo de bolhas nos tubos invertidos (Mariano & Silveira, 2005).

Produção de ácido a partir de diversas fontes de açúcares

Isolados de *Erwinia* foram cultivados em MB1 líquido, a 28°C, por 24 a 48 horas. Preparou-se um meio de cultura básico líquido (NH₄H₂PO₄ – 0,5g; K₂HPO₄ – 0,5g; MgSO₄. 7H₂O – 0,2g; NaCl – 5,0g; extrato de levedura – 1,0g; água destilada – 1.000 mL), acrescentando-se o indicador de pH azul de bromotimol na concentração de 0,0016g/ 100 mL de meio. Prepararam-se as soluções de cada açúcar a 10%. Após, adicionaram-se 0,5 mL da solução de açúcares aos tubos contendo o meio. Com uma alça de platina, transferiu-se uma gota da suspensão bacteriana para os tubos de ensaio contendo os açúcares. Manteve-se um tubo sem repicagem como controle. Os tubos foram incubados a 28°C, por 7 dias. A mudança de cor para amarelo indica a utilização do açúcar (Mariano & Silveira, 2005).

Os açúcares utilizados no teste foram: lactose, maltose, trealose e inositol.

3.4.6.2 Gênero Xanthomonas

Hidrólise de amido

Isolados de *Xanthomonas* foram semeados, em zigue-zague, em placas contendo meio EPGA (extrato de levedura – 3,0 g; peptona – 7,0 g; amido – 2,0 g; glicose – 15,0 g; ágar – 20,0 g; água destilada – 1000 mL) para que a colônia crescesse somente ao longo do centro da placa. As placas foram incubadas a 28°C, por 5 a 7 dias. Após o crescimento das colônias, colocou-se lugol sobre o

meio e verificou-se o resultado. A hidrólise de amido é caracterizada pela formação de um halo claro em volta da colônia (Schaad et al., 2001).

Oxidase

Isolados de *Xanthomonas* foram cultivados em MB1, a 28°C, por 24 a 48 horas. Preparou-se uma solução de dimetil-parafenileno-diamino a 1,0%, em água destilada e, com uma pinça, molhou-se um pedaço de papel de filtro whatman na solução e esfregou-se uma pequena porção da bactéria no papel tratado. O resultado é considerado positivo se a coloração da colônia mudar para rosa claro em 30 segundos (Mariano & Silveira, 2005).

Catalase

Colocou-se uma pequena porção da colônia bacteriana de *Xanthomonas*, cultivada em MB1 sólido, sobre uma lâmina de vidro limpa e perfeitamente flambada. Adicionaram-se algumas gotas de H₂O₂ (peróxido de oxigênio) a 3,0% sobre o fragmento da colônia bacteriana. A colônia é considerada catalase positiva se houver a liberação de bolhas em 30 segundos (Schaad et al., 2001).

Produção de Urease

Isolados de *Xanthomonas* foram cultivados em MB1 líquido, a 28°C, por 24 a 48 horas. Preparou-se o meio de cultura básico líquido (NH₄H₂PO₄ – 0,5g; K₂HPO₄ – 0,5g; MgSO₄. 7H₂O – 0,2g; NaCl – 5,0g; extrato de levedura – 1,0g; água destilada – 1.000 mL), acrescentando o indicador de pH vermelho de cresol, na concentração de 0,0016g/ 100 mL de meio. Preparou-se uma solução de uréia a 2,0%. Após, adicionou-se 1,0 mL da solução de uréia aos tubos contendo o meio. Com uma alça de platina, transferiu-se uma gota da suspensão bacteriana para os tubos de ensaio contendo a uréia. Manteve-se um tubo sem repicagem como controle. Os tubos foram incubados a 28°C, por 7 dias. O teste

é positivo quando uma cor vermelho-escura aparece no meio (Mariano & Silveira, 2005).

Produção de ácido a partir de diversas fontes de açúcares

Isolados de *Xanthomonas* foram cultivados em MB1 líquido, a 28°C, por 24 a 48 horas. Preparou-se um meio de cultura básico líquido (NH₄H₂PO₄ – 0,5g; K₂HPO₄ – 0,5g; MgSO₄. 7H₂O – 0,2g; NaCl – 5,0g; extrato de levedura – 1,0g; água destilada – 1.000 mL), acrescentando-se o indicador de pH azul de bromotimol na concentração de 0,0016g/ 100 mL de meio. Preparou-se as soluções de cada açúcar a 10%. Após, adicionaram-se 0,5 mL da solução de açúcares aos tubos contendo o meio. Com uma alça de platina, transferiu-se uma gota da suspensão bacteriana para os tubos de ensaio contendo os açúcares. Manteve-se um tubo sem repicagem como controle. Os tubos foram incubados a 28°C, por 7 dias. A mudança de cor para amarelo indica a utilização do açúcar (Mariano & Silveira, 2005).

Os açúcares utilizados no teste foram: arabinose, dulcitol, glicose, lactose, manitol, raminose, sacarose e sorbitol.

3.4.7 Características moleculares

3.4.7.1 Extração de DNA genômico

O DNA dos isolados bacterianos foi extraído e purificado de acordo com o método de Ausubel et al. (1994), com algumas modificações. Os isolados foram cultivados em MB1 líquido. Alíquotas (1,5 mL) da cultura foram transferidas para tubos eppendorfs, centrifugadas a 11.700 rpm por 2 minutos e as células ressuspendidas em 567 μL de tampão TE (10 mM Tris-HCl, pH 7,5; EDTA 1 mM, pH 8,0). A seguir, adicionaram-se 30 μL de SDS 10% e 3 μL de proteinase K (20 mg/mL), agitando-se vagarosamente. Os tubos foram incubados em banho-maria, a 37°C, por 1 hora. Ao conteúdo dos tubos

adicionaram-se 100 μL de NaCl 5M, seguindo-se de agitação em vortex. Novamente, adicionaram-se 80 μL de CTAB/NaCl (4,1g de NaCl e 10 g de CTAB, em 100 mL de água), seguindo-se de agitação em vortex. Os tubos foram, então, incubados em banho-maria, a 65°C, por 10 minutos e, a seguir, à temperatura ambiente; adicionaram-se 550 μL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), seguindo-se de agitação manual por 10 minutos e centrifugação a 11.700 rpm, por 5 minutos. Após este processo, a fase superior foi transferida para um novo tubo, medindo-se o volume. Nesta etapa adicionaram-se 0,6 volumes de álcool isopropílico e os tubos foram levados ao ultra frezeer, a -80°C, por 10 minutos. Novamente procedeu-se à centrifugação a 11.700 rpm, por 20 minutos. Retirou-se o sobrenadante e o pellet foi lavado com etanol 70%, seguindo-se de centrifugação a 11.700 rpm, por 10 minutos. O pellet foi ressuspendido em 50 μL de TE e armazenado a 4°C.

3.4.7.2 Reação de amplificação do DNAPCR

A amplificação do DNA foi realizada com volumes de 50 μL, sendo 5 μL de tampão 10X, 3 μL de cloreto de magnésio, 1,0 μL de dNTPs, 1 μL de cada primer (10 pmol), 1 U de Taq polimerase e 2 μL do DNA da amostra, completando-se o volume com água ultrapura. Os primers utilizados foram os descritos por Honeycutt et al. (1995): 16S 1330 (5'-GTT CCC GGG CCT TGT ACA CAC-3') e 23s 322anti (5'-GGT TCT TTT CAC CTT TCC CTC-3'), os quais permitem a amplificação de um fragmento específico de 1,1 par de base. O programa utilizado no termociclador, descrito por Honeycutt et al. (1995) foi adequado às condições deste experimento, sendo 30 segundos a 94°C para desnaturação, 30 segundos a 65°C para anelamento, 1 minuto a 72°C para extensão, por 40 ciclos e 5 minutos a 72°C para extensão final.

3.4.7.3 Corrida em gel de agarose

A visualização do produto da PCR foi feita em gel de agarose a 0,9%, diluído em tampão TBE (TBE 10 X 108g Tris 89mM, 55g ácido bórico 89 mM, e EDTA 0,5 M em pH 8,0) e corado com brometo de etídeo. Os produtos da PCR dos isolados obtidos foram comparados com isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* e *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*.

3.4.8 Inoculação cruzada de isolados de *Xanthomonas* spp. em diferentes hospedeiros para verificar a especificidade

3.4.8.1 Preparo das mudas

Para a inoculação dos isolados de *Xanthomonas* sp. em mudas de tomate (Família Solanaceae), foi realizada a semeadura em bandejas de 288 células contendo o substrato Plantmax e, com um mês de idade, as mudas foram transplantadas para vasos contendo a mistura solo, areia e esterco curtido (1:1:1), obtendo-se 20 mudas de tomate. Utilizou-se tomate para avalaiar a especificidade dos isolados de *Xanthomonas* sp. obtidos no presente estudo.

As mudas de antúrio, copo-de-leite, lírio-da-paz e singônio utilizadas no ensaio foram obtidas da empresa Clonagri, Holambra (SP).

3.4.8.2 Preparo do inóculo e inoculação

Foram utilizados, neste ensaio, os isolados de *Xanthomonas* sp. obtidos das amostras H20 e H21 (Tabela 2) e Xv (*Xanthomonas vesicatoria*) proveniente de tomate. Os isolados foram transferidos do tubo de ensaio, onde estavam conservados em MB1, para placas de Petri contendo o mesmo meio de cultura e incubados a 28°C, por 48 horas.

A suspensão bacteriana foi preparada minutos antes de cada inoculação. Utilizaram-se suspensões bacterianas em água destilada, ajustadas de acordo

com a correlação entre densidade ótica e unidade formadora de colônia/ ml para 0,12 Abs. (600nm), o que corresponde a, aproximadamente, 1x10⁸ ufc/mL.

As mudas foram mantidas em câmara úmida durante 24 horas, antes e depois da inoculação. Após, as mudas foram mantidas em casa de vegetação até o final do experimento. As inoculações foram realizadas por pulverização da suspensão bacteriana sobre as mudas, até o ponto de escorrimento.

Os tratamentos utilizados, para cada isolado, foram: T1, testemunha não inoculada e T2, planta inoculada com suspensão bacteriana.

3.4.8.3 Avaliações

As avaliações foram realizadas com base na incidência da doença na fase de mudas, aos sete dias após a inoculação (DAI), medindo-se o diâmetro das lesões em dois sentidos diametralmente opostos. Foram feitos o reisolamento dos isolados em cultura pura e a comparação com as colônias inoculadas

3.4.8.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 5 (3 isolados x 5 espécies de plantas) com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de 1 muda. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, a 5% de probabilidade, para comparação das médias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas 64 amostras de aráceas com sintomas de doenças, provenientes de diferentes regiões do Brasil (Tabela 2).

TABELA 2 Plantas da família Araceae com sintomas de doenças, agente etiológico e procedência. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Amostra	Planta	Código	Isolado	Local de coleta	Mês
H01	Antúrio	CM01	G.c.*	Lavras, MG	Jan.
H02	Antúrio	CM02 CM03 CM04 CM05 CM06 CM07 CM08 CM09 CM10 CM11	C.g. G.c. C.g./ G.c. G.c. G.c. C.g/ G.c. G.c. C.g/G.c. C.g/G.c.	Lavras, MG	Fev.
H03	Antúrio	CM13 CM14 CM15 CM16 CM17	G.c. C.g. C.g. C.g. C.g.	Lavras, MG	Março

...continua...

TABELA 2, Cont.

		CM18	C.g.		
H04		CM19	C.g.		
		CM20	C.g		
		CM21	G.c.		
	Antúrio	CM22	C.g.	Nepomuceno, MG	Abril
		CM23	G.c.		
		CM24	C.g.		
		CM25	G.c.		
		CM26	G.c.		
H05	Antúrio	CM27	G.c.	Rio Verde, GO	Maio
1103	Antuno	CM28	G.c.		
		G1 10 0	~		
		CM29	G.c.		
		CM30	G.c.		
H06	Antúrio	CM31	C.g.	Barbacena, MG	Jun.
1100	1 11100110	CM32	G.c.		
		CM33	G.c.		
		CM34	G.c.		
		CM35	$C \circ / C \circ$	Dio do Ionairo DI	Jul.
H07	Antúrio	CM36	C.g./ G.c. C.g./ G.c.	Rio de Janeiro, RJ	Jui.
		CIVISO	C.g./ G.c.		
			•		
H08	Antúrio	CM37	G.c.	Lavras, MG	Ago.
		CM38	G.c.		
H09		CM39	C.g.		
	Antúrio	CM40	G.c.	Lavras, MG	Ago.
		CM41	G.c.		
		CM42	G.c.		
		G) 515	~		
	Antúrio	CM43	C.g.	Pagistro SP	Out
H10		CM44	C.g.	Registro, SP	Out.
		CM45	C.g.		

...continua...

TABELA 2, Cont.

	,				
H11	Antúrio	CM46 CM47	G.c. G.c.	Lavras, MG	Nov.
H12	Copo-de- leite	CM48	C.r.*	Rio de Janeiro, RJ	Maio
H13	Copo-de- leite	CM49 CM50 CM51	C.r. C.r. C.r.	Lavras, MG	Ago.
H14	Lírio-da-paz	CM52	C.f.	Lavras, MG	Maio
H15	Singônio	CM53 CM54	G.c. G.c.	Lavras, MG	Março
H16	Singônio	CM55	G.c.	Lavras, MG	Maio
H17	Singônio	CM56	G.c.	Lavras, MG	Ago.
H18	Singônio	CM57	C.f.	Rio Verde, GO	Maio
H19	Singônio	CM58	G.c.	Tiradentes, MG	Jul.
H20	Copo-de- leite	CB01	X.c.z.*	Lavras, MG	Set.
H21	Antúrio	CB02	<i>X.a.d.</i> *	Registro, SP	Out.
H22	Copo-de- leite	CB03	E.c.c.*	Lavras, MG	Jan.
H23	Copo-de- leite	CB04	E.c.c.	Lavras, MG	Ago.
H24	Copo-de- leite	CB05 CB06	E.* E.	Lavras, MG	Out.

^{*}C.r = Cercospora richardiaecola; C.f.= Colletotrichum falcatum; C.g.= Colletotrichum gloeosporioides; G.c.= Glomerella cingula; E.= Erwinia sp.; E.c.c.= Erwinia carotovora subsp. carotovora; X.a.d.= Xanthomonas axonopodis pv. dieffenbachiae; X.c.z.= Xanthomonas campestris pv. zantedeschiae.

Quatro tipos básicos de sintomas foram identificados (Tabela 3). O principal sintoma observado foi o de mancha foliar (Figura 1). O gênero *Colletotrichum* predominou entre os fungos e *Xanthomonas* entre as bactérias nas amostras estudadas (Figura 2).

TABELA 3 Sintomas causados por fungos e bactérias, em plantas da família Araceae. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Código	Sintomas	Agente etiológico	Hospedeiro	
Tipo I	Manchas pequenas,	C. gloeosporioides	Antúrio	
	circulares, com ou sem	C. richardiaecola	Copo-de-leite	
	halo amarelado, em			
	folhas e pecíolos			
Tipo II	Lesões cuneiformes, nos	C. gloeosporioides	Antúrio	
	bordos foliares, podendo			
	ocorrer ao longo do limbo			
Tipo III	Manchas necróticas	Glomerella cingulata	Antúrio	
	iregulares, no limbo foliar	C. falcatum	Singônio	
		X. axonopodis pv.	Lírio-da-paz	
		diefenbachiae	Copo-de-leite	
		X. camperstris pv.		
		zantedeschia		
Tipo IV	Podridão mole no limbo	Erwina spp.	Copo-de-leite	
	foliar, haste e rizoma			

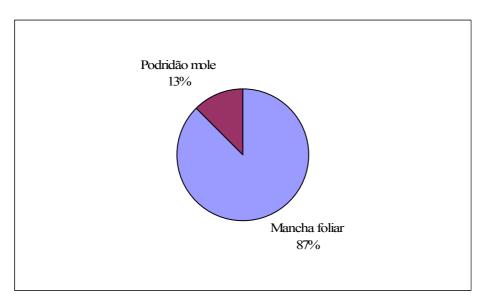


FIGURA 1. Freqüência relativa dos sintomas de maior ocorrência em plantas da família Araceae estudadas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

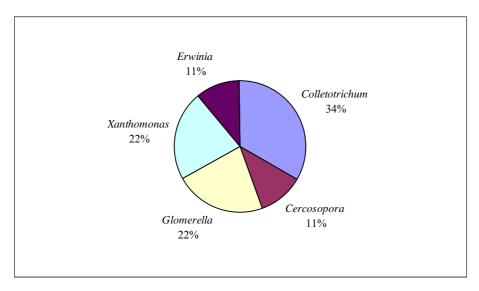


FIGURA 2. Freqüência relativa dos patógenos de maior ocorrência nas plantas da família Araceae estudadas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

As manchas foliares reduzem consideravelmente a qualidade das folhagens, que representam o principal órgão de interesse comercial da família Araceae. O gênero *Colletotrichum* foi o principal responsável pelos sintomas de mancha foliar nas folhagens e inflorescências, representando 50%, seguido de *Xanthomonas* (33%) e Cercospora (17%) (Figura 3).

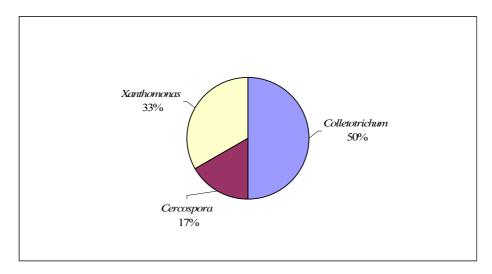


FIGURA 3. Principais gêneros de patógenos causadores do sintoma de mancha foliar em plantas da família Araceae estudadas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Neste trabalho, os fungos foram responsáveis por 67% dos sintomas de mancha foliar e as bactérias por 33% (Figura 4). Pozza et al. (1996), em levantamento sobre doenças de plantas ornamentais, realizado em Lavras, MG, também constataram que a maioria dos sintomas observados eram manchas foliares. Destes, 54,6% foram causados por fungos.

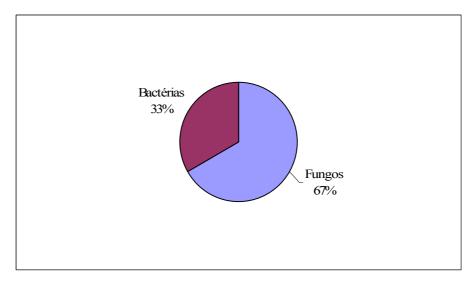


FIGURA 4. Freqüência relativa dos patógenos causadores de manchas foliares em plantas da família Araceae estudadas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

D. Neto et al. (2003) diagnosticaram *C. gloeosporioides, Cercospora* sp. e *Xanthomonas campestris* pv. *Dieffenbachiae*, em várias espécies de aráceas da Coleção Roberto Burle Marx.

De acordo com Graham & Strobel (1958), o gênero *Colletotrichum* é um dos mais comuns causadores de doenças em ornamentais na América do Norte, principalmente *C. gloeosporioides*. Este fungo é o agente etiológico da antracnose, principal doença das aráceas. O gênero *Cercospora* está freqüentemente associado às folhas mais velhas de copos-de-leite, cultivados em locais sombreados e irrigados por aspersão (Vieira & Barreto, 2004). Segundo Khoodoo et al. (2005), *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* é a principal espécie bacteriana em aráceas.

As bactérias do gênero *Erwinia*, grupo carotovora, foram responsáveis pelo sintoma de podridão de hastes e bulbos. Resultado semelhante foi encontrado em levantamento sobre doenças em várias espécies de aráceas da Coleção Roberto Burle Marx (D. Neto et al., 2003).

Segundo Almeida et at. (1996) as espécies *E. chrysanthemi* e *E. carotovora* subsps. *carotovora* são responsáveis pelo sintoma de podridão mole em várias ornamentais e Wright (1998) coloca *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* como a responsável pelo sintoma de podridão mole em bulbos de copo-de-leite.

4.1 Doenças fúngicas e agentes etiológicos

4.1.1 Antúrio (Anthurium spp. Schott.)

Foram encontrados três tipos de manchas foliares em antúrios: o tipo II (Tabela 3), iniciando com pequenos pontos escuros, que vão coalescendo até necrosar toda a folhagem (Figuras 5 A e B); o tipo I (Tabela 3), iniciando com pequenas pontuações cloróticas que evoluem formando manchas ovaladas pardo-avermelhadas envolvidas por um halo amarelado, medindo de 0,4cm a 2,5cm de comprimento e de 0,4 a 1,7cm de largura (Figuras 5 C e D); e o tipo III (Tabela 3), apresentando bordos irregulares e, algumas vezes, forma circular (Figuras 5 E e F).

A maior concentração de manchas ocorreu próxima aos bordos das folhas, havendo, geralmente, o coalescimento das lesões, formando grandes áreas necrosadas (Figuras $5\ A-F$).

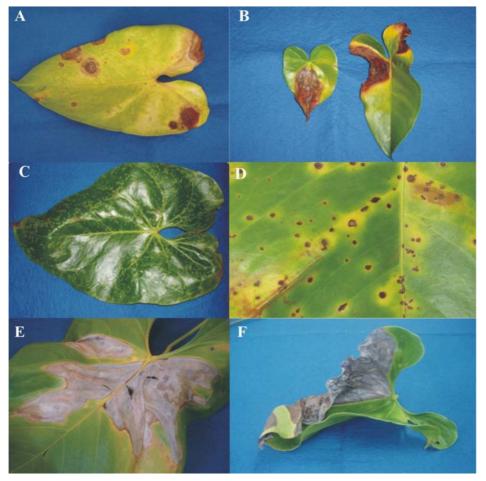


FIGURA 5. Fotografia de sintomas de antracnose em antúrio. A, B e C) Manchas foliares do tipo II, causadas por *Colletotrichum gloeosporioides*; D) Mancha foliar do tipo I, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*; E e F) Manchas foliares do tipo III, causadas por *Glomerella cingulata*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Descrição morfológica do fungo:

Peritécios com 150 a 250 μ m de diâmetro (Figura 6A), 120 a 150 μ m de altura, globosos, de parede negra, com paráfises carbonáceas e ostiolados. **Ascos** clavados, com 39 a 60 x 6 a 10 μ m, pedicelados, com 4 a 8 ascóporos (Figura

6B). **Ascósporos** hialinos, elipsóides, ligeiramente recurvos, asseptados, com 11 a 17 x 6 μm (Figura 6C). Dessa forma, o fungo em questão trata-se de *Glomerela cingulata* (Stoneman) Spald. e H. Schrenk.

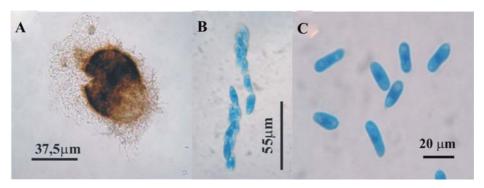


FIGURA 6. Fotomicrografía de *Glomerella cingulata*. A) Peritécio; B) Asco; C) Ascóporos. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Glomerella cingulata (Stoneman) Spald. & H. Schrenk foi isolado, com maior freqüência, dos sintomas do tipo III (Figuras 6 E e F). A identificação dessa espécie fúngica deu-se pela comparação com as decrições de Viégas (1944), Arx & Muller (1954), Hanlin (1990) e Cannon (1991). Este patógeno foi encontrado nas amostras de antúrio coletadas em Barbacena, Lavras, Nepomuceno, Rio de Janeiro e Rio Verde, regiões com longitude entre 43° a 51° e latitude entre 17° a 23°, nos meses de janeiro a novembro de 2005 (Tabela 2).

Glomerella cingulata foi relatada em antúrio em Barbados, Califórnia, Cuba, Venezuela, Malásia e Nova Zelândia (USDA, 2005). No Brasil, este foi o primeiro relato de Glomerela cingulata em antúrio.

Conídios com 9 a 24 x 3 a 4,5 μm, cilíndrico (Figura 7) e **apressório** 6 a 20 x 4 a 12 μm, clavado ou irregular também foram encontrados em antúrio, correspondendo a *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.



FIGURA 7. Fotomicrografia de conídios de *Colletotrichum gloeospodiroides*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc. foi isolado dos sintomas dos tipos I e II (Figuras 6 A, B e C). A identificação dessa espécie fúngica também deu-se pela comparação com as decrições de Viégas (1944), Arx & Muller (1954), Hanlin (1990) e Cannon (1991). Este patógeno foi encontrado nas amostras de antúrio coletadas em Lavras, Nepomuceno, Rio de Janeiro e Registro, regiões com longitude entre 44° a 48° e latitude entre 21° a 24°, nos meses de fevereiro, março, abril, julho e outubro. A incidência deste patógeno

foi mais frequente em Lavras, no mês de abril e em Registro, no mês de outubro (Tabela 2).

Colletotrichum gloeosporioides foi relatado para antúrio na Venezuela, Califórnia, Havaí, Coréia, Países Baixos, Flórida, Guatemala, Colômbia, Louisiana, Maryland, México e Trinidad e Tobaco (USDA, 2005). No Brasil, Colletotrichum sp. e C. gloeosporioides foram relatados para antúrio por vários autores (Pitta et al., 1989; Pozza, 1994; Pitta, 1995; Pozza et al., 1996; Souza et al., 2001; D. Neto et al., 2003).

Os testes de patogenicidade com *Colletotrichum gloeosporioides* e *Glomerela cingulata* em mudas de antúrio, produziram lesões sete dias após a inoculação, completando os postulados de Koch. Desse modo, pode-se atribuir à *Glomerela cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* a condição de agentes causadores da antracnose em antúrio.

4.1.2 Copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.)

Nas plantas de copo-de-leite, os sintomas iniciaram-se como manchas circulares do tipo I (Tabela 3) a irregulares distribuídas ao longo do limbo foliar, com bordos pardos e centro branco, sem halo. O tamanho variou de 11 a 21 mm de largura. Posteriormente, as manchas coalesceram, formando uma grande área de tecido necrosado (Figuras 8 A e B).

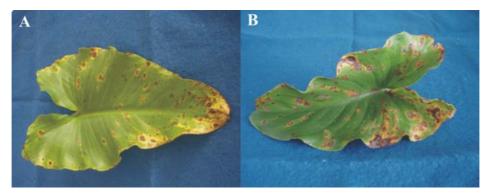


FIGURA 8. Fotografia de sintomas de cercospora em copo-de-leite. A e B) Manchas foliares do tipo I, causadas por *Cercospora richardiaecola*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Descrição morfológica do fungo: **Conidióforo** hipófilo, fasciculado, cilíndrico, ligeiramente sinuoso, geniculado, 74 a 151 x 5 a 10μm, amarronzado, 3 a 9 septos. **Conídio** obclavado a filiforme, reto a ligeiramente curvado, 40 a 237 x 2,5 a 7,5μm, 5 a 15 septos, hialino, com uma cicatriz espessa e escura.

A identificação dessa espécie fúngica deu-se pela comparação com as decrições de Vieira & Barreto (2004). Pela análise dos sintomas e das estruturas do patógeno, chegou-se a *Cercospora richardiaecola*. Este patógeno foi encontrado nas amostras de copo-de-leite coletadas em Lavras e Rio de Janeiro, regiões com longitude entre 43° a 45° e latitude entre 21° a 23°, nos meses de maio e agosto (Tabela 2).

Há relatos de quatro espécies de *Cercospora* para copo-de-leite. *Cercospora callae* e *Cercospora callae* f. sp. *aethiopica* foram relatadas na Flórida e Espanha, respectivamente. *Cercospora richardiicola* em Hong Kong, Malásia, África do Sul, Zimbábue. *Cercospora richardiaecola* no Alabama, Flórida, Mississipi, Porto Rico, África do Sul e Ilhas Virgens (USDA, 2005).

Cercospora richardiaecola já foi relatada no Brasil, no estado de Minas Gerais, especificamente em Viçosa (Vieira & Barreto, 2004). No entanto, não

foram encontrados relatos da ocorrência de *Cercospora richardiaecola* em copode-leite, nas regiões de Lavras, MG e Rio de Janeiro, RJ.

Após inoculação do patógeno em folhas destacadas, houve o desenvolvimento de lesões aos cinco dias, completando os Postulados de Koch. Desse modo, pode-se considerar *Cercospora richardiaecola* como o agente patogênico nas amostras de copo-de-leite analisadas.

4.1.3 Lírio-da-paz (Spathiphyllum spp. Regel)

Em lírio-da-paz foram observados manchas foliares dos tipos I e III (Tabela 3), ovaladas pardo-avermelhadas envolvidas por um halo amarelado, medindo de 0,4cm a 2,5cm de comprimento e de 0,4 a 1,7cm de largura, com bordos irregulares e, algumas vezes, de forma circular. A maior concentração de manchas ocorreu próxima aos bordos das folhas, sendo freqüente o coalescimento das lesões, formando grandes áreas necrosadas (Figuras 9 A e B).

Descrição morfológica do fungo: **Conídio** com 15,5 a 26,5 x 4 a 5 μ m, falcado, fusiforme, com ápices obtusos (Figura 10). **Apressório** 12,5 a 14,5 x 9,5 a 12 μ m (6 a 21 x 6 a 17 μ m), clavado ou circular. **Setas** abundantes.

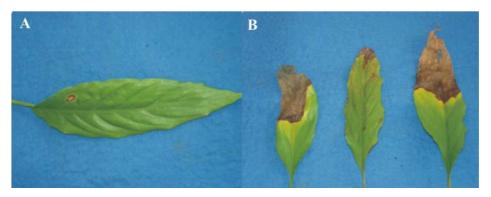


FIGURA 9. Fotografía de sintomas de antracnose em líro-da-paz. A e B) Manchas foliares dos tipos I e II, causadas por *Colletotrichum falcatum*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

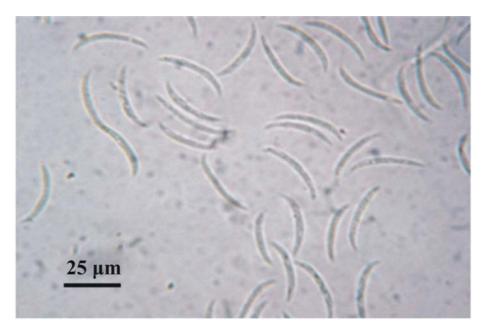


FIGURA 10. Fotomicrografia de conídios de *Colletotrichum falcatum*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Após a caracterização das estruturas, o fungo coletado dos sintomas descritos acima foi identificado como *Colletotrichum falcatum* Went pela comparação com a descrição encontrada em Sutton (1980) e Cannon (1991). Este patógeno foi encontrado nas amostras de lírio-da-paz coletadas em Lavras, no mês de maio (Tabela 2).

Colletotrichum falcatum é um sério patógeno da cana-de-açúcar (Saccharum spp.), sendo o agente causal da doença conhecida como podridão vermelha (Cannon, 1991) e também foi relatado causando antracnose em várias espécies de plantas, como Dahlia pinnata (dália), Dichorisandra sp. (cana-demacaco), Erianthus giganteus (gramínea), Ophiopogon japonicus (grama-preta), Sorghum halepense (sorgo), Syngonium sp. (singônio), Zebrina pendula (trapoeraba-roxa), Zoysia japonica (grama-esmeralda) e Zoysia tenuifolia (grama-coreana) (USDA, 2005; Briendis & Palacios, 1999). No Brasil, este foi o primeiro relato de Colletotrichum falcatum em Spathiphyllum wallisi.

Sete dias após a inoculação artificial em mudas de lírio-da-paz, houve o desenvolvimento das lesões típicas de antracnose, completando os postulados de Koch. Desse modo, pode-se atribuir a *Colletotrichum falcatum* a condição de agente causal da doença.

4.1.4 Singônio (Syngonium spp. Schott)

Nos materiais H15, H16 e H17 de singônio (Tabela 2) foram observados sintomas tipo III (Tabela 3), iniciando com pequenas pontuações cloróticas que evoluiram formando manchas ovaladas pardo-avermelhadas envolvidas por um halo amarelado, medindo de 0,4 a 2,5cm de comprimento e de 0,4 a 1,7cm de largura, com bordos irregulares. A maior concentração de manchas ocorreu próximo aos bordos das folhas, com posterior coalescimento, formando grandes áreas necrosadas (Figuras 11 A e B).

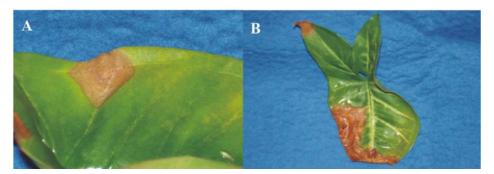


FIGURA 11. Fotografia de sintomas de antracnose em singônio. A e B) Manchas foliares do tipo III, causadas por *Glomerella cingulata*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Descrição morfológica do fungo: **Peritécios** com 150 a 250 μm de diâmetro, 120 a 150 μm de altura, globosos, de parede negra, com paráfises, carbonácea e ostiolados (Figura 6 A). **Ascos** clavados, com 39 a 60 x 6 a 10 μm, pedicelados, com 4 a 8 ascóporos (Figura 6 B). **Ascósporos** hialinos, elipsóides, ligeiramente recurvos, asseptados, com 11 a 17 x 6 μm (Figura 6 C).

O fungo isolado dos sintomas acima descritos foi *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spald. & H. Schrenk, cujo anamorfo é *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. A identificação dessa espécie fúngica deu-se pela comparação com as decrições de Viégas (1944), Arx & Muller (1954) e Hanlin (1990). Este patógeno foi encontrado nas amostras de singônio coletadas em Lavras e Tiradentes, regiões com longitude de aproximadamente de 45° e latitude de 21°, nos meses de março, maio, julho e agosto (Tabela 2).

Colletotrichum sp. e Colletotrichum gloeosporioides foram relatados para singônio nos Estados Unidos, Flórida e Hong Kong (USDA,2005). No Brasil, D. Neto et al. (2003) relataram C. gloeosporioides para singônio, no estado do Rio de Janeiro. Entretanto, Glomerela cingulata foi relatada para

singônio apenas em Cuba e Washington (USDA, 2005), sendo este o primeiro relato no Brasil.

Após a realização do teste de patogenicidade em mudas de singônio, com o desenvolvimento de lesões de *Glomerela cingulata* após sete dias, os Postulados de Koch foram cumpridos. Desse modo, *Glomerela cingulata* foi o agente causal das lesões em folhas de singônio.

Nas amostras H18 e H19 de singônio (Tabela 2), os sintomas foram caracterizados por manchas marrom-escuras dos tipos I e III (Tabela 3), apresentando bordos irregulares (Figuras 12 A e B). A maior concentração de manchas ocorreu próximo aos bordos das folhas, havendo, geralmente, o coalescimento das lesões, formando grandes áreas necrosadas.

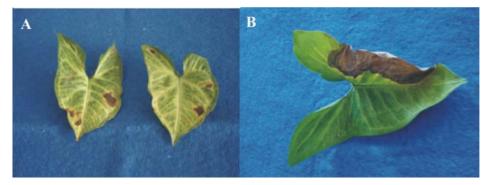


FIGURA 12. Fotografia de sintomas de antracnose em singonio. A e B) Manchas foliares dos tipos I e II, causadas por *Colletotrichum falcatum*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Descrição morfológica do fungo: **Conídio** com 15,5 a 26,5 x 4 a 5 μ m, falcado, fusiforme, com ápices obtusos (Figura 10). **Apressório** 12,5 a 14,5 x 9,5 a 12 μ m (6 a 21 x 6 a 17 μ m), clavado ou circular. **Setas** abundanntes.

Após a caracterização das estruturas, o fungo foi identificado como *Colletotrichum falcatum* Went, conforme a descrição encontrada em Sutton (1980) e Cannon (1991). Este patógeno foi encontrado nas amostras de singônio coletadas em Rio Verde, no mês de maio (Tabela 2).

Colletotrichum falcatum foi relatado causando antracnose em Syngonium sp. no Hawai (USDA, 2005). No entanto, não foram encontrados relatos de Colletotrichum falcatum para singônio no Brasil, sendo este o primeiro relato.

O teste de patogenicidade em mudas de singônio confirmou os Postulados de Koch, podendo atribuir a *Colletotrichum falcatum* a condição de agente etiológico da doença.

4.2 Inoculação de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. falcatum* em diferentes hospedeiros para avaliação de patogenicidade

As maiores lesões foram causadas pelos isolados CM02 de *Glomerella cingulata*, em antúrio e pimentão, e CM08 de *C. gloeosporioides* em singônio e antúrio. As menores lesões foram causadas pelo isolado CML620 de *C. gloeosporioides* em antúrio, singônio e lírio-da-paz (Tabela 4).

De maneira geral, as maiores lesões foram produzidas pelos isolados em seus hospedeiros de origem, exceto para o isolado CM52, obtido de lírio-da-paz e inoculado em pimentão e CM55, obtido de singônio e inoculado em antúrio e lírio-da-paz (Tabela 4).

TABELA 4 Patogenicidade cruzada de isolados de *Colletotrichum* gloeosporioides e *C. falcatum*, avaliada pelo diâmetro das lesões (cm) em diferentes hospedeiros. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Isolados	Hospedeiros					
	Pimentão	Antúrio	Lírio-da-paz	Singônio		
Controle*	0,00 d A	0,00 b A	0,00 b A	0,00 d A		
CML 620	1,72 bc A	0,87 b AB	1,07 ab AB	0,57 cd B		
CM08	0,96 cd B	3,37 a A	1,87 a B	2,12 ab AB		
CM02	3,00 ab A	3,25 a A	1,50 a B	0,96 bcd B		
CM52	2,65 a A	2,07 a B	2,20 a AB	1,85 abc B		
CM55	1,34 c A	2,15 a A	2,00 a A	1,64 abc A		
CM58	2,25 abc A	2,15 a A	1,72 a A	2,45 a A		

As médias com a mesma letra minúscula nas linhas e letra maiúscula nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P \le 0.05$).

*Controle = mudas não inoculadas; CML620 = Colletotrichum gloeosporioides (pimentão); CM08 = Colletotrichum gloeosporioides (antúrio); CM02 = Glomerella cingulata (antúrio); CM52 = Colletotrichum falcatum (lírio-da-paz); CM55 = Glomerella cingulata (singônio); CM58 = Colletotrichum falcatum (singônio).

Entretanto, os isolados de *Glomerella cingulata*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. falcatum*, provenientes de aráceas apresentaram-se patogênicos a todas as plantas testadas. O mesmo foi observado para o isolado de *Colletotrichum gloeosporioides* de pimentão. Estes resultados comprovam a baixa especificidade patogênica dos isolados testados. Dessa forma, estima-se que o antúrio, o lírio-da-paz e o singônio possam ser fontes de inóculo para outras aráceas e plantas da família Solanaceae.

Resultados semelhantes foram observados por R. Filho et al. (2003), em que isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de banana, caju, manga, mamão e maracujá causaram lesões em todos os frutos inoculados, exceto o isolado de maracujá, que foi patogênico apenas ao próprio hospedeiro.

Peres et al. (2002) também verificaram que isolados de *Colletotrichum* spp. foram mais agressivos a seus hospedeiros de origem. Por outro lado, Muniz et al. (1998) verificaram que o isolado de *C. gloeosporioides* proveniente do cajueiro não provocou lesão no maracujá, o que sugere a existência de grupos de especialização patogênica.

4.3 Doenças bacterianas e agentes etiológicos

4.3.1 Antúrio (Anthurium spp. Schott.)

Foram observadas manchas do tipo III (Tabela 3) bem próximo aos bordos das folhas, que geralmente coalescem, formando grandes áreas necrosadas, circundadas por halo amarelado (Figuras 13 A e B).

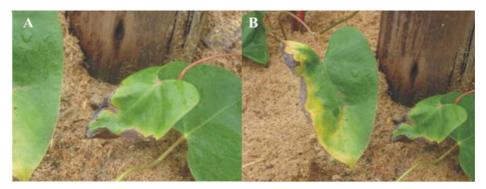


FIGURA 13. Fotografía de sintomas de manchas foliares dos tipos I e II, causadas por *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Dois tipos de colônias, uma amarela - isolado CB02 (A) - e uma de coloração mais clara - isolado CB02 (C) - provenientes dos isolamentos realizados a partir dos sintomas descritos foram observados. Os testes bioquímicos revelaram isolados gram-negativos. Ambos foram positivos para

catalase e urease e negativos para oxidase, não foram capazes de hidrolizar o amido, produziram ácido a partir da sacarose e glicose, mas não foram capazes de produzir ácido a partir de lactose, arabinose, raminose, dulcitol, sorbitol e manitol. Apenas o isolado CB02 (A) produziu o pigmento xanthomonadina. Contudo, ambos não utilizaram asparagina.

Tanto o isolado CB02 (A) quanto CB02 (C) apresentaram reação de hipersensibilidade positiva para o tomate e negativa para fumo e pimentão. Reação de hipersensibilidade positiva em tomate também foi observada por Chase et al. (1992).

Norman & Alvarez (1989), trabalhando com isolado D301 de *X. campestris* pv. *dieffenbachiae*, observaram crescimento lento e perda do pigmento amarelo xanthomonadina, resultando em colônias brancas, quando cultivado em meio semi-seletivo CS (amido-celobiose). Os autores observaram ainda que em meios semi-seletivos CS e ET (esculina-trealose), houve o crescimento dos isolados que não hidrolisam o amido, embora mais lento, com colônias visualizadas aos 4 dias após o isolamento, ao contrário de 48 horas para os isolados que hidrolisam essa fonte de carbono. Segundo Bonner et al. (1987), de 435 isolados patogênicos de *X. campestris* pv. *dieffenbachiae*, 35% não utilizaram amido, conforme obtido neste trabalho.

Os testes bioquímicos e de patogenicidade realizados neste trabalho permitiram caracterizar os isolados CB02 (A) e CB02 (C) como *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*.

Os sintomas e o patógeno descritos foram encontrados nas amostras de antúrio coletadas em Registro, no mês de outubro (Tabela 2). Etretanto, a incidência de *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* em antúrio é freqüente em regiões com longitude de aproximadamente de 48° e latitude de 24°. Os testes de patogenicidade em mudas de antúrio, causaram o desenvolvimento de lesões típicas de *Xanthomonas* após sete dias, completando os Postulados de Koch.

4.3.2 Copo-de-leite (Zantedeschia aethiopica (L.) Spreng.)

Em copo-de-leite, foram observadas manchas do tipo III (Tabela 3) próximo aos bordos das folhas que, geralmente, coalesceram, formando grandes áreas necrosadas, circundadas por halo amarelado (Figura 14).



FIGURA 14. Fotografía de sintomas de manchas foliares dos tipos I e II, causadas por *Xanthomonas campestris* pv. *zantedeschiae*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Os testes bioquímicos revelaram um isolado gram-negativo formando colônias amarelas em MB1, positivo para catalase e negativo para urease e oxidase. Foi capaz de hidrolizar o amido, produziu ácido a partir da lactose e

arabinose, mas não de sacarose, glicose, raminose, dulcitol, sorbitol e manitol. Produziu o pigmento xanthomonadina e não utilizou asparagina.

Os resultados dos testes bioquímicos estão de acordo com Lee et al. (2004) para a caracterização de *Xanthomonas campestris* pv. *zantedeschiae*, portanto, o isolado CB01 é o mesmo patógeno.

Os sintomas e o patógeno descritos foram encontrados nas amostras de copo-de-leite coletadas em Lavras, no mês de setembro (Tabela 2). Após a realização do teste de patogenicidade em mudas de copo-de-leite, com o desenvolvimento de lesões típicas de *Xanthomonas* após sete dias, os postulados de Koch foram cumpridos. Desse modo, pode-se atribuir a *Xanthomonas* a condição de patogênica a esta planta.

Outro sintoma observado nos materiais de copo-de-leite H22, H23 e H24 foi a podridão mole de rizomas e hastes (Tabela 2). Os tecidos afetados apresentaram odor fétido peculiar. Em folhas, observaram-se lesões aquosas de coloração marrom e brilhante (Figura 15 A, B e C).



FIGURA 15. Fotografia de sintomas de podridão de rizomas e hastes causadas por *Erwinia* spp. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Os isolados obtidos foram caracterizados como gram-negativos, apresentando crescimento a 36°C. Dos quatro isolados, apenas o CB06 foi sensível à eritromicina. Três isolados produziram ácido a partir da lactose,

trealose e inositol e apenas o isolado CB5 não foi capaz de produzir ácido a partir das fontes de açúcares descritos acima. Foram observadas colônias convexas de coloração branco-acinzentada em MB1.

Das iscas biológicas utilizadas, apenas os tubérculos de batata reproduziram o sintoma de podridão mole. Contudo, os isolados CB03, CB04, CB05 e CB06 podem ser enquadrados no grupo de *Erwinias* pectolíticas.

Na Tabela 5, encontram-se os resultados dos testes para a caracterização dos isolados em espécie. De acordo com as características preconizadas por Dickey (1979), Thomson et al. (1981) e Romeiro et al. (1994), verificou-se que os isolados CB03, CB04 e CB05 apresentaram similaridade com *E. carotovora* subsp. *carotovora*, embora CB05 não tenha oxidado os açúcares testados. No entanto, não foi possível caracterizar, com segurança, o isolado CB06 em espécie, pelos testes utilizados, embora ele tenha se aproximado de *Erwinia chrysanthem*i pela sensibilidade a eritromicina.

TABELA 5 Resultados dos testes bioquímicos, culturais e fisiológicos realizados para a diferenciação em espécie e subespécie de bactérias do gênero *Erwinia*. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Testes	CB03	CB04	CB05	CB06	ECC^{I}	ЕСН
Sensibilidade a eritromicina	-	-	-	+	-	+
Crescimento a 36°C	+	+	+	+	+	+
Produção de ácido a partir:						
Lactose	+	+	-	+	+	-
Trealose	+	+	-	+	+	-
Inositol	+	+	-	+	+	+

Dados adaptados de Romeiro et al. (1994), ECC = *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*; ECH = *E. chrysanthemi*

Os resultados dos testes bioquímicos obtidos neste trabalho estão de acordo com Almeida et al. (1997) e Wright (1998), que caracterizaram *E. carotovora* subsp. *carotovora* e *E. chrysanthemi* em copo-de-leite.

Os sintomas e o patógeno descritos foram encontrados nas amostras de copo-de-leite coletadas em Lavras, nos meses de janeiro, agosto e outubro (Tabela 2).

4.3.3 Inoculação de isolados de *Xanthomonas spp.* em diferentes hospedeiros para avaliação de patogenicidade

O teste de patogenicidade cruzada revelou a capacidade de *Xanthomonas* CB02 (antúrio) e CB01 (copo-de-leite) em causar lesões em antúrio, copo-de-leite, lírio-da-paz e singônio, mas não nas mudas de tomate (Família solanaceae) (Tabela 6). Estes resultados comprovam a especificidade patogênica dos isolados testados a plantas da Família Araceae. Dessa forma, estima-se que antúrio, copo-de-leite, lírio-da-paz e singônio possam ser fontes de inóculo para outras aráceas, mas não para plantas da família Solanaceae.

De forma semelhante, *X. vesicatoria*, isolada de tomateiro, causou lesões apenas no tomate e no copo-de-leite. A lesão em copo-de-leite não era esperada, pois *X. vesicatoria* ocorre naturalmente apenas em tomate e pimentão (Tabela 6).

TABELA 6 Patogenicidade cruzada de isolados de *Xanthomonas*, avaliada por meio do diâmetro das lesões (cm) em diferentes hospedeiros. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Isolados	Hospedeiros					
	Tomate	Antúrio	Copo-de-leite	Lírio-da-paz	Singônio	
Controle*	0,0b A	0,0b A	0,0c A	0,0b A	0,0b A	
Xv	0,72a AB	0,0b B	0,95b A	0,0b B	0,0b B	
CB01	0,0b B	2,80a A	3,82a A	0,67ab B	0,60ab B	
CB02	0,0b C	3,70a A	3,70a A	1,42a B	1,25a B	

As médias com a mesma letra minúscula nas linhas e letra maiúscula nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P≤0,05).

Embora as maiores lesões tenham sido produzidas pelos isolados em seus hospedeiros de origem, houve também a produção de lesões nos outros hospedeiros da família Araceae (Tabela 6). Resultados semelhantes foram observados por Chase et al. (1992) e Khoodoo et al. (2005), em que isolados de *Xantomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* foram mais agressivos a seus hospedeiros de origem.

4.3.4 Características moleculares

O produto da reação de amplificação com os primers 16S 1330/23S 322anti gerou um fragmento único de, aproximadamente, 1.100 pb, para os isolados de *Xanthomonas* do antúrio (Figura 16, colunas 4-7), de *Xanthomonas* do copo-de-leite (Figura 16, colunas 14-15) e *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Figura 16, colunas 1-3). Para os isolados de *Erwinia* do copo-de-

^{*}Controle= mudas não inoculadas; Xv = *Xanthomonas vesicatoria* (Tomate); CB01 = *Xanthomonas* (Copo-de-leite); CB02 = *Xanthomonas* (Antúrio).

leite (Figura 16, colunas 10-13 e colunas 16 a 19) e *Erwinia carotovora* subs. *carotovora* (Figura 16, colunas 8-9), foram gerados dois fragmentos. Estes agrupamentos comprovam que os isolados CB01 e CB02 pertencem ao gênero *Xanthomonas* e CB03, CB04, CB05 e CB06 ao gênero *Erwinia*.

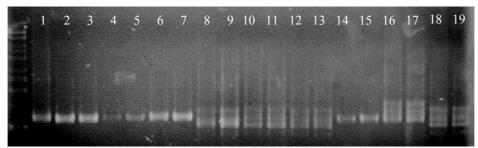


FIGURA 16. Produtos da PCR dos isolados de *Xanthomonas* de *Anthurium* sp. e *Zantedeschia aethiopica* e *Erwinia* de *Zantedeschia aethiopica* e alguns isolados referência das espécies de *Xanthomonas* e *Erwinia* amplificados pelos *primers* 16Suni1330 e 23Suni322anti. M 1Kb DNA ladder. Linhas 1-3 *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. Colunas 4-5 CB02 (A), 6-7 CB02 (C). Colunas 8-9 *Erwinia carotovora* subs. *carotovora*. Colunas 10-11 CB03, 12-13 CB04, 14-15 CB01, 16-17 CB05 e 18-19 CB06.

A região ITS entre o gene ribossomal 16S e 23S rRNA é considerada ideal para a identificação de bactérias, por conter extensa seqüência variada (Khoodoo et al., 2005). Esta seqüência está descrita em vários trabalhos, tanto de identificação de fitobactérias quanto em estudo de filogenia (Maes, 1993; DeParasis & Roth, 1990; Sahin et al., 2003). Gutler & Stanisich (1996) sugeriram as regiões 16S e 23S rRNA para a construção de *primers* específicos na identificação de bactérias.

Maes (1993) identificou diferenças entre fitobactérias do gênero *Xanthomonas* na amplificação por PCR de um único fragmento do gene 16S rDNA de 480 b. DeParasis e Roth (1990) sequenciaram parcialmente a molécula

16S rRNA de fitobactérias e encontraram variação na sequência entre os gêneros *Xanthomonas*, *Pseudomonas* e *Erwinia*, na região entre as bases 1064-1090.

A amplificação de um único produto de PCR (aproximadamente 680 bp) da região espaçadora 16S-23S rDNA, de isolados representando seis diferentes patovares de *X. campestris*, inclusive *X. campestris* pv. *zinniae*, também foi observada por Sahin et al. (2003). A análise da seqüência do fragmento do DNA dos produtos amplificados por PCR da região 16S-23S rDNA revelaram semelhança entre as seqüências (aproximadamente 89% a 97%) entre os isolados de *X. campestris* pv. *campestris*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. hortorum* pv. *vitians* e *X. campestris* pv. *zinniae*. Porém, essas seqüências diferiram entre isolados de forma significativa, separando a espécie *X. campestris* pv. *zinniae* dos outros isolados testados.

4.4 Outras doenças

Durante a realização deste trabalho, não foram observadas doenças, como ferrugens, murchas vasculares, podridão de hastes e raízes causadas por *Pythium, Phytophthora, Rhizoctonia e Sclerotium*, bem como manchas foliares causadas por *Alternaria* e *Phyllosticta*.

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado este trabalho, concluiu-se que:

- 1 *Colletotrichum gloeosporioides* e *Glomerella cingulata* foram isolados de antúrio e singônio, sendo o primeiro relato de *Glomerela cingulata* causando antracnose nestas duas plantas, no Brasil;
- 2 Este foi o primeiro relato de *Colletotrichum falcatum* em lírio-da-paz e singônio, no Brasil;
- 3 Cercospora richardiaecola foi observado apenas em copo-de-leite;
- 4 *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* e *Xanthomonas campestris* pv. *zantedeschiae* foram isoladas de antúrio e copo-de-leite, respectivamente;
- 5 Este foi o primeiro relato de *Xanthomonas campestris* pv. *zantedeschiae* em copo-de-leite, no Brasil.
- 6 Erwinia carotovora subsp. carotovora foi observada apenas em copo-de-leite.
- 7 Antúrio, lírio-da-paz e singônio podem ser fontes de inóculo de *Colletotrichum gloeosporioides, C. falcatum* e *Glomerella cingulata* ente si, bem como o pimentão, da família Solanaceae.
- 8 Antúrio, copo-de-leite, lírio-da-paz e singônio podem ser fontes de inóculo de *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* e *X. campestris* pv. *zantedeschiae* para outras aráceas, mas não são fontes de inóculo para tomate, da Família Solanaceae.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKI, A.; PEROSA, M.Y. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.8, n.1/2, p.13-23, 2002.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**. 4.ed. New Cork: J. Wiley, 1996. 869p.

ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA, JR. V.A.; R. NETO, J. Caracterização de bactérias do gênero Erwinia causando podridões em plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.2, n.1, p.52-60, 1996.

ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA, JR. V.A.; R. NETO, J. Novas ocorrências de *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* e de *E. chrysanthemi* em plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.3, n.2, p.80-84, 1997.

ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA, JR. V.A. Podridão mole em copo-de-leite causada por *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.1, p.66, 1998.

ALMEIDA, E.F.A.; PAIVA, P.D.de O. **Floricultura 2:** cultivo de copo-deleite. Lavras: UFLA, 2004. 28p. (Textos Acadêmicos, 40).

ALVAREZ, C.M.G.; ALVAREZ, R.E. First report of *Colletotrichum dematium* on Aglaonema and of *C. gloeosporioides* on Syngonium in the northeast of Argentina. **Investigation Agraria**, v.16, n.1, p.131-134, 2001.

ANN, P.J. Phytophthora diseases of ornamental plants in *Araceae* in Taiwan. **Plant Pathology Bulletin**, v.1, n.2, p.79-89, 1992.

APONTE, A.; MARIN, A.; DEBROT, E. Leaf blight of tail flower (*Anthurium andreanum*) caused by *Phytophthora nicotianae* var *parasitica* in Venezuela. **Fitopatologia Venezolana**, v.16, n.1, p.8-10, 2003.

ARX, J.A.Von; MULLER, E. Die gattugen der amerosporen pyrenomyceten: Beitrage zur Kryptogamenflora der Schweiz, Bern: **Kommissionsverlag Buchdruckerei Buchler,** v. 11, 1954, 434p.

AUSUBEL, F.M. et al. (Ed.). **Short protocols in molecular biology.** 2.ed. London: J. Wiley, 1994.

AYSAN, Y.; SAHIN, F. First report of bacterial blight of Anthurium caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* in Turkey. **Plant Pathology,** v.52, n.6, p.783, 2003. Abstr.

BONNER, R.L. et al. Monoclonal antibodies used to characterize Xanthomonas campestris pv. dieffenbachiae. **Phytopathology**, v.77, p.1725, 1987. Abstract

BRIENDIS, G.S.; PALACIOS, M. Enfermedades fungicas del cultivo de la dália (Dalia pinnata Cav.) em la region central de Venezuela. **Agronomia Tropical**, v.49, n.3, p.339-348, 1999.

BUSHE, B.C. et al. Identifying anthurium flower injuries. **Plant Disease**, 2004. Disponível em: < http://www.ctahr.hawaii.edu/freepubs>. Acesso em: 15 dez. 2006.

CANNON, P.F. **Colletotrichum**: international course on the identification of fungi of agricultural importance. CAB International, 1991.

CEREZINE, P.C. et al. Mancha foliar de Phyllosticta em gengibre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, p.477-487, 1995.

CETINKAYA, Y.R. et al. An outbreak of bacterial stem rot of *Dieffenbachia amoena* caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in the Eastern Mediterranean region of Turkey. **Plant Disease**, v.88, n.3, p.310, 2004. Abstract.

CHASE, A.R.; EL-GHOLL, N.E. Stem rot, cutting rot, and leaf spot of *Dieffenbachia maculata* 'Perfection' incited by *Fusarium solani*. **Plant Disease**, v.66, p.595-598, 1982.

CHASE, A.R. et al. Charaterization of *Xanthomonas campestris* strains from aroids using physiological, pathological and fatty acid analyses. **Phytopathology**, v.82, p.754-759, 1992.

- CHEN, J. et al. Genetic relationships of Aglaonema species and cultivars inferred from AFLP masrkers. **Annals of Botany**, v.93, p.157-166, 2004
- CHO, H.R. et al. Virulence variation in 20 isolates of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* on *Zantedeschia* cultivars in Korea. **Acta Horticulturae**, v.2, n.673, p.653-659, 2005.
- CLARO, D.P.; SANTOS, A.C.; CLARO, P.B.O.; Um diagnóstico do agregado da produção de flores do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental,** Campinas, v.7, n.1, p.9-15, 2001.
- COELHO, M.A.N. Philodendron Schott (Araceae): morfologia e taxonomia das espécies da Reserva Ecológica de Macaé de Cima Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v.51, p.21-68, 2000.
- COOKSEY, D.A. Xanthomonas blight of *Anthurium andraeanum* in California. **Plant Disease**, v.69, p.727, 1985.
- CORRÊA, M.G.S; SILVA, J.B.; ÁVILA, P.F.V.; BUSATO, G.R.; LEMES, J.S. Meiose e viabilidade polínica na Família Araceae. **Acta Botânica Brasilica**, v.19, n.2, p.295-303, 2005.
- CORTES, M.A. Leaf blight of *Syngonium podophyllum* Schott "white butterfly" in Puerto Rico. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v.75, n.1, p.97-99, 1991.
- CROAT, T.B. Revision of Dieffenbachia (Araceae) of Mexico, Central America, and the west indies. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.91, n.4, p.668-772, 2004.
- DEPARASIS, J.; ROTH, D.A. Nucleic acid probes for identification of phytobacteria: Identification of genus specific 16S rRNA sequences. **Phytopathology**, v.80, p.618-621, 1990.
- DESHMUKH, H.V.; PAWAR, D.R.; JOSHI, M.S. Symptomatology and host range studies of anthracnose disease of Anthurium incited by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Orissa Journal of Horticulture**, v.27, n.1, p.26-28, 1999.
- DIAS, R.C. Estudo exploratório do setor de floricultura no Ceará. Disponível em: http://www.floresdoceara.com.br/files/CEARA.zip. Acesso em: 1 fev. 2005.

- DICKEY, R.S. *Erwinia chrysanthemi*: a comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. **Phytopathology**, v.69, n.4, p.324-329, 1979.
- D. NETO, H. de O. et al. Doenças de plantas ornamentais da coleção Roberto Burle Marx. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, **Anais...**, 2003.
- FISCHER, I.H. et al. Ocorrência de *Phytophthora paraditica* em lírio-da-paz no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.6, p.690, 2004.
- FUKUI, R. et al. Relationship between symptom development and actual sites of infection in leaves of Anthurium inoculated with a bioluminescent strain of Xanthomonas campestris pv. dieffenbachiae. **Applied and Enviromental Microbiology**, v.62, n.3, p.1021-1028, 1996.
- GRAHAM, S.O.; STROBEL, J.W. Incidence of antracnose fungi on ornamental foliage in Washington state greenhouses. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.42, n.11, p.1294-1296, 1958.
- GUAN, X.F. et al. Studies on biological characteristics of *Xanthomonas* axonopodis pv. dieffenbachiae. **Plant Protection**, v.30, n.6, p.43-45, 2004.
- GUTLER, V.; STANISICH, V. A. New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. **Microbiology**, v.142, p.3-16, 1996.
- HANLIN, R.T. **Illustrated genera of ascomycetes.** Saint Paul: American Phytopathological Society, 1990. v.1, 263p.
- HAYGOOD, R.A.; STRIDER, D.L.; ECHANDI, E. Survival of *Erwinia chrysanthemi* in association with *Philodendron selloum*, other greenhouse ornamentals, and in potting media. **Phytopathology**, v.72, n.7, p.853-859, 1982.
- HAYWARD, A.C. Preliminary diagnosis of plant diseases caused by bacteria. In: FAHY, P.C.; PERSLEY, G.L. (Ed.). **Plant bacterial disease:** a diagnostic guide, 1983. p.1-12.
- HODGES, C.S.; FERREIRA, F.A. Korunomyces, a new genus of fungi imperfecti from Brazil. **Mycologia**, New York, v.73, n.2, p.334-342, 1981.

- HONEYCUTT, R.J.; SOBRAL, B.W.S.; Mc CLELLAND, M. t-RNA intergenic spacers reveal polymorphisms diagnostic for Xanthomonas albilineans, **Microbiology**, v.141, p.3229-3239, 1995.
- JI, G.H. et al. Preliminary identification of bacterial strain causing Anthurium bacterial blight. **Acta Phytopathologica Sinica**, v.34, n.2, p.107-111, 2004.
- JONES, R.K.; AVERRE, C.W. Damping-off in flower and vegetable seedlings. **Ornamental Disease Note**, n.14, 2000. Disponível em: <http://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/oldnotes/od14.htm>. Acesso em 15 dez. 2005.
- JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. da. Análise conjuntural das exportações de flores e plantas ornamentais do Brasil, janeiro a novembro de 2004. Mensagem recebida por <hortica@uol. com.br> em: 10 jan. 2005.
- KADO, C.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas e Xanthomonas. **Phytopathology**, St Paul, v.60, n.6, p.969-976, 1970.
- KELEMU, S.; BADEL, J.L.; MORENO, C.X. Virulence spectrum of South American Isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* on selected *Stylosanthes guianensis* genotypes. **Plant Disease**, v.80, n.12, p.1355-1358, 1996.
- KELEMU, S. et al. Genetic diversity in South American *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from Stylosanthes guianensis, a tropical forage legume. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, p.261-272, 1999.
- KIYUNA, I. et al. A floricultura brasileira no início do século XXI: o perfil do produtor. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.8, n.1/2, p.57-76, 2002.
- KHOODOO, M.H.R. et al. Molecular characterisation of *Xanthomonas* strains isolated from aroids in Mauritius. **Systematic and Applied Microbiology**, v.28, p.366-380, 2005.
- KRIEG, Z.; HOLT, J.G. **Bergey's manual of systematic gbacteriology**. (Ed.). Baltimore/London, Williams & Wilkins, 1984. v.1, 660p.
- KUBOTA, M.; HIRANO, T. Occurrence of leaf spot on *Monstera deliciosa* caused by *Phoma exigua*. **Proceedings of the Kanto Tosan Plant Protection Society**, n.42, p.123-126, 1995.

- LAI, M.; SHAFFER, S.; SIMS, K. Bacterial blight of *Syngonium podophyllum* caused by *Erwinia chrysanthemi* in California. **Plant Disease Reporter**. v.62, n.4, p.298-302, 1978.
- LEE, Y.A.; CHEN, K.P.; CHANG, Y.C. First report of bacterial leaf blight of white flowered calla lily caused by Xanthomonas campestris pv. Zantedeschiae in Taiwan. **Plant Pathology**, v.54, n.2, p.239, 2004.
- LONG, L.C.; LIU, K.M. *Colocasia lihengiae* (Araceae: Colocasieae), a new species from Yunnan, China. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.42, p.313-317, 2001.
- LIYANAGE, H.D.; MCMILLAN Jr., R.T.; KISTLER, H.C. Two genetically distinct populations of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. **Phytopathology**, v.82, n.11, p.1371-1376, 1992.
- LUZ, P. B. da. Cultivo de flores tropicais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.227, p.62-72, 2005.
- MAES, M. Fast classification of plant-associated bacteria in the *Xanthomonas* genus. **FEMS Microbiology Letters**, v.113, p.161-166, 1993.
- MALAVOLTA, Jr. V.A. et al. Bactérias patogênicas a plantas ornamentais ocorrendo no Brasil: uma atualização. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.1, n.1, p.56-63, 1995.
- MALAVOLTA, Jr. V.A.; ALMEIDA, I.M.G.; NETO, J.R. Crestamento bacteriano em filodendro causado por Pseudomonas cichorii. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.7, n.1, p.63-66, 2001.
- MARIANO, R. de L. R.; SILVEIRA, E.B. da. **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 184p.
- MELTON, T.A.; MORRIS, P.; SHEW, H.D. **Brown spot**. 2000. Disponível em: <<u>http://www.ces.ncsu.edu/depts/pp/notes/oldnotes/tb3.htm#causal</u>>. Acesso em: 10 mar. 2006.
- MILLER, H.N.; MCFADDEN, L.A. A bacterial disease of philodendron. **Phytopathology**, v.51, p.826-831, 1961.

- MUNIZ, M. de F.S., SANTOS, R.de C.R. dos & BARBOSA, G.V.de S. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre algumas plantas frutíferas. **Summa Phytopathologica**, v.24, p.177-179, 1998.
- NATURAL, M.P.; ALVAREZ, A.M. (Ed.). Anthurium blight in the philippines. In: ANTHURIUM BLIGHT CONFERENCE, 3., 1990, Hawai. **Proceedings...** Hawai: University of Hawaii at Hilo, 1990.
- NORMAN, D.; ALVAREZ, A. A rapid method for presumptive identification of *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* and other xanthomonads. **Plant Disease**, v.73, p.654-658, 1989.
- PEPPARD, T.L. Volatile flavor constituents of *Monstera deliciosa*. **Journal of Agricultural Food Chem**, v.40, p.257-262, 1992.
- PERES, N.A.R. et al. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. Affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology,** v.150, p.128-134, 2002.
- PERNEZNY, K.; KUCHAREK, T. **Rust diseases of several legumes and corn in Florida**. 2003. Disponível em: http://edis.ifas.ufl.edu>. Acesso em: 10 mar. 2006.
- PITTA, G.P.B.; CARDOSO, R.M.G.; CARDOSO, E.J.B.N. **Doenças de plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Brasileiro do Livro Científico, 1989. 174p.
- POZZA, E.A. Ocorrência de doenças da parte aérea de plantas na região de Lavras MG. 1994. 97p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- PITTA, G.P.B. **Flores e plantas ornamentais para exportação**: aspectos fitossanitários. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995. 50p. (Série Publicações Técnicas FRUPEX, 17).
- POZZA, E.A. et al. Ocorrência de fungos e bactérias associados a doenças em plantas ornamentais em Lavras MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.20, n.1, p.39-44, 1996.
- REIS, A. et al. *Cylindrocladium spathiphilli* agente causal de podridão de colo e raiz do lírio-da-paz no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileria**, Brasília, v.29, n.1, p.102, 2004.

R. FILHO, M.L.; OLIVEIRA, S.M.A.; MENEZES M. Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* spp. associados a doenças de pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, p.620-625, 2003.

ROBBS, C.F.; CARVALHO, A. de O.; AKIBA, F. Crestamento bacteriano das folhas de *Philodendron* spp. causado por *Pseudomonas fluorescens*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, n.3, p.631, 1983.

ROMEIRO, R. da S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 279p.

ROMEIRO, R.S. et al. Bacterial sudden yellow death and soft rot of *Coriandrum sativum*. **Plant Pathology**, v.43, p.944-946, 1994.

REPORT ON PLANT DISEASE. Fungal leaf spot diseases of shade and ornamental trees in the Midwest, 1998.

SAHIN, F., KOTAN, R., ABBASI, P.A. e MILLER, S.A. Phenotypic and genotypic characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *zinniae* strains. **European Journal of Plant Pathology**, v.109, p.165–172, 2003.

SCHAAD, J.J.; JONES, J.B.; CHUN, W. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3.ed. St. Paul: The American Phytopathology Society, 2001. 373p.

SCHOTT, H.W.; ENDLICHER, S. *Spathiphyllum* **Schott**. 1999. Disponível em

http://facultystaff.vwc.edu/~presslar/greenhouse/spathiphyllum/genus_spath.ht m>. Acesso em: 10 jan. 2006.

SHAW, D.E. Rust of *Monstera deliciosa* in Austrália. **Mycological-Research**, v.95, n.6, p.665-678, 1991.

SHAW, D.E. Reaction of aroids to *Puccinia paullula* f. sp. *monsterae*. **Australian Plant Pathology**, v.24, n.1, p.15-21, 1995.

SNIJDER, R.C. et al. Genetic variation in *Zantedeschia* spp. (Araceae) for resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Euphytica**, v.135, n.1, p.119-128, 2004.

SOUZA, R.M.; NAVES, R.L.; BOARI, A.J. **Doenças de plantas ornamentais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 84p.

SOUZA, N.A.; JASMIM, J. Crescimento de singônio com diferentes tutores e substratos à base de mesocarpo de coco. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, p.39-44, 2004.

SUGIMORI, M.H.; RODRIGUES N. J; ISHIMURA, I. Nova doença bacteriana do antúrio, causada por *Pseudomonas* sp. no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.5, n.3, p.460, 1980.

SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696p.

TAKATSU, A. Erwinias do grupo carotovora no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, p.535-536, 1983.

THOMSON, S.V.; HILDEBRAND, D.C.; SCHROTH, M.N. Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. **Phytopatohology**, v.71, n.10, p.1037-1042, 1981.

TOMBOLATO, A.F.C. **Cultivo comercial de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agronômico, 2004 211 p.

TOMBOLATO, A.F.C. et al. Recursos genéticos e melhoramento do antúrio (*Anthurium andraeanum* Linden) no IAC-APTA. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.10, n.1/2, p.1-4, 2004.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Index of fungi on plants:** fungal diseases occurrence databases. Beltsville, 2005. Disponível em: http://nt.ars-grin.gov/>. Acesso em: 10 dez. 2005.

VIÉGAS, A.P. Alguns fungos do Brasil 2: Ascomicetos. **Bragantia**, Campinas, v.4, n.1, 1944.

VIEIRA, B.S.; BARRETO, R.W. First Record of *Cercospora richardiaecola* causing leaf spots on Zantedeschia aethiopica in Brazil. **Plant Pathology**, v.53, n.6, p.813, 2004.

VIVEKANDA, C.A. et al. Avaliação preliminar de cultivares de antúrio para o Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS

ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, Lavras. **Anais...** Estratégias para novos rumos. Lavras: UFLA, 2003.

WRIGHT, P.J. A soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) caused by *Erwinia* carotovora subsp. carotovora. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.26, p.331-334, 1998.

YOUNG, J.M. et al. A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. **New Zealand Journal of agricultural Research**, v.21, p.153-157, 1978.

YOUNG, H.J. Beetle pollination of *Dieffenbachia longispatha* (Araceae). **Amercian Journal of Botany**, v.73, n.6, p.931-944, 1986.

ANEXO A

		Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao diâmetro das lesões (cm) causadas pelos isolados CM02 e CM55 de <i>Glomerella cingulata</i> , CM08 e CML620 de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , CM52 e CM58 de <i>Colletotrichum falcatum</i> , em mudas de antúrio, lírio-da-paz, pimentão e singônio. UFLA, Lavras, MG, 2005	78
TABELA 2A	Resumo da análise de variância dos dados referentes ao diâmetro das lesões (cm) causadas pelos isolados CB01, CB02 e Xv de <i>Xanthomonas</i> , em mudas de antúrio, copo-de-leite, lírio-da-paz, tomate e singônio. UFLA, Lavras, MG, 2005	78

TABELA 1A – Resumo da análise de variância dos dados referentes ao diâmetro das lesões (cm) causadas pelos isolados CM02 e CM55 de *Glomerella cingulata*, CM08 e CML620 de *Colletotrichum gloeosporioides*, CM52 e CM58 de *Colletotrichum falcatum*, em mudas de antúrio, lírio-da-paz, pimentão e singônio. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QMs e significância
		Diâmetro (cm) ^{/1}
Isolado	6	3,9869 ns
Muda	3	0,1179 ns
Isolado x Muda	18	0,1790 ns
Erro	164	0,0434
CV (%)		15,55

ns = teste F não significativo a 5%

TABELA 2A – Resumo da análise de variância dos dados referentes ao diâmetro das lesões (cm) causadas pelos isolados CB01 e CB02 de *Xanthomonas*, em mudas de antúrio, copo-de-leite, lírio-da-paz, tomate e singônio. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QMs e significância
		Diâmetro (cm) ^{/1}
Isolado	3	2,8605 ns
Muda	4	0,7154 ns
Isolado x Muda	12	0,4925 ns
Erro	100	0,0322
CV (%)		14,73

ns = teste F não significativo a 5%

 $^{^{/1}}$ = dados transformados para $(Y + 1)^{\frac{1}{2}}$

 $^{^{1/1}}$ = dados transformados para $(Y + 1)^{1/2}$