

CLÁUDIO BELMINO MAIA

**MICROBIOTA DE PLANTAS AQUÁTICAS INVASORAS NAS BACIAS DOS
RIOS DOCE E SÃO FRANCISCO COM ÊNFASE NO CONTROLE
BIOLÓGICO DA TABOÁ (*Typha domingensis* Pers.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de "Magister Scientiae".

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2000

Aos meus pais Cosme Ferreira Maia e
Maria Belmino Chaves Maia.
DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter criado todas as coisas, pelas bênçãos derramadas a todo instante para a realização deste trabalho, a Ele toda honra, toda adoração e toda glória.

À minha família, pelo incentivo, apoio e confiança e principalmente a minha irmã Ivonilde e ao meu cunhado Alísio pelo constante incentivo e pela ajuda nos momentos mais difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos e pela oportunidade para realização do Curso.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudo.

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

Ao Professor Robert Weingart Barreto, pela orientação e ensinamentos durante a condução deste trabalho.

Aos Professores Luiz Antônio Maffia e Francisco Alves Ferreira, pelo aconselhamento, colaboração e amizade.

Aos amigos Jefferson, Claudine, Denise, Kátia e Fabrício, pela ajuda e pelo convívio agradável.

A minha esposa Claudia, pelo companheirismo e ajuda durante todo o mestrado.

Ao amigo Rogério, pela amizade e colaboração durante os levantamentos e identificação dos fungos.

Aos colegas, José Orlando, Bruno, Gustavo, Ponês, Ademir, Hugo, Fellipe, Rita, Sueli, Dedé e Célio, pela ajuda prestada durante a realização deste trabalho e a convivência agradável no Laboratório da Clínica de Doenças de Plantas da UFV.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, Délio, Camilo, Cecília, Regina, Jésus, José Carlos, seu Nozinho, Jorge e Brás, pela amizade, colaboração e convívio.

Aos colegas de curso, pela convivência e amizade demonstradas.

Às Professoras Maria Nenmaura Gomes Pessoa e Carmem Dolores Gonzaga Melo, da Universidade Federal do Ceará, pelo incentivo.

Aos profissionais José Emilson Cardoso, Francisco das Chagas Freire, Raimundo Nonato de Oliveira, pelo incentivo e amizade.

Às empresa CAF e ACESITA, pelo apoio durante a expedição de coleta no Parque Estadual do Rio Doce.

Aos irmãos da Igreja Assembléia de Deus Missão de Viçosa, pelo apoio e oração para conclusão deste trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

CLÁUDIO BELMINO MAIA, filho de Cosme Ferreira Maia e Maria Belmino Chaves Maia, nasceu em 14 de maio de 1970, em Limoeiro do Norte, Ceará.

Em julho de 1997, concluiu o curso de graduação em Agronomia, pela Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, Ceará.

Em março de 1998, iniciou o curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa - UFV, em Viçosa, Minas Gerais.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1.....	5
LEVANTAMENTO DA MICROBIOTA ASSOCIADA A MACRÓFITAS AQUÁTICAS INVASORAS FLUTUANTES NAS BACIAS DOS RIOS DOCE E SÃO FRANCISCO.....	5
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
2.1 Logística do levantamento.....	7
2.2 Procedimento de coleta.....	10
2.3 Triagem do material e isolamento.....	10
2.4 Formação de coleção viva e fixada de fungos fitopatogênicos.....	11
2.5 Esclarecimento da taxonomia dos fungos obtidos.....	11
2.6 Teste de patogenicidade.....	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
3.1 Resultado do levantamento.....	13
3.2 Descrição de Doença e dos fungos associados a <i>Typha</i> <i>domingensis</i>	18

	Página
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	33
CAPÍTULO 2.....	35
AVALIAÇÃO DE <i>Colletotrichum typhae</i> COMO MICOHERBICIDA PARA <i>Typha domingensis</i>	35
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.1 Efeito da temperatura e da luz na germinação de esporos de <i>Colletotrichum typhae</i>	37
2.2 Efeito da temperatura e da luz no crescimento radial de colônias de <i>C. typhae</i> em meio de cultura.....	38
2.3 Confecção de uma escala de notas.....	38
2.4 Efeito do período de molhamento foliar e da temperatura na infecção de <i>Typha domingensis</i> por <i>Colletotrichum</i> <i>typhae</i>	40
2.5 Teste de especificidade ou gama de hospedeiros de <i>Colletotrichum typhae</i>	40
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.1 Efeito da luz no crescimento radial e na germinação de esporos de <i>Colletotrichum typhae</i> em meio de cultura.....	42
3.2 Efeito da temperatura no crescimento radial e na germinação de esporos de <i>Colletotrichum typhae</i> em meio de cultura.....	44
3.3 Efeito do período de molhamento foliar e da temperatura na infecção de <i>Typha domingensis</i> por <i>Colletotrichum typhae</i>	47
3.4 Teste de especificidade ou gama de hospedeiros.....	50
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	54
RESUMO E CONCLUSÕES.....	56
REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

RESUMO

MAIA, Cláudio Belmino, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2000. **Micobiota de plantas aquáticas invasoras nas bacias dos Rios Doce e São Francisco com ênfase no controle biológico da taboa (*Typha domingensis* Pers.)**. Orientador: Robert Weingart Barreto. Conselheiros: Luiz Antônio Maffia e Francisco Alves Ferreira.

Esse trabalho objetivou: a) Levantar a micobiota associada às seguintes espécies: aguapé (*Eichhornia crassipes*); alface d'água (*Pistia estratiotes*); canavieira (*Echinochloa polystachya*); aguapé de cordão (*Eichhornia azurea*); taboa (*Typha domingensis*); capim barrigudo (*Paspalum repens*); pinheirinho d'água (*Myriophyllum aquaticum*); cataia gigante (*Polygonum spectabile*); tripa de sapo (*Alternanthera phylloxeroides*); salvinia (*Salvinia auriculata*); nas bacias dos Rios Doce e São Francisco. b) Avaliar, preliminarmente o potencial de *Colletotrichum typhae* como micoherbicida para *T. domingensis*. Na bacia do Rio Doce foram coletadas 44 amostras e na do São Francisco coletaram-se 63 amostras de plantas aquáticas apresentando sintomas de doença. Em toda a extensão mediana e inferior do Rio Doce, todas as plantas alvo foram encontradas, à exceção de capim barrigudo. No Rio São Francisco encontraram-se todas as plantas alvo com exceção de *M. aquaticum*. Associados a *T. domingensis* foram identificados os fungos *C. typhae*, *Stenella* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium typharum*, *Phoma* sp. e *Pestalotiopsis dichchaeta*. Os testes de patogenicidade efetuados indicam que

apenas os isolados de *C. typhae* eram patogênicos a *T. domingensis*. O crescimento da colônia de *C. typhae* em meio artificial foi maior em fotoperíodo de 24 horas. As percentagens de germinação de conídios nos fotoperíodos: 0 hora, 12 horas e 24 horas foram 32,4, 37,9 e 39,1%, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. O fungo cresceu bem às temperaturas de 25 e 35 °C, e o intervalo de temperatura adequado para germinação foi de 15 a 20 °C. A faixa ótima de temperatura e período de molhamento foliar para o desenvolvimento da doença foi de 15 a 20 °C e de 24 a 48 horas respectivamente. A incidência diminuiu com o aumento da temperatura e a redução do período de molhamento foliar. No teste de especificidade *C. typhae* só foi patogênico a *T. domingensis*. Pelos resultados, obtidos conclui-se que o fungo tem algumas das características desejáveis para utilização no desenvolvimento de microherbicidas.

ABSTRACT

MAIA, Cláudio Belmino, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February of 2000. **Mycobiota of aquatic weeds in the rivers Doce and São Francisco with emphasis on the biological control of cattail (*Typha domingensis* Pers.)**. Supervisor: Robert Weingart Barreto. Counselors: Luiz Antônio Maffia and Francisco Alves Ferreira.

The purpose of this work was: a) Surveying the basin of the rivers São Francisco and Doce for the mycobiota associated with the following aquatic weeds: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), water lettuce (*Pistia estratiotes*), “canavieira” (*Echinochloa polystachya*), anchored water hyacinth (*Eichhornia azurea*), cattail (*Typha domingensis*), “capim barrigudo” (*Paspalum repens*), parrot’s feathers (*Myriophyllum aquaticum*), giant smartweed (*Polygonum spectabile*), alligator weed (*Alternanthera phylloxeroides*) and salvinia (*Salvinia auriculata*); in. b) To undertake a primary evaluation of the potential of *Colletotrichum typhae* as mycoherbicide for *T. domingensis*. Forty four samples of diseased aquatic weeds were collected in the basin of the river Doce and 63 in the basin of the river São Francisco. All the target-plants except for *P. repens* were found in the lower half of the river Doce. In the river São Francisco all the plants except for *M. aquaticum* were collected. The fungi *C. typhae*, *Stenella* sp., *Cercospora* sp., *Cladosporium typharum*, *Phoma* sp., and *Pestalotiopsis dictaeta* were found associated with *T. domingensis*. The pathogenicity tests

indicated that only *C. typhae* isolates were pathogenic to *T. domingensis*. *C. typhae* grew better under constant light. Conidial germination percentages varied under different light regimes (0 hour, 12 hours and 24 hours). These were 32.4, 37.9, and 39.1% respectively. These results were nevertheless not statistically significantly different. The fungus grew well between 25 and 35° C and the adequate temperature for conidial germination was between 15 and 20° C. Ideal conditions of temperature and dew period for disease development was 15 - 20° C and 24 - 48 hours of dew. Disease incidence decreased with the increase of temperature and reduction of dew period. The specificity test showed that *C. typhae* was only pathogenic to *T. domingensis*.

1. INTRODUÇÃO

As plantas aquáticas interferem na utilização dos recursos hídricos pelo homem. Estas interferências são múltiplas e envolvem: meio de transporte, sistemas de abastecimento de água, recreação, pesca, geração de energia elétrica, irrigação e outros usos de canais, rios e lagos. As infestações de plantas invasoras aquáticas provocam ainda o aumento das perdas de água por evapotranspiração, o aumento dos prejuízos durante as enchentes na época das chuvas, e a interferência negativa na evolução natural dos ecossistemas aquáticos (BARRET, 1989; HARLEY, 1990; LABRADA, 1996; SINGH, 1996; CHIKWENHERE et al., 1997).

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms, o aguapé, é a invasora aquática mais importante mundialmente, sendo seguida pela alface d'água (*Pistia stratiotes* L.) e salvinia (*Salvinia molesta* Mitchell) (BARRETO et al., 1999). As três invasoras citadas são consideradas nativas do Brasil. A capacidade de reprodução do aguapé é muito elevada: 25 plantas podem produzir novas plantas em quantidade suficiente para cobrir um hectare em uma única estação de crescimento (HOLM et al., 1977), podendo uma única planta produzir 3000 novos indivíduos em 50 dias (SOERJANI et al., 1987). Em condições ótimas de crescimento, *E. crassipes* pode gerar uma produção diária de 800 kg de matéria seca por hectare (LORENZI, 1991) e formar tapetes densos e impenetráveis sobre o leito de açudes, lagos e rios, o que impede a navegação e outros usos dos recursos hídricos pelo homem.

Alface-d'água, é uma planta daninha aquática amplamente distribuída em todo o mundo tropical onde tem limitado o aproveitamento econômico dos mananciais aquáticos. No Brasil, os maiores danos são causados nas áreas mais quentes e em mananciais poluídos. Sua origem é incerta, sendo hoje a planta aquática mais amplamente distribuída no mundo. Serve de local para reprodução de insetos transmissores da malária e encefalomielite (LORENZI, 1991).

Salvinia molesta é outra invasora aquática de crescimento rápido, chegando a duplicar sua biomassa em apenas 2,2 dias, cinco vezes mais rápido do que o aguapé, e causa problemas na África, Ásia, Austrália e Estados Unidos (BARRET, 1989; CHIKWENHERE et al., 1997). *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. conhecido no Brasil como pinheirinho d'água, com origem na América do Sul (LORENZI, 1991; KISSMANN e GROTH, 1995), mas já disseminado por diversos outros países da África, Europa, Ásia e Austrália, também é uma invasora de grande relevância. Esta espécie foi distribuída mundialmente como planta de aquário, mas acabou se estabelecendo em ecossistemas exóticos livres de seus inimigos naturais. *Paspalum repens* Berg. da família Gramineae, conhecida no Brasil como capim-barrigudo, é uma invasora agressiva quando em condições adequadas. Em um curto espaço de tempo, seus ramos são capazes de cobrir extensas áreas e formar tapetes flutuantes. Sua distribuição ainda está restrita às Américas (SMITH et al., 1982; LORENZI, 1991), mas os riscos de graves prejuízos que uma eventual introdução provocaria são evidentes quando se observa a sua dominância em vastas áreas da Amazônia, superando inclusive outras espécies mais temidas, como por exemplo, o aguapé (HANADA, 1998).

As espécies de *Typha* spp. conhecidas no Brasil como taboas, são encontradas em diversos países e, quando em populações densas, invadem açudes e várzeas e inviabilizam o seu uso (FINLAYSON et al., 1983; SOBRERO et al., 1997; WHITE e GANF, 1998). No Brasil a espécie predominante é *Typha domingensis* Pers. Problemas equivalentes aos descritos para as espécies anteriormente citadas são atribuídos também as espécies *Alternanthera phylloxeroides* (Mart.) Griseb. conhecida como tripa de sapo; aguapé-de-cordão [*Eichhornia azurea* (Swartz) Kunth.]; cataia-gigante

(*Polygonum spectabile* Mart.); e capim canavieira [*Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitch].

Métodos químicos e físicos convencionais de controle (HARLEY, 1990), até então não têm resolvido adequadamente os problemas enfrentados com plantas aquáticas invasoras. O uso de microorganismos, em particular fungos fitopatogênicos, para o controle dessas invasoras é uma opção que tem sido investigada para substituir ou complementar estes métodos.

O controle biológico de plantas daninhas é um método bem estabelecido de supressão, ou estabilização, de populações de plantas indesejáveis em níveis subeconômicos (FIGUEREDO, 1995). O uso de fitopatógenos para o controle biológico segue duas situações distintas: a clássica ou inoculativa que envolve a busca, seleção e introdução de um agente potencial capaz de perpetuar-se e estabelecer-se por si próprio na população da espécie invasora e promover, ao longo do tempo, o seu controle restabelecendo o equilíbrio natural do ecossistema (TEBEEST et al., 1992; WATSON, 1991). A estratégia de micoherbicida se baseia no emprego de fungos fitopatogênicos endêmicos já associados a planta daninha alvo, que são produzidos massalmente, formulados e aplicados de modo semelhante a um herbicida químico (CHARUDATTAN, 1991).

Os programas de busca sistemática de fungos fitopatogênicos para o controle biológico de daninhas aquáticas no Brasil iniciara-se com BARRETO (1991), em um levantamento no Estado do Rio de Janeiro, tendo sido estendido por HANADA (1998), para o Amazonas, e também alguns pontos do Rio de Janeiro, Bahia e Minas Gerais. Em coleta recente na UFV obtiveram-se amostras do fungo *Colletotrichum* sp. associado a necroses foliares de *T. domingensis*. Testes de patogenicidade preliminares sugeriram que esse fungo teria potencial como agente de biocontrole dessa invasora (MAIA e BARRETO, 2000).

Dando continuidade aos estudos feitos por BARRETO, EVANS e HANADA definiram-se como objetivos desse trabalho: a) Levantar a micobiota associada às seguintes espécies, (escolhidas por sua importância mundial ou nacional): aguapé; alface d'água; aguapé de cordão; taboa; capim barrigudo; pinheirinho d'água; cataia-gigante; tripa de sapo; salvinia e capim canavieira, nas bacias dos Rios Doce e São Francisco.

b) Avaliar o potencial de *Colletotrichum sp* como micoherbicida para o controle de taboa.

CAPÍTULO 1

LEVANTAMENTO DA MICROBIOTA ASSOCIADA A MACRÓFITAS AQUÁTICAS INVASORAS FLUTUANTES NAS BACIAS DOS RIOS DOCE E SÃO FRANCISCO

1. INTRODUÇÃO

A busca de inimigos naturais que proporcionem o controle das macrófitas aquáticas tem sido efetuada em vários países onde essas invasoras ocasionam perdas econômicas e desequilíbrios ambientais (BARRET, 1989; HARLEY, 1990; SINGH, 1996).

No Brasil, apesar da grande biodiversidade e da ocorrência de grandes problemas com invasoras aquáticas, os estudos sobre o assunto ainda são escassos. Entretanto, em levantamentos pioneiros feitos no Rio de Janeiro (BARRETO, 1991) e mais recentemente nos Estados do Amazonas, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Bahia (HANADA, 1998) detectaram-se fungos com potencial para uso em biocontrole como: *Cercospora piaropi* Tharp., *Uredo eichhorniae* (Fragoso & Ciferri) e *Colletotrichum* sp. associados a *E. crassipes*; *Uromyces pontederiae* Gerard, *Cercospora pontederiae* (Ellis & Dearness) e *Pyricularia grisea* Saccardo associados a *Eichhornia azurea* (Swartz) Kunth; *Colletotrichum* sp., *Bipolaris* sp. e *Phyllachora* sp. associados a *Paspalum*

repens Berg; e *Cercospora* sp., *Pyrenochaeta* sp., *Mycosphaerella* sp., *Leveillula taurica* (Lév.) Arnaud, associados a *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. *P. grisea*, *C. pontederiae*, foram patogênicos a *E. azurea*, bem como *Colletotrichum* sp. e *Bipolaris* sp., a *P. repens*.

A bacia do Rio Doce, que se estende por 83.400 km² e engloba 222 municípios, com 461 distritos em Minas Gerais e no Espírito Santo, inclui um conjunto de lagos e lagoas e um ponto de referência ambiental e ecológico que é o Parque Estadual do Rio Doce (ANÔNIMO, 1998). O período de maior precipitação nesta bacia vai de outubro a março, mas a precipitação máxima ocorre em dezembro e a mínima em julho, no inverno. 85,58% do solo tem textura argilosa e 62,16% tem acidez média, 34,10% da topografia é fortemente ondulada a montanhosa, o clima do médio Rio Doce é definido como sendo tropical, semi-úmido, com 4 a 5 meses de seca e com características mesotérmicas (TUNDISI e SAIJO, 1997).

O Rio São Francisco é o mais extenso rio totalmente brasileiro com 3.160 Km de extensão, tem sua nascente na Serra da Canastra em Minas Gerais e passa pelos estados da Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe onde desemboca no oceano Atlântico (ANÔNIMO, 1998).

Considerando que não há qualquer registro de levantamentos sistemáticos da micobiota associada as plantas aquáticas flutuantes nessas duas bacias e visando otimizar-se o aproveitamento dos recursos dispendidos no trabalho de campo selecionaram-se como plantas alvo para o levantamento da micobiota as seguintes espécies: aguapé (*E. crassipes*); alface d'água (*P. estratiotes*), canavieira (*E. polystachya*); aguapé de cordão (*E. azurea*); taboa (*T. domingensis*); capim barrigudo (*P. repens*); pinheirinho d'água (*M. aquaticum*); cataia-gigante (*P. spectabile*); tripa de sapo (*A. phylloxeroides*); salvinia (*Salvinia auriculata* Aublet).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Logística do levantamento

As áreas de abrangências para este levantamento foram as Bacias dos Rios Doce e São Francisco. A escolha de localidades a serem visitadas nestas duas bacias para a coleta de amostras efetuou-se mediante consulta de mapas hidrográficos, consideração de relatos de ocorrência de vegetação aquática, geográfica para a ocorrência natural de *E. crassipes*, *T. domingensis* e outras plantas-alvo, e a disponibilidade de tempo e recursos para a realização destes levantamentos.

A primeira fase do levantamento seguiu-se ao longo da Bacia do Rio Doce (Figura 1), iniciou-se das nascentes do Ribeirão São Bartolomeu (Viçosa-MG) até o Rio Piranga e acompanhando-se o seu leito até alcançar o Rio Doce. Coleta intensiva foi efetuada no sistema de lagos e lagoas do Parque Estadual do Rio Doce. O levantamento continuou nesta bacia até Regência-ES (Reserva Biológica de Comboios). Para o levantamento nesta Bacia desde a nascente até a foz em Regência-ES foram necessários 12 dias distribuídos nos meses de março, abril e junho de 1999.



Figura 1 - Áreas de coleta na bacia do Rio Doce: 1 - Viçosa, 2 - Rio Doce, 3 - Rio Casca, 4 - Santa Cruz do Escalvado, 5 - Parque Estadual do Rio Doce, 6 - Ipatinga, 7 - Vila do Riacho, 8 - Barra do Riacho, 9 - Linhares, 10 - Regência. Na Bacia do Rio São Francisco: 11 - Parque Nacional da Serra da Canastra, 12 - Vargem Bonita, 13 - Piumhi, 14 - Lagoa da Prata, 15 - Moema, 16 - Frei Orlando, 17 - Três Marias, 18 - Pirapora, 19 - Cachoeira do Manteiga, 20 - São Romão, 21 - São Francisco, 22 - Januária.

A Segunda fase do levantamento envolveu a Bacia do Rio São Francisco (Figuras 1 e 2) e teve como ponto de partida o Parque Nacional da Serra da Canastra, área da nascente do rio, e prosseguiu até a represa de Três Marias. Lá foi interrompida a viagem e retornou-se à UFV para exame dos materiais coletados.



Figura 2 - Trecho Bahia, Sergipe e Alagoas de coleta na Bacia do Rio São Francisco: 23. Juazeiro, 24. Paulo Afonso, 25. Xingozinho, 26. Propriá, 27. Pacatuba e 28. Brejo Grande.

Numa terceira fase, o levantamento foi retomado a partir de Pirapora até a foz do Rio São Francisco na localidade de Brejo Grande-SE. Foram necessários 31 dias distribuídos nos meses de junho, julho e agosto de 1999 para o levantamento nesta Bacia.

2.2. Procedimento de coleta

Nas áreas selecionadas, priorizou-se a coleta nas lagoas e lagos que margeiam os leitos dos Rios Doce e São Francisco ou seus afluentes. O deslocamento pela calha principal dos rios foi em embarcação motorizada e para o deslocamento em pequenos corpos de água foi utilizado um caiaque para permitir a aproximação aos bancos de plantas aquáticas, mesmo em águas rasas. Foram coletadas plantas aquáticas apresentando sintomas de doenças, com o auxílio de ferramentas manuais. Porções de plantas doentes foram selecionadas e colocadas temporariamente em sacos plásticos reforçados devidamente identificados (origem e data de coleta). O material obtido foi prensado em folhas de papel jornal. O papel foi substituído por papel seco duas vezes ao dia nos primeiros dois dias após a coleta e depois, diariamente por mais dois dias. Finda a secagem, o material foi acondicionado em envelopes de papel.

Para cada área (município ou distrito) de coleta, o mínimo de três sub-áreas (lago, lagoa ou rio) e o máximo de seis sub-áreas foram visitadas para coleta de amostras. Dependendo da extensão das sub-áreas, o período de coleta das amostras foi de no mínimo duas horas onde foi necessário o uso de barco motorizado, e de no mínimo uma hora quando um barco a remo ou o caiaque foi suficiente para realização das coletas.

2.3. Triagem do material e isolamento

O material coletado foi levado para a Clínica de Doenças de Plantas do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, para a triagem das amostras. As amostras colhidas mais recentes foram as primeiras a serem manipuladas, visando-se assim dar prioridade ao exame dos materiais com melhores chances de produzir em estruturas intactas e culturas puras viáveis de fungos fitopatogênicos associados ao material coletado. As amostras foram examinadas sob microscópio estereoscópico e, quando se visualizaram estruturas fúngicas associadas às lesões, faziam-se raspagens e, ou, cortes para preparação de lâminas permanentes, com lactofenol, seladas

com esmalte incolor, para seu posterior estudo. Também foram realizados isolamentos diretos dos fungos, transferindo-se estruturas reprodutivas para placas de Petri contendo o meio de Caldo de Vegetais-Ágar (CVA) (PEREIRA, 1997) e mantendo-se estas em incubadoras a 25°C no escuro. Foram feitas repicagens das colônias formadas para tubos de ensaio contendo o meio de Batata-Cenoura-Ágar (BCA), os quais foram mantidos em incubadora também a 25 °C no escuro, até o micélio ocupar toda a superfície do meio. A seguir, as culturas foram armazenadas em geladeira (5 °C), para estudos posteriores.

2.4. Formação de coleção viva e fixada de fungos fitopatogênicos

Foram formadas três coleções dos fungos fitopatogênicos obtidos, uma de material herborizado e duas coleções vivas. O material herborizado após acondicionado em envelopes foi mantido em freezer a -20 °C, para eliminação de ácaros e outros artrópodes que estivessem associados ao material vegetal. Após 12 horas, os envelopes foram retirados do freezer e no interior de cada um foram colocados 10 g de naftalina e os mesmos foram armazenados temporariamente no herbário da Clínica de Doenças de Plantas. Os fungos que podiam ser cultivados em meio de cultura foram armazenados por repicagens sucessivas em tubos de ensaio contendo meio de cultura e em sílica gel (SMITH e ONIONS, 1983).

2.5. Esclarecimento da taxonomia dos fungos obtidos

Os fungos obtidos durante os levantamentos foram submetidos a exames microscópicos, a fim de terem suas identidades esclarecidas. Os sintomas induzidos pelos fungos também foram estudados. Os fungos fitopatogênicos e os de patogenicidade não elucidada que ainda não tinham sido registrados no Brasil associados às plantas alvo, foram descritos e ilustrados.

As lâminas semi-permanentes preparadas durante a triagem do material foram observadas sob microscópio ótico, nas quais efetuaram-se

medições das estruturas fúngicas reprodutivas e vegetativas com uma escala micrométrica. Para alguns materiais foram confeccionadas lâminas de microculturas para observações de estruturas delicadas ou cuja formação é estimulada com este processo, como apressórios em *Colletotrichum*, por exemplo.

As ilustrações das estruturas fúngicas foram feitas com o auxílio de câmara clara acoplada a um microscópio de marca Leica modelo Leitz Laborlux.

2.6. Teste de patogenicidade

Foram feitos testes de patogenicidade com todos os isolados dos fungos associados a *T. domingensis* obtidos durante o levantamento, já os fungos obtidos associados aos outros hospedeiros já tiveram sua patogenicidade esclarecida por HANADA (1998). Para isto, utilizaram-se plantas adultas e jovens de *T. domingensis* produzidas a partir de mudas provenientes de um lago do campus da UFV (próximo à FUNARBE) e reproduzidas vegetativamente em casa de vegetação. O inóculo foi obtido a partir de culturas puras dos fungos produzidos em placas de Petri de 8,5 cm de diâmetro contendo 15 mL de meio CVA (PEREIRA, 1997). Após a repicagem as placas foram mantidas a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ sob fotoperíodo de 12 horas de luz. As suspensões de esporos foram preparadas com solução de Tween 80 a 0,05 % ajustando-se a concentração para $2,5 \times 10^6$ conídios/mL. Esta concentração foi a mesma para todos os isolados testados. Fez-se a inoculação por pincelamento. Após a inoculação as plantas foram mantidas em câmara de nevoeiro a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, e após 48 horas foram transferidas para casa de vegetação onde foram feitas avaliações diariamente durante 30 dias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Resultado do levantamento

Na bacia do Rio Doce foram coletadas 44 amostras de plantas apresentando sintomas de doença. Na bacia do São Francisco coletaram-se 63 amostras de plantas aquáticas apresentando sintomas de doença. A partir destas amostras, identificou-se a microbiota fitopatogênica presente (Quadro 1).

Nos Rios São Bartolomeu e Piranga que compõem as nascentes do Rio Doce, pouquíssimos exemplares das plantas alvo foram encontradas em consequência da topografia mais acentuada, com predominância de águas turbulentas desfavoráveis para a ocorrência de macrófitas flutuantes conforme já observado por JUNK (1979) para a bacia do Rio Amazonas. Em toda a extensão mediana e inferior do Rio Doce, todas as outras plantas alvo foram encontradas, a exceção de capim barrigudo, podendo-se ainda ressaltar que o aguapé foi encontrado em maior frequência no Rio Doce em áreas do Parque Estadual do Rio Doce e suas vizinhanças. Nesse local, esteiras flutuantes foram facilmente observadas e plantas com doenças foram coletadas, enquanto outras plantas alvo foram observadas nas lagoas e lagos dessa bacia.

Quadro 1 - Micobiota associada a plantas aquáticas invasoras nas bacias dos Rios Doce e São Francisco

Hospedeiro	Fungo	Procedência
<i>E. azurea</i> (Aguapé de cordão)	<i>Pyricularia grisea</i>	(9), (7), (14), (18), (22)
<i>E. crassipes</i> (Aguapé)	<i>Cercospora pontederia</i> <i>Pestalotiopsis</i> sp.	(14), (18), (22), Rio São Francisco (São Francisco - MG)
<i>E. polystachya</i> (Capim canavieira)	<i>Cercospora piaropi</i> <i>Colletotrichum</i> sp. <i>Acremonium</i> sp.	(21), (23), (24) Rio São Francisco (Juazeiro da Bahia-BA) Belvedere - Paulo Afonso - BA
<i>M. aquaticum</i> (Pinheirinho d'água)	<i>Phaeoramularia acroinflata</i> <i>Cercospora</i> sp.	Rio São Francisco (Pirapora - MG) Pesque-pague (Cajuri-MG)
<i>P. repens</i> (Capim barigudo)	<i>Mycosphaerella</i> sp. <i>Colletotrichum</i> sp.	Lagoa grande (Rio Doce-MG). Rio Panderos (Januária - MG)
<i>P. spectabile</i> (Cataia gigante)	<i>Phyllachora</i> sp. <i>Bipolaris</i> sp. <i>Pseudocercospora</i> sp.	Rio Panderos (Januária - MG) Rio São Francisco (Juazeiro da Bahia-BA) (21), (22), (23), (24)
<i>P. stratiotes</i> (Alface d'água)	<i>Cercospora pistiae</i>	(1), (22)
<i>T. domingensis</i> (Taboa)	<i>Phoma</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp. <i>Stenella</i> sp. <i>Pestalotiopsis</i> sp. <i>Colletotrichum</i> sp. <i>Cercospora</i> sp.	(10), (25) (2),(5), (8), (10), (23), (26), (27), (28). Barragem de metal (Barra do Riacho-ES) (2), (4),(5) (7), (10), (21), (24), (25), (4), (5), (21), (24), (25), (5), (25)

* Os números entre parênteses correspondem aos pontos do levantamento nas bacias dos Rios Doce e São Francisco indicados nas Figuras 1 e 2.

Alternanthera phyloxeroides não foi encontrada em qualquer ponto de coleta durante a expedição nas Bacias dos Rios Doce e São Francisco.

Echinochloa polystachya foi coletada em alguns pontos na Bacia do Rio Doce e na Bacia do São Francisco. Associados a essa aquática invasora foi encontrado *Phaeoramularia acroinflata*, mas os sintomas observados em condições de campo assim como os observados no Rio de Janeiro por BARRETO e EVANS, (1996) não eram suficientemente severos para justificar estudos adicionais para avaliar o seu potencial como um agente de controle biológico desse hospedeiro.

Durante todo o levantamento *E. azurea* foi a planta alvo mais frequente tanto na Bacia do Rio Doce, como na do Rio São Francisco onde é popularmente denominada de "orelha de veado" ou "aguapé de cordão". Na bacia do Rio Doce onde é conhecida como "orelha de burro" ou "gofó", esta espécie é bem mais frequente nos lagos e lagoas que margeiam o rio do que no próprio rio (TUNDISI e SAIJO, 1997). Associada a esta planta, em todos os corpos de água em que foi encontrada, ocorreu uma doença bastante frequente caracterizada por lesões escuras inicialmente pontilhadas partindo das margens das folhas e evoluindo para o centro do limbo foliar tornando-se contínua. Sobre essas lesões foi isolado o fungo *Pyricularia grisea* Saccardo já relatado por BARRETO e EVANS (1996) e HANADA (1998) respectivamente no Estado do Rio de Janeiro e no Lago do Aguapé no município de Dionísio em Minas Gerais. *P. grisea* foi patogênico a *E. azurea* em casa de vegetação (HANADA, 1998), no entanto, a sua ampla gama de hospedeiros e restrições a produção de inóculo "in vitro" são obstáculos que podem dificultar o seu uso como micoherbicida (BARRETO, 1991).

Outro fungo também encontrado associado ao aguapé de cordão foi *Cercospora pontederiae* (Ellis & Dearness) J.J. Davis, também já relatado por BARRETO e EVANS (1996) e HANADA (1998) no Rio de Janeiro e no Parque Estadual do Rio Doce respectivamente. Esse fungo apresentou problemas de esporulação e crescimento "in vitro" (BARRETO, 1991). No entanto HANADA (1998) obteve boa esporulação para isolados deste fungo e comprovou sua patogenicidade para *E. azurea*.

Eichhornia crassipes é considerada a invasora aquática mais agressiva do mundo (HOLM et al., 1977; BARRET, 1989). Na bacia do Rio Doce onde é

denominada de "baronesa" ou aguapé, ela foi encontrada somente no rio e em populações baixas. Já na Bacia do Rio São Francisco, essa macrófita já pode ser vista a partir da cidade de São Francisco tanto em lagos vizinhos aos rios como no próprio rio até a foz em Brejo Grande. Da cidade de São Francisco até a cidade de Paulo Afonso - BA ela é conhecida como aguapé ou "baronesa", a partir deste trecho até a foz é conhecida como "pataca" ou "balseiro". A partir de amostras de plantas doentes foram isolados os fungos *Cercospora piaropi* Tharp e *Colletotrichum* sp., ambos já relatados por BARRETO e EVANS (1996) e HANADA (1998) no Rio de Janeiro e no Amazonas respectivamente.

Cercospora piaropi é o patógeno cujo potencial para o controle biológico dessa invasora foi o mais investigado (BARRETO, 1991). O fungo é capaz de reduzir a biomassa de aguapé, entretanto, para a eliminação total ou próxima do total da planta, têm sido necessárias aplicações do fungo acompanhadas de herbicida químico (CONWAY, 1976; FREEMAN e CHARUDATTAN, 1984). Os testes de especificidade conduzidos em condições de casa de vegetação e campo, demonstraram que este fungo não apresenta risco para plantas cultivadas comercialmente ou de importância ecológica na Flórida (CONWAY e FREEMAN, 1977). Os sintomas da doença, as características morfológicas e culturais do patógeno, patogênese e o potencial para o biocontrole de *E. crassipes* já foram estudados (FREEMAN e CHARUDATTAN, 1984) e apesar desse fungo ter sido um dos primeiros para o qual foi obtido um registro para uso como micoherbicida, problemas de ordem prática fizeram com que este nunca tenha chegado a se tornar um produto comercial.

A planta *M. aquaticum* foi encontrada na bacia do Rio Doce somente em alguns lagos e lagoas. Associados a essa macrófita foram encontrados os fungos *Cercospora* sp. e *Mycosphaerella* sp. Na bacia do São Francisco essa invasora não foi encontrada em nenhum ponto de coleta. A patogenicidade desses fungos não foi comprovada por HANADA (1998).

Paspalum repens só foi encontrada em Viçosa e em um afluente do São Francisco na cidade de Januária-MG. Associados a essa invasora como já relatado por HANADA (1998) foram encontrados os fungos *Colletotrichum* sp., *Bipolaris* sp. e *Phyllachora* sp. os dois primeiros tiveram sua patogenicidade comprovada.

Durante os levantamentos na Bacia do Rio Doce, *P. stratiotes*, conhecida popularmente como "alface d'água", foi encontrada apenas nos arredores de Viçosa em lagos artificiais. Não se verificou qualquer ocorrência de doença fúngica nesta planta. A outra localidade onde observou-se a ocorrência desta planta em populações maiores e associado a ela a mesma cercosporiose descrita por BARRETO et al. (1999), foi no Rio Pandeiros um afluente do Rio São Francisco. *Cercospora pistiae* é patogênico ao alface d'água, porém, as perspectivas do seu uso como agente de biocontrole não são considerados promissores devido ao lento crescimento e baixa esporulação "in vitro" e também ao sucesso de um inseto já bastante utilizado como agente de biocontrole clássico dessa invasora.

A planta *P. spectabile* foi coletada em alguns pontos nas bacias dos Rio Doce e na bacia do São Francisco. Associado a essa aquática invasora foi encontrado o fungo *Pseudocercospora* sp.

Em 80% das áreas de coleta, *S. auriculata* estava presente e em muitas delas apresentava lesões escuras que progrediam levando apodrecimento da folha, no entanto, nenhum fungo foi isolado a partir destas lesões.

Em 80% das áreas de coleta verificou-se a presença de *T. domingensis* e, associado a esta Typhaceae foram isolados os fungos *Cladosporium* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Stenella* sp., *Cercospora* sp. e *Phoma* sp. Os fungos *Cladosporium* sp. e *Pestalotiopsis* sp. foram isolados de amostras de vários pontos de coleta, e dos quais se obteve o maior número de isolados associados a essa invasora. *Phoma* sp. foi encontrado em algumas áreas de coleta e aparenta ter potencial para o desenvolvimento de um micoherbicida, pois cresce e esporula abundantemente em meio de cultura e está associado a lesões numerosas em folhas do hospedeiro (BARRETO, 1991; BARRETO e EVANS, 1996), No entanto, a patogenicidade, deste fungo ainda não foi demonstrada. *Colletotrichum* sp. também foi isolado de amostras provenientes de pontos distintos de coleta de ambas as bacias hidrográficas, apresentando sintomas característicos no hospedeiro com acentuada severidade. Este fungo ainda não havia sido relatado no Brasil associado a este hospedeiro.

3.1. Descrição de Doenças e dos Fungos Associados a *Typha domingensis*

Stenella sp. (Figura 1)

LESÕES localizadas na parte adaxial e abaxial do limbo foliar, 0,3-2,5 x 0,2-0,6cm, inicialmente circulares e tornando-se alongadas quando mais velhas, coloração marrom avermelhado a marrom escuro. MICÉLIO superficial, simples ou ramificados, de cor parda a marrom, pouco septado de superfície verruculosa. CONÍDIÓFOROS, lisos, marrom-escuros, solitários ou em grupos, ramificados ou não, 280-351. x 3-6 µm. CÉLULAS CONIDIOGÊNICAS holoblásticas terminais, proliferação simpodial. LOCUS CONIDIOGÊNICOS circulares, espessados, 3-4 µm. CONÍDIOS secos, isolados ou catenulados, fusiformes, curvados ou retos, marrom-claros, lisos de 0 a 3 septos 8-21 x 3-5 µm.

Em cultura: crescimento rápido (8,5 cm de diâmetro em 7 dias), colônias recobertas por micélio aéreo cotonoso ou lanoso, colônias cinza-esverdeadas a verde-escuras, esporulação abundante em BDA e CVA.

Material examinado: CBM13, Barragem de Metal, Barra do Riacho-ES, 24/03/99.

O gênero *Stenella* apresenta conídios com no mínimo duas células, cadeias acrópetas blásticas, raduliformes, próximo do gênero *Mycovellosiella* e *Cladosporium* (CARMICHAEL et al., 1980). Cresce normalmente na superfície abaxial das folhas, tendo conídios solitários ou catenulados, podendo ser verruculosos, variando de 0 - 24 septos, com conidióforos verruculosos (ELLIS, 1976), característica que o diferencia do gênero *Cladosporium*.

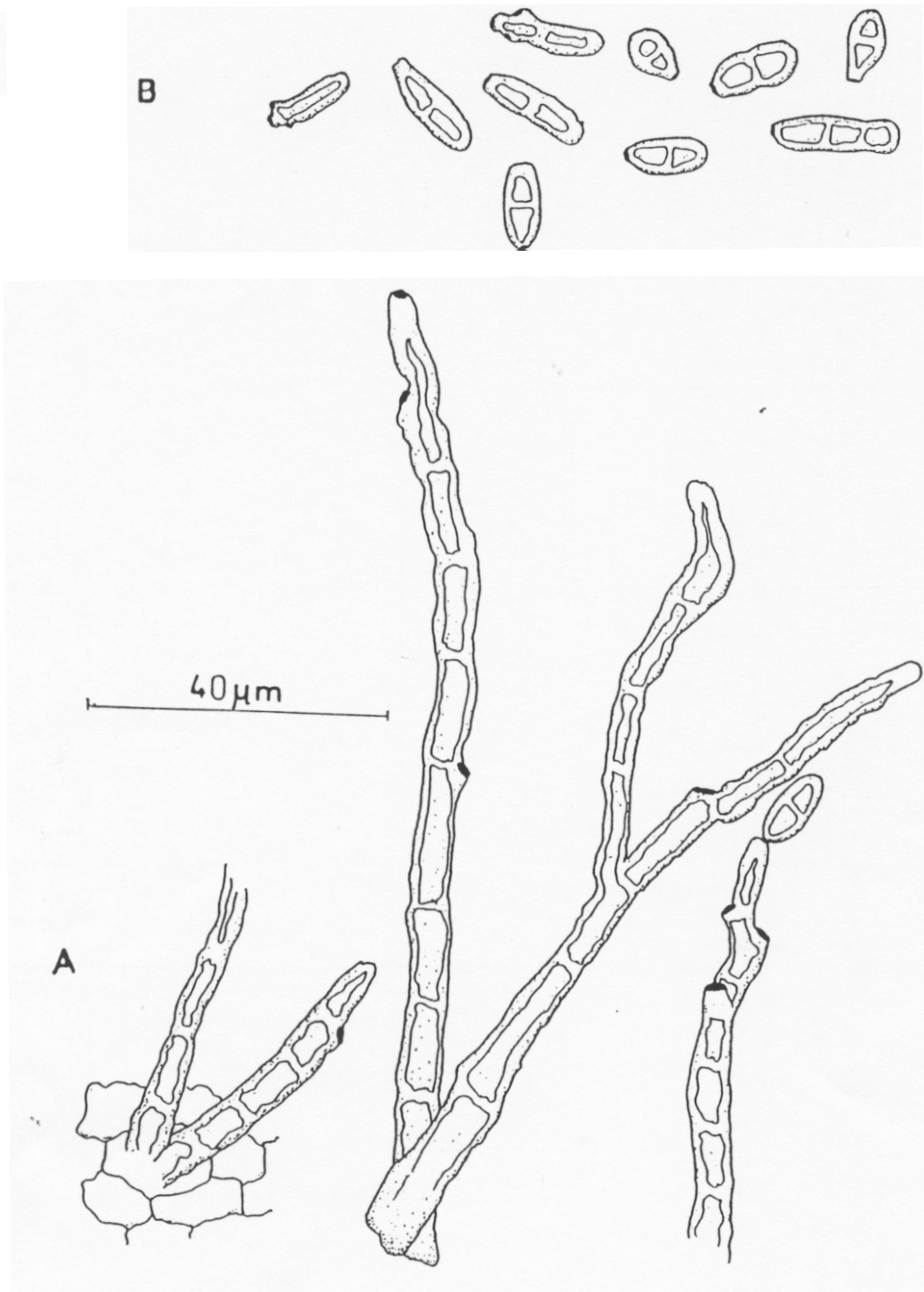


Figura 1. *Stenella* sp. A - conidióforos, B - conídios.

Cercospora sp. (Figura 2)

LESÕES indefinidas. MICÉLIO INTERNO intercelular e intracelular, ramificado, septado. MICÉLIO EXTERNO ausente. ESTROMAS ausentes. CONIDIÓFOROS lisos, marrom-escuros, em grupos de 6 a 20 formando fascículos, não ramificados, cilíndricos, 148-321 x 3-5 μm , com 3 a 8 septos. CÉLULAS CONIDIOGÊNICAS terminais, integradas, holoblásticas, proliferação percorrente, cilíndricas, marrom-aczentadas a marrom-escuras. LOCUS CONIDIOGÊNICOS conspícuos, circulares, 3-2 μm de diâmetro, espessados, escuros. CONÍDIOS hialinos, filiformes, isolados, secos, holoblásticos, cilíndricos, usualmente retos, 98-321 x 2-3 μm , 5 a 20 septos, não gutulados, lisos, com ápice agudo e base subobtusa a arredondada, 2 - 5 μm . Cicatriz conidial espessa, 2 a 2,5 μm de diâmetro, escura.

EM CULTURA: crescimento relativamente rápido (8,5 cm de diâmetro/16dias), micélio aéreo cotonoso a lanoso sobre colônia, colônias cinza-claras, levemente róseas a cinza-escuras, com produção de pigmento róseo, úmidas com esporulação abundante em meio de BDA e CVA.

Material examinado: CBM94, Hidroelétrica de Paulo Afonso, Paulo Afonso-BA, 15/08/99.

A classificação de *Cercospora* se baseia principalmente nas características relacionadas aos conídios e conidióforos como: tamanho, coloração, espessura e coloração das cicatrizes, como também no tipo de proliferação das células conidiogênicas. O gênero *Cercospora* caracteriza-se por apresentar conídios do tipo escolecoconídios ou fragmoconídios, não formando cadeia ou grupo mucilaginoso, hialoconídios, raduliforme ou raquiforme (CARMICHAEL et al., 1980).

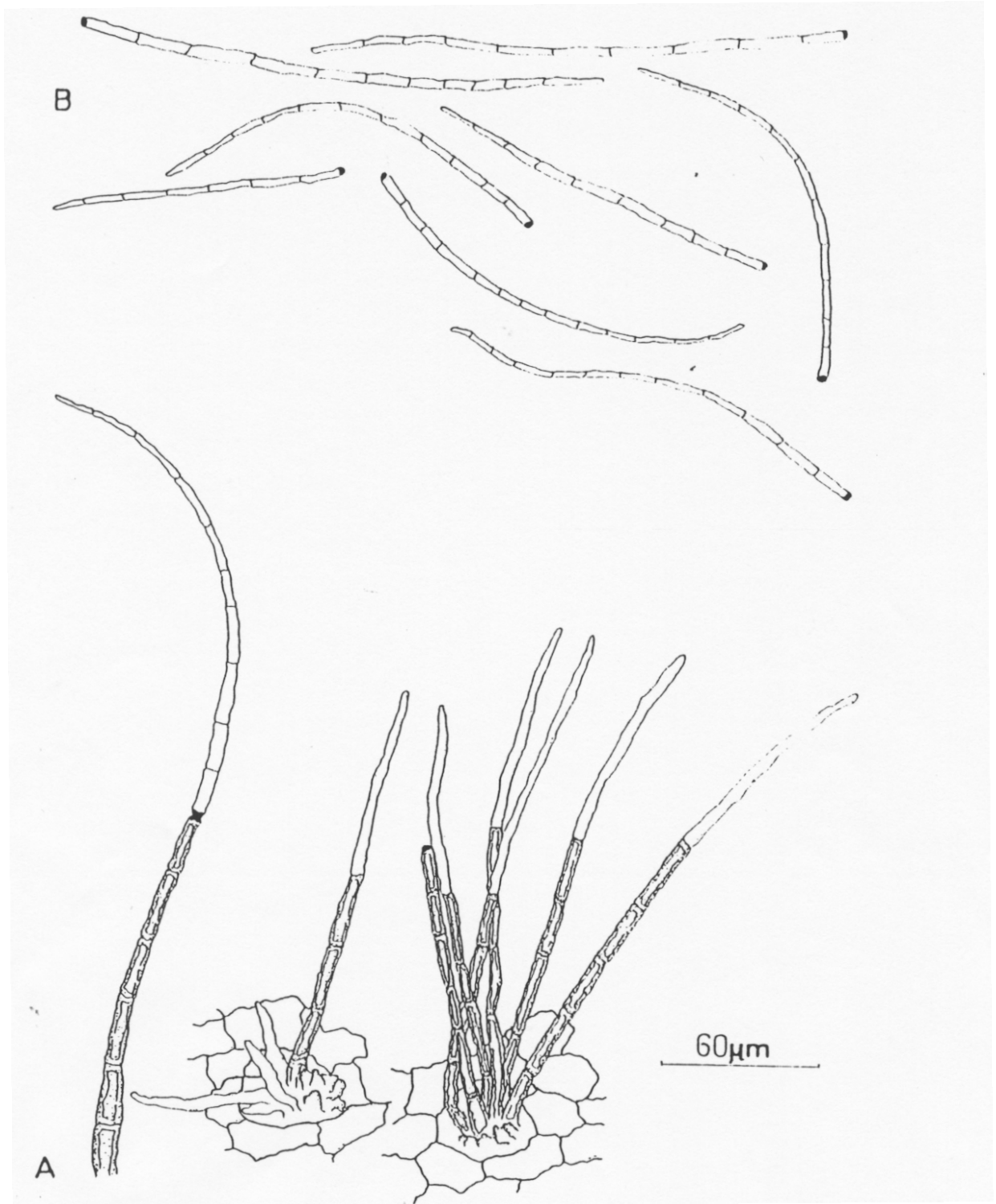


Figura 2 . *Cercospora* sp. A - conidióforos, B - conídios

Uma única espécie de *Cercospora* é conhecida em associação ao gênero *Typha*: *C. typhae* N. Golovina associada a *T. angustifolia* L. Em *T. domingensis* não há nenhum registro de ocorrência de fungo deste gênero.

Cladosporium typharum Desm. (Figura 3)

LESÕES escuras presentes principalmente na extremidade terminal do limbo foliar com as bordas cloróticas e o centro necrótico, 2,5-10 x 0,2-1,5 cm. MICÉLIO aéreo, septado e ramificado. CONIDIÓFOROS solitários ou fasciculados em grupos de 3 a 7 eretos ou ramificados, lisos, pálido a marrom-claro, 24-150 x 2-5 μm . CÉLULAS CONIDIOGÊNICAS terminais, simpodiais. LOCUS CONIDIOGÊNICOS circulares, 3-4 μm , escuros. CONÍDIOS agrupados em cadeias, cilíndricos, elipsoide, ou subesférico, pálido ou subhialino, liso, 13-20 x 3-6 μm .

EM CULTURA: crescimento rápido (8,5 cm de diâmetro/6 dias em CVA), micélio aéreo cotonoso. Colônia verde escuro a marrom-claro em meio de CVA, com esporulação abundante.

Material examinado: CBM13, Barragem de Metal, Barra do Riacho-ES, 24/03/99.

Cladosporium apresenta conídios com morfologia e tamanho bastante variado, e conidióforos não verruculosos. Uma das características morfológicas deste gênero que o diferencia de *Stenella* é possuir conidióforos não verruculosos, podendo apresentar ameroconídios ou didimoconídios ou fragmoconídios ao contrário de *Stenella* que só apresenta fragmoconídios (CARMICHAEL et al., 1980).

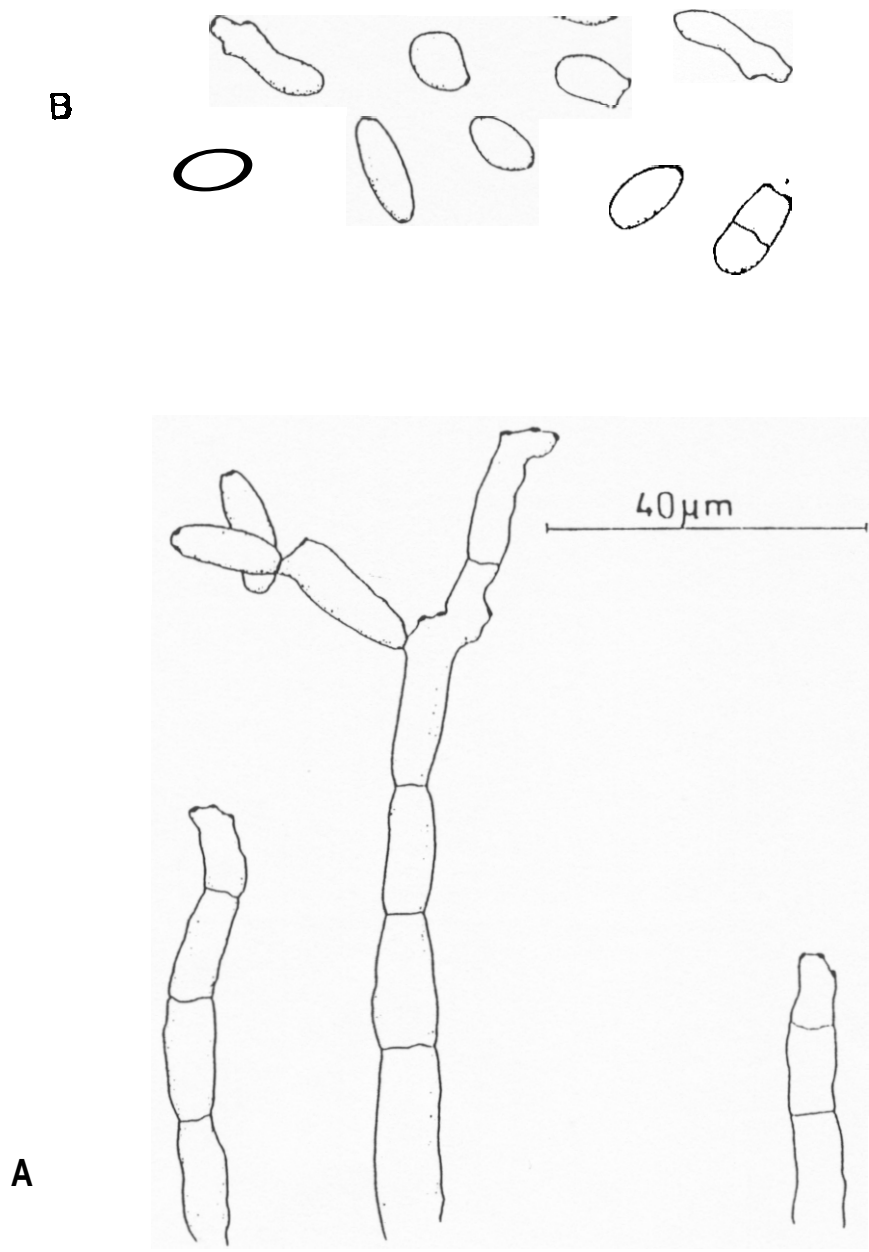


Figura 3. *Cladosporium typharum*, A - conidióforos, B - conidios.

Phoma sp. (Figura 4)

LESÕES em folhas, eram mais frequentes adaxialmente e no centro do limbo foliar, amarelas com necrose no centro, com formato alongado, 4,5-18 x 0,5-2,4 cm. MICÉLIO INTERNO, ramificado, septado, hialino ou marrom claro. MICÉLIO EXTERNO ausente. CONIDIOMAS picnidiais imersos, esféricos, ou mais frequentemente oblongos com ostíolo marrom-claro a marrom-escuro, 42 - 123 μm de diâmetro, parede com espessura de 4-15 μm . CONIDIÓFOROS ausentes. CÉLULAS CONIDIOGÊNICAS enterobláticas, fialídicas, hialinas esféricas a oblongas, lisas com 5-10 x 8-17 μm . CONÍDIOS unicelulares, elipsóides ou oblongos, gutulados, hialinos, lisos, 3-6 x 1-3 μm . CLAMIDOSPOROS marrom a marrom escuro, 14-58 x 4-9 μm , isolados ou formando cadeias ramificadas ou não ramificadas, elipsoides, oblongos ou irregulares.

EM CULTURA: crescimento de rapidez moderada (8,5 cm de diâmetro em 13 dias em CVA). Colônias recobertas com micélio inicialmente esparso e passando a cotonoso quando as colônias ficam mais velhas, cinza-claras a cinza-escuras, esporulação e produção de picnídios abundante sendo estes imersos ou superficiais no meio.

Material examinado: CBM05, Brejo atrás da Pousada Tamar, Regência-ES, 25/03/99.

De acordo com SUTTON (1980) são mais de 2000 espécies já descritas para o gênero *Phoma*, que é tradicionalmente conhecido como um fungo picnidial, com conídios pequenos, hialinos e unicelulares. Esse autor apresentou uma chave para algumas espécies deste gênero baseando-se principalmente nas características de conídios, conidioma, número de células dos clamidosporos e células conidiogênicas.

Associadas a *Typha* spp. já foram descritas três espécies do gênero *Phoma*; *P. typharum* Sacc. (SACCARDO, 1884), *P. typhae* Pass. (SACCARDO, 1892) e *P. typhae* Oud. (SACCARDO, 1906). As espécies de *Phoma* citadas acima foram descritas em associação a outras espécies de *Typha* nativas do

continente Europeu. As informações utilizadas para distinguir estas espécies são insuficientes e limitadas, baseadas apenas em características de ordem morfológica como textura, forma, cor de conídios e conidiomas e localização destes no tecido vegetal. Embora a forma elipsoide dos conídios de *P. typhae*, coincida com a do fungo associado a *T. domingensis*, assim como dimensões dos mesmos, considera-se aqui que as diferenças de hospedeiro e distribuição sejam suficientes para reconhecer as duas espécies como diferentes.

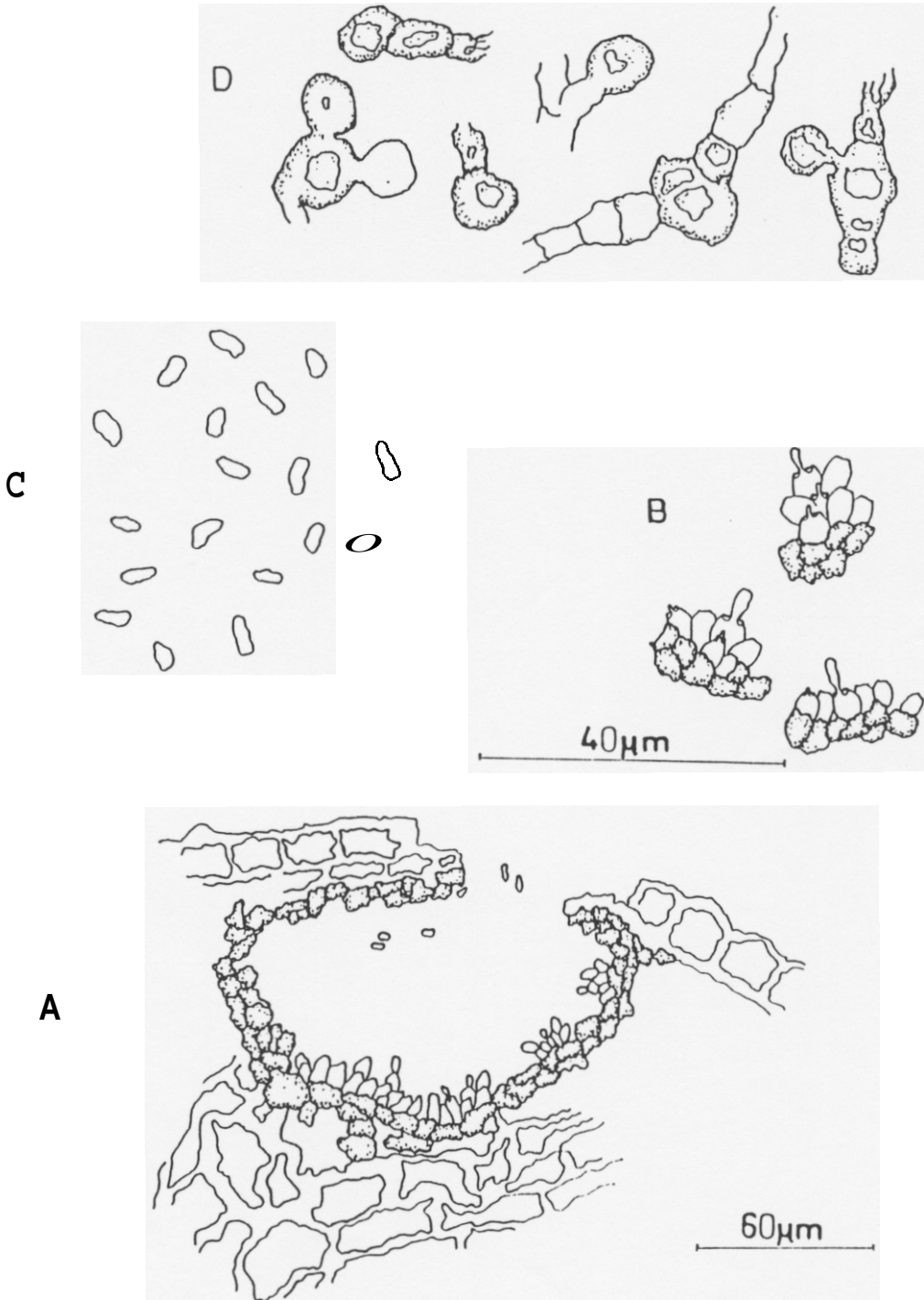


Figura 4. *Phoma* sp. A - picnidio, B - células conidiogénicas, C - Conidios, D - clanidósporos.

Colletotrichum typhae (Figura 5)

LESÕES em folhas, tanto na parte adaxial como abaxial, inicialmente puntiformes, amarelas com halo clorótico, tornando-se necroticas ao centro, com formato alongado medindo 0,5-1,4 x 2,5-10 cm. MICÉLIO INTERNO intracelular e intercelular com 4-5 µm de diâmetro, ramificado, septado, marrom-claro. CONIDIOMAS acervulares, mais abundantes abaxialmente, circulares, sub-epidermais com parede fina, de coloração escura, textura angular com 74-123 µm. paredes com 4-5 µm de espessura, marrom-escuras, lisas, com SETAS escuras, cilíndricas, localizadas entre os conidióforos 39-91 x 2-5 µm com as células terminais comumente transformando-se em células conidiogênicas. CONIDIÓFOROS subcilíndricos, 6-26 x 2-7 µm, não ramificados com 1-3 septos, hialinos a marrom-claro de superfície lisa. CÉLULAS CONIDIOGÊNICAS terminais, hialinas, enteroblásticas, fialídicas, cilíndricas. CONÍDIOS cilíndricos, hialinos, unicelulares, 8,5-30 e 4-5 µm (12-22 x 3-5 µm em cultura). APRESSÓRIOS marrons, ovóides medindo 8,5-13,5 x 6-9 µm.

EM MEIO DE CULTURA: crescimento rápido (8,5 cm de diâmetro em 9 dias em meio CVA). Colônias recobertas com micélio cotonoso branco a cinza-claro, com anéis concêntricos produzidos em fotoperíodo de 12 horas a 25 °C, com esporulação abundante em BDA e CVA.

Material examinado: RWB99 lagoa próxima a FUNARBE, Universidade Federal de Viçosa-MG, 11/09/99.

A descrição desse fungo se enquadrou naquela descrita por GREENE, (1956), citado por SUTTON (1992) nesse hospedeiro. No Brasil, este é o primeiro relato de *C. typhae* em *T. domingensis*. Trata-se também do primeiro relato já feito deste fungo sobre esta espécie.

É um fungo que apresenta crescimento rápido, esporulação abundante, conidiomas acervulares com grande quantidade de setas, as quais em determinadas situações, passam a exercer a função de células conidiogênicas.

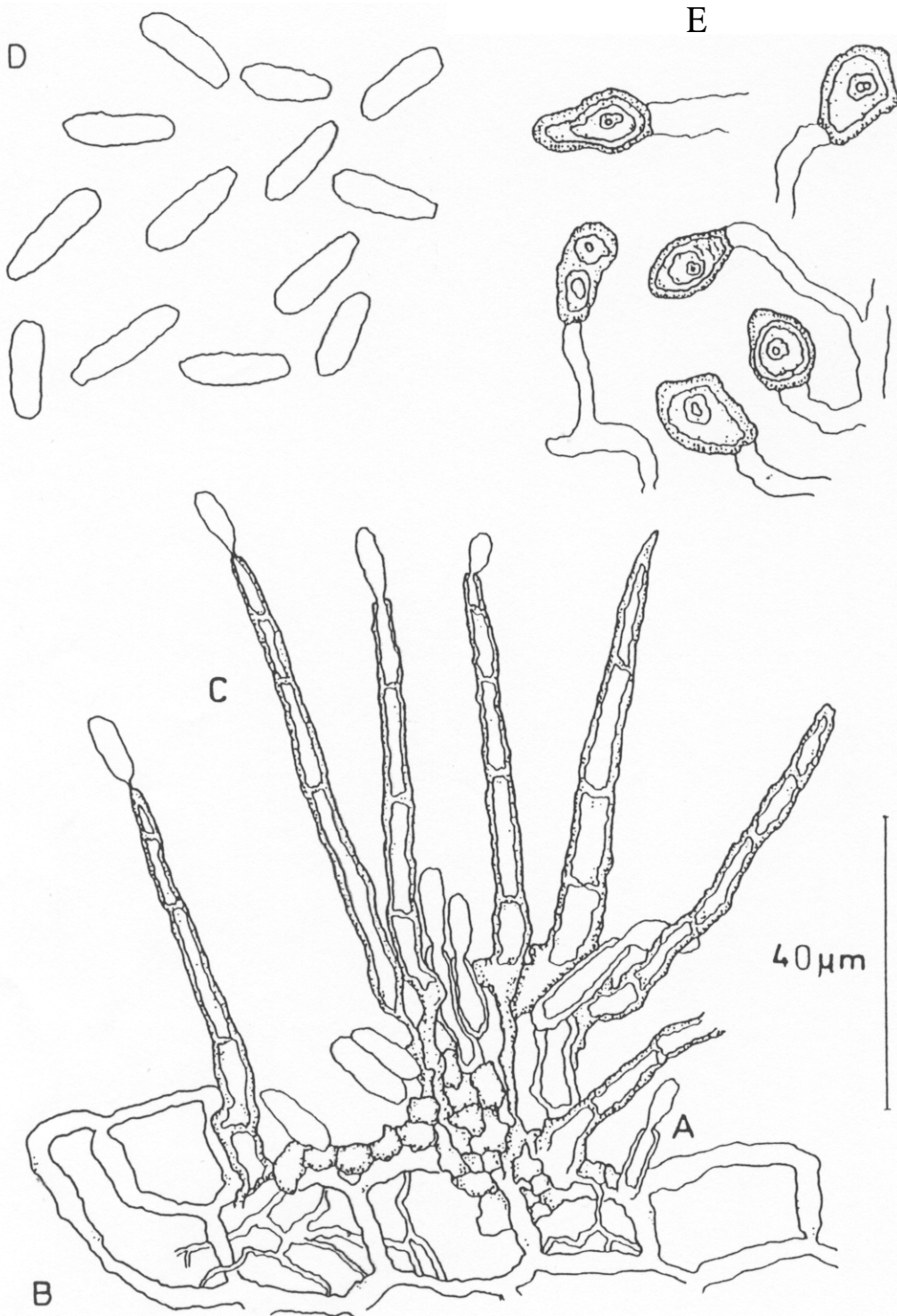


Figura 5. *Colletotrichum typhae*, A - células conidiogênicas, B - acérvulo, C - setas, D - conídios, E - apressórios.

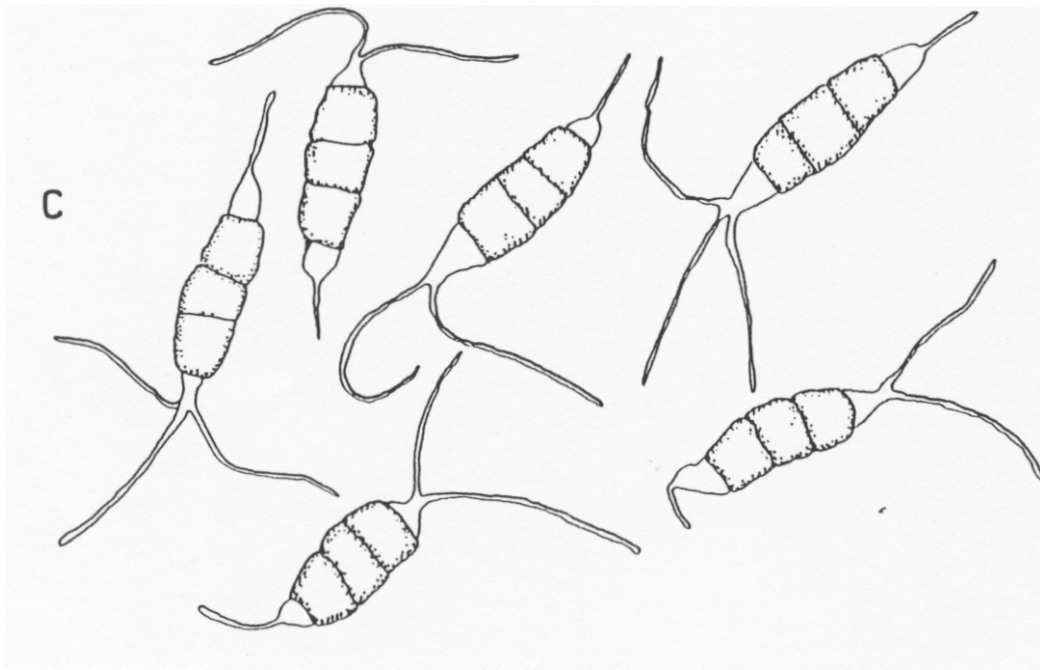
Pestalotiopsis dictyota (Speg.) Steyaert (Figura 6)

LESÕES marrom-claras presentes na extremidade terminal do limbo foliar em forma de um "V" invertido, com bordas cloróticas e o centro necrótico, 2,5-11 x 0,2-1,6 cm. MICÉLIO imerso, ramificado, septado, hialino ou marrom claro. CONIDIOMA acervular, subepidermal, isolado ou agrupado, 85-300 µm, encontrado em associação com lesões e em tecido morto, irregularmente distribuídos anfigenamente, com maior frequência na superfície abaxial. CONIDIÓFOROS hialinos, cilíndricos, 5-17 x 1,5-4µm, septados e ramificados. CÉLULAS CONIDIOGÊNICAS holoblásticas, anelídicas, lisas, cilíndricas. CONÍDIOS mucilaginosos em massa escura, fusiformes, retos ou altamente recurvados, 5 células com 4 euseptos, células basais hialinas, com um apêndice 4-12 µm, células apicais cônicas, hialinas com 2 a 4 apêndices filiformes com 20-40 µm de comprimento, corpo do conídio composto de células marrons, lisas 19-30 x 5-7 µm.

EM CULTURA: Crescimento rápido (8,5 cm de diâmetro/6 dias em CVA). Colônias brancas a acinzentadas, com micélio aéreo e esporulação abundante, exibindo zonação diurna.

Material examinado: CBM26, Santa Cruz do Escalvado-MG , 01/05/99.

O fungo encontrado em *T. domingensis* foi identificado como *Pestalotiopsis dictyota* (Speg.) Steyaert porque apresentou características de comprimento e diâmetro de conidióforos e conídios que se enquadraram na descrição dada por MORDUE (1980). Este fungo tem como hospedeiros plantas de vários gêneros tais como: *Araucaria*, *Eucalyptus* e *Anacardium*, *Typha angustata* é a espécie relacionada entre as hospedeiras. Trata-se pelo que se pode observar de um patógeno secundário da taboa.



40um

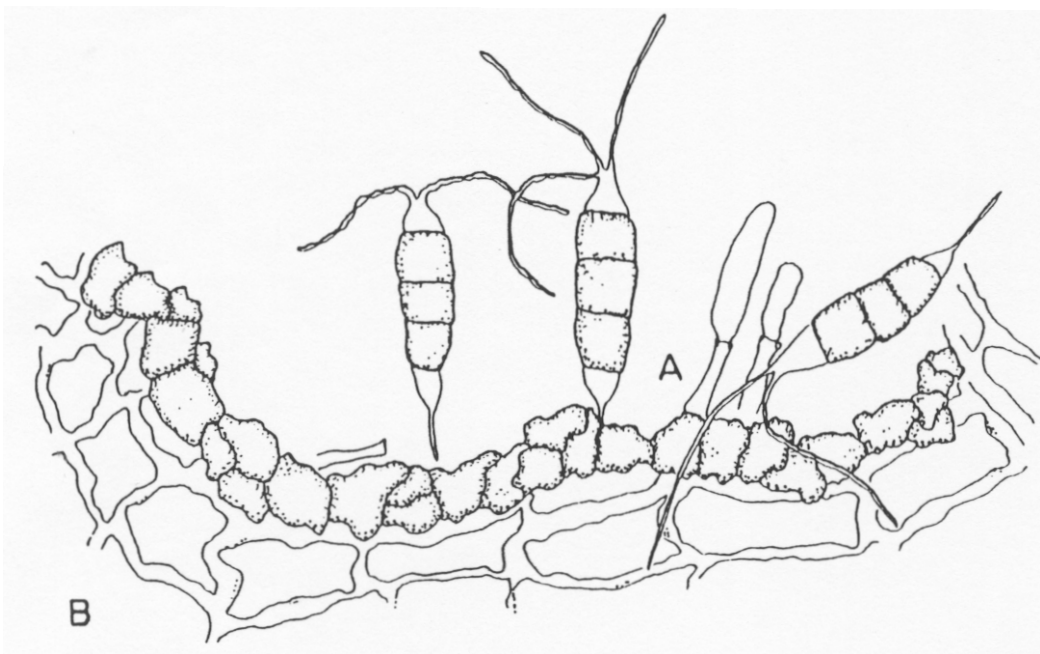


Figura 6 - *Pestalotiopsis dichaeafa*, A - célula conidiogênica, B - acérvulo. C - conídios.

3.2. Teste de patogenicidade

Dos fungos testados *C. typhae* (RWB-99, CBM-24, 26, 35, 94 e 97), *Cercospora* sp. (CBM-32, 97), *P. dictyota* (CBM-14, 16, 24, 26, 94, 97), *Phoma* sp. (CBM-05, 97), *C. typharum* (CBM-5, 13, 14, 16, 23, 32, 97, 24) e *Stenella* sp. (CBM-13), apenas os isolados de *C. typhae* foram patogênicos a *T. domingensis* na concentração utilizada.

Com relação a *Cercospora* sp. há indícios de que o fungo isolado se trata de uma forma saprófita. Este hifomiceto só havia sido observado após o material vegetal permanecer em câmara úmida por 36 horas. A abundante esporulação obtida em meio de cultura também não é característica comum nas espécies patogênicas deste gênero. *Phoma* sp. não foi patogênica no teste em planta mas, mais estudos sobre sua interação com *T. domingensis* precisam ser feitos, haja vista que esse fungo foi isolado de lesões que não aparentavam ter outra causa além do ataque deste fungo e apresentavam abundância de estruturas reprodutivas típicas de *Phoma* sp. É possível que algum problema com o método de inoculação tenha inibido a infecção.

Stenella sp. só foi encontrado em um ponto de coleta, na localidade de Barra do Riacho-ES, associado a lesões foliares em *T. domingensis*, no entanto, a sua patogenicidade não foi confirmada pelo teste efetuado.

Cladosporium sp. e *Pestalotiopsis* sp. foram isolados de amostras vindas de várias áreas de coleta durante o levantamento tanto no Rio Doce como no São Francisco, os mesmos estavam associados a sintomas de manchas foliares, no entanto, no teste de patogenicidade esses organismos não foram patogênicos à planta alvo. Em algumas dessas mesmas amostras, outros fungos como *Colletotrichum* foram isolados dessas lesões levando a crer que estes dois fungos sejam colonizadores oportunistas de tecido de *T. domingensis* previamente lesionado, embora saiba-se que algumas espécies destes gêneros são fitopatogênicas a plantas de importância agrônômica, causando doenças como sarna em cucurbitáceas e rosáceas (KIMATI et al., 1997), cancro da haste e podridão do caule em *Psidium guajava* L. (TSAY, 1991; HOSSAIN e MEAH, 1992) e mancha de pestalotia em *Anacardium occidentale* L. (KIMATI et al., 1997) respectivamente.

Cercospora sp. foi encontrada em dois pontos de coleta, Hidroelétrica do Xingó, no município de Xingozinho na divisa SE/AL e Lagoa Amarela - numa área da CAF localizada no Parque Estadual do Rio Doce, no entanto, o resultado do teste de patogenicidade e as características já descritas anteriormente não confirmaram a patogenicidade deste organismo à planta invasora.

Phoma sp. foi encontrada em duas áreas de coleta; nas proximidades da Pousada Jatamar no município de Regência-ES e na Hidroelétrica do Xingó no município de Xingozinho na divisa SE/AL, associada a uma doença severa em *T. domingensis*. Desconhece-se as razões para a reação negativa do fungo no teste de patogenicidade, mesmo utilizando-se uma concentração elevada de $4,5 \times 10^6$ esporos/mL. A hipótese de haver interação de *T. domingensis* com este fungo ainda não foi descartada, haja vista que os sintomas foram bem visíveis e a esporulação frequente. *Phoma* sp cresce bem em meios de cultura como BDA e CVA o que facilitará seu estudo futuro visando avaliar seu potencial como agente de controle biológico dessa invasora.

Colletotrichum typhae foi encontrado em amostras coletadas em 5 pontos de coleta tanto na Bacia do Rio Doce como na do São Francisco: São Joaquim distrito de Santa Cruz do Escalvado, Hidroelétrica do Xingó no município de Xingozinho na divisa SE/AL, Belvedere-CHESF no município de Paulo Afonso-BA, Lagoa da Prata-acezita no Parque Estadual do Rio Doce, Lagoa Valquíria em São Francisco-MG. O resultado do teste de patogenicidade confirmou a susceptibilidade desta planta aquática ao fungo, pois os isolados obtidos no levantamento produziram uma sintomatologia muito semelhante à apresentada pelo primeiro isolado encontrado em Viçosa.

Epipolaeum typharum foi encontrado associado a *T. domingensis* no Estado do Rio de Janeiro (BARRETO e EVANS, 1996), mas durante o levantamento na bacia do Rio Doce e São Francisco este fungo não foi observado em nenhuma ocasião.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

A busca por inimigos naturais para o controle de macrófitas aquáticas tem sido feita por entomologistas e mais recentemente por fitopatologistas. Estas plantas induzem perdas econômicas e ambientais de grande vulto em todo o mundo. Neste trabalho o objetivo foi o de se levantar a microbiota associada às plantas aquáticas aguapé (*Eichhornia crassipes*); alface d'água (*Pistia estratiotes*); canavieira (*Echinochloa polystachya*); aguapé de cordão (*Eichhornia azurea*); taboa (*Typha domingensis*); capim barrigudo (*Paspalum repens*); pinheirinho d'água (*Myriophyllum aquaticum*); cataia gigante (*Polygonum spectabile*); tripa de sapo (*Alternanthera phylloxeroides*); salvinia (*Salvinia auriculata*); nas bacias dos Rios Doce e São Francisco. Nessas bacias foram coletadas 44 e 63 amostras de plantas, respectivamente, apresentando sintomas de doença. Em toda a extensão mediana e inferior do Rio Doce todas as plantas alvo a exceção de *P. repens* foram encontradas sendo que *E. crassipes* foi encontrada em maior frequência na calha principal do Rio Doce. Em 80% das áreas de coleta verificou-se a presença de *Typha domingensis* e associado a ela foram coletados os fungos *Cladosporium typharum*, *Pestalotiopsis dichchaeta*, *Stenella* sp., *Cercospora* sp., *Phoma* sp. e *Colletotrichum typhae*. Nos testes de patogenicidade apenas *Colletotrichum typhae* foi confirmado como patogênico a esta invasora. *Eichhornia azurea*, durante todo o levantamento, foi a planta-alvo mais frequente. Associados a esta planta foram encontrados os fungos *Pyricularia grisea*, *Colletotrichum* sp.

e *Cercospora pontederiae*. Em *E. crassipes* foram assinalados os fungos *Cercospora piaropi*, *Colletotrichum* sp., *Acremonium zonatum*. *Polygonum spectabile* foi coletada em alguns pontos na Bacia do Rio Doce e na do São Francisco. Associado a essa invasora foi encontrado *Pseudocercospora* sp. *P. repens* só foi encontrada em Viçosa e em um afluente do São Francisco próximo à cidade de Januária-MG. Associados a essa invasora foram encontrados os fungos *Colletotrichum* sp., *Bipolaris* sp. e *Phyllachora* sp. A planta *Myriophyllum aquaticum* foi encontrada na Bacia do Rio Doce somente em alguns lagos e lagoas. Associados a essa macrófita encontraram-se os fungos *Cercospora* sp. e *Mycosphaerella* sp. *Pistia estratiotes* foi coletada em ambas as bacias e associada a essa planta detectou-se *Cercospora pistiae*. Em 80% das áreas de coleta *Salvinia auriculata* estava presente e em muitas delas a planta apresentava lesões escuras que progrediam causando apodrecimento das folhas, no entanto, nenhum organismo foi isolado dessas lesões. *E. polystachya* foi encontrada em vários pontos de coleta durante a expedição e associado a esta espécie estava o fungo *Phaeoramularia acroinflata*.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DE *Colletotrichum typhae* COMO MICOHERBICIDA PARA *Typha domingensis*

1. INTRODUÇÃO

A estratégia de micoherbicida ou inundativa envolve a produção massal e a aplicação de um fungo fitopatogênico específico, em relação ao hospedeiro, em uma concentração elevada de inóculo, sobre uma área limitada infestada pela planta daninha alvo (TEBEEST et al., 1992). Patógenos indígenas e exóticos têm sido usados para o desenvolvimento de micoherbicidas, entretanto, a maioria dos agentes biológicos investigados para essa estratégia tem sido patógenos endêmicos (MCRAE e AULD, 1988).

A primeira avaliação de um agente de biocontrole fúngico para plantas daninhas ocorreu nos Estados Unidos no início da década de setenta, quando *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. f. sp. *aeschynomene* foi avaliado para o controle de *Aeschynomene virginica* (L.) em plantios de arroz e soja no Arkansas-USA (DANIEL et al., 1973). O registro de uma formulação contendo este fungo ocorreu em 1982, sob o nome de COLLEGO. Depois outros

surgiram como DEVINE a base do fungo *Phytophthora palmivora* (Butler) para o controle de *Morrenia odorata* (Hook. & Arn.) em citros na Florida-USA e BIOMAL formulado com *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *malvae* para o controle de *Malva pusilla* Sm. em várias culturas no Canadá, (registrado em 1992).

Os avanços nessa linha de pesquisa para macrófitas aquáticas é ainda muito restrito. Não há até hoje qualquer bioherbicida disponível para o controle de invasoras aquáticas. *E. crassipes* é a planta aquática para a qual existem mais estudos disponíveis sobre a microbiota a ela associada. Isto se deve à sua grande importância como invasora de ambiente de água doce em todo o mundo. *Cercospora piaropi* Tharp (sinonímia *Cercospora rodmanii*) é o patógeno cujo potencial de controle biológico para esta invasora foi o mais investigado (BARRETO, 1991). O fungo é capaz de reduzir a biomassa de aguapé, entretanto, para a eliminação total ou próxima do total da planta, têm sido necessárias aplicações do fungo acompanhadas de herbicida químico (CONWAY, 1976; FREEMAN e CHARUDATTAN, 1984). Os testes de especificidade conduzidos em condições de casa de vegetação e campo, demonstraram que este fungo não apresentava risco para plantas cultivadas comercialmente ou de importância ecológica na Flórida (CONWAY e FREEMAN, 1977). Os sintomas da doença, as características morfológicas e culturais do patógeno, a patogênese e o potencial para o biocontrole de *E. crassipes* foram estudados (FREEMAN e CHARUDATTAN, 1984) e apesar de esse fungo ter sido um dos primeiros para os quais foi obtido um registro para uso como micoherbicida, problemas de ordem prática fizeram com que este nunca tenha chegado a se tornar um produto comercial.

Poucos estudos têm sido conduzidos com a microbiota associada a *T. domingensis*, entretanto, os resultados obtidos com *C. typhae* em testes preliminares justificam uma investigação mais minuciosa. Fungos do gênero *Colletotrichum* apresentam características que favorecem o seu uso em programas de desenvolvimento de micoherbicidas, havendo já quatro exemplos de micoherbicidas formulados com fungos deste gênero. Com base nestes precedentes, este estudo objetivou então avaliar a segurança e o potencial de *C. typhae* "in vitro" e em casa de vegetação como agente para o controle inundativo de *T. domingensis*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 -Efeito da temperatura e da luz na germinação de esporos de *Colletotrichum typhae*

Uma gota de suspensão de conídios de *C. typhae* contendo $2,5 \times 10^5$ conídios/mL foi depositada em cada um de 4 pontos pré-determinados de placas de Petri contendo agar-água e espalhadas com um bastão de vidro. As placas foram então expostas às temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35 °C, no escuro. Um outro ensaio foi conduzido expondo-se as placas a temperatura ambiente sob três regimes de luz: fotoperíodo de 0 hora, 12 horas e 24 horas. A germinação de conídios de *C. typhae* foi avaliada após 24 horas, observando-se 100 conídios em cada placa e calculando-se a porcentagem de germinação. A suspensão utilizada nestes ensaios foi preparada pela raspagem de colônias esporulantes do isolado RWB99 produzidas em placas de Petri contendo o meio Caldo de Vegetais-Ágar (CVA), descrito por PEREIRA (1997). E incubadas a 25 °C, no escuro durante 8 dias.

Para estes testes o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições e cada repetição constou de duas placas. Efetuou-se a análise de variância e regressão no programa para análise estatística SAEG. As equações foram escolhidas com base na significância dos coeficientes de regressão, adotando-se o nível de 1% de probabilidade. No teste de efeito do fotoperíodo sobre a germinação de conídios as médias dos

tratamentos foram comparadas pelo teste de "Tukey" em nível de significância de 5 %.

2.2 -Efeito da temperatura e da luz no crescimento radial de colônias de *Colletotrichum typhae* em meio de cultura

Discos de micélio de 7 mm do isolado RWB99 de *C. typhae*, provenientes de bordas de colônias com 8 dias produzidos em CVA, a 25°C no escuro, foram colocados no centro de placas de Petri com meio CVA. O crescimento radial das colônias foi avaliado incubando-se o fungo nas temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35 °C, no escuro. Outro grupo de placas foi incubado em temperatura ambiente sob três regimes de luz: fotoperíodo de 0 hora, 12 horas e 24 horas. O crescimento radial do fungo foi medido em duas direções perpendiculares em quatro avaliações com intervalos de um dia.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições e cada repetição constou de duas placas, a partir das médias foi calculada a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACC) e com esses dados efetuou-se a análise de variância e a regressão no programa para análise estatística SAEG. As equações foram escolhidas com base na significância dos coeficientes de regressão, adotando-se o nível de 1 % de probabilidade. No teste de fotoperíodo as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de "Tukey" em nível de significância de 5 %.

2.3 -Confecção de uma escala de notas

Quatro grupo de plantas de *T. domingensis* de diferentes idades com três repetições por grupo, sendo cada repetição constituída de um vaso com três plantas, foram utilizadas. Na produção de inóculo o meio utilizado foi Caldo de Vegetais-Ágar (CVA), onde discos de micélio do isolado RWB99 de *Colletotrichum typhae* foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo 15 mL de CVA e incubados a 25 °C, no escuro. Cada grupo de plantas foi inoculado por pincelamento com uma suspensão de conídios em

Tween 80 a 0,05% calibrada respectivamente para $2,5 \times 10^4$, $2,5 \times 10^5$, $2,5 \times 10^6$ e $2,5 \times 10^7$ conídios/mL e em seguida levadas para câmara de nevoeiro. Após 48 horas, foram transferidas para casa de vegetação, onde foram feitas observações diárias. Após 8 dias em casa de vegetação, as folhas com sintomas foram destacadas e fotocopiadas para estudos que visaram à confecção de uma escala de notas (Quadro 1), baseada na escala descrita por HORSFALL e BARRATT (1945). Para aprimorar a precisão dos avaliadores foi feito um treinamento destes durante 3 semanas no programa de computação Severity.exe. Como modelo utilizou-se a helmitosporiose do milho, por envolver sintomatologia e morfologia foliar mais semelhante à doença estudada, entre as doenças disponíveis naquele programa.

Quadro 1-Escala de notas para avaliar a severidade da antracnose de plantas de taboa, cujos valores correspondem a percentagem de área lesionada por folha

CLASSE	SEVERIDADE (%)
0	0
1	0 < 10
2	10 - 20
3	20 - 40
4	40 - 60
5	60 - 80
6	80 - 90
7	90 - 100
8	100

2.4 -Efeito do período de molhamento foliar e da temperatura na infecção de *Typha domingensis* por *Colletotrichum typhae*

Quatro grupos de quinze plantas de diferentes idades foram inoculados com uma suspensão de $2,5 \times 10^6$ esporos/mL por atomização até o escorrimento com um mini-compressor p-600 com pistola "PULVERJET" P-110. O inóculo utilizado foi produzido com o mesmo procedimento adotado nos experimentos anteriores. Após a inoculação as plantas foram mantidas em câmara úmida (vasos com armação de arame envoltos com plástico umedecido internamente) dentro de câmaras de crescimento com as seguintes temperaturas: 15, 20, 25 e 30 °C \pm 2 °C. Cada grupo foi constituído de 5 sub-grupos de 3 plantas, das quais foram retirados gradativamente os envoltórios, após 8, 12, 24 e 48 horas de molhamento foliar. Um subgrupo para cada tratamento foi posto em cada câmara de crescimento sem ser envolto em plástico (correspondendo a 0 hora de molhamento foliar). Após completarem-se 48 horas todas as plantas foram levadas para a casa de vegetação, para serem avaliadas a incidência e a severidade da doença. Foram realizadas 6 avaliações em intervalos de 2 dias tendo sido a primeira avaliação no oitavo dia após a inoculação.

O ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com 20 tratamentos com 3 repetições por tratamento, sendo cada repetição um vaso com três plantas. O editor estatístico utilizado para as análises foi o SAEG.

2.5 -Teste de especificidade ou gama de hospedeiros de *Colletotrichum typhae*

Nesse estudo, seguiu-se o método centrífugo-filogenético proposto por WAPSHERE (1974), de forma simplificada para avaliar o leque de hospedeiros para *C. typhae*. Assim, foram feitas inoculações de *C. typhae* em *T. domingensis* e plantas relacionadas a planta alvo, da mesma ordem e de ordens relacionadas. A dificuldade de obtenção de outras plantas do mesmo

gênero e a restrição da distribuição da família Typhaceae ou mesmo da ordem Typhales dificultou a realização de um teste mais completo para este fungo. No teste proposto por WAPSHERE (1974), e tornado hoje um padrão mundial, o número de plantas testadas diminui à medida que o distanciamento filogenético com a planta-alvo aumenta. Foram incluídas também neste teste plantas de importância agrônômica ou ecológica relacionadas ou não à planta alvo, e plantas sabidamente suscetíveis a fungos do gênero *Colletotrichum*.

Dez folhas de cada espécie e/ou variedade de planta testada foram inoculadas por pincelamento com uma suspensão de $2,5 \times 10^6$ conídios/mL de *C. typhae* em Tween 80 a 0,05%. Cada folha inoculada foi marcada com um barbante e as plantas foram mantidas em câmara de nevoeiro a 25 °C. Quarenta e oito horas depois, as plantas foram transferidas para casa de vegetação onde a avaliação foi feita aos 3, 7 e 21 dias, verificando-se a presença ou não de sintomas característicos da doença.

Ao todo foram inoculadas plantas de 58 taxa entre espécies e variedades, incluídas em 36 famílias botânicas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

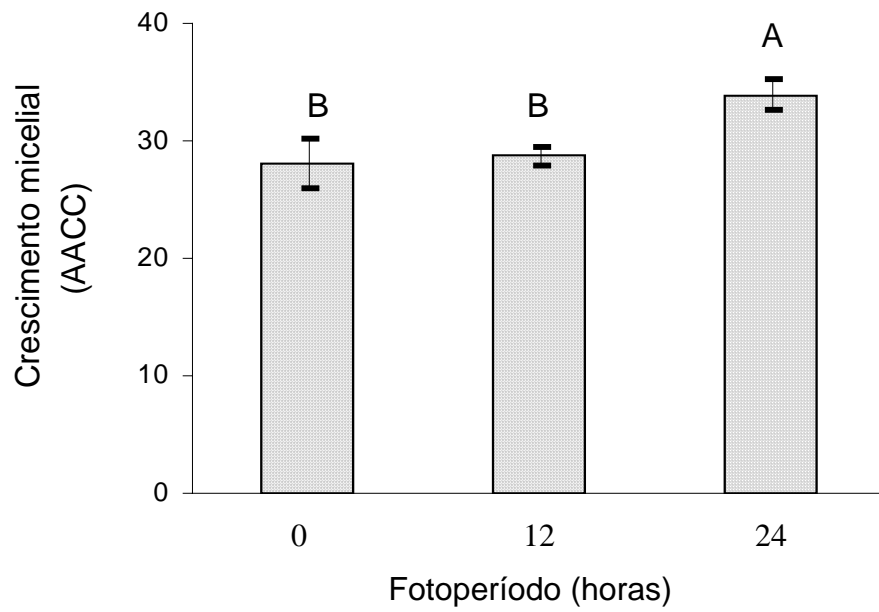
3.1 -Efeito da luz no crescimento radial e na germinação de esporos de *Colletotrichum typhae* em meio de cultura.

As diferenças observadas no crescimento de colônias de *C. typhae* em meio de CVA submetido a diferentes regimes de luz, foram significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey. A condição de fotoperíodo de 24 horas, foi o regime de luz sob o qual houve maior crescimento do fungo (Figura 1a).

A percentagem média de germinação de conídios nos fotoperíodos; 0, 12 e 24 horas foram de 32,4, 37,9 e 39,1 %, respectivamente. Pelo teste de Tukey a 5 % estes valores não diferiram estatisticamente entre si (Figura 1b), indicando que a germinação de conídios de *C. typhae* é indiferente em relação a exposição a regimes de iluminação. Resultados equivalentes foram encontrados para *Colletotrichum orbiculare* (Berk. & Mont) v. Arx. (MCRAE e AULD, 1988).

Entretanto, vale ressaltar que na segunda repetição deste experimento o tratamento onde houve exposição contínua à luz houve um percentual de germinação significativamente superior aos demais tratamentos. Uma nova repetição deste experimento é necessária para que este aspecto fique esclarecido.

a)



b)

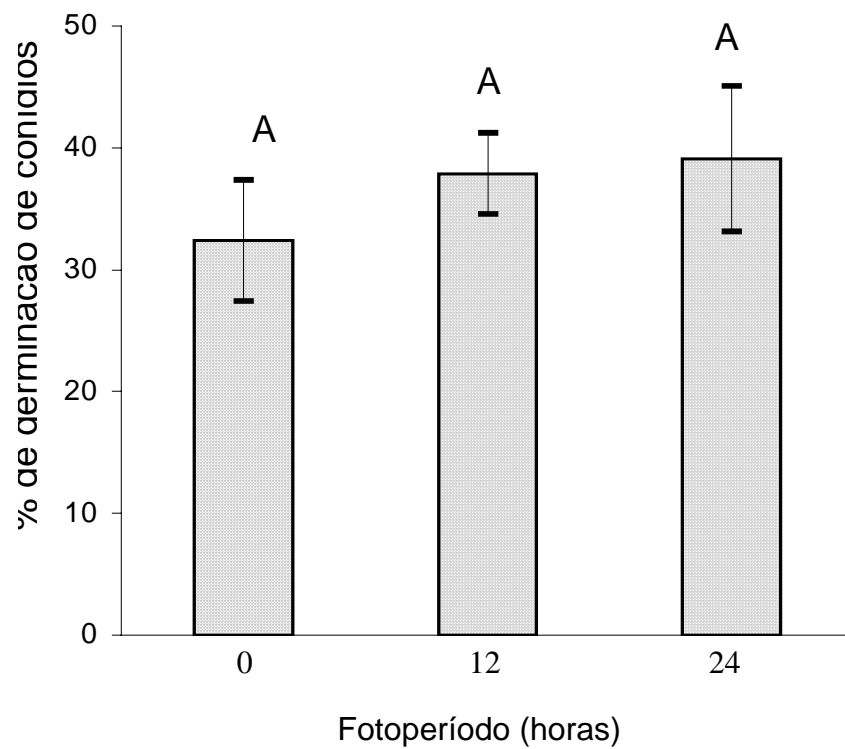


Figura 1. Efeito de diferentes fotoperíodos: 0 hora, 12 horas e 24 horas na germinação de conídios de *C. typhae* em agar-água (a) e crescimento micelial em meio de (CVA) (b).

3.2 -Efeito da temperatura no crescimento radial e na germinação de esporos de *Colletotrichum typhae* em meio de cultura.

Colletotrichum typhae cresceu bem às temperaturas de 25 e 30 °C em meio de CVA. Culturas incubadas a 15 °C só apresentaram crescimento micelial a partir da terceira avaliação. O crescimento foi muito reduzido à temperatura de 10 °C sendo observado crescimento da colônia somente na quinta avaliação, ou seja, aos nove dias após a incubação e não foi percebido crescimento da colônia a 35 °C nas cinco avaliações (Figura 2a). Resultado diferente foi encontrado por HARTUNG et al. (1981), com *C. gloeosporioides* (Penz.) isolado de *Vaccinium corymbosm* L. As temperaturas de 15 e 20 °C em meio de BDA foram as que melhor favoreceram o crescimento micelial. O mesmo foi observado para *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) (MARIN et al., 1996).

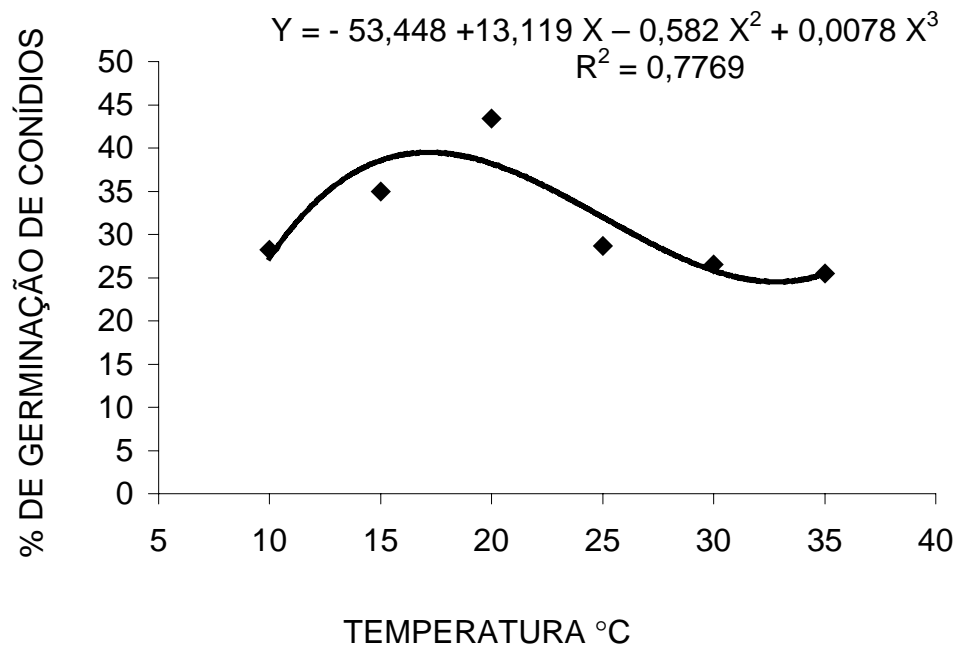
O intervalo de temperatura que mais favoreceu a germinação de conídios de *Colletotrichum typhae* em agar-água foi entre 20 °C (43,4%) e 15 °C (35%) (Figura 2b). A temperatura em que o fungo teve o menor percentual de germinação foi de 35 °C (25,5%) seguida pela de 10 °C (28,2%). A germinação foi baixa nas demais temperaturas. Estes resultados indicam que as temperatura entre 15 e 20 °C são mais favoráveis para a germinação dos conídios de *C. typhae*. HARTUNG et al. (1981), estudando a interação *C. gloeosporioides* e *V. corymbosm* obtiveram resultado semelhante, para 15 °C (22%) e 20 °C (44%) de germinação de conídios após 24 horas, no entanto os conídios foram mantidos em água destilada. O meio de cultura usado para produção de esporos também pode influenciar no tamanho dos conídios produzidos, número de núcleos percentual de germinação e virulência de vários patógenos fúngicos (PHILLIPS et al., 1989).

SCHISLER et al. (1991) estudando a influência de nutrição durante a conidiação de *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus and W. D. observou que o meio líquido influenciou na variação de atributos conidiais como: tamanho do conídio, número de núcleos, potencial para germinação e formação de apressórios. No entanto, o meio externo não exerceu influência nos atributos destes conídios.

Para muitos fungos a faixa de temperatura entre 20 e 30 °C é favorável para a germinação de esporos, fato previsível, pois esta faixa compreende a temperatura ambiente em grande parte do ano em regiões tropicais. Os limites máximos e mínimos, porém, podem variar de acordo com o fungo.

A determinação precisa dos requerimentos ambientais (temperatura e luz) adequados para o crescimento e germinação de conídios de *C. typhae*, poderá ser de grande relevância prática no desenvolvimento de um micoherbicida para o controle de *T. domingensis*.

a)



b)

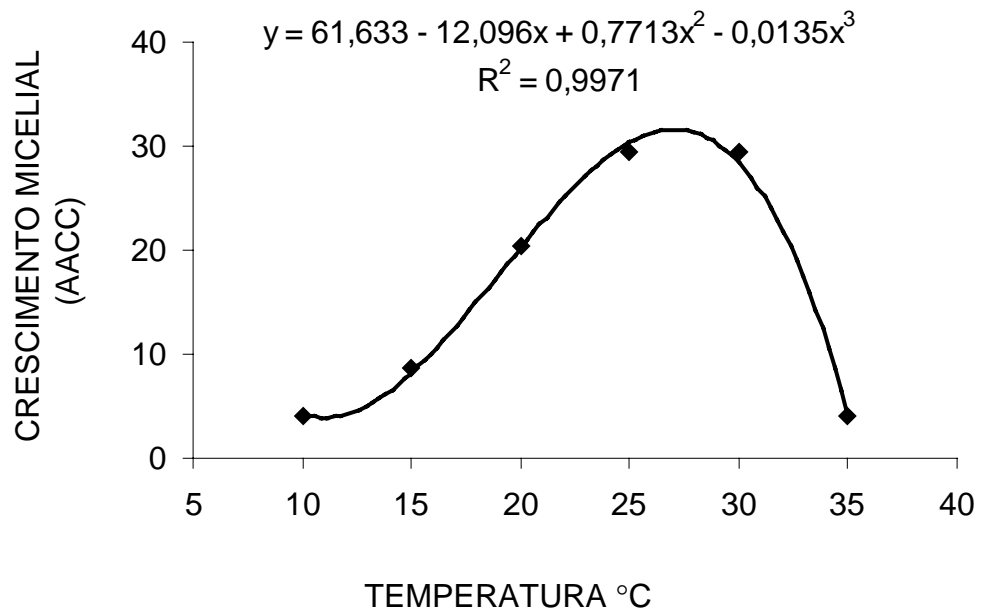


Figura 2 - Efeito de diferentes temperaturas, na germinação de conídios de *C. typhae*. em agar-água (a) e crescimento micelial em meio CVA (b).

3.3 - Efeito do período de molhamento foliar e da temperatura na infecção de *Typha domingensis* por *Colletotrichum typhae*.

Na primeira avaliação, já havia início de formação de lesões, caracterizadas por pontos cloróticos na superfície do limbo foliar para a maioria das plantas inoculadas. A exceção foi para plantas mantidas sob temperaturas de 15 e 30 °C. Nestas cerca de 20 % das plantas ainda não apresentavam sintomas da doença na primeira avaliação. As temperaturas que melhor favoreceram a incidência da doença foram de 15 e 20 °C. A incidência da doença nas temperaturas de 25 e 30 °C foi significativamente mais baixa, do que a obtida para plantas mantidas a 15 e 20 °C (Figura 3).

A incidência da doença aumentou com a duração do período de molhamento foliar (Figura 4). A 48 horas de molhamento foliar a incidência da doença foi significativamente maior do que a 24 horas. A 0 hora de molhamento foliar observou-se pequenas lesões mais próximas ao colo da planta enquanto que nas partes mais altas da planta essas lesões eram muito escassas. É possível que isso tenha ocorrido devido a proximidade destas áreas das folhas com a água do vaso. Talvez ali mesmo sem molhamento foliar, o microclima tenha favorecido a germinação dos conídios, infecção e desenvolvimento das lesões.

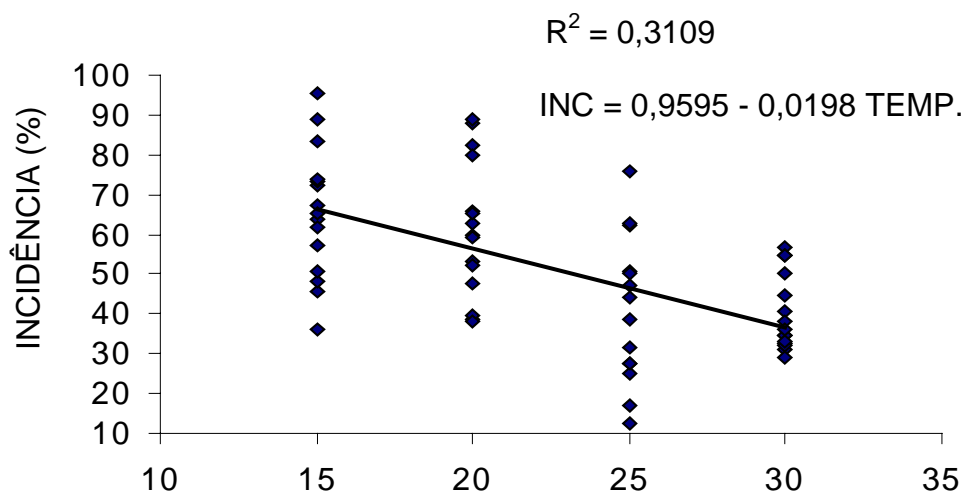


Figura 3 - Efeito da temperatura na incidência da doença causada por *C. typhae* em plantas de *T. domingensis* em casa de vegetação.

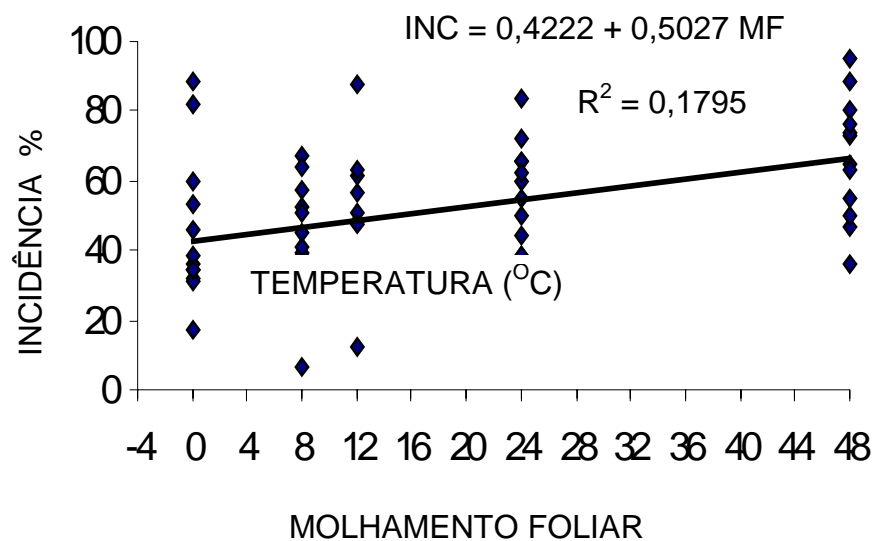


Figura 4 - Efeito do molhamento foliar na incidência da doença causada por *C. typhae* em plantas de *T. domingensis*, em casa de vegetação.

A severidade da doença aumentou com a duração do período de molhamento foliar (Figura 5). As durações do período de molhamento foliar que resultaram em maior severidade da doença foram de 24 e 48 horas, a 8 e 12 horas de molhamento a doença progrediu lentamente, enquanto que no tempo 0 de molhamento a infecção ocorreu, houve a formação de pequenas lesões mas estas quase não progrediram. Em todos os estádios de crescimento do hospedeiro, o mesmo foi suscetível, entretanto, a severidade foi maior nas plantas mais jovens.

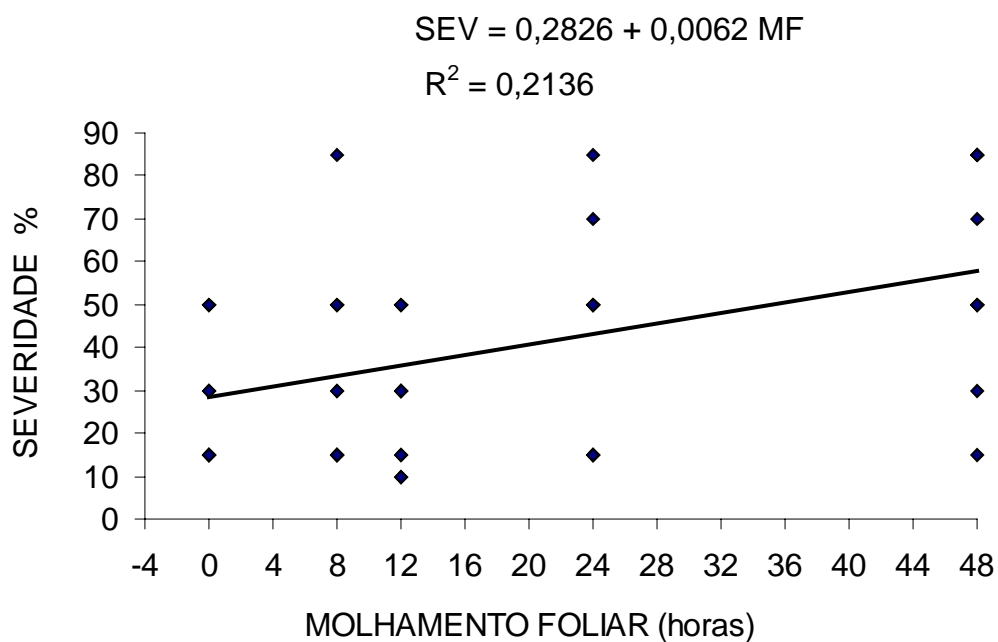


Figura 5 - Efeito do molhamento foliar na severidade da doença causada por *C. typhae* em plantas de *T. domingensis*, em casa de vegetação.

Os resultados indicaram que a faixa ideal de molhamento foliar para o desenvolvimento da antracnose em taboa é semelhante à encontrada por MCRAE e AULD (1988) para *C. orbiculare* em *Xanthium spinosum* L. A doença estudada por estes autores aumentou com a duração do molhamento foliar sendo a maior severidade obtida com 48 horas e a menor com 24 horas de molhamento foliar.

MCRAE e AULD (1988), relataram em estudos histológicos preliminares da interação entre *C. orbiculare* e *X. spinosum*, que a maior formação de apressórios neste hospedeiro ocorreu após 12 horas sob condições ótimas de temperatura e umidade.

Os fungos que causam antracnose de um modo geral requerem condições de umidade elevada para germinação, penetração, e esporulação no hospedeiro (WASTIE, 1972; HARTUNG et al., 1981; MORRIS, 1983). Os resultados dos estudos feitos com *C. typhae* indicam que o mesmo acontece com este fungo. Semelhantemente dentre os fatores que mais tem restringido o bom desempenho de potenciais micoherbicidas está a necessidade de uma longa duração do período de molhamento foliar para que a infecção ocorra. Entretanto, estas restrições podem ser vencidas por técnicas de inoculação artificial. O nível de umidade e inoculação durante o período de molhamento foliar pode ser aumentado pelo uso mais eficiente de agentes molhantes ou emulsões, ou aplicando-se o fungo em gel (WALKER e CONNICK, 1983) ou ainda utilizando-se preparações granulares (WALKER, 1983).

3.4 - Teste de especificidade ou gama de hospedeiros

O esclarecimento da gama de hospedeiros de um potencial agente de biocontrole é uma etapa muito importante em um programa de controle biológico (CHARUDATTAN, 1989), principalmente quando a estratégia usada é a de micoherbicida, devido a alta concentração de inóculo utilizada (CHIANG et al., 1989).

De acordo com WEIDEMANN e TEBEEST (1990), o único caso que se tem conhecimento de um hospedeiro de importancia econômica ser atacado por um agente de controle biológico aconteceu quando o inseto *Teleonemia scrupulosa* Stal. foi introduzido na África para o controle de *Lantana camara* L., atacando também gergelim (*Sesamum indicum* DC.) . O prejuízo no entanto foi temporário e teria sido evitado, caso antes da introdução tivesse sido realizado um teste centrífugo filogenético, conforme proposto por WAPSHERE (1974) e hoje amplamente adotado como aspecto central em programas de controle biológico.

Para *C. typhae* a determinação da gama de hospedeiros foi baseada neste método. Das 58 plantas, entre espécies e/ou variedades, incluídas no teste somente *T. domingensis* foi susceptível a *C. typhae*. (Tabela 1).

Quadro 2 - Reação das plantas selecionadas para o teste de especificidade com o fungo *C. typhae*

FAMÍLIA	NOME COMUM	ESPÉCIE/VARIEDADE	RESULTADO*
Anacardiaceae	Manga	<i>Mangifera indica</i> L./ UBÁ	-
Apiaceae	Cenoura	<i>Daucus carota</i> L./BRASÍLIA	-
Araceae	Alface d'água	<i>Pistia stratiotes</i> L.	-
Arecaceae	Coqueiro	<i>Cocus nucifera</i> L./ ANÃ	-
Asteraceae	Girassol	<i>Helianthus annuus</i> L. /UFV-10	-
Bromeliaceae	Abacaxi	<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr./ PÉROLA	-
Cannaceae	Cana	<i>Cana denudata</i> Rosc	-
Caricaceae	Mamoeiro	<i>Carica papaya</i> L. /FORMOSA	-
Chenopodiaceae	Beterraba	<i>Beta vulgaris</i> L./WONDER	-
Commelinaceae	Trapoeiraba	<i>Commelina bengalensis</i> L.	-
	Trapoeiraba	<i>Tradescantia zebrina</i> Hort. ex Bosse	-
	Trapoeiraba roxa	<i>Tradescantia pallida</i> (Rose) Hunt	-
	Trapoeiraba roxa	<i>Callisia repens</i> (Jacq) L.	-
	Trapoeiraba	<i>Commelina erecta</i>	-
Cyperaceae	Tiririca amarela	<i>Cyperus esculentus</i> L.	-
	Tiririca-comum	<i>Cyperus rotundus</i> L.	-
Euphorbiaceae	Mandioca	<i>Manihot esculenta</i> Crantz/PÃO-DE-OURO	-
	Seringueira	<i>Hevea brasiliensis</i> (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell. & Arg./PB 217	-
Euriocaulaceae		<i>Paepalanthus</i> sp.	-
Fabaceae	Soja	<i>Glycine max</i> L. / UFV-16	-
	Feijoeiro	<i>Phaseolus vulgares</i> L./MEIA NOITE	-
	Amendoim	<i>Arachis hypogaea</i> L. /IAC-JIMBO	-
Halorragaceae	Pinheirinho d'água	<i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verdc	-
Juncaceae	Junco-manso	<i>Eleocharis filiculmis</i> Kunth.	-
Lauraceae	Abacateiro	<i>Persea americana</i> Mill. /WAGNER	-
Liliaceae	Cebola	<i>Allium cepa</i> L./MONTE ALEGRE	-
Malvaceae	Algodão	<i>Gossypium hirsutum</i> L. /IAPAR 4PR.1	-
		IAC - 22	-
		CNPA-ACALA 1	-

Quadro 2, Cont.

FAMÍLIA	NOME COMUM	ESPÉCIE/VARIEDADE	RESULTADO*
Mayacaceae		<i>Mayaca</i> sp.	-
Marantaceae	Maranta	<i>Marantha</i> sp.	-
Moraceae	Figueira	<i>Ficus carica</i> L./ROXO DE VALINHOS	-
Musaceae	Bananeira	<i>Musa</i> sp./PRATA	-
Myrtaceae	Goiabeira	<i>Psidium guajava</i> L. / CAMPOS	-
Poaceae	Arroz	<i>Oryza sativa</i> L. / BR IRGA 409	-
		CICA-8	-
		EPAGRE-109	-
		JVAE	-
		METICA-1	-
		RIO FORMOSO	-
	Capim canavieira	<i>Echinochloa polystachya</i> (H.B.K.) Hitch	-
	Cana-de-açúcar	<i>Saccharum</i> sp. / CANA CAIANA	-
	Milho	<i>Zea mays</i> L.	-
	Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench/ BR - 700	-
Pontederiaceae	Aguapé de cordão	<i>Eichhornia azurea</i> (Swartz) Kunth	-
	Aguapé	<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	-
Rosaceae	Pessegueiro	<i>Prunus</i> sp/REDHAVEN	-
Rubiaceae	Cafeeiro	<i>Coffea arabica</i> L./CATUAI - 2144	-
Rutaceae	Limão	<i>Citrus</i> sp./TAITI	-
Solanaceae	Fumo	<i>Nicotiana tabacum</i> L./XALTHI	-
	Tomateiro	<i>Lycopersicon sculentum</i> Mill./SANTA CLARA	-
	Pimentão	<i>Capsicum annuum</i> L./CASCA DURA	-
Sparganiaceae	Sparganicum	<i>Sparganicum</i> sp.	-
Strelitzaceae	Strelitzia	<i>Strelitzia reginae</i> Banks	-
Typhaceae	Taboa	<i>Typha domingensis</i> Pers.	+
Vitaceae	Videira	<i>Vitis</i> sp./NIAGARA ROSADA	-
Xyridaceae		<i>Xyris</i> sp	-
Zingiberaceae	Gengibre	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	-

* (-)patogenicidade não comprovada, (+) patogenicidade comprovada.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

A estratégia micoherbicida envolve a produção massal de um fungo fitopatogênico, usualmente específico em relação ao hospedeiro, em uma concentração elevada, sobre uma área limitada infestada pela planta daninha alvo. O objetivo deste trabalho foi avaliar preliminarmente o potencial de *C. typhae* como micoherbicida para o controle de *T. domingensis*. Estudos sobre a fisiologia do fungo revelaram que: o crescimento das colônias de *C. typhae* em meio artificial é maior sob ausência de luz, a percentagem de germinação de conídios do fungo sob fotoperíodos de 48 horas, 12 horas e 0 hora foram 32,4, 37,9, e 39,1% respectivamente, não havendo diferença significativa entre os tratamentos; o fungo cresceu bem às temperaturas de 25 e 30°C; a faixa de temperatura que melhor favoreceu a germinação ficou entre 15 e 20°C. Estudos sobre a influência de condições ambientais sobre a infecção indicaram que a faixa de temperatura e duração do molhamento foliar que mais favoreceram a incidência da doença foi de 15 e 20°C e 24 e 48 horas respectivamente. A incidência da doença diminuiu com o aumento da temperatura e redução do período de molhamento foliar. Para severidade da doença a faixa ideal de molhamento foliar foi entre 24 e 48 horas, mas as temperaturas testadas não tiveram efeito significativo sobre a severidade da doença. O teste de especificidade mostrou que *C. typhae* é bastante específico só tendo sido patogênico a *T. domingensis*. Os resultados mostraram que o

fungo parece ter potencial para o desenvolvimento de um micoherbicida. Entretanto, novos estudos precisam ser feitos principalmente visando esclarecer as causas da baixa proporção de germinação de conídios verificada nas condições experimentais e, que pode ter reduzido os níveis de severidade da doença nos testes realizados em casa de vegetação.

RESUMO E CONCLUSÕES

Pesquisas envolvendo fungos fitopatogênicos para o controle biológico de daninhas aquáticas estão em desenvolvimento em vários países. O Brasil é o centro de origem de muitas plantas daninhas de importância mundial, entretanto, poucos estudos tem sido feitos objetivando o biocontrole dessas plantas aquáticas invasoras .

Os resultados do levantamento revelaram que as plantas aquáticas invasoras selecionadas tinham os seguintes fungos a elas associados: *T. domingensis* - *C. typharum*, *P. dicaeta*, *Stenella* sp., *Cercospora* sp., *Phoma* sp. e *C. typhae*, sendo que nos testes de patogenicidade apenas *C. typhae* foi confirmado como patogênico; *E. azurea* - *P. grisea*, *Colletotrichum* sp. e *C. pontederiae*; *E. crassipes* - *C. piaropi*, *Colletotrichum* sp., *A. zonatum*; *P. spectabile*, *Pseudocercospora* sp.; *P. repens* - *Colletotrichum* sp., *Bipolaris* sp., e *Phyllachora* sp.; *M. aquaticum* - *Cercospora* sp., e *Mycosphaerella* sp.; *P. estratiotes* - *C. pistiae*; *E. polystachya* - *P. acroinflata*. Nenhum organismo foi constatado associado a *Salvinia auriculata*. Os testes com *C. typhae* revelaram que o crescimento da colônia de *C. typhae* em meio artificial foi maior em fotoperíodo de 24 horas. As percentagens de germinação de conídios nos fotoperíodos: 0 hora, 12 horas e 24 horas foram 32,4, 37,9 e 39,1%, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os tratamentos. O fungo cresceu bem às temperaturas de 25 e 35°C, e o intervalo de temperatura adequado para germinação foi de 15 a 20°C. A faixa ótima de temperatura e

período de molhamento foliar para o desenvolvimento da doença foi de 15 a 20°C e de 24 a 48 horas respectivamente. A incidência diminuiu com o aumento da temperatura e a redução do período de molhamento foliar. No teste de especificidade *C. typhae* só foi patogênico a *T. domingensis*. Os resultados mostraram que o fungo tem algumas das características desejáveis para utilização no desenvolvimento de micoherbicidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANÔNIMO, As águas do Brasil. In: **Revista Ação Ambiental**. Ano 1, n.0, p.9, 1998.
- BARRET, S.C.H. **Water weed invasions**. Scientific American, New York, v.260, n.10, p.90-97, 1989.
- BARRETO, R.W. **Studies on the Pathogenic Mycoflora of Selected Weeds from the State of Rio de Janeiro (Brazil)**. Reading: University of Reading, 1991. 588p. Tese (Doutorado em Botânica) – University of Reading, 1991.
- BARRETO, R.W., EVANS, H.C. Fungal biocontrol of weeds and its potential role in ecosystem sustainability. In: Chapela, I.H. e M. E. Palm. **Mycology in Sustainable Development: Expanding Concepts and Vanishing Borders**. Parkway Publishers: Boone, 1996.
- BARRETO, H.C., EVANS, H.C., HANADA, R.E. First record of *Cercospora pistiae* causing leaf spot of water lettuce (*Pistia stratiotes*) in Brazil, with particular reference to weed biocontrol. **Mycopathologia**, v.144, p. 81-85, 1999.
- CARMICHAEL, J.W., KENDRICK, W.B., CONNERS, I.L., SIGLER, L. **Genera of Hyphomycetes**. The University of Alberta Press. Edmonton, Alberta.1980, 386p.
- CHARUDATTAN, R. Assesment of efficacy of mycoherbicide candidates. In: VII INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 7. 1989. DELFOSSE, E.S. (Ed). **Proceedings....** Roma, Itália, 1989. p.455-464.
- CHARUDATTAN, R. Thed mycoherbicide approach with plant pathogens. In: TEBEEST, D.O. (Ed). **Microbial control of weeds**, New York: Chapman & Hall, p.24-57,1991

- CHIANG, M.Y., VAN DIKE, C.G., LEONARD, K.J. Evaluation of endemic foliar fungi for potential biological control of johnsongrass (*Sorghum halepense*): screening and host range tests. **Plant Disease**. v.73, p.459-464, 1989.
- CHIKWENHERE, G.P., KESWANI, C.L. Economics of biological control of Kariba weed (*Salvinia molesta* Mitchell) at Tengwe in north-western Zimbabwe-a case study. **International Journal of Pest management**, v 43, n.2, p.109-112, 1997.
- CONWAY, K.E. Evaluation of *Cercospora rodmanii*, as a biological control of water hyacinths. **Phytopathology**, v. 66, n.7, p.914-917, 1976.
- CONWAY, K.E., FREEMAN, T.E. Host specificity of *Cercospora rodmanii*, a potential control of water hyacinth. **Plant Disease Reporter**, v.61, n.4, p.263-266, 1977.
- DANIEL, J.T., TEMPLETON, G.E.; SMITH JUNIOR, R.J.; FOX, W.T. Biological control of Nothern Jointvetch in rice with na endemic fungal disease. **Weed Science**, v.21, p.303-307, 1973.
- ELLIS, M.B. **More dematiaceous hyphomycetes**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 1976. 507p.
- FIGUEREDO, G. Herbicidas microbiológicos empregados no controle de plantas daninhas. **RAPP**, v.3, p.111-132, 1995
- FINLAYSON, C.M., ROBERTS, J., CHICK, J.A., SALE, P.J.M. The biology of Australian weeds. *Typha domingensis* Pers. and *Typha orientalis* Presl. **The Journal of Australian Institute of Agricultural Science**, v.49, n.1, p.3-10, 1983.
- FREEMAN, T.E., CHARUDATTAN, R. *Cercospora rodmanii* Conway, a biocontrol agent for water hyacinth. Agricultural Experimental Stations. University of Florida. **Bulletin**, n.842, p.1-18, 1984.
- HANADA, R.E. **Fungos fitopatogênicos para o controle biológico de plantas aquáticas**. Viçosa: UFV, 1998. 57p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- HARLEY, K.L.S. The role of biological control in the management of water hyacinth, *Eichhornia crassipes*. **Biocontrol News and Information**, n.11, p.11-22, 1990.
- HARTUNG, J.S., BURTON, C.L., RAMSDELL, D.C. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, v.71, p.449-453, 1981.
- HOLM, L.G., PLUCKNETT, D.L., PANCHO, J.V., HERBERGER, J.P. **The World Weeds: Distribution and Biology**, Honolulu: University Press of Hawaii, 1977.

- HORSFALL, J.G., BARRATT, R.W. An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology**, v.35, p.655, 1945.
- HOSSAIN, M.S., MEAH, M.B. Prevalence and control of guava fruit anthracnose. **Tropical Pest Management**, v.32, n.2, p.181-185, 1992
- JUNK, W.J. **Macrófitas aquáticas nas várzeas da Amazônia e possibilidade do seu uso na agropecuária**. Manaus: INPA, 1979. 29p. (Apostila).
- KIMATI, H., AMORIM, A., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas**, 3ed., v.2, São Paulo: Agronômica Ceres, 1997, p.774.
- KISSMAN, K.G., GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: BASF Brasileira, v.3, 1995.
- LABRADA, R. The importance of biological control for the reduction of the incidence of major weeds in developing countries. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 9, 1996, Stellenbosch. **Proceedings...**Cape Town: University of Cape Town, 1996. p.287-290.
- LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil**. Editora Plantarum: Nova Odessa, 1991.
- MAIA, C.B., BARRETO, R.W. Primeiro relato de *Colletotrichum* sp. em plantas de *Typha domingensis* Pers. no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, (suplemento), p.390, 2000.
- MARIN, D.H., SUTTON, T.B., DANKENSHIP, S., SWALLOW, W.H. Pathogenicity of fungi associated with crown rot of bananas in Latin America on Grande Naine and disease-resistant hybrid bananas. **Plant Disease**, v.80, p.525-528, 1996.
- MCRAE, C.F., AULD, B.A. The influence of environmental factors on anthracnose of *Xanthium spinosum*. **Phytopathology**, v.78, n.9, p.1182-1186, 1988.
- MORDUE, J.E.M. **CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria**. 1980, n. 676
- MORRIS, M.J. Evaluation of field trials with *Colletotrichum gloeosporioides* for the biological control of *Hakea sericea*. **Phytophylactica**. v.15, p.13-16, 1983.
- PEREIRA, J.M. **A micobiota fitopatogênica associada à planta invasora *Lantana camara* L. com ênfase no Estado de Minas Gerais – Brasil**. Viçosa: UFV, 1997. 72p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.

- PHILLIPS, D.J., MARGOSAN, D. A., MACKEY, B.E. Volume, nuclear number, and aggressiveness of conidia of *Monilinia fructicola* produced on media of varied glucose concentrations at 15 and 25 C. **Phytopathology**, v.79, p. 401-403, 1989.
- SACCARDO, P.A. Sphaeropsidae e Melanconieae. **Sylloge Fungorum**. v.3, p.163, 1884.
- SACCARDO, P.A. Discomyceteae e hyphomyceteae. **Sylloge Fungorum**. v.10, p.184, 1892. Supplementum.
- SACCARDO, P.A. Discomycetae e Deuteromycetae. **Sylloge Fungorum**. v.18, p.262, 1906.
- SCHISLER, D.A., JACKSON, M.A., BOTHAST, R.J. Influence of nutrition during conidiation of *Colletotrichum truncatum* on conidial germination and efficacy in inciting disease in *Sesbania exaltata*. **Ecology and Epidemiology**. v.81, n.6, p.587-589, 1991
- SINGH, S., GILL, M.S. Evapo-transpiration loss of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and chemical control of weed. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. v.66, n.8, p.487-489, 1996.
- SMITH, D., ONIONS, A.H.S. **The Preservation and Maintenance of Living Fungi**. Kew: CMI, 1983.
- SMITH, L.B., WASSHAUSEN, D.C., KLEIN, R.N. **Flora catarinense: gramineas**. Itajaí: Herbário "Barbosa Rodrigues", 1982. 1407p.
- SOBRERO, T.M., SABBATINI, M.R., FERNÁNDEZ, O.A. Phenology and biomass dynamics of cattail (*Typha subulata*) in southern Argentina, **Weed Science**, v.45, p. 419-422, 1997.
- SOERJANI, M., KOSTERMANS, A.J.G.H., TJITROSOEPOMO, G. **Weeds of Rice in Indonesia**. Jakarta: Balai Putaska, 1987.
- SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England, 1980, 696p.
- SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum* In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. (Eds.) **Colletotrichum: Biology, Pathology and Control**. British Society for Plant Pathology, p.21, 1992.
- TEBEEST, D. O., YANG, X.B., CISAR, C.R. The status of biological control of weeds with fungal pathogens. **Annual Review Phytopathology**. V.30, 637-657, 1992
- TSAY, J.G. The occurrence of *Pestalotia* rot of bagged guava fruits and screening fungicides for its control in Taiwan. **Plant Protection Bulletin**, v.33, n.4, p.384-394, 1991.

- TUNDISI, J.G., SAIJO, Y. Historical Review of International Research in the Rio Doce Lakes and Brazil/Japan cooperation in the field of limnology. In: **Limnological studies on the Rio Doce Valley Lakes**, Brazil. p.3-5, 1997.
- WALKER, H.L. Granular formulation of *Alternaria macrospora* for control of spurred anoda (*Anoda cristata*). **Weed Science**. v.29, p. 342-345, 1983.
- WALKER, H.L., CONNICK, W.J., Jr. Sodium alginate for production and formulation of mycoherbicides. **Weed Science**. v.31, p.333-338, 1983
- WAPSHERE, A.J. A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. **Annals of Applied Biology**, v.77, p.201-211, 1974.
- WASTIE, D.L. Secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis*: meteorological and other factors affecting infection by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Ann. Appl. Biol.** v.72, p.283-293, 1972.
- WATSON, A.K. The classical approach with plant pathogens. In TE BEEST, D.O. (Ed). **Microbial control of weeds**. New York: Chapman and Hall, p.3 - 23, 1991.
- WEIDEMANN, G.J., TEBEEST, D.O. Biology of host range testing for biocontrol of weeds. **Weed Technology**. v.4, p.465-470, 1990.
- WHITE, S. D., GANF, G.G. The influence of convective flow on rhizome length in *Typha domingensis* over a water depth gradient. **Aquatic Botany**. v.62, n.1, p.57-70, 1998.