

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE CONÍDIOS DE *Sphacelia sorghi* McRae, AGENTE CAUSAL DA DOENÇA AÇUCARADA DO SORGO.

SÔNIA REGINA NOGUEIRA

DESCRITIVO

SIGNATURA

Data de entrada

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA
UFLA

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e
Catalogação da Biblioteca Central da UFLA

Nogueira, Sônia Regina

Caracterização morfológica e germinação *in vitro* de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae, agente causal da doença açucarada do sorgo / Sônia Regina Nogueira. – Lavras:UFLA, 1998.

73 p : il.

Orientador: Hilário Antônio de Castro.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Sorgo – Doença açucarada. 2. Morfologia. 3. Conídio. 4. *Sphacelia sorghi*. 5. *Claviceps africana*. 6. Controle químico. 7. Fungicida. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 589.24

632.42

633.174944

43047

MFN32198

SÔNIA REGINA NOGUEIRA

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE CONÍDIOS DE *Sphacelia sorghi* McRae, AGENTE CAUSAL DA DOENÇA AÇUCARADA DO SORGO.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "MESTRE".

Orientador:

Prof. HILÁRIO ANTÔNIO DE CASTRO

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1998

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e
Catalogação da Biblioteca Central da UFLA

Nogueira, Sônia Regina

Caracterização morfológica e germinação *in vitro* de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae, agente causal da doença açucarada do sorgo / Sônia Regina Nogueira. – Lavras:UFLA, 1998.

73 p : il.

Orientador: Hilário Antônio de Castro.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Sorgo – Doença açucarada. 2. Morfologia. 3. Conídio. 4. *Sphacelia sorghi*. 5. *Claviceps africana*. 6. Controle químico. 7. Fungicida. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 589.24

632.42

633.174944

SÔNIA REGINA NOGUEIRA

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE CONÍDIOS DE *Sphacelia sorghi* McRae, AGENTE CAUSAL DA DOENÇA AÇUCARADA DO SORGO.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "MESTRE".

Aprovada em 5 de março de 1998

Prof. Ludwig Heinrich Pfenning UFLA

Prof. José da Cruz Machado UFLA



Prof. Hilário Antônio de Castro
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1998

*"O mais importante não é chegar a uma bela produção
artística mas envolver nela a mão e a mente, sentir
durante o trabalho que se é gente, que se está criando,
que se vai descobrindo linhas de força nos materiais
manipulativos."*

(DIDONET)

A Deus pela onipresença e sustento da vida.

OFEREÇO

Aos meus pais

João Nogueira

Maria do Carmo Dias Nogueira

Pelo amor e incentivo nas horas difíceis.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, por proporcionarem a realização deste curso.

À CAPES, pela concessão da Bolsa de Estudos.

Ao prof. Hilário Antônio de Castro, pela orientação.

À Embrapa Milho e Sorgo, na pessoa do pesquisador Alexandre da Silva Ferreira, pela disponibilidade de material e sugestões.

Ao prof. Erlei de Melo Reis da Universidade Federal de Passo Fundo, pelo envio de material e aconselhamentos.

Aos professores José da Cruz Machado e Ludwig Heinrich Pfenning por comporem, com críticas e sugestões, a Banca Examinadora.

Ao prof. e amigo Daniel Cassetari Neto, pela responsabilidade no ingresso e conclusão deste curso.

À minha família pelo apoio e carinho.

A Claudomiro M. G. André e Luciana A. Tavares, pela ajuda na condução dos trabalhos e principalmente pela presença e carinho constantes.

À Leimi Kobayasti pela amizade.

Aos amigos Gislaíne, Jair, Luiza, Alvanir, Adriana, Bárbara, Robério, Givaldo, Cacao, Sílvia e Vespa, pela ajuda e força durante esta fase.

Ao Senhor Abner Botrel, pelos ensinamentos de vida.

A todos que de uma maneira ou de outra contribuíram na realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Etiologia.....	3
2.2 Sintomatologia.....	9
2.3 Ciclo biológico	10
2.4 Hospedeiros alternativos	12
2.5 Período de susceptibilidade	13
2.6 Danos à cultura	16
2.7 Controle	17
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO 1: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE MACROCONÍDIOS DE <i>Sphacelia</i> spp.	30
RESUMO.....	31
ABSTRACT	31
1 INTRODUÇÃO	32
2 MATERIAL E MÉTODOS	34
2.1 Medição dos macroconídios	34
2.2 Morfologia dos macroconídios	35
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4 CONCLUSÕES	42
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	42
CAPÍTULO 2: GERMINAÇÃO <i>in vitro</i> DE CONÍDIOS DE <i>Sphacelia sorghi</i> McRae.....	45
RESUMO.....	46
ABSTRACT	46
1 INTRODUÇÃO	47

2 MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1 Obtenção do inóculo	49
2.2 Estimulação da germinação	50
2. 3 Inibição química da germinação	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
3.1 Estimulação da germinação	53
3.2 Inibição química da germinação	57
4 CONCLUSÕES	66
5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	66
DISCUSSÃO GERAL	70
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	72

RESUMO

NOGUEIRA, Sônia Regina. Caracterização morfológica e germinação *in vitro* de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae, agente causal da doença açucarada do sorgo. Lavras: UFLA, 1998. 73p. (Dissertação Mestrado em Fitopatologia).*

A importância e demanda da cultura do sorgo tem sido crescente no Brasil nos últimos anos. A cultura não enfrentava problemas sérios de doenças nas condições de cultivo do Brasil, no entanto, no ano de 1995 registrou-se a ocorrência da doença açucarada, causada pelo fungo *Sphacelia sorghi* McRae (*Claviceps africana*), nos campos de cultivo de sorgo. A doença afeta as panículas da cultura reduzindo a quantidade e qualidade dos grãos produzidos. O conhecimento do ciclo de vida do patógeno, hospedeiros alternativos e fatores que favoreçam sua disseminação e infecção nas panículas de sorgo, é de fundamental importância para um controle adequado da doença. Este trabalho teve como objetivos, caracterizar conídios de *S. sorghi* e estudar *in vitro* a germinação de um isolado de sorgo. Os resultados obtidos neste trabalho mostram que os conídios dos isolados estudados diferem morfológicamente entre si e requerem fonte extra de energia para sua germinação. Os fungicidas Mancozeb, Triadimenol e Propiconazole foram os mais eficientes para inibir *in vitro* a germinação dos conídios.

* Orientador: Hilário Antônio de Castro; Membros da Banca: José da Cruz Machado e Ludwig Heinrich Pfenning.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION AND *IN VITRO* GERMINATION OF THE *Sphacelia sorghi* McRae CONIDIA, CAUSAL AGENT OF THE SORGHUM'S SUGARY DISEASE.

The sorghum culture has had a significant importance in Brazil in the last years. The culture did not face serious problems with diseases. However, the occurrence of sugary disease, caused by the fungus *Sphacelia sorghi* McRae (*Claviceps africana*) was recorded in the year of 1995 in Brazilian sorghum fields. For an adequate control of the disease, it is essential the knowledge of the pathogen cycle of life, alternative hosts, and factors that favor its dissemination and infection in the sorghum panicle. The purpose of this work was to characterize *S. sorghi* conidia, and to study the *in vitro* germination of sorghum isolated. The results obtained in this work indicated that the studied isolated conidia differed morphologically among themselves, and required as extra energy source for germination. The fungicides Mancozeb, Triadimenol and Propiconazole were the most efficient to inhibit the *in vitro* germination of the *S. sorghi* conidia.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Desde sua introdução no Brasil, há mais de 25 anos, a cultura do sorgo defrontou-se em condições desiguais com o milho e a soja, e ainda teve de superar obstáculos nas áreas técnica e comercial. Na primeira época de cultivo do ano (primavera-verão), o sorgo tem sido plantado em praticamente todo o Estado do Rio Grande do Sul. Na segunda época (verão-outono), é plantado no sudeste do Paraná e no norte do Estado de São Paulo. Recentemente, o sorgo ganhou importância e mais espaço na região dos cerrados, atualmente identificada como a melhor cultura para ser plantada em sucessão às de verão, ampliando sua área nos Estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, viabilizando uma boa alternativa de safrinha. Outra região de expressivo potencial para o sorgo é o Nordeste, com vista ao desenvolvimento regional da avicultura e suinocultura (Agrianual, 1997).

A demanda da produção tem sido, em grande parte, por semente híbrida, que está localizada nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás. Nas condições de cultivo do sorgo, a cultura não tem tido problemas sérios de doenças. No entanto, a partir de 1995, registrou-se ocorrência de epidemia da doença açucarada do sorgo (Ferreira e Casela, 1995). Esta doença açucarada é causada por *Sphacelia sorghi* McRae, cuja fase teleomórfica é *Claviceps africana* (Frederickson, Mantle e Milliano, 1989).

A doença promove redução na produção, pois as panículas infectadas não produzem grãos e ainda a exsudação nos floretes infectados pode

recobrir os grãos sadios, favorecendo o desenvolvimento de saprófitas e reduzindo a qualidade dos grãos (Bandyopadhyay, 1992).

Todos os estresses que levam a inviabilidade do pólen predisõem as plantas à infecção. Ferreira e Casela (1995) e Reis, Mantle e Hassan (1996) relatam a importância econômica da epidemia e disseminação de *S. sorghi*, em variedades de sorgo forrageiro e sementes F1 produzidas no Brasil, em 1995, tendo em vista que as sementes produzidas no país se destinam a vários outros países da América Latina e, em muitos destes lotes de sementes, foi observada a presença de escleródios do patógeno. Cientistas brasileiros e pesquisadores estrangeiros têm conduzido pesquisas com o intuito de se conhecer melhor o patógeno, sua forma de sobrevivência e disseminação.

O presente trabalho teve como objetivos:

- Caracterizar morfológicamente macroconídios do fungo, presentes em panículas de diversos hospedeiros.
- Estudar alguns fatores que estimulam e inibem a germinação dos conídios de *S. sorghi*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Etiologia

O ergot, também conhecido como doença açucarada do sorgo, foi primeiramente relatado por McRae na Índia (Estado de Madras) em 1915. O mesmo descreveu o patógeno em 1917, como *Sphacelia sorghi*, sendo que mais tarde foi também observado na África, em 1924, no Estado do Kenya (Bandyophadyay, 1992). Kulkarni, Seshandri e Hegde (1976) descreveram o estágio perfeito de *S. sorghi* como *Claviceps sorghi*, incluindo os patógenos asiático e africano. Todavia, em estudos comparativos recentes entre os patógenos, tem-se verificado consideráveis diferenças, sendo as espécies adequadamente distintas através de características ultraestruturais que revelam evidências para a descrição do patógeno africano, como uma nova espécie de *Claviceps*, denominada *Claviceps africana* (Frederickson e Mantle, 1988; Frederickson, Mantle e Milliano, 1989; 1991).

A doença não tinha sido descrita para a América até o ano de 1995, quando registrou-se a ocorrência de *S. sorghi* McRae em lavouras de sorgo no Brasil (Estado de Minas Gerais), sendo o estágio perfeito identificado como *Claviceps sorghi* (Ferreira e Casela, 1995). De acordo com Reis, Mantle e Hassan (1996), a forma perfeita do patógeno brasileiro é *Claviceps africana*. Neste trabalho, preferimos adotar a identificação mais recente.

Claviceps pertence à subdivisão Ascomycotina, sendo classificado como ascomiceto peritecial, da ordem Hypocreales (Alexopoulos, Mims e Blackwell, 1997). Este gênero possui uma característica um tanto particular, onde os conídios são produzidos em pouco tempo sobre conidióforos curtos,

possivelmente por um mecanismo de constrição. A germinação de ascosporos neste gênero, pode ocorrer por tubo germinativo e por produção de conídios diretamente nos conidióforos, sem acontecer o estágio micelial. Este processo tem sido conhecido como conidiação microcíclica (Alexopoulos e Mims e Blackwell, 1997). A conidiação microcíclica ou secundária deste fungo, foi primeiramente reconhecida na germinação *in vitro* de conídios de um isolado Indiano de *S. sorghi* (Barbara e Mantle, 1980).

De acordo com Bandyopadhyay (1992), Singh em 1964 foi o primeiro a relatar que o escleródio do fungo da doença açucarada do sorgo, germina para produzir estipe e capítulos claros, mas ele não descreveu o estágio perfeito. A germinação do escleródio foi confirmada, mais tarde, na Índia por Kulkarni, Seshandri e Hegde (1976) e por Sangitrao e Bade (1979). Naquele país, o escleródio parece ter um período de 3 a 4 meses de dormência. Muitos relatos indicam que são poucos os escleródios que germinam, mas Kulkarni, Seshandri e Hegde (1976) obtiveram 80% de germinação esclerocial. Segundo Mower e Hancock (1975b), o cultivo em meio de cultura do estágio conidial do fungo (por processos clássicos de cultura) tem repetidamente falhado para produzir escleródios sob condições axênicas.

Luttrell (1981), estudando o escleródio deste fungo, detectou que este não resulta de hipertrofia do ovário como se pensava, mas que a estrutura do fungo substitui o ovário com o florete infectado. A colonização do ovário inicia pela penetração dos tubos germinativos dos ascosporos que estendem-se entre as células do estigma do hospedeiro, fazendo com que as hifas cresçam intercelularmente através do estilo e a parede celular do ovário. As hifas se formam ao redor das células do hospedeiro, numa interface que deprime ligeiramente em sentido descendente no centro dos feixes vasculares.

A massa de hifas, através da base do ovário, digere os seus tecidos e os substitui com o estroma do fungo. Depois de algum tempo, as hifas emergem entre as células epidérmicas e formam uma massa estromática que contribui para o aumento do volume do escleródio. Na base do estroma, a hifa estende-se dentro e entre as extremidades dos feixes vasculares, digerindo os vasos, todo o tempo associado com células vivas do parênquima. As hifas invadem o óvulo somente depois que as paredes do ovário tenham sido destruídas.

O peritécio mede 66,4-124,5 x 132,8-232,4 μm de tamanho, contendo ascas com oito ascosporos medindo 0,4-0,8 x 40-85 μm , variando patogênica e morfológicamente de acordo com a origem do isolado (Luttrell, 1981).

De acordo com Mower e Hancock (1975a), a mela é um exsudado açucarado, encontrado em inflorescências infectadas por várias espécies deste fungo. Campbell (1959) tem sugerido que a indução da doença se dá por enzimas do hospedeiro responsáveis pela síntese da mela. Contudo, esta idéia não tem sido facilmente aceita.

Mower e Hancock (1975b) relatam que, embora todos os açúcares da mela de *Sphacelia* sejam conhecidos por ocorrer em capins que o fungo infecta, estes açúcares são também produzidos em meio de cultura (sacarose), pelo patógeno. Além disso, os autores apresentaram resultados em que espécies de *Sphacelia* produzem certos açúcares encontrados somente em meio de cultura ou na mela e não, no hospedeiro. Assim, parece que a síntese da mela depende da atividade de enzimas fúngicas, sendo que a sacarose é retirada do hospedeiro e convertida em um novo açúcar na cavidade floral infectada. Os resultados indicam a presença de glicose, frutose, oligossacarídeos (em grande quantidade), monossacarídeos (pequena

quantidade) e principalmente sacarose, sendo o açúcar translocado em maior quantidade na área de infecção.

O mecanismo de formação e exsudação da mela se dá por vários processos bioquímicos e biofísicos e assimilação de açúcares pelo fungo, representado resumidamente na Figura 1, adaptada de Mower e Hancock (1975a).

Segundo Mower e Hancock (1975a), a absorção e utilização de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos não envolvem somente o processo de formação da mela, como também, a produção de alcalóides por *S. sorghi*. Mantle (1973), estudando a produção de alcalóides *in vitro* por *S. sorghi*, constatou que o fungo não utiliza nitrato, mas L-asparagina, sais de amônia, ácidos málico, fumárico e succínico para a produção de alcalóides. A produção de alcalóides é também favorecida por temperatura em torno de 27 °C e pH inicial 5,5.

Molefe (1975) afirma que a melhor fonte de carbono utilizada em meio de cultura foi sacarose e glicose, mas a acumulação de glucan neste meio aumentou a viscosidade da cultura e prejudicou a transferência de oxigênio, dificultando assim a produção de alcalóides. No escleródio e na mela do fungo, são encontrados alcalóides em maior ou menor quantidade dependendo do hospedeiro. Frederickson, Mantle e Milliano (1989) concluíram que o escleródio de *Claviceps africana* tem toxicidade mínima entre todos os escleródios e o maior alcalóide encontrado foi dihidroergosina.

O líquido adocicado é composto de sacarose 30-70%, de frutose 30%, de traços de glicose e é nesta exsudação onde se encontram os conídios (Frederickson, Mantle e Milliano, 1991).

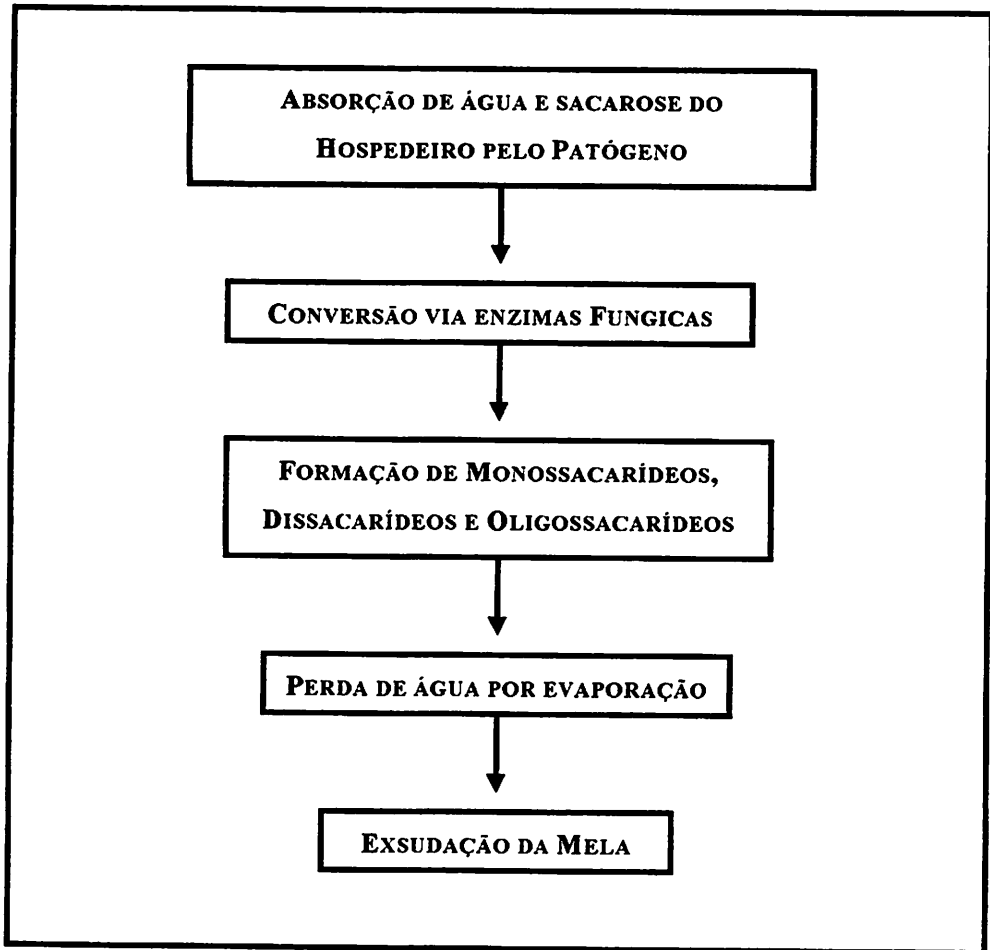


FIGURA 1. Esquema de formação e exsudação da mela de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

Conforme Frederickson, Mantle e Milliano (1991), os conídios de *S. sorghi* são de três tipos, macroconídios, microconídios e conídios secundários, todos com capacidade infectiva. Os conídios infectam o estigma no florescimento e tomam o ovário com o estroma fúngico, que mais tarde é transformado em escleródio no lugar do grão. Os macroconídios medem 12-20 x 5-8 μm , são hialinos, elípticos ou oblongos, ligeiramente constrictos no meio, mostrando vacúolos distintos nas extremidades e são liberados da mela

exsudada dos ovários infectados. Os microconídios são esféricos mononucleados e hialinos, medindo 2-3 μm de diâmetro. Os conídios secundários são piriformes, com presença de hilo em uma das extremidades e tamanho de 8-14 x 4-6.5 μm . Os três tipos de esporos são infectivos, o que garante um grande potencial reprodutivo e de disseminação do fungo. A concentração de esporos no líquido açucarado é de aproximadamente $1,67 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$ sete horas após sua formação, podendo aumentar para $6,4 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$, 17 horas mais tarde (Frederickson, Mantle e Milliano, 1991).

De acordo com Nagurajan e Saraswathi (1971), abundante formação de mela contendo conídios tem sido produzida em meio de cultura Kirchoff e Chinnadurai (1972) afirma que microelementos afetam o crescimento e esporulação do estágio conidial.

A importância de vários microelementos tem sido relatada na fisiologia nutricional, influenciando no crescimento e na esporulação de muitos fungos. Chinnadurai (1972), investigou o efeito do ferro, zinco, manganês e molibdênio na indução de crescimento e esporulação de *S. sorghi*, constatando que os elementos requeridos para crescimento e esporulação não são os mesmos. O efeito dos elementos foi mais pronunciado na esporulação.

Chinnadurai e Govindaswamy (1971) estudaram o efeito do fornecimento de quantidades variáveis de nitrogênio e carbono, sobre forma e tamanho dos conídios de um isolado de *S. sorghi*. Os autores observaram consideráveis diferenças no tamanho e forma dos conídios, influenciadas pela nutrição em nitrogênio. Os efeitos não foram pronunciados no caso da nutrição de carbono. O meio Kirchoff foi usado como básico e sete diferentes fontes de nitrogênio foram testadas, sendo elas: nitrato de amônia, cálcio e

potássio, nitrato e nitrito de sódio, acetato de amônia e asparagina. Os resultados revelaram que o tamanho máximo dos conídios foi conseguido com o uso do nitrato de amônia e o tamanho mínimo com o nitrato de potássio. Os autores observaram ainda que, em todos os casos, o tamanho dos conídios foi reduzido, quando comparado com o tamanho do conídio natural.

2.2 Sintomatologia

O primeiro sintoma da doença pode ser visto no ovário das glumas fechadas, 3-5 dias após a infecção. O ovário infectado torna-se verde opaco e levemente enrugado, em contraste com a saudável aparência verde escuro e circular do ovário fertilizado. Com 2 dias, é visível, superficialmente o micélio branco na base do ovário, estendendo-se gradualmente para cima. O ovário é convertido em estroma do fungo com dobras não profundas. O sintoma final é visto 5-10 dias após a infecção sob a forma de gotas açucaradas exsudadas dos ovários infectados. O líquido açucarado tem aspecto pegajoso de coloração rosada ou parda, originando então o nome da doença. Estas gotas doces ao paladar atraem insetos que se alimentam deste líquido, dispersando os conídios para outras flores (Bandyopadhyay, 1992). Os fungos saprofíticos, que eventualmente se desenvolvem no líquido açucarado, podem convertê-lo em uma massa negra viscosa que, ao secar, torna-se amorfa. Neste último caso, praticamente, é evitada a formação de escleródios (Futtrell e Webster, 1966). No entanto, quando o clima é seco logo após a formação da exsudação, a secreção torna-se uma crosta branca dura, facilmente destacável da panícula.

Em um período de quatro semanas a 2 meses após a inoculação, o estroma do fungo transforma-se em escleródio maduro. O tamanho e forma do escleródio depende do genótipo do hospedeiro, fatores ambientais e

nutricionais. O processo de formação do escleródio é também influenciado por fungos contaminantes que crescem na mela durante o seu desenvolvimento e por condições climáticas (Kulkarni, Seshandri e Hegde, 1976).

Sob clima úmido, o escleródio desenvolve-se deformado, devido à presença de micoparasitas como *Cerebella*, *Fusarium moniliforme*, *Cladosporium* spp. e outras espécies. No entanto, sob condições climáticas de menor umidade relativa, o fungo cresce no interior do ovário, com aspecto creme, cilíndrico, alongado e levemente curvado, dando origem a escleródios pouco contaminados (Futtrell e Webster, 1966).

O fungo *Cerebella*, que é o contaminante associado mais comum, é considerado por muitos pesquisadores como um hiper-parasita, mas não há prova do parasitismo (Bandyopadhyay, 1992). Langdon (1942) relatou que *Cerebella* está presente na formação do escleródio como um saprófita necessário, sempre associado com a mela.

2.3 Ciclo biológico

Segundo Frederickson e Mantle (1993), a doença açucarada do sorgo foi primeiramente reconhecida como um potencial de ameaça para sementes híbridas F1 produzidas na África em 1960. A infecção primária no campo é provavelmente estabelecida por conídios de hospedeiros secundários. Estando, estes, presentes na mela, são transportados por insetos às panículas receptivas do sorgo. Os restos de panículas infectadas presentes no solo e ainda a elevada produção de conídios na mela cerca de 5 dias após a infecção do sorgo, funcionam como inóculo primário para as panículas que florescem subsequente (Futtrell e Webster, 1966).

Um crescimento branco pulverulento pode ser observado na superfície do líquido açucarado, quando este seca. Esta crosta pode reidratar-se por chuva, por orvalho ou por água de irrigação, ocasião em que os macroconídios da superfície germinam, produzindo conídios secundários que são disseminados pelo vento até as flores receptivas do sorgo, nesta fonte de inóculo o patógeno pode permanecer viável por 7 a 8 meses (Frederickson, Mantle e Milliano, 1989). Outra fonte de inóculo, são os escleródios deixados sobre o solo durante a colheita. Estes produzem ascosporos facilmente disseminados pelo vento e que podem infectar flores receptivas do sorgo (Kulkarni, Seshandri e Hegde, 1976).

Acredita-se que na África a principal fonte de inóculo sejam os hospedeiros secundários, como o capim colônia e o milheto, e não os escleródios (Reddy, Govindaswamy e Vidhyasekaran, 1969). Segundo Futtrell e Webster (1966), em regiões onde o clima é favorável ao desenvolvimento da doença e a sobrevivência do patógeno, não há necessidade deste dar origem a forma sexual de *Claviceps*.

Bandyopadhyay et al. (1990) afirmam que o ciclo biológico do fungo inicia quando o inóculo atinge o estigma, germina emitindo o tubo germinativo que cresce através do estilete e coloniza o ovário. O tecido do ovário é gradualmente colonizado e, num período de 5-7 dias é substituído pelo estroma do fungo. Internamente este tecido estromático possui lóculos nos quais os conídios são produzidos sobre a superfície do estroma, ou seja, o micélio no interior do ovário produz conídios sobre conidióforos dispostos numa camada paliçádica. Decorridos 5 a 10 dias já se pode visualizar o líquido açucarado exsudado da flor infectada.

Os conídios são liberados dos grãos infectados, juntamente com o líquido açucarado. A alta concentração de açúcares no líquido inibe a germinação dos conídios. Esta secreção altamente higroscópica, absorve água da atmosfera diluindo sua concentração, possibilitando a germinação dos conídios presentes na superfície seca. Os macroconídios emitem tubos germinativos que se sobressaem à superfície, agindo como conidióforos ao produzirem conídios secundários em suas extremidades, sendo facilmente removidos pelo vento. Este mecanismo de dispersão anemófila aumenta o potencial de disseminação do patógeno (Frederickson, Mantle e Milliano, 1989).

De acordo com Luttrell (1981), o estágio perfeito (*Claviceps*) é iniciado quando o escleródio germina para produzir 2 ou 3 estipes contendo peritécios. A germinação ocorre por pedúnculo, estroma contendo peritécio. Os ascosporos presentes nas ascas dos peritécios podem infectar novas panículas no campo de cultivo, reiniciando assim o ciclo do patógeno.

2.4 Hospedeiros alternativos

Trabalhos para identificar hospedeiros alternativos de *S. sorghi* têm sido feitos com base apenas em observações. Ramakrishnan citado por Futtrell e Webster (1966), baseou seus estudos em inoculações artificiais. Reddy, Govindaswamy e Vidhyasekaran (1969), obtiveram plantas de *Pennisetum typhoides* infectadas por *S. sorghi* a partir de inoculações cruzadas. Alguns trabalhos relatam *Cenchrus ciliaris*, *Panicum maximum*, e *P. typhoides* como hospedeiros de *S. sorghi* (Sudaram, 1974).

Futtrell e Webster (1966) afirmam que o milho é um hospedeiro secundário e subseqüentemente encontraram grãos substituídos pelo estroma

do fungo, contendo conídios que não exsudaram. Segundo Willingale, Mantle e Thakur (1986), *Claviceps* spp. causam doença açucarada em diversas culturas como trigo, cevada, centeio, milho e milheto; e ainda Mughogho (1986) cita infecção em *Cenchrus ciliaries*, *C. setigerus*, *Panicum maximum*, *Ischaemum pilosum*.

Futtrell e Webster (1966) sugerem que os conídios em capins (hospedeiros alternativos) e fragmentos de panículas infectadas no solo são fontes primárias de inóculo. A epidemiologia da doença açucarada tem sido assumida por envolver infecções primárias, devido aos ascosporos aéreos, seguida de difusão secundária da doença por disseminação da liberação direta dos conídios de *S. sorghi* presentes na mela de floretes infectados. A disseminação conidial no campo é, portanto, principalmente por insetos atraídos pela mela, respingos de chuva, vento e ainda o contato com outras inflorescências (Frederickson e Mantle, 1993).

2.5 Período de susceptibilidade

Conforme Willingale, Mantle e Thakur (1986), o período de suscetibilidade das panículas, ou o que tem sido conhecido como 'janela de infecção', ocorre durante a antese (período entre a exposição do estigma e o final da fertilização do ovário). O conhecimento do florescimento das plantas de sorgo é essencial para se entender o desenvolvimento da doença. O florescimento das panículas deve ser bem estudado, pois, é um fator de suscetibilidade e varia com as condições de ambiente e com o genótipo da planta.

Stephens e Quimby (1934) afirmam que quase todas as panículas de sorgo florescem durante a noite. Segundo Sanchez e Smeltzer (1965), o pólen

perde sua viabilidade após 5 horas, quando a planta floresce na temperatura de 26-39 °C e umidade relativa de 60%; mas em temperatura de 10-30 °C e umidade em torno de 95%, a antese ocorre somente após o nascer do sol e apenas às nove horas da manhã é que o pólen é liberado em grande quantidade, assim, permanece viável por mais tempo, em menores temperaturas e maior umidade relativa.

A infecção ocorre somente durante a floração. Qualquer fator que possa afetar a infecção, somente terá efeito durante esta fase. A temperatura durante este período crítico tem efeito marcante na doença. Tem sido demonstrado que o vigor do pólen é um fator importante na manifestação da doença. Temperaturas baixas durante a noite na microsporogênese induzem a macho esterilidade em sorgo e, portanto, levam à predisposição à doença. Os floretes de sorgo são vulneráveis à infecção durante a antese, sendo este o período de predisposição das plantas de sorgo ao agente causal da doença açucarada (McLaren e Wehner, 1992).

Bandhyopadhyay (1992) afirma que, normalmente, o estigma é polinizado logo após ser exposto. O pólen germina com 30 minutos e a fertilização ocorre num período de 2-12 horas após a germinação do pólen. Os conídios do fungo requerem de 8-12 horas para germinarem sobre o estigma e 36-48 horas para alcançarem a base do ovário. Portanto, sob condições normais, o pólen germina mais rapidamente do que os conídios e alcança o saco embrionário antes da hifa de penetração.

McLaren e Wehner (1992) afirmam que as partes da panícula mais suscetíveis a infecção e colonização são os estigmas e as anteras. A polinização do estigma é o fator primário que restringe a infecção do florete pelo agente causador da doença açucarada. Polinização e fertilização rápidas

têm importância crítica na prevenção da epidemia da doença açucarada. Reduções na taxa de polinização ou viabilidade do pólen podem aumentar a suscetibilidade de plantas macho normal à doença açucarada. Futtrell e Webster (1966) acreditam que o ovário resiste a infecção e colonização após a fertilização.

Tempo nublado e alta umidade afetam a deiscência da antera, viabilidade e deposição do pólen, favorecendo uma rápida disseminação do patógeno. Temperaturas baixas (5-21 °C) podem ocasionar aborto de pólen, megasporogênese e microsporogênese anormais, aumentando, assim, a suscetibilidade das plantas, devido a uma fertilização ineficiente (Brooking citado por Musabyimana, Sehene e Bandyopadhyay, 1995). A viabilidade do pólen parece ser um fator decisivo na infecção de plantas pelo fungo. Isto é bem explicado com os trabalhos de Thakur, Williams e Rao (1983) e Willingale, Mantle e Thakur (1986), onde eles relataram que a polinização de milho previne a infecção por *Claviceps fusiformis* Loveless, ou não permite o alcance das hifas no ovário.

Condições ambientais favoráveis para infecção e desenvolvimento da doença podem coincidir com a antese. Futtrell e Webster (1966) afirmam que umidade relativa próxima a 100%, por 24 horas, durante a antese de linhas macho estéreis, foi ótima para a infecção. Anahousur e Patil (1982) concluíram que temperatura entre 19 a 21 °C e umidade relativa de 67 a 84%, durante um período de 10 dias após a emergência da panícula, podem favorecer seriamente a infecção da doença açucarada em linhas macho estéreis; e temperatura e umidade relativas são também relatadas por afetar o período de incubação.

Em Botswana, Molefe (1975) observou em um único ano de alta pluviosidade (750 mm), uma incidência de 25-90% de doença açucarada em linhas macho estéreis sob condições naturais. Ele relatou ainda que apenas alta umidade relativa e elevada pluviosidade não são fatores suficientes para causar epidemias, sendo necessário que a temperatura seja ideal ao desenvolvimento da doença. As condições ideais para a infecção são temperaturas de 20-25 °C e alta umidade durante a antese. O período de umidade contínuo requerido para infecção, segundo Mughogho (1986), é de 12 a 36 horas, ou seja, é o período requerido para colonização do ovário pelo fungo.

Sudaram (1980) afirma que a ocorrência da doença açucarada aumenta em campos de sorgo que florescem no inverno, devido à predisposição das plantas. Segundo o autor, a doença é favorecida pelo frio na fase de infecção. Conforme McLaren e Wehner (1990), a incidência de doença açucarada aumenta rapidamente nas temperaturas entre 20-32 °C (sendo este o intervalo ideal para o desenvolvimento da doença), quando a umidade relativa é alta.

2.6 Danos à cultura

De acordo com Bandyopadhyay (1992), a doença açucarada tem como principais danos, reduzir a quantidade e qualidade dos grãos produzidos. Aquelas sementes que foram infectadas pelo fungo têm os seus tecidos substituídos pelo estroma fungo, portanto, não ocorre formação do grão e, ainda, a mela exsudada pode recobrir sementes sadias, reduzindo assim seu poder germinativo.

McLaren (1992) estudou sementes de sorgo colhidas de campos contaminados com *S. sorghi*. Neste trabalho ele observou o papel do exsudado na germinação de sementes, crescimento e predisposição das plântulas a doenças. Os estudos foram iniciados com observações *in vitro*. Conforme o autor, baixas concentrações do exsudado podem reduzir a germinação e crescimento das plântulas, sendo a resposta diferenciada para cada cultura.

No campo e em casa de vegetação, a concentração de conídios produzidos na superfície de sementes contaminadas com a mela foi quantificada por conídios/g de sementes. Concentrações de $6,47 \times 10^6$ conídios/g de semente foram inoculadas, reduzindo a germinação, emergência das plântulas, descoloração do mesocótilo e "damping off" pós emergência. A concentração de conídios nas sementes naturalmente infectadas em campo, foi de $5,5 \times 10^7$ conídios/g de semente. Um tratamento sugerido pelo autor é a lavagem das sementes, mas grandes quantidades de água são requeridas para reduzir a concentração da mela em níveis que não afetem a germinação e desenvolvimento das plântulas (McLaren, 1992).

2.7 Controle

Várias estratégias para o controle da doença açucarada do sorgo têm sido defendidas. O conhecimento completo do ciclo de vida de um patógeno é de fundamental importância no desenvolvimento de estratégias para seu controle.

A quarentena tem sido efetiva em excluir o patógeno nos países onde ainda não existe a doença. A Austrália e os Estados Unidos da América, por exemplo, são países que têm uma rigorosa regulamentação de quarentena

contra a entrada de patógenos de sementes (Chinnadurai, Govindaswamy e Ramakrishnan, 1970).

Muitos pesquisadores na Índia têm apresentado, sob condições experimentais, a utilidade de plantios precoces para evitar a doença. Um problema enfrentado pelos pesquisadores no plantio precoce é a colheita antecipada, coincidindo com o período chuvoso, o que aumenta a quantidade de grãos mofados. Portanto, a doença pode ser evitada na produção de semente híbrida, pelo plantio em época que possibilite o escape à doença ou em lavouras nas quais o inóculo não esteja presente (Thakur e Williams, 1980; Futtrell e Webster, 1966).

Sudaram, citado por Bandyopadhyay (1992), sugere o plantio de sementes livres do patógeno, através do mergulho destas em solução salina a 5%, para remover os escleródios; e ainda, práticas culturais como a remoção de hospedeiros secundários em volta dos campos de produção, além do "rouging" de plantas infectadas.

A reação do sorgo à doença depende das condições durante o florescimento. Um método sugerido para investigação da resistência à doença é o acompanhamento da planta, principalmente durante o florescimento, com inoculação do patógeno sob condições favoráveis ao seu desenvolvimento. As condições de ambiente influenciam nos efeitos genéticos, na expressão do fenótipo (McLaren, 1992).

Thakur e Williams (1980) asseguram que a investigação da viabilidade do pólen, durante o florescimento, pode reduzir a incidência da doença açucarada em milheto, mas falta a evidência da aplicabilidade desta prática em plantios de sorgo de larga escala.

A resistência do hospedeiro é um método prático e econômico para controle da doença açucarada do sorgo, mas seu uso requer avaliação criteriosa, para identificar fontes de resistência em grandes populações. Várias técnicas têm sido propostas, diferindo entre si com respeito ao estágio da planta para inoculação, número de inoculações e métodos de avaliação. Muitas destas técnicas, aparentemente, não levam em consideração o efeito da polinização na resistência (Musabyimana, Sehene e Bandyopadhyay, 1995).

Chinnadurai, Govindaswamy e Ramakrishnan (1970) conduziram estudos para determinar o efeito das secreções estigmáticas na patogênese dos fungos causadores da doença açucarada e também o efeito da polinização nas secreções e conseqüentemente na germinação dos conídios. Os pesquisadores concluíram que o exsudado estigmático de variedades de sorgo suscetíveis, em geral induziu uma alta porcentagem de germinação de conídios e o exsudado de variedades resistentes induziu baixa germinação.

O efeito da polinização na resistência a fungos causadores da doença açucarada tem sido relatado por Futtrell e Webster (1966), onde eles sugerem que linhas macho estéreis de sorgo são mais predispostas à infecção, podendo secretar mais hormônios femininos durante o florescimento; e fatores que tornam o pólen não funcional estendem o período de receptividade estigmática, prolongando assim a fase suscetível para a infecção. Afirma ainda que o grão de pólen de variedades resistentes e suscetíveis de sorgo estimula a germinação dos conídios, quando comparada com água destilada.

Na investigação de Chinnadurai, Govindaswamy e Ramakrishnan (1970), a polinização de estigmas de variedades suscetíveis com pólenes férteis interferiu na secreção dos princípios estimulatórios, reduzindo a

germinação dos conídios. Os resultados sugerem que as reações varietais do sorgo à *S. sorghi* podem estar relacionadas com a natureza das secreções estigmáticas. O exsudado estigmático coletado de variedades suscetíveis, após 8 horas de incubação, aumentou a germinação dos conídios, com o aumento do período de incubação. Isto indica que alguns princípios estimulantes podem ser secretados continuamente em variedades suscetíveis. No entanto, exsudados coletados após 12 horas de incubação reduziram a taxa de germinação, indicando a secreção de alguns princípios tóxicos, após certo tempo, nas mesmas variedades. Contudo, este acontecimento não foi muito aparente em variedades resistentes, porque a secreção de princípios estimulatórios não é suficiente para acelerar a germinação de conídios.

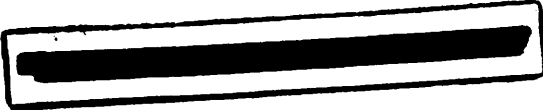
As medidas de controle visam, principalmente, a proteção dos sítios de infecção e a redução das fontes de inóculo. Darlington e Manthre (1976) investigaram a resistência à doença açucarada em linhas macho estéreis de centeio, através da polinização e genótipo do hospedeiro, concluindo que a resistência é influenciada por, pelo menos, quatro fatores: o primeiro diz respeito ao padrão de crescimento e florescimento no escape à infecção; segundo, flores que permaneçam fechadas durante a antese normalmente não são infectadas; terceiro, a resistência à infecção parece ser desenvolvida rapidamente após a polinização; e, finalmente, o quarto fator seria o genótipo da planta hospedeira afetando o desenvolvimento do patógeno, quando o inóculo não é impedido de alcançar a área de infecção. Os autores concluem que o mecanismo para um rápido desenvolvimento de resistência não é conhecido, mas provavelmente envolve mudanças fisiológicas que previnem a germinação dos conídios do fungo ou sua penetração e desenvolvimento nos tecidos do hospedeiro. Desta forma, o tratamento de sementes e o uso de fungicidas eficazes na lavoura, observando-se exatamente a época de

aplicação, tornam-se imprescindíveis para proteção das plantas. Portanto, o controle com fungicidas deve ser feito no período de predisposição das plantas, ou seja, durante a antese.

O tempo de aplicação de compostos químicos para o controle da doença açucarada é um fator crítico para o controle efetivo e geralmente requer várias aplicações (McLaren, 1993).

As aplicações múltiplas de fungicidas em campos comerciais de sorgo, muitas vezes são limitadas pelo alto custo. McLaren (1993) desenvolveu um estudo para determinar a eficácia de uma única aplicação de vários fungicidas sistêmicos no controle da doença açucarada, em plantios de sorgo, na África do Sul, tendo em vista que os fungicidas não são correntemente registrados para o controle da doença. Os fungicidas testados foram Benomil, Bitertanol, Tebuconazole, Carbendazim/Flusilazol, Procymidone, Propiconazole e Triadimenol, sendo estes considerados como potencialmente eficazes. O autor conclui que todos os fungicidas testados reduzem, em diferentes níveis o número de panículas infectadas, quando comparadas com o controle. Quando a aplicação foi feita após abertura das flores e inoculação das plantas, ocorreu uma pequena redução da incidência da doença, sugerindo que estes fungicidas sistêmicos têm ação curativa e movimento limitado na panícula.

Estudos *in vitro* feitos por Khadke, More e Konde (1979), mostraram que os fungicidas Benomil, Captan, Ziram, Thiram, Carboxin e Miltox inibiram o crescimento e a esporulação de *S. sorghi*. Os fungicidas Dithane M-45, Difolatan Cuman, Carbendazin + Thiram e Tiofanato Metílico foram eficientes na redução da doença e aumentaram significativamente a produção de grãos (Lakshmanan e Mohan, 1988).



Frederickson e Leuschner (1997) consideram necessário reexaminar o potencial do uso econômico de fungicidas, no controle da doença açucarada do sorgo, em uma única aplicação. De acordo com os pesquisadores, a falta de métodos alternativos para o controle da doença justifica o uso de fungicidas, mesmo com o custo elevado. Eles sugerem um bom potencial de controle da doença açucarada do sorgo através de aplicações mínimas preventivas do fungicida Benomil. O fungicida controlou a severidade inicial e final da doença, quando usado como tratamento preventivo.

No Brasil, vários grupos de fungicidas têm sido testados e nos anos de 1995 e 1996, o grupo dos triazóis foi identificado como potencialmente efetivo para o controle da doença açucarada. Entretanto, os fungicidas testados apresentaram necessidade de uso excessivo e com isso alguns causam fitotoxicidade quando aplicados em dosagens mais elevadas. A Embrapa Milho e Sorgo-Sete Lagoas realizou experimentos com o intuito de selecionar fungicidas para o controle da doença açucarada. Os fungicidas testados foram: Tebuconazole, Benomyl, Mancozeb, Triadimenol, Fentin hydroxi, Metalaxyl + Mancozeb, Tiofanato Metílico e Propiconazole (Pinto, Ferreira e Casela, 1997).

Nos resultados obtidos por Frederickson e Leuschner (1997), os fungicidas apresentaram atividade residual insuficiente para proteger a cultura durante todo o período de florescimento. Ademais, os autores ressaltam que, devido à falta de transpiração das espiguetas, todos os fungicidas sistêmicos utilizados atuaram como fungicidas de contato. No caso da doença açucarada do trigo, por exemplo, tem sido recomendado o Benomil como promissor para o controle da doença (Wiese, 1977).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUÁRIO da Agricultura Brasileira, São Paulo, 1997 p.397-401.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4.ed. New York: J. Wiley, 1997. CAP. 12, p.332- 335.
- ANAHOUSUR, K. H.; PATIL, S. H. Effect of sowing on the incidence of ergot of sorghum. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.35, n.4, p.507-509, Oct-Dec. 1982.
- BANDYOPHADYAY, R. Sorghum ergot. In: MILLIANO, W. A. J.; FREDERIKSEN, R. A.; BERGSTON, G. D. (eds). **Sorghum and millet diseases: a second world review**. Patancheru, Índia: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, p.235-244. 1992.
- BANDYOPHADYAY, R.; MUGHOGHO, L. K.; MANOHAR, S. K.; SATYANARAYANA, M. V. Stroma development, honeydew formation, and conidial production in *Claviceps sorghi*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.80, n.9, p.812-818, Sept. 1990.
- BARBARA, S.I., MANTLE, P.G. Host infection by *Claviceps purpurea*. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, London, v.75, n.01, p.77-90, Jan./Feb. 1980.
- CAMPBELL, W. P. Inhibition of starch formation by *Claviceps purpurea*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.49, n.6, p.451-452, June 1959.
- CHINNADURAI, G. Effect of certain trace elements on the growth and sporulation of *Sphacelia sorghi*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.25, n.4, p.599-600, Oct/Dec. 1972.

- CHINNADURAI, G.; GOVINDASWAMY, C. V. Influence of nitrogen nutrition on the spore size of *Sphacelia sorghi*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.24, n.2. p.177-178, Apr/June 1971.
- CHINNADURAI, G.; GOVINDASWAMY, C. V.; RAMAKRISHNAN, K. Studies on effect of stigmatic exudates of sorghum on the parasitism of *Sphacelia sorghi* McRae. **Phytopathologische Zeitschrift**, v.69, n.1, p.56-63, Jan. 1970.
- DARLINGTON, L. C.; MANTHRE, D. E. Resistance of male sterile wheat to ergot as related to pollination and host genotype. **Crop Science**, Madison, v.16, n.05, p.728-730, sept.-oct. 1976.
- FERREIRA, A. S; CASELA, C. R. Ocorrência de *Claviceps sorghi*, agente causal da doença ergot, no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, p.302, 1995. (Resumo)
- FREDERICKSON, D. E.; LEUSCHNER, K. Potential use of Benomyl for control of ergot (*Claviceps africana*) in sorghum A-lines in Zimbabwe. **Plant Disease**, Washington, v.81, n.8, p.761-765, Aug. 1997.
- FREDERICKSON, D. E.; MANTLE, P. G. The path of infection of sorghum by *Claviceps sorghi*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Bath, v.33, n.3, p.221-234, 1988.
- FREDERICKSON, D. E.; MANTLE, P. G. Windborne spread of ergot disease (*Claviceps africana*) in sorghum A-Lines in Zimbabwe. **Plant Pathology**, Oxford, v.42, n.3, p.368-377, June/July. 1993.

- FREDERICKSON, D. E.; MANTLE, P. G.; MILLIANO, W. A. J. Secondary conidiation of *Sphacelia sorghi* on sorghum, a novel factor in the epidemiology of ergot disease. **Mycological Research**, Cambridge, v.93, n.4, p.497-502, Apr. 1989.
- FREDERICKSON, D. E.; MANTLE, P. G.; MILLIANO, W. A. J. *Claviceps africana* sp. nov.; the distinctive ergot pathogen of sorghum in Africa. **Mycological Research**, Cambridge, v.95, n.9, p.1101-1107, Sept. 1991.
- FUTTRELL, M. C.; WEBSTER, O. J. Host range and epidemiology of the sorghum ergot organism. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.50, n.8, p.828-831, Aug. 1966.
- KHADKE, V.D., MORE, B.B., KONDE, B.K. In vitro evaluation of some fungicides and antibiotics for the control of *Sphacelia sorghi* an incitant of sugary disease of sorghum. **Pesticides**, p.59-60, July 1979.
- KULKARNI, B. G. P.; SESHANDRI, V. S.; HEGDE, R. K. The perfect stage of *Sphacelia sorghi* McRae. **Mysore Journal Agricultural Science**, Bangalore, v.1, n.2, p.286-289, 1976.
- LAKSHMANAN, P.; MOHAN, S. Studies on the effect of various fungicides on *Sphacelia sorghi*. **Pesticides**, p.27-29, Sept. 1988.
- LANGDON, R. G. The genus *Cerebella cesatis* biologic status and use. **Phytopathology**, Saint Paul, v.32, n.07, p.613-617, July, 1942.
- LUTTRELL, E. S. Tissue replacement diseases caused by fungi. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.19, p.373-389, 1981.

- MANTLE , P. G. Studies on *Sphacelia sorghi* McRae, and ergot of *Sorghum vulgare* Pers. **Annals of Applied Biology**, London, v.62, n.3, p.443-449, Sept/Dec. 1968.
- MANTLE, P. G. Production of ergot alkaloids in vitro by *Sphacelia sorghi*. **Journal of General Microbiology**, London, v. 75, n.2, p.275-281, Feb. 1973.
- McLAREN, N. W. Quantifying resistance of sorghum genotypes to the sugary disease pathogen (*Claviceps africana*). **Plant Disease**, Saint Paul, v.76, n.10, p. 986-983, Oct. 1992.
- McLAREN, N. W. Effect of sugary disease exudates on germination, seedling development and predisposition to seedling disease of sorghum (*Sorghum bicolor*). **South African Journal Plant Soil**, Petroria, v.10, n.1, jan-mar., 1993.
- McLAREN, N. W.; WEHNER, F. C. Relationship between climatic variables during early flowering of sorghum and incidence of sugary disease caused by *Sphacelia sorghi*. **Journal of Phytopathology**, v.130, p.82-88, 1990.
- McLAREN, N. W.; WEHNER, F. C. Pre-flowering low temperature predisposition of sorghum to sugary disease (*Claviceps africana*). **Journal of Phytopathology**, v.135, p.328-334, 1992.
- MOLEFE, T. L. Occurrence of ergot on sorghum in Botswana. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.59, n.8, p.751-753, July 1975.

- MOWER, R. L.; HANCOCK, J. G. Mechanism of honeydew formation by *Claviceps* species. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.53, n.12, p.2826-2834, Dec. 1975a.
- MOWER, R. L.; HANCOCK, J. G. Sugar Composition of ergot honeydew. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.53, n.12, p. 2813-2825, Dec. 1975b.
- MUGHOGHO, L. K. Ergot. In: FREDERIKSEN, R. A. (ed.) **Compendium of sorghum diseases**. Saint Paul: American Phytopathological Society, p.39-40, 1986.
- MUSABYIMANA, T.; SEHENE, C.; BANDYOPHADYAY, R. Ergot resistance in sorghum in relation to flowering, inoculation technique and disease development. **Plant Pathology**, Oxford v.44, n.1, p.109-115, Jan/Feb. 1995.
- NAGURAJAN, K.; SARASWATHI, V. Effect of sistematic fungicides on the sugary disease organism *Sphacelia sorghi* McRae. **Sorghum Newsletter**, Saint Paul, v.14, p.41, 1971.
- PINTO, N. F. J. A.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. **Ergot (*Claviceps africana*) ou doença açucarada do sorgo**. (Circular Técnica, 23). Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 24p.
- REDDY, K. D.; GOVINDASWAMY, C. V.; VIDHYASEKARAN, P. Studies on ergot disease of Cumbu (*Pennisetum typhoides*). **Madras Agricultural Journal**, Coimbotore, v.56, n.3, p.367-377, Mar. 1969.

- REIS, E. M.; MANTLE, P. G.; HASSAN, H. A. G. First report in the Americas of sorghum ergot disease, caused by a pathogen diagnosed as *Claviceps africana*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.80, p.463, 1996. (Abstract).
- SANCHEZ, R. L.; SMELTZER, D. G. Sorghum pollen viability. **Crop Science**, Madison, v.5, n.1, p.111-113, Jan/Feb. 1965.
- SANGITRAO, C. S.; BADE, G.H. Morphological studies of sclerotia of sorghum ergot. **Sorghum Newsletter**, Saint Paul, v.22, p.108-110, 1979.
- STEPHENS, J. C.; QUIMBY, J.R. Anthesis, pollination, and fertilization of sorghum. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.49, n.2, p.123-136, 1934.
- SUDARAM, N. V. Natural occurrence of *Sphacelia sorghi* on *Pennisetum typhoides*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.27, n.1, p.124-125, Jan/Mar. 1974.
- SUDARAM N. V. Sorghum ergot. In: **Sorghum diseases, a world review: Proceedings of the International Workshop on Sorghum Diseases**, 11-15 Dec 1978, ICRISAT, Hyderabad, India. Patancheru, Andhra Pradesh 502325, India: International Crops Research Institute for the Semi-arid Tropics, 1980, p.377-379.
- THAKUR, R. P.; WILLIAMS, R. J.; RAO, V. P. Control of ergot in pearl millet through pollen management. **Annals of Applied Biology**, London, v.103, n.1, p.31-36, Jan/Abr., 1983.

THAKUR, R. P.; WILLIAMS, R. J. Pollination effects on pearl millet ergot. **Phytopathology**, Saint Paul, v.70, n.1, p. 80-84, Jan. 1980.

WIESE, M. V. Ergot. In: WIESE, M. V. (ed.) **Compedium of wheat diseases**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1977. p.14-16.

WILLINGALE, J.; MANTLE, P. G.; THAKUR, R. P. Post pollination stigmatic constriction, the basis of ergot resistance in selected lines of pearl millet. **Phytopathology**, Saint Paul, v.76, n.6, p.536-539, June 1986.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE MACROCONÍDIOS DE *Sphacelia* spp.

RESUMO

NOGUEIRA, Sônia Regina. Caracterização morfológica de macroconídios de *Sphacelia* spp. In: __. Caracterização morfológica e germinação *in vitro* de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae, agente causal da doença açucarada do sorgo. Lavras: UFLA, 1998. Cap. 1, p.30-44. (Dissertação Mestrado em Fitopatologia).

O gênero *Sphacelia* tem sido relatado por infectar diferentes espécies de gramíneas, causando exsudação nas panículas, sintoma característico da doença açucarada. O papel destes hospedeiros na epidemiologia da doença açucarada do sorgo causada por *Sphacelia sorghi* McRae, não é bem conhecido. Muitos autores afirmam que hospedeiros secundários constituem uma das principais fontes de inóculo para a doença. Nos Laboratórios de Fitopatologia (Departamento de Fitopatologia) e de Microbiologia do Solo (Departamento de Ciências do Solo) da Universidade Federal de Lavras, foram feitas observações microscópicas de lâminas contendo conídios de diferentes hospedeiros (*Sorghum bicolor*, *Brachiaria mutica*, *B. brizantha*, *Panicum maximum*, *Lolium multiflorum*, *Pennisetum typhoides*, *Cenchrus ciliaris* e *Echinochloa colonum*) com o intuito de se conhecer e caracterizar morfológicamente conídios de *Sphacelia* spp destes hospedeiros, procedentes de diferentes regiões. Os resultados indicaram que os conídios são morfológicamente diferentes entre si, com relação a tamanho e forma. Características como presença de vacúolos e grânulos foram comuns aos diversos tipos de conídios.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF *Sphacelia* spp. MACROCONIDIA.

The genus *Sphacelia* has been reported infecting different species of grasses, causing exudation in the panicles, which is a characteristic symptom of the sugary disease. The role of these hosts in the epidemiology of the sorghum's sugary disease, caused by *Sphacelia sorghi* McRae, is not well known. Many authors affirm that secondary hosts constitute one of the main sources of inoculum for the disease. In order to know and morphologically characterize *Sphacelia* spp. conidia from different regions, microscopic analyses of laminas

containing conidia from different hosts (*Sorghum bicolor*, *Brachiaria mutica*, *B. brizantha*, *Panicum maximum*, *Lolium multiflorum*, *Pennisetum typhoides*, *Cenchrus ciliaris* e *Echinochloa colomum*) were performed in the Laboratories of Phytopathology (Department of Phytopathology) and of Microbiology of the Soil (Department of Soil Sciences) at the Universidade Federal de Lavras. The results indicated that the conidia are morphologically different among themselves, as related to size and shape. Characteristics like presence of vacuoles and granules were common to the many types of conidia.

1 INTRODUÇÃO

A epidemiologia da doença açucarada envolve infecções primárias com ascosporos aéreos, liberação direta dos conídios presentes na mela, insetos vetores e por hospedeiros secundários presentes nas proximidades do campo de cultivo (Futtrell e Webster, 1966).

A ocorrência do gênero *Claviceps* em sorgo tem sido relatada na África do Sul por vários pesquisadores. McRae, em 1917, descreveu *Sphacelia sorghi* em sorgo no estado de Madras, na Índia. Ajrekar em 1926, relatou o mesmo fungo em sorgo em Bombay, também na Índia, onde o mesmo encontrou escleródios imaturos contaminados pelo fungo *Cerebella* (Bandyopadhyay, 1992).

Barbara e Mantle (1980) têm observado *Sphacelia* em *Andropogon caricosus* var. *mollicomus*, *A. annulatus*, *Pennisetum alopecuros* e *Ischaemum pilosum*. Escleródios do fungo foram encontrados em *P. alopecuros*.

Ramakrishan, citado por Futtrell e Webster (1966), relatou *Sphacelia* em *Panicum ramosum* em Coimbatore. Kulkarni, Seshandri e Hegde (1976) afirmam que uma correta identificação das espécies de *Claviceps* somente pode ser feita, após a germinação do escleródio e observação da morfologia

do estroma, peritécio, asca e ascosporos. Como a germinação de escleródios não tem sido conseguida facilmente, não existe comprovação de que a espécie que infecta os diversos tipos de capins seja *Sphacelia sorghi* McRae, já que a descrição tem sido feita apenas com base em observações dos conídios presentes na mela destes hospedeiros.

No Brasil, vários são os capins que apresentam exsudação da mela, estando entre estes, *Panicum maximum*, *Cenchrus ciliaries*, *Pennisetum americanum* (Pinto, Ferreira e Casela, 1997), *Brachiaria brizantha*, *B. mutica* (Fernandes, Fernandes e Bezerra, 1995), *Lolium multiflorum* (Luca Filho et al., sd).

Fernandes, Fernandes e Bezerra (1995) verificaram a ocorrência de mela em inflorescências de *Brachiaria* spp., no Estado de Mato Grosso do Sul. Em laboratório identificaram o patógeno na forma imperfeita, com base nas características dos conídios, como *Sphacelia* sp; sendo que o estágio teleomórfico não foi obtido.

De acordo com Luca Filho et al. (sd), o azevém (*Lolium multiflorum*) é uma das espécies vegetais mais frequentemente encontrada nos campos do Rio Grande do Sul, utilizada na alimentação animal, especialmente de bovinos, eqüinos e ovinos. Vários são os fungos que podem ser encontrados associados às sementes de azevém, entre estes o gênero *Claviceps*. Os pesquisadores acreditam que a espécie que infecta o azevém seja *Claviceps purpurea*, devido à presença de alcalóides nos escleródios formados, tendo em vista que sementes contaminadas pelo fungo causaram surto de ergotismo em cavalos puro-sangue inglês, no município de Bagé, mas nenhum estudo de comprovação do gênero ainda foi realizado.

A falta da comprovação de espécies de *Sphacelia* nos vários hospedeiros, exige estudo da caracterização deste fungo e a caracterização morfológica torna-se fator primário no reconhecimento do gênero. Geralmente esta caracterização é feita com base na observação de conídios, através da sua morfologia e aspectos da germinação (Mantle e Hassan, 1974).

O estudo morfológico em microscópio óptico permite acompanhar e identificar características do macroconídio, como tamanho, forma, presença de hilo, vacúolo e manchas de óleo, identificando eventuais espécies que ocorrem nos diversos hospedeiros. Este trabalho teve como objetivo avaliar estas características para o seu uso na separação de possíveis espécies de *Sphacelia*, observados em microscópio óptico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Medição dos macroconídios

No Laboratório do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, foram analisadas panículas de diferentes hospedeiros recobertas com a mela da doença açucarada, obtidas de 3 localidades, descritas na Tabela 1. A partir dos grãos recobertos, foram preparadas lâminas, através da técnica de raspagem, para observação das características dos macroconídios em microscópio óptico .

TABELA 1. Hospedeiros de *Sphacelia* sp. e sua procedência. UFLA, Lavras - MG, 1998.

HOSPEDEIRO	PROCEDÊNCIA	AMOSTRA
<i>Sorghum bicolor</i>	Sete Lagoas - MG	S#1
<i>S. bicolor</i>	Passo Fundo - RS	S#2
<i>S. bicolor</i>	Capinópolis - MG	S#3
<i>Panicum maximum</i>	Sete Lagoas - MG	Co#1
<i>P. maximum</i>	Passo Fundo - RS	Co#2
<i>Echinochloa colonum</i>	Sete Lagoas - MG	Cz#1
<i>Brachiaria mutica</i>	Sete Lagoas - MG	Br#1
<i>B. brizantha</i>	Passo Fundo - RS	Br#2
<i>Pennisetum typhoides</i>	Passo Fundo - RS	M#1
<i>Cenchrus ciliaries</i>	Passo Fundo - RS	Ch#1
<i>Lolium multiflorum</i>	Passo Fundo - RS	A#1

De cada hospedeiro, foram preparadas 4 lâminas e medidos 25 conídios (macroconídios) por lâmina, perfazendo um total de 100 conídios medidos. As medições foram feitas com ajuda de um micrômetro acoplado a ocular do microscópio, sendo medidos largura e comprimento dos conídios. Utilizou-se a objetiva com resolução de 40x.

2.2 Morfologia dos macroconídios

As lâminas preparadas para as medições foram também utilizadas para observação da forma dos conídios. No Laboratório de Microbiologia do Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal Lavras, as lâminas foram fotomicrografadas em máquina fotográfica acoplada a microscópio óptico, utilizando-se a objetiva com resolução de 40x.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da Tabela 2 mostram que o tamanho dos macroconídios é diferente para os diversos hospedeiros e, para um mesmo hospedeiro, o tamanho dos conídios pode ser diferenciado devido à influência do local e condições de cultivo, como composição e quantidade de nutrientes fornecidos à cultura e condições climáticas durante o seu desenvolvimento.

TABELA 2. Tamanho de macroconídios de *Sphacelia* spp. de diferentes hospedeiros. UFLA, Lavras - MG, 1998.

Amostra	Comprimento (μm) [*]				Largura (μm)			
	Mín.	Méd.	Máx.	D. P.	Mín.	Méd.	Máx.	D. P.
Co#1	22,49	31,18	39,98	3,23	7,14	9,59	12,50	1,28
Co#2	14,64	19,55	23,21	1,96	6,43	8,61	11,78	1,30
Br#1	20,71	26,84	34,99	2,93	5,36	7,59	10,71	1,08
Br#2	15,71	22,25	29,63	2,61	3,21	5,43	7,85	1,02
S#1	14,99	20,95	26,06	2,40	4,64	8,26	11,07	1,29
S#2	19,64	23,05	28,56	1,85	7,85	10,54	12,85	1,07
S#3	16,07	21,05	26,78	1,96	4,28	8,01	11,07	1,38
Cz#1	22,85	31,81	40,70	4,03	6,43	8,91	11,42	1,12
A#1	6,78	10,47	14,28	1,46	1,79	3,62	5,36	0,81
Ch#1	23,56	32,43	39,27	3,66	3,57	5,50	9,28	1,22
M#1	19,28	26,62	35,70	3,30	5,36	8,78	13,57	1,48

* Valor mínimo (Mín.); Valor médio (Méd.); Valor máximo (Máx.) e Desvio Padrão (D. P.).

A forma e tamanho dos macroconídios de diferentes hospedeiros estão descritos a seguir:

Sorgo (*Sorghum bicolor*): Os macroconídios presentes na mela da doença açucarada nos grãos de sorgo são hialinos, elípticos ou oblongos,

ligeiramente constrictos no meio e mostrando vacúolos e grânulos bem visíveis e distintos nas extremidades (Figura 2).

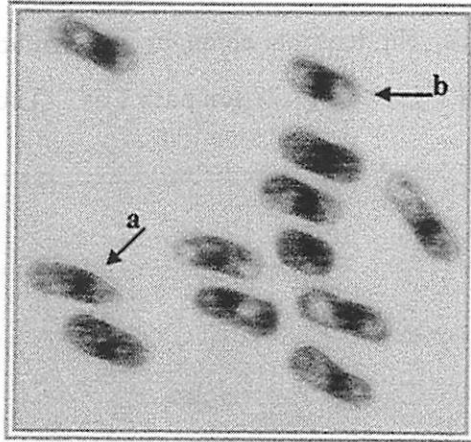


FIGURA 2. Forma e característica dos macroconídios presentes na mela de panículas de sorgo (*Sorghum bicolor*). A - grânulos; b - vacúolos. UFLA, Lavras-MG, 1998.

O tamanho dos macroconídios presentes nas panículas de sorgo variou, conforme a procedência da cultura. Os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que os conídios medem em média: 20,95 x 8,26 μm para S#1; 23,05 x 10,54 μm para S#2 e 21,05 x 8,01 μm para S#3. O tamanho dos conídios de *S. sorghi* avaliados neste trabalho são superiores aos descritos por Frederickson, Mantle e Milliano (1991), onde os autores apresentam tamanho dos conídios variando de 12-20 x 5-8 μm .

Estudos realizados *in vivo* por Chinnadurai e Govindaswamy (1971) indicam que a forma e tamanho dos conídios varia com a quantidade de nitrogênio na cultura substrato; e Chinnadurai (1972) observou que micro - elementos afetam o crescimento e esporulação do estágio conidial. Estes são fatores que podem explicar a diferença no tamanho de conídios entre os mesmos hospedeiros.

Capim Colonião (*Panicum maximum*): Macroconídios do fungo da doença açucarada presentes em panículas de capim colonião, procedentes de 2 locais diferentes foram analisados. Conforme observado na Figura 3, os conídios são hialinos, elípticos ou oblongos e tamanho médio de 31,18 x 12,50 µm para Co#1 e 19,55 x 11,78 µm para Co#2 (Tabela 2).



FIGURA 3. Forma e característica dos macroconídios presentes na mela de panículas de capim colonião (*Panicum maximum*). UFLA, Lavras-MG, 1998.

Brachiaria (*Brachiaria mutica* e *Brachiaria brizantha*): A forma e tamanho dos macroconídios de *Sphacelia* em *B. mutica* (Br#1) e *B. brizantha* (Br#2) diferem sensivelmente entre si. De acordo com a Figura 4A, os macroconídios presentes na panícula de *B. mutica* são hialinos, oblongos com ápice arredondado, ligeiramente constrictos no meio e tamanho médio de 26,84 x 7,59 µm (Tabela 2). Já os macroconídios presentes na mela nas panículas *B. brizantha* são hialinos, elípticos, alantóides (levemente curvados nos ápices) e apresentam grânulos e vacúolos bem característicos, distintos nas extremidades (Figura 4B). Possuem tamanho médio de 22,25 x 5,43 µm (Tabela 2).

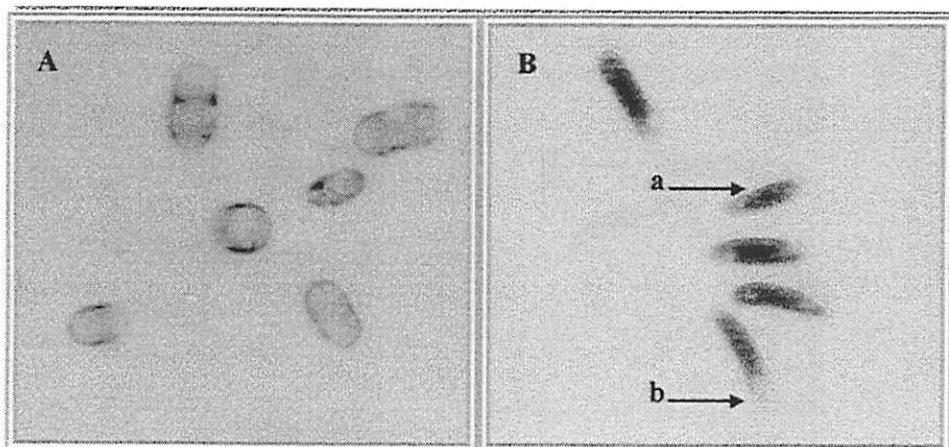


Figura 4 Forma e característica dos macroconídios presentes na mela de panículas de *Brachiaria* sp.; A – *B. mutica*; B – *B. brizanta*. a – grânulos; b – vacúolos. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Capim Carrapicho (*Cenchrus ciliaris*): A observação das lâminas feitas a partir da mela presente nas panículas de *C. ciliaris* mostrou que os macroconídios do fungo são hialinos, não oblongos, com ápice arredondado e vacúolos nítidos distintos na sua extremidade (Figura 5A). Têm tamanho médio de 32,43 x 5,50 μm (Tabela 2).

Milheto (*Pennisetum typhoides*): A Figura 5B mostra conídios de *Sphacelia* sp. presentes na mela de panículas de milho. Nota-se a germinação dos macroconídios e a presença de microconídios (hialinos e esféricos). Também pode ser observado a presença de conídios secundários (hialinos e piriformes). Os macroconídios possuem tamanho médio de 26,62 x 8,78 μm (Tabela 2), são hialinos, elípticos, com grânulos e vacúolos bem visíveis nas extremidades. As características dos conídios presentes na mela em panículas de milho, descritas por Sudaram (1974), são similares aos resultados obtidos neste trabalho.

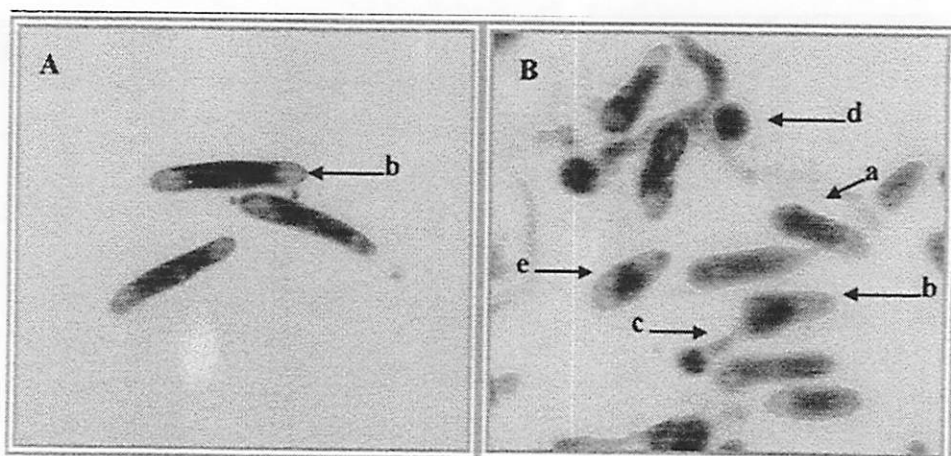


Figura 5. Forma e característica dos macroconídios presentes na mela de panículas de *Cenchrus ciliaries* (A) e *Penisetum typhoides* (B). a – grânulos; b – vacúolos; c – germinação de macroconídio; d – microconídio; e – conídio secundário. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Coloniãozinho (*Echinochloa colonum*): Os macroconídios encontrados nas panículas de coloniãozinho com a doença açucarada têm tamanho médio de 31,81 x 8,91 μm (Tabela 2), são hialinos, não ovais, oblongos, com presença marcante de grânulos e vacúolos (Figura 6A).

Azevém (*Lolium multiflorum*): A análise da mela presente em panículas de azevém revelou que os macroconídios de *Sphacelia* que infectam este hospedeiro são os que apresentaram menor tamanho médio, 10,47 x 3,62 μm (Tabela 2). Os conídios são hialinos, oblongos e/ou elípticos, ligeiramente constrictos no meio. Possuem formato bastante semelhante aos conídios encontrados nas panículas de sorgo (Figura 6B).

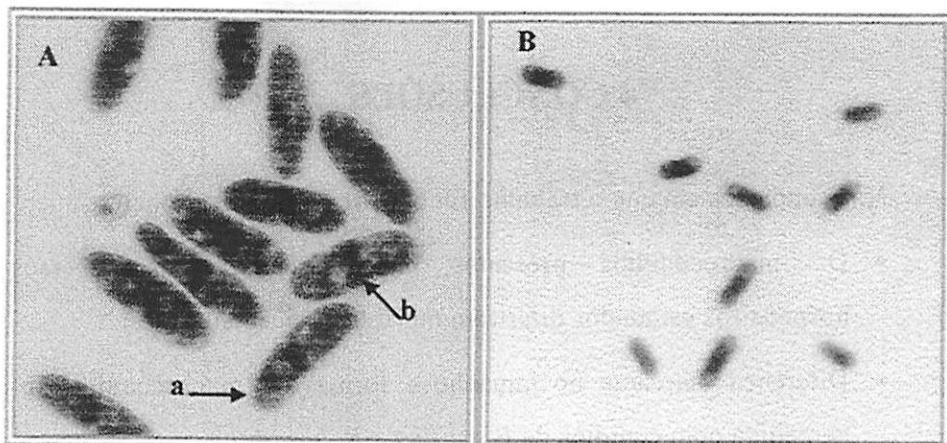


FIGURA 6. Forma e característica dos macroconídios presentes na mela de panículas de *Echinochloa colonum* (A) e *Lolium multiflorum* (B). a – grânulos; b – vacúolos. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Apesar dos macroconídios dos diferentes hospedeiros terem sido diferenciados morfológicamente, este estudo não é suficiente para afirmar que cada hospedeiro é infectado por uma espécie diferente do fungo. O tamanho e forma dos conídios de *S. sorghi* são influenciados pelo genótipo e espécie do hospedeiro, condições climáticas e condições de cultivo durante o desenvolvimento da cultura (Chinnadurai e Govindaswamy, 1971; Chinnadurai, 1972).

A comprovação de espécies do fungo deve ser feita com base em inoculações cruzadas e comparação da fase perfeita, bem como a germinação dos escleródios. É sabido que a germinação dos escleródios, neste gênero, não tem sido conseguida facilmente e, assim, diferenças morfológicas dos conídios constituem a primeira evidência para diferenciação de prováveis espécies do fungo (Futtrell e Webster, 1966; Reddy, Govindaswamy, e Vidhyasekaran, 1969).

4 CONCLUSÕES


Nas condições em que o trabalho foi conduzido pode-se concluir que:

- Os macroconídios presentes nas panículas dos diversos hospedeiros estudados diferiram morfológicamente entre si.
- Diferença marcante no tamanho e forma dos macroconídios foi percebida com conídios de *B. mutica* e *B. brizantha*.
- Características como genótipo e espécie do hospedeiro, bem como condições climáticas e de cultivo das plantas hospedeiras, podem influenciar na morfologia dos conídios de *S. sorghi*.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BANDYOPHADYAY, R. *Sorghum ergot*. In: MILLIANO, W. A. J.; FREDERIKSEN, R. A.; BERGSTON, G. D. (eds). **Sorghum and millet diseases: a second world review**. Patancheru, Índia: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, p.235-244. 1992.
- BARBARA, S.I., MANTLE, P.G. Host infection by *Claviceps purpurea*. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, London, v.75, n.1, p.77-90, Jan./Feb. 1980.
- CHINNADURAI, G. Effect of certain trace elements on the growth and sporulation of *Sphacelia sorghi*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.25, n.4, p.599-600, Oct/Dec. 1972.

- CHINNADURAI, G.; GOVINDASWAMY, C. V. Influence of nitrogen nutrition on the spore size of *Sphacelia sorghi*. **Indian Phytopathology**, v.24, n.2, p.177-178, Apr/June, 1971.
- FERNANDES, C.D., FERNANDES, A.T.F., BEZERRA, J.L. "Mela": Uma nova doença em sementes de *Brachiaria* spp. no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, n.3, p.501-503, 1995.
- FREDERICKSON, D. E.; MANTLE, P. G.; MILLIANO, W. A. J. *Claviceps africana* sp. nov.; the distinctive ergot pathogen of sorghum in Africa. **Mycological Research**, Cambridge, v.95, n.9, p.1101-1107, Sept. 1991.
- FUTTRELL, M. C.; WEBSTER, O. J. Host range and epidemiology of the sorghum ergot organism. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.50, n.8, p.828-831, Aug. 1966.
- KULKARNI, B. G. P.; SESHANDRI, V. S.; HEGDE, R. K. The perfect stage of *Sphacelia sorghi* McRae. **Mysore Journal Agricultural Science**, Bangalore, v.1, n.2, p.286-289, 1976.
- LUCCA FILHO, O. A, PORTO, M. D. M, PIEROBON, C. R., DUTRA, L. M. C., MENDONÇA, L. I. Ocorrência de escleródios de *Claviceps purpurea* em sementes fiscalizadas de azevém (*Lolium multiflorum* L.) produzidas no Estado do Rio Grande do Sul. (PRIVADO)
- MANTLE, P. G., HASSAN, H. A. G. Widening geographical distribution of *Claviceps africana*, an important ovary pathogen of grain sorghum. **ISMN**, v.35, p.97-98, 1974.



PINTO, N. F. J. A.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Ergot (*Claviceps africana*) ou doença açucarada do sorgo. (Circular Técnica, 23). Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 24p.

REDDY, K. D.; GOVINDASWAMY, C. V.; VIDHYASEKARAN, P. Studies on ergot disease of Cumbu (*Pennisetum typhoides*). **Madras Agricultural Journal**, Coimbotore, v.56, n.3, p.367-377, Mar. 1969.

SUDARAM, N. V. Natural occurrence of *Sphacelia sorghi* on *Pennisetum typhoides*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.27, n.1, p.124-125, Jan/Mar. 1974.

CAPÍTULO 2

GERMINAÇÃO *in vitro* DE CONÍDIOS DE *Sphacelia sorghi* McRae

RESUMO

NOGUEIRA, Sônia Regina. Germinação *in vitro* de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae. In:____. Caracterização morfológica e estudo da germinação *in vitro* de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae, agente causal da doença açucarada do sorgo. Lavras: UFLA, 1998. Cap 2, p.45-69. (Dissertação Mestrado em Fitopatologia).

A doença açucarada do sorgo, causada pelo fungo *Sphacelia sorghi* McRae, é uma doença de lesão local, ocorrendo somente nos floretes, provocando uma exsudação das panículas infectadas. A doença tem maior importância nas lavouras produtoras de sementes híbridas, devido à exposição por maior tempo dos estigmas nas linhas macho estéreis durante a antese. A disseminação do fungo é feita por respingos de água, pelo vento através da liberação direta dos conídios presentes na mela, por sementes recobertas com a exsudação e por insetos vetores atraídos pela mela. Trabalhos de epidemiologia da doença açucarada têm indicado que os conídios de *S. sorghi* constituem o principal inóculo da doença. Com base nestas observações, o estudo da germinação dos conídios, bem como fatores que a influenciam, têm grande importância no conhecimento da infecção. Este trabalho teve como objetivo, estudar a germinação *in vitro* e alguns dos fatores que podem estimular ou inibir este processo. Os resultados indicam que os conídios requerem fonte extra de energia, sendo que a sacarose aumentou a germinação. Os fungicidas Mancozeb, Triadimenol e Propiconazole foram os mais eficazes para inibir a germinação *in vitro* dos conídios de *S. sorghi*.

ABSTRACT

***IN VITRO* GERMINATION OF *Sphacelia sorghi* McRae CONIDIA.**

The sorghum's sugary disease caused by the fungus *Sphacelia sorghi* McRae, is a local lesion disease, occurring only in the rapiers, causing exudation of the infected panicles. The disease is more important in the hybrid-seed producing fields, due to the higher period of stigmas in the sterile male lines during the anthesis. The dissemination of the fungus is done by, a) water sparkling; b) wind through the direct release of the conidia present in the

honeydew; c) seeds covered by the exudation; and d) vector insects attracted by the honeydew. Epidemiology studies of the sugary disease indicative that the *S. sorghi* conidia have been the main source of inoculum of the disease. Based in these observations, the study of the germination of the conidia, as well as of the factors that may influence it, is very important for the knowledge of the infection. This work aimed to study the *in vitro* germination and some factors that can stimulate or inhibit this process. The results indicate that the conidia require an extra energy source, and the sucrose increased the rate of germination. The fungicides Mancozeb, Triadimenol and Propiconazole were the most efficient to inhibit the *in vitro* germination of the *S. sorghi* conidia.

1 INTRODUÇÃO

Desde o relato da ocorrência da doença açucarada do sorgo no Brasil, sua incidência vem aumentando, causando redução significativa na produção de grãos e na viabilidade das sementes.

A doença açucarada é uma doença de lesão local e afeta somente o ovário dos floretes individuais na panícula (colonizando-os) (Luttrell, 1980). No florete infectado, o fungo forma um estroma, produzindo conídios que exsudam gotas açucaradas atrativas a insetos vetores. Nesta exsudação, estão presentes milhões de esporos viáveis (Luttrell, 1981).

O líquido exsudado é constituído por uma alta concentração de açúcares higroscópicos e por uma massa de conídios altamente infectivos (Mughogho, 1986). Segundo Mower e Hancock (1975), vários açúcares são encontrados na mela de espécies de fungos causadores da doença açucarada, entre eles sacarose, glicose e frutose, e alguns monossacarídeos, dissacarídeos e oligossacarídeos.

Estudos *in vitro* realizados por Chinnadurai, Govindaswamy e Ramakrishanan (1970), avaliaram o efeito individual e em mistura de

açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos na germinação de conídios de *S. sorghi*, verificando que entre os açúcares testados, a sacarose foi encontrada em maior quantidade nas variedades suscetíveis.

Segundo Chinnadurai (1972), *S. sorghi* necessita de um meio de cultura específico para o seu crescimento. O meio comumente usado é o meio de cultura Kirchoff (sacarose, asparagina, sulfato de magnésio, fosfato monobásico de potássio e ágar) (Nagurajan e Saraswathi, 1971). De acordo com Chinnadurai e Govindaswamy (1971), os conídios deste fungo necessitam de fonte de carbono e nitrogênio para uma germinação mais eficiente.

A ação de alguns fungicidas, bem como sua eficácia no controle do patógeno, têm sido primeiramente avaliada em condições de laboratório por testes de germinação *in vitro* (Khadke, More e Konde, 1979).

Existem vários fatores que influenciam a germinação dos conídios de *S. sorghi*. O conhecimento destes fatores que estimulam ou inibem a germinação dos conídios é de fundamental importância no controle da doença, tendo em vista que os conídios são citados como o principal inóculo do patógeno (Frederickson, Mantle e Milliano, 1991). O presente trabalho objetivou a avaliação da germinação dos conídios em condições de laboratório.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do inóculo

Neste trabalho foi estudada a germinação de conídios de um isolado monospórico de *S. sorghi* obtidos de panículas de sorgo, recobertas com a mela da doença açucarada, proveniente da Embrapa Milho e Sorgo - Sete Lagoas.

Panículas de sorgo, infectadas com o agente causador da doença açucarada foram coletadas de campos de cultivo da Embrapa Milho e Sorgo/Sete Lagoas. Grãos recobertos com a mela foram retirados das panículas e colocados em tubos de ensaio contendo 10 ml de água destilada e esterilizada, obtendo-se uma suspensão de esporos. A concentração inicial era de aproximadamente 10^9 conídios/ml. A suspensão foi diluída até 10^3 conídios/ml, para facilitar a obtenção de uma cultura monospórica. Foram pipetadas alíquotas de 1 ml desta suspensão e distribuídas em placas de Petri contendo ágar-água 2%, sendo espalhados nas placas, com o auxílio de uma espátula de Drigalsky. As placas foram incubadas à temperatura de 21 - 22 °C, para que os conídios pudessem germinar.

As placas foram observadas sob microscópio estereoscópico e, cerca de 7 horas após a incubação, alguns conídios tinham germinado. Estes conídios foram retirados isoladamente das placas, através de um micro-manipulador acoplado à objetiva do microscópio e colocados, de forma individual, em placas de Petri contendo meio Kirchoff, obtendo, assim, culturas monospóricas do fungo *S. sorghi*. As culturas foram crescidas por 7 dias para produção de conídios.

2.2 Estimulação da germinação

No Laboratório do Departamento de Fitopatologia - DFP da Universidade Federal de Lavras - UFLA, foi preparada uma suspensão de conídios, a partir de cultura fúngica oriunda da Embrapa Milho e Sorgo, através da adição de 10 ml de água destilada e esterilizada nas placas e raspagem superficial da cultura, com o auxílio de uma alça de platina. A suspensão foi filtrada em gase esterilizada. A concentração final de conídios no filtrado foi ajustada para 2×10^4 conídios/ml, determinada com o uso de um hemocítômetro. Este procedimento foi adotado para que a avaliação do experimento não fosse prejudicada, devido à alta concentração de conídios presentes nas culturas do fungo. Foram colocados 15 μ l desta suspensão em cavidades de lâminas contendo 15 μ l das soluções combinadas: 0 e 1% de asparagina com 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 15% de sacarose em 4 repetições.

As lâminas foram colocadas assepticamente em câmara úmida, constituída de placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo 2 folhas de papel de filtro, umedecidos com água destilada e esterilizada e mantidas em câmara de crescimento, com luminosidade e temperatura controladas.

A germinação *in vitro* foi avaliada após 12 horas de incubação, em condições de luminosidade artificial contínua e no escuro, à temperatura de 25 ± 1 °C. Decorrido o tempo de incubação, o processo de germinação foi paralisado com o uso de lactofenol + azul de amam. As lâminas foram observadas ao microscópio óptico para contagem e determinação do percentual de geminação, sendo que em cada lâmina foram observados 8 campos, contando-se o número de conídios germinados e não germinados.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos incompletos, num esquema fatorial (2 níveis de asparagina x 7 níveis de sacarose x 2

níveis de luminosidade + testemunhas). Cada placa de Petri, contendo 4 dos 32 tratamentos, constituiu um bloco. Os dados observados foram submetidos à análise de variância, considerando-se os efeitos da luminosidade, concentração de sacarose e asparagina, bem como a interação entre estes fatores. Nos casos em que as fontes de variação foram significativas, aplicou-se testes de médias pelo Teste de Tukey, considerando-se o nível de 5% de probabilidade (Pimentel Gomes, 1985).

2. 3 Inibição química da germinação

Neste trabalho, os tratamentos foram constituídos por seis fungicidas em sete concentrações. O experimento completo foi dividido em 12 etapas, usando-se 2 fungicidas diferentes em cada, com duas repetições.

Em cada experimento (etapa) foi adicionada uma testemunha (padrão de germinação) constituída por solução de sacarose 10%, asparagina 1%, sulfato de magnésio 0,25% e fosfato monobásico de potássio 1%. Os fungicidas utilizados foram Tebuconazole, Propiconazole, Triadimenol, Triadimefon, Futriafol e Mancozeb (Tabela 3) nas concentrações de 10, 30, 50, 80, 100, 150 e 200 ppm, em diluição na solução usada como testemunha.

TABELA 3. Produto comercial e especificações técnicas dos fungicidas usados na avaliação da inibição química da germinação de conídios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

Fungicida	Prod. comercial (p.c.)	Modo de ação	Concent. do i.a.	Dosagem do p.c. (g/ha)*
Mancozeb	Manzate 800	Contato	800g/Kg	50
Triadimenol	Bayfidan CE	Sistêmico	250g/l	160
Tebuconazole	Folicur PM	Sistêmico	250g/Kg	160
Propiconazole	Tilt	Sistêmico	250g/l	160
Triadimefon	Bayleton BR	Sistêmico	250g/Kg	160
Flutriafol	Impact	Sistêmico	125g/l	320

* Para diluição em 400 l de calda (recomendação para a cultura do sorgo), obtendo assim, uma concentração de 100 ppm do ingrediente ativo.

A metodologia de montagem foi a mesma do experimento anterior. As lâminas foram observadas em microscópio óptico comum para contagem do número de conídios germinados e não germinados, sendo avaliados quatro campos por lâmina.

A eficiência dos fungicidas testados foi avaliada através do percentual de germinação do tratamento, em relação ao controle utilizado em cada experimento. Para cada experimento, o delineamento utilizado foi o de blocos incompletos com 2 repetições em esquema fatorial (2 fungicidas x 7 concentrações + testemunhas). Os dados observados foram submetidos à análise de variância, considerando-se os efeitos de experimento, fungicida e concentração, bem como as interações entre os fatores. Nos casos em que as fontes de variação foram significativas aplicou-se testes de médias pelo Teste de Tukey, considerando-se o nível de 5% de probabilidade para os tratamentos qualitativos (Fungicidas testados); e no caso de tratamentos quantitativos (concentrações dos fungicidas), ajustou-se equações de

regressão seguindo-se recomendações de Pimentel Gomes (1985) e de Banzato e Kronka (1995).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estimulação da germinação

A partir da análise de variância apresentada na Tabela 4, observa-se que a porcentagem de germinação dos conídios foi significativamente maior para as lâminas mantidas no escuro. Os valores de germinação referentes aos regimes de luminosidade estudados podem ser visualizados na Figura 7.

TABELA 4. Análise de variância para o experimento de estimulação da germinação de conídios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

Causas de Variação	G.L.	Q. M.	F
PLACA(LUZ)	30	255,8028	2,046 ^{***}
Luz [L]	1	5823,4936	46,586 ^{***}
Asparagina [A]	1	529,3549	4,235 [*]
L x A	1	1142,0011	9,136 ^{***}
Asparagina no Escuro	1	455,3406	3,643 ^{ns}
Asparagina no Claro	1	1216,0154	9,728 ^{***}
Testemunha Vs Sacarose [T]	1	561,9800	4,496 [*]
Interação [L x T]	1	735,28069	5,882 [*]
Testemunha Vs Sacarose no Escuro	1	982,65960	7,861 ^{***}
Testemunha Vs Sacarose no Claro	1	314,60108	2,517 ^{ns}
Interação [A x T]	1	111,2687	0,890 ^{ns}
Interação [(L x A) x T]	1	0,8338	0,007 ^{ns}
Sacarose [S]	6	130,1635	1,041 ^{ns}
Interação [L x S]	6	83,9969	0,672 ^{ns}
Interação [A x S]	6	388,4989	3,108 ^{***}
Interação [L x A x S]	6	115,1146	0,921 ^{ns}
Resíduo	66	125,0051	

C.V. = 22,60

Média = 49,48

^{ns} não significativo; * significativo a 5%; ** significativo a 1%; C.V. Coeficiente de Variação (%).

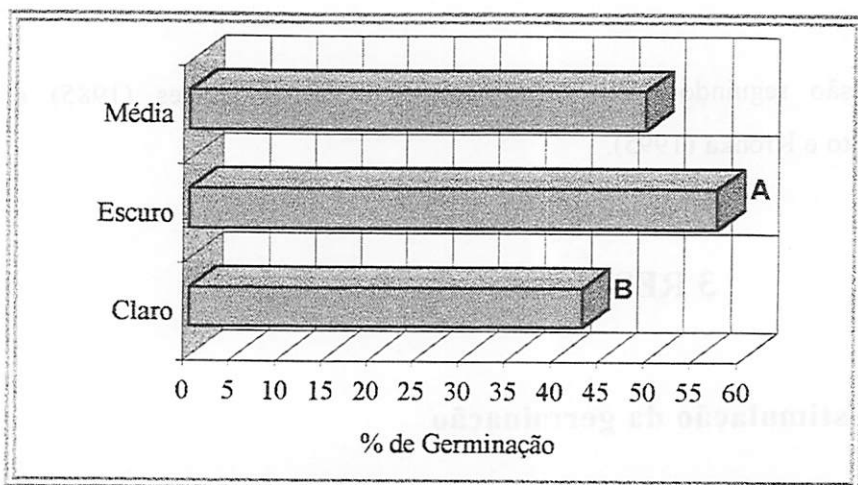


FIGURA 7. Germinação de conídios de *S. sorghi* em meio de cultura Kirchoff após 12 horas de incubação na presença e ausência de regime de luz. UFLA, Lavras - MG, 1998.

* Médias seguidas de letras distintas são estatisticamente diferentes (Tukey a 5%).

O uso de asparagina reduziu a porcentagem de germinação dos conídios. Para as lâminas mantidas no claro, o percentual de germinação foi significativamente maior naqueles tratamentos com ausência de asparagina, o mesmo não sendo observado para as lâminas mantidas no escuro (Figura 8).

A asparagina é um dos componentes do meio de cultura Kirchoff, comumente utilizado para o crescimento de culturas do fungo *S. sorghi in vitro*. O efeito da asparagina em associação com os outros componentes do meio não foi estudado, podendo assim, ocorrer uma interação entre estes fatores, o que justifica o seu uso.

Chinnadurai, Govindaswamy e Ramakrishnan (1970), estudando o efeito de aminoácidos, perceberam que o seu uso é fundamental para estimular a germinação dos conídios de *S. sorghi* e que estes apresentam algumas preferências de utilização. Os pesquisadores observaram que os

isolados por eles estudados apresentaram pouca atividade de asparaginase, utilizando preferencialmente o ácido glutâmico, a glutamina e arginina como fonte de nitrogênio.

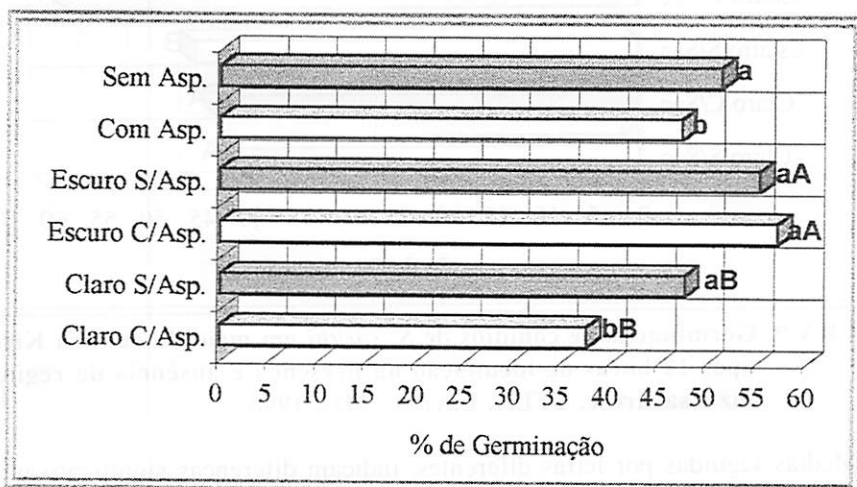


FIGURA 8. Germinação de conídios de *S. sorghi* em meio de cultura Kirchoff após 12 horas de incubação na presença e ausência de regime de luz e de asparagina. UFLA, Lavras - MG, 1998.

** Letras minúsculas diferenciam o efeito da asparagina num nível fixo de luminosidade e letras maiúsculas diferenciam o efeito da luminosidade num nível fixo de Asparagina.

Os resultados indicam que, para aqueles tratamentos considerados como testemunha (0% de sacarose), a porcentagem de germinação foi estatisticamente inferior quando comparados àqueles tratamentos onde foi fornecida fonte extra de carbono (Figura 9). No entanto, não foi observada diferença significativa entre as diversas concentrações de sacarose utilizadas (Tabela 4).

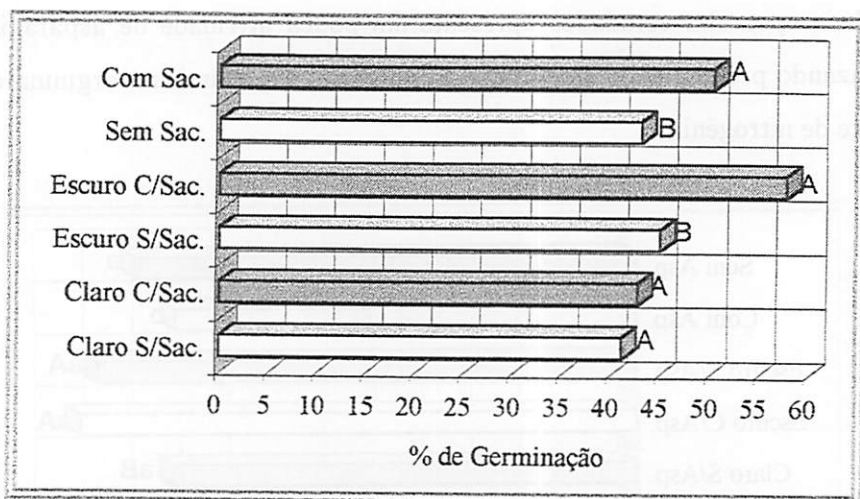


FIGURA 9. Germinação de conídios de *S. sorghi* em meio de cultura Kirchoff após 12 horas de incubação na presença e ausência de regime de luz e sacarose. UFLA, Lavras - MG, 1998.

*** Médias seguidas por letras diferentes, indicam diferenças significativas entre médias de sacarose em níveis fixos de luminosidade.

Na ausência de luz, o uso de sacarose e asparagina estimulou o processo de germinação, demonstrando assim, efeito sinérgico entre estes fatores. Os conídios de *S. sorghi* requerem fonte extra de energia para germinarem. Os resultados obtidos neste trabalho confirmam informações de Frederickson, Mantle e Milliano (1991) e de Chen et al. (1995), onde os pesquisadores afirmam que os conídios de *S. sorghi* requerem alta umidade relativa, temperaturas em torno de 25 °C, ausência de luminosidade e tempo superior a 12 horas, para germinarem nos tecidos do hospedeiro.

Chinnadurai, Govindaswamy e Ramakrishnan (1970) estudando o efeito de açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos no parasitismo de *S. sorghi*, observaram que, apesar dos conídios de *S. sorghi* necessitarem de fonte extra de carbono para germinar, parece não haver diferenças marcantes

quando glicose, frutose e sacarose são usadas na indução da germinação dos conídios.

Análise de filtrados da cultura do sorgo por cromatografia de papel, indicam que a sacarose é rapidamente hidrolisada para glicose e frutose (Mantle, 1973). O autor conclui que a composição dos elementos pode ajudar na patogênese de *S. sorghi*. O ácido glutâmico, por exemplo, aumenta a suscetibilidade de plântulas de centeio à *Claviceps purpurea* (Lewis, 1962).

Os conídios de *S. sorghi* requerem, portanto, fonte extra de carbono e nitrogênio para a germinação. Esta afirmação pode ser observada tanto na panícula em infecções naturais, como no estudo *in vitro* da germinação (Mantle, 1973; Lewis, 1962; Chinnadurai, Govindaswamy e Ramakrishnan, 1970; Frederickson, Mantle e Milliano, 1991; Nogueira e Castro, 1997).

3.2 Inibição química da germinação

Como pode ser verificado na análise de variância apresentada na Tabela 5, os resultados obtidos no presente trabalho indicam que há diferenças entre os diversos fungicidas testados no controle da geminação e que sua eficiência é dependente da concentração utilizada.

Com base nas concentrações utilizadas, as maiores porcentagens de inibição da germinação foram conseguidos com o uso dos fungicidas Mancozeb, Triadimenol e Propiconazole. Os fungicidas Tebuconazole, Triadimefon e Flutriafol apresentaram menor eficiência, necessitando de dosagens mais elevadas para inibir totalmente a germinação (Tabela 6)

TABELA 5. Análise da variância para os experimentos de inibição química da germinação de conídios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

Causa de Variação	G.L.	Q. M.	F
Repetição(Experimento)	12	112,7834	1,93 *
Placa(Experimento x Repetição)	72	52,3481	0,90 ^{ns}
Experimento [E]	11	2795,2472	47,84**
Fungicida [F]	5	14563,4487	249,26**
Concentração [C]	6	2043,3422	34,97**
Interação [E x F]	7	2438,4105	41,74**
Interação [E x C]	66	94,5061	1,62 *
Interação [F x C]	30	144,7106	2,48**
Conc/Fung. Mancozeb			
Regressão	1	0,3605	0,01 ^{ns}
Desvio da regressão	5	0,0453	0,001 ^{ns}
Conc/Fung. Triadimenol			
Regressão	1	3986,9573	68,24 **
Desvio da regressão	5	103,9275	1,78 ^{ns}
Conc/Fung. Propiconazole			
Regressão	1	2396,3031	41,01 **
Desvio da modelo	5	132,1114	2,26 ^{ns}
Conc/Fung. Tebuconazole			
Regressão	1	4469,7965	76,50 **
Desvio da regressão	5	131,7833	2,26 ^{ns}
Conc/Fung. Triadimefon			
Regressão	1	6458,4315	110,54 **
Desvio da regressão	5	27,3502	0,47 ^{ns}
Conc/Fung. Flutriafol			
Regressão	1	843,7498	14,44 **
Desvio da regressão	5	26,5772	0,46 ^{ns}
Interação [E x F x C]	42	56,6051	0,97 ^{ns}
Resíduo	84	58,4265	
Total	335		

C.V. = 9,39 Média = 81,41

^{ns} não significativo; * significativo a 5%; ** significativo a 1%; C.V. Coeficiente de Variação (%).

TABELA 6. Médias de controle da germinação de conídios de *S. sorghi* submetidos a 6 fungicidas em sete concentrações. UFLA, Lavras - MG, 1998.

Conc. ppm	Fungicidas Testados					
	Mancozeb	Triadimenol	Propiconazole	Tebuconazole	Triadimefon	Flutriafol
10	99,71A	74,20B	73,60B	53,05C	51,91C	52,22C
30	100,00A	88,94A	93,17A	59,12B	62,86B	52,80B
50	100,00A	95,30A	98,75A	60,48BC	71,63B	56,86C
80	100,00A	100,00A	100,00A	66,61C	78,63B	56,91C
100	100,00A	100,00A	100,00A	76,83B	78,83B	57,15C
150	100,00A	100,00A	100,00A	82,94B	81,77B	58,22C
200	100,00A	100,00A	100,00A	86,43B	84,51B	65,96C

Médias na linha seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%

Para o fungicida Mancozeb, não foram detectadas diferenças significativas entre as diversas concentrações testadas. Na Tabela 6, observa-se que o fungicida inibe totalmente a germinação dos conídios, a partir das primeiras concentrações utilizadas, onde 10 ppm do fungicida (menor concentração testada) o controle foi de 99,71%. Pela análise de variância (Tabela 5), nota-se que a equação de regressão que descreve a inibição da germinação, em função da quantidade presente do fungicida, não apresentou ajuste. Este fato deve-se principalmente ao alto poder de controle apresentado pelo produto.

Anahousur (1980) investigou a possibilidade do controle químico da doença açucarada em sorgo na Índia, concluindo que pulverizações repetidas de Mancozeb são efetivas para reduzir a incidência e disseminação da doença no campo.

Os fungicidas Triadimenol e Propiconazole apresentaram resultados semelhantes na inibição da germinação dos conídios de *S. sorghi*. As

equações de regressão que descrevem o comportamento da ação de cada um dos fungicidas, em função das concentrações (Figuras 10 e 11), tiveram um ajuste razoável ($R^2=0,8847$ e $0,7839$ respectivamente), entretanto, o desvio da regressão não foi significativo (Tabela 5). O controle seguro da germinação, baseado no ajuste da regressão, pode ser conseguido com concentrações acima de 120 ppm, para o fungicida Triadimenol e acima de 110 ppm, para o fungicida Propiconazole.

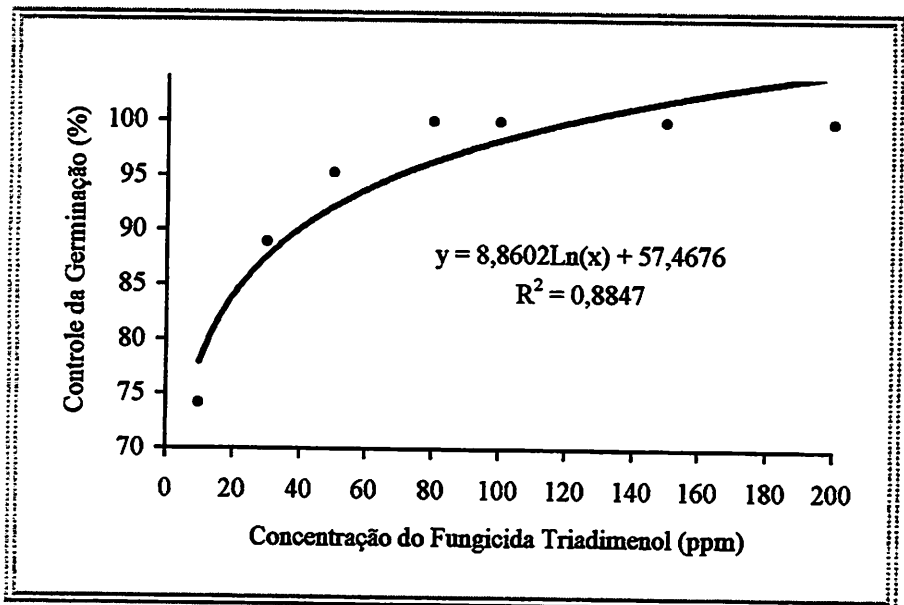


FIGURA 10. Efeito da concentração do fungicida Triadimenol no controle da germinação de conídios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

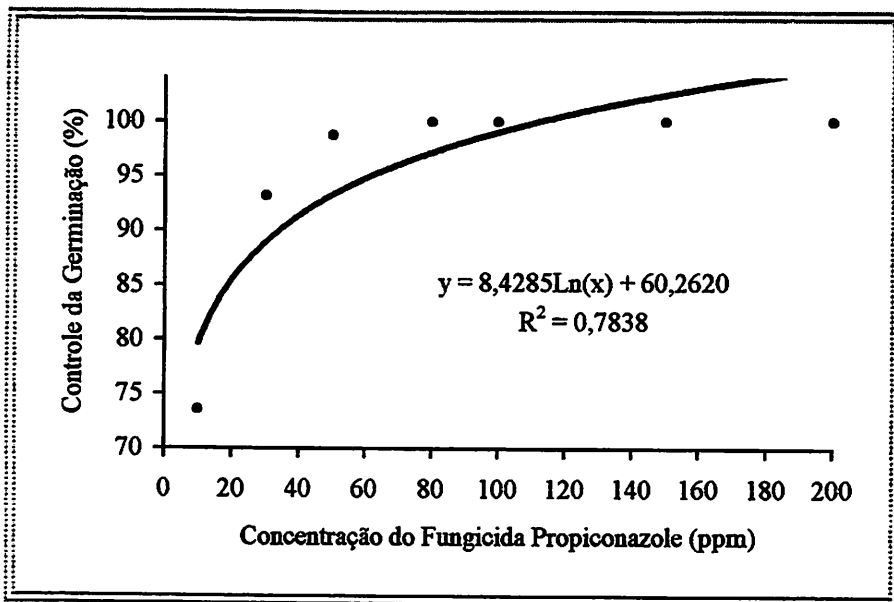


FIGURA 11. Efeito da concentração do fungicida Propiconazole no controle da germinação de conídios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

Os fungicidas Tebuconazole e Triadimefon inibiram em cerca de 85% a germinação dos conídios, quando estes foram submetidos à concentração máxima de fungicida usada neste estudo (Tabela 6). O ajuste das equações de regressão que descrevem o controle em função das concentrações dos fungicidas foi significativo (Tabela 5), apresentando um ajuste melhor que os anteriores (Figuras 12 e 13).

Observando os resultados apresentados na Tabela 6, verifica-se que a concentração de 200 ppm do fungicida Flutriafol inibiu 65,96% a germinação dos conídios. O ajuste da equação de regressão que descreve o percentual de controle da germinação, em função das concentrações deste fungicida, foi significativo com um $R^2=0,8639$ (Figura 14).

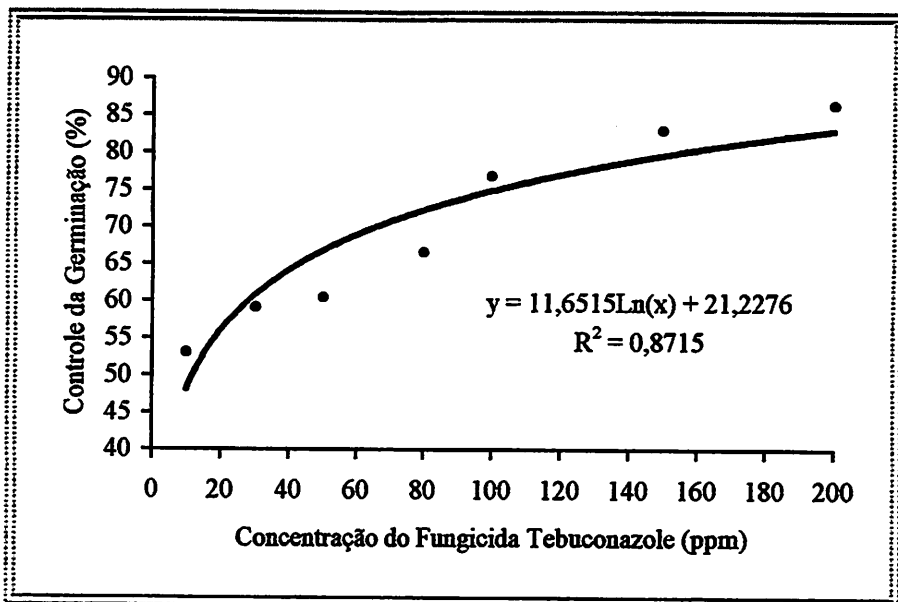


FIGURA 12. Efeito da concentração do fungicida Tebuconazole no controle da germinação de conídios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

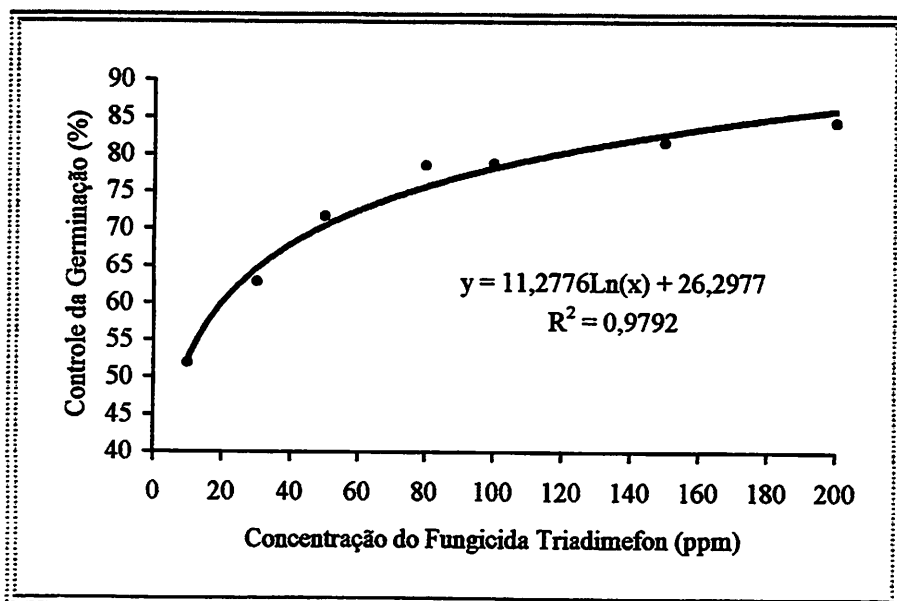


FIGURA 13. Efeito da concentração do fungicida Triadimefon no controle da germinação de conídios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

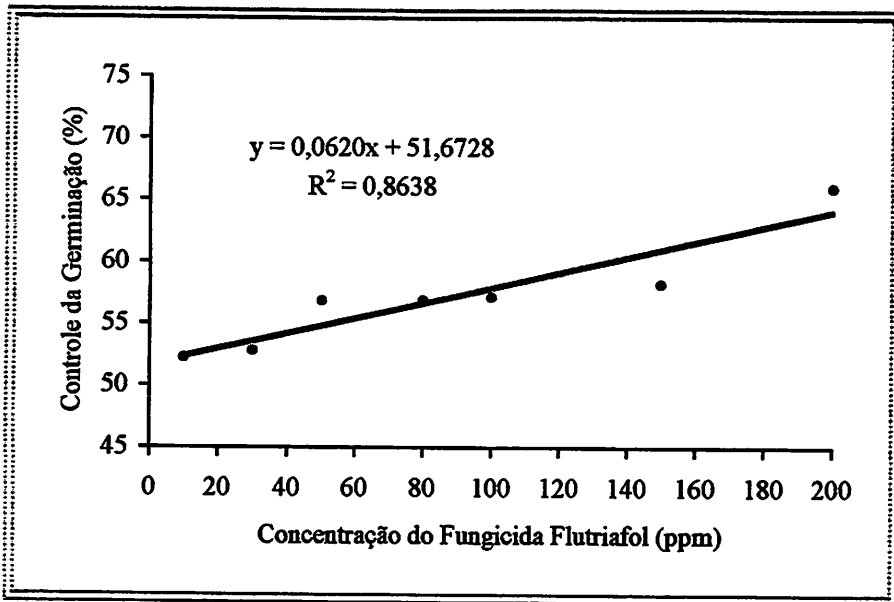


FIGURA 14. Efeito da concentração do fungicida Flutriafol no controle da germinação de esporangios de *S. sorghi*. UFLA, Lavras - MG, 1998.

A resistência genética do hospedeiro é a técnica mais eficiente de controle de um determinado patógeno. Segundo Willingale, Mantle e Thakur (1986), o conhecimento do florescimento das plantas de sorgo é essencial para se entender o desenvolvimento da doença, sendo que o período de suscetibilidade das panículas ocorre durante a antese. Portanto, o florescimento das panículas deve ser bem estudado, pois, é um fator de suscetibilidade, variando com as condições de ambiente e com o genótipo da planta. A falta de materiais de sorgo comprovadamente resistentes, faz com que o uso de fungicidas torne-se a única estratégia eficiente de controle à doença açucarada, até o momento.

O uso de fungicidas para o controle da germinação *in vitro* dos esporangios de *S. sorghi* mostrou-se eficiente. Todos os fungicidas testados apresentaram bom potencial de controle. A análise estatística mostrou que os

fungicidas que não inibiram totalmente a germinação na concentração máxima utilizada, apresentam aumento de controle com o aumento da dosagem, indicando assim que concentrações mais altas destes produtos poderão inibir totalmente a germinação dos conídios.

McLaren (1993) estudou a eficácia de fungicidas sistêmicos, bem como o tempo de aplicação destes produtos, no controle da doença açucarada do sorgo, concluindo que os fungicidas têm pouco efeito residual, portanto, protegem as panículas por pouco tempo. Entre os fungicidas testados pelo pesquisador, o Tebuconazole apresentou pouca eficiência no controle, já o Triadimenol, demonstrou redução no número de panículas infectadas, concordando com os resultados encontrados neste trabalho.

Experimentos realizados pela Embrapa Milho e Sorgo, mostram que o fungicida Tebuconazole, em dosagens mais altas, foi o mais eficiente no controle da doença, seguido pelo fungicida Triadimenol. A utilização de Propiconazole também apresentou boa redução no número de espiguetas infectadas. O uso do fungicida Mancozeb, em condições de campo, não apresentou resultados satisfatórios. Os resultados revelaram que a redução da doença foi baixa, em plantas inoculadas natural ou artificialmente antes da aplicação do produto, demonstrando assim, que nenhum dos fungicidas testados apresentam propriedade curativa. Os fungicidas Triadimefon e Flutriafol não foram testados em campo (Pinto, Ferreira e Casela, 1997).

Apesar da recomendação de fungicidas estar muitas vezes baseada em testes *in vitro* que avaliam a capacidade do produto em inibir diretamente o crescimento, esporulação e germinação de conídios de um determinado patógeno, podem haver diferenças na ação destes compostos em testes de laboratório, quando comparados à aplicação em campo, ocasião em que o

microorganismo encontra-se associado ao hospedeiro (Agrios, 1996; Johnston e Booth, 1983).

Nos testes *in vitro* de inibição da germinação, o contato do fungicida com os conídios é direto e em tempo integral e, então, o produto não encontra nenhum tipo de barreira que possa dificultar o seu modo de ação. Estes são fatores que podem explicar a ação diferenciada dos compostos químicos no controle da doença açucarada, quando testados em laboratório e em campo (Deacon, 1997).

Um dos fatores limitantes para o uso de fungicidas, no controle da doença açucarada do sorgo, é justamente o número de aplicações requeridas para um controle eficiente, o que aumenta significativamente o custo de produção da cultura. Com base nestas observações o uso de fungicidas tem sido recomendado principalmente para lavouras produtoras de sementes híbridas, onde as plantas são mais propensas à infecção, devido ao uso de linhas macho estéreis.

Para os fungicidas testados no controle da doença açucarada do sorgo, está comprovado que apenas uma aplicação do produto não é suficiente para controlar a doença, devido ao fato de que o período de suscetibilidade da planta ocorre durante toda a antese. Portanto, este é o período requerido de aplicação dos fungicidas, para um controle mais eficiente, tendo em vista que durante o intervalo de aplicação, novo inóculo pode atingir as espiguetas (Pinto, Ferreira e Casela, 1997).

Outro problema enfrentado pelos produtores de sementes é a falta de fungicidas recomendados e registrados para o controle da doença. Muitas vezes, os fungicidas que se comportam como altamente eficientes no controle, podem apresentar problema de fitotoxicidade. Por isso, a investigação de



produtos que possam controlar eficientemente a doença, com um número menor de aplicações, torna-se fundamental.

4 CONCLUSÕES

Nas condições em que o trabalho foi conduzido pode-se concluir que:

- No escuro, ocorre maior germinação dos conídios de *S. sorghi*.
- A sacarose aumentou significativamente o percentual de germinação.
- O uso isolado de asparagina ou em associação com sacarose não apresentou efeito promotor significativo na germinação dos conídios.
- O uso de fungicidas inibiu a germinação dos conídios *in vitro*.
- O fungicida Mancozeb, seguido por Triadimenol e Propiconazole, foram os mais eficientes na inibição da germinação dos conídios de *S. sorghi in vitro*

5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 4th. San Diego: Academic Press. 1996. 635p.

ANAHOUSUR, K. H.; PATIL, S. H. Effect of sowing on the incidence of ergot of sorghum. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.35, n.4, p.507-509, Oct./Dec. 1982.

UNIVERSITY OF SÃO PAULO
BIBLIOTECA DE ZOOLOGIA E BOTÂNICA
R. DO MATÃO, 155 - JARDIM BOTÂNICO - SÃO PAULO - SP

BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.

CHEN, C. W.; TZENG, D. D. S.; LIN, C. Y.; YEH, Y.; YANG, T. C. Effect of temperature, light illumination and water potential on spore germination, mycelial growth and sporulation of sorghum ergot fungus *Sphacelia sorghi*. **Plant Pathology Bulletin**, Changhua, v.4, n.3, p.121-128, 1995.(Abstract).

CHINNADURAI, G. Effect of certain trace elements on the growth and sporulation of *Sphacelia sorghi*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.25, n.4, p.599-600, Oct/Dec. 1972.

CHINNADURAI, G.; GOVINDASWAMY, C. V. Influence of nitrogen nutrition on the spore size of *Sphacelia sorghi*. **Indian Phytopathology**, v.24, n.2, p.177-178, Apr/June. 1971.

CHINNADURAI, G., GOVINDASWAMY, C. V., RAMAKRISHNAN, K. Studies on effect of stigmatic exudates of sorghum on the parasitism of *Sphacelia sorghi* McRae. **Phytopathologische Zeitschrift**, v.69, n.1, p.56-63, 1970.

DEACON, J. W. **Introduction to Modern Mycology**. 3th., Blackwell, Oxford, 1997. 303p.

FREDERICKSON, D. E.; MANTLE, P. G.; MILLIANO, W. A. J. *Claviceps africana* sp. nov.; the distinctive ergot pathogen of sorghum in Africa. **Mycological Research**, Cambridge. v.95, n.9, p.1101-1107, Sept. 1991.

- JOHNSTON, A.; BOOTH, C. (ed.) **Plant Pathologist's Pocketbook**. 2th. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1983, 439p.
- KHADKE, V.D.; MORE, B.B.; KONDE, B.K. *In vitro* evaluation of some fungicides and antibiotics for the control of *Sphacelia sorghi* an incitant of sugary disease of sorghum. **Pesticides**, p.59-60, July. 1979.
- LEWIS, R. W. Effects of some metabolites on the susceptibility of rye to *Claviceps purpurea*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 52, n.2, p. 269-277, Feb. 1962.
- LUTTRELL, E. S. Host-parasite relationships and development of the ergot sclerotium in *Claviceps purpurea*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.58, n.6, p.942-958, June 1980.
- LUTTRELL, E. S. Tissue replacement diseases caused by fungi. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.19, p.373-389, 1981.
- MANTLE, P. G. Production of ergot alkaloids in vitro by *Sphacelia sorghi*. **Journal of General Microbiology**, London, v. 75, n.2, p.275-281, Feb. 1973.
- McLAREN, N. W. Effect of sugary disease exudats on germination, seedling development and predisposition to seedling disease of sorghum (*Sorghum bicolor*). **Plant Growth**, v.10, n.1, 1993.
- MOWER, R. L.; HANCOCK, J. G. Sugar Composition of ergot honeydew. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.53, n.12, p. 2813-2825, Dec. 1975.

- MUGHOGHO, L. K. Ergot. In: FREDERIKSEN, R.A. (ed.). **Compendium of sorghum diseases**. Saint Paul: American Phytopathological Society, p.39-40, 1986.
- NAGURAJAN, K.; SARASWATHI, V. Effect of sistematic fungicides on the sugary disease organism *Sphacelia sorghi* McRae. **Sorghum Newsletter**, Saint Paul, v.14, p.41, 1971.
- NOGUEIRA, S. R.; CASTRO, H. A. Efeito da sacarose e asparagina na germinação de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.290, Ago. 1997. (Suplemento).
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística experimental**. 11 ed., Piracicaba: Livraria Nobel, 1985. 466p.
- PINTO, N. F. J. A.; FERREIRA, A.S.; CASELA, C. R. Ergot (*Claviceps africana*) ou doença açucarada do sorgo. (Circular Técnica, 23). Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 24p.
- WILLINGALE, J.; MANTLE, P. G.; THAKUR, R. P. Postpollination stigmatic constriction, the basis of ergot resistance in selected lines of pearl millet. **Phytopathology**, Saint Paul, v.76, n.5, p.536-539, May. 1986.

DISCUSSÃO GERAL

A disseminação do fungo *S. sorghi*, agente causal da doença açucarada do sorgo, é feita por respingos de água, por insetos vetores, pelo vento, por restos culturais e por hospedeiros secundários presentes na área de cultivo do sorgo (Futtrell e Webster, 1966). Vários autores têm estudado o papel dos hospedeiros secundários na epidemiologia da doença, mas muitos aspectos ainda são desconhecidos, resultando na necessidade de se estudar e conhecer os possíveis hospedeiros alternativos para o patógeno (Reddy, Govindaswamy e Vidhyasekaran 1969; Ramakrishnan citado por Futtrell e Webster 1966; Sudaram 1974).

A caracterização realizada neste trabalho mostrou que os conídios de *Sphacelia* spp. são morfológicamente diferentes para cada hospedeiro analisado. Na literatura referente à doença açucarada, encontramos relatos que explicam estes resultados. Chinnadurai e Govindaswamy (1971) afirmam que a forma e tamanho dos conídios de *Sphacelia* spp. são influenciados por fatores como genótipo ou espécie do hospedeiro, nutrição e condições climáticas, as quais a cultura é submetida durante o seu desenvolvimento.

Diversos autores concordam que a caracterização das espécies só pode ser feita através do estudo comparativo do fungo na sua fase perfeita (Kulkarni, Seshandri e Hegde, 1976). No entanto, com o gênero *Sphacelia*, esta comprovação é dificultada, considerando que a germinação dos escleródios formados pelo fungo não tem sido conseguida facilmente (Mower e Hancock, 1975). Entretanto, o estudo de caracterização morfológica de conídios pode ser o primeiro passo para a diferenciação de espécies neste gênero. Uma vez observada a semelhança dos conídios, nos diversos capins

infectados pelo fungo, torna-se necessário o estudo de inoculações cruzadas para se comprovar, com precisão, hospedeiros secundários de *S. sorghi*.

O estudo de fatores que estimulam ou inibem a germinação dos conídios é fundamental para o conhecimento da epidemiologia ou ciclo de infecção e controle da doença. É sabido que os conídios de *S. sorghi* requerem fonte extra de energia para germinarem e o uso de sacarose, como fonte de carbono, demonstrou um aumento significativo na porcentagem de germinação (Nogueira e Castro, 1997).

Técnicas de controle da doença açucarada do sorgo são ainda restritas. A resistência do hospedeiro é um método prático e econômico para controle de doenças, entretanto, para a doença açucarada do sorgo, ainda não existem materiais comprovadamente resistentes (Musabyimana, Sehene e Bandyopadhyay, 1995). As medidas de controle visam, principalmente, a proteção dos sítios de infecção e a redução das fontes de inóculo, o que tem sido conseguido com o uso de fungicidas.

De acordo com Khadke, More e Konde (1979), vários fungicidas têm sido testados *in vitro* e em campo no controle da doença açucarada, sendo que a maioria tem apresentando bom potencial de controle. Contudo, nem sempre o resultado conseguido *in vitro* é reproduzível em campo, devido ao fato de que as condições de campo como tempo de contato dos conídios com o fungicida, é diferente daquele usado em condições de laboratório, além de os conídios na panícula estarem mais protegidos da ação do fungicida. Outro fator que dificulta o controle da infecção é o curto tempo de ação dos produtos, considerando-se que nas panículas não ocorre absorção de produtos químicos; pela ausência de transpiração, todo fungicida tem ação de contato (Pinto, Ferreira e Casela, 1997).

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- CHINNADURAI, G.; GOVINDASWAMY, C. V. Influence of nitrogen nutrition on the spore size of *Sphacelia sorghi*. **Indian Phytopathology**, v.24, n.2, p.177-178, Abr/June. 1971.
- FUTTRELL, M. C.; WEBSTER, O. J. Host range and epidemiology of the sorghum ergot organism. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.50, n.8, p.828-831, Aug. 1966.
- KHADKE, V.D., MORE, B.B., KONDE, B.K. *In vitro* evaluation of some fungicides and antibiotics for the control of *Sphacelia sorghi*, an incitant of sugary disease of sorghum. **Pesticides**, p.59-60, July 1979.
- KULKARNI, B. G. P.; SESHANDRI, V. S.; HEGDE, R. K. The perfect stage of *Sphacelia sorghi* McRae. **Mysore Journal Agricultural Science**, Bangalore, v.1, n.2, p.286-289, 1976.
- MOWER, R. L.; HANCOCK, J. G. Mechanism of honeydew formation by *Claviceps* species. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.53, n.12, p.2826-2834, Dec. 1975.
- MUSABYIMANA, T.; SEHENE, C.; BANDYOPHADYAY, R. Ergot resistance in sorghum in relation to flowering, inoculation technique and disease development. **Plant Pathology**, Oxford v.44, n.1, p.109-115, Jan-Feb., 1995.
- NOGUEIRA, S. R.; CASTRO, H. A. Efeito da sacarose e asparagina na germinação de conídios de *Sphacelia sorghi* McRae. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, p.290, ago., 1997. (Suplemento).

PINTO, N. F. J.; FERREIRA, A.S.; CASELA, C. R. Ergot (*Claviceps africana*) ou doença açucarada do sorgo. (Circular Técnica, 23). Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 24p.

REDDY, K. D.; GOVINDASWAMY, C. V.; VIDHYASEKARAN, P. Studies on ergot disease of Cumbu (*Pennisetum typhoides*). **Madras Agricultural Journal**, Coimbotore, v.56, n.3, p.367-377, Mar. 1969.

SUDARAM, N. V. Natural occurrence of *Sphacelia sorghi* on *Pennisetum typhoides*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.27, n.1, p.124-125, Jan/Mar. 1974.