

CARLOS ANTÔNIO MEDEIROS

OCORRÊNCIA DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM PLANTAS DANINHAS,
NO PLANALTO MÉDIO DO RIO GRANDE DO SUL E ESTUDOS DE
ESPORULAÇÃO E PATOGENICIDADE DE **Bipolaris euphorbiae**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, para obtenção do grau de "Mestre".

Orientador
Prof. Paulo Estevão de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1995

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CATALOGAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

Medeiros, Carlos Antônio

Ocorrência de fungos patogênicos em plantas daninhas, no Planalto Médio do Rio Grande do Sul e estudos de esporulação e patogenicidade de *Bipolaris euphorbiae* / Carlos Antônio Medeiros. -- Lavras : UFLA, 1995.

80 p. : il.

Orientador: Paulo Estevão de Souza.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

1. *Bipolaris euphorbiae* - Esporulação. 2. Patogenicidade. 3. Planta daninha - Controle biológico. 4. Fungo patogênico - Rio Grande do Sul - Planalto médio. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-589.2
-632.58
-632.96

CARLOS ANTÔNIO MEDEIROS

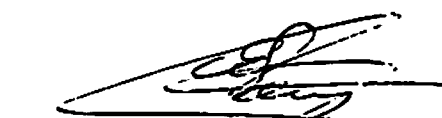
**OCORRÊNCIA DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM PLANTAS DANINHAS,
NO PLANALTO MÉDIO DO RIO GRANDE DO SUL E ESTUDOS DE
ESPORULAÇÃO E PATOGENICIDADE DE *Bipolaris euphorbiae***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, para obtenção do grau de "MESTRE".

APROVADA em 17 de agosto de 1995.


Prof. Vicente Paulo Campos


Prof. Erlei Melo Reis
(Co-orientador)


Prof. Paulo Estevão de Souza
(Orientador)

Aos

**meus pais e avós
pelo afeto,
pela minha formação e
incentivo concedidos,**

Aos

**meus irmãos
pela amizade,**

OFEREÇO

A

Marisa,

**pelo apoio, incentivo, paciência e
solidariedade, apesar da
distância,**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos:

Ao Dr. Erlei Melo Reis, pela amizade, pela orientação, pela colaboração, pelas sugestões e pela revisão dos originais, meu agradecimento especial.

Ao Prof. Paulo Estevão de Souza, pela orientação.

À Universidade Federal de Lavras, que possibilitou a participação no Curso de Pós Graduação.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

Aos funcionários da Faculdade de Agronomia da Universidade de Passo Fundo, Dileta e Artur, pela colaboração nas análises estatísticas.

Ao Dr. Mário Barreto Figueiredo pela identificação das ferrugens.

Aos companheiros de república Jorge, Olívio, Silvio e Wilson pelo companheirismo e amizade.

Aos colegas e amigos que fiz durante o curso, pelo apoio e amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização do presente trabalho.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	01
REFERENCIAL TEÓRICO	03
OCORRÊNCIA DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM PLANTAS DANINHAS, NO PLANALTO MÉDIO DO RIO GRANDE DO SUL	18
OCORRÊNCIA DE <i>Pyricularia grisea</i> E <i>Claviceps</i> sp. EM AZEVÉM (<i>Lolium multiflorum</i>)	43
ESPORULAÇÃO E PATOGENICIDADE DE <i>Bipolaris euphorbiae</i>	50
CONCLUSÕES	80

INTRODUÇÃO GERAL

A região Sul é um dos grandes pólos produtores de alimento do Brasil, especialmente grãos, dos quais a sociedade exige, cada vez mais, maior qualidade, junto com a preservação dos recursos naturais nos agossistemas. No contexto, o controle biológico é uma das alternativas que melhor se ajusta para a substituição dos produtos químicos utilizados no controle de pragas, de doenças e de plantas daninhas, ao utilizar patógenos existentes no meio ambiente, otimizando as condições para que estes se desenvolvam com maior agressividade sobre seus alvos, permitindo a implantação de uma agricultura autosustentável.

As comunidades infestantes, freqüentemente, são muito diversificadas nas condições do Sul do Brasil, o que constitui uma séria limitação à implantação do controle biológico em áreas agrícolas. No entanto, as possibilidades de utilização aumentam à medida que este tipo de controle atinge alvos de destacada importância, tais como espécies selecionadas pelas medidas de controle disponíveis e que formam densas infestações monofíticas, espécies recentemente introduzidas e que são perigos potenciais de infestações futuras, espécies que desenvolveram resistência à determinado herbicida e espécies que causam problemas específicos a uma determinada cultura ou ambiente. O controle biológico, também, tem grandes possibilidades de ser aplicado complementando o espectro de ação de certas modalidades de controle de plantas daninhas, especialmente o controle químico. Com o desenvolvimento da agricultura autosustentável, o controle biológico é uma arma fundamental, no estabelecimento dos circuitos de retrocontrole do agossistema.

Rossmann (1992) relata a existência de uma grande variedade de fungos presentes em plantas daninhas, e que estes podem ser usados como agentes do controle biológico das mesmas. Desse modo, deve-se considerar, principalmente, o

local e a distribuição da planta daninha, seu ciclo de vida e a necessidade de controle econômico através de medidas de manejo.

Segundo Souza (1991), os fungos são os principais agentes biológicos utilizados para controle de plantas daninhas. O seu uso como agente biológico é atrativo, porque estes organismos, além de serem encontrados em quase todos os lugares, são altamente específicos, destrutivos, persistentes e podem ser prontamente produzidos "in vitro". A presença de doenças fúngicas, causando danos às plantas daninhas, é freqüente no Sul do Brasil, principalmente no período primavera/verão, quando ocorrem o maior número de espécies daninhas, que provocam danos às culturas de milho, de arroz, de soja e de feijão, espécies de grande expressão econômica para a região. Por outro lado, as condições ambientais reinantes neste período, são propícias ao desenvolvimento de fungos fitopatogênicos, tornando possível a implantação de um programa de controle biológico de plantas daninhas, baseado na utilização de fungos fitopatogênicos.

REFERENCIAL TEÓRICO

Atualmente o custo do controle químico de plantas daninhas nas culturas de milho, de soja, de feijão e de arroz, podem representar cerca de 30% do custo de produção. Somente na região Sul, onde são cultivados mais de 6,0 milhões de hectares com estas espécies, o controle de plantas daninhas com o emprego de herbicidas representa um custo de, aproximadamente, 165 milhões de dólares anualmente, além disto, tem-se o efeito negativo destes produtos no meio ambiente. Portanto, o controle biológico é uma alternativa para o controle de plantas daninhas (Inman, 1971), através de agentes que possuam alta especificidade e que causem danos à espécie daninha.

Assim como as plantas cultivadas, as plantas daninhas são afetadas por patógenos específicos. Este fato tem sido pesquisado e explorado como mais uma alternativa para o controle integrado de plantas daninhas (Templeton, 1982).

Segundo Templeton et al. (1979), o termo micoherbicida é utilizado para identificar o herbicida biológico à base de fungo. Schoröder, citado por Rodrigues (1985) e Inman (1971), chamam a atenção que um agente efetivo no controle de espécies daninhas deve reduzir a capacidade produtiva, competitiva e vigor das plantas, sem a necessidade de matá-las. O uso de patógenos específicos é bastante atrativo, por se multiplicarem naturalmente a partir de uma pequena quantidade introduzida, disseminando-se posteriormente na área de forma rápida e segura (Inman, 1971).

Diversos autores têm relatado a potencialidade do controle biológico de plantas daninhas com fitopatógenos (Daniel et al., 1973; Boyette et al., 1979; Templeton et al., 1979; Walker e Sciumbato, 1979; Walker, 1981a,b; Charudatan e Walker, 1982; Smith JR., 1986).

Conforme Spurr Jr. e Van Dike (1982), quatro aspectos devem ser considerados na pesquisa de controle biológico de plantas daninhas. O primeiro é em relação a

seleção da planta daninha alvo do controle. Deve considerar-se se a planta daninha foi introduzida ou é nativa, se o controle é viável economicamente, se o ambiente é favorável ao desenvolvimento natural da doença e, também, se é possível de ser realizado. O segundo refere-se a seleção do fungo patogênico, que deve ser escolhido baseando-se em informações obtidas a partir de levantamentos fitossanitários, da intensidade da doença nas plantas daninhas, de discussões com pesquisadores e, de experimentos conduzidos, principalmente, no campo. O terceiro é em relação a escolha ou a seleção da estratégia de controle mais adequada a determinado local ou região. Finalmente, o quarto aspecto a ser considerado, baseado nos estudos e em experimentos dos três aspectos anteriores, relaciona-se a continuidade ou não do projeto de controle biológico, analisando-se as seguintes situações: se o mesmo obteve sucesso ou foi pouco eficiente; se retardou o crescimento ou eliminou a planta daninha em questão, sob condições economicamente viáveis e; se pode ser usado como parte de um programa de manejo integrado.

Segundo Souza (1991), os princípios que devem ser considerados na seleção do agente biológico são: segurança de que o agente biológico ataque somente a espécie alvo do controle; seleção do agente biológico em regiões climaticamente similares àquelas nas quais será introduzido; e, finalmente, que o controle deve ocorrer naturalmente.

A principal vantagem do controle biológico é que o fitopatógeno, uma vez estabelecido, pode manter a população de uma espécie abaixo do nível de dano econômico. Weidemann e Tebeest (1990) afirmam que os riscos são bem menores quando os patógenos introduzidos são nativos. Quimby e Walker (1982) relatam que patógenos nativos podem ter sua eficiência melhorada quando manipulados, como agentes para o controle biológico de plantas daninhas, do que quando ocorrem normalmente na natureza sem a interferência do homem.

Depois do custo de desenvolvimento inicial, o custo anual da medida de controle biológico é mais baixo do que aquelas medidas de controle anualmente repetidas.

Para algumas espécies importantes e onde outros métodos de controle falharam, o controle biológico tem dado bons resultados. De fato, este método tem sido empregado somente quando os outros métodos são impraticáveis ou falharam.

Weidemann e Tebeest (1990) citam que as principais desvantagens do controle biológico incluem: dificuldade em se encontrar o agente biológico que efetivamente suprima uma população, mas que não represente ameaça a outras espécies; se a espécie a ser controlada em um local, não é uma planta desejada em outro e; se o controle biológico é bem específico e não controla um complexo de espécies.

Em alguns casos, o controle biológico de plantas daninhas pode representar uma ameaça, por não existir garantia absoluta de sua seletividade apenas à planta alvo do controle. O ponto crítico está baseado na seleção do agente biótico em atacar seletivamente a espécie, sem causar danos a outras plantas. Portanto, o ponto decisivo na escolha do agente biológico é o fator especificidade (Souza, 1991).

O grande número de espécies de fungos fitopatogênicos, que causam danos às plantas daninhas, presentes em condições de campo, na região Sul, demonstra que encontram um ambiente com condições propícias para a implantação de um programa voltado ao controle biológico. Como problema, encontra-se o desconhecimento do comportamento destes patógenos sobre culturas econômicas e plantas silvestres de interesse ecológico.

O controle biológico de plantas daninhas, com a utilização de fungos é uma linha de pesquisa recente no Brasil. Em sua maioria, referem-se a relatos ou levantamentos de organismos predadores ou parasitas, como uma primeira etapa no desenvolvimento de micoherbicidas.

No Centro Nacional de Pesquisa de Soja iniciou-se, na década de 80, um programa de controle de leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) com a utilização de *Bipolaris euphorbiae*, encontrado sobre esta espécie daninha, causando manchas foliares. Além deste trabalho, os esforços no sentido de buscar soluções, para controle biológico no país, são poucos. Pitelli et al. (1993), em Jaboticabal - SP, estuda a possibilidade de utilização de *Alternaria cassiae* e *Pseudocercospora nigricans*, no

controle do fedegoso (*Cassia obtusifolia*) e Figueiredo et al. (1993), em Brasília - DF, estudam o potencial de *Cercospora* sp. para o controle de tiririca (*Cyperus rotundus*).

Estudos também estão sendo feitos por Oliveira e Bezerra (1991) na Bahia, no Centro de Pesquisa do Cacau - CEPLAC, realizados com a finalidade de proceder levantamento, identificação e conservação de microrganismos patogênicos às plantas daninhas da região cacaueira, visando sua posterior utilização no controle biológico dessas invasoras. Foram isolados os fungos *Nigrospora oryzae* de *Bidens pilosa*; *Cercospora* sp. de *Croton lobatus*; *Mycovellosiella* sp. de *Sida* sp.; *Curvularia lunata* de *Digitaria horizontalis*, entre outros.

Destes estudos, segundo Pitelli et al. (1993), surgiram alguns organismos com possibilidades futuras, como por exemplo *Cercospora* sp. para o controle de *Cyperus rotundus*, *Alternaria cassiae* para *Cassia obtusifolia*, *Curvularia* sp. para *Richardia brasiliensis* e *Helminthosporium euphorbiae* para *Euphorbia heterophylla*. Este último é resultado do trabalho desenvolvido como bioherbicida no Brasil (Yorinori, 1985; Gazziero et al., 1988a,b; Gazziero et al., 1989a,b,c,d,e; Gazziero et al., 1993a,b e Gazziero e Yorinori, 1993).

São poucos os trabalhos de controle biológico de plantas daninhas relatados na América do Sul. Ripa e Rojas (1994) citam a introdução do fungo *Uromyces galegae*, para o controle de galega (*Galega officinalis*) pela Universidade Austral em 1972. Sanson e Rodrigues (1984) e Cordo (1992a,b), na Argentina, relatam que em 1982, foi introduzida da Itália o fungo *Puccinia chondrillina*, para o controle de *Chondrilla juncea*, sendo liberada em 1984, na província de Buenos Aires e que esta se estabeleceu com dificuldade, razão pela qual, este projeto foi abandonado. Recentemente Cordo (1992a), identificou o fungo *Sphacelotheca holci*, entretanto pouco se avançou nesta área até o momento.

O controle biológico desperta grande interesse nos países desenvolvidos. Nos EUA, o Departamento de Agricultura iniciou, em 1965, um estudo sobre a viabilidade de fitopatógenos no controle de plantas daninhas (Inman, 1971). Dessa forma, segundo Bowers (1982), atualmente pesticidas microbiológicos podem ser patenteados, o que torna atrativo o esforço de pesquisa neste sentido, já que a comercialização do próprio produto desenvolvido servirá para o financiamento de

novos projetos. Templeton (1982), apresenta uma lista de 42 projetos, entre os quais se destacam o uso de *Colletotrichum malvarum*, para o controle de guanxuma (*Sida spinosa*), *C. ipomoea* no controle de *Ipomoea hederacea* e *Puccinia xanthii* no controle de *Xanthium* sp.

Alguns exemplos de sucesso no controle de plantas daninhas devem ser citados.

Inman (1971), utilizando *Uromyces rumicis* no controle de *Rumex crispus*, obteve uma redução de 85% na produção de matéria seca desta espécie daninha. Na Flórida (EUA), já há alguns anos, linhagens nativas de *Alternaria cassiae* vêm sendo desenvolvida para o controle de *Cassia obtusifolia*, segundo Pitelli et al. (1993). O uso de patógenos específicos, segundo Gabrielson (1988), é bastante atrativo, pois se multiplica rapidamente a partir de uma pequena quantidade, disseminando-se rapidamente, no meio, sobre a espécie daninha. As condições climáticas, principalmente a água líquida na superfície das folhas, são os fatores fundamentais no sucesso da infecção e disseminação de fitopatógenos segundo Fernandes e Hendrix (1986).

Segundo Templeton (1982), Rodrigues (1985); Hasan (1986) e Barreto (1991), são os seguintes métodos utilizados em controle biológico de plantas daninhas:

1 - Método clássico: consiste na introdução de um patógeno isolado de uma planta daninha, vegetando no centro de origem e uso posterior, em outra área onde esta espécie de planta tiver se tornado daninha. A persistência e a eficiência da dispersão natural do patógeno são de vital importância para o sucesso na supressão das plantas daninhas.

Certos organismos fitopatogênicos nativos, como as ferrugens e os carvões, não podem ser produzidos em meios artificiais ou obtidos em grandes quantidades. Deste modo, é difícil sua utilização no controle biológico inundativo. No entanto, o potencial de inóculo natural pode ser aumentado a partir de fontes naturais, tipicamente a partir das plantas daninhas. Alguns autores mostraram a viabilidade de obtenção de níveis significativos de intensidade da doença após a coleta inicial do inóculo em plantas infectadas com a posterior multiplicação e reaplicação. Massion e Lindow (1986) e Phatak et al. (1986) mencionaram a viabilidade deste procedimento no

controle biológico do capim massarambá (*Sorghum halepense*) pelo uso de *Sphacelotheca holci* e de tiririca amarela (*Cyperus esculentus*) utilizando *Puccinia canaliculata*, respectivamente. Watson e Clement (1986) relatam a existência de ferrugens como possíveis agentes no controle biológico de espécies do gênero *Centaurea*. Diferentes espécies de ferrugens foram avaliadas no controle de *Euphorbia esula*, *Carduus nutans* e *Centaurea solstitialis* por Bruckart e Dowler (1986).

O carvão, *Entyloma compositarum* (descrito como uma nova espécie *E. ageratinae*), proveniente da Jamaica, desempenha uma importante alternativa de controle de *Ageratina riparia* nas florestas e campos do Havaí (Trujillo et al., 1988). Outro fungo causador de ferrugem, *Puccinia carduorum*, nativo da Turquia, foi introduzido em 1987 na Virgínia (EUA) para controle de *Carduus thormeri*. As primeiras evidências de sucesso no estabelecimento do fungo começaram a se tornar claras em menos de um ano (Bruckart et al., 1988). Outras plantas daninhas que estão sendo trabalhadas para controle biológico clássico com patógenos são *Euphorbia esula* e *Centaurea solstitialis* (Bruckart e Dowler, 1986).

2 - Método de bioherbicida: pela distribuição e/ou redistribuição periódica de fitopatógeno nativo ou exótico, que é submetido a multiplicação massal e aplicado em áreas infestadas pela planta daninha como se fosse um herbicida comum. Este método tem recebido alguma atenção, principalmente quando se utilizam patógenos nativos. Tem sido melhor usado para o controle de plantas daninhas anuais em áreas onde o controle imediato é desejado.

Segundo Schroth e Hancock (1981), os microherbicidas devem ser aplicados em dosagens massivas para coincidir com o estágio de maior suscetibilidade da planta daninha hospedeira.

Os patógenos de plantas daninhas usados como microherbicidas têm um grande potencial para utilização no controle de plantas difíceis de serem controladas em culturas anuais onde a especificidade, a rapidez e o controle completo são requeridos (Templeton et al., 1979).

Alguns exemplos de sucesso no uso comercial de microherbicidas têm sido encontrados na literatura.

Os primeiros micoherbicidas comercializados foram Collego (fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* no controle de *Aeschynomene virginica*)(Bowers, 1986); DeVine (*Phytophthora palmivora* no controle de *Morrenia odotara*)(Kenney, 1986) e BioMal (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* no controle de *Malva pusilla*)(Figueiredo, 1994), nos Estados Unidos e Canadá, que despertaram o interesse de empresas envolvidas nas áreas farmacêuticas, de biotecnologia e indústria agroquímica a investir nesta tecnologia.

O método clássico, por outro lado, resulta no desenvolvimento de produtos comerciais e projetos explorando este método e dependem, freqüentemente, de verba governamental, nem sempre disponível (Bowers, 1986; Kenney, 1986; Templeton, 1986; Barreto, 1991; Souza, 1991; Whitten e Oakeshott, 1991; Tebeest et al., 1992), além de serem lentos e não reduzirem as invasoras à um nível abaixo do limiar econômico (Templeton et al., 1979).

As condições ambientais são os principais fatores determinantes do sucesso dos micoherbicidas, uma vez que os agentes utilizados exigem longos períodos de molhamento (orvalho ou chuva) para infecção das plantas daninhas, fato constatado por Fernandes e Hendrix (1986). Os autores citam também que as condições climáticas, principalmente a água livre na superfície das folhas, é também um fator importante no sucesso da infecção. As dificuldades de controle, resultantes de aplicações em condições de clima seco, podem ser evitadas ou diminuídas pela utilização de formulações em solução inversa. Deste modo pode ser resolvida a necessidade de período longo de molhamento foliar requerido para a complementação dos processos de germinação e de infecção de esporos de *Alternaria* sp. (Amsellen, 1990).

Necessita-se para o desenvolvimento dessas formulações, conhecer as exigências em período de molhamento, pelos agentes utilizados no biocontrole, e as características de cada formulação, alcançando dessa forma, o sucesso do programa.

O desconhecimento de métodos práticos de isolamento, de multiplicação, de conservação, de preparo e aplicação destes fungos, bem como as condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento e disseminação destes organismos, visando sua utilização como micoherbicidas, devem ser esclarecidos.

Nenhum trabalho foi desenvolvido ainda sobre a ocorrência de doenças fúngicas em plantas daninhas no estado do Rio Grande do Sul. Um levantamento para se conhecer as espécies de fungos com potencial de uso é de importância fundamental como o primeiro passo no desenvolvimento de micoherbicidas, no Sul do Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMSELLEN, Z.; SHARON, A.; GRESSEL, J.; QUIMBY JR., P.C. Complete abolition of high inoculum threshold of two mycoherbicides (*Alternaria cassiae* and *A. crassa*) when applied in invert emulsion. *Phytopathology*, St. Paul, v.80, n.10, p.925-929, Out. 1990.
- BARRETO, R.W. Controle de ervas daninhas com a utilização de agentes fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.16, n.4, p.295, 1991.
- BOWERS, R.C. Commercialization of microbial control agents. In: CHARUDATAN, R.; WALKER, H.L. **Biological control of weeds with plant pathogens**. New York: John Wiley e Sons, 1982. cap.10, p.157-173.
- BOWERS, R.C. Commercialization of Collego - an industrialist's view. *Weed Science*, New York, v.34, supl.1, p.24-25, 1986.
- BOYETTE, C.D.; TEMPLETON, G.E.; SMITH JR., R.J. Control of winged waterprimrose (*Jussiaea decurrens*) and northern jointvetch (*Aeschynomene virginica*) with fungal pathogens. *Weed Science*, New York, v.27, p.497-501, 1979.
- BRUCKART, W.L.; BAUDOIN, A.B.; ABAD, R.; KOK, L.T. Limited field evaluation of *Puccinia carduorum* for biological control of musk thistle. *Phytopathology*, St. Paul, n.78, p.1593, 1988.

- BRUCKART, W.L.; DOWLER, W.M. Evaluation of exotic rust fungi in the United States for classical biological control of weeds. **Weed Science**, New York, v.34, supl.1, p.11-14, 1986.
- CHARUDATTAN, R.; WALKER, H.L. **Biological control of weeds with plant pathogens**. New York: John Wiley e Sons, 1982. 293p.
- CORDO, H.A. Control biológico de malezas em Latinoamerica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27 s/n, p.213-229, 1992a.
- CORDO, H.A. Opportunities for biocontrol of weeds in Latin America. In: COULSON, J.R. e ZAPATER, M.C. (eds.). **Proceedings of the International Organization for Biological Control: Opportunities for implementation of biocontrol in Latin America**. Buenos Aires, 1992b. p.39-45.
- DANIEL, J.T.; TEMPLETON, G.E.; SMITH, R.J.; FOX, W.T. Biological control of northern jointvetch in rice with an endemic fungal disease. **Weed Science**, New York, v.21, p.303-307, 1973.
- FERNANDES, J.M.C.; HENDRIX, J.W. Leaf wetness and temperature effects on the growth and symptoms development on wheat leaves infected by *Septoria nodorum* blotch. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, n.4, p.835-845, 1986.
- FIGUEIREDO, G. de. Bio-herbicidas: situação mundial e perspectivas para o Brasil. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 4, Gramado, RS, 1994. **Anais: Conferências e Mesas Redondas**. Pelotas, RS: EMBRAPA-CPACT, 1994. p.155-160. (Documentos, 6).

- FIGUEIREDO, G. De; FONTES, E.G.; PAIS, J.S.O.; LOBAO, A.; ANDRADE, R.M.A. Avaliação preliminar do potencial de *Cercospora* sp. como agente de controle biológico da tiririca roxa (*Cyperus rotundus*). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, 19, Londrina, 1993. Resumos... Londrina: Sociedade Brasileira de Herbicidas e Ervas Daninhas, 1993. p.18-20.
- GABRIELSON, R.L. Inoculum thresholds of seedborne pathogens. *Phytopathology*. St Paul, v.78, p.868-872, 1988.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Adequação da dose do fungo *Helminthosporium* sp. no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989a. p.275-278.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Avaliação da compatibilidade de misturas de *Helminthosporium* sp. com o herbicida pós-emergência chlorimuron-ethyl, no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989b. p.279.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Avaliação da influência da hora de aplicação sobre o efeito do fungo *Helminthosporium* sp. no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989c. p.280-282.

- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Compatibilidade da mistura de *Helminthosporium* sp. com diferentes adjuvantes. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989d. p.282-283.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Efeitos da luminosidade na germinação de esporos de *Helminthosporium* sp. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989e. p.283-284.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Estudo da influência do número de horas de molhamento na germinação do fungo *Helminthosporium* sp. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, 19, Londrina, 1993. Resumos... Londrina: Sociedade Brasileira de Herbicidas e Ervas Daninhas, 1993a. p.15.
- GAZZIERO, D.L.P.; ULBRICH, A.V.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Avaliação da compatibilidade de misturas de *Helminthosporium* sp. com herbicida pós-emergência clorimuron-ethyl, no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1987/88**. Londrina, 1988a. P.302-303.
- GAZZIERO, D.L.P.; ULBRICH, A.V.; YORINORI, J.T.; VOLL, E. Adequação da dose do fungo *Helminthosporium* sp. no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1987/88**. Londrina, 1988b. p.299-302.

- GAZZIERO, D.L.P.; YORINORI, J.T. **Experiência sobre controle biológico de *Euphorbia heterophylla* no Brasil**. Jaboticabal: FCAVJ/UNESP, 1993. 11p.
- GAZZIERO, D.L.P.; YORINORI, J.T.; CACAO, L.E.F.; KARAN, D.; VOLL, E. Avaliação da germinação de *Helminthosporium* sp. nas diferentes fases do processo de produção e formulação de micoherbicida. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, 19, Londrina, 1993. Resumos... Londrina: Sociedade Brasileira de Herbicidas e Ervas Daninhas, 1993b. p.15-16.
- HASAN, S. Biocontrol of weeds with microbes. In: MUKERJI, K. G.; GARG, K.L. **Biocontrol of plant diseases**, I. Boca Raton, Florida, 1986. p.129-151.
- INMAN, R.E. A preliminary evaluation of *Rumex* rust as biological control agent for curly dock. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, n.1, p.102-107, 1971.
- KENNEY, D.S. De Vine - the way it was developed - an industrialist's view. **Weed Science**, New York, v.34, supl.1, p.15-16, 1986.
- MASSION, C.L.; LINDOW, S.E. Effects os *Sphacelotheca holci* infection on morphology and competitiveness of johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, New York, n.3, p.883-888, 1986.
- OLIVEIRA, D.P. DE; BEZERRA, J.L. Fungos fitopatogênicos associados ao controle biológico de ervas daninhas na região cacaeira da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.16, n.2, p.20, 1991.
- PHATAK, S.C.; VAVRINA, C.S.; CALLAWAY, M.B.; YOUNG, J.R.; WELLS, H.D. Application of rust spores *Cyperus rotundus* and *C. esculentus*. **Weed Technology**. n.1, p.84-91, 1986.

- PITELLI, R.A.; DE VALERIO, J.; CHARUDATTAN, R. Controle biológico de *Cassia obtusifolia*. Efeitos de *Alternaria cassie*, *Pseudocercospora migricans* e da interferência da cultura da soja. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, 19, Londrina, 1993. Resumos... Londrina: Sociedade Brasileira de Herbicidas e Ervas Daninhas, 1993. p.16-17.
- QUIMBY, P.C.; WALKER, H.L. Pathogens as mechanisms for integrated weed management. **Weed Science**, New York, v.30 (supl.), p.30-34, 1982.
- RIPA, R.; ROJAS, S. Control biologico de plagas en Chile. In: BELARMINO, L.C.; CARNEIRO, R.M.D.G.; PUIGNAU, J.P. **Control biologico nel Cono Sur**. Pelotas: EMBRAPA/CPACT, 1994.
- RODRIGUES, B.N. Controle biológico de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte. v.11, n.129, p.83-86, Set. 1985.
- ROSSMAN, A.Y. Opportunities for utilization of fungal pathogens in biocontrol. In: COULSON, J.R.; ZAPATER, M.C. (ed.) **Opportunities for implementation of biocontrol in Latin America**. Buenos Aires, 1992. p.55-71.
- SANSON, M.P.; RODRIGUES, N. Biocontrol con hongos: estudios histologicos cuantitativos de interacciones entre *Puccinia chondrillina* y *Chondrilla juncea* como hospedante resistente. **Revista Malezas**, n.12, v.1, p.23-28, 1984.
- SCHROTH, M.N.; HANCOCK, J.G. Selected topics in biological control. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v.35, p.453-476, 1981.
- SMITH JR., R.J. Biological control of northern jointvetch (*Aeschynomene virginica*) in rice (*Oryza sativa*) and soybeans (*Glycine max*) - a researcher's view. **Weed Science**, New York, v.34, supl.1, p.17-23, 1986.

- SOUZA, I.F. de. Controle biológico de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.15, n.167, p.77-82, 1991.
- SPURR JR., H.W.; VAN DIKE, C.G. Biocontrol of weeds with fungal plant pathogens: four decisions mark the research progression. In: CHARUDATTAN, R.; WALKER, H.L. **Biological control of weeds with plant pathogens**. U.S.A: Wiley e Sons, 1982. p.237-246.
- TEBEEST, D.O.; YANG, B.; CISAR, C.R. The status of biological control of weeds with fungal pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.30, p.637-657, 1992.
- TEMPLETON, G.E. Mycoherbicide research at the University of Arkansas - past, present, and future. **Weed Science**, New York, v.34 (supl. 1), p.35-37, 1986.
- TEMPLETON, G.E. Status of weed control with plant pathogens. In: Charudattan, R.; Walker, H.L. **Biological control of weeds with plant pathogens**. U.S.A: Wiley e Sons, 1982. p.237-246.
- TEMPLETON, G.E.; TEBEEST, D.O.; SMITH JR., R.F. Biological weed control with mycoherbicides. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.17, p.301-310, 1979.
- TRUJILLO, E.E.; ARÁGAKI, M.; SHOEMAKER, R.A. Infection, disease development, and axenic culture of *Entyloma compositarum*, the cause of Hamakua pamakani blight in Hawaii. **Plant Disease**, Washington, n.72, p.974-976, 1988.
- WALKER, H.L. Factors affecting biological control of spurred anoda (*Anoda cristata*) with *Alternaria macrospora*. **Weed Science**, New York, v.29, n.3, p.505-507, 1981a.

- WALKER, H.L. Granular formulation of *Alternaria macrospora* for control of spurred anoda (*Anoda cristata*). **Weed Science**, New York, v.29, n.3, p.342-345, 1981b.
- WALKER, H.L.; SCIUMBATO, G.L. Evaluation of *Alternaria macrospora* as a potential biocontrol agent for spurred anoda (*Anoda cristata*): host range studies. **Weed Science**, New York, v.27, p.612-614, 1979.
- WATSON, A.K.; CLEMENT, M. Evaluation of rust fungi as biological control agents of weedy *Centaurea* in North America. **Weed Science**, New York, v.34, sup.1, p.7-10, 1986.
- WEIDEMANN, G.J.; TEBEEST, D.O. Biology of host range testing for biocontrol of weeds. **Weed Technology**, v.4, p.465-470, 1990.
- WHITTEN, M.J.; OAKESHOTT, J.G. Opportunities for modern biotechnology in control of insect pests and weeds, with special reference to developing countries. **FAO Plant Protection Bulletin**, v.39, n.4, p.155-181, 1991.
- YORINORI, J.T. Biological control of milk weed (*Euphorbia heterophylla*) with pathogenic fungi. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM BIOLOGY CONTROL WEEDS**, 6, Vancouver, 1984. Proceedings... Vancouver, 1985, p.677-681.

OCORRÊNCIA DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM PLANTAS DANINHAS, NO PLANALTO MÉDIO DO RIO GRANDE DO SUL*

Carlos Antônio Medeiros¹, Erlei Melo Reis² e Paulo Estevão de Souza¹

¹UFLA, Departamento de Fitossanidade, Caixa Posta 37, 37.200-000, Lavras, MG, Brasil.

²UPF, Faculdade de Agronomia, Caixa Postal 566, 99.001-970, Passo Fundo, RS, Brasil.

* Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

RESUMO

Em levantamento feito em lavouras de cereais de inverno, de milho e de soja, no Planalto Médio do Rio Grande do Sul, procurou-se identificar os patógenos que atacam as principais plantas daninhas. As plantas com sintomas de doenças foram coletadas e trazidas ao laboratório para identificação de sua espécie botânica e isolamento ou identificação do agente causal. Sobre dezessete espécies vegetais encontrou-se trinta e duas espécies de fungos patogênicos. A espécie de planta daninha na qual observou-se a maior intensidade de doença foi *Rumex obtusifolius*, seguida de *Euphorbia heterophylla*. Nessa última espécie destacaram-se os fungos dos gêneros *Sphaceloma*, *Melampsora* e *Bipolaris*. Estes apresentaram potencial de uso para desenvolver-se um herbicida biológico. Em quicuío (*Pennisetum clandestinum*) tem potencial de uso o fungo *Bipolaris bicolor* e em *Rumex obtusifolius* uma espécie de fungo ainda não identificada. Encontrou-se algumas espécies de plantas daninhas como hospedeiras de fungos patogênicos de espécies de importância econômica. Esses fungos foram *Pyricularia grisea*, *Claviceps purpurea* e *Alternaria brassicicola*. Esses hospedeiros secundários devem contribuir para a sobrevivência e para a continuidade do ciclo biológico desses patógenos.

Palavras-chaves: doenças, plantas daninhas, patógenos, ocorrência.

ABSTRACT

MEDEIROS, C.A.; REIS, E.M.; SOUZA, P.E. de. Survey of pathogenic fungi in weeds in Planalto Médio of the state of Rio Grande do Sul.

In survey carried out in the region of Planalto Médio of the state of Rio Grande do Sul several farms of small grains, corn, and soybeans were visited looking for disease symptoms on the main weeds. Plants showing disease symptoms were collected and brought to the laboratory to identify their botanical species and isolate or identify the pathogenic fungi. Thirty-two pathogenic species of fungi were found on seventeen weed species. Both milk-weed, *Euphorbia heterophylla*, and *Rumex obtusifolius* weed plants showed the most severe disease symptoms. In relation to *E. heterophylla* should be stressed the finding of fungi of the genera *Sphaceloma*, *Melampsora*, and *Bipolaris*. Those were the fungi that showed the highest potential to be used as a biological herbicide. In kikuio grass (*Pennisetum clandestinum*) the most pathogenic fungus found was *Bipolaris bicolor*. On *Rumex obtusifolius* an unidentified fungus was also found. It was found some weeds as secondary hosts of pathogenic fungi of cultivated crops. These fungi were *Pyricularia grisea*, *Claviceps purpurea*, and *Alternaria brassicicola*. Such secondary hosts should be an important source of inoculum to assure the biologic cycle of these pathogens and their survival.

INTRODUÇÃO

As plantas daninhas quando vegetam juntamente com as espécies cultivadas interferem no desenvolvimento destas, reduzindo-lhes a produção. Estima-se que as perdas ocasionadas pela interferência das plantas daninhas no Brasil sejam em torno de 20 a 30 %. Além da redução quantitativa da produção, esta pode ser qualitativamente depreciada pela contaminação dos grãos colhidos com sementes e com restos de plantas daninhas (Lorenzi, 1994).

O controle de plantas daninhas nas culturas de soja, de milho, de feijão e de trigo, tem sido realizado, principalmente, através da utilização de herbicidas, o que

pode representar um acréscimo, cerca de 30% ou mais, no custo de produção. Somente na região Sul do Brasil, onde são cultivados mais de 6,0 milhões de hectares com estas culturas, o controle químico de plantas daninhas com o emprego de herbicidas, representa um custo de aproximadamente 165 milhões de dólares, anualmente.

Além do aumento do custo de produção, o uso indiscriminado destes produtos químicos têm sido uma ameaça ao ecossistema e à espécie humana. Por estes motivos, têm motivado os pesquisadores a buscarem novas alternativas, como o controle biológico.

O controle biológico de plantas daninhas utilizando agentes fitopatogênicos consiste na redução da densidade, da capacidade reprodutiva e do vigor dessas plantas abaixo do nível econômico de danos, sem prejudicar outras espécies (Schoröder, citado por Rodrigues, 1985; e Inman, 1971).

Inman (1971) relata que o controle biológico é uma alternativa para o controle de plantas daninhas, através de agentes que possuam alta especificidade e que causem danos suficientes à planta.

Os fungos são os principais agentes biológicos para controle de plantas daninhas. O seu uso como agentes biológicos é atrativo, porque estes organismos, além de serem facilmente encontrados, são específicos, destrutivos, persistentes e podem ser produzidos "in vitro" (Souza, 1991).

Rossmann (1992) relata a existência de uma grande variedade de fungos presentes em plantas, e que estes podem ser usados como agentes do controle biológico de plantas daninhas. Desse modo, deve-se considerar, principalmente, o local e distribuição da planta daninha, seu ciclo de vida e a necessidade de controle econômico através de medidas de manejo.

Segundo o relato de Templeton (1982), entre os grupos de patógenos mais estudados em controle biológico de plantas daninhas estão os fungos, com 71 espécies, seguidos das bactérias (3 espécies), dos nematóides (3 espécies) e dos vírus (6 espécies).

O objetivo deste trabalho foi proceder a identificação de fungos, especialmente os com maior potencial patogênico, em plantas daninhas ocorrentes nas

principais culturas, para sua possível utilização em controle biológico, no Planalto Médio do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Com o propósito de encontrar-se plantas daninhas apresentando sintomas de doenças, foram feitas visitas periódicas, no período entre julho de 1994 a julho de 1995, a áreas com culturas de importância econômica, como milho, soja e trigo, no Planalto Médio do Rio Grande do Sul. As espécies coletadas foram levadas ao Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia da Universidade de Passo Fundo (Passo Fundo - RS, 28°15'S, 52°24'W e 684 m de altitude), onde foram fotografadas e feita a sua classificação botânica baseando-se nos trabalhos de Cronquist (1981), Kissmann e Groth (1991/1995) e Lorenzi (1991, 1994).

As espécies de plantas daninhas após classificadas, foram acondicionadas em sacos de papel com tamanho de 40 x 20 cm, e catalogadas no Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia da Universidade de Passo Fundo.

A primeira tentativa de identificação do fungo, agente causal da doença, foi feita pela remoção de suas estruturas logo que recebeu-se o material no laboratório.

Quando não foi possível identificar-se imediatamente o fungo, utilizou-se o método de esporulação induzida, que consistiu na colocação do material numa câmara úmida. Para isso, utilizou-se uma placa de Petri com papel de filtro esterilizado colocado no fundo da placa, umidecido com água destilada-esterilizada e sobre o qual colocou-se o material, com cerca de 2 cm de diâmetro.

Nos isolamentos, foram utilizados os métodos descritos por Fernandez (1993), adaptados para cada patossistema. Naqueles em que foi necessário proceder-se o isolamento, utilizou-se o método de crescimento do micélio para organismos que não frutificam prontamente no tecido do hospedeiro e/ou são localizados basicamente nos tecidos internos, ou se encontram na presença de contaminantes. A técnica utilizada foi adaptada de acordo com o tipo de material. Foi feita a lavagem do material em água corrente com detergente, enxaguando-o depois em água destilada-

esterilizada e deixado secar. O tecido infectado foi cortado em pedaços de, no máximo, 2 mm de diâmetro e imerso em hipoclorito de sódio comercial a 1%, durante 2 a 3 minutos para a desinfestação. Logo após, as porções de tecido infectado foram colocadas em água destilada-esterilizada para retirar o excesso de hipoclorito e então colocadas sobre papel de filtro esterilizado para secagem.

Utilizando-se uma pinça esterilizada, colocaram-se cinco pedaços dispostos, equidistantemente, em cada placa de Petri, com diâmetro de 9 cm, contendo meio batata-sacarose-ágar (BSA) + o antibiótico (A) quemicetina, a fim de obter-se colônias puras do patógeno. Prepararam-se cinco placas de Petri, com 9 cm de diâmetro, totalizando 25 pedaços de tecido foliar infectado por espécie.

Após o plaqueamento, o material foi incubado à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob as seguintes condições luminosas: alternância de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. No interior da câmara de crescimento a fonte luminosa consistiu de 3 tubos fluorescentes General Electric de 40 watts, luz do dia, r 40 ID distantes 45 cm da superfície das placas. O período de incubação foi em torno de 7 a 10 dias para induzir a esporulação do fungo.

Uma vez tendo ocorrido o crescimento micelial do fungo, foi feita a sua repicagem e a mantidas colônias puras do patógeno. Para isto, foram transferidos, das placas de Petri, pedaços do meio contendo a cultura pura, para tubos de ensaio com 15 cm de altura x 1,5 cm de diâmetro, contendo meio BSA + A. A incubação foi feita conforme metodologia descrita anteriormente. Tendo-se desenvolvido as colônias, os tubos foram mantidos em geladeira a 4°C .

Para a identificação, foi selecionado o fungo de maior incidência nas cinco placas de Petri. Foram preparadas lâminas de microscopia flambadas, contendo uma gota de azul de algodão para fungos hialinos ou lactofenol para esporos de coloração escura, com as estruturas do patógeno retiradas do material desenvolvido e sob as quais foi colocada a lamínula esterilizada, e examinadas em microscópio ótico. A identificação do gênero e/ou da espécie foi baseada em comparações do material examinado com a morfologia dos esporos contidos em desenhos e em descrições na literatura (Ellis, 1971; Ou, 1972; Barnett, 1987).

No caso de ferrugens, o material foi enviado ao Dr. Mário Barreto Figueiredo do Instituto Biológico - SP, para a identificação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A lista das espécies vegetais de plantas daninhas com as respectivas famílias, o nome comum da doença, bem como os patógenos sobre elas encontrados são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. Hospedeiros e agentes etiológicos de enfermidades em plantas daninhas no Planalto Médio do Rio Grande do Sul.

HOSPEDEIRO		
FAMÍLIA	Nome comum	Nome científico
BOTÂNICA		AGENTE ETIOLÓGICO
Apiaceae	Caraguatá	<i>Eryngium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.
Compositae	Erva santana	<i>Eupatorium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.
	Falsa serralha	<i>Sonchus</i> sp. Oidium
	Maria-mole	<i>Senecio brasiliensis</i> Less. <i>Alternaria</i> sp.
		<i>Coleosporium tussilaginis</i>
	Picão	<i>Bidens pilosa</i> L. <i>Alternaria</i> sp.
	Serralha	<i>Sonchus oleraceus</i> L. <i>Colletotrichum</i> sp.
Convolvulaceae	Corriola	<i>Ipomea</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.
		<i>Coleosporium ipomeae</i>
		<i>Puccinia crassipes</i>
		<i>Uromyces vicinus</i>
Cruciferae	Nabiça	<i>Raphanus raphanistrum</i> L. <i>Alternaria brassicicola</i>

continua...

...continuação

FAMÍLIA BOTÂNICA	HOSPEDEIRO		AGENTE ETIOLÓGICO
	Nome comum	Nome científico	
Euphorbiaceae	Leiteiro	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	<i>Bipolaris euphorbiae</i> <i>Colletotrichum</i> sp. <i>Melampsora</i> sp. <i>Sphaceloma</i> sp. <i>Microsphaera euphorbiae</i> Vírus do mosaico do leiteiro
Malvaceae	Guaxuma	<i>Sida rhombifolia</i> L.	<i>Alternaria</i> sp. <i>Puccinia malvacearum</i> Bert. ex Mont.
Oxalidaceae	Trevo azedo	<i>Oxalis corniculata</i> L.	<i>Puccinia oxalidis</i>

continua...

...continuação

FAMÍLIA		HOSPEDEIRO	
BOTÂNICA	Nome comum	Nome científico	AGENTE ETIOLÓGICO
Poaceae	Azevém	<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	<i>Puccinia coronata</i>
			<i>Claviceps</i> sp.
			<i>Pyricularia</i> sp.
	Milhã	<i>Digitaria</i> spp.	<i>Drechslera</i> sp.
			<i>Pyricularia</i> sp.
Papuã	<i>Brachiaria plantaginea</i> (Link) Hitch.	<i>Bipolaris</i> sp.	
			<i>Pyricularia</i> sp.
	Quicuío	<i>Pennisetum clandestinum</i> Hochst.	<i>Bipolaris bicolor</i>
Polygonaceae	Erva de bicho	<i>Polygonum persicaria</i> L.	<i>Albugo</i> sp.
			<i>Sphaceloma</i> sp.
	Língua-de-vaca	<i>Rumex obtusifolius</i> L.	Oídio/míldio (?)

Família Apiacea

Caraguatá (*Eryngium* sp.)

O caraguatá, *Eryngium* sp., é uma espécie infestante de campos nativos. Em algumas situações a sua população elevada reduz a disponibilidade de pasto nativo. Dessa espécie isolou-se o fungo *Alternaria* sp. Em teste de patogenicidade o agente causal se mostrou fraco.

Família Compositae

Erva santana (*Eupatorium* sp.)

A erva santana, *Eupatorium* sp., é uma planta arbustiva, invasora de campos nativos no Planalto Médio do Rio Grande do Sul. O único fungo isolado foi *Alternaria* sp. a partir de lesões foliares, apresentando baixa incidência.

Falsa Serralha (*Sonchus* sp.)

Nessa espécie foi identificado um fungo do gênero *Oidium*. Trata-se de um parasita biotrófico, pois as plantas, apesar de terem as folhas completamente recobertas com o patógeno, não mostraram evidência de estarem sendo prejudicadas pelo parasitismo.

Maria mole (*Senecio brasiliensis* Less.)

O *Senecio brasiliensis*, conhecido popularmente por maria-mole, é uma planta daninha de pastagens e de áreas de agricultura onde se pratica o pousio de inverno. Dessa planta, isolou-se o fungo *Alternaria* sp. a partir de manchas necróticas localizadas nas folhas. Os sintomas encontrados eram de baixa intensidade, o que evidência o baixo potencial patogênico desse fungo. Desse hospedeiro, identificou-se também a ferrugem causada por *Coleosporium tussilaginis*. Essa ferrugem é de ocorrência comum em maria-mole, tendo sido encontrada, praticamente, em todas as lavouras amostradas. Esse patógeno tem potencial para uso em controle biológico.

Picão (*Bidens pilosa* L.)

No picão, *B. pilosa*, se encontrou com freqüência lesões foliares negras, irregulares e com 1 a 2 cm no maior comprimento, das quais se isolou *Alternaria* sp. A patogenicidade foi muito difícil de ser demonstrada, o que evidenciou ser um patógeno fraco e que deve exigir condições específicas de duração do molhamento foliar e de temperatura para a infecção. Juntamente com *Colletotrichum* sp., isolado de ramos, *Alternaria* sp. não apresentam potencial de uso.

Serralha (*Sonchus oleraceus* L.)

Uma outra espécie de planta daninha não muito importante é a serralha, *S. oleraceus*. Dessa espécie foi isolado o fungo *Alternaria* sp. de lesões necróticas pardo cinzas, com anéis concêntricos. Esse fungo mostrou-se com baixa patogenicidade.

Família Convolvulaceae

Corriola (*Ipomea* sp.)

A corriola é considerada uma importante planta daninha de cereais de inverno (Reunião, 1995). Foram encontradas, neste hospedeiro, três ferrugens: *Coleosporium ipomeae*, *Puccinia crassipes*, e *Uromyces vicinus*. Não se observou potencial destrutivo destas ferrugens nas lavouras visitadas nesse levantamento. Por isso, como tratam-se de parasitas obrigados ou biotróficos (Federation, 1973) o desenvolvimento de um micoherbicida com estes patógenos deve ser uma tarefa difícil.

Outro fungo isolado de corriola foi *Alternaria* sp. Esse fungo causava lesões foliares com baixa intensidade.

Família Cruciferae

Nabiça (*Raphanus raphanistrum* L.)

A nabiça, *R. raphanistrum*, é também uma importante planta daninha, principalmente, de lavouras onde se cultivam cereais de inverno (Reunião, 1995). A sua presença, em uma lavoura produtora de semente, elimina esta do sistema de produção. O único fungo isolado foi *Alternaria brassissicola*, a partir de manchas

foliares. A ocorrência dessas era rara. *Alternaria brassicicola* é citada como patogênico à cultura das brássicas. Esse fungo não apresenta potencial de uso, devido a sua baixa patogenicidade e, além disso é também infectante de plantas cultivadas como a colza ou canola, por exemplo (Galli, 1980).

Família Euphorbiaceae

Leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.)

A espécie *E. heterophylla*, denominada de leiteiro ou de amendoim-bravo é considerada, juntamente com o picão, *Bidens pilosa*, o papuã, *Brachiaria plantaginea*, e a milhã, *Digitaria sanguinalis*, as mais importantes espécies invasoras de culturas de verão, no Sul do Brasil (Reunião, 1993).

De *E. heterophylla*, isolou-se *Bipolaris euphorbiae*, *Colletotrichum* sp. e *Sphaceloma* sp. Foram identificados os parasitas biotróficos *Melampsora* sp. e *Microsphaera euphorbiae* e o mosaico causado pelo vírus do mosaico do leiteiro.

Entre os patógenos isolados do leiteiro, o que demonstrou maior dano ao hospedeiro, foi *Sphaceloma* sp. As plantas, na maioria das lavouras visitadas, apresentavam sintomas do tipo antracnose, sobretudo, na parte superior da planta. As plantas exibiam os sintomas da doença em qualquer estágio de desenvolvimento, e, em geral, o ataque era tão severo que determinava a paralisação do crescimento, a morte do ponteiro e a não formação das flores. De acordo com Inman (1971) e Schoröder, citado por Rodrigues (1985), *Sphaceloma* sp. satisfaz os requerimentos para utilização no controle biológico dessa espécie.

Dessa forma, merece ênfase o fato de que entre os patógenos encontrados em plantas daninhas nesse levantamento, essa foi a espécie com maior agressividade. Por isso, apesar de ser um fungo de difícil isolamento, de crescimento lento e de esporulação esparsa, deve merecer atenção especial, no futuro, quanto ao aumento do seu inóculo para uso em testes de campo.

O segundo fungo de importância identificado em leiteiro, que apresenta potencial de uso, é *Melampsora* sp. A sua patogenicidade foi facilmente demonstrada em casa-de-vegetação, tendo-se observado que, mesmo na ausência de molhamento, a epidemia se desenvolvia naturalmente após a inoculação de algumas folhas. Apesar

de se tratar de um parasita obrigado, esse fungo poderia ser multiplicado em plantas de leiteiro, em casa-de-vegetação, coletado seus esporos e introduzidos no início do desenvolvimento vegetativo de *E. heterophylla* em lavouras. A semelhança do que se verificou em casa-de-vegetação é provável que possa se estabelecer uma epidemia natural a partir do inóculo produzido. Templeton (1982), Bruckart et al. (1988), Bennett et al. (1991) tiveram sucesso com a introdução de *Puccinia xanthii*, *P. carduorum* e *P. jaceae* em *Xanthium* sp., *Carduus thoermeri* e *Centaurea solstitialis*, respectivamente. Também, Massion e Lindow (1986) e Phatak et al. (1986) mostraram a viabilidade deste procedimento no controle biológico do *Sorghum halepense* pelo uso de *Sphacelotheca holci* e de *Cyperus esculentus* utilizando *P. canaliculata*, respectivamente. Outras plantas daninhas que estão sendo trabalhadas para controle biológico clássico com patógenos são *Euphorbia esula* e *Centaurea solstitialis* (Bruckart e Dowler, 1986).

O terceiro fungo isolado de *E. heterophylla* foi *Bipolaris euphorbiae*. Esse fungo tem sido alvo de vários estudos no Brasil (Yorinori, 1985; Café Filho et al., 1987; Gomes e Dianese, 1987; Gazziero, 1988a,b; Gazziero et al., 1989a,b,c,d,e; Yorinori e Gazziero, 1989; Gazziero et al., 1993a,b; Gazziero e Yorinori, 1993). Para estes autores, este seria o fungo com maior possibilidade de sucesso para o controle biológico do leiteiro, no Brasil.

No presente levantamento não se observou nenhuma situação, no campo, da ocorrência epidêmica da doença por ele causada. Esse fungo causa lesões foliares arredondadas, com diâmetro variável, de coloração escura. As lesões jovens apresentavam o diâmetro de 3 a 4 mm, forma circular, centro branco com anel escuro definido, muito semelhante ao sintoma de olho-de-rã, causado por *Cercospora sojina*, em soja (Sinclair e Shurtleff, 1975). Quando as lesões aumentavam de diâmetro tornavam-se irregulares por não ultrapassarem as nervuras com maior diâmetro. Porém, sempre apresentavam o centro claro e os bordos escuros definidos. Com frequência, as lesões mais velhas apresentavam a dilaceração dos tecidos centrais. Encontrou-se folhas com até 48 lesões. Sob condições naturais, não se observou efeito detrimental do fungo em plantas de leiteiro, como observado com *Sphaceloma*. Apesar

disso, por ser um fungo de fácil esporulação em laboratório, deve merecer estudos que viabilizem o seu uso como micoherbicida.

Os demais fungos, *Colletotrichum* sp. e *Microsphaera euphorbiae*, ocorreram com incidência muito baixa.

Em relação ao vírus do mosaico do leiteiro, apenas registra-se a sua ocorrência nesse trabalho.

Família Malvaceae

Guanxuma (*Sida rhombifolia* L.)

A guanxuma, *S. rhombifolia*, é uma importante planta invasora das lavouras de plantio direto e de pastagens (Reunião, 1993). Neste levantamento encontrou-se plantas com sintomas de lesões foliares com anéis concêntricos. Em todos os casos, a doença manifestava-se em baixa intensidade, indicando que o fungo *Alternaria* sp. apresenta pouca agressividade.

Também identificou-se em guanxuma, a ferrugem causada por *Puccinia malvacearum*, já relatada no Brasil, anteriormente, por Viegas (1961). Não se observou epidemias desse nas lavouras visitadas.

Família Oxilidaceae

Trevo azedo (*Oxalis corniculata* L.)

O trevo azedo, também denominado azedinha, *O. corniculata*, é uma planta daninha de baixa ocorrência, não sendo muito importante. O único patógeno encontrado nessa espécie foi a ferrugem causada por *Puccinia oxalidis*. Esse fungo, devido a sua freqüência e por limitar o desenvolvimento vegetativo desta planta daninha, tem potencial de uso no controle biológico.

Família Poaceae

Azevém (*Lolium multiflorum* L.)

Em relação as doenças encontradas em azevém (*L. multiflorum* L.) destacou-se a ferrugem da folha causada por *Puccinia coronata*. Segundo Lindquist e Costa Neto (1963) essa ferrugem é infectiva à aveia, um dos principais cereais de inverno no Sul do Brasil e, devido a isso, não possui potencial de uso como micoherbicida.

Quanto a *Claviceps* foram encontrados, na área experimental da Faculdade de Agronomia, plantas esparsas com a presença de esclerócios típicos deste gênero. Os esclerócios apresentaram coloração laranja escura de 8 a 12 mm, repondo a semente nas espiguetas infectadas. Observou-se em uma lavoura, no município de Carazinho, RS, a ocorrência generalizada desta doença. Embora não se tenha induzido a germinação dos esclerócios em laboratório, segundo Costa Neto (1940) e Viegas (1961), deve tratar-se da espécie *C. purpurea*, o mesmo que ocorre em trigo (*Triticum aestivum* L.) e centeio (*Secale cereale* L.). A importância deste fato é a de o azevém servir como hospedeiro secundário deste patógeno. No desenvolvimento de estratégias de controle, que envolvam a eliminação ou a redução do inóculo primário, é fundamental se conhecer a gama de hospedeiros da espécie de patógeno alvo do controle. Uma vez tentando-se o controle de *C. purpurea* pela rotação de cultura, a sobrevivência em azevém deve ser considerada, isto é, o hospedeiro secundário deve ter sua população reduzida.

Dessa forma, conclui-se, a semelhança da ferrugem, que esse patógeno não pode ser explorado no controle biológico de *L. multiflorum*.

Em relação a *Pyricularia* sp., segundo a literatura (Ou, 1972; Igarashi, 1988) e com base na mensuração dos conídios, obteve-se 21 - 34 (26,8) x 7 - 11 (9,1) μm o que comparada com a descrição do fungo por Ellis (1971), Ou (1972) e Igarashi (1988), 17 - 28 (20,9) x 6 - 9 (7,6) μm , deve tratar-se da espécie *P. grisea*.

Devido a isso, a semelhança de *C. purpurea*, *P. grisea*, também, não pode ser considerada no controle biológico. A importância da constatação deste patógeno

em azevém é a de contribuir para a sua multiplicação e a de garantir um potencial de inóculo para o trigo e para o arroz.

Encontrou-se, também, em azevém, uma mancha foliar de coloração escura, da qual isolou-se o fungo *Drechslera* sp., que ao ser inoculado em trigo, mostrou-se fracamente patogênico.

Embora neste trabalho o azevém seja considerado uma planta daninha, não se encontrou nenhum patógeno específico que possibilitasse o seu uso como agente de controle biológico.

Milhã (*Digitaria* spp.)

A partir de lesões foliares em *Digitaria* spp., comumente denominada de milhã e capim-colchão, isolou-se o fungo *P. grisea*. As lesões foliares apresentavam formas mais ou menos elípticas com o centro claro e bordos definidos arroxeadas.

Ou (1972) relata que *Digitaria* spp. constituem-se em hospedeiros secundários de *P. grisea*, o agente causal da brusone do trigo e do arroz. Dessa forma, esse patógeno não pode ser usado em controle biológico por causar doenças em plantas de importância econômica. Como abordado por Weidemann e Tebeest (1990), na procura de fungos patogênicos com potencialidade de uso em controle biológico, deve-se estar atento para não se desenvolver um micoherbicida que, além da planta daninha, seja patogênico em plantas cultivadas.

Digitaria spp. são considerados hospedeiros secundários de *P. grisea* e , por isso, a sua população deveria ser reduzida por outros meios para diminuir o inóculo primário (Dinnor, 1974).

Papuã (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch.)

Como já mencionado, o papuã, *B. plantaginea*, juntamente com a milhã, *Digitaria sanguinalis*, representam as principais gramíneas invasoras das lavouras de milho e de soja no Sul do Brasil (Reunião, 1993).

Do papuã isolaram-se dois fungos, *Bipolaris* sp. e *Pyricularia* sp. Dificilmente se observa qualquer sintoma de doença parasitária em *B. plantaginea*. De

lesões mais ou menos elípticas esbranquiçadas, isolou-se os dois agentes patogênicos acima citados. Embora não se tenha feito inoculação de *Bipolaris* e de *Pyricularia* em cereais de inverno, baseado na morfologia dos conídios, tudo indica que *Bipolaris* sp. não deve pertencer à espécie *B. sorokiniana* relatada em trigo, cevada e triticale, mas sim, a uma outra espécie não identificada (Reis et al., 1987).

Quanto a *Pyricularia* sp., morfologicamente os conídios eram semelhantes aos de *P. grisea*, já descrita para o azevém.

Quicuío (*Pennisetum clandestinum* Hochst.)

O quicuío, *P. clandestinum*, é cultivado como pastagem de verão (Smith et al., 1982). Na maioria das situações, essa espécie é considerada como uma invasora de lavouras e de gramados em parques e em jardins. Isolou-se do quicuío o fungo *Bipolaris bicolor*. Os sintomas causados por *B. bicolor* nas folhas do quicuío são lesões pardo-avermelhadas retangulares. Dependendo das condições climáticas, observa-se a ocorrência severa dessa mancha foliar, o que determina a paralisação do crescimento da espécie infestante. A patogenicidade foi facilmente demonstrada e o fungo esporulou, profusamente, em meio de grãos de sorgo (Reis, informação pessoal). Esse patógeno tem potencial de uso como um micoherbicida para o controle de *P. clandestinum*, principalmente em gramados.

Família Polygonaceae

Foram encontradas três espécies desta família, apresentando sintomas de doença.

Erva-de-bicho (*Polygonum persicaria* L.)

Na erva-de-bicho, *P. persicaria*, foram encontrados os fungos *Sphaceloma* sp. e *Albugo* sp. Esse último é o agente causal de ferrugens brancas. Como não se fez a inoculação de *Albugo* sp. nas espécies vegetais cultivadas não se tem indicativo de qual a espécie que ocorre na erva-de-bicho. Por se tratar de um parasita obrigado e não ter apresentado elevada incidência e severidade no campo, não apresenta

potencial de uso no controle biológico. Quanto a *Sphaceloma* sp., esse fungo apresentou um crescimento muito lento em meio de cultura, não tendo se obtido sua esporulação.

Língua-de-vaca (*Rumex obtusifolius* L.)

Como são raros os trabalhos sobre doenças em plantas daninhas, no Sul do Brasil, teve-se dificuldades em dispor-se de metodologia própria para isolamento e , principalmente, para a indução da esporulação de alguns fungos. Num trabalho pioneiro, como este, as dificuldades maiores ocorreram com a espécie *R. obtusifolius*, língua-de-vaca. Observou-se a ocorrência epidêmica de uma doença, causada por fungo, sobre esta espécie, o que é desejável na procura de patógenos para uso em controle biológico. Diversas tentativas de isolamento em meio de cultura falharam, o que deve ser indicativo de ser um parasita biotrófico. Quando porções do tecido infectado foram postos em câmara úmida, um desenvolvimento de esporóforos curtos pouco profusos foi observado pelo estereomicroscópio. Como a esporulação foi muito rara, não forneceu base para se determinar nem a classe do fungo agente causal.

A doença manifestou-se com sintomas do tipo mancha foliar. Essas lesões apresentavam-se de coloração variada. Inicialmente, com o centro claro e um bordo difuso de coloração púrpura esmaecido. Posteriormente, nas lesões completamente desenvolvidas na parte central, de tecido necrosado, a coloração alterou-se para pardo-escuro brilhante, com diâmetro máximo de 2 mm. No início do desenvolvimento, em lesões pequenas, a parte central apresentou diâmetro máximo de 1 mm e coloração branca com bordos difusos púrpuros. Em estágio intermediário, as lesões com parte central necrosada apresentaram-se de coloração pardo-escuro brilhante, porção intermediária, parda clara e bordos difusos púrpuros.

Em todo o levantamento procedido esta foi a doença que apresentou a maior severidade no hospedeiro. O patógeno, agente causal desta mancha foliar em *R. obtusifolius*, merece pesquisa posterior visando a sua identificação e, desenvolvimento de metodologia prática e viável para chegar-se a um micoherbicida.

Como este levantamento limitou-se a algumas lavouras do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, sugere-se que em estudos futuros seja estendido às demais

regiões ecofisiológicas do Sul do Brasil, a fim de se obter informações mais detalhadas sobre as doenças que naturalmente ocorrem em plantas daninhas.

Trabalhos posteriores devem se concentrar no conhecimento das exigências nutricionais dos fungos com potencial de uso no controle biológico e que dificilmente esporulam nos meios de culturas tradicionalmente usados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNETT, H.P. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. New York: Mac Millan Pub. Co.; London, Collier Macmillan, 1987. 218p.

BENNETT, A.R.; BRUCKART, W.L.; SHISHKOFF, N. Effects of dew, plant age, and leaf position on the susceptibility of yellow Starthistle to *Puccinia jaceae*. **Plant Disease**, Washington, v.75, n.5, p.499-501, 1991.

BRUCKART, W.L.; BAUDOIN, A.B.; ABAD, R.; KOK, L.T. Limited field evaluation of *Puccinia carduorum* for biological control of musk thistle. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, p.1593, 1988.

BRUCKART, W.L.; DOWLER, W.M. Evaluation of exotic rust fungi in the United States for classical biological control of weeds. **Weed Science**, New York, n.34 (Suppl.1), p.1114, 1986.

CAFÉ FILHO, A.C.; LOPES, C.A.; FONSECA, M.E.N.; MALNATI, W.D.; PEREIRA, W. Dados preliminares sobre o controle biológico do amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla*) por fungos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.138, Jul. 1987.

- COSTA NETO, J.P. Relação de fungos do Rio Grande do Sul. In: **CONGRESSO RIO-GRANDENSE DE AGRONOMIA**, 2, 1940. Anais... [s.l.]: Tipografia Gundlach, 1940. p.319-324,
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981. 1262p.
- DINNOR, A. Role of wild and cultivated plants in the epidemiology of plant diseases in Israel. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.12, n.3, p.413-436, 1974.
- ELLIS, M.B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: CAB, 1971. 608p.
- FEDERATION OF BRITISH PLANT PATHOLOGISTS. **Terminology sub-Committee: A guide to the use of terms in plant pathology**. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1973. 55p. (Phytopathological Papers, 17).
- FERNANDEZ, M.R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128p. (Documentos, 6).
- GALLI, F. **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1980. 600p.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Adequação da dose do fungo *Helminthosporium* sp. no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989a. p.275-278.

- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Avaliação da compatibilidade de misturas de *Helminthosporium* sp. com o herbicida pós-emergência chlorimuron-ethyl, no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989b. p.279.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Avaliação da influência da hora de aplicação sobre o efeito do fungo *Helminthosporium* sp. no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989c. p.280-282.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Compatibilidade da mistura de *Helminthosporium* sp. com diferentes adjuvantes. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989d. p.282-283.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Efeitos da luminosidade na germinação de esporos de *Helminthosporium* sp. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1988/89**. Londrina, 1989e. p.283-284.
- GAZZIERO, D.L.P.; CALCAVARA, P.R.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Estudo da influência do número de horas de molhamento na germinação do fungo *Helminthosporium* sp. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, 19, Londrina, 1993. Resumos... Londrina: Sociedade Brasileira de Herbicidas e Ervas Daninhas, 1993a. p.15.

- GAZZIERO, D.L.P.; ULBRICH, A.V.; YORINORI, J.T.; ARRABAL, C.A. Avaliação da compatibilidade de misturas de *Helminthosporium* sp. com herbicida pós-emergência clorimuron-ethyl, no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1987/88**. Londrina, 1988b. p.302-303.
- GAZZIERO, D.L.P.; ULBRICH, A.V.; YORINORI, J.T.; VOLL, E. Adequação da dose do fungo *Helminthosporium* sp. no controle de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1987/88**. Londrina, 1988a. p.299-302.
- GAZZIERO, D.L.P.; YORINORI, J.T. **Experiência sobre controle biológico de *Euphorbia heterophylla* no Brasil**. Jaboticabal: FCAVJ/UNESP, 1993. 11p.
- GAZZIERO, D.L.P.; YORINORI, J.T.; CACAO, L.E.F.; KARAN, D.; VOLL, E. Avaliação da germinação de *Helminthosporium* sp. nas diferentes fases do processo de produção e formulação de micoherbicida. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS**, 19, Londrina, 1993. Resumos... Londrina: Sociedade Brasileira de Herbicidas e Ervas Daninhas, 1993b. p.15-16.
- GOMES, S.M.; DIANESE, J.C. Efeito de *Helminthosporium* sp. sobre estágios de desenvolvimento do leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.138, 1987.
- IGARASHI, I. **Uma análise da ocorrência de brusone do trigo, no Paraná**, S.n.t. 19p. Trabalho apresentado no seminário sobre melhoramento para resistência a enfermidades, Passo Fundo, RS. Agosto. 1988.

- INMAN, R.E. A preliminary evaluation of *Rumex* rust as biological control agent for curly dock. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, n.1, p.102-107, 1971.
- KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: BASF Brasileira, 1991/1995. 2083p.
- LINDQUIST, J.C.; COSTA NETO, J.P. Uredinales de Rio Grande do Sul (Brasil). De la **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v.39, p.113-116, 1963.
- LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. 3. ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1994. 336p.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2. ed. Nova Odessa, SP, 1991. 440p.
- MASSION, C.L.; LINDOW, S.E. Effects of *Sphacelotheca holci* infection on morphology and competitiveness of johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, New York, v.34, p.883-888, 1986.
- OU, S.H. **Rice diseases**. Commonwealth Mycological Institute. Kew. Surrey, 1972. 368p.
- PHATAK, S.C.; VAVRINA, C.S.; CALLAWAY, M.B.; YOUNG, J.R.; WELLS, H.D. Application of rust spores *Cyperus rotundus* and *C. esculentus*. **Weed Technology**, v.1, p.84-91, 1986.
- REIS, E.M. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. São Paulo: CNDA, 1987. 32p.

- REUNIÃO DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO. **Recomendações da comissão sul-brasileira de pesquisa de trigo.** Porto Alegre: A Comissão, 1995. 66p.
- REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 21. **Recomendações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e Santa Catarina - Safra de 1993/94.** Santa Rosa: CIENTEC-IPAGRO, 1993. 64p.
- RODRIGUES, B.N. Controle biológico de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.129, p.83-86, Set. 1985.
- ROSSMAN, A.Y. Opportunities for utilization of fungal pathogens in biocontrol. In: COULSON, J.R. e ZAPATER, M.C. (ed.) **Opportunities for implementation of biocontrol in Latin America.** Buenos Aires, 1992. p.55-71.
- SINCLAIR, J.B.; SHURTLEFF, M.C. (ed.). **Compendium of soybean diseases. The American Phytopathological Society.** St. Paul, Minnesota, 1975. 69p.
- SMITH, L.B.; WASSHAUSEN, D.C.; KLEIN, R.M. Gramíneas. 45. *Deschampsia* até 84. *Pseudechinolaena*. In: REITZ, R. (Ed.). **Flora ilustrada catarinense.** Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, 1982. p.816-820.
- SOUZA, I.F. de. Controle biológico de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.15, n.167, p.77-82, 1991.
- TEMPLETON, G.E. Status of weed control with plant pathogens. In: CHARUDATTAN, R.; WALKER, H.L. **Biological control of weeds with plant pathogens.** U.S.A: Wiley e Sons, 1982. p.237-246.
- VIEGAS, A.P. **Índice de fungos da América do Sul.** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1961. 921p.

WEIDEMANN, G.J.; TEBEEST, D.O. Biology of host range testing for biocontrol of weeds. **Weed Technology**, v.4, p.465-470, 1990.

YORINORI, J.T. Biological control of milk weed (*Euphorbia heterophylla*) with pathogenic fungi. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM BIOLOGY CONTROL WEEDS**, 6, Vancouver, 1985, Proceedings.. Vancouver, 1985. p.677-681.

YORINORI, J.T.; GAZZIERO, D.L.P. Control of milk weed (*Euphorbia heterophylla*) with *Helminthosporium* sp. In: DELFOSSE, E.S. **Proceedings International Symp. Biol. Contr. Weeds**, 7, 1988, Rome [s.l.: s.n.l.], p.571-576, 1989.

**OCORRÊNCIA DE *Pyricularia grisea* E DE *Claviceps* sp. EM AZEVÉM
(*Lolium multiflorum* L.), NO RIO GRANDE DO SUL.***

Carlos Antônio Medeiros¹, Erlei Melo Reis² e Paulo Estevão de Souza¹

¹UFLA, Departamento de Fitossanidade, Caixa Posta 37, 37.200-000, Lavras, MG, Brasil.

²UPF, Faculdade de Agronomia, Caixa Postal 566, 99.001-970, Passo Fundo, RS, Brasil.

* Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

RESUMO

Descreve-se pela primeira vez a ocorrência de *Pyricularia grisea* e de *Claviceps* sp. em azevém, no Rio Grande do Sul. A doença manifestou-se pelo branqueamento parcial ou total das espigas. A maioria das infrutescências apresentavam lesão na porção mediana do ráquis, provocando a morte da metade da espiga. Estes sintomas são semelhantes aos da brusone do trigo. Testes de patogenicidade foram conduzidos comprovando-se a infectividade do agente causal. Quanto a *Claviceps* sp., observou-se a presença dos esclerócios nas espigas, substituindo as sementes nas espiguetas infectadas.

Palavras-chave: Azevém, *Lolium multiflorum*, *Pyricularia grisea*, *Claviceps*.

ABSTRACT

MEDEIROS, C.A.; REIS, E.M.; SOUZA, P.E. de. The occurrence of *Pyricularia grisea*, and *Claviceps* sp. on *Lolium multiflorum*, in Rio Grande do Sul.

It is reported by the first time the occurrence of *Pyricularia grisea* and *Claviceps* sp. on ryegrass, in the state of Rio Grande do Sul. Disease symptoms caused by *P. grisea* manifested as bleaching part or the whole spikes were observed. Most of the rachis infection determined the death of half spike. This syndrome was similar to the blast on wheat. In relation to *Claviceps* sp. it was observed the presence of sclerotia replacing the seeds on ryegrass infected spikes.

O azevém (*Lolium multiflorum* L.), também chamado de "azevém italiano ou olessa", constitui-se em uma das mais importantes forrageira de estação fria no Sul do Brasil (Floss, 1988). Isto deve-se a abundante produção de forragem, rebrote fácil, resistência ao pastoreio e a excessos de umidade. Suas condições alimentícias e de apetecibilidade são excelentes (Carambula, s.d. a,b; Floss, 1988).

Neste trabalho, porém, o azevém é considerado como uma planta daninha de culturas de inverno, estando presente, praticamente, em todas as áreas rurais e urbanas.

Nos meses de setembro e outubro de 1994, na área experimental da Faculdade de Agronomia da Universidade de Passo Fundo (FAUPF), foram observados sintomas de uma doença cuja sintomatologia não fora verificada anteriormente na cultura do azevém.

Nas visitas de coleta de doenças em plantas daninhas observou-se a despigmentação de espiguetas e o branqueamento parcial ou total das inflorescências de *L. multiflorum*. A maioria das espigas apresentavam descoloração da sua metade superior. Esta sintomatologia é semelhante à descrita por Igarashi (1988), em trigo.

Ao remover-se as espiguetas observou-se, no ráquis, uma descoloração pardo-escura no ponto de penetração do patógeno. Os sintomas eram do tipo de lesões localizadas, principalmente, na metade longitudinal do ráquis, o que

determinava o branqueamento parcial ou total das espigas, dependendo do estágio e do local da infecção, causando a morte da parte imediatamente superior à lesão. Isto determinava a esterilidade das flores e/ou o chochamento de semente. As sementes, em desenvolvimento, apresentavam-se de coloração castanho claro a escuro e chochas. Sintomas semelhantes foram descritos por Igarashi (1988) na cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) e Ou (1972), em arroz (*Oryza sativa* L.).

Espigas de azevém, com os sintomas descritos anteriormente foram coletadas dando-se preferência àquelas não senescentes, que apresentavam-se com os sintomas nítidos da doença.

Em laboratório, procedeu-se o isolamento do fungo a partir de espigas infectadas, seguindo-se a metodologia descrita por Fernandez (1993). Os ráquis infectados foram cortados em pedaços de no máximo 2 mm de comprimento e imersos em hipoclorito de sódio comercial a 1%, durante 2 a 3 minutos para a desinfestação. Logo após, os tecidos infectados foram colocados em água destilada esterilizada para retirar o excesso de hipoclorito e então colocados sobre papel de filtro esterilizado para secagem. Utilizando-se uma pinça esterilizada, colocaram-se cinco pedaços dispostos, equidistantemente, em cada placa de Petri, com diâmetro de 9 cm, contendo meio batata-sacarose-ágar (BSA) + o antibiótico (A) quemicetina, a fim de obter-se colônias puras do patógeno. Preparam-se 26 placas de Petri, com 9 cm de diâmetro, totalizando 130 pedaços de tecido foliar infectado.

Após o plaqueamento, as placas foram incubadas à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob as seguintes condições luminosas: alternância de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. No interior da câmara de crescimento a fonte luminosa consistiu de 3 tubos fluorescentes General Electric de 40 watts, luz do dia, r 40 ID e distantes 45 cm da superfície das placas. O material foi incubado por um período em torno de 10 dias para induzir a esporulação do fungo.

Após o desenvolvimento das colônias foi selecionado, para identificação, o fungo de maior incidência. Foram preparadas lâminas de microscopia flambadas, contendo uma gota de azul de algodão, com as estruturas do patógeno retiradas do material desenvolvido e sob as quais foi colocada a lamínula esterilizada, e examinadas em microscópio ótico. Os esporos ao microscópio apresentaram

morfologia idêntica a do gênero *Pyricularia*, isto é, conídios hialinos, variáveis em tamanho e forma, piriformes a obclavados, base arredondada, ápice estreito, a maioria com dois septos transversais. Na mensuração de 100 conídios obteve-se 21 - 34 (26,8) x 7 - 11 (9,1) μm o que comparada com a descrição do fungo por Ellis (1971), Ou (1972) e Igarashi (1988), 17 - 28 (20,9) x 6 - 9 (7,6) μm , assemelha-se a *Pyricularia grisea*.

Obteve-se, nos isolamentos, uma porcentagem de 64% do fungo *Pyricularia grisea*, sendo um indicativo de ser este o patógeno responsável pelo aparecimento de tais lesões na cultura.

Após o desenvolvimento do fungo em colônias puras, foi feita a sua repicagem e a manutenção em colônias estoques. Para isto, foram repicados, das placas de Petri, pedaços do meio contendo a cultura pura, para tubos de ensaio com 15 cm de altura x 1,5 cm de diâmetro, contendo meio BSA + A. Após a incubação, feita conforme metodologia descrita anteriormente, os tubos foram mantidos em geladeira a 4°C para trabalhos posteriores.

O aumento do inóculo foi feito através de repicagens de colônias puras do patógeno, obtidas a partir dos tubos de ensaio com colônia estoque, para o centro das placas de Petri em meio BSA + A e incubadas conforme metodologia descrita anteriormente.

As plantas de azevém foram obtidas através da semeadura de sementes em vasos plásticos com 15 cm de altura por 10 cm de diâmetro, contendo terra e composto orgânico na proporção de 2:1.

A inoculação do fungo foi feita através da pulverização uniforme das espigas, com um atomizador manual marca De Wilbs. Afim de evitar que os esporos se acumulassem no fundo dos tubos de ensaio, os mesmos foram agitados manualmente, durante alguns segundos, antes de proceder-se a inoculação. Acrescentou-se à suspensão de esporos uma gota de agente dispersante (Tween 20), para permitir melhor cobertura da suspensão sobre as espigas.

Para fornecer condições ideais para a germinação dos esporos e a penetração dos ráquis, as plantas inoculadas foram mantidas em câmara úmida, através da sua proteção com um saco plástico transparente (80 x 50 cm), previamente

atomizado com água internamente. As plantas assim preparadas foram mantidas em câmara úmida por um período de 48 horas após a inoculação.

Na avaliação, foram examinadas as espigas das plantas. A quantificação dos sintomas foi baseada na incidência da doença, ou seja, na porcentagem de espigas infectadas (Federation, 1973). Os sintomas tornaram-se visíveis a partir do 15º dia após a inoculação, sendo semelhantes aos anteriormente observados sob condições naturais. Plantas pulverizadas apenas com água esterilizada e mantidas sob as mesmas condições não apresentaram sintomas, enquanto que 100% das inoculadas o apresentaram. Segundo os relatos de Viegas (1961), de Ou (1972) e de Igarashi (1988), são muitos os hospedeiros secundários deste patógeno. Estes autores, entretanto, não citam o azevém entre a gama de hospedeiros de *P. grisea*.

Considerando-se os sintomas causados e a morfologia dos conídios, deve tratar-se da espécie *Pyricularia grisea* (Ou, 1972). Sendo *P. grisea*, também, patógeno do trigo, *L. multiflorum* constitui-se em importante fonte de inóculo para o agente causal da brusone do trigo, no Sul do Brasil. Isto porque o azevém infesta grandes áreas rurais, ao longo das rodovias. Embora a brusone ataque o trigo, principalmente nas regiões mais quentes do Brasil (Igarashi, 1988), observou-se uma alta incidência em *L. multiflorum*, no Rio Grande do Sul. Este fato pode estar associado à condições climáticas ocorrentes na safra agrícola de inverno no Rio Grande do Sul, caracterizada por chuvas freqüentes e altas temperaturas.

Quanto a *Claviceps* sp., encontrou-se espigas com a presença de esclerócios típicos deste fungo, repondo as sementes nas espiguetas infectadas. Os esclerócios apresentavam coloração laranja-escuro com comprimento de 8 a 12 mm. Embora não se tenha induzido a germinação dos esclerócios, crê-se que deva tratar-se da espécie *C. purpurea*, já relatada por Viegas (1961) em *Lolium* sp. Também Prestes et al. (1992) descreveram a mesma espécie, em trigo, no Rio Grande do Sul. Segundo Costa Neto (1940), é comum a ocorrência de ergot, causada por patógenos do gênero *Claviceps*, em gramíneas nativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARAMBULA, M. **Produccion de semillas de plantas forrajeras.** Montevideo: Editorial Hemisferio Sur. p.447-450. s.d.
- CARAMBULA, M. **Produccion y manejo de pasturas sembradas.** Montevideo: Editorial Hemisferio Sur. p.219. s.d.
- COSTA NETO, J.P. **Relação de fungos do Rio Grande do Sul.** In: CONGRESSO RIO-GRANDENSE DE AGRONOMIA, 2, 1940. Anais... [s.l.]: Tipografia Gundlach, 1940. p.319-324,
- ELLIS, M.B. **Dematiaceous hyphomycetes.** Kew: CAB, 1971. 608p.
- FEDERATION OF BRITISH PLANT PATHOLOGISTS. **Terminology sub-Committee:** A guide to the use of terms in plant pathology. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1973. 55p. (Phytopathological Papers, 17).
- FERNANDEZ, M.R. **Manual para laboratório de fitopatologia.** Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128p. (Documentos, 6).
- FLOSS, E.L. **Manejo forrageiro de aveia (*Avena* sp.) e azevém (*Lolium* sp.).** In: **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM**, 9, Piracicaba, 1988. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1988. p.231-267.
- IGARASHI, I. **Uma análise da ocorrência de brusone do trigo, no Paraná.** S.n.t. 19p. Trabalho apresentado no seminário sobre melhoramento para resistência a enfermidades, Passo Fundo, RS, 1988.
- OU, S.H. **Rice diseases.** Key: Commonwealth Mycological Institute, 368p. 1972.

PRESTES, A.M.; SILVEIRA, C.E.E.; DOTTO, R.F. Ocorrência de ergot na cultura do trigo, no Rio Grande do Sul, 1989. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.1, p.104-105, 1992.

VIEGAS, A.P. **Índice de fungos da América do Sul.** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1961. 921p.

ESPORULAÇÃO E PATOGENICIDADE DE *Bipolaris euphorbiae*

Carlos Antônio Medeiros¹, Erlei Melo Reis² e Paulo Estevão de Souza¹

¹UFLA, Departamento de Fitossanidade, Caixa Posta 37, 37.200-000, Lavras, MG, Brasil.

²UPF, Faculdade de Agronomia, Caixa Postal 566, 99.001-970, Passo Fundo, RS, Brasil.

* Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

RESUMO

Este trabalho trata da investigação básica visando-se desenvolver um micoherbicida a base de *Bipolaris euphorbiae* à plantas de leiteiro, *Euphorbia heterophylla*. Foram conduzidos experimentos para selecionar-se a melhor concentração de esporos para a inoculação das plantas, para determinar-se os fatores que influem na velocidade de germinação, no crescimento micelial e na esporulação. Também testou-se a patogenicidade do fungo nas principais espécies cultivadas na região Sul do Brasil. Demonstrou-se que a concentração de 5×10^3 conídios/ml garantiu uma severidade suficiente para paralisar o crescimento da planta alvo do controle. Estudou-se, também, o efeito de fontes de carbono e de concentrações de sacarose sobre a velocidade de germinação dos esporos do fungo alvo deste estudo. Evidenciou-se que usando-se a fonte de carbono sacarose nas concentrações de 3 a 4%, em água, se obteve a maior velocidade de germinação. Demonstrou-se que a germinação foi influenciada significativamente na faixa térmica de 15 a 25°C. Quanto ao crescimento micelial, o fungo respondeu positivamente ao regime de escuro contínuo e aos meios farinha de trigo-ágar, de batata-sacarose-ágar e de farinha de aveia-ágar. A esporulação foi maior no regime luminoso de escuro contínuo e no meio de Reis. *Bipolaris euphorbiae* mostrou especificidade apenas ao leiteiro, não tendo sido patogênico aos cereais de inverno, ao milho, a soja e ao sorgo. Nos testes de

inoculação em plantas de leiteiro, evidenciou-se a possível existência de toxina(s), produzidas pelo patógeno, na síndrome da doença.

Estudos posteriores, servindo-se dos avanços aqui obtidos, podem facilitar o desenvolvimento de formulações de *B. euphorbiae*, para o controle do leiteiro.

Palavras-chaves: *Bipolaris euphorbiae*, concentração de esporos, germinação, crescimento micelial, esporulação, fontes de carbono, meios de cultura, luminosidade, patogenicidade.

ABSTRACT

MEDEIROS, C.A.; REIS, E.M.; SOUZA, P.E. de. Sporulation and pathogenicity of *Bipolaris euphorbiae*

This work deals with the basic work in attempt to develop a mycoherbicide using the fungus *Bipolaris euphorbiae* to control milk weed, *Euphorbia heterophylla*. Experiments were carried out to select the most suitable spore concentrations to inoculate the plants. Trials were also conducted to determine the factors that may have influence in spore germination, mycelial growth and on sporulation. Finally it was tested the pathogenicity of the fungus on the main cultivated plant species of Southern Brazil. It was shown that the most suitable spore concentration was 5×10^3 which was enough to stop plant development. It was, also studied the effect of carbon sources and of sucrose concentration on the velocity of spore germination. The highest sporulation was found using carbon source as sucrose in the concentration of 3 - 4% in water. Sporulation was significantly high in the temperature range of 15 to 25°C. In relation to mycelial growth the fungus showed its higher development under darkness on the media of corn meal-agar, potato-dextrose-agar and oat meal-agar. On the other hand sporulation was the highest both in continuous light and darkness on Reis medium. In the pathogenicity tests, *B. euphorbiae* showed specificity to *E. heterophylla*. The presence of toxins produced by the pathogen may be involved in the disease syndrome. Further studies based on the findings of this work may facilitate the development of formulations containing *B. euphorbiae* to control biologically milk weed.

INTRODUÇÃO

As plantas daninhas quando crescem juntamente com as culturas interferem no desenvolvimento destas, reduzindo-lhes a produção. Segundo Pitelli (1985), os efeitos negativos são resultantes de pressões ambientais que agem direta (competição, alelopatia, interferência na colheita) ou indiretamente (hospedando pragas, moléstias e nematóides). Estima-se que as perdas ocasionadas pela interferência das plantas daninhas, no Brasil, sejam em torno de 20 a 30 % (Lorenzi, 1994) e 58,2% segundo Goellner (1993). Além da redução quantitativa da produção, o produto colhido pode ser qualitativamente depreciado pela contaminação com sementes e com restos culturais de plantas daninhas (Lorenzi, 1994).

Entre as principais plantas daninhas das culturas de verão, no Sul do Brasil, estão: *Amaranthus* spp., *Bidens pilosa* L., *Brachiaria* spp., *Digitaria* spp., *Eleusine indica* (L.) Gaertn., *Euphorbia heterophylla* L., *Ipomea* spp., *Portulaca oleracea* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Richardia brasiliensis* Gomez, *Sida* spp. e *Solanum americanum* Mill (Reunião, 1993).

A planta daninha *Euphorbia heterophylla* L. (Família Euphorbiaceae), é conhecida como amendoim - bravo, leiteira ou leiteiro. A palavra *heterophylla* - do grego "heteros" = diferente e "phyllon" = folha, refere-se as diferentes formas morfológicas das folhas apresentadas pelos indivíduos de uma comunidade. É uma planta anual, ereta, com abundante formação de látex branco, de 30 a 80 cm de altura, de folhas glabras ou levemente pubescentes, de forma bastante variável, de 4 a 10 cm de comprimento, possui raiz pivotante e, infesta principalmente culturas de verão como soja, milho e feijão. Reproduz-se por sementes, que se mantêm viáveis por vários anos e emergem de profundidades que variam de 4 a 12 cm (Cerdeira e Voll, 1980; Mikusinski-Costa e Silva, 1984). O estímulo para germinação ocorre através de intensidades alternadas de luz e de temperatura (Kissmann e Groth, 1992; Lorenzi, 1994).

O leiteiro é uma planta de difícil controle devido a tolerância que apresenta a maioria dos herbicidas disponíveis. Por isto, tem sido usado no seu controle os

herbicidas mais caros, o que contribui para aumentar o custo de produção da soja (Mikusinski-Costa e Silva, 1984).

No entanto, a planta é suscetível a várias doenças que a infectam naturalmente, como o mosaico (*Euphorbia Mosaic Virus* - EMV), a ferrugem (*Uromyces euphorbiae*), a verrugose (*Sphaceloma krugii*), a mancha foliar de *Helminthosporium* (*Bipolaris euphorbiae*), o cancro de *Alternaria* (*Alternaria* sp.), a podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) e o oídio (*Microsphaera euphorbiae*). As plantas infectadas por estes patógenos apresentam menor peso seco, 35 a 55%, segundo Café Filho et al., 1987. De acordo com o mesmo autor, entre os fungos de ocorrência natural em leiteiro, o que causa maiores danos às plantas em condições naturais é *B. euphorbiae*. Yorinori (1985) e Yorinori e Gazziero (1989), relataram, também, que o fungo *B. euphorbiae* é capaz de causar significativa redução da massa verde de plantas do gênero *Euphorbia*.

A utilização de fungos para o controle biológico de plantas daninhas ou efeito micoherbicida (Templeton et al., 1979), pode envolver a ação de toxinas produzidas no processo de infecção. Neste caso os sintomas se manifestam através da necrose das folhas e dos caules. Dependendo da severidade do dano causado pela toxina, poderá ocorrer redução no crescimento, desfolhamento total ou parcial e até a morte da planta (Gazziero e Yorinori, 1993).

As práticas culturais, capinas, rotação de culturas, competição da planta cultivada, os herbicidas químicos Imazetapir, Imazaquim e Clorimurrom-etilico + Diuron (Reunião, 1993) e ainda o controle biológico são as opções tecnológicas existentes para o controle de plantas daninhas (McWhorter e Chandler, citados por Charudattan, 1993).

Para o desenvolvimento de um micoherbicida, é necessário determinar-se qual a concentração ideal de esporos para ser usado em testes de campo. A densidade ideal é aquela que numa baixa concentração de esporos provoque um efeito tal no hospedeiro que impeça a sua competição com a planta cultivada. Um micoherbicida que exija uma alta concentração de esporos dificilmente teria sucesso no seu desenvolvimento.

O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver trabalhos básicos com o fungo *B. euphorbiae*, visando o controle biológico das plantas de leiteiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e em casa-de-vegetação da Faculdade de Agronomia da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo - RS, no período de julho de 1994 a julho de 1995.

Folhas de leiteiro, com sintomas do tipo mancha foliar foram coletadas no campo experimental da Faculdade de Agronomia. Deu-se preferência à folhas não senescentes que apresentavam-se com lesões características da doença.

Em laboratório, procedeu-se o isolamento do fungo a partir do tecido vegetal infectado, seguindo-se a metodologia descrita por Fernandez (1993). O tecido infectado foi cortado em pedaços de no máximo 2 mm de diâmetro e imerso em hipoclorito de sódio comercial a 1%, durante 2 a 3 minutos para a desinfestação. Logo após, as porções de tecido infectado foram colocadas em água destilada esterilizada para retirar o excesso de hipoclorito e, então, colocados sobre papel de filtro esterilizado para secagem. Utilizando-se uma pinça esterilizada, colocou-se cinco pedaços dispostos, equidistantemente, em cada placa de Petri, com diâmetro de 9 cm, contendo meio batata-sacarose-ágar (BSA) + o antibiótico (A) quemisetina, a fim de obter-se colônias puras do patógeno. Preparou-se cinco placas de Petri, com 9 cm de diâmetro, totalizando 25 pedaços de tecido foliar infectado.

Após o plaqueamento, as placas foram incubadas à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob as seguintes condições luminosas: alternância de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. No interior da câmara de crescimento a fonte luminosa consistiu de 3 tubos fluorescentes General Electric de 40 watts, luz do dia, r 40 ID distantes 45 cm da superfície das placas. O material foi incubado por um período em torno de 7 a 10 dias, para induzir a esporulação do fungo.

Após o desenvolvimento de colônias puras do fungo, foi feita a sua repicagem e manutenção em colônias estoques. Para isto, foram repicados, das

placas de Petri, pedaços do meio contendo a cultura pura, para tubos de ensaio com 15 cm de altura x 1,5 cm de diâmetro, contendo meio BSA + A. Após a incubação para o desenvolvimento do fungo, feita conforme metodologia descrita anteriormente, os tubos foram mantidos em geladeira a 4°C.

O aumento do inóculo foi feito através de repicagens de porções das colônias do patógeno, obtidas a partir dos tubos de ensaio, para o centro das placas de Petri em meio BSA + A e incubadas conforme metodologia descrita anteriormente.

Após a esporulação do fungo, realizou-se o preparo da suspensão de inóculo em diferentes concentrações. Para isso, acrescentou-se um volume conhecido de água esterilizada (40 ml) à cada placa de Petri com o patógeno. Os esporos do fungo foram removidos raspando-se o substrato com pincel de pelo de camelo nº 8, até se obter um volume suficiente de esporos em suspensão. A suspensão foi transferida para um copo de Becker de 150 ml, filtrando-se através de 4 camadas de gaze.

Para determinar-se a concentração de esporos depositou-se uma gota da suspensão, com volume conhecido, sobre uma lâmina de microscopia e após colocou-se sobre esta a lamínula. A contagem dos esporos foi feita sob microscópio, através da varredura de toda a área da lamínula, 7,68 cm² (24 x 32 mm). O volume de uma gota da suspensão foi determinado utilizando-se uma pipeta de 1 ml (1/100). Para determinar-se o volume médio de uma gota, verteu-se dez gotas da suspensão de esporos e calculou-se a média do volume total gasto (Ex.: 0,4 ml / 10 = 0,04 ml).

Realizada a contagem dos esporos, calculou-se a concentração por ml de água e, então, ajustou-se a suspensão, em cada tubo de ensaio, com volume total de 20 ml, para as concentrações desejadas.

Estudos sobre níveis de inóculo de *B. euphorbiae* em plantas de leiteiro

Inicialmente, utilizou-se as seguintes concentrações de esporos suspensos em água: 0 (Testemunha), 5, 10, 15, 20 e 25 x 10³ esporos/ml de água.

As plantas de leiteiro foram obtidas através da semeadura de sementes em bandejas com 46 x 30 x 10 cm de altura, contendo como substrato solo e composto

orgânico na proporção de 2:1. Decorridos em torno de 15 dias, transplantou-se duas plantas por vaso. Utilizou-se recipientes plásticos com 15 cm de altura por 10 cm de diâmetro, contendo o mesmo substrato.

A inoculação do fungo, foi feita através da pulverização uniforme das plantas, com altura aproximada de 20 cm, com um atomizador manual marca De Wilbs. Afim de evitar que os esporos se acumulassem no fundo dos tubos de ensaio, os mesmos foram agitados manualmente, durante alguns segundos, antes de proceder-se a inoculação. Acrescentou-se à suspensão de esporos uma gota de agente dispersante (Tween 20), para permitir melhor cobertura das folhas pela suspensão.

Para fornecer condições ideais para a germinação dos esporos e a penetração do fungo, as plantas inoculadas foram mantidas em câmaras úmidas, obtidas através da sua proteção com um saco plástico transparente (80 x 50 cm), previamente umedecido internamente com água. As plantas assim preparadas foram mantidas em câmara de crescimento do tipo FANEM, modelo 347F com temperatura de 20°C, por um período de 24 horas após a inoculação.

Na avaliação, foram examinadas 5 folhas de cada planta, previamente marcadas, com barbante no pecíolo, totalizando-se 30 folhas por tratamento. A quantificação dos sintomas foi baseada na severidade da doença, ou seja, na área foliar necrosada, expressa em porcentagem e determinada visualmente (Federation, 1973).

A severidade da doença, foi expressa em notas, conforme Tabela abaixo:

NOTA	SEVERIDADE (%)
1	0 - 1
2	2 - 25
3	26 - 50
4	51 - 75
5	76 - 100

Como as concentrações usadas neste experimento foram muito altas, determinando uma severidade elevada da doença e difícil de ser avaliada, utilizou-se

concentrações menores. Neste ensaio, empregou-se a mesma metodologia do experimento anterior, porém, com o inóculo nas seguintes concentrações: 0 (Testemunha), 1, 2, 3, 4 e 5 x 10³ esporos/ml de água.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições. A unidade experimental constou de um vaso com duas plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Influência de fontes de carbono na germinação de conídios de *B. euphorbiae*

Uma das dificuldades práticas enfrentadas no desenvolvimento de um micoherbicida é a necessidade do período de molhamento contínuo longo para ocorrer a infecção. O desenvolvimento de técnicas que possibilitem a germinação rápida dos esporos é pois desejável. Isto pode contribuir para reduzir a duração do período de molhamento requerido à infecção e mais facilmente viabilizar o uso prático de micoherbicidas.

Neste experimento, empregaram-se as seguintes fontes de carbono na concentração de 2% em água: dextrose, glicose, maltose e sacarose, além da testemunha (água). A suspensão de esporos usada neste experimento foi obtida com a mesma metodologia descrita anteriormente. Uma gota da suspensão de esporos, na respectiva fonte de carbono, foi depositada sobre uma lâmina de microscopia flambada e coberta com uma lamínula esterilizada. As lâminas, assim preparadas, foram colocadas sobre um suporte de vidro em forma de "v", contido em placa de Petri, com diâmetro de 14 cm, contendo papel filtro saturado de água. As placas de Petri foram mantidas em câmara de crescimento tipo FANEM, modelo 347F, à temperatura de 20°C.

As avaliações foram realizadas 1, 2, 4, 6, 8 e 10 horas após o preparo das suspensões. Efetuou-se a contagem de 100 conídios em cada lâmina determinando-se a porcentagem de esporos germinados. Considerou-se como germinado o esporo cujo tubo germinativo apresentava comprimento igual ou superior à maior largura do esporo.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. A unidade experimental constou de uma lâmina. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito de concentrações de sacarose na germinação de conídios de *B. euphorbiae*

Visando otimizar a germinação de esporos estudou-se o efeito da concentração de sacarose na germinação dos conídios de *B. euphorbiae*. Para isso utilizou-se as concentrações de 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0% em água. Cada uma das concentrações de sacarose, foram acrescentadas individualmente à placas de Petri com a cultura esporulante do patógeno. A suspensão de esporos usada foi obtida utilizando-se a mesma metodologia descrita anteriormente. A suspensão foi transferida para um copo de Becker de 150 ml, filtrando-se através de 4 camadas de gaze. Preparou-se, para cada concentração, uma lâmina segundo metodologia descrita no experimento anterior. A contagem foi realizada 10 horas após o preparo da suspensão devido à maior germinação do experimento anterior ter ocorrido neste intervalo de tempo. As avaliações foram feitas utilizando-se a mesma metodologia do ensaio anterior.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. A unidade experimental constou de uma lâmina. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito da temperatura na germinação de conídios de *B. euphorbiae*

O processo de infecção de fungos é governado, principalmente, pela interação da duração do período de molhamento contínuo da superfície foliar com a

temperatura média neste período (Zadoks e Schein, 1969). É pois necessário conhecer-se o efeito da temperatura na germinação do patógeno a ser usado como micoherbicida.

Para determinar-se o efeito da temperatura na germinação de conídios de *B. euphorbiae* utilizou-se a concentração de 2% de sacarose e as temperaturas de 10, 15, 20, 25 e 30°C em câmara de crescimento do tipo FANEM, modelo 347F. A metodologia utilizada no preparo da suspensão de esporos, das unidades experimentais, e da avaliação foi a mesma descrita anteriormente.

Influência de meios de cultura e de regimes luminosos no crescimento vegetativo e na esporulação de *B. euphorbiae*

No desenvolvimento de um micoherbicida, também, devem ser desenvolvidas técnicas para a produção rápida e com o menor custo, de grande quantidade de inóculo. Com este propósito estudou-se o efeito de diferentes meios de cultura no crescimento micelial e na produção de esporos de *B. euphorbiae*. foram utilizados os seguintes meios de cultura: meio BDA (batata - 200 g, dextrose - 20 g, ágar - 20 g, água destilada q.s.p. - 1.000 ml); meio MA (extrato de malte - 20 g, ágar - 20 g, água destilada q.s.p. - 1.000 ml); meio FAA (aveia - 100 g, ágar - 18 g, água destilada q.s.p. - 1.000 ml); meio FMA (farinha de milho - 60 g, ágar - 18 g, água destilada q.s.p. - 1.000 ml)(Sourcebook, 1967; Tuite, 1969; Kiraly, 1974); meio de Reis (benomil - 50 mg em 100 ml de água destilada, sulfato de estreptomicina - 500 mg em 100 ml de água destilada, sulfato de neomicina - 300 mg em 100 ml de água destilada, captam (solução estoque = 133,33 mg (75% pm) em 100 ml de água destilada) - 3 ml, botram (= dicloram) (solução estoque = 200 mg (50% pm) em 100 ml de água destilada) - 5 ml, ágar - 10 g, batata - 15 g, sacarose - 2,5 g, água destilada - 700 ml)(Reis, 1983); meio FTA (farinha de trigo - 50 g, ágar - 18 g, água destilada q.s.p. - 1.000 ml); meio BSA (batata - 200 g, sacarose - 20 g, ágar - 20 g, água destilada q.s.p. - 1.000 ml)(Fernandez, 1993).

Após o preparo, os meios foram vertidos em placas de Petri, com diâmetro de 9 cm e deixados para solidificar.

No passo seguinte, colocou-se um disco de meio de cultura contendo micélio e esporos de *B. euphorbiae*, com 0,4 cm de diâmetro, obtido com furador de rolha esterilizado, no centro de cada placa de Petri. Após o plaqueamento, as placas foram incubadas na sala de crescimento à temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas. A fonte luminosa consistiu de 3 tubos fluorescentes General Electric de 40 watts, luz do dia, r 40 ID e distantes em 45 cm da superfície das placas. Foram separados compartimentos para luz contínua e fotoperíodo de 12 horas na sala de crescimento, sob as mesmas condições de temperatura. O escuro foi obtido pelo envolvimento das placas de Petri com folhas de alumínio.

As avaliações do crescimento micelial foram realizadas diariamente, até que o crescimento da colônia alcançasse as bordas da placa de Petri, no meio que propiciou o desenvolvimento mais rápido. Mediu-se o crescimento da colônia, em cm, e procedeu-se a contagem do número de esporos em discos de diâmetro de 1,8 cm para colônias bem desenvolvidas e 0,4 cm para colônias pouco desenvolvidas. Para isto, os conídios foram removidos por lavagem com água e pincelamento superficial dos discos da colônia, procurando-se remover apenas esporos. O número de esporos foi obtido através da contagem de uma gota de volume conhecido. Foram procedidas quatro contagens por repetição.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. A unidade experimental constou de uma placa de Petri. Foram utilizados os dados não transformados para o crescimento micelial, e transformados em $\log(x + 1)$ para a esporulação e, submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Patogenicidade de *B. euphorbiae* em espécies vegetais de verão e de inverno

Como abordado por Inman (1971), o patógeno usado como micoherbicida deve atingir somente a espécie alvo do controle. Por isso, realizou-se a prova de patogenicidade nas principais culturas regionais.

Os testes de patogenicidade de *B. euphorbiae*, conduzidos em casa-de-vegetação, nas culturas de verão: *Glycine max* L. Merrill, *Sorghum bicolor* (L.) Moench e *Zea mays* e de inverno: *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L. e *X Triticosecale* Wittmack. Para isso, semeou-se 10 sementes por vaso, com 15 cm de altura por 10 cm de diâmetro contendo solo e composto orgânico na proporção de 2:1, desbastando-se, após a emergência, para 8 plantas por vaso. No teste foi usado três concentrações de esporos (água, 5×10^3 e 10^4 esporos/ml de água) aplicadas nas 8 espécies vegetais. Utilizou-se a concentração de 5×10^3 esporos/ml como a padrão e 10^4 esporos/ml, para maior garantia no teste. A inoculação foi efetuada com as plantas no estágio de 2 a 4 folhas, aplicando-se água + esporos, além de um espalhante adesivo (Triton X-100) com um aspersor manual. As plantas foram mantidas em ambiente úmido por um período de 24 horas à temperatura ambiente (10 - 25°C). Após 7 dias de incubação, efetuou-se a avaliação visual do efeito dos tratamentos sobre as plantas.

Interação entre a duração do molhamento foliar contínuo (MFC) e a temperatura na severidade da doença

Foram estudadas as interações entre a duração do molhamento foliar contínuo (MFC) e a temperatura. O experimento foi conduzido em várias etapas, uma para cada temperatura: 5, 10, 15, 20, 25 e 30°C, em seis diferentes durações do MFC. Procedeu-se a inoculação com as plantas, em número de duas por vaso, no estágio de 2 a 4 folhas, aplicando-se água + esporos, além de um espalhante adesivo (Triton X-100) com um aspersor manual. As plantas foram mantidas em ambiente úmido por um período de 24 horas em incubadora do tipo FANEM, modelo 347F, com o tempo de duração do molhamento desejado. Após, foi retirada a cobertura plástica e os vasos

com as plantas mantidos à temperatura ambiente do laboratório (15 - 25°C). As avaliações foram feitas 24 horas após, através da avaliação visual, descrita anteriormente.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições. A unidade experimental constou de um vaso com duas plantas.

Efeito de concentrações de conídios de *B. euphorbiae* aplicados em forma de gota sobre folhas de leiteiro

Na tentativa de avaliar-se a presença ou não de toxina(s), estudou-se o efeito de diferentes concentrações de conídios aplicados na forma de gotas, contendo suspensão de esporos em diferentes concentrações, sobre folhas do hospedeiro. Para isto, suspensões de 1, 2, 3, 4 e 5 x 10³ esporos/ml foram obtidas utilizando-se a mesma metodologia descrita anteriormente, além de uma Testemunha (água). Uma gota de cada concentração foi aplicada por folha, de um total de vinte, previamente marcadas. As plantas, após inoculação, foram mantidas em ambiente úmido à temperatura ambiente do laboratório (15 - 25°C), por 24 horas. As avaliações foram realizadas visualmente, baseando-se no número de lesões por folha.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 20 repetições. A unidade experimental constou de uma folha.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo sobre níveis de inóculo de *B. euphorbiae* em plantas de leiteiro

Os resultados do efeito de diferentes concentrações de *B. euphorbiae* sobre a severidade dos sintomas em plantas de leiteiro, estão contidos nos Tabelas 1 e 2.

TABELA 1. Efeito de concentrações de conídios de *Bipolaris euphorbiae* sobre plantas de leiteiro

CONCENTRAÇÕES	SEVERIDADE
25 x 10 ³	4,5 a
20 x 10 ³	4,5 a
15 x 10 ³	4,6 a
10 x 10 ³	3,1 b
5 x 10 ³	3,1 b
Testemunha	1,0 c
CV (%)	20,25

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

Pode-se observar que as concentrações de 15, 20 e 25 x 10³ esporos/ml apresentaram uma severidade extremamente alta sobre plantas de leiteiro, não diferindo estatisticamente entre si. As concentrações de 5 e 10 x 10³ esporos/ml constituíram um segundo grupo, no entanto, todas foram superior estatisticamente à testemunha. Devido a isso, pode-se deduzir que o fungo *B. euphorbiae* possui alta agressividade sobre as plantas de *E. heterophylla*.

As avaliações ficaram dificultadas neste ensaio porque as folhas não apresentaram lesões individualizadas características da doença, e sim perda da turgescência e descoloração. Com aproximadamente 48 horas, nas maiores concentrações começaram a cair. Isto revela que as concentrações utilizadas foram muito altas.

Devido a esse inconveniente, testou-se em novo experimento concentrações menores. A concentração mais elevada foi a de 5 x 10³ esporos/ml.

No Tabela 2, mostra-se os efeitos de concentrações menores de conídios de *B. euphorbiae* na severidade da doença.

TABELA 2. Efeito de concentrações de conídios de *Bipolaris euphorbiae* sobre plantas de leiteiro

CONCENTRAÇÕES	SEVERIDADE
5 x 10 ³	2,7 a
4 x 10 ³	2,3 a
3 x 10 ³	2,1 a
2 x 10 ³	2,0 b
1 x 10 ³	1,8 b
Testemunha	1,0 c
CV (%)	18,45

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

A maior severidade da doença foi obtida com a concentração de 5 x 10³ conídios/ml. Entretanto, esta não diferiu estatisticamente das concentrações 3 e 4 x 10³ conídios/ml. A menor severidade foi obtida com a concentração de 1 x 10³ conídios/ml, não tendo, no entanto, diferido estatisticamente da 2 x 10³ conídios/ml. Apesar disso, e das dificuldades na avaliação escolheu-se para uso em ensaios futuros a concentração de 5 x 10³ conídios/ml. Esta densidade pode ser considerada baixa em relação a trabalhos realizados por Gazziero e Yorinori (1993), onde obtiveram como ideal a concentração de 2 a 4 x 10⁵ esporos/ml. Novamente, neste experimento, as avaliações ficaram dificultadas porque as folhas não apresentaram lesões individualizadas e sim perda da turgescência e descoloração.

Como observado no primeiro experimento, toxina(s) podem estar envolvidas na patogênese ou tratar-se de reação de hipersensibilidade do hospedeiro como abordado por Daly (1976) e Fuchs (1976).

Neste trabalho, com concentrações menores do que as utilizadas por Gazziero e Yorinori (1993) obteve-se severidade semelhante da doença o que pode indicar uma maior agressividade do isolado usado nesta investigação.

Em trabalhos realizados por outros autores (Yang, Johnson, Dowler, 1990; Boyette, 1991; Cartwright e Templeton, 1992; Mintz, Heinz, Weidemann, 1992).

utilizando diferentes patógenos com potencial para o controle biológico de plantas daninhas, as concentrações de conídios foram superiores a 1×10^4 , o que é mais alto do que a concentração utilizada neste trabalho.

Em relação ao efeito de concentrações de *B. euphorbiae* sobre as plantas de leiteiro, a doença foi igualmente severa em plantas de todas as idades, o que diverge dos resultados obtidos por Gomes e Dianese (1987), que observaram que a intensidade foi maior, principalmente, em plantas jovens nos estádios de 4 a 5 folhas. Reforça-se que, provavelmente, a agressividade do isolado utilizado neste trabalho seja diferente do usado por aqueles autores.

Influência de fontes de carbono na germinação de conídios de *B. euphorbiae*

A germinação de esporos de fungos é influenciada por vários fatores, entre os quais destacam-se a luz, a temperatura, o pH, a aeração do substrato e a nutrição (Tuite, 1969).

A germinação de conídios de *B. euphorbiae* foi influenciada pelas fontes de carbono, como pode-se observar no Tabela 3. Num primeiro grupo estatístico ficaram agrupadas como fontes de carbono a sacarose, a dextrose e a maltose, não diferindo estatisticamente entre si. Em um segundo grupo, iguais estatisticamente, situaram-se a dextrose, a maltose, a glicose e a água. A sacarose foi superior estatisticamente a glicose e água, destacando-se como principal fonte de carbono, em relação a germinação de conídios de *B. euphorbiae*, pois a dextrose e maltose apresentaram-se semelhantes à água. Portanto, a sacarose foi a fonte de carbono na qual ocorreu a maior germinação de conídios de *B. euphorbiae*.

Em trabalhos realizados com o fungo *Pyrenochaeta terrestris*, realizados por Camargo e Kimati (1992) e Hawker, citado por Camargo e Kimati (1992), relataram que os efeitos da sacarose e da maltose são semelhantes ao da glicose. Entretanto, isto não pode ser generalizado, pois os dados obtidos no presente trabalho não suportam aquela afirmativa. A resposta de germinação frente a fontes de carbono deve variar entre as espécies de fungos testados.

A sacarose, como a fonte de carbono para *B. euphorbiae*, além de promover a maior germinação também apresenta como vantagem o menor custo, pois pode ser utilizado o açúcar comum de cozinha na produção de grande quantidade de inóculo.

A principal vantagem em obter-se uma aceleração da germinação de esporos, consiste no fato de permitir uma penetração mais rápida do fungo, requerendo com isto, um menor período de molhamento contínuo dos órgãos suscetíveis. Este é o principal fator que limita o sucesso da aplicação de esporos de *B. euphorbiae* no campo, em estabelecer o patógeno na cultura alvo do controle.

TABELA 3 - Germinação de conídios de *Bipolaris euphorbiae* submetidos a diferentes fontes de carbono

Substrato	Germinação (%)
1. Sacarose 2%	60,75 a
2. Dextrose 2%	48,00 ab
3. Maltose 2%	45,75 ab
4. Glicose 2%	25,50 b
5. Água destilada	25,00 b
CV (%)	25,93

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

Efeito de concentrações de sacarose, diluída em água, na germinação de conídios de *B. euphorbiae*

Com relação aos efeitos de concentrações de sacarose na germinação de conídios de *B. euphorbiae* pode-se observar na Figura 1, que o maior percentual de germinação de conídios de *B. euphorbiae*, pelo cálculo da regressão, ocorre entre as concentrações de 3 e 4% de sacarose. Esta seria, portanto, a faixa desejável de concentração, desta fonte de carbono, para usos futuros no desenvolvimento de um micoherbicida.

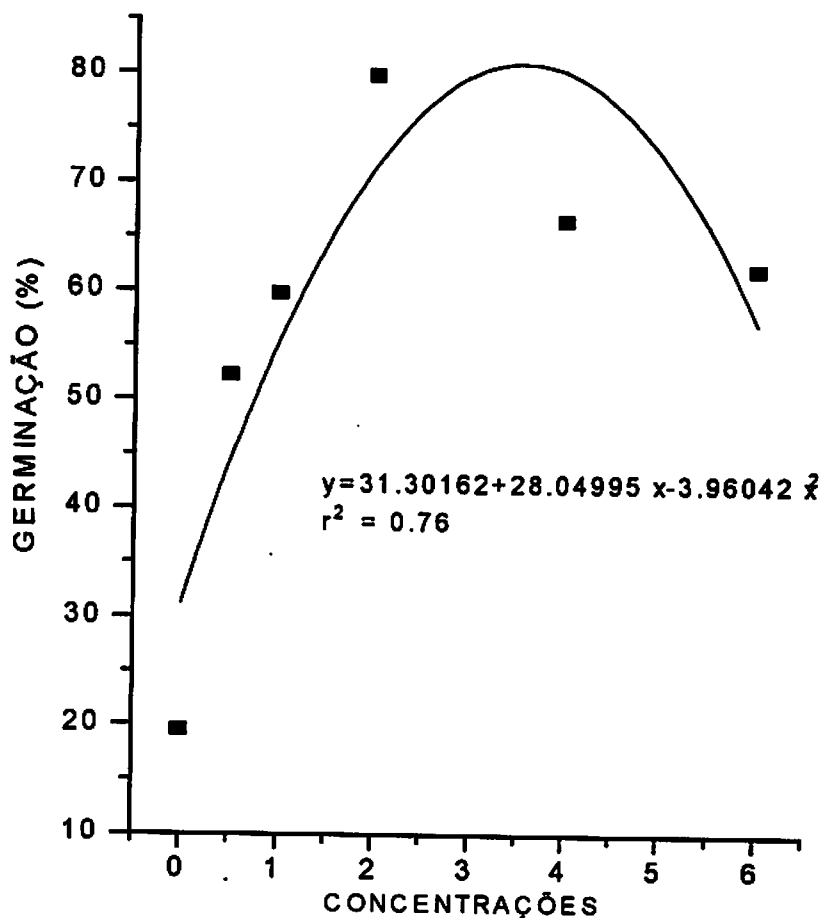


Figura 1. Efeito de concentrações de sacarose, diluída em água, na velocidade de germinação de conídios de *Bipolaris euphorbiae*.

Efeito de temperaturas na germinação de conídios de *B. euphorbiae*

A temperatura tem efeito marcante na velocidade de germinação de esporos, conforme abordado por Massola e Bedendo (1993).

A temperatura teve efeito sobre a germinação de conídios de *B. euphorbiae*, ficando evidenciada a maior porcentagem de germinação nas temperaturas entre 15 e 25°C (Tabela 4). Observou-se a tendência de redução da germinação dos conídios com temperaturas ≤ 10 e ≥ 30 °C. Massola e Bedendo (1993)

citam como temperatura ideal ao desenvolvimento de *Helminthosporium oryzae* a temperatura de 27°C, próxima à 25°C obtida no presente trabalho. Em geral, *Bipolaris* spp. ocorrem em regiões de clima quente (Ellis, 1971).

TABELA 4 - Efeito da temperatura na germinação de conídios de *B. euphorbiae*, em sacarose a 2%

Temperatura (°C)	Germinação (%)
10	53,70 b
15	81,50 a
20	79,75 a
25	80,75 a
30	56,25 b
CV (%)	14,30

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

Devido às condições climáticas reinantes durante o desenvolvimento das espécies de verão estarem nas faixas de temperatura entre 20 a 25°C (Tubelis e Nascimento, 1992), os resultados obtidos neste experimento demonstram que a temperatura não deve ser um fator limitante a utilização de *B. euphorbiae* para controle de leiteiro.

Influência de meios de cultura e de regimes luminosos no crescimento vegetativo e na esporulação de *B. euphorbiae*

O crescimento micelial do fungo foi influenciado pela composição do meio de cultura e pelo regime luminoso (Tabela 5). Considerando o diâmetro de colônia medido aos 6 dias após a transferência, foi verificado o menor desenvolvimento do patógeno no meio de Reis, enquanto que o maior diâmetro de colônia ocorreu nos meios de FTA, de BDA e de FAA.

Em relação ao regime luminoso os efeitos marginais (Tabela 5), mostraram que o maior crescimento ocorreu sob escuro contínuo, posicionando-se em segundo lugar o fotoperíodo de 12 horas, o qual por sua vez, também, diferiu estatisticamente da luz contínua.

Os maiores crescimentos miceliais ocorreram nos meios de FTA, de BDA, de FAA e de MA, seguidos pelos meios de BSA e de FMA, sob o regime de escuro contínuo. O menor crescimento micelial no regime de escuro contínuo e, também, no regime de fotoperíodo de 12 horas, ocorreu com o meio de Reis só não sendo superado pelo meio de BSA no último regime luminoso.

Com relação ao regime de fotoperíodo 12 horas, os meios de FTA, de BDA, de FAA e de FMA foram os que apresentaram o maior crescimento micelial, sendo que o meio de BDA apresentou-se semelhante ao de MA.

Massola e Bedendo (1993), relatam que o regime luminoso não afetou o crescimento micelial do fungo *Helminthosporium oryzae* em meio de BDA, o que diverge dos resultados obtidos neste trabalho. Observa-se, assim, que existem diferenças em resposta à luz, dentro das espécies de *Bipolaris*.

TABELA 5 - Efeito de meios de cultura e de regimes luminosos no crescimento micelial de *Bipolaris euphorbiae*.

Substratos	Crescimento Micelial (mm)			Médias
	Regimes Luminosos			
	Luz Contínua	Escuro Contínuo	Fotoperíodo 12 horas	
1. FTA	C 7,26 a	A 80,42 a	B 37,90 a	44,69 a
2. BDA	C 7,23 a	A 78,25 a	B 31,85 ab	39,11 ab
3. FAA	C 6,04 a	A 78,00 a	B 36,50 a	36,16 ab
4. BSA	C 7,76 a	A 56,48 b	B 17,52 cd	29,67 bc
5. MA	C 5,80 a	A 56,25 a	B 21,46 bc	24,47 c
6. FMA	C 7,18 a	A 52,17 b	B 35,67 a	29,81 bc
7. Reis	C 2,84 a	A 15,00 c	B 7,12 d	8,45 d
Médias	C 7,34	A 58,78	B 26,74	

CV = 19,75%

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si ao nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

FTA = farinha de trigo-ágar; BDA = batata-dextrose-ágar; FAA = farinha de aveia-ágar; BSA = batata-sacarose-ágar; MA = malte-ágar; FMA = farinha de milho-ágar; Reis = meio seletivo.

Na média geral, o maior desenvolvimento micelial de *B. euphorbiae* ocorreu nos substratos de FTA, de BDA e de FAA. Porém, os meios de BDA e de FAA não diferiram estatisticamente dos meios de BSA e de FMA. Num terceiro grupo, encontram-se os meios de BSA, de MA e de FMA, enquanto que no meio de Reis ocorreu, estatisticamente, o menor crescimento micelial.

Os resultados dos efeitos de meios de cultura e do regime luminoso na esporulação de *B. euphorbiae* encontram-se no Tabela 6.

TABELA 6 - Efeitos de meios de cultura e do regime luminoso na esporulação de *Bipolaris euphorbiae*

Substrato	Conídios (nº/cm ²)								
	Regime luminoso								
	Luz contínua			Escuro contínuo			Fotoperíodo 12 horas		
1. FTA	AB	18,79	cd	B	2,98	d	A	30,64	bc
2. BDA	A	99,11	bc	A	175,25	bc	A	216,19	ab
3. MA	B	1,56	d	A	1.063,09	b	A	735,06	a
4. FMA	A	49,57	bc	A	97,68	bc	A	12,51	c
5. FAA	A	49,57	bc	B	1,56	d	AB	14,33	c
6. BSA	A	268,64	b	B	18,79	cd	A	165,14	abc
7. Reis	B	5.536,63	a	A	45.193,25	a	C	627,01	a

CV = 25,71%

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si ao nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

FTA = farinha de trigo-ágar; BDA = batata-dextrose-ágar; FAA = farinha de aveia-ágar; BSA = batata-sacarose-ágar; MA = malte-ágar; FMA = farinha de milho-ágar; Reis = meio seletivo.

A interação entre meios de cultura e regimes luminosos foi significativa a 5% de probabilidade, por isso, neste Tabela não constam os efeitos marginais.

Os resultados obtidos, mostraram que a esporulação de *B. euphorbiae* foi influenciada pelo regime luminoso e pelos meios de cultura empregados, o que concorda com os relatos de Nakamura (1975), o qual encontrou correlação semelhante quanto ao efeito interativo da luminosidade e do meio de cultura.

Observa-se no Tabela 6, que quando submetido aos regimes de luz contínua e de escuro contínuo a maior esporulação de *B. euphorbiae* ocorreu no meio de Reis. Quanto ao efeito do fotoperíodo na esporulação observou-se que tanto o meio de Reis, como o de MA, o de BDA e o de BSA não diferiram estatisticamente entre si. Uma possível explicação para o fato da elevada esporulação no escuro contínuo é encontrada nos relatos de Aragaki (1962) e Trione e Leach (1969), segundo os quais, não é o escuro que estimula a esporulação, mas sim, a ausência de certos

comprimentos de onda na região do azul e do violeta que inibem a produção de esporos.

Posicionaram-se, intermediariamente, sob escuro contínuo os seguintes meios de cultura: BDA, MA e FMA. A menor esporulação ocorreu nos meios de cultura FTA, FAA e BSA.

No geral, o meio de cultura de Reis foi o que propiciou a maior produção de esporos, sob luz contínua, constituindo um grupo significativamente distinto dos demais tratamentos. Posicionaram-se, intermediariamente, os seguintes meios de cultura: BDA, FMA, FAA e BSA. Os meios de cultura nos quais ocorreu a menor esporulação de *B. euphorbiae* foram: FTA e MA.

Os resultados aqui obtidos discordam, em parte, dos obtidos por Leach (1961). Segundo este autor, em relação a *Helminthosporium oryzae*, houve a ausência de conídios quando a incubação foi realizada na luz ou no escuro contínuos. Do exposto, pode inferir-se que, mesmo dentro de um gênero, a resposta das espécies à luz é diferente para cada uma.

Como o meio que apresentou o menor crescimento micelial foi o que apresentou a maior esporulação não procedeu-se a análise de correlação entre os fatores crescimento micelial e esporulação.

O meio de BSA foi usado neste trabalho, antes de serem geradas estas informações, por ser um meio de cultura de baixo custo. Sempre foi utilizado sob o regime luminoso de fotoperíodo de 12 horas, o que propiciou esporulação suficiente, de acordo com os dados do Tabela 6.

Patogenicidade de *B. euphorbiae* em espécies vegetais de verão e inverno

No desenvolvimento de um micoherbicida é fundamental conhecer-se a gama de plantas suscetíveis ao patógeno em estudo, como abordado por Weidmann e Tebeest (1990) e Souza (1991). Por outro lado, Souza (1991), cita que, o desconhecimento da gama de plantas suscetíveis ao fungo usado como micoherbicida é uma ameaça à agricultura, por não existir garantia absoluta de segurança no seu

uso. Por isto, o passo seguinte foi testar-se a reação das principais espécies vegetais cultivadas na região, para determinar o grau de especificidade do fungo *B. euphorbiae*.

O fungo *B. euphorbiae* mostrou alta especificidade, não produzindo sintomas nas espécies vegetais de verão: *Glycine max* L. Merrill, *Sorghum bicolor* (L.) Moench e *Zea mays* e de inverno: *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L. e *X Triticosecale* Wittmack. Desta forma, o desenvolvimento de um micoherbicida à base de *B. euphorbiae*, patógeno alvo deste estudo, pode ser considerado seguro pelo menos em lavouras com as espécies testadas.

Por outro lado, se for utilizado em outras espécies vegetais não avaliadas neste trabalho, deveria ser verificada sua patogenicidade sobre aquelas espécies.

Interação entre a duração do molhamento foliar contínuo e a temperatura na severidade da doença

Não foi possível medir-se os efeitos da interação entre a duração do molhamento foliar contínuo e a temperatura na severidade da doença. O experimento foi repetido três vezes, devido as dificuldades de avaliações, e apresentou, em todas as temperaturas e horas de molhamento, uma queima das folhas, do sentido das bordas para o centro. No período de 24 horas após a aplicação do fungo, as folhas apresentavam-se com sintomas cloróticos, enrugadas e murchas, e no momento da avaliação, com o mínimo toque as mesmas caíam. Deduziu-se ser motivado por provável efeito de toxina(s), liberada(s) pelo fungo no momento do preparo da suspensão de inóculo. Yang, Johnson e Dowler (1990) relatam o efeito de fitotoxinas produzidas por *Alternaria angustiovoidea* causando sintomas cloróticos e murcha em folhas de *E. esula*, o que pode estar relacionado com a causa dos sintomas descritos anteriormente.

Por isto, não descarta-se a possibilidade de que possa estar atuando uma toxina do fungo, dificultando os trabalhos de inoculação como os descritos nos experimentos 1 e 2.

Em todos os experimentos de inoculação teve-se dificuldades na reprodução dos sintomas do tipo lesão, verificada no campo. Isto pode ser atribuído ao efeito de toxina(s) na reação de plantas de leiteiro ou à reação de hipersensibilidade (Daly, 1976; Fuchs, 1976).

Efeito de concentrações de conídios de *B. euphorbiae* aplicados em forma de gota sobre folhas de leiteiro

Nesta fase procurou-se esclarecer o possível envolvimento de toxina(s) ou reação de hipersensibilidade, na manifestação dos sintomas quando as plantas foram artificialmente inoculadas. Embora Yorinori (1985), Café Filho et al. (1987) e Yorinori e Gazziero (1989) não relataram nenhuma referência à produção de toxinas, neste trabalho encontrou-se indícios desta possibilidade. Pelo uso de inoculação de gotas sobre folhas individuais, e usando concentrações crescentes constatou-se que nas concentrações de 3 e 4×10^3 conídios/ml e, principalmente, 5×10^3 conídios/ml houve a manifestação dos sintomas do tipo lesão, semelhante ao verificado no campo. Possivelmente, o isolado usado neste trabalho seja diferente dos testados por outros autores, pois como já salientado, mesmo na concentração de 5×10^3 conídios/ml a doença manifestou-se com severidade difícil de ser avaliada pelo número de lesões.

Por estas dificuldades encontradas, na avaliação da severidade, não descarta-se a possibilidade de ocorrer uma reação incompatível entre o isolado usado com o hospedeiro *E. heterophylla*, manifestada por reação de hipersensibilidade.

Estudos devem ser conduzidos comparando-se a patogenicidade de diferentes isolados de *B. euphorbiae* de modo a selecionar-se os mais agressivos. Estes últimos deveriam ser preferencialmente usados em formulações comerciais de micoherbicidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGAKI, M. Quality of radiation inhibitory to sporulation of *Alternaria tomato*. **Phytopathology**, St. Paul, V.52, n.11, p.1227-1228, 1962.
- BOYETTE, C.D. Host range and virulence of *Colletotrichum truncatum*, as potential mycoherbicide for hemp sesbania (*Sesbania exaltata*). **Plant Disease**, Washington, v.75, n.1, p.62-64, 1991.
- CAFÉ FILHO, A.C. et al. Dados preliminares sobre o controle biológico do amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla*) por fungos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.138, Jul. 1987.
- CAMARGO, M.; KIMATI, H. Influência de meios de cultura sintéticos na reprodução de *Pyrenochaeta terrestris*, agente causal de raízes rosadas em cebola (*Allium cepa*). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.18, n.2, p.167-172, 1992.
- CARTWRIGHT, D.K.; TEMPLETON, G.E. Preliminary assessment of *Colletotrichum capsici* as a potential mycoherbicide for control of pitted morningglory. **Plant Disease**, Washington, v.76, n.10, p.995-998, 1992.
- CERDEIRA, A.L.; VOLL, E. Germinação e emergência de amendoim bravo (*Euphorbia heterophylla* L.). In: **RESULTADOS DE PESQUISA DE SOJA, 1979/80**. Londrina: EMBRAPA, 1980. p.216-220.
- CHARUDATTAN, R. **Controle biológico de plantas daninhas através de fitopatógenos**. Curso internacional sobre controle biológico de plantas daninhas. Jaboticabal: FCAVJ/UNESP, 1993. 34p.
- DALY, J.M. Some aspects of host-pathogen interactions. In: HEITEFUSS, R.; WILLIAMS (ed.). **Physiological plant pathology**, New York, 1976. p.27-50.

- ELLIS, M.B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: CAB, 1971. 608p.
- FEDERATION OF BRITISH PLANT PATHOLOGISTS. Terminology sub-Committee. **A guide to the use of terms in plant pathology**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1973. 55p. (Phytopathological Papers, 17).
- FERNANDEZ, M.R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128p. (Documentos, 6).
- FUCHS, W.H. History of physiological plant pathology. In: HEITEFUSS, R.; WILLIAMS (ed.). **Physiological plant pathology**. New York, 1976. p.1-26.
- GAZZIERO, D.L.P.; YORINORI, J.T. **Experiência sobre controle biológico de *Euphorbia heterophylla* no Brasil**. Jaboticabal: FCAVJ/UNESP, 1993. 11p.
- GOELLNER, C.I. **Utilização dos defensivos agrícolas no Brasil: análise do seu impacto sobre o ambiente e a saúde humana**. São Paulo: ArtGraph, 1993. 102p.
- GOMES, S.M.; DIANESE, J.C. Efeito de *Helminthosporium* sp. sobre estágios de desenvolvimento do leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.138, Jul. 1987.
- INMAN, R.E. A preliminary evaluation of *Rumex* rust as biological control agent for curly dock. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, n.1, p.102-107, 1971.
- KIRALY, Z. **Methods in plant pathology**. New York: American Elsevier Publishing Company, 1974. p.237-288.
- KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: BASF Brasileira, 1992. v.2, p.647-653.

- LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. 4. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1994. 336p.
- LEACH, C.M. The sporulation of *Helminthosporium oryzae* as affected by exposure to near ultraviolet radiation and dark periods. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.39, n.3, p.705-715, 1961.
- MASSOLA, N.S.; BEDENDO, I.P. Produção de conídios por *helminthosporium oryzae*: influência da composição do meio de cultura, período de incubação, regime de luz e temperatura. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.19, n.3/4, p.157-161, 1993.
- MINTZ, A.S.; HEINY, D.K.; WEIDEMANN, G.J. Factors influencing the biocontrol of tumble pigweed (*Amaranthus albus*) with *Aposphaeria amaranthi*. **Plant Disease**, Washington, v.76, n.3, p.267-269, 1992.
- MIKUSINSKI-COSTA, O.M.; SILVA, M.S. Profundidade de semeadura e emergência da leiteira (*Euphorbia heterophylla* L.). **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v.20, n.1, p.165-167, 1984.
- NAKAMURA, A.M. **Fisiologia da reprodução e patogenicidade de *Ascochyta phaseolorum* Saccardo**. Piracicaba, 1975. 121p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"- USP).
- PITELLI, R.A. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.129, p.16-27, 1985.
- REIS, E.M. Selective medium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. **Plant Disease**, St. Paul, v.67, n.1, p.68-70, 1983.

- REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO SUL, 21. **Recomendações técnicas para a cultura da soja no Rio Grande do Sul e Santa Catarina - Safra de 1993/94.** Santa Rosa: CIENTEC-IPAGRO, 1993. 64p.
- SOURCEBOOK OF LABORATORY EXERCISES IN PLANT PATHOLOGY. **American Phytopathological Society.** London, 1967. 387p.
- SOUZA, I.F. de. Controle biológico de plantas daninhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.15, n.167, p.77-82, 1991.
- TEMPLETON, G.E.; TEBEEST, D.O.; SMITH JR., R.F. Biological weed control with mycoherbicides. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.17, p.301-310, 1979.
- TRIONE, E.J.; LEACH, C.M. Light induced sporulation and sporogenic substances in fungi. **Phytopathology**, St. Paul, n.59, p.1077-1083, 1969.
- TUBELIS, A.; NASCIMENTO, S.J.L. do. **Meteorologia descritiva: fundamentos e aplicações brasileiras.** São Paulo: Nobel, 1992. 374p.
- TUITE, J. **Plant pathological methods - fungi and bacteria.** USA: Burgess Publishing Company, 1969. 239p.
- WEIDEMANN, G.J.; TE BEEST, D.O. Biology of host range testing for biocontrol of weeds. **Weed Technology**, v.4, p.465-470, 1990.
- YANG, S.M.; JOHNSON, D.R.; DOWLER, W.M. Pathogenicity of *Alternaria angustivoidea*. **Plant Disease**, Washington, v.74, n.8, p.601-604, 1990.

YORINORI, J.T. Biological control of milk weed (*Euphorbia heterophylla*) with pathogenic fungi. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM BIOLOGY CONTROL WEEDS**, 6, Vancouver, 1984. Proceedings... Vancouver, 1985. p.677-681.

YORINORI, J.T.; GAZZIERO, D.L.P. Control of milk weed (*Euphorbia heterophylla*) with *Helminthosporium* sp. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM BIOLOGY CONTROL WEEDS**, 7, Rome, 1988. Proceedings... Rome, 1989. p.571-576.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and plant disease management**. New York: Oxford University Press, 1979. 427p.

CONCLUSÕES

1. Os fungos que ocorrem em plantas daninhas são de difícil isolamento e esporulação no meio tradicional de batata-sacarose-ágar.
2. Considerando-se os danos causados nos hospedeiros observados no campo, os fungos com maior potencial de uso para o desenvolvimento de um micoherbicida foram *Sphaceloma* sp., *Melampsora* sp. e *Bipolaris euphorbiae* em *Euphorbia heterophylla*; *Bipolaris bicolor* em quicuí; *Coleosporium tussilaginis* em maria-mole e um fungo não identificado em *Rumex obtusifolius*.
3. *Lolium multiflorum*, devido a sua alta população, constitui-se em importante fonte de inóculo, como hospedeiro secundário, para o agente causal da brusone do trigo, *Pyricularia grisea*, do ergot, *Claviceps* sp., e da ferrugem da folha da aveia, *Puccinia coronata*; e *Raphanus raphanistrum* constitui-se, igualmente, fonte de inóculo para o agente causal de alternaria em brássicas, *Alternaria brassicicola*, no Sul do Brasil.
4. A velocidade de germinação de conídios de *Bipolaris euphorbiae* foi influenciada pela temperatura e por fontes de carbono, tendo se destacado entre elas a sacarose.
5. O crescimento micelial e a esporulação de *Bipolaris euphorbiae* foram influenciadas por diferentes meios de cultura e por regimes luminosos.
6. O fungo *Bipolaris euphorbiae* possui alta especificidade, não produzindo sintomas nas principais espécies vegetais cultivadas no Sul do Brasil.