

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sagittaria montevidensis* COM
Cylindrocarpon sp.**

Claudia Maria Toffanelli Fiorillo

Orientador: Prof. Dr. Robinson Antônio Pitelli

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Julho de 2007

F519c

Fiorillo, Claudia Maria Toffanelli

Controle biológico de *Sagittaria montevidensis* com *Cylindrocarpon*
sp. / Claudia Maria Toffanelli Fiorillo. -- Jaboticabal, 2007
x, 78 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007

Orientador: Robinson Antônio Pitelli

Banca examinadora: Rita de Cássia Panizzi, Margarete Camargo,
Gláucia de Figueiredo Nachtigal, Marta Cecília Mallasen Nemoto
Bibliografia

1. Bioherbicidas. 2. Plantas aquáticas. 3. Sanidade. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.954:581.9

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CLAUDIA MARIA TOFFANELLI FIORILLO - nascida em 6 de agosto de 1973, em Jaboticabal SP, é Engenheira Agrônoma formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, em janeiro de 1998. Obteve o título de Mestre em Fitopatologia, pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em abril de 2001. Trabalhou, de abril de 2001 a agosto de 2006, como pesquisadora junto ao Laboratório de Controle Biológico de Plantas Daninhas Prof. Giorgio de Marinis da UNESP/ FCAV, desenvolvendo pesquisas relacionadas ao controle biológico de plantas aquáticas envolvendo fungos fitopatogênicos.

Aos meus pais

Etio Toffanelli (in memorian) e Odila Motta Toffanelli, pela luta na educação dos filhos, pela confiança depositada em mim sempre, pelo apoio e carinho eternamente presente em minha memória...

OFEREÇO...**Ao meu esposo**

Bruno Frank Fiorillo, pela paciência e incentivo, pelo amor e carinho presentes em todos os momentos, alegria da minha vida...

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, por todos esses anos de acolhida.

Ao professor Dr. Robinson Antônio Pitelli pela orientação, amizade e incentivo durante a realização do curso.

Às professoras Gláucia de Figueiredo Nachtigal, Marta Cecília Mallasen Nemoto, Rita de Cássia Panizzi e Margarete Camargo pelas importantes críticas e sugestões.

Ao professor Dr. Robert Weingart Barreto, da Universidade Federal de Viçosa, pela identificação do isolado fúngico utilizado nesta pesquisa.

Ao professor Dr. José Carlos Barbosa do Departamento de Ciências Exatas, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos funcionários, alunos e estagiários do NEPEAM, Flávia, Mara, Giu, Angélica, Claudinei, Robinson Luiz, Nicolau, Sr. Aguinaldo, Claudia, Matheus, Gabriela e Ariel, pelo incentivo e amizade.

Aos amigos Elaine Ap. Vieira Valença e Alessandro Claro de Souza pela colaboração na execução dos ensaios.

Aos familiares Maria de Lourdes, Agnaldo, Luís, Marluci, Sônia, José Eduardo, Fábio, Márcia, Euzélia, Federico, Arianne, Lucas, Thiago, Fernanda e Agnaldo Jr. pela compreensão, tolerância e apoio para realização deste trabalho.

À bibliotecária Tiekko T. Sugahara, pelas correções das referências bibliográficas.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	x
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
Plantas aquáticas infestantes.....	1
<i>Sagittaria montevidensis</i> Cham. & Schlecht.....	10
Controle biológico de plantas daninhas.....	15
Avaliação de <i>Cylindrocarpon</i> sp. no biocontrole de <i>Sagittaria montevidensis</i>	20
Referências.....	21
CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE <i>Cylindrocarpon</i> sp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>Sagittaria montevidensis</i> EM FUNÇÃO DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR, DA FREQUÊNCIA E INTERVALOS DE APLICAÇÃO SOBRE PLANTAS DE DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO.....	32
Resumo.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	35
Resultados e discussão.....	38
Conclusões.....	46
Referências.....	47
CAPÍTULO 3 – DETERMINAÇÃO DA ESPECIFICIDADE DE <i>Cylindrocarpon</i> sp. EM PLANTAS AQUÁTICAS E DE INTERESSE ECONÔMICO.....	50
Resumo.....	50
Introdução.....	51
Material e Métodos.....	53
Resultados e Discussão.....	56

Conclusões.....	58
Referências.....	58

CAPÍTULO 4 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE SURFACTANTES SOBRE <i>Cylindrocarpon</i> sp. <i>IN VITRO</i> E DA COMPATIBILIDADE DE MISTURA COM O AGENTE NA EFICÁCIA DE CONTROLE DE <i>Sagittaria montevidensis</i>	
61	61
Resumo.....	61
Introdução.....	62
Material e Métodos.....	64
Resultados e Discussão.....	67
Conclusões.....	74
Referências.....	75

CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sagittaria montevidensis* COM *Cylindrocarpon* sp.

RESUMO – *Sagittaria montevidensis* é uma planta aquática emergente, de difícil controle desde que se tornou problemática em arroz irrigado. Infestante em corpos hídricos de usinas hidrelétricas, o biocontrole com o fungo *Cylindrocarpon* sp. empregado na estratégia inundativa, tem sido sugerido para manejo dessa macrófita onde o uso do controle químico tem se mostrado ineficiente devido ao desenvolvimento de resistência aos herbicidas inibidores da enzima ALS (acetolactato sintase). O presente trabalho foi conduzido em casa de vegetação e no laboratório de Controle Biológico de Plantas Daninhas Prof. Giorgio de Marinis, da FCAV – UNESP, Jaboticabal, visando avaliar a especificidade do agente de biocontrole em plantas não alvo de diferentes famílias botânicas e determinar a severidade da doença em função do número e intervalos de aplicações do bioherbicida, do período de orvalho e idade da planta além de estimar os efeitos de adjuvantes sobre o desenvolvimento de *Cylindrocarpon* sp. no controle de *S. montevidensis*. O fungo mostrou-se específico a *S. montevidensis*, não sendo constatado sintomas da infecção fúngica em plantas de interesse econômico e nas plantas aquáticas *Pistia stratiotes*, *Eichhornia crassipes*, *E. azurea*, *Salvinia* sp., *Azolla caroliniana*, *Lemna minor*, *Heteranthera reniformis*, *Hydrocotyle verticillata*, *Pontederia rotundifolia*, *P. parviflora*, *P. cordata*, *Polygonum lapathifolium*, *Ludwigia sedoides*, *L. elegans*, *L. repens*, *L. helminthorrhiza*, *Potamogeton pectinatus*, *Ceratophyllum demersum*, *Myriophyllum aquaticum*, *Egeria densa*, *E. najas*, *Najas guadalupensis*, *Hydrilla verticillata*, *Alternanthera phyloxeroides*, *Nymphoides indica*. A doença foi mais severa quando o bioherbicida foi aplicado em plantas com 3 a 4 folhas e na fase de inflorescência, submetidas as condições de período de orvalho superior a 6 horas. O bioherbicida, quando aplicado de duas a três vezes sucessivas, espaçadas de 21 dias, atinge o máximo de severidade aos 49 dias da primeira aplicação, contudo sem promover a mortalidade das plantas. A aplicação em mistura com Silwet L-77 Ag e Iharaguen-S melhorou a performance do agente de biocontrole expressa pela maior severidade da doença exibida pela plantas de

Sagittaria montevidensis. O emprego dos adjuvantes Energic e Herbitensil em mistura com o agente de biocontrole deve ser evitado pois reduziu a severidade da doença.

Palavras-Chave: adjuvantes, bioherbicida, crescimento micelial, gama de hospedeiros, plantas aquáticas, período de orvalho

BIOLOGICAL CONTROL OF *Sagittaria montevidensis* WITH *Cylindrocarpon* sp.

SUMMARY - *Sagittaria montevidensis* is a very important aquatic in shallow water bodies in wetland rice, mainly recently because tolerant biotypes is raising in areas with repetitive spraying with ALS inhibitor herbicide. The fungus *Cylindrocarpon* sp. has a good potential as biocontrol agent for this control action of this fungus against *S. montevidensis* under different conditions of spore concentration, dew period, number and intervals of spraying and surfactants addition in the spraying solution. The fungus specificity also was evaluated in aquatic and crop plants. The fungus showed high specificity to *S. montevidensis*. The disease severity was more strong when the plants were inoculated a 3-4 leaf stage and during blooming. A dew period longer than 6 hours was enough for to reach the maximum disease severity. Two a three spraying with the fungus enhanced the disease severity comparing with a single application and the intervals of 21 days between spraying produced better control than intervals of 7 and 14 days. Among the surfactants, Silwet L-77AG and Iharaguen-S improved the disease severity while Energic and Herbitensil reduced the *Cylindrocarpon* sp. disease severity.

Keywords: adjuvant, bioherbicide, mycelial growth, host range, aquatic plant, dew period

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Plantas aquáticas infestantes

As plantas aquáticas, integrantes dos ecossistemas aquáticos, desempenham funções vitais à manutenção dos mesmos, entre as quais destaca-se a oxigenação da água, o refúgio para organismos, a proteção contra ação erosiva da água nas margens, a filtração e retenção de nutrientes dissolvidos na água e a fonte de alimento (THOMAZ & BINI, 1998).

Os inúmeros benefícios proporcionados pelas plantas aquáticas, todavia, começam a se transformar em problemas quando estas deixam de coexistir em equilíbrio nos ecossistemas aquáticos. O desequilíbrio decorrente da poluição, mudança do regime hídrico de rios e lagos e da falta de predadores ou outras condições que alteram o ambiente aquático, promove um desenvolvimento excessivo das plantas aquáticas, com efeitos prejudiciais ao ambiente e ao uso da água.

O carreamento de fertilizantes, aplicados em áreas de atividade agrícola e agropecuária, para pequenos cursos d'água, riachos, lagos e reservatórios artificiais, além da descarga de efluentes residenciais e industriais, levam esses ambientes a uma condição de eutrofização, provocando alterações físico-químicas que proporcionam e sustentam a produtividade da vegetação aquática, criam condições para posterior deterioração da qualidade da água e iniciam uma sucessão na qual as plantas aquáticas competem pela dominância (CORRELL & CORRELL, 1975). Nessas condições, determinadas espécies proliferam-se de maneira desordenada e desenvolvem grandes populações promovendo uma série de interferências na dinâmica do corpo hídrico e no uso múltiplo da água como navegação, recreação, geração de

energia, comprometimento da pesca, além da limitação à prática de esportes e ao turismo. O crescimento descontrolado de plantas aquáticas em reservatórios de usinas hidrelétricas tem inúmeras conseqüências negativas para o ambiente aquático, como aumento de evapotranspiração, obstrução ou redução do fluxo de entrada de água nas turbinas de hidrelétricas, o que impede, em grande parte, o uso múltiplo dos mesmos.

HOLM et al. (1969) consideraram as plantas aquáticas submersas como as mais problemáticas, uma vez que reduzem drasticamente o fluxo de água, são rápidas na invasão de novas áreas e difíceis de serem manejadas ou controladas. O hábito perene de crescimento e a formação de colonizações monofíticas parecem torná-las alvo ideal de controle químico. Porém, essa medida de controle freqüentemente é comprometida por problemas relacionados ao ambiente aquático, incluindo a diluição e o tempo de contato em água corrente.

Os impactos causados pelo aguapé (*Eichhornia crassipes* Mart. Solms), alface d'água (*Pistia stratiotes* L.) e salvinia (*Salvinia auriculata* Aubl.) têm sido considerados como os mais sérios e difundidos problemas em nível mundial. De hábito flutuante, essas plantas são capazes de produzir grande quantidade de biomassa e interferir na densidade populacional de outras espécies devido ao sombreamento, acarretando a diminuição da diversidade da flora e da fauna aquática pela redução dos níveis de oxigênio, causando morte de peixes e zooplâncton (HARLEY, 1990; CARVALHO et al., 2005).

Nesse contexto, as plantas aquáticas passam a serem consideradas como plantas daninhas gerando a necessidade de controle (PITELLI, 1998; THOMAZ, 1998; MARTINS et al., 2005).

No Brasil, áreas com forte influência humana, como lagos e reservatórios eutrofizados próximos de grandes centros urbanos, represas rurais, canais de irrigação e drenagem, e reservatórios com finalidade de geração de energia elétrica são os ambientes com sérios problemas com plantas aquáticas. Os exemplos mais flagrantes localizam-se nas proximidades de grandes centros urbanos como São Paulo, Belo Horizonte, Rio de Janeiro e Recife.

Durante a eutrofização, diferentes grupos ecológicos de plantas colonizam os ecossistemas aquáticos, conforme a capacidade de utilização e teor de nutrientes necessários para o desenvolvimento ótimo. A sucessão inicia-se com o surgimento de espécies emergentes seguida das submersas e por fim as flutuantes, estas últimas associadas à fertilização do ambiente aquáticos e à redução da profundidade. No entanto, nos estádios mais avançados da eutrofização, as plantas submersas enraizadas geralmente entram em declínio, em virtude da redução da penetração da luz causada pelo fitoplâncton. As plantas submersas podem ser favorecidas posteriormente, por ocasião da redução da eutrofização, acarretando a diminuição na produtividade de fitoplâncton e conseqüentemente no aumento da penetração de luz (TUNDISI, 1998).

Existem inúmeros e importantes corpos d'água comprometidos pela eutrofização podendo-se citar o Rio Tietê em São Paulo, a lagoa Rodrigo de Freitas no Rio de Janeiro, o lago Paranoá em Brasília, a Lagoa dos Patos no Rio Grande do Sul. Contudo, o grande problema econômico decorrente das plantas aquáticas ocorre nos reservatórios para fins hidrelétricos. Alguns destes reservatórios são eutrofizados e têm sérios problemas com plantas aquáticas flutuantes como aguapé, alface d'água, salvinia e submersas como egeria (*Egeria densa* Planch.). As grandes populações de plantas aquáticas, verificadas principalmente nos reservatórios de hidrelétricas, têm provocado redução da capacidade de geração de energia, com conseqüências econômicas e sociais. Verificam-se outros inconvenientes aos municípios localizados às suas margens como acúmulo de lixo e sedimentos, proliferação de mosquitos e vetores patogênicos, prejuízo ao turismo regional, à navegação, à recreação e à pesca esportiva, bem como favorecimento de condições micro-aerofílicas com produção de substância de mau odor. Nesses ambientes verifica-se a redução ou até a extinção de algumas espécies mais suscetíveis à competição física, redução da luminosidade na coluna d'água, queda acentuada do oxigênio dissolvido nos períodos noturnos, morte de peixes e do zooplâncton, acúmulo de matéria orgânica, assoreamento de áreas e dificuldade à movimentação dos animais, os quais contribuem para a redução da biodiversidade dos ecossistemas aquáticos (MULLER, 1995; PITELLI, 1998).

Com relação ao Estado de São Paulo, diversos são os reservatórios afetados pelo processo de eutrofização. Derisio (1979) citado por JUREIDINI (1987), num estudo sobre o reservatório do Guarapiranga, que recebe esgoto e abastece uma significativa área da metrópole paulistana, mostrou que ele se encontrava, já em 1976, no estado mesotrófico, com uma chance razoável de eutrofizar. Segundo JUREIDINI (1987), estudos realizados posteriormente pela CETESB mostraram que esse reservatório se encontrava eutrofizado, com ocorrência de florescimentos de algas azuis, desde 1983.

Da mesma forma, JUREIDINI (1987) descreveu que no rio Tietê, próximo à represa de Barra Bonita, as águas tornaram-se eutrofizadas, a partir de 1979, quando a disponibilidade de nutrientes associada à pequena profundidade média da represa, à transparência da água e elevado tempo de resistência, contribuíram para as freqüentes aflorações de algas azuis observadas no corpo central da represa. Uma nítida sucessão ecológica das populações de fitoplâncton e de zooplâncton representada por gêneros característicos de águas poluídas foi verificada nos braços formadores da represa, enquanto nos pontos do corpo central, já apareciam gêneros associados a águas limpas e/ou eutrofizadas. O autor conclui que os esgotos domésticos e industriais não tratados, que constituem as fontes pontuais de poluição ao longo da bacia hidrográfica, bem como as inúmeras fontes disseminadas oriundas de práticas agrícolas condenáveis, foram os principais responsáveis pelo agravamento do desequilíbrio ecológico na represa de Barra Bonita.

Em São Paulo encontra-se a Represa de Billings, um reservatório do Rio das Pedras e Pirapora, cuja água é utilizada para diversos fins, incluindo controle de enchentes, abastecimento e geração de energia. Esta represa é um corpo d'água altamente eutrofizado, pois recebe as descargas dos esgotos efluídos através do sistema hídrico Rio Tietê/Rio Pinheiros. As descargas ocorrem por meio do bombeamento e recalque realizado pela Usina Elevatória de Porto Pedreira, a qual retira a água da calha do Rio Pinheiros, introduz na represa e esta, por sua vez, abastece o Reservatório de Rio das Pedras. Este reservatório descarrega suas águas na Usina Elétrica de Henry Boarden, que fornece energia elétrica para a Baixada Santista. A descarga de grandes quantidades de matéria orgânica, via esgoto, no corpo

hídrico receptor, acarretou, como conseqüência, a eutrofização. Um dos eventos posteriores foi o aproveitamento dos nutrientes liberados pela decomposição dessa matéria orgânica durante o processo da autodepuração, quando as plantas aquáticas estavam presentes. Segundo PALOMBO (1989) o desequilíbrio ecológico advindo desse fato provocou uma alta infestação de plantas aquáticas no corpo d'água, as quais se adaptaram e desenvolveram vigorosamente, com destaque para o aguapé e a alface d' água.

Sérios danos econômicos e ecológicos, diretos ou indiretos, têm ocorrido devido ao crescimento excessivo das plantas aquáticas nas represas do sistema CESP (Companhia Energética de São Paulo), afetando sobremaneira a geração de energia, principalmente em Jupia, Três Irmãos e Ilha Solteira. Onde predominam águas transparentes e sedimentos ricos em nutrientes há um intenso crescimento de plantas submersas, predominando *E. densa* e *E. najas*. Nos períodos de chuvas, a turbulência das águas promove o deslocamento dessas plantas do sedimento, ficando livres no corpo d'água. Nessas condições, são carregadas pelas correntes de água em direção às turbinas e ali ficam retidas pelas grades de proteção com impedimento o fluxo de água e redução na eficiência das turbinas. Quando o acúmulo dessas plantas é muito grande pode ocorrer deformação das grades e inclusive deslocamento para o interior das turbinas causando prejuízos de grande expressão. Como no Brasil a demanda de energia tem crescido num ritmo muito maior que a capacidade das hidrelétricas, existe um déficit de energia nos estados mais industrializados, sendo eminente o perigo de black-out de grandes proporções (PITELLI, 1998).

Situação semelhante é enfrentada pelo sistema de geração de energia no Estado do Rio de Janeiro, Sistema Light Serviços de Eletricidade S/A, que compreende um conjunto de obras hidráulicas destinadas à transposição de águas do Rio Paraíba do Sul para a vertente Atlântica da Serra do Mar, com a finalidade de aproveitar o potencial elétrico propiciado por uma queda d'água de 295,50 m. Essa transposição entrou em operação em 1952 e é feita a partir da usina elevatória de Santa Cecília, que tem capacidade de desviar até 160 m³/s água. Esse desvio permitiu que o antigo Distrito Federal iniciasse a exploração do Rio Guandu para fins de abastecimento de água com

a entrada em operação de uma Estação de Tratamento de Água (ETA) em 1958, trazendo dois benefícios significativos para o Estado do Rio de Janeiro: suprimento de energia elétrica e fonte de água para consumo humano.

Os reservatórios de Santana e Vigário, pertencentes a Light e situados no município de Piraí, RJ, operam bombeando a água acumulada no reservatório de Santana para o reservatório de Vigário, numa vazão de 178 m³/s. A altura de recalque é de 35,0 m e a capacidade máxima do conjunto de bombas é de 189 m³/s. O reservatório de Vigário possui um sumidouro, de 690 m de comprimento, por onde a água escoava chegando até as turbinas da hidrelétrica (COMASE, 1995). Tais represas, por receberem água do rio Paraíba do Sul a jusante de Volta Redonda, apresentam um elevado grau de poluentes, resultando na grande proliferação de plantas aquáticas flutuantes, submersas e emergentes. Cerca de 90 % da água utilizada na geração de energia da Light é proveniente desse sistema, sendo acumulada na Represa do Vigário antes da entrada nas turbinas das usinas, tornando fundamental o controle de proliferação de plantas aquáticas nesses reservatórios.

Nesses reservatórios ocorre o crescimento desordenado de várias espécies de macrófitas aquáticas (de 80.000 a 120.000 toneladas de plantas por ano). O problema começou na década de 50 com o aparecimento de densas colonizações de aguapé. Desde então, várias medidas de controle foram tomadas, porém com pouca eficácia, o que promoveu alterações expressivas na flora predominante do reservatório. Foram vários ciclos com diferentes espécies predominantes na flora do reservatório. O primeiro foi o chamado ciclo do aguapé o qual, como consequência da utilização do 2,4D, foi seguido pelos ciclos da *Salvinia* sp. e capitiva (*Echinochloa polystachya*), ambas tolerantes ao herbicida utilizado. Em seguida, a taboa (*Typha* spp.) passou a ser o povoamento predominante no reservatório. Ao caracterizar as comunidades infestantes de plantas aquáticas nos reservatórios de Vigário, Pereira Passos e Lages, da Light, MARTINS et al. (2003) verificaram a predominância de *Brachiaria arrecta*; *E. densa*; *Eichhornia azurea*; *E. crassipes*; *Hymenachne amplexicaulis*; *Panicum rivulare*; *P. stratiotes* L.; *Polygonum* spp.; *Sagittaria montevidensis* Cham. & Schlecht; *S. auriculata*; e *Typha dominguensis* L. No momento, a biodiversidade de espécies aquáticas no

reservatório de Santana é expressiva quando comparada com Vigário. Em Santana, é freqüente observar o leito do rio exposto favorecendo o estabelecimento de diversas espécies emersas de *Ludwigia* spp, *Pontederia lanceolata*, *Myriophyllum aquaticum*, *Polygonum lapathifolium*, *Cyperus giganteus*, e principalmente *S. montevidensis* que infesta grandes áreas assoreadas e marginais ao longo do reservatório, reduzindo consideravelmente a calha do rio. A navegação fica comprometida em diversos trechos onde a infestação monoespecífica de *E. densa* se prende facilmente às hélices de barcos em movimento inviabilizando o acesso às margens. Em decorrência do crescimento dessas comunidades, observou-se uma rápida redução de profundidade média do lago e a redução da sua qualidade como área de lazer, especialmente banho e esportes náuticos. O levantamento da ocorrência de plantas aquáticas ainda é um grande desafio, pois elas são de grupos bastante distintos (emersas, flutuantes, submersas) e ocorrem em ampla variação de ambientes, além de haver enormes variações de espécies e distribuição espacial de um ano para outro.

Por outro lado, as macrófitas aquáticas presentes constituem importante sistema de filtragem dos resíduos sólidos e de retirada de nutrientes inseridos pelo bombeamento do Rio Piraí, privilegiando a qualidade da água que é bombeada para o reservatório de Vigário, protegendo-o contra um processo acelerado de assoreamento.

MOLISANI et al. (2006), determinando a concentração de mercúrio em *E. densa*, *S. montevidensis*, *S. auriculata*, *P. stratiotes* e *E. crassipes*, coletadas em duas represas que recebem águas da transposição do rio Paraíba do Sul, detectaram os maiores teores nas macrófitas flutuantes em relação às enraizadas. Em geral, as raízes apresentaram as maiores concentrações de mercúrio do que as folhas para todas as espécies. As concentrações de mercúrio variaram de acordo com as espécies entre 46-246 ng.g⁻¹ e 37-314 ng.g⁻¹, respectivamente. Essas concentrações são maiores que aquelas relatadas para macrófitas coletadas em lagos não contaminados no Brasil e em outras regiões tropicais e similares àquelas relatadas para áreas moderadamente contaminadas. As concentrações de mercúrio podem ser atribuídas ao transporte fluvial a partir da região industrializada do vale do rio Paraíba do Sul.

Uma amostragem intensiva de *P. stratiotes* na represa de Vigário foi realizada para avaliar a capacidade de incorporação de mercúrio por esta macrófita. Os resultados mostraram uma correlação negativa entre as concentrações de mercúrio e o tamanho dos indivíduos, demonstrando a importância de juvenis dessa espécie na absorção de mercúrio. A retirada periódica de macrófitas da represa, seguida por sua disposição em áreas adjacentes, pode afetar a dinâmica do mercúrio. Os resultados mostram uma mobilização de 0,52 a 1,3 kg Hg por ano, uma fração significativa da carga total de mercúrio presente nas águas da represa. A disposição inadequada desse material poderá resultar num aumento da mobilização de mercúrio na bacia.

A grande velocidade de desenvolvimento e multiplicação dessas plantas em águas poluídas provoca desde obstrução das bombas da elevatória e do sumidouro até a redução de sua vida útil por acúmulo de matéria orgânica. Para evitar tal obstrução, operações de controle mecânico, sob licença do IBAMA, são efetuadas em quatro etapas: a retirada das plantas ainda do canal; o transporte das plantas ainda no corpo hídrico; a transferência deste material para o ambiente terrestre e o transporte e descarte do material coletado. As plantas presentes nas margens, ou em pontos de menor profundidade em canais de condução da água, são deslocadas mecanicamente e lançadas no curso de água. Próximo às tomadas de água, uma barreira flutuante retém as plantas que são retiradas e transferidas mecanicamente para as margens. Uma vez fora da água as plantas são mecanicamente carregadas em caminhões e transportadas até áreas de descarte sem qualquer aproveitamento, e disposta de forma inadequada. Um possível destino seria a utilização da biomassa seca como adubo, devido ao seu alto teor de nutrientes. No entanto, considerando a elevada capacidade dessas plantas em acumular metais, os quais, dependendo do nível de concentração, podem tornar-se uma ameaça à saúde humana, faz-se necessário uma caracterização da biomassa para verificar a viabilidade do seu uso.

Segundo VELINI (1998), o controle mecânico por meio de embarcações equipadas com sistemas de recolhimento de plantas é freqüentemente observado no exterior, mas pouco utilizado no Brasil, embora existam, aqui, algumas máquinas com estas características. Esta operação de controle certamente apresenta grande potencial

de uso em programas de manejo integrado de plantas daninhas, podendo ser utilizada em pontos com início da infestação de plantas marginais e de plantas emersas. Quando o transporte das plantas coletadas é feito nas próprias embarcações, há a necessidade de que estas apresentem grande capacidade; se utilizado em embarcações pequenas, o rendimento operacional é extremamente baixo em função da necessidade de um grande número de deslocamentos até a margem para esvaziamento do compartimento de depósito.

Outras estratégias de controle de plantas daninhas aquáticas, incluindo o controle mecânico (sombreamento, drenagem, mecanização e controle manual em ambientes pequenos, como os tanques de piscicultura), o químico (à base de produtos com ação herbicida, como sulfato de cobre, dichlobenil, diquat, diuron, endothal, 2,4-D, fenoprop, glyphosate e triazina) e o biológico, utilizando carpa-capim, peixe-boi, patos, gansos, insetos, ácaros, caramujos, plantas competidoras e fungos são amplamente investigados (BLACKBURN et al., 1971; BUA-NGAM & MERCADO, 1976; HALLER, 1976; RIMER, 1984; SUTTON & VANDIVER, 1986).

JUNK & MELLO (1987) citam que operações contínuas de controle químico são necessárias enquanto existirem nutrientes suficientes à disposição das plantas. Tais operações são extremamente onerosas e em curto prazo podem poluir o ecossistema, inclusive com efeitos deletérios para o homem. A remoção física é muito dispendiosa, sendo recomendada apenas para pequenas áreas infestadas, apesar de ser um método ambientalmente mais seguro.

O controle mecânico destaca-se em relação ao controle químico e alguns tipos de controle biológico, pois não promove a contaminação da água com compostos químicos de ação herbicida ou toxinas. Pode ser utilizado de modo pontual, limitando-se o controle aos locais de ocorrência das plantas. As plantas são geralmente retiradas do meio aquático, reduzindo os problemas resultantes da decomposição das mesmas (consumo de oxigênio além de odor e aparência desagradáveis). Contudo, é pouco específico e pode segmentar plantas com propagação vegetativa, disseminando-as. Como a eficiência não é total, os programas de controle mecânico têm permitido a rápida recomposição das populações de plantas aquáticas. A necessidade de utilização

contínua ou freqüente tem tornado o controle mecânico bastante oneroso, superando amplamente, a médio e longo prazo, os custos do controle químico e do controle biológico. Embora não gere contaminação da água, a remoção das plantas pode causar grandes danos diretos à fauna e à flora não daninha, além de colocar uma excessiva quantidade de sólidos em suspensão alterando um grande número de características do corpo hídrico relacionadas à transparência da água. Quando as plantas são transportadas até a margem, há a preocupação adicional de descartá-las sem que problemas ambientais sejam gerados; as tentativas de criar algum uso para o material a ser descartado têm sido infrutíferas em função das grandes quantidades envolvidas e do elevado teor de água destas plantas (VELINI, 1998).

O maior problema do uso do controle mecânico apontado na literatura corresponde à ausência de informações sobre o impacto ambiental nestes sistemas e que não existem critérios para a tomada de decisão quanto à seleção das áreas em que o controle será utilizado; o que tem determinado a porcentagem da área a receber controle e o volume de plantas a ser removido é o montante de recursos disponíveis na empresa para este fim (VELINI, 1998).

***Sagittaria montevidensis* Cham. & Schlecht.**

Sagittaria montevidensis é uma planta aquática que tem despertado o interesse da comunidade científica e dos técnicos das concessionárias hidrelétricas devido ao profuso crescimento da infestante em áreas agrícolas e em reservatórios. Pertencente à Família Alismataceae, é uma planta aquática emergente anual, com folhas eretas e limbo sagitado, cuja altura varia entre 0,5 a 1,0 m. KISSMANN (1997a) destaca que a sagitária normalmente é reproduzida por sementes e propagada a partir de tubérculos.

O gênero *Sagittaria*, nativo da região meridional da América do Sul é encontrado no Brasil, contendo as espécies *S. guyanensis* Kunth, *S. lancifolia*, *S. rhombifolia* e *S. montevidensis*. Como sinónimas da espécie *S. montevidensis* pode-se citar *S. montevidensis* H.B.K. var. *montevidensis* Kuntze, *S. multinerva* Larran, sendo que a

distribuição inclui as regiões subtropicais da América do Sul, no Brasil (Centro-sul e Amazônia), a América Central e do Norte, África, Ásia e Austrália (KISSMANN, 1997a; POTT & POTT, 2000).

Plantas do gênero *Sagittaria* apresentam três padrões básicos de folhas, conforme sejam imersas, flutuantes ou emersas. Dentro desses padrões há grande variabilidade, mesmo dentro de uma espécie. As folhas submersas são pouco freqüentes, lineares ou filoidais, com 3-40 cm de comprimento por 4-12 mm de largura. Quando flutuantes, as folhas são lanceoladas com a parte anterior do limbo bastante larga, eretas, formando alas envolventes; cheio de tecido aerenquimatoso que permite a flutuação. Os limbos das folhas emersas possuem dois lobos basais divergentes, também de ápice agudo; conservadas com as características básicas, e em plantas desenvolvidas o comprimento dos limbos pode chegar a 50 cm. A superfície do limbo é lisa e glabra, verde.

Quanto às hastes florais, essas são cilíndricas, grossas, com tecido interno aerenquimatoso, chegando a medir até 70 cm de comprimento, apresentam de 3 a 15 verticilos. As flores masculinas encontram-se na parte inferior, geralmente do 2° ao 5° verticilo, podendo formar de 2-5 flores por verticilo, e as femininas, na parte superior, podem ocorrer de 2-7 por verticilo.

O fruto é formado à volta de um receptáculo globoso e deprimido, formado por tecido aerenquimatoso, situam-se inúmeros aquênios com 2-3 mm de comprimento, com rostro arqueado em direção ao centro do receptáculo. As unidades de dispersão são os receptáculos livres que flutuam na água.

Objeto de apreciação pela utilização apícola e de valor ornamental para aquário e lagos, a sagitária passou a ser cultivada em diversos países, notadamente em jardins botânicos. As sementes e tubérculos são consumidos pelas aves aquáticas e os rizomas consumidos na Ásia (KISSMANN, 1997a).

A sagitária desenvolve-se principalmente em água estagnada e poluída, servindo, portanto, de indicadora de ambiente antropizado e água eutrofizada onde as plantas alcançam seu maior desenvolvimento vegetativo e apresentam um grande número de flores (POTT & POTT, 2000). De modo geral, a alta produtividade das

plantas aquáticas emersas pode estar relacionada com a eficiência da reprodução vegetativa na maioria das espécies, associado com a absorção dos nutrientes, forma das folhas e distribuição no caule o que confere às plantas uma maior eficácia no aproveitamento da radiação solar, além de sofrer poucas perdas por herbivoria (ESTEVEZ, 1998).

Os impactos negativos das infestações desta planta não são restritos aos corpos hídricos de reservatórios, rios e lagos. Essa espécie tornou-se infestante em canais de irrigação e drenagem, bem como em lavouras de arroz irrigado no Brasil, particularmente nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (NOLDIN et al., 1999), no Japão (GOHBARA & YAMAGUCHI, 1993) e Estados Unidos, na Califórnia (PRATHER et al., 2001). As lavouras de arroz irrigado constituem-se em ambiente favorável ao desenvolvimento de muitas espécies de plantas daninhas, tanto durante o período de cultivo do arroz, como na entressafra deste. EBERHARDT & NOLDIN (2006) destacaram que as infestações da sagitária, aguapé, o angiquinho, e a cruz-de-malta têm crescido acentuadamente nos últimos anos, especialmente nas áreas que passaram do sistema de cultivo com semeadura em solo seco para o sistema pré-germinado.

A sagitária destaca-se como a planta daninha de maior disseminação nas áreas de arroz irrigado em Santa Catarina nos últimos dez anos. Essa constatação é relevante, pois as plantas daninhas concorrem com as de arroz por luz, água e nutrientes, constituindo-se em um dos principais fatores limitantes da produtividade nas lavouras de arroz irrigado do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (ANDRES & MACHADO, 2004). Assim, o manejo das plantas daninhas é um componente muito importante para que sustentabilidade na agricultura seja atingida e independentemente do sistema de cultivo, o controle químico é a principal alternativa de controle, pela eficiência e praticidade. No entanto, o controle da sagitária, particularmente, tem sido problemático com aparecimento de biótipos resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS (acetolactato sintase), na região de Itajaí, em Santa Catarina (NOLDIN & EBERHARDT, 2001). A ocorrência de populações de sagitária com resistência cruzada

a herbicidas inibidores da ALS foi relatada no final da década de 90, tanto do grupo das sulfoniluréias como grupo químico dos pyrimidinyl thiobenzoato (NOLDIN et al., 1999).

Os herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) ou acetohidroxiácido sintase (AHAS) pertencem a diversos grupos químicos, dentre eles as sulfoniluréias, imidazolinonas, triazolopirimidinas e pirimidiloxitiobenzoatos. Estes herbicidas apresentam como mecanismo de ação a inibição da síntese de aminoácidos alifáticos de cadeia lateral: valina, leucina e isoleucina (TREZZI & VIDAL, 2001). Segundo CHRISTOFFOLETI et al. (2001), a via biossintética desses três aminoácidos apresenta em comum o uso da enzima ALS (acetolacto-sintase) que participa na fase inicial do processo metabólico, catalisando uma reação de condensação. Os herbicidas inibidores da ALS impedem que esta reação de condensação aconteça provocando, como consequência, o bloqueio na produção dos aminoácidos alifáticos de cadeia lateral. O impedimento da formação dos aminoácidos, leva a uma interrupção na divisão celular e paralisação do crescimento (KISSMANN, 1997b).

De modo geral, um biótipo de planta daninha torna-se resistente ao herbicida inibidor da ALS quando ocorre uma alteração do gene responsável pela codificação dessa enzima. A seqüência de aminoácidos da enzima ALS é alterada, de tal forma que estes herbicidas não conseguem mais provocar a inibição não competitiva, assim a planta resistente produz os aminoácidos alifáticos de cadeia lateral mesmo com a presença do herbicida no local de ação (SHANER, 1991).

O aparecimento de plantas daninhas resistentes aos herbicidas é recente, apesar dos mesmos serem usados há mais de 40 anos. No Brasil, pelo menos 10 espécies de plantas daninhas têm biótipos identificados como resistentes a herbicidas pertencentes a pelo menos três mecanismos de ação de herbicidas. VIDAL & MEROTO JR. (2001) constataram que a maioria dos biótipos resistentes foi registrada na cultura da soja por ser a cultura onde é grande o emprego de herbicidas. Foram relatados casos de resistência aos herbicidas inibidores da ALS em *Bidens pilosa* L. (PONCHIO, 1997), *Euphorbia heterophylla* L. (GAZZIERO et al., 1998, VIDAL & MEROTO JR., 1999) na soja e no arroz irrigado a *S. montevidensis* (NOLDIN et al., 1999), *Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl e *Cyperus difformis* L. (VIDAL & MEROTTO JR, 2001).

Nas regiões orizícolas, o arroz vermelho é considerado a principal planta daninha infestante cujo controle tem sido contornado com a implantação do sistema Clearfield, o qual utiliza cultivares de arroz resistentes a herbicidas do grupo químico imidazolinonas. Nesse contexto, o herbicida ONLY que consiste numa associação de herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas, também um inibidor da ALS, quando aplicado em áreas infestadas com sagitária não proporcionou o controle esperado, sugerindo então a ocorrência natural de plantas resistentes a este herbicida (NOLDIN et al., 2004).

Aplicações seqüenciais de imazetapyr + imazapic em dose total de 1,5 L.ha⁻¹ asseguram os melhores níveis de controle de arroz vermelho e outras plantas daninhas presentes em lavouras de arroz irrigado de Santa Catarina. Contudo, NOLDIN et al. (2006) verificaram que a reposição da lâmina de água após a primeira aplicação melhorou o controle das plantas daninhas a exceção de *S. montevidensis* resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS.

A utilização da lâmina de água no arroz é prática comum entre produtores, sendo drenada da lavoura após a semeadura para reduzir a infestação de plantas daninhas. EBERHARDT & NOLDIN (2006), avaliando a infestação de plantas daninhas em arroz irrigado no sistema pré-germinado, em função de manejo da água nos períodos de pré e pós-semeadura verificaram infestações variáveis de capim-arroz (*Echinochloa crus-galli*), *Fimbristylis miliacea* e de *S. montevidensis*.

De acordo com CHRISTOFFOLETTI & OVEJERO (2003), a extensão de áreas agrícolas detectadas com presença de biótipos resistentes de plantas daninhas pode ser considerada de pequena escala quando comparada com a área agrícola total, mas está aumentando em uma taxa elevada. Portanto é importante que o assunto seja discutido medidas de prevenção e manejo sejam adotadas para que o herbicida seja preservado para o controle eficaz e econômico na agricultura.

É importante ressaltar que áreas de arroz com sagitária resistente ao herbicida é freqüente no Brasil em virtude da aplicação extensiva e repetitiva dos inibidores da ALS nesta cultura. NOLDIN & EBERHARDT (2002) recomendaram, em áreas onde a resistência foi detectada, evitar a semeadura no seco que favorece a planta daninha e

torna mais difícil o seu controle; efetuar o preparo final do solo imediatamente antes da semeadura do arroz; usar densidade de semeadura do arroz recomendada ou superior, para aumentar a capacidade de competição do arroz com a planta daninha; limpar os equipamentos de preparo do solo e da colheita ao sair de uma área infestada com sagitária resistente; não utilizar herbicidas de pré-semeadura do arroz; não utilizar os herbicidas para os quais a resistência foi confirmada. Constataram, ainda, que nenhum dos herbicidas indicados para aplicação em benzedura em arroz irrigado é eficiente no controle de sagitária resistente. Assim, sugerem evitar que plantas resistentes produzam sementes eliminando-as após a colheita através da roçada, gradagem ou com herbicidas.

Apesar dos relatos existentes na literatura comprovarem o aparecimento de biótipos resistentes de plantas daninhas no Brasil aos herbicidas inibidores da ALS, são poucas as pesquisas publicadas que evidenciam formas alternativas de manejo das populações de sagitária resistentes.

Em se tratando de uma planta aquática capaz de produzir mais de 40 mil sementes ao ano, é de extrema importância integrar as formas de controle, pois na ausência haverá um enriquecimento do banco de sementes da população resistente no solo e, conseqüentemente, grandes perdas na produtividade da espécie de valor econômico.

Controle biológico de plantas daninhas

O controle biológico de plantas daninhas pode ser definido como a ação de organismos vivos para controlar ou reduzir a densidade populacional de espécies de plantas indesejáveis (VAN DEN BOSH et al., 1987). Existem duas estratégias básicas para o controle biológico das plantas daninhas, a estratégia clássica e a inundativa (HARLEY & FORNO, 1992). A estratégia clássica é mais adequada para plantas exóticas e normalmente o agente é importado do local de origem da planta daninha e liberado posteriormente. Uma vez introduzido, o agente biológico permanece controlando as plantas daninhas em função da sua perpetuação. A estratégia inundativa

ou do bioherbicida utiliza microrganismo de uma forma maciça sobre uma população de planta daninha a fim de gerar um rápido e alto nível de doença, com conseqüente morte ou supressão de populações da planta daninha em questão (CHARUDATTAN, 1991). Neste tipo de controle biológico, normalmente se empregam microrganismos nativos da área onde são aplicados e podem ser fungos, bactérias ou vírus. O produto formulado que contém o microrganismo é chamado de bioherbicida e normalmente necessita de reaplicação (TEBEEST, 1988).

BORGES NETO (2003) aponta uma terceira estratégia, denominada aumentativa, que requer o periódico estabelecimento do agente de controle clássico, porém com menor intensidade e freqüência do que os bioherbicidas. Esta estratégia tende a manter constante a pressão biótica de um determinado agente de controle, como é o caso da carpa-capim para o controle de *Hydrilla verticillata*.

O conceito de micoherbicida foi introduzido por DANIEL et al. (1973) que demonstrou que um patógeno nativo pode ser completamente destrutivo para uma planta daninha suscetível. Para haver sucesso com esta abordagem deverá ser possível produzir inóculo abundante e durável em cultura artificial e o patógeno deverá ser geneticamente estável e específico para a planta daninha alvo.

A estratégia inundativa, além de apresentar menor risco às espécies não alvo, apresenta um forte apelo comercial já que não é esperado que o organismo se perpetue no ambiente. Uma das maiores dificuldades dessa estratégia refere-se à utilização de um inimigo natural atuando sobre uma única espécie de planta daninha, já que em climas tropicais e subtropicais as comunidades infestantes são altamente diversas (MELLO & RIBEIRO, 1998).

O interesse pela exploração de fitopatógenos para o biocontrole de plantas daninhas iniciou-se na década de 1960 e vem aumentando significativamente nos últimos anos, especialmente motivado pelos problemas ambientais decorrentes da contínua aplicação de pesticidas químicos. As diferentes estratégias de controle biológico disponíveis devem ser utilizadas de acordo com cada situação em particular, levando-se em conta não apenas os aspectos relacionados à espécie alvo e ao agente

de biocontrole, como também às interações ecológicas envolvidas (MELLO & RIBEIRO, 1998).

O controle biológico de plantas daninhas desperta grande interesse nos países desenvolvidos, como nos EUA onde o Departamento de Agricultura realiza estudos sobre a viabilidade de fitopatógenos no controle de plantas daninhas desde 1965. Entre os microrganismos, os fungos são preferidos como agente de controle biológico, pois são encontrados em abundância na natureza, apresentam maior facilidade de identificação e de cultivo em meios artificiais para produção massal, são específicos e destrutivos, podendo ser formulados e aplicados em larga escala (FREEMAN, 1977; CHARUDATTAN, 1985; SCHROEDER, 1992; TEBEEST et al., 1992).

Segundo KENNEDY & KREMER (1996), a maioria das pesquisas de controle biológico de plantas daninhas tem concentrado em fitopatógenos de folhas largas. Os mais notáveis desafios foram verificados com os patógenos obrigatórios podendo-se citar o uso de *Puccinia jaceae* Otth para o controle de *Centaurea diffusa* Lam. e *Puccinia chondrillina* Bubak & Syd. para controle de *Chondrilla juncea* L. Um número limitado de fungos de plantas daninhas formulados como bioherbicidas foi comercialmente desenvolvido com nome comercial, destacando-se DeVine (*Phytophthora palmivora*), Collego (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*), BioMal (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae*) e CASST (*Alternaria cassiae*). DeVine foi desenvolvido para controle de *Morrenia odorata* em citros e Collego para o controle de *Aeschynomene virginica* (L) em arroz e soja. Biomal foi registrado para o controle de *Malva pusilla* em pequenos grãos e lentilha e CASST é um bioherbicida para o controle de fedegoso (*Senna obtusifolia* L) na soja e no amendoim.

De Vine, produzido pelo laboratório Abbott, foi o primeiro bioherbicida registrado e consiste de um líquido concentrado de clamidósporos de *P. palmivora* nativo da Flórida (WOODHEAD, 1981). É capaz de matar plântulas e adultos de *M. odorata*, uma planta daninha de origem da América do Sul, que é problemática em pomares cítricos da Flórida. O produto é aplicado como pós-emergente, proporcionando 90% de controle por 2 anos a partir da aplicação inicial. O mercado para De Vine é bastante pequeno, especializado e concentrado nas áreas de crescimento de citros da Flórida.

Nos Estados Unidos, especial atenção tem sido direcionada ao fungo *C. gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* para o controle de angiquinho (*A. virginica*). Esse fungo, que incita antracnose em *A. virginica*, foi descoberto em Arkansas e desenvolvido por cientistas da Universidade de Arkansas, Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e a Companhia Upjohn (DANIEL et al. 1973; SMITH JR., 1986). Segundo TEBEEST & TEMPLETON (1985), o produto comercial consiste numa formulação seca de esporos produzidos por fermentação líquida, na forma de pó molhável, sendo registrado como Collego, em 1982. A companhia Upjohn continua a produzir o produto que é vendido pela Ecogen, Inc. O produto é capaz de matar plântulas e adultos de *A. virginica*, planta daninha leguminosa encontrada em culturas de arroz e soja. Collego tem promovido acima de 85% e sua aceitação pelo arroz e soja em crescimento, tem sido satisfatória. Embora o fungo tenha maior amplitude de hospedeiros do que originalmente testado, foi capaz de infectar, e não matar, várias leguminosas importantes economicamente, mas sob uso de campo ele não tem trazido nenhum perigo para plantas não alvo (TEBEEST, 1988). A baixa taxa de sobrevivência do patógeno, que pode ser típica para inóculo aplicado inundativamente, é uma característica de segurança adicionada ao bioherbicida. Todavia, estas aplicações anuais são necessárias para o efetivo controle de plantas daninhas.

Dois outros bioherbicidas, CASST e Biomal, estão sob estágios avançados de desenvolvimento. CASST refere-se a *Alternaria cassiae*, um patógeno que induz doença foliar, foi desenvolvido no Mississippi e mostrou ser um bioherbicida seguro e eficaz para *Senna obtusifolia* (WALKER, 1982). Subseqüentemente, foi demonstrado ser altamente eficiente em controlar a planta daninha em soja, sob condições de campo em cinco estados do sul dos Estados Unidos (CHARUDATTAN et al., 1986). Tem uma gama de hospedeiros restrita, sendo capaz de infectar três plantas daninhas leguminosas de importância econômica, *S. obtusifolia*, *Cassia occidentalis* e *Crotalaria spectabilis* (BOYETTE, 1988).

Biomal, nome comercial do bioherbicida composto por *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae*, que causa antracnose em *Malva pusilla*, está sendo desenvolvido como micoherbicida por PhilomBios, uma companhia de biotecnologia

localizada em Saskatchewan, Canadá. O fungo, nativo do meio-oeste do Canadá, é altamente virulento, eficaz, facilmente cultivado e aplicado com equipamento convencional.

O sucesso desses bioherbicidas comerciais indica o potencial de uso de microrganismos por meio da tecnologia moderna de controle de plantas daninhas. Contudo, até o momento, esses bioherbicidas não foram vendidos amplamente como o esperado devido o limitado espectro de plantas daninhas hospedeiras. A lista de fungos agentes potenciais de biocontrole é extensa, porém sua falta de aceitabilidade e limitado uso ilustra os problemas que os agentes de biocontrole enfrentam para serem comercializados. Muitos outros candidatos prováveis, embora bem sucedidos em ensaios de pesquisa, têm falhado para obter registro e uso comercial por falta de nível aceitável de eficácia, dificuldades tecnológicas de produção e marketing de uma formulação comercial, competição de herbicidas químicos e mercado não lucrativo.

TEMPLETON (1982) listou quarenta e cinco plantas daninhas identificadas como alvo de pesquisas para controle biológico por patógenos fúngicos. Dessas, dez foram alvos para controle unicamente por fungo causador de ferrugem ou outro fungo não cultivável a serem empregados como agentes clássicos ou aumentativos. Os restantes, 35 espécies foram alvos para controle por 54 parasitas facultativos diferentes, ajustando-se ao critério de agentes micoherbicidas.

A utilização de fitopatógenos no controle de plantas daninhas aquáticas foi apontada por FREEMAN et al. (1976) como uma opção potencial a ser considerada em programas de manejo integrado com outros organismos e agroquímicos. De acordo com NACHTIGAL (2000), contudo, pouco se conhece sobre a patologia em plantas aquáticas e não há expressivo conhecimento de microflora associada às espécies em questão.

O emprego de patógenos como agentes de controle biológico de plantas aquáticas infestantes foram relatados por CHARUDATTAN & CONWAY (1975), VERMA & CHARUDATTAN (1993); SHABANA et al. (1995), NACHTIGAL (2000). Resultados satisfatórios foram obtidos em aguapé com *Cercospora rodmanni* (CONWAY, 1976; FREEMAN & CHARUDATTAN, 1984; THERIOT et al., 1981), *Alternaria eichhorniae*

(SHABANA et al., 1995) e *Uredo eichhorniae* (CHARUDATTAN et al., 1981); em pinheirinho aquático (*Myriophyllum spicatum*) com *Mycoleptodiscus terrestris* (VERMA & CHARUDATTAN, 1993).

No Japão, GOHBARA & YAMAGUCHI, (1993) destacaram que *Aeschynomene indica*, *Eleocharis kuroguwai*, *Leersia oryzoides* e *Sagittaria trifolia* dificilmente são controladas satisfatoriamente pelos herbicidas empregados no arroz irrigado e apontaram que o biocontrole tem sido direcionado para as infestantes para capim arroz *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. com *Dreschlera monoceras* e de *Trapa natans* L. com *Epicoccossorus nematosporus*. De acordo com os resultados promissores, ambos candidatos a micoherbicidas no Japão são esperados por serem seguros ao ambiente e por representar boa proposta de mercado por companhias comerciais que os produzem.

Avaliação de *Cylindrocarpon* sp. no biocontrole de *Sagittaria montevidensis*

No Laboratório de Controle Biológico de Plantas Daninhas Prof. Giorgio de Marinis, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP/Jaboticabal, a sagitária tem sido alvo de pesquisas que avaliam as estratégias de programas alternativos de controle, inclusive o controle biológico com a utilização de fungos fitopatogênicos.

Há alguns anos, pesquisadores da universidade vem buscando, em equipe, desenvolver um bioherbicida para o controle da sagitária, tendo encontrado no fungo *Cylindrocarpon* sp. um candidato promissor para o biocontrole da invasora. De quinze isolados fúngicos estudados, obtidos de sagitária (*Sagittaria montevidensis*), o FCAV#875 foi considerado o mais agressivo (MAIA, 2002).

Relatos que enfatizam a ocorrência de *Cylindrocarpon* sp. em plantas do gênero *Sagittaria* são escassos. TSAY & TUNG (1992) relataram em Taiwan a ocorrência de manchas nas folhas e pecíolos de *Sagittaria trifolia* var *sinensis*, causadas por *Cylindrocarpon chiayiense*. Segundo o relato, os sintomas iniciavam por lesões

pequenas amarronzadas com halo clorótico as quais expandiam-se completamente, coalescendo com outras e causando colapso dos pecíolos e folhas. No Japão, NEGISHI (1996) descreveu uma nova espécie, *Cylindrocarpon sagittariae*, causando mancha foliar em *Sagittaria trifolia*, em campos de arroz irrigado.

Nesse trabalho, a proposta do grupo foi convergir o programa de controle biológico para a utilização de *Cylindrocarpon* sp. na redução das populações de *S. montevidensis*, espécie predominante na primeira fase sucessional da comunidade de macrófitas do reservatório de Santana, objetivando-se:

1. Avaliar o processo infeccioso de *Cylindrocarpon* sp. no controle biológico de *S. montevidensis* em função do período de molhamento, do número e intervalos de aplicação sobre plantas de diferentes estádios de desenvolvimento;
2. Determinar a gama de hospedeiros do fungo em plantas não alvo;
3. Avaliar a interferência de adjuvantes no crescimento, esporulação, germinação de *Cylindrocarpon* sp. e determinar a compatibilidade de mistura com o agente na eficácia de controle de *S. montevidensis*;

REFERÊNCIAS

ANDRES, A.; MACHADO, S. L. O. Plantas daninhas em arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES Jr., A. M. (Ed.). **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 457-546.

BLACKBURN, R. D.; SUTTON, D. L.; TAYLOR, T. Biological control of aquatic weeds. **J. Irrig. Drain.**, v. 97, n. 3, p. 421-432, 1971.

BORGES NETO, C. R. **Estudo do potencial de *Fusarium graminearum* como agente de controle biológico de *Egeria densa* e *E. najas***. 2003. 126 f. Tese

(Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

BOYETTE, C. D. Biocontrol of three leguminous weed species with *Alternaria cassiae*. **Weed Technol.**, Champaign, v. 2, n.4, p. 414-417, 1988.

BUA-NGAM, T.; MERCADO, B. L. Competition of water lettuce (*Pistia stratiotes*) with rice and commonly associated weed species. **Philipp. Agric.**, v. 60, p. 22-30, 1976.

CARVALHO, F. T.; VELLINI, E. D.; NEGRISOLI, E.; ROSSI, C. V. S. Eficácia de carfentrazone-ethyl no controle de plantas aquáticas latifoliadas em caixas d'água. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 305-310, 2005.

CHARUDATTAN, R. The use of natural and genetically altered strain of pathogens for weed control. In: HOY, M. A.; HERZOG, D. C. **Biological control in agricultural IPM systems**. New York: Academic Press, 1985. p. 347-372.

CHARUDATTAN, R. The mycoherbicide approach with plant pathogens. In: TEEBEST (Ed.). **Microbial control of weeds**. New York: Chapman and Hall, 1991. p. 24-57.

CHARUDATTAN, R.; CONWAY, K. E. Comparison of *Uredo eichhorniae*, the waterhyacinth rust and *Uromyces pontederiae*. **Mycologia**, New York, v. 67, n. 3, p. 653-657, 1975.

CHARUDATTAN, R.; MCKINNEY, D. E.; HEPTING, K. T. Production, storage, germination and infectivity of uredospores of *Uredo eichhorniae* and *Uredo pontederiae*. **Phytopathology**, v. 71, n. 11, p. 1203-1207, 1981.

CHARUDATTAN, R.; WALKER, H. L.; BOYETTE, C. D.; RIDINGS, W. H.; TEEBEST, D. O.; VAN DYKE, C. G.; WORSHAM, A. D. **Evaluation of *Alternaria cassiae* as a**

mycoherbicide for sicklepod (*Cassia obtusifolia*) in regional field tests. 1986. 19 p. (Southern Cooperative Series Bulletin, 317).

CHRISTOFFOLETI, P. J.; OVEJERO, R. F. L. Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no Mundo. In: **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas.** Londrina: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HCAR-BR), 2003. p. 2-19.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; CORTEZ, M. G.; MONQUEIRO, P. A. Bases da resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE MANEJO E CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS EM PLANTIO DIRETO, 3., 2001, Passo Fundo, RS. **Resumos...** Passo Fundo: Editora Aldeia Norte, 2001. p. 39-53.

COMASE. Comitê Coordenador das Atividades de Meio Ambiente do Setor Elétrico. **Seminário sobre fauna aquática e o setor elétrico brasileiro:** reuniões temáticas preparatórias. 1995. 57 p. (Caderno 5, Ações).

CONWAY, K. E. Evaluation of *Cercospora rodmanii* as a biological control of waterhyacinth. **Phytopathology**, St. Paul, v. 66, n.7, p. 914-917, 1976.

CORRELL, D. S.; CORRELL, H. B. **Aquatic and wetland plants of southwestern United States.** Stanford: Stanford University Press, 1975. v. 1, p. 1-15.

DANIEL, J. T.; TEMPLETON, G. E.; SMITH, R. J.; FOX, W. T. Biological control of northern jointvetch in rice with an endemic fungal disease. **Weed Sci.**, Champaign, v. 21; n.4, p. 303-307, 1973.

EBERHARDT, D. S.; NOLDIN, J. A. Infestação de plantas daninhas em arroz irrigado, sistema pré-germinado, em função do manejo da água nos períodos de pré e pós

semeadura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília. **Resumos...** Londrina: SBCPD, 2006. p. 308.

ESTEVES, F. **Fundamentos de limnologia**. 2 ed. Editora Interciência, 1998. 504 p.

FREEMAN, T. E. Biological control of aquatic weed with plant pathogens. **Aquat. Bot.**, v. 3, n. 2, p. 175-184, 1977.

FREEMAN, T. E.; CHARUDATTAN, R. ***Cercospora rodmanii* Conway a biological agent for waterhyacinth**. Gainesville: Florida Agricultural Sciences, University of Florida, 1984. 18 p. (Technical Bulletin, 842).

FREEMAN, T. E.; CHARUDATTAN, R.; CONWAY, K. E.; ZETTLER, F. W. **Biological control of aquatic weed with plant pathogens**. Vicksburg: U.S. Army Waterways Experiment Station, 1976. 21 p.

GAZZIERO, D. L. P.; BRIGHENTI, A. M.; MACIEL, C. D. G.; CHRISTOFOLLETTI, P. J.; ADEGAS, F. S.; VOLL, E. Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da ALS. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 16, n. 2, p. 117-125, 1998.

GOHBARA, M.; YAMAGUCHI, K. **Biological agents for the control of paddy weeds in Japan**. Food & Fertil. Technol. Center, 1993. p. 1-10. (Extension Bulletin, 369).

HALLER, W. T. **Hydrilla**: a new and rapidly spreading aquatic weed problem. Gainesville: University of Florida, 1976. 136 p. (Circular, 5-245).

HARLEY, K. L. S; FORNO, I. W. (Ed). **Biological control of weeds**: a handbook for practitioners and students. Sydney: Inkata Press, 1992. 74 p.

HOLM, L. G.; WELDON, L. W.; BLACKBURN, R. D. Aquatic weeds. **Science**, v. 166, p. 699-709, 1969.

JUNK, W. J.; MELLO, J. A. S. N. Impactos das represas hidrelétricas na Bacia Amazônica Brasileira. **Tubingen Geographische Studien**, Tubingen, n. 95, p. 367-385, 1987.

JUREIDINI, P. **A ecologia e a poluição na represa de Barra Bonita no Estado de São Paulo**. 1987. 192 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1987.

KENNEDY, A. C.; KREMER, R. J. Microorganisms in weed control strategies. **J. Prod. Agric.** v. 9, n. 4, p. 480-485, 1996.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: BASF, 1997a. 825 p.

KISSMANN, K. G. **Resistência de plantas a herbicidas**. 2. ed. São Paulo: BASF, 1997b. 32 p.

MAIA, G. S. **Avaliação do potencial de *Cylindrocarpon* sp. no controle biológico de *Sagittaria montevidensis***. 2002. Monografia (Trabalho de graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

MARTINS, D.; VELINI, E. D.; PITELLI, R. A.; TOMAZELLA, M. S.; NEGRISOLI, E. Ocorrência de plantas aquáticas nos reservatórios da Light – RJ. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, p. 105-108, 2003.

MARTINS, D.; TERRA, M. A.; CARBONARI, C. A.; NEGRISOLI, E.; CARDOSO, L.; TOFOLI, G. R. Efeito de diferentes concentrações de aterbane na deposição de calda em plantas de *Pistia stratiotes*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 343-348, 2005.

MELLO, S. C. M.; RIBEIRO, Z. M. A. Fitopatógenos como agentes de controle biológico de plantas daninhas. In: MELLO, I. S., AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. p. 97-128.

MOLISANI, M. M.; ROCHA, R.; MACHADO, M.; BARRETO, R. C. LACERDA, L. D. Mercury contents in aquatic macrophytes from two reservoirs in the Paraíba do Sul: guandu river system, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 66, p. 101-107, 2006.

MULLER, A. C. Impactos sobre os fatores naturais. In: **Hidrelétricas, meio ambiente e desenvolvimento**. São Paulo: Makron Books, 1995. p. 126-268.

NACHTIGAL, G. F. **Desenvolvimento de agente de controle biológico microbiano de *Egeria densa* L. e de *Egeria najas* L.** 2000. 160 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

NEGISHI, H. A new species of *Cylindrocarpon* causing leaf spot on old-wold arrowhead (*Sagittaria trifolia*). **Annu. Phytopathol. Soc. Jpn.**, v. 62, n. 5, p. 495-497, 1996.

NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S. Alternativas de controle químico de sagitária resistente aos herbicidas inibidores da ALS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: IRGA, 2001. p. 754-757.

NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S. **Manejo da sagitária resistente aos herbicidas em arroz irrigado**. Florianópolis: Epagri/GMC, 2002. Folheto.

NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S.; KNOBLAUCH, R. Resistência de *Sagittaria montevidensis* à herbicidas: primeiras evidências. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999, Pelotas, RS. **Anais...** Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 1999. p. 566-569.

NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S.; CHEHADE, A. T.; DITTRICH, R. C. Sagitária resistente a herbicidas inibidores da ALS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Londrina: SBCPD, 2000. p. 514.

NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S.; RAMPELOTTI, F. T.; ZUNINO, J.; CONCENÇO, G. Freqüência de plantas de *Sagittaria montevidensis* resistentes ao herbicida Only. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DAS PLANTAS DANINHAS, 24., 2004, São Pedro. **Resumos...** Londrina: SBCPD, 2004. p. 480.

NOLDIN, J. A.; EBERHARDT, D. S.; STUKER, H.; CORDEIRO, C. R. Efeito de doses, época de aplicação e manejo de água na eficácia de imazethapyr + imazapic no sistema clearfield de produção de arroz irrigado, pré-germinado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília. **Resumos...** Londrina: SBCPD, 2006. p.182.

PALOMBO, C. R. **Avaliação da propagação vegetativa de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (aguapé) e *Pistia stratiotes* (L) (alface d'água) em condições de Represa Billings, SP**. 1989. 203f. Dissertação. (Mestrado em Ecologia) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

PITELLI, R. A. Macrófitas aquáticas no Brasil, na condição de problemáticas. In: WORKSHOP SOBRE CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998, Brasília. **Resumos...**Brasília-DF: IBAMA, 1998. p.12-15.

PONCHIO, J. A. R. **Resistência de biótipos de *Bidens pilosa* L. a herbicidas inibidores da enzima ALS/AHAS.** 1997. 120 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

POTT, V. J.; POTT, A. **Plantas aquáticas do Pantanal.** Brasília: EMBRAPA, 2000. 404 p.

PRATHER, T. S.; DITOMASSO, J. M.; HOLT, J. S. **Herbicide resistance:** definition and management strategies. 2001. Disponível em: < <http://anrcatalog.ucdavis.edu>.> Acesso em 21 jun. 2002.

RIMER, D. N. **Introduction to freshwater vegetation.** London: AVI Publishing, 1984. 207 p.

SCHROEDER, D. Biological control of weeds: A review of principles and trends. **Pesquisa Agropec. Bras.**, Brasília, v. 27, S/N p. 191-212, 1992.

SHABANA, Y. M.; CHARUDATTAN, R.; ELWAKIL, M. A. Evaluation of *Alternaria eichhorniae* as bioherbicide for waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*) in greenhouse trials. **Biol. Control**, v. 5, p. 136-144, 1995.

SHANER, D. L. Mechanisms of resistance to acetolactate synthase/acetohydroxyacid synthase inhibitors. In: CASELEY, J. C.; CUSSANS, G. W.; ATKIN, R. K. **Herbicide resistance in weeds and crops.** Oxford: Butterworth-Heinemann, 1991.p. 27-43.

SMITH JR, R. J. Biological control of northern jointvetch in rice and soybeans- a researcher's view. **Weed Sci.**, Champaign, v. 34, suppl.1, p. 17-23, 1986.

SUTTON, D. L.; VANDIVER Jr, V. V. **Grass carp**: a fish for biological management of *Hydrilla* and other aquatic weeds in Florida. Gainesville: University of Florida, 1986. 10 p. (Bulletin, 867).

TEBEEST, D. O. Additions to host range of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. **Plant Dis.**, St. Paul, v. 72, n. 1, p. 16-18, 1988.

TEBEEST, D. O.; TEMPLETON, G. E. Mycoherbicide: progress in the biological control of weeds. **Plant Dis.**, St. Paul, v. 69, n. 1, p. 6-10, 1985.

TEBEEST, D. O.; YANG, X. B.; CISAR, C. R. The status of biological control of weeds with fungal pathogens. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 30, p. 637-657, 1992.

TEMPLETON, G. E. Status of weed control with plant pathogens. In: CHARUDATTAN, R.; WALKER, H. L. (Ed.). **Biological control of weeds with plant pathogens**. New York: Wiley, 1982. p. 29-44.

THERIOT, E. A.; THERIOT, R. F.; SANDERS, D. R. **Evaluation o the infectivity of a *Cercospora rodmanii* formulation using two application systems**. Vicksburg: Army Waterways Experiment Station, 1981. 23 p. (Miscellaneous Paper, A-81-2).

THOMAZ, S. M. Explosões populacionais de plantas aquáticas: sintomas de um problema. In: WORKSHOP SOBRE CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998, Brasília. **Resumos...**Brasília: IBAMA, 1998. p. 16-17.

THOMAZ, S. M.; BINI, L.M. Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas em reservatórios. **Acta Limnol. Bras.**, v. 10, n. 1, p. 103-116, 1998.

TUNDISI, J. G. Diversidade de zooplâncton em represas do Brasil. In: HENRY, R. **Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais**. Fundibio/Fapesp, 1998. 797 p.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da ALS. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO JR, A. (Ed.). **Herbicidologia**. Porto Alegre: 2001. p. 25-36.

TSAY, J. G.; TUNG, B. K. Leaf spot of arrowhead caused by *Cylindrocarpon chiayiense* in Taiwan. **Plant Prot.**, v. 34, n. 3, p. 175-179, 1992.

VAN DEN BOSH, R.; MESSENGER, P. S.; GUTIERREZ, A. **An introduction to biological control**. New York: Plenum Press, 1987. 247p.

VELINI, E. D. Controle mecânico de plantas aquáticas no Brasil. In: WORKSHOP SOBRE CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998, Brasília. **Resumos...** p. 32-35.

VERMA, U.; CHARUDATTAN, R. Host range of *Mycoleptodiscus terrestris*, a microbial herbicide candidate for eurasian watermilfoil, *Myriophyllum spicatum*. **Biol. Control**, v. 3, p. 271-280, 1993.

VIDAL, R. A.; MEROTTO JR., A. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO JR., A. (Ed.). **Herbicidologia**. Porto Alegre: 2001. p. 138-148.

VIDAL, R. A.; MEROTTO JR., A. Resistência de amendoim bravo aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 17, n. 3, p. 367-373, 1999.

WALKER, H. L. Seedling blight of sicklepod caused by *Alternaria cassiae*. **Plant Dis.**, St. Paul, v. 66, p. 426-428, 1982.

WOODHEAD, S. H. Field efficacy of *Phytophthora palmivora* for control of milkweed vine. **Phytopathology**, v. 71, n.8, p. 913, 1981.

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE *Cylindrocarpon* sp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE *Sagittaria montevidensis* EM FUNÇÃO DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR, DA FREQUÊNCIA E INTERVALOS DE APLICAÇÃO SOBRE PLANTAS DE DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO

RESUMO – Testes que determinam a época de aplicação do fungo bem como os fatores que interferem na eficácia de controle da planta daninha foram estudados na UNESP/Câmpus de Jaboticabal como pré-requisito para o desenvolvimento de bioherbicida. Suspensão fúngica obtida a partir de colônias de *Cylindrocarpon* sp. (FCAV#875) cultivada em BDA e mantida em condições de BOD, a 25°C, por 15 dias, sob fotoperíodo diário de 12 horas, foi ajustada a 1×10^6 con.mL⁻¹ e avaliada em aplicações isolada ou sucessivas em plantas de sagitária com diferentes estádios de desenvolvimento. Os estádios de desenvolvimento considerados foram: (I) plantas com folhas lanceoladas; (II) plantas com 1-2 folhas sagitadas; (III) plantas com 3-4 folhas sagitadas e; (IV) plantas em florescimento e frutificação. Numa segunda etapa, procedeu-se a pulverização de plantas de sagitária mantidas em vaso por 2 a 3 vezes consecutivas espaçadas aos 7, 14 e 21 dias da primeira aplicação. Numa terceira etapa avaliou-se o período de molhamento superficial necessário para aumentar a eficácia do bioherbicida. Plantas cultivadas em vasos de 5 L foram inoculadas com suspensão fúngica de *Cylindrocarpon* sp. e submetidas a 0, 2, 4, 6, 8, 12 e 16 horas de câmara úmida promovida pelo envolvimento dos vasos por sacos plásticos transparentes e umedecidos previamente à inoculação. Com base na severidade da doença proporcionada por *Cylindrocarpon* sp. verificou-se que as lesões atingiram 75% de área foliar quando plantas foram mantidas em condições equivalentes a 16 horas de câmara

úmida, não diferindo de 12, 8 e 6 horas. O processo infeccioso por *Cylindrocarpon* sp. foi satisfatório a medida em que se elevou o número de aplicações para os estádios sendo mais drástico nas plantas mais desenvolvidas. O bioherbicida, quando aplicado de duas a três vezes sucessivas, espaçadas de 21 dias, atingiu o máximo de severidade aos 49 dias da primeira aplicação, contudo sem promover a mortalidade das plantas.

Palavras-Chave: biocontrole, época de aplicação, estratégia inundativa, período de orvalho, severidade

Introdução

As macrófitas aquáticas são importantes componentes de lagos, rios e reservatórios, pois constituem significativa parcela do estoque de energia e matéria do primeiro nível trófico da rede alimentar, além de proporcionarem abrigo para desova e proteção das fases jovens de organismos aquáticos, promovendo heterogeneidade espacial, que favorece a biodiversidade local entre outros efeitos desejáveis (BOYD, 1971; BARKO et al., 1986). No entanto, devido à alteração do ambiente aquático promovida pela ação antrópica, algumas espécies são favorecidas e passam a desenvolver densas infestações, promovendo uma série de prejuízos ao equilíbrio biológico do sistema e às atividades do homem, sendo então consideradas como plantas daninhas e passando, assim, a ser alvo de controle (PITELLI, 1998).

Dentro desse cenário se enquadra o problema gerado pelo crescimento profuso das plantas aquáticas nos corpos hídricos, sobretudo *Sagittaria montevidensis*, no reservatório de Santana, da Light Serviços de Eletricidade, causando diversos inconvenientes no que tange a geração de energia, à pesca artesanal e profissional, à proliferação de vetores causadores de doenças, ao acúmulo de lixo e à navegação. O

manejo da invasora tem sido realizado por meio de controle mecânico através de embarcações compostas por retroescavadeiras fixadas em plataforma flutuante, que sob concessão do IBAMA, realizam a remoção ao escavar as margens infestadas por plantas fixadas ao sedimento. Ao revolver o sedimento, as plantas desprendem-se e descem com a correnteza até uma barreira flutuante, onde são removidas da água e transportadas para áreas de descarte onde ocorre a decomposição das mesmas.

Em levantamentos sistemáticos de inimigos naturais de plantas daninhas efetuados desde 1996 pela equipe de controle biológico da FCAV/UNESP em regiões do Pantanal Mato-grossense e no Rio Paraíba do Sul, o fungo *Cylindrocarpon* sp. (FCAV#875) foi isolado e avaliado como agente potencial de biocontrole demonstrando grande perspectiva de utilização como bioherbicida (MAIA, 2002).

As condições ambientais são as principais determinantes do sucesso dos bioherbicidas uma vez que os agentes utilizados exigem longos períodos de molhamento (orvalho) para que a infecção das plantas seja efetiva. As condições climáticas principalmente a água na forma líquida na superfície da folha são fatores fundamentais no sucesso da infecção e disseminação de fitopatógenos. As dificuldades de controle resultantes de aplicações em clima seco podem ser evitadas ou diminuídas com a utilização de formulação em solução invertida.

Segundo WALKER & BOYETTE (1986) o entendimento da variação do período de orvalho na infecção do hospedeiro ajudará determinar o tempo ótimo de aplicação para melhorar o nível de controle. No patossistema *Senna obtusifolia* x *Alternaria cassiae*, os resultados obtidos revelaram que um atraso de 1 e 2 dias para ocorrência de câmara úmida pode ser tolerado sem afetar a eficácia do fungo e pelo menos 8 horas de câmara úmida foi necessário para germinação do conídio e a promoção de 100% de controle.

De acordo com MAIA (2002), a severidade da doença em *Sagittaria montevidensis* por *Cylindrocarpon* sp. aumentou expressivamente à medida que se elevou a concentração da suspensão de 1×10^4 para 1×10^6 con.mL⁻¹. No entanto, a emissão de novas folhas pelas plantas e o baixo número de infecções secundárias no ambiente contribuíram para recuperação das plantas sendo necessário adequar o

número de aplicações e intervalos de aplicações para aumentar a eficácia de controle na prática.

Testes que envolvam a determinação da época de aplicação do bioherbicida bem como os fatores que interferem na eficácia de controle são requeridos durante o estabelecimento de agente potencial de controle a ser utilizado na estratégia inundativa.

No presente trabalho buscou-se avaliar o potencial do fungo como bioherbicida por meio da determinação de aplicações sucessivas de inóculo em plantas de diferentes estádios de desenvolvimento e determinar o período de molhamento foliar necessário para a infecção fúngica ocorrer.

Material e Métodos

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Plantas Daninhas Prof. Giorgio de Marinis e na área experimental do Laboratório de Impacto Ambiental das Práticas de Controle das Plantas Daninhas, ambos do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

Sementes de *S. montevidensis* foram coletadas de frutos maduros e semeadas em vasos plásticos (5L), contendo uma mistura de terra, areia e substrato Plantmax® (2:1:1) enriquecida com nitrogênio e potássio a 200 ppm e fósforo a 300 ppm. O plantio foi escalonado a cada 15 dias visando obter quatro estádios de desenvolvimento: plantas com folhas lanceoladas (I), 1-2 folhas sagitadas (II), 3-4 folhas sagitadas (III) e florescimento e frutificação (IV). Os vasos permaneceram imersos em mesocosmos (568 L) com fornecimento e escoamento de água na parte superficial e com vazão regulada para um tempo de retenção de água de três dias. Foram agrupados seis vasos por mesocosmo.

O cultivo do fungo foi realizado em placas de Petri contendo BDA e mantido por 15 dias em condições de BOD, a 25°C e sob fotoperíodo diário de 12 horas, promovido por quatro lâmpadas fluorescentes dispostas verticalmente. Quando as plantas sadias

atingiram os estádios supracitados, simultaneamente foram pulverizadas com uma suspensão de conídios de *Cylindrocarpon* sp., obtida por meio da raspagem da colônia fúngica com o auxílio de uma lâmina de microscopia, em presença de Tween 80 a 0,02%, e ajustada para a concentração 1×10^6 con.mL⁻¹. As plantas foram pulverizadas manualmente com um borrifador de jardim até o escorrimento superficial da suspensão de inóculo calda e, em seguida, foram mantidas em condições de câmara úmida, por 24 horas. Para produção de câmara úmida procedeu-se a cobertura individual dos vasos com sacos plásticos transparentes. O procedimento de cultivo e preparo da suspensão fúngica foi semelhante para os tratamentos que receberam a segunda aplicação efetuada 15 dias após a primeira. As testemunhas consistiam de plantas sadias livres de inoculação. Em todos os ensaios empregou-se o isolado FCAV#875, obtido a partir de amostras de tecido doente de *S. montevidensis*, coletadas no Reservatório de Santana da Usina Hidrelétrica Light, localizado em Piraí (RJ), em março de 1998.

O ensaio foi avaliado diariamente por meio da severidade da doença, durante 30 dias, através de uma escala descritiva de Horsfall-Barrett (CAMPBELL & MADDEN, 1990) atribuindo-se notas que refletem os intervalos da porcentagem de área foliar lesionada, considerando nota 0 (zero) para as folhas sadias e nota 11 para as folhas mortas (Tabela 1).

Tabela 1. Escala descritiva de notas adotadas nas avaliações de sintomas provocados por *Cylindrocarpon* sp. em plantas de *Sagittaria montevidensis*.

Nota de severidade	Área foliar lesionada %
0	0
1	0-3
2	3-6
3	6-12
4	12-25
5	25-50
6	50-75
7	75-88
8	88-94
9	94-97
10	97-100
11	100

Fonte: Campbell e Madden (1990)

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, obedecendo ao esquema fatorial 3x4, sendo estudadas as variáveis: 3 condições de aplicação de fungo (0, 1 e 2 aplicações) e 4 estágios de desenvolvimento de *S. montevidensis* (folhas lanceoladas, 1-2 folhas sagitadas, 3-4 folhas sagitadas, florescimento e frutificação), com 3 repetições.

Numa segunda etapa, pretendeu-se estabelecer o período de reaplicação da suspensão fúngica a ser utilizado na estratégia do bioherbicida. Nesse caso, plantas sadias, apresentando folhas sagitadas e cultivadas conforme descrito anteriormente, foram submetidas a sucessivas aplicações da suspensão fúngica, adotando-se as condições: 0, 2 e 3 aplicações, considerando os intervalos 7, 14 e 21 dias entre as aplicações. Nas aplicações efetuadas, a suspensão do inóculo foi obtida de colônias cultivadas em BDA, a 25°C, por 21 dias, e ajustada a 1×10^6 con.mL⁻¹.

A avaliação da severidade da doença foi efetuada aos 15, 21, 31 e 49 dias da instalação do ensaio, atribuindo notas com base na escala descritiva de Horsfall-Barrett (CAMPBELL & MADDEN, 1990).

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, obedecendo ao esquema fatorial 2x3, sendo estudadas as variáveis: 2 condições de aplicação de

fungo (2 e 3 aplicações) e 3 intervalos de aplicação de *S. montevidensis* (7, 14 e 21 dias), com 4 repetições.

Numa terceira etapa, o efeito da umidade sobre o desenvolvimento da doença foi analisado submetendo-se plantas inoculadas com *Cylindrocarpon* sp., em períodos de câmara de úmida (0, 2, 4, 6, 8, 12 e 16h) e em seguida colocados em mesocosmos (568L) onde permaneceram emersas em água. Nesse sentido, a suspensão de conídios utilizada foi obtida da raspagem de colônias cultivadas em BDA, em condições de BOD, a 25°C, fotoperíodo de 12h, por 21 dias, e ajustada a 1×10^6 con.mL⁻¹. As plantas foram aspergidas manualmente com um borrifador de jardim até o escoamento superficial da suspensão e, em seguida, mantidas em condições de câmara úmida, promovida pela cobertura individual dos vasos com sacos plásticos transparentes, simulando o período de umidade desejado. A avaliação e o delineamento adotado foram semelhantes àquele descrito anteriormente. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e ao teste de Tukey, a 5% de probabilidade para comparação de médias.

Resultados e Discussão

Número de aplicação de *Cylindrocarpon* sp. em diferentes estágios de desenvolvimento de *Sagittaria montevidensis*: Com base na severidade da doença verificou-se que as plantas de *Sagittaria montevidensis* foram mais suscetíveis ao fungo à medida que avança o estágio fenológico e, principalmente, quando submetidas a duas aplicações da suspensão de inóculo (Tabela 2). A reaplicação do fungo foi considerada significativa em relação a uma única aplicação do bioherbicida revelada pelo acréscimo da porcentagem da área lesionada a partir das notas de severidade, com exceção das plantas com folhas.

Tabela 2. Severidade da doença promovida por *Cylindrocarpon* sp. em *Sagittaria montevidensis* com diferentes estádios fenológico.

Estágios de sagitária	Testemunha	1 aplicação do bioherbicida	2 aplicações do bioherbicida
Folhas lanceoladas	1,22 Aa	1,22 Ca	1,22 Ca
1 a 2 folhas sagitadas	0,83 Bc	1,49 BCb	2,05 Ba
3 a 4 folhas sagitadas	1,40 Ab	1,56 Bb	2,44 Aa
Inflorescências	1,40 Ac	2,17 Ab	2,54 Aa

CV(%) = 9,6

Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na coluna, e de letra minúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. Dados transformados em $(x+0,5)^{1/2}$.

A variação da suscetibilidade de plantas a determinado patógeno com a idade foi verificada por WALKER & RILEY (1982) ao descreverem que a suscetibilidade de *Senna obtusifolia* a *Alternaria cassiae* foi maior no estágio de folhas cotiledonares e primeiro par de folhas definitivas, ocorrendo significativa mortalidade de plantas. Após esse estágio, a suscetibilidade cai de modo que em plantas com quatro folhas não há mortalidade e sim redução do acúmulo de matéria seca.

MARTYN & FREEMAN (1978) constataram que plantas de aguapé inoculadas como o fungo *Acremonium zonatum* responderam diferentemente a infecção dependendo do estado morfológico de desenvolvimento. Com duas semanas da inoculação, plantas jovens, apresentando folhas menores que 15 cm² de área superficial, atingiram somente 3,7 lesões/folha enquanto, plantas de tamanho médio, com folhas de 15 a 40 cm² e plantas grandes, folhas maiores de 40 cm², atingiram proporções significativamente maiores, em torno de 12,8 e 18,3 lesões/folha, respectivamente. Contudo, nenhuma diferença significativa ocorreu na porcentagem de área foliar doente entre os três estádios testados, sendo registrado em cada, uma necrose foliar de 40%. Os resultados revelaram que a infecção de aguapé por *A. zonatum* alterou a taxa de produção foliar e o decréscimo da infecção de acordo com o tamanho da planta. Plantas pequenas doentes mostraram decréscimo de 5,7% do número de folhas produzidas num período de 2 semanas, enquanto em plantas de tamanho médio o decréscimo foi de 5,4%. Testemunhas de plantas de porte grande produziram, em média, 46% a mais de folhas enquanto plantas infectadas produziram

93% no mesmo período. Os autores questionaram a possibilidade de plantas jovens serem mais resistentes ao fungo ou se a produção de folhas em resposta a infecção ser maior. As quantidades de lesões em plantas de diferentes tamanhos indicam que plantas pequenas são mais resistentes que as plantas maiores pois exibiram poucas lesões por planta. Ao avaliarem a porcentagem de área doente de cada folha duas semanas após a instalação, constataram que não havia diferenças significativas entre os três tamanhos.

WALKER & BOYETTE (1985) ao testarem os efeitos do número de pulverizações de *Alternaria cassiae* sobre o controle de *Senna obtusifolia* em condições de campo, verificaram uma redução de 98% do número de plântulas aos 14 dias da aplicação, não havendo diferenças significativas entre uma e três pulverizações. Os resultados obtidos nesse trabalho revelaram que *A. cassiae* pode efetivamente controlar o fedegoso quando aplicado no estágio de primeira folha cotiledonar, no entanto somente o controle de *S. obtusifolia* promovido por três pulverizações do fungo refletiu positivamente na produtividade da soja.

No Reservatório Rodmann, localizado na Flórida, CONWAY (1976) verificou que o agente de biocontrole *Cercospora rodmanii* esporulou profusamente na superfície das folhas mortas de aguapé e dada a facilidade de estabelecimento e dispersão do patógeno para outras plantas com o vento, concluiu como sendo desnecessária a reaplicação do bioherbicida.

Intervalo de aplicação de *Cylindrocarpon* sp.: Com base nos valores médios de severidade da doença analisados estatisticamente, verificou-se que plantas inoculadas com a suspensão fúngica de *Cylindrocarpon* sp. diferem significativamente quanto à severidade da doença exibida por plantas inoculadas 2 e 3 vezes consecutivas, em intervalos de 7, 14 e 21 dias (Tabela 3). No início das avaliações, aos 15 dias, constatou-se uma maior severidade da doença quando se adotou o menor intervalo de aplicação do fungo em relação aos demais tratamentos testados. Em plantas reinoculadas 2 e 3 vezes consecutivas, num intervalo de 7 dias entre aplicações, verificou-se um rápido desenvolvimento da infecção fúngica sobre o tecido

foliar iniciado por pequenas lesões puntiformes que coalesceram, provocando, em seguida, a morte do limbo foliar aos 15 dias após a inoculação (15 dai). Ao longo do ensaio, o mesmo comportamento foi verificado aos 31 dias após a inoculação ao constatar que as aplicações sucessivas espaçadas de 21 dias favoreceram o rápido desenvolvimento da doença em relação ao vigor vegetal quando comparado com plantas inoculadas em intervalos inferiores como 7 e 14 dias, não sendo constatado diferenças quanto ao número de aplicações. Verifica-se que a severidade da doença em plantas de sagitária foi reduzida ao longo do ensaio para os intervalos 7 e 14 devido as emissões de novas folhas o que contribuiu para a redução da sintomatologia, aos 31 dias de avaliação.

Tabela 3. Severidade média da doença promovida em *Sagittaria montevidensis* por aplicações sucessivas de *Cylindrocarpon* sp., espaçadas de 7, 14 e 21 dias.

Avaliação DAI	Intervalos	2 aplicações	3 aplicações
15	7 dias	2,39 Ab	2,59 Aa
	14 dias	2,11 Ba	1,99 Ba
	21 dias	2,05 Ba	1,93 Ba
31	7 dias	1,86 Ba	2,05 Ba
	14 dias	1,78 Bb	2,59 Aa
	21 dias	2,28 Aa	2,49 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5%. Dados transformados em $(x+0,5)^{1/2}$
DAI= dias após inoculação.

Os efeitos do fungo reaplicado aos 14 e 21 dias, foram mais pronunciados somente a partir de 31 dias, não havendo diferença significativa entre si na condição de 3 aplicações. Independente do número de aplicações verificou-se que a reaplicação do bioherbicida a cada 21 dias atingiu o máximo de severidade da doença em *S. montevidensis*, aos 49 dias da instalação, porém sem interação significativa.

Em condições naturais, o agente de biocontrole pode não causar extensiva doença, sendo necessária a manipulação apropriada do bioherbicida para promover o sucesso, a exemplo do que ocorre com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. De acordo com DANIEL et al. (1973) o fungo não reduz

apreciavelmente o vigor e a produção de sementes de *Aeschynomene virginica*, mas controla efetivamente a planta quando esporos são aplicados em alta densidade sobre grandes proporções de superfície foliar.

SHABANA et al. (1995) verificaram uma melhor eficácia de *Alternaria eichhorniae* no controle de aguapé com o aumento do número de aplicações da formulação de alginato. Ao avaliarem o ensaio, os autores verificaram que 4 aplicações do produto em intervalos de 10 dias foram suficientes em produzir 93% de necrose e 81% de redução do peso fresco. A possibilidade de manejo efetivo do aguapé pode ser obtida através de aplicações múltiplas do fungo.

Período de molhamento foliar: Nessa etapa verificou-se que os efeitos negativos da infecção fúngica sobre plantas de *S. montevidensis* foram proporcionais ao período molhamento foliar (Tabela 4). A severidade da doença não diferiu estatisticamente a partir de 6 horas de molhamento foliar.

Com base nos dados obtidos, verifica-se que a porcentagem de folhas doentes, embora relativamente satisfatória, não diferiram estatisticamente entre si, exceto em relação à testemunha (Tabela 4). Considerando entre os períodos de molhamento avaliados constatou-se que períodos superiores a 6 horas proporcionaram maior severidade da doença e mortalidade de folhas. Contudo, não se verificou mortalidade das plantas havendo necessidade de reaplicar o fungo.

Tabela 4. Valores médios do efeito de *Cylindrocarpon* sp. em *Sagittaria montevidensis* sob influência de diferentes períodos de câmara úmida, aos 10 dias após a inoculação.

Tratamentos	Folhas doentes %	Mortalidade de folhas %	Notas de severidade*
0 h	84,24 a	16,30 b	1,47 c
2 h	70,79 a	20,33 b	1,97 bc
4 h	65,05 a	33,71 b	2,28 ab
6 h	62,91 a	43,53 ab	2,68 a
8 h	70,53 a	41,06 ab	2,63 a
12 h	79,46 a	59,59 a	2,68 a
16 h	48,12 ab	49,02 ab	2,73 a
Testemunha	12,33 b	21,80 b	0,09 e

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. *Dados transformados em $(x+0,5)^{1/2}$

WALKER & BOYETTE (1986) que avaliaram a influência do período do orvalho seqüencial no controle de fedegoso (*Senna obtusifolia*) concluíram que um período de orvalho de 8 horas, num intervalo de 2 dias após a aplicação dos esporos, foi requerido para que *Alternaria cassiae* matasse efetivamente plântulas de fedegoso, não diferindo de plantas que receberam período de orvalho imediatamente à inoculação. Os resultados com seis horas também foram satisfatórios. A taxa máxima de mortalidade foi obtida com atraso mais curto para orvalho em relação a inoculação. O emprego de dois períodos sucessivos de orvalho de 4 horas produziram menos mortalidade do que um único período de 8 horas. Um segundo período de orvalho incrementou a efetividade de menores períodos iniciais de orvalho, especialmente quando era aplicado num intervalo de 2 dias após o primeiro. Contudo os efeitos não foram aditivos.

Embora a necessidade de água livre e temperatura favorável para infecção e desenvolvimento da doença possam ser facilmente identificadas, é freqüentemente difícil criar tais condições em escala de campo. Formulações que previnam a seca ou promovam a retenção de umidade são usadas para superar esta limitação. Nesse sentido, WALKER & CONNICK (1983) desenvolveram um pelete à base de alginato de sódio na produção e formulação de micélio de *Alternaria cassiae*, *A. macrospora*, *Colletotrichum malvarum*, *Fusarium lateritium* e *Phyllosticta* sp.

Segundo CHARUDATTAN & WALKER (1982) a eficácia do bioherbicida abrange o nível de controle de plantas daninhas provido pelo agente bem como a rapidez e facilidade com o qual o controle é realizado. A menos que o bioherbicida seja razoavelmente de rápido desempenho, permitindo altos níveis de controle semelhante aos herbicidas químicos e de fácil uso e previsível quanto ao desempenho, é difícil esperar a aceitação pelas indústrias e usuários. Uma das maneiras de melhorar a eficácia é combinar o bioherbicida com herbicidas químicos, que ajudam a invasão de plantas pelos microrganismos, possivelmente por diminuir a resistência do hospedeiro à infecção (ALTMAN & CAMPBELL, 1977; GREAVES & SARGENT, 1986).

A umidade requerida para a germinação de conídios e infecção do hospedeiro suscetível é fundamental para garantir a eficácia do bioherbicida. De acordo com resultados obtidos por WALKER & RILEY (1982), a infecção por *A. cassiae* em fedegoso ocorre quando plantas são submetidas a 2 horas de período de orvalho, e reduções significativas do número de plantas e do peso seco foram registradas em períodos superiores a 4 horas de alta umidade relativa do ar. No entanto, um período de orvalho de 8 horas foi requerido para redução de 95-100% no número e no peso seco de plantas.

SHABANA et al. (1995) testaram a formulação de *Alternaria eichhorniae* agente de biocontrole de aguapé, à base de alginato de sódio combinado com cinco tipos de polímeros hidrofílicos utilizados para aumentar e prolongar a quantidade de água disponível no inóculo. Os autores verificaram que o suplemento à formulação de alginato promoveu aumento significativo da severidade doença quando comparado ao controle. O aumento da severidade da doença em folhas de aguapé tratadas com a formulação fúngica contendo substâncias hidrofílicas ocorreu provavelmente devido ao favorecimento do fungo pelo gel de alginato e suplemento hidrofílico responsáveis pela absorção e retenção de água por períodos prolongados e por ajudar a sobrevivência e germinação do inóculo fúngico.

O aguapé é uma das plantas aquáticas mais produtivas e a eficácia de controle biológico por *Cercospora rodmanii* está relacionada à taxa de crescimento de seu hospedeiro. CONWAY (1976) afirmou que, sob condições favoráveis de crescimento, o

aguapé foi capaz de produzir uma nova folha a cada 5-6 dias e foi, então, capaz de crescer mais do que a doença. Quando as condições locais favorecem o desenvolvimento da doença e limitam a produção de folha a menos de uma folha para cada 3 semanas, o patógeno pode matar as folhas mais rápido do que a planta é capaz de produzir novas folhas. A planta, então, torna-se debilitada e morre a menos que as condições mudem para estimular seu crescimento ou se tornem menos favorável para o desenvolvimento da doença. CHARUDATTAN et al. (1985) testaram essa hipótese por determinar a relação entre a doença e taxa de crescimento do hospedeiro em diferentes níveis de nutrientes. Isto foi acompanhado pela medida do crescimento da planta, incidência e severidade da doença calculando-se o nível de estresse e taxa de progresso da doença. A velocidade de desenvolvimento da doença foi insuficiente para controlar o aguapé, ocorrendo reduções de 20-90% nas taxas de crescimento do hospedeiro como medido pelos aumentos semanais de folhas verdes em presença da doença.

Esses resultados indicaram que para o nível prático de controle de aguapé por *C. rodmanii*, o fungo deve ser usado sob condições que suportem somente baixas a moderadas taxas de crescimento do hospedeiro, o que não é praticável sob condições de campo. A eficácia do biocontrole do fungo deve ser de algum modo melhorada. A doença pode ser estabilizada em populações hospedeiras por múltiplas aplicações do inóculo quando o aguapé estiver na fase inicial de crescimento ou, alternativamente, o fungo pode ser combinado com outros agentes bióticos ou abióticos capazes de retardarem o crescimento do hospedeiro, tais como insetos ou taxas subletais de herbicidas químicos. Todavia, o mercado para agentes de controle de plantas daninhas aquática é dominado pelos herbicidas que proporcionam controle rápido, econômico e predizível. Então, a iniciativa para desenvolver e registrar *C. rodmanii* tem sido limitada devido à competição convencional com as opções de controle alternativo (CHARUDATTAN et al., 1985).

Os benefícios decorrentes do uso da emulsão invertida sobre a umidade na germinação de conídios têm sido, amplamente questionados para os agentes de biocontrole (BANNON & WALKER, 1987; DAIGLE et al., 1990). Segundo YANG et al.

(1993), conídios de *Alternaria alternata* e *A. angustiovoidea* requerem por volta de 48 horas de orvalho a 20-25°C para causar infecção severa em *Euphorbia esula*. Em condições de casa de vegetação, utilizando conídios suspensos em emulsão invertida, e na ausência de orvalho, os autores constataram 85% de germinação dos conídios.

De acordo com AMSELLEM et al. (1990), a infectividade do esporo do fungo nas folhas varia em função dos fatores ambientais (duração de período de umidade e temperatura), dos mecanismos de defesa da planta hospedeira e da patogenicidade do fungo, e enfatizaram que a intensidade de infecção pode ser superior quando utilizado a emulsão.

Segundo BANNON (1988) a grande sensibilidade de *A. cassiae*, agente de biocontrole de *Senna obtusifolia*, à temperatura do período de orvalho, não está ligada à germinação dos esporos e sim a formação do apressório. VAN DYKE & TRIGIANO (1987) revelou, por meio de microscopia eletrônica de varredura, que conídios de *Alternaria cassiae* germinaram 2 a 3 horas após a inoculação, produzindo em média 6 tubos germinativos por conídio. Verificaram que tubos normalmente crescem 50-300 µm nas próximas 20 horas e terminam com a formação do apressório tanto nos estômatos quanto diretamente sobre a cutícula.

Conclusões

Para *Cylindrocarpon* sp. lesionsar 75% de área foliar de *Sagittaria montevidensis* são necessárias no mínimo 6 horas de molhamento foliar.

O processo infeccioso de *Cylindrocarpon* sp. foi satisfatório à medida em que se elevou o número de aplicações sendo mais drástico para plantas com desenvolvimento fenológico superior.

O intervalo de aplicação do fungo foi considerado satisfatório quando o bioherbicida foi aplicado 2 a 3 três vezes consecutivas a cada 21 dias ou 3 aplicações, espaçadas por 14 dias.

Referências

ALTMAN, J.; CAMPBELL, L. C. Effect of herbicides on plant diseases. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 15, p. 361-385, 1977.

AMSELLEM, Z.; SHARON, A.; GRESSEL, J.; QUIMBY, P. C. Complete abolition of high inoculum threshold of two mycoherbicides (*Alternaria cassiae* and *A. crassa*) when applied an invert emulsion. **Phytopathology**, v. 80, n. 10, p. 925-929, 1990.

BANNON, J. S. CASST herbicide *Alternaria cassiae*: a case history of a mycoherbicide. **Am. J. Altern. Agric.**, v. 3, n. 2, p73-76, 1988.

BANNON, J. S.; WALKER, H. L. Influence of non-ionic surfactants and non phytotoxic crop oil on control of sicklepod by *Alternaria cassiae*. **Proc. South. Weed Sci. Soc.**, v. 40, p. 288, 1987.

BARKO, J. W.; ADAMS, M. S.; CLLESCERI, N. L. Environmental factors and their consideration in the management of submersed aquatic vegetation: a review. **J. Aquatic Plant Manag.**, v. 24, p. 1-10, 1986.

BOYD, C. E. The limnological role of aquatic macrophytes and their relationship to reservoir management. **Am. Fish. Soc. Spec. Publ.**, v. 8, p. 153-166, 1971.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology.** Wiley-Interscience Publication, 1990. 532 p.

CHARUDATTAN, R.; WALKER, H. L. **Biological control of weeds with plant pathogens**. New York: Wiley, 1982.

CHARUDATTAN, R.; LINDA, S. B.; KLUEPFEL, M.; OSMAN, Y. A. Biocontrol efficacy of *Cercospora rodmanii* on waterhyacinth. **Phytopathology**, v. 75, n.11, p.1263-1269, 1985.

CONWAY, K. E. Evaluation of *Cercospora rodmanii* as a biological control of waterhyacinth. **Phytopathology**, v. 66, n.7, p. 914-917. 1976.

DAIGLE, D. J.; CONNICK, W.J.; QUIMBY, P.C.; EVANS, J.; TRANK-MORRELL, B. FULGHAM, F. E. Invert emulsions: carrier and water source for the mycoherbicide, *Alternaria cassiae*. **Weed Technol.**, Champaign, v. 4, n. 2, p. 327-331, 1990.

DANIEL, J. T.; TEMPLETON, G. E.; SMITH, R. J.; FOX, W. T. Biological control of northern jointvetch in rice with an endemic fungal disease. **Weed Sci.**, Champaign, v. 21; n. 4, p. 303-307, 1973.

GREAVES, M. O.; SARGENT, J. A. Herbicide induced microbial invasion of plan roots. **Weed Sci.**, Champaign, v. 34, suppl. 1, p. 50-53, 1986.

MAIA, G. S. **Avaliação do potencial de *Cylindrocarpon* sp. no controle biológico de *Sagittaria montevidensis***. 2002. 69 f. Monografia (Trabalho de graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

MARTYN, R. D.; FREEMAN, T. E. Evaluation of *Acremonium zonatum* as potential biocontrol agent waterhyacinth. **Plant Dis. Rep.**, Beltsville, v. 62, n. 7, p. 604-608, 1978.

PITELLI, R. A. Macrófitas aquáticas no Brasil, na condição de problemáticas. In: WORKSHOP SOBRE CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998, Brasília. **Resumos...**Brasília: IBAMA, 1998. p. 12-15.

SHABANA, Y. M.; CHARUDATTAN, R., ELWAKIL, M. A. Evaluation of *Alternaria eichhorniae* as bioherbicide for waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*) in greenhouse trials. **Biol. Control**, v. 5, p. 136-144, 1995.

VAN DYKE, C. G.; TRIGIANO, R. N. Light and scanning electron microscopy of interaction of biocontrol fungus *Alternaria cassiae* with sicklepod (*Cassia obtusifolia*). **Can. J. Plant Pathol.**, v. 9, p. 230-235, 1987.

WALKER, H. L.; BOYETTE, C. D. Biocontrol of sicklepod (*Cassia obtusifolia*) in soybeans (*Glycine max*) with *Alternaria cassiae*. **Weed Sci.**, Champaign, v. 33, n. 2, p. 212-215, 1985.

WALKER, H. L.; BOYETTE, C. D. Influence of sequential dew period on biocontrol of sicklepod (*Cassia obtusifolia*) by *Alternaria cassiae*. **Plant Dis.**, St. Paul, v. 70, n. 10, p. 962-963, 1986.

WALKER, H. L.; CONNICK, W. Sodium alginate for production and formulation of mycoherbicides. **Weed Sci.**, Champaign, v. 31, n. 3, p. 333-338, 1983.

WALKER, H. L.; RILEY, J. A. Evaluation of *Alternaria cassiae* for the biocontrol of sicklepod (*Cassia obtusifolia*). **Weed Sci.**, Champaign, v. 30, n.6, p. 651-654, 1982.

YANG, S.; JOHNSON, D. R.; DOWLER, W. M.; CONNICK, W. J. Infection of leaf spurge by *Alternaria alternata* and *A. angustiovoidea* in the absence of dew. **Phytopathology**, v. 83, n. 9, p. 953-958, 1993.

CAPITULO 3 - DETERMINAÇÃO DA ESPECIFICIDADE DE *Cylindrocarpon* sp. EM PLANTAS AQUÁTICAS E DE INTERESSE ECONÔMICO

RESUMO : O uso de patógenos no controle de plantas daninhas traz benefícios, mas requer precauções, pois uma vez introduzidos no ambiente podem alterar drasticamente o equilíbrio do ecossistema. Nesse sentido, a gama de hospedeiros do fungo *Cylindrocarpon* sp. foi avaliada por meio da inoculação de uma suspensão de inóculo a 1×10^6 con.mL⁻¹ obtido a partir da raspagem de colônias do fungo cultivado em BDA, a 25°C e fotoperíodo diário de 12 horas, por 21 dias. O fungo foi aspergido em espécies aquáticas não alvos, como *Potamogeton pectinatus*, *Ceratophyllum demersum*, *Heteranthera reniformis*, *Azolla caroliniana*, *Pistia stratiotes*, *Myriophyllum aquaticum*, *Hydrilla verticillata*, *Egeria densa*, *Egeria najas*, *Alternanthera phyloxeroides*, *Najas guadalupensis*, *Pontederia parviflora*, *P. cordata*, *P. rotundifolia*, *Brachiaria arrecta*, *Eichhornia crassipes*, *E. azurea*, *Polygonum lapathyfolium*, *Nymphoides indica*, *Hydrocotyle verticillata*, *Ludwigia elegans*, *L. sedoides*, *L. repens*, *L. helminthorrhiza*, *Salvinia* sp. e *Lemna minor*. Plantas de interesse econômico não alvos, como brócolis, repolho, alface, cenoura, quiabo, rabanete, cebola, pimentão, abóbora, tomate, pepino, pimenta, chicória, salsa, cebola. As plantas foram pulverizadas com suspensão fúngica por meio de um borrifador de jardim, até o início de escorrimento, sendo submetidas à condição de câmara úmida, por 14 horas, promovida pela cobertura individual dos vasos com sacos plásticos. As plantas inoculadas mostraram-se imunes ao fungo não sendo observados sintomas de infecção fúngica nos tecidos inoculados. O fungo *Cylindrocarpon* sp. foi considerado específico a *Sagittaria montevidensis* onde verificou-se sintomas característicos da infecção.

Palavras-Chave: análise de risco, controle biológico, estratégia inundativa, gama de hospedeiros, bioherbicidas

Introdução

As plantas aquáticas são importantes componentes dos ecossistemas aquáticos, contribuindo com expressiva parcela da produtividade primária nesses ambientes, fornecendo abrigo para a reprodução e proteção de diversos organismos e promovendo heterogeneidade espacial que favorece a biodiversidade destes sistemas (PITELLI et al., 2000). As plantas aquáticas são autótrofas fotossintéticas e apresentam um papel central no fluxo de energia no ecossistema, sendo a principal fonte de alimento para muitos animais. Além disso, exercem um papel importante na troca de nutrientes entre o sedimento e a coluna d'água, servem de superfície para o crescimento de outros organismos, como algas, bactérias e invertebrados e possibilitam, ainda, a existência de inúmeros *microhabitats*, onde uma variedade de organismos pode passar parte ou todo seu ciclo de vida, depositando ovos, protegendo-se de predadores e alimentando-se.

Por essa razão, existe uma preocupação crescente quanto à possibilidade de agentes de controle biológico interferirem negativamente com relação às plantas que convivem com a planta alvo no mesmo ecossistema, ou em outros vizinhos; e também dos possíveis impactos adversos sobre a biodiversidade e a própria saúde humana. Nesse aspecto, a segurança da introdução de agente biológico é de vital importância para garantir que os programas de controle biológico clássico ou inundativo sejam feitos de maneira competente, segura e com um grau de consenso que gere confiança nessa tecnologia.

A determinação da abrangência de hospedeiros é um aspecto importante a considerar no desenvolvimento de um fitopatógeno a ser utilizado na estratégia inundativa como bioherbicida e requerido para evitar prejuízos associados com

introduções em áreas não ocupadas previamente pelo patógeno ou possíveis conflitos de interesse devido à patogenicidade a plantas de interesse econômico (WEIDEMANN & TEBEEST, 1990).

A gama de hospedeiros de *Cylindrocarpon* sp., candidato a bioherbicida de *Sagittaria montevidensis*, não é completamente desconhecida, sendo preliminarmente testada por MAIA et al. (2002). Ao avaliarem a abrangência de hospedeiros do fungo em condições de casa de vegetação, caracterizaram o fungo como potencial agente de controle biológico da sagitária, por ser específico à planta daninha alvo, não sendo constatado nenhuma evidência de infecção expressa por manchas ou lesões nas folhas e pecíolo em distintas espécies aquáticas distribuídas em 10 famílias testadas. A ausência de recuperação do fungo nos tecidos inoculados consistiu numa evidência segura de emprego do isolado FCAV#875 a ser utilizado na estratégia inundativa.

Segundo WAPSHERE (1974), o estabelecimento da estratégia para a especificidade e segurança do agente de controle biológico inicia-se expondo o fungo em um pequeno grupo de plantas que exibem características morfológicas e bioquímicas similares à planta daninha alvo, bem como plantas cultivadas que possam ser expostas ao agente. O autor sugeriu que os testes de especificidade fossem feitos essencialmente nas relações filogenéticas da planta daninha combinando com as plantas cultivadas. A estratégia centrífugo-filogenética sugerida consiste em testar o agente em outras formas da espécie alvo, outras espécies do gênero, membros da tribo, subfamília, família, e da ordem e dessa forma determinar a especificidade a nível filogenético correspondente. Nesse raciocínio o fungo é exposto às espécies intimamente relacionadas, seguida por espécies distantemente relacionadas até que a gama de hospedeiros estivesse claramente circunscrita.

A capacidade de caracterizar completamente a gama de hospedeiro é problemática em regiões tropicais devido a alta diversidade da comunidade infestante existente nessas condições. WAPSHERE (1974) descreve a importância de demonstrar que o agente selecionado seja suficientemente específico à planta daninha de modo que a introdução em novo país ocorra sem que nenhum dano exista em plantas de interesse econômico. Aparentemente, a ocorrência de *Cylindrocarpon* sp. em plantas é

restrita sendo escassos os relatos que abordam sua importância na literatura. MENDES et al. (1998), em levantamentos de fungos relacionados em plantas no Brasil apontaram a ocorrência do gênero *Cylindrocarpon* em *Brachiaria decumbens* e *B. humidicola* (RUSSOMANO et al.1988).

Segundo KOK (1974), a avaliação da patogenicidade deve ser feita em testes experimentais para mostrar que um agente causal, isolado e cultivado em cultura, é capaz de produzir os sintomas da doença original em hospedeiro sadio e reisolado.

Dessa forma, extensivos testes devem ser realizados com o patógeno apontado como candidato ao biocontrole num grupo selecionado de espécies aquáticas não alvo e plantas de interesse econômico.

Material e Métodos

Os efeitos do *Cylindrocarpon* sp. foram estudados num grupo de espécies aquáticas, consideradas não alvo, provenientes de reservatórios e de cursos d'água do Pantanal Mato-Grossense e mantidas em coleção no Laboratório de Controle Biológico de Plantas Daninhas Prof. Giorgio Marinis (Tabela.1). As espécies aquáticas selecionadas foram escolhidas conforme a disponibilidade na ocasião do ensaio e cultivadas em vasos plásticos (2L) contendo água e sedimento, composto por uma mistura de terra, areia e substrato Plantmax®, e distribuídas em bancadas, sob condições de casa de vegetação.

Tabela 1- Relação das espécies aquáticas avaliadas quanto a suscetibilidade à *Cylindrocarpon* sp.

Espécie	nome comum	família botânica
<i>Sagittaria montevidensis</i> Cham.& Schlecht	Sagitária, chapéu de couro	Alismataceae ¹
<i>Pistia stratiotes</i> (L.)	Alface d'água	Araceae ¹
<i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verdc.	Pinheirinho d'água	Haloragaceae ³
<i>Hydrilla verticillata</i>	Hidrila	Hydrocharitaceae ²
<i>Egeria densa</i> Planch	Elodea	Hydrocharitaceae ²
<i>Egeria najas</i> Planch.	Egeria	Hydrocharitaceae ¹
<i>Najas guadalupensis</i> (Spreng.) Magnus	Najas	Najadaceae ¹
<i>Azolla caroliniana</i> Willd.	Azola	Azollaceae ¹
<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	Erva de jacaré	Amaranthaceae ¹
<i>Nymphoides indica</i> (L.) Kuntze	Coração flutuante	Menyanthaceae ¹
<i>Hydrocotyle verticillata</i> Thunb.	Erva-capitão do brejo	Apiaceae ¹
<i>Ludwigia elegans</i> (Cambess.) Hara	Cruz de Malta	Onagraceae ¹
<i>Ludwigia sedoides</i> (H.B.K.) Hara	Cruz de Malta	Onagraceae ¹
<i>Ludwigia repens</i> Forst	Florzeiro	Onagraceae ⁴
<i>Ludwigia helminthoriza</i> (Mart.) Hara	Lombrigueira	Onagraceae ¹
<i>Brachiaria arrecta</i> (Hack) Stent	Braquiária do brejo	Poaceae ³
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	Aguapé	Pontederiaceae ¹
<i>Eichhornia azurea</i> (Sw.) Kunth	Mururé	Pontederiaceae ¹
<i>Heteranthera reniformis</i> Ruiz & Pav.	Hortelã do brejo	Pontederiaceae ²
<i>Pontederia parviflora</i> Alexander	Camalote	Pontederiaceae ¹
<i>Pontederia cordata</i> L.	Lanceiro	Pontederiaceae ¹
<i>Pontederia rotundifolia</i> L.	Camalote	Pontederiaceae ¹
<i>Polygonum lapathifolium</i> L.	Cataia-gigante	Polygonaceae ³
<i>Potamogeton pectinatus</i> L.	Potamogeton	Potamogetonaceae ⁴
<i>Lemna minor</i> L.	Lentilha d'água	Lemnaceae ²
<i>Ceratophyllum demersum</i> L.	Rabo de raposa	Ceratophyllaceae ¹
<i>Salvinia</i> sp.	Orelha de onça	Salviniaceae ¹

¹ POTT & POTT (2000); ² KISSMANN (1997); ³ LORENZI (2000); ⁴ TARVER et al., 1988

Avaliou-se, em seguida, a gama de hospedeiros do fungo inoculando-o em plantas de importância econômica relacionada na Tabela 2. As espécies foram cultivadas em vasos plásticos (3L) contendo uma mistura de terra, areia e substrato Plantmax® (2:1:1) enriquecida com nitrogênio e potássio a 200 ppm e fósforo a 300 ppm e mantidas em condições de casa de vegetação para evitar de insetos vetores de doenças.

Tabela 2- Relação das hortaliças de importância econômica avaliadas quanto a suscetibilidade a *Cylindrocarpon* sp.

Nome científico	Cultivares
<i>Cucurbita pepo</i>	Abobrinha de tronco Caserta
<i>Cucurbita moschata</i>	Abóbora Menina Brasileira precoce
<i>Brassica oleracea var capitata</i>	Repolho chato de quintal
<i>Brassica oleracea var capitata</i>	Repolho roxo
<i>Brassica oleracea var itálica</i>	Brócolis Ramoso Santana
<i>Brassica oleracea var botrytis</i>	Couve flor quatro estações
<i>Eruca sativa</i>	Rúcula Cultivada
<i>Allium cepa</i>	Cebola Baia Periforme
<i>Raphanus sativus</i>	Rabanete Cometa
<i>Raphanus sativus</i>	Rabanete Early Scarlet Globe
<i>Solanum melongena</i>	Berinjela Embu
<i>Lycopersicon esculentum</i>	Tomate Ipa
<i>Cichorium endivia</i>	Chicória (escarola lisa) Batávia
<i>Cucumis sativus</i>	Pepino caipira
<i>Cichorium intibus</i>	Almeirão Folha Larga
<i>Cichorium intibus</i>	Almeirão Pão de Açúcar
<i>Lactuca sativa</i>	Alface crepa Grand Rapids
<i>Daucus carota</i>	Cenoura Brasília de verão
<i>Abelmoschus esculentus</i>	Quiabo Santa Cruz 47
<i>Allium porrum</i>	Alho porro Carentan
<i>Beta vulgaris</i>	Beterraba Itapuã 202
<i>Beta vulgaris</i>	Beterraba Maravilha
<i>Petroselinum crispum</i>	Salsa Graúda Portuguesa
<i>Capsicum frutescens</i>	Pimenta dedo de moça
<i>Barbarea verna</i>	Agrião da terra
<i>Capsicum annum</i>	Pimentão casca dura Ikeda

Fonte :FILGUEIRA (2003)

Plantas sadias foram inoculadas com uma suspensão de conídios de *Cylindrocarpon* sp. obtida pela raspagem de colônias cultivadas em BDA, a 25°C, ajustada a 1×10^6 con.mL⁻¹, aos 15 e 30 dias. As plantas inoculadas permaneceram em condições de câmara úmida por 24 horas, promovida por sacos plásticos transparentes. As testemunhas consistiam de plantas sadias livres de inoculação. Plantas de sagitária foram inoculadas e constituíram os controles positivos.

O ensaio foi avaliado periodicamente quanto ao desenvolvimento de sintomas, conforme NACHTIGAL (2000), durante 45 dias. Plantas foram classificadas como

imunes se sintomas não foram detectados e suscetíveis se clorose, necrose ou mortalidade foram visíveis durante o período de avaliação. Tecidos representativos de lesões evidentes foram plaqueados em meio BDA acrescido de pentabiótico para confirmação da presença de *Cylindrocarpon* sp.

Resultados e Discussão

O fungo *Cylindrocarpon* sp. mostrou-se específico a *Sagittaria montevidensis*, onde os sintomas foram característicos da infecção caracterizados por manchas foliares circulares de coloração marrom. Nenhum sintoma foi observado nas plantas aquáticas inoculadas com a suspensão fúngica. Plantas de interesse econômico mostraram-se imunes ao fungo, não sendo observados sintomas característicos da infecção.

A especificidade ao hospedeiro varia amplamente com o fitopatógeno, alguns são altamente específicos ao hospedeiro, infectando somente um ou poucas espécies ou mesmo cultivares dentro da espécie. Outros têm gama de hospedeiros extremamente ampla, infectando várias espécies.

O agente de controle biológico deve ser testado em várias plantas para determinar sua especificidade em hospedeiros alvos e segurança em plantas não alvo. Segundo CONWAY & FREEMAN (1977) testes extensivos da gama de hospedeiros são requeridos em áreas onde culturas são cultivadas e nesse aspecto determinaram a especificidade de hospedeiro de *Cercospora rodmanii*, testando em condições controladas 85 espécies de plantas selecionadas (58 espécies e algumas com várias cultivares testadas), representando 22 famílias de importância econômica e ecológica. Somente o aguapé mostrou-se suscetível ao fungo e assim, concluíram que *C. rodmanii* é específico ao aguapé. Em condições de campo testaram 70 plantas sendo 51 espécies representantes de 20 famílias. Uma estratégia varietal (plantas econômicas) e centrífuga (plantas relacionadas) foi utilizada na seleção de plantas para ser testada. Os resultados mostraram que *C. rodmanii* é um patógeno do aguapé com gama de hospedeiro restrita, não verificando nenhuma infecção nas plantas testadas. Dessa

forma, seu uso no biocontrole do aguapé tornou-se seguro sem criar problemas tanto para plantas de cultivo comercial ou plantas de importância ecológica na Flórida.

VERMA & CHARUDATTAN (1993) avaliaram a suscetibilidade de plantas submersas, flutuantes e emergentes e plantas de interesse econômico terrestres a *Mycoleptodiscus terrestris*, fitopatógeno candidato a biocontrole de *Myriophyllum spicatum*. As plantas foram expostas ao fungo formulado em alginato e, ao testar 16 espécies aquáticas, verificaram que o fungo foi patogênico a *Hydrilla verticillata*, *Myriophyllum aquaticum* e *Ceratophyllum demersum*, contudo concluíram que o potencial de risco para plantas aquática não alvo é mínimo pois o índice de doença foi considerado de baixa relevância.

SHABANA et al. (1995) identificaram o fungo *Alternaria eichhorniae*, patogênico ao aguapé, e avaliaram a gama de hospedeiros testando 97 espécies de interesse econômico durante 2 anos consecutivos. Verificaram que o umectante Metamucil teve efeito na severidade da doença e não na incidência.

O controle biológico de plantas daninhas, em termos de desenvolvimento científico e de utilização prática, está bastante atrasado em relação ao controle biológico de insetos, especialmente pela grande dificuldade de introdução de um agente herbívoro ou fitopatogênico dentro de uma cultura vegetal que, em qualquer hipótese, deve ser prejudicada. São poucos os exemplos de organismos altamente específicos e que lograram sucesso no controle biológico de plantas daninhas (BARRETO & EVANS, 1996). No entanto, o esforço no desenvolvimento de bio-herbicidas pela utilização de fungos e bactérias tem crescido muito nas duas últimas décadas. A nível mundial, uma série de organismos está sendo estudada com grande possibilidade de sucesso.

De acordo com NACHTIGAL (2000) pouco se conhece sobre patologia de plantas aquáticas no Brasil. BARRETO & EVANS (1996) destacaram o potencial de isolados fúngicos no biocontrole das plantas aquáticas *Eichhornia crassipes*, *E. azurea*, *Echinochloa polystachya*, *Paspalum repens*, *Pistia stratiotes*, *Polygonum spectabile* e *Typha dominguensis*

Os bioherbicidas são freqüentemente específicos para um pequeno grupo de plantas, e portanto, usuários devem contar com mais de um herbicida para controlar um

espectro de plantas daninhas infestando uma cultura ou habitat. Para superar esse problema, como têm sido demonstrado no caso de arroz e soja, combinações de bioherbicidas e herbicidas químicos podem ser integrados de forma eficiente e econômica dentro do manejo de plantas daninhas. Em situações onde bioherbicidas são usados em combinações com pesticidas químicos, a viabilidade e eficácia de agentes biológicos podem ser adversamente afetados pelos químicos (SMITH JR, 1982).

Conclusões

O isolado fúngico de *Cylindrocarpon* sp. (FCAV#875) mostrou-se específico a *Sagittaria montevidensis*.

O emprego de *Cylindrocarpon* sp. aplicado em plantas aquáticas flutuantes não alvo como *Pistia stratiotes*, *Eichhornia crassipes*, *Salvinia* sp., *Lemna minor* e *Azolla caroliniana* não traz complicações, pois foram imunes ao agente de controle de *S. montevidensis*.

As plantas submersas *Egeria densa*, *E. najas*, *Ceratophyllum demersum*, *Najas guadalupensis*, *Potamogeton pectinatus* foram consideradas imunes a *Cylindrocarpon* sp.

Referências

BARRETO, R. W.; EVANS, H. C. Fungal pathogens of some brazilian aquatic weeds and their potential use in biocontrol. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 9., 1996. Stellenbosch. South Africa. **Proceedings ...** p. 121-126.

CONWAY, K. E.; FREEMAN, T. E. Host specificity of *Cercospora rodmanii*, a potential biological control of waterhyacinth. **Plant Dis. Rep.**, v. 6, n. 4, p. 262-266, 1977.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: BASF, 1997. t. 1, p. 825.

KOK, L. T. Principles and Methodology of biological weed control. **FAO Plant Protect. Bull.**, v. 22, n. 4, p. 77-81, 1974.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2000. 608 p.

MAIA, G. S.; TOFFANELLI, C. M.; REZENDE, F. R. L.; NODIN, J. A.; PITELLI, R. A. Determinação da gama de hospedeiros e especificidade de *Cylindrocarpon* sp. agente de biocontrole de *Sagittaria montevidensis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., 2002, Gramado, RS. **Anais...**, p. 256.

MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L.; DIANESE, J. C. (Ed.). **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa SPI Embrapa Cenargen, 1998. 569 p.

NACHTIGAL, G. F. **Desenvolvimento de agente de controle biológico microbiano de *Egeria densa* e de *Egeria najas***. 2000. 160 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

PITELLI, R. A.; PITELLI, R. L. C. M.; MARCONDES, D. A. S. Controle biológico de macrófitas aquáticas. In: WORKSHOP ECOLOGIA E MANEJO DE MACRÓFITAS

AQUÁTICAS, 2000, Maringá. **Resumos...** Maringá: Sociedade Brasileira de Limnologia, 2000. p. 23.

POTT, V. J.; POTT, A. **Plantas aquáticas do Pantanal**. Brasília: EMBRAPA, 2000. 404 p.

RUSSOMANNO, O. M. R.; MALAVOLTA, V. M. A.; MANSOLDO, E.; MARGATHO, L. F.; CARVALHO, P. R. Ocorrência de fungos em gramíneas forrageiras da região de Bauru, SP. **Summa Phytopathol.**, v. 14, p. 65, 1988.

SHABANA, Y. M.; CHARUDATTAN, R.; ELWAKIL, M. A. Identification, pathogenicity and safety of *Alternaria eichhorniae* from Egypt as a bioherbicide agent for waterhyacinth. **Biol. Control**, v. 5, p. 123-135, 1995.

SMITH JR, R. J Integration of microbial herbicides with existing pest management programs. In: CHARUDATTAN, R.; WALKER, H. L. (Ed.). **Biological Control of Weeds with plant pathogens**. New York: Wiley, 1982. p. 189-203.

TARVER, D. P.; RODGERS, J. A. MAHLER, M.J.; LAZOR, R. L.(Ed.) **Aquatic and wetland plants of Florida**. Tallahassee, 1988. 127 p.

VERMA, U.; CHARUDATTAN, R. Host range of *Mycocleptodiscus terrestris* a microbial herbicide candidate for eurasian watermilfoil, *Myriophyllum spicatum*. **Biol. Control**, v. 3, p.271-280. 1993.

WAPSHERE, A. J. A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. **Ann. Appl. Biol.** v. 77, p. 201-211, 1974.

WEIDEMANN, G. J.; TEBEEST, D. O. Biology of host range testing for biocontrol of weeds. **Weed Technol.**, Champaign, v. 4, n. 3, p. 465-470, 1990.

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE SURFACTANTES SOBRE *Cylindrocarpon* sp. IN VITRO E DA COMPATIBILIDADE DE MISTURA COM O AGENTE NA EFICÁCIA DE CONTROLE DE *Sagittaria montevidensis*

RESUMO: *Sagittaria montevidensis* é uma das plantas pioneiras que colonizam o sedimento de reservatórios assoreados e possibilita uma rápida recolonização após a colheita mecânica, induzindo a necessidade de repetidas operações, com aumento do custo anual do processo. O controle biológico pode reduzir a densidade e acúmulo de biomassa por esta planta daninha e atrasar o processo de recolonização de reservatório. Considerando-se que o fungo *Cylindrocarpon* sp. tem potencial como agente de controle biológico dessa planta daninha aquática, o presente trabalho visou fornecer subsídios para aplicações desse agente pela técnica do bioherbicida e, para tanto, avaliou a compatibilidade com adjuvantes a serem adicionados na calda de pulverização. Em condições de laboratório foram avaliados os efeitos dos adjuvantes Agral, Aterbane, Citowet, Energic, Haiten, Herbitensil, Iharagen, Silwet, Tween 20 e Visóleo sobre o crescimento micelial, esporulação, e germinação dos conídios. As concentrações dos adjuvantes no meio de cultura foram aquelas recomendadas para caldas de pulverização com herbicidas. Numa segunda etapa, foram pulverizadas plantas de *S. montevidensis* com conídios (1×10^6 unidades.mL⁻¹) suspensos em solução contendo os adjuvantes. Os resultados mostraram que o crescimento das colônias do fungo não foi afetado pelos adjuvantes Iharagen e Tween e os maiores efeitos inibitórios foram promovidos por Aterbane e Energic. Por outro lado, a produção de conídios por unidade de superfície de colônia foi maior no meio de cultura com Silwet, Herbitensil, Agral, Aterbane e Energic. Aparentemente, os adjuvantes que interferiram

negativamente no crescimento micelial do fungo induziram maior produção de conídios por área. Quando adicionado na calda de aplicação, Silwet proporcionou maior severidade de doença ocasionada por *Cylindrocarpon* sp. em *S. montevidensis*.

Palavras-chave: bioherbicida, controle biológico, macrófita aquática e tecnologia de aplicação

Introdução

A construção de reservatórios de água transformando ambientes lóticos em lênticos, associada ao acúmulo de nutrientes incrementado pelo despejo doméstico e industrial, tem levado a uma condição de desequilíbrio do sistema hídrico, contribuindo para o crescimento acelerado e descontrolado da comunidade de plantas aquáticas (VELINI, 2000; BRAGA, 2002; MARTINS et al., 2003a).

Quando o desenvolvimento dessas plantas é intenso, acarreta prejuízos consideráveis, com elevadas produções de biomassa ocupando vastas áreas do corpo hídrico, afetando seu uso múltiplo para navegação, recreação, pesca, piscicultura e geração de energia elétrica. O desequilíbrio promovido pelo profuso crescimento das macrófitas aquáticas é consequência das alterações ocasionadas nas características químicas e físicas da água e pode comprometer a biocenose aquática, pois algumas espécies favorecidas pela nova condição do corpo hídrico podem suprimir outras que são menos agressivas, mas importantes para manutenção dos processos estabelecidos em longo tempo de evolução adaptativa dos membros daquela comunidade (CARDOSO et al., 2002; MARTINS et al., 2003b). Para evitar todos esses problemas, as macrófitas aquáticas têm sido alvo de controle em várias situações.

São poucas as opções para o controle de plantas aquáticas no Brasil, uma vez que existe um único herbicida (fluridone) registrado para essa finalidade e com atuação satisfatória somente em plantas submersas (MARCONDES et al., 2003). Uma

alternativa bastante utilizada em alguns reservatórios de usinas hidrelétricas é o controle mecânico utilizando embarcações adaptadas para tal fim (VELINI, 2000).

No reservatório de Santana, que abastece a estação elevatória de Vigário da Light Serviços de Eletricidade S/A, localizado em Piraí, RJ, o emprego de controle mecânico tem removido grandes quantidades de macrófitas aquáticas anualmente. Nas áreas que sofrem ação mecânica de controle há uma rápida recomposição das populações de plantas aquáticas, num processo sucessório relativamente bem definido por PITELLI (2006). Segundo o autor, após a colheita mecânica há rápida colonização do sedimento exposto por algumas plantas pioneiras de reprodução seminífera, especialmente *Sagittaria montevidensis* e *Pontederia* spp. As densas colonizações destas macrófitas estabilizam o sedimento e promovem o crescimento de outras plantas em sucessão, como *Alternanthera philoxeroides*, *Eichhornia azurea*, *Myriophyllum brasiliensis* e outras. Outras etapas da hidrossere se sucedem. Assim, a necessidade de utilização contínua ou freqüente tem tornado o controle mecânico bastante oneroso, de efeito transitório, superando amplamente, a médio e longo prazo, os custos do controle químico e do controle biológico (VELINI, 1998)

No estágio seral inicial da recolonização, *S. montevidensis* é a mais importante macrófita aquática e destaca-se pela ampla distribuição geográfica e elevada densidade em que ocorre no reservatório. Esta planta é favorecida no reservatório pela elevada fertilidade do sedimento, elevada capacidade reprodutiva e facilidade de dispersão das sementes (PITELLI, 2006).

A redução da intensidade e velocidade de recolonização do reservatório poderá proporcionar menor freqüência da intervenção mecânica e, com isso, reduzir o custo do manejo de macrófitas em longo prazo. Qualquer prejuízo relevante na instalação de um estágio seral pode atrasar toda a recolonização do reservatório.

Durante o monitoramento da comunidade de macrófitas aquáticas desse reservatório foi identificado um agente causal de doença fúngica que promovia severos danos em plantas de *S. montevidensis*, *Cylindrocarpon* sp. (MAIA, 2002). Como se trata de um fungo nativo, questionou-se a possibilidade de uso como agente de controle biológico pela estratégia inundativa ou técnica do bioherbicida. Fungos do mesmo

gênero têm sido estudados como agentes de controle biológico de plantas do gênero *Sagittaria* no Japão (TSAY & TUNG, 1992; TSAY et al., 1993).

Na aplicação de agentes fitopatogênicos pela técnica do bioherbicida é fundamental que o inóculo tenha boas condições de contacto e permanência na superfície da planta para que possa ocorrer a infecção e desenvolvimento da doença (BORGES NETO et al., 1998; BORGES NETO & PITELLI, 2004). Os adjuvantes promovem adesão à superfície vegetal, alteram a velocidade de espalhamento na área de molhamento e a retenção das gotas pulverizadas sobre as superfícies foliares sem afetar a sobrevivência do fungo, melhorando a eficácia do agente de biocontrole (TEBEEST, 1991; PRASAD, 1994). Entretanto, FORSYTH (1964) apontou alguns óleos vegetais e emulsificantes como fungitóxicos inviabilizando a mistura em tanque de pulverização, sendo crucial a seleção do ingrediente em aplicações de bioherbicidas em sistemas de manejo de plantas daninhas. Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos de adjuvantes no desenvolvimento do fungo *Cylindrocarpon* sp. e a compatibilidade de mistura na eficácia de controle de *S. montevidensis*.

Material e Métodos

Esse trabalho foi desenvolvido em duas etapas. Na primeira etapa foram avaliados o crescimento micelial, esporulação e germinação de *Cylindrocarpon* sp., cultivado em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) acrescido com os adjuvantes estudados. Na segunda etapa, foram avaliadas a infectividade e o desenvolvimento da doença em pulverizações de inóculo do fungo em solução contendo os adjuvantes a serem avaliados.

Todo trabalho foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico de Plantas Daninhas Prof. Giorgio de Marinis e em casa de vegetação do Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia da Unesp (Nepeam), Jaboticabal, SP.

Efeitos de adjuvantes sobre o desempenho biológico de *Cylindrocarpon* sp.: discos de 0,65 cm de diâmetro retirados das margens da colônia de *Cylindrocarpon* sp. foram repicados para o centro de placa de Petri contendo BDA acrescido de adjuvantes, relacionados na Tabela 1, na concentração recomendada pelo fabricante. Cada adjuvante constituiu um tratamento e o experimento foi distribuído em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições. A testemunha consistiu do cultivo fúngico em meio sem a adição de qualquer adjuvante.

Tabela 1. Adjuvantes avaliados quanto aos seus efeitos sobre o crescimento e infectividade de *Cylindrocarpon* sp., agente potencial de biocontrole de *Sagittaria montevidensis*.

Nome comercial	Princípio Ativo	Função	Dose utilizada mL/100 L
AGRAL ®	Nonil fenoxi poli (etilenoxi) etanol 200 g/L	Surfactante, espalhante adesivo	30 ¹
ATERBANE BR ®	Condensado de álcoolfenóis + oxido de eteno + sulfonatos orgânicos 460 g/L	Espalhante adesivo	250 ¹
CITOWETT 200 ®	Poli-oxietileno-alkuil-fenol éter 200 g/L	Espalhante adesivo	100-200 ¹
ENERGIC ®	Nonil fenoxi poli (etilenoxi) etanol 226 g/L + sal sódico do ácido dodecil benzeno sulfônico 226 g/L	Surfactante, espalhante adesivo	200 ¹
HAITEN ®	Polioxietileno alquil fenol éter 200 g/L	Espalhante adesivo	10-15 ¹
HERBITENSIL ®	Nonil fenol oxietilado 400 g/L + álcool isopropílico 150 g/L	Espalhante	100-200 ¹
IHARAGUEN-S ®	Polioxietileno alquil fenol éter 200 g/L	Espalhante adesivo	05-10 ¹
SILWET L-77AG ®	Heptametiltrisiloxano modificado com éter metil aliloxipolietilenoglicol 1000g/L	Espalhante adesivo	100 ¹
VISÓLEO 800 ®	Hidrocarbonetos parafínicos 800 g/L + ingredientes inertes 200 g/L	Adesivo, inseticida	1000 ¹
TWEEN 20	Polioxietileno monolaurático	Surfactante	20 ²

¹ Organização Andrei Editora Ltda.1996.

² BORGES NETO et al., 1998.

As placas foram mantidas em condições de câmara de germinação, ajustada a 25°C, em fotoperíodo diário de 12 horas, proporcionado por quatro lâmpadas fluorescentes de 20 W. O crescimento micelial foi avaliado diariamente por meio da medição do diâmetro nos eixos ortogonais, por 13 dias. A esporulação do

Cylindrocarpon sp. foi avaliada coletando-se os conídios produzidos em meio de cultura e quantificando-os em câmara de Neubauer, ao microscópio óptico comum (400x).

O efeito dos adjuvantes sobre a germinação de conídios foi analisado transferindo-se três alíquotas (30 μ L) de uma suspensão aquosa de conídios, obtidos a partir de colônias cultivadas em presença dos adjuvantes, para placa de Petri, contendo ágar-água, a 2%. As placas foram mantidas no escuro, a 25°C, e a germinação paralizada com a adição do lactofenol, às 12 horas do início da incubação. A porcentagem de conídios germinados foi efetuada mediante a contagem de esporos que apresentaram o tubo germinativo de tamanho superior a 2/3 do comprimento do esporo, ao microscópio óptico (400x).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e para comparação das médias dos tratamentos foi utilizado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, em programa software Statistica (STATSOFT, 1995).

Efeitos da aplicação de *Cylindrocarpon* sp. com adjuvantes sobre a severidade de doença em *S. montevidensis*: A eficácia do fungo aplicado em mistura com os adjuvantes foi avaliada a partir da inoculação de uma suspensão fúngica concentrada de conídios obtida do cultivo em BDA, na temperatura de 25°C, por 21 dias. A concentração dos conídios na mistura após a diluição foi ajustada a 1×10^6 con.mL⁻¹ e as concentrações dos adjuvantes foram as recomendadas pelos fabricantes (Tabela 1).

A inoculação foi realizada por pulverização com um borrifador sobre a parte aérea da planta, até o início de escorrimento da calda. As plantas foram submetidas à condição de câmara úmida, por 14 horas, promovida pela cobertura individual dos vasos com sacos plásticos. Plantas sadias inoculadas com adjuvantes, na dose recomendada pelo fabricante, serviram de testemunha. Considerando que *S. montevidensis* é infestante de solos encharcados, os vasos permaneceram imersos em mesocosmos (568 L) com fornecimento e escoamento de água na parte superficial e com vazão regulada para um tempo de retenção da água de três dias.

A severidade da doença foi estimada visualmente e para auxiliar a avaliação e minimizar a subjetividade da estimativa, atribuíram-se notas conforme escala de Horsfall-Barrett (CAMPBELL & MADDEN, 1990), aos 30 dias da instalação. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com três repetições.

Resultados e Discussão

Os adjuvantes interferiram em diferentes intensidades sobre o crescimento micelial de *Cylindrocarpon* sp. (Tabela 2). Considerando-se o período de incubação observou-se o efeito mais pronunciado na fase inicial do desenvolvimento fúngico. No primeiro e quarto dias de incubação, o diâmetro micelial do tratamento testemunha foi significativamente maior do que da colônia cultivada em meio de cultura acrescido com quaisquer dos adjuvantes. No decorrer do período de incubação os crescimentos das colônias em meios enriquecidos com Iharagen e Tween igualaram-se àquele do meio sem adição de adjuvantes. Até o décimo dia de incubação, o meio de cultura com Citowett também produziu colônias com diâmetros estatisticamente similares à testemunha.

As maiores inibições do crescimento micelial foram observadas com os adjuvantes Aterbane e Energic, em todas as avaliações. Em poucas avaliações, o crescimento micelial destes tratamentos foram estatisticamente similares aos dos meios com Silwet, Herbitensil e Agral. Depois de treze dias de incubação a ordem decrescente do diâmetro micelial foi Testemunha seguido de Tween, Iharagen, Haiten, Citowet, Visóleo, Agral, Silwet, Aterbane, Herbitensil e Energic (Tabela 2).

Tabela 2. Diâmetros médios (cm) de colônias de *Cylindrocarpon* sp. cultivado em meio de cultura BDA acrescido de diferentes adjuvantes nas concentrações recomendadas pelos fabricantes.

Tratamentos	Dias de incubação												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
AGRAL®	0,79 cd	1,01 def	1,25 cd	1,52 d	1,78 c	2,08 d	2,34 e	2,54 d	2,76 d	3,02 c	3,27 c	3,48 c	3,84 d
ATERBANE BR®	0,76 de	0,92 f	1,03 f	1,15 f	1,30 e	1,43 g	1,64 g	1,72 f	1,85 f	2,01 e	2,15 e	2,29 ef	2,60 f
CITOWET 200®	0,80 bcd	1,15 bc	1,50 a	1,85 b	2,24 a	2,62 a	3,01 b	3,28 a	3,59 a	3,94 a	4,23 b	4,34 b	4,63 c
ENERGIC®	0,71e	0,92 f	1,03 f	1,20 f	1,28 e	1,44 g	1,55 g	1,65 f	1,81 f	1,95 e	2,08 e	2,16 f	2,43 f
HAITEN®	0,82 bcd	1,14 bc	1,41 b	1,72 c	2,00 b	2,38 b	2,76 c	3,01 b	3,31 b	3,69 b	4,12 b	4,43 b	5,20 b
HERBITENSIL®	0,80 bcd	1,00 ef	1,21 de	1,40 e	1,58 d	1,83 e	2,04 f	2,20 e	2,32 e	2,43 d	2,48 d	2,51 e	2,53 f
IHARAGUEN-S®	0,86 b	1,20 ab	1,50 a	1,85 b	2,23 a	2,68 a	3,03 b	3,30 a	3,66 a	4,08 a	4,46 a	4,76 a	5,54 ab
SILWET L-77 AG®	0,78 d	0,96 ef	1,15 e	1,33 e	1,53 d	1,73 f	1,98 f	2,11 e	2,28 e	2,48 d	2,70 d	2,82 d	3,13 e
VISÓLEO 800®	0,80 bcd	1,03 de	1,33 c	1,53 d	1,84 c	2,20 c	2,48 d	2,74 c	2,95 c	3,20 c	3,40 c	3,59 c	3,88 d
TWEEN 20	0,85 bc	1,10 cd	1,50 a	1,85 b	2,25 a	2,67 a	3,09 ab	3,38 a	3,73 a	4,13 a	4,58 a	4,93 a	5,69 a
Testemunha	0,93 a	1,25 a	1,56 a	1,94 a	2,30 a	2,72 a	3,15 a	3,39 a	3,74 a	4,13 a	4,58 a	4,92 a	5,74 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados estão de acordo com aqueles obtidos por TOFFANELLI (1997) que constatou que os adjuvantes influenciaram de forma diferenciada o crescimento micelial das colônias de *Bipolaris euphorbiae* a partir do segundo dia de avaliação. Reduções de 78% foram observadas com adjuvantes Herbitensil e Silwet L-77AG, na metade da concentração e na concentração recomendada, respectivamente, evidenciando o maior efeito tóxico inibidor destes adjuvantes. Segundo NEMOTO (2001), que estudou a interação de *B. euphorbiae* com outros agroquímicos no controle de *Euphorbia heterophylla*, houve um efeito inibitório no crescimento micelial do fungo obedecendo à seguinte seqüência crescente: Energic, Silwet, Aterbane e Herbitensil. ÁVILA (2002) estudou os efeitos adversos de adjuvantes no crescimento micelial e infectividade do fungo *Cercospora piaropi*, agente de controle biológico de aguapé e verificou que Energic e Aterbane foram inibitórios para o desenvolvimento do fungo enquanto Tween 20 e Tween 80 não diferiram quanto ao crescimento micelial da testemunha. A autora sugeriu que a inibição promovida pelos adjuvantes está na composição dos produtos contendo substâncias como fenol e álcool que são tóxicos aos microrganismos e constatou que os efeitos deletérios ao fungo foram menos pronunciados quando aplicados em mistura, proporcionando o mesmo índice de severidade de doença na planta hospedeira.

A influência dos produtos sobre o desenvolvimento fúngico pode ser alterada conforme a concentração empregada nos testes. WYMORE et al. (1987) avaliaram a interação de thidiazuron, usado como regulador de crescimento, a *Colletotrichum coccodes*, agente de controle biológico de *Abutilon theophrasti* e constataram que o regulador de crescimento na concentração de 10.000 ppm reduziu o crescimento micelial de *C. coccodes* em 30%, enquanto concentrações abaixo de 1000 ppm não inibiram significativamente o crescimento fúngico.

O número de conídios de *Cylindrocarpon* sp. por colônia foi incrementado pela adição de Silwet, Herbitensil, Agral, Haiten, Citowett e Aterbane, todos com valores superiores à testemunha (Tabela 3). A maior esporulação foi observada em colônias crescendo em meio de cultura acrescido com Silwet, a qual suplantou todos os demais tratamentos. As menores produções de conídios por colônia foram observadas na

testemunha e no meio acrescido com Visóleo, Iharagen e Tween 20. Em presença dos adjuvantes Iharagen e Tween verificou-se incremento no crescimento micelial e pobre esporulação. Diferentemente adjuvantes como o Silwet, Herbitensil e Agral alteraram o crescimento fúngico à favor do processo reprodutivo.

Tabela 3 – Valores médios observados nas avaliações da esporulação e germinação dos esporos de *Cylindrocarpon* sp. em meio de cultura com diferentes adjuvantes.

Tratamentos	Esporulação x 10 ⁴ con.mL ⁻¹	Germinação %
SILWET L-77AG ®	2015,80 a	67 ab
AGRAL ®	1108,90 b	58 b
HAITEN ®	656,00 c	74 ab
HERBITENSIL ®	559,60 cd	65 ab
ATERBANE BR ®	450,30 cde	81 a
CITOWETT 200 ®	296,40 def	72 ab
TWEEN 20 ®	41,10 f	84 a
ENERGIC ®	279,20 def	60 b
VISÓLEO 800 ®	156,60 ef	67 ab
IHARAGUEN-S	53,90 f	59 b
Testemunha	279,50 def	75 ab

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação a germinação dos conídios, Tween e Aterbane foram os adjuvantes que proporcionaram melhores condições para a germinação, registrando 84 e 81% de conídios germinados, respectivamente, sem diferença estatística entre eles (Tabela 3). A análise estatística revelou que os adjuvantes Haiten, Citowet, Visóleo Herbitensil, não diferiram entre si e entre os demais testados. Os adjuvantes Energic, Iharaguen e Agral diferiram de Tween e Aterbane, sendo considerados os mais inibitórios para a germinação dos conídios.

GAZZIERO et al. (1989) estudaram a viabilidade de mistura de *B. euphorbiae* com diferentes adjuvantes e a possibilidade de interferência na germinação do fungo e verificaram que mistura com óleo vegetal a 5%, ou com Natur óleo a 1,5%, reduziram em 80 e 90% a germinação dos esporos em relação a testemunha, respectivamente.

Observaram também que Energic a 0,2% não afetou a germinação, enquanto que na concentração 0,5% não apenas atrasou a germinação como também provocou a formação de ramificação no tubo germinativo, com redução do crescimento final. De acordo com WALKER & RILEY (1982) a presença de determinados surfactantes pode inibir o crescimento micelial ou germinação de esporos de fungos. Esses autores comentaram que esporos de *Alternaria cassiae* tiveram germinação anormal na presença de Tween-20 ou Tween-80, mas frente a surfactantes não iônicos (nonoxynol), a germinação não foi afetada e a cobertura foliar incrementada, resultando num maior controle de *Senna obtusifolia*.

Os resultados estão de acordo com aqueles obtidos por BORGES NETO et al., (1998) ao verificar que alguns adjuvantes inibiram o crescimento micelial de *Cercospora caricis*, agente de controle biológico de tiririca sem, contudo, afetar a patogenicidade do patógeno quando aplicados em mistura sobre a planta; enquanto outros adjuvantes favoreceram o crescimento micelial, porém reduzindo a patogenicidade do fungo.

O comportamento do fungo em mistura com alguns adjuvantes na promoção de doença em *S. montevidensis* foi diferenciado com base nas notas de severidade de doença (Figura 1). O adjuvante que apresentou maiores notas de severidade foi o Silwet, diferindo significativamente das demais combinações avaliadas em associação com *Cylindrocarpon* sp. Na mistura com os adjuvantes Iharaguen, Citowet, Agral e Haiten, a análise estatística revelou não haver diferença significativa em relação à aplicação isolada do fungo. Os adjuvantes Tween 20, Aterbane, Visóleo, Herbitensil e Energic em mistura ao fungo influenciaram negativamente a infecção fúngica reduzindo a ação bioherbicida. Nenhuma fitotoxicidade inerente à aplicação de adjuvantes em plantas testemunhas foi observada durante a condução do experimento.

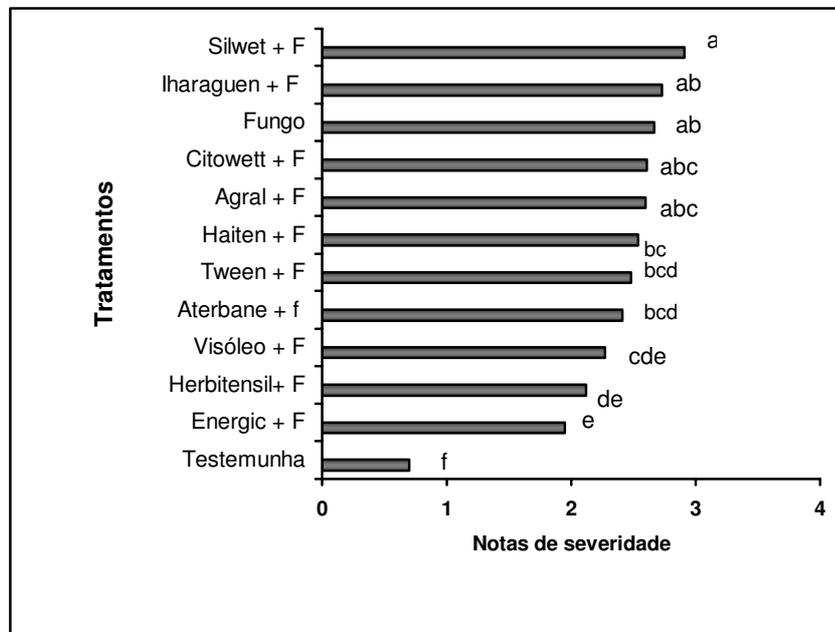


FIGURA 1- Severidade da doença causada por *Cylindrocarpon* sp. em *Sagittaria montevidensis* quando aplicado em mistura com diferentes adjuvantes.

Com base nos resultados, o espalhante adesivo Silwet L-77 Ag conferiu melhores qualidades físicas às caldas de defensivos agrícolas, aumentando seu poder de umectação pela redução da tensão superficial da água, permitindo a formação de gotas menores durante a pulverização e favorecendo a deposição completa e uniforme. Provavelmente, a molhabilidade promovida pelo produto favorece o processo de infecção de *Cylindrocarpon* sp. em *S. montevidensis*, pois de acordo com MAIA (2002), estudos de microscopia eletrônica de varredura revelaram que a penetração do fungo ocorre pelos estômatos, sendo estes os sítios de infecção. Estômatos fechados não permitiram a penetração do fungo nas folhas. Observações são importantes para desenvolvimento de metodologia de aplicação tornando-se evidente que as formulações fúngicas podem promover a redistribuição e adesão das partículas na superfície foliar, molhabilidade de modo a atingir os sítios de penetração (estômatos) na superfície

abaxial e ao mesmo tempo, proteger as adversidades ambientais durante a fase de pré-penetração.

A aplicação do bioherbicida em mistura com adjuvantes foi avaliada no estágio sugerido por MAIA (2002) que determinou que a suscetibilidade de *S. montevidensis* é maior em estádios mais avançados do seu ciclo de desenvolvimento, correspondente à fase de 3 – 4 folhas sagitadas. Embora lesões foliares fossem observadas, contudo a mortalidade da planta não foi atingida, sugerindo uma reaplicação da mistura para aumentar a eficácia de controle das novas brotações emitidas responsáveis pela recuperação das plantas.

BORGES NETO & PITELLI (2004) estudaram o efeito de 14 adjuvantes e 6 herbicidas adicionados à suspensão de inóculo, sobre a ação de *Fusarium graminearum* em *Egeria densa* e *Egeria najas* e verificaram que, de modo geral, os adjuvantes melhoraram a eficiência do bioherbicida e a associação herbicida e fungo proporcionou maior severidade de doença e controle do crescimento das plantas. Com base nos resultados obtidos, constataram que a severidade da doença foi afetada de forma significativa pelos espalhantes adesivos Energic, Aterbane, Agral e Iharaguen-S para *E. densa* e no caso de *E. najas* destacaram-se Haiten e Tween 80. BANNON & WALKER, (1987) apontaram os esporos de *Alternaria cassiae* como hidrofóbicos e demonstraram que óleos vegetais emulsificantes foram superiores a surfactantes não iônicos para aplicação de esporos. WYMORE et al (1987), constataram que thidiazuron, a 10000 ppm afeta o crescimento micelial de *C. coccodes*, enquanto que em mistura de tanque, o aumento da concentração não interferiu no desenvolvimento da doença e agiram sinergisticamente aumentando a mortalidade de plantas de *Abutilon theophrasti*. Aplicados isoladamente, os dois componentes causaram pequena ou nenhuma mortalidade.

A presença de adjuvantes alterou o comportamento do bioherbicida quanto ao controle de *S. montevidensis*, o que nem sempre ocorre com herbicidas cuja atividade, segundo HARKER (1992), é muitas vezes melhorada por adjuvantes, que nem sempre estão contidos no produto formulado.

GRANT et al. (1990) estudaram a aplicação de *Colletotrichum* spp. em mistura de tanque com herbicidas sem afetar a sobrevivência do esporo e sugeriram que o uso de herbicida pode aumentar ou diminuir a severidade da doença, pois a barreira da planta pode ser reduzida por herbicidas e adjuvantes permitindo a penetração do patógeno.

Nesse trabalho foi investigada a ação dos adjuvantes nas doses recomendadas, não sendo determinados os efeitos de doses quanto a molhabilidade desejável.

BORGES NETO et al. (1998) avaliaram vários adjuvantes incorporados às suspensões de inóculo de *C. caricis* e verificaram que o Tween 20, Metamucil e a sacarose como fornecedora de carbono auxiliaram na ação do agente de biocontrole em tiririca. Espalhantes adesivos, como AgBem e Haiten também foram úteis promovendo a redistribuição dos propágulos fúngicos, de modo a atingir os sítios da infecção.

Os resultados obtidos e a literatura fornecem claras evidências de que a aplicação bem sucedida de bioherbicidas depende do desenvolvimento de adequada tecnologia de aplicação e, neste processo, a eleição do tipo e concentração de produto adjuvante para melhoria das condições de infectividade deve merecer atenção especial.

Conclusões

O emprego dos adjuvantes Energic e Herbitensil em mistura com o agente de biocontrole deve ser evitado, pois comprometem a ação do fungo *Cylindrocarpon* sp. reduzindo o potencial do fungo na severidade da doença em *Sagittaria montevidensis*.

O crescimento micelial de *Cylindrocarpon* sp. em meio de cultura não é influenciado pelos adjuvantes Iharaguen-S e Tween 20 e sim por Energic, Aterbane e Herbitensil.

Os adjuvantes Silwet L-77 AG e Iharaguen-S foram considerados os mais promissores em mistura com o bioherbicida conforme evidenciado pela performance na aplicação e nos danos causados a *Sagittaria montevidensis*.

Referências

ÁVILA, Z. R. **Estudo de *Cercospora piaropi* como agente de controle biológico de *Eichhornia crassipes* e sua associação com o herbicida 2,4-D.** 2002. 89 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

BANNON, J. S.; WALKER, H. L. Influence of non-ionic surfactants and non phytotoxic crop oil on control of sicklepod by *Alternaria cassiae*. **Proc. South. Weed Sci. Soc.**, v. 40, p. 288, 1987.

BORGES NETO, C. R.; PITELLI, R. A. Adjuvantes e herbicidas e a infectividade de *Fusarium graminearum*, agente potencial de biocontrole de *Egeria densa* e *Egeria najas*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 1, p. 77-83, 2004.

BORGES NETO, C. R.; MELLO, S. C. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; FONTES, E. M. G. Efeito de adjuvantes no crescimento e infectividade de *Cercospora caricis*, agente potencial de biocontrole de tiririca. **Fitopatol. Bras.**, v. 23, n. 4, p. 502, 1998.

BRAGA, M. F. S. Estudo de recifes artificiais como atratores de peixes no reservatório de Volta Grande, Rio Grande (MG-SP). **Acta Limnol. Bras.**, v. 14, n. 2, p. 65-76, 2002.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Introduction to plant disease epidemiology. Wiley-Interscience Publication, 1990. 532 p.

CARDOSO, L. R.; MARTINS, D.; KURAMAE, E. E.; TANAKA, R. H.; MORI, E. S. Variabilidade genética de acessos de aguapé coletados no Estado de São Paulo. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. esp., p. 1-5, 2002.

FORSYTH, F. R. Surfactants as fungicides. **Can. J. Bot.**, v. 42, p.1335-1347, 1964.

GAZZIERO, D. L. P.; CALÇAVARA, P. R.; YORINORI, J. T.; ARROBAL, C. A. **Compatibilidade da mistura de *Helminthosporium* sp. com diferentes adjuvantes: Resultados de Pesquisa de Soja 1988/89.** Londrina: EMBRAPA, 1989, p. 282-283.

GRANT, N. T.; PRUSINKIEWICZ, E.; MORTENSEN, K.; MAKOWSKI, R. M. D. Herbicide interactions with *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* a bioherbicide for round-leaved mallow (*Malva pusilla*) control. **Weed Technol.**, Champaign , v. 4, n. 4, p. 716-723, 1990.

HARKER, K. N. Effects of various adjuvants on sethoxydim activity. **Weed Technol.**, Champaign, v. 6, n. 4, p. 865-879. 1992.

MAIA, G. S. **Avaliação do potencial de *Cylindrocarpon* sp. no controle biológico de *Sagittaria montevidensis*.** 2002. 69 f. Monografia (Trabalho de graduação em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

MARCONDES, D. A. S.; VELINI, E. D.; MARTINS, D.; TANAKA, R. H.; CARVALHO, F. T.; CAVENAGHI, A. L.; BRONHARA, A. A. Eficiência de fluridone no controle de plantas aquáticas submersas no reservatório de Jupiá. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. esp., p. 69-77, 2003.

MARTINS, D.; VELINI, E. D.; PITELLI, R. A.; TOMAZELLA, M. S.; NEGRISOLI, E. Ocorrência de plantas aquáticas nos reservatórios da Light-RJ. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, p. 105-108, 2003a.

MARTINS, D.; COSTA, N. V.; TERRA, M. A.; MARCHI, S. R.; VELINI, E. D. Caracterização química das plantas aquáticas coletadas no reservatório de Salto Grande (Americana-SP). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. esp., p. 21-26, 2003b.

NEMOTO, M. C. M. **Efeito interativo de *Bipolaris euphorbiae* (Muchovej & Carvalho, 1989) e agroquímicos no controle de *Euphorbia heterophylla* L.** 2001. 89 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

ORGANIZAÇÃO ANDREI. **Compêndio de defensivos agrícolas**: Guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. São Paulo, 1996, 506p.

PITELLI, R. L. C. M. **Abordagens multivariadas no estudo da dinâmica de macrófitas aquáticas.** 2006. 60 f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.

PRASAD, R. Influence of several pesticides and adjuvants on *Chondrostereum purpureum* – a bioherbicide agent for control of Forest weeds. **Weed Technol.**, Champaign, v. 8, n.3, p. 445-449, 1994.

STATSOFT. **Statistica for windows, version 6.0.** Copyright Statsoft.1995.

TEBEEST, D. O. **Microbial control of weeds.** New York: Chapman and Hall, 1991. 284 p.

TOFFANELLI, C. M. **Interferência de herbicidas e surfactantes na ação do fungo *Bipolaris euphorbiae* Muchoveh & Carvalho para o controle de *Euphorbia heterophylla* L. (amendoim-bravo).** 1997. 60 f. Monografia (Trabalho de graduação em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1997.

TSAY, J. G.; TUNG, B. K. Leaf spot of arrowhead caused by *Cylindrocarpon chiayiense* Matsushima in Taiwan. **Plant Prot. Bull.**, v. 34, p. 175-179, 1992.

TSAY, J. G.; WEN, Y. Y.; CHOU, C. L.; TUNG, B. K. Effect of temperature, fertilizer level, and fungicide application on the severity of arrowhead leaf spot. **Plant Pathol. Bull.**, v. 2. p.136-140, 1993.

VELINI, E. D. Controle mecânico de plantas aquáticas no Brasil. In: WORKSHOP SOBRE CONTROLE DE PLANTAS AQUÁTICAS, 1998. Brasília. **Resumos...** p. 32-35.

VELINI, E. D. Controle de plantas daninhas aquáticas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000. Foz do Iguaçu. **Palestras...** Foz do Iguaçu: SBCPD, 2000. p. 137-147.

WALKER, H. L.; RILEY, J. A. Evaluation of *Alternaria cassiae* for the biocontrol of sicklepod (*Cassia obtusifolia*). **Weed Sci.**, Champaign, v. 30, n. 6, p. 651-654, 1982.

WYMORE, L. A.; WATSON, A. K.; GOTLIEB, A. R. Interaction between *Colletotrichum coccodes* and thidiazuron for control of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). **Weed Sci.**, Champaign, v. 35, n. 3, p. 377-383, 1987.