

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**SENSIBILIDADE DE *Bipolaris sorokiniana* E DE
Drechslera tritici-repentis A FUNGICIDAS ‘IN VITRO’**

ROSEANA EDA STOLTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, abril de 2006

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**SENSIBILIDADE DE *Bipolaris sorokiniana* E DE
Drechslera tritici-repentis A FUNGICIDAS ‘IN VITRO’**

ROSEANA EDA STOLTE
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr Erlei Melo Reis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, abril de 2006

AGRADECIMENTOS

A Deus,
presença e força constantes,
obrigada!

Ao amigo Juci Celso Gruber que,
conhecendo os méritos desta instituição, aqui me conduziu
obrigada!

Ao professor Erlei Melo Reis,
orientação e dedicação primaz,
obrigada!

À minha querida família,
meus pais Egidio e Florisbela, irmãos Carlo, Ronise e Egidio Jr.,
cunhados Vanusa e Darcy Jr. e sobrinhos Rafaela, Matheus, João e
Marcela,
amor e apoio incondicionais,
obrigada!

À Capes e ao PPGAgro, na coordenação do prof. Alexandre A. Nienow,
pela Bolsa de estudo no período de abril de 2005 a março de 2006,
obrigada!

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UPF,
pelos ensinamentos e amizade,
ao professor Florindo, à professora Dileta e, em especial, ao professor
Carlos Alberto Forcelini,
amizade e auxílio fundamental nas análises estatísticas,
obrigada!

A todos do Laboratório de Fitopatologia da UPF, em especial à Cinara e
ao Paulo, carinho e amizade que jamais esquecerei,
obrigada!

Aos amigos que aqui encontrei, Ariane, Daniela Fávero, Daniela
Hoffmann, Deise, Étel, Eunice, Fabiana, Fernanda, Janaine, Margarida,
Marivane, Marta, Paulo Hentz, Sandra, Simone e tantos outros,
“amigo é coisa pra se guardar do lado esquerdo do peito...”,
obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE QUADROS	xi
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 Mancha foliar associada a <i>Bipolaris sorokiniana</i> em trigo.....	8
2.2 Mancha foliar associada a <i>Drechslera tritici-repentis</i> em trigo.....	11
2.3 Controle das manchas foliares em trigo.....	14
2.4 Sensibilidade de fungos a fungicidas.....	17
CAPÍTULO I	
Etiologia dos agentes causais de manchas foliares em amostras de folhas de trigo.....	26
RESUMO	26
ABSTRACT	27
1 INTRODUÇÃO	29
2 MATERIAL E MÉTODOS	30
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4 CONCLUSÕES	40
CAPÍTULO II	
Sensibilidade miceliana de isolados de <i>Bipolaris sorokiniana</i> e de <i>Drechslera tritici-repentis</i> a fungicidas ‘in vitro’.....	42
RESUMO	42
ABSTRACT	44
1 INTRODUÇÃO	46
2 MATERIAL E MÉTODOS	48

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4 CONCLUSÕES.....	57
CAPÍTULO III	
Sensibilidade de <i>Bipolaris sorokiniana</i> a fungicidas ‘in vitro’ – germinação de conídios e comprimento do tubo germinativo.....	60
RESUMO.....	60
ABSTRACT.....	61
1 INTRODUÇÃO.....	63
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	66
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
4 CONCLUSÕES.....	81
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página	
CAPÍTULO I		
1	Frequência e incidência de fungos isolados de manchas foliares do trigo em amostras da Fundação ABC, Castro, PR, no ano de 2003.....	34
2	Frequência e incidência de fungos isolados de manchas foliares do trigo em amostras da Fundação ABC, Castro, PR, no ano de 2004.....	35
3	Frequência e incidência de fungos isolados de manchas foliares do trigo em amostras da Fundação ABC, Castro, PR, no ano de 2005.....	36
4	Comprimento, largura e número de pseudoseptos de <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> , Isolados 1 e 2	40
CAPÍTULO II		
1	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50}).....	53
2	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 2, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50}).....	54
3	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Drechslera tritici-repentis</i> , Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50}).....	54

4	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Drechslera tritici-repentis</i> , Isolado 2, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50}).....	55
5	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50}).....	55
6	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50}).....	56
7	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Drechslera tritici-repentis</i> , Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50}).....	56
8	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de <i>Drechslera tritici-repentis</i> , Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50}).....	57
CAPÍTULO III		
1	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento do tubo germinativo de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50}).....	77
2	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o	

	crescimento do tubo germinativo de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 2, Ensaio 1, em 50 % (DE ₅₀).....	78
3	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R ²), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento do tubo germinativo de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE ₅₀).....	78
4	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R ²), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento do tubo germinativo de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE ₅₀).....	79
5	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R ²), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE ₅₀).....	79
6	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R ²), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE ₅₀).....	80
7	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R ²), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE ₅₀).....	80
8	Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R ²), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE ₅₀).....	81

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Relação entre o comprimento do tubo germinativo (μm) e o tempo (horas) de exposição à temperatura de 25 ± 2 °C e em presença de luz, em meio de cultura Batata Dextrose Ágar.....	71
2	Relação entre a germinação (%) e o tempo (horas) de exposição à temperatura de 25 ± 2 °C e em presença de luz, em meio de cultura Batata Dextrose Ágar.	72

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Relatos de ocorrência de fungos a fungicidas no Brasil (GHINI & KIMATI, 2000).....	21
2	Lista cronológica de relatos na redução de sensibilidade e/ou resistência de campo a fungicidas IDM em patógenos de plantas (DE WAARD, 1994).....	22

SENSIBILIDADE DE *Bipolaris sorokiniana* E DE *Drechslera tritici-repentis* A FUNGICIDAS ‘IN VITRO’

ROSEANA EDA STOLTE¹ E ERLEI MELO REIS²

RESUMO: As manchas foliares em trigo são freqüentemente citadas como causadas pelos fungos *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis* e *Stagonospora nodorum*. O controle por fungicidas triazóis tem sido relatado como ineficiente nas últimas três safras na área de atuação da Fundação ABC, Castro, PR, e a hipótese de resistência, principalmente de *D. tritici-repentis*, foi levantada. Assim, testou-se a sensibilidade de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis* a fungicidas ‘in vitro’. Foram identificados os agentes causais em amostras de 2003 a 2005, provenientes do Paraná, por isolamentos em meio de cultura e em câmaras úmidas. Seguiram-se os postulados de Koch para um isolado de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis*. A mensuração de conídios também foi realizada. A sensibilidade miceliana e de conídios (germinação e comprimento do tubo germinativo) de *B. sorokiniana* e miceliana de *D. tritici-repentis* foi realizada ‘in vitro’ utilizando-se placas de Petri com meio de cultura Batata Dextrose Ágar e fungicida incorporado, em concentrações de 0, 0,1, 1, 10 e 100 ppm. Foram testados

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

os fungicidas azoxistrobina, ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, procloraz, propiconazole, tebuconazole e triadimenol. Os delineamentos dos ensaios foram inteiramente casualizados, com 3 e 4 repetições. A DE₅₀, dose efetiva que inibe em 50 % o crescimento do fungo foi calculada pela equação gerada por análise de regressão logarítmica. Os resultados mostraram que: os gêneros *Bipolaris* e *Drechslera* e a espécie *D. tritici-repentis* são os principais agentes causais de manchas foliares em trigo; o fungo *B. sorokiniana* foi patogênico em aveia e trigo e *D. tritici-repentis* apenas em trigo; as mensurações dos conídios de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis* foram semelhantes às descrições da literatura; não houve resistência de *D. tritici-repentis* aos fungicidas; os valores da DE₅₀ para *B. sorokiniana* foram variáveis e mostraram de alta sensibilidade até resistência de isolados aos fungicidas azoxistrobina, flutriafol, e triadimenol.

Palavras-chave: fungo, triazol, resistência, *Triticum aestivum*, manchas foliares.

ABSTRACT: Wheat leaf spots are usually cited as caused by the fungi *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis*, and *Stagonospora nodorum*. Control by the fungicides triazoles, has been reported as inefficient in the last three growing seasons in the area of Fundação ABC, Castro, Paraná, and the hypothesis of resistance, mainly to *D. tritici-*

repentis, was raised. Thus, the sensitivity of *B. sorokiniana* and of *D. tritici-repentis* to fungicides 'in vitro' was evaluated. Initially the causal agents, in samples from 2003 to 2005 growing seasons, from Paraná were identified through isolations in culture medium as well in moist chambers. Koch's postulates were performed for each one isolate of *B. sorokiniana* and of *D. tritici-repentis*. Measurements of conidia were also done. Mycelial and conidia sensitivity (germination and germ tube length) of *B. sorokiniana* and mycelial of *D. tritici-repentis* were done 'in vitro' using Petri dishes with Potato Dextrose Agar as culture medium and fungicide concentrations of 0, 0,1, 1, 10 and 100 ppm added to the substratum. The following fungicides were tested: azoxystrobin, cyproconazol, epoxiconazol, flutriafol, metconazol, procloraz, propiconazol, tebuconazol, and triadimenol. A completely randomized experimental design and treatment replicated three or four times were observed. The ED₅₀, effective concentration to inhibit 50 % of fungi growth, was calculated by the equation generated by logarithmic regression analysis. Results showed that: the genus *Bipolaris* and *Drechslera* and the specie *D. tritici-repentis* were the main causal agents of what leaf spots; the fungus *B. sorokiniana* was pathogenic to oats and wheat and *D. tritici-repentis* just to wheat; conidia measurements of *B. sorokiniana* and of *D. tritici-repentis* were similar to the literature descriptions; there was no evident resistance of *D. tritici-repentis* to the fungicides; values of ED₅₀ for *B. sorokiniana* were variable and showed

high sensitivity up to resistance of the isolates to the fungicides azoxystrobin, flutriafol, and triadimenol.

Key-words: fungi, triazoles, resistance, *Triticum aestivum*, leaf spots.

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma cultura de grande importância no cenário mundial, sendo a principal fonte energética na alimentação da população de muitos países e a segunda em produção de grãos, ficando atrás apenas do milho (ZYLBERSZTAJN et al., 2004). A China e a União Européia, segundo dados das últimas cinco safras, aparecem como os maiores produtores de trigo e também com os melhores índices de produtividade. O Brasil produz aproximadamente 50 % da sua demanda e em relação à produção mundial cultivou na safra 2003/04 1,18 % da área cultivada no mundo, tendo uma média de produtividade nas últimas cinco safras (1.868 kg.ha^{-1}) abaixo da média mundial (2.672 kg.ha^{-1}) (BISOTTO, 2005).

O cultivo do trigo no Brasil é realizado principalmente na região Sul, aproximadamente 90 % da produção brasileira, sendo que o estado do Paraná apresenta a maior área plantada seguida pelo Rio Grande do Sul (ZYLBERSZTAJN et al., 2004). A produtividade média estimada para a região Sul na última safra foi de, aproximadamente, 1.991 kg.ha^{-1} (CONAB, 2006). Uma das limitações à elevação deste índice deve-se, principalmente, às condições climáticas relacionadas à precipitação pluvial e temperatura que, pela ocorrência de chuvas frequentes e altas temperaturas, contribuem para o ataque severo de doenças na cultura (REIS et al., 2001a).

As doenças de maior importância, segundo Picinini & Fernandes (2003), pelos danos que podem causar na cultura do trigo, são oídio, causado por *Oidium monilioides* (Nees) Link (teleomórfico *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Dc.) E.O. Speer), as ferrugens da folha e do colmo, *Puccinia triticina* Rob. ex. Desm e *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Heriks. & Henn. respectivamente, a mancha da gluma causada por *Stagonospora nodorum* (Berk.) Cast. & Germ. (teleomórfico *Phaeosphaeria nodorum*), a mancha marrom causada por *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. In. Sorok) Shoem. (teleomórfico *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib) Dreschs. Ex Dastur.), a mancha amarela causada por *Drechslera tritici-repentis* Died. Shoemaker (teleomórfico *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. e a giberela, causada por *Fusarium graminearum* Schwabe (teleomórfico *Gibberella zae* (Schw.) Petch).

As manchas foliares em trigo, predominando os agentes causais *S. nodorum*, *D. tritici-repentis* e *B. sorokiniana*, conforme estudo realizado por Prestes et al. (2002), apresentam maior incidência sob o sistema de plantio direto e monocultura o que pode ser explicado pela emergência das plântulas junto aos restos culturais infectados. Reis et al. (2001a) afirmam que a mancha amarela da folha é a doença mais freqüente na cultura do trigo e do triticales e que, também, apresenta alta incidência quando cultivados no sistema plantio direto associado à monocultura. Zambolim et al. (2000) também afirmam que os agentes necrotróficos, como os fungos causadores de manchas foliares, provocam danos mais severos às culturas no sistema plantio direto. De acordo com

Reis (1996), o cultivo de uma mesma espécie vegetal e em larga escala, contribui para a ocorrência de epidemias, tornando-se necessário o uso de medidas rápidas, práticas e eficientes no controle de doenças e, no caso específico dos cereais de inverno como trigo, cevada e aveia, os fungicidas têm papel fundamental na sustentabilidade econômica.

O uso de fungicidas é um dos principais métodos de controle de doenças de plantas, quer pela facilidade de uso como também pelos resultados imediatos, porém seu uso constante pode promover a seleção de fungos resistentes colocando em risco a eficiência do método (GHINI & KIMATI, 2000). Segundo Kimati (1987), o desenvolvimento de populações de fungos resistentes a fungicidas pode apresentar conseqüências desastrosas para o produtor, que pode ter sua safra comprometida, e para o fabricante já que o custo estimado para desenvolver um novo fungicida pode alcançar mais de oito milhões de dólares.

Sendo assim, após relatos de dificuldade no controle de manchas foliares em trigo nas últimas safras na região de Castro-PR (SILVA, informação verbal)¹, onde se percebeu baixa eficiência de controle mesmo após três ou quatro aplicações de fungicidas do grupo dos triazóis, levantou-se a possibilidade de ocorrência de insensibilidade dos fungos causadores de manchas foliares em trigo aos fungicidas triazóis. Para verificar a hipótese levantada realizou-se um estudo ‘in

¹ SILVA, OLAVO CORRÊA da Fundação ABC, Castro, PR.

vitro', no período de abril de 2004 a março de 2006, visando testar a sensibilidade de *D. tritici-repentis* e de *B. sorokiniana* a fungicidas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mancha foliar associada a *Bipolaris sorokiniana* em trigo

Etiologia: o fungo causador da mancha marrom ou helmintosporiose é denominado *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem. (sinônimos *H. sativum* Pammel, King & Bakke, *H. sorokinianum* Sacc. ex Sorok, *D. sorokiniana* (Sacc.) Subram. & Jain), que corresponde à fase anamórfica do fungo. Apresenta conidióforos solitários ou em grupos, retos ou flexuosos, algumas vezes geniculados, cor palha a marrom-escuros, septados e medem 100-400 μm x 6-8 μm ou, segundo Ellis (1971), acima de 220 μm de comprimento e 6-10 μm de espessura. Conídios jovens são sub-hialinos, mais tarde tornam-se amarelo-esverdeados a marrom-oliváceos escuros, curvados e quando em meio de cultura freqüentemente apresentam-se retos, fusiformes ou ligeiramente elipsóides. Medem de 80-170 μm x 12-24 μm e possuem de 4 a 10 septos (Zillinsky, 1983). Wiese (1987) descreve medidas de 6-8 x 110-150 μm para os conidióforos e 15-20 x 60-120 μm para os conídios de *B. sorokiniana*, com 3 a 10 pseudoseptos. Ellis (1971) apresenta medidas de 40-120 (mais comum 60-100) μm de comprimento, 17-28 (mais comum 18-23) μm de largura e 3-12 (mais comum 6-10) pseudoseptos. Os

conídios germinam por um ou ambos os pólos, o primeiro septo é produzido delimitando 1/3 basal do conídio e o hilo é externo, porém truncado (MUCHOVEJ et al., 1988).

Na fase teleomórfica o fungo é denominado *Cochliobolus sativus* (Ito & Kuribayashi) Drechsler ex Dastur, um ascomiceto de rara ocorrência na natureza. Pseudotécios são pretos, globosos, com 300-400 µm em diâmetro e com rostro ereto de 50-200 µm de comprimento. Os ascos são clavados e medem de 20-45 x 120-250 µm e contém de 4 a 8 ascosporos encurvados em helicóide. Os ascosporos são hialinos, filiformes, afilados nas extremidades e medem 6-9 x 160-360 µm (ELLIS, 1971; MEHTA, 1978; WIESE, 1987).

Sintomas: inicialmente, surgem lesões necróticas pardas nas primeiras folhas em virtude da transmissão a partir das sementes. Nas demais folhas as lesões possuem formato elíptico, 0,5 a 1,0 cm de comprimento, e coloração variável, desde cinza claro a negras (REIS et al., 2001a). De acordo com Prates & Fernandes (2001), quando a temperatura situa-se entre 23 a 30 °C a taxa de expansão das lesões causadas por *B. sorokiniana* é maior, fato que justifica a presença da doença ser mais freqüente em regiões de clima tropical e subtropical. Como este fungo utiliza como substrato todos os órgãos dos cereais de inverno, a podridão de raízes também pode estar associada à *B. sorokiniana* (REIS, 1988).

Danos: conforme Oliveira & Gomes (1984) os danos podem ultrapassar a 30 % e a partir dos 53 dias após a emergência estes podem ser ainda maiores.

Fontes de inóculo: o fungo *B. sorokiniana* pode infectar todos os órgãos das plantas suscetíveis e as fontes de inóculo primário são as sementes, os restos culturais infectados, as plantas voluntárias, os hospedeiros secundários e os conídios livres dormentes no solo (REIS et al., 2001a). Valim-Labres et al. (1998) relatam a formação e germinação de clamidosporos de *B. sorokiniana*, em meio de cultura sem dextrose e batata, indicando que esse pode ser um importante mecanismo de sobrevivência do fungo na ausência de hospedeiro suscetível.

Hospedeiros: Diehl (1983) encontrou suscetibilidade de trigo, cevada, festuca, azevém, centeio, aveias amarela, branca e preta e pensacola a *B. sorokiniana*. Reis (1982) isolou *B. sorokiniana* de lesões radiculares de capim arroz, papuã e milhã sendo que estas invasoras não demonstraram sintomas secundários e os primários mostravam-se pouco intensos.

Epidemiologia: Mehta (1978) cita que a temperatura ótima para o desenvolvimento da doença varia de 25 a 30 °C e presença de alta umidade. Ensaio realizado por Luz & Bergstrom (1986) mostrou que, para cultivares suscetíveis, a temperatura ótima está entre 20 e 28 °C e para cultivares moderadamente resistentes e resistentes 28 °C. Quando o fungo infecta a semente no momento em que ela germina o parasita sai do estado de dormência e o micélio, que encontrava-se no endosperma,

crece até a superfície da cariopse, atinge o coleóptilo até alcançar a extremidade, fora do solo, onde passa a esporular. Também pode ocorrer a infecção da plúmula pela penetração do micélio no coleóptilo, o que determina o aparecimento de lesões na bainha após sua emergência (REIS, 1988). Reis & Forcelini (1993) mostraram uma eficiência de transmissão sintomática de 87,8 % e assintomática de 81,4 % a partir de sementes infectadas para as raízes seminais, coleóptilos e plúmulas do trigo. Ocorrendo condições favoráveis ao estabelecimento da infecção pode ocorrer uma epidemia no início do estágio de desenvolvimento do trigo. A esporulação do fungo sobre as lesões pode disseminá-lo pelo vento sob condições de clima seco atingindo outras folhas na mesma planta ou em vizinhas, sendo responsável pelos ciclos secundários da doença em órgãos aéreos.

2.2 Mancha foliar associada a *Drechslera tritici-repentis* em trigo

Etiologia: o agente causal da mancha amarela do trigo é o fungo *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker, sinônimos *Helminthosporium tritici-repentis* Diedicke, *D. tritici-vulgaris* (Nisikado) Ito e *H. tritici-vulgaris* (Nisikado), forma imperfeita ou anamórfica. A forma perfeita ou teleomórfica corresponde a *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. (sinônimo *P. trichostoma* (Fr.) Fckl.) (Wiese, 1987).

O fungo apresenta conidióforos simples ou agrupados de 2-3, emergidos através dos estômatos ou entre as células epidérmicas, eretos

ou flexuosos, algumas vezes geniculados, cilíndricos ou ligeiramente afilados, freqüentemente dilatados na base, medindo 7-8 x 100-300 μm (WIESE, 1987) ou 6-12 x 250-400 μm (ELLIS, 1971). Conídios solitários, cilíndricos, retos ou ligeiramente curvados, arredondados no ápice e a base caracteriza-se por possuir forma cônica, conhecida como cabeça de cobra, sub-hialinos a ligeira coloração palha, parede delgada, 12-21 x 45-200 μm , 4 a 7 pseudoseptos segundo Wiese (1987) ou 14-20 (17,7) x 80-250 (117) μm e 1-9 pseudoseptos segundo Ellis (1971). Os conídios germinam por um ou ambos os pólos, podendo também germinar por um tubo germinativo produzido no meio do conídio. Os tubos germinativos basais são laterais no conídio, o primeiro septo desenvolve-se na parte basal e o hilo está localizado no seu interior (MUCHOVEJ et al., 1988).

De acordo com Wiese (1987), pseudotécios em trigo ou restos culturais de gramíneas são pretos, 200-350 μm em diâmetro, algumas vezes com rostro. Os ascosporos, em número de oito, são ovais a globosos, marrons e medem de 18-28 x 45-70 μm , com três septos transversais e leve constrição nos septos. As células medianas podem ter septação longitudinal. Na descrição feita por Mehta (1978), os ascos, desenvolvidos em ascostroma multilocular, são clavados, com 36-53 x 178-267 μm e bitunicados.

Sintomas: os sintomas iniciais aparecem como pequenas manchas cloróticas nas folhas, que aumentam e adquirem um formato elíptico de, aproximadamente, 12 mm de comprimento. Evidencia-se a

presença de um halo amarelo ao redor da lesão que apresenta o centro de cor parda (REIS et al., 2001a).

Conforme Reis & Casa (1996) os primeiros sintomas podem surgir 24 a 48 horas após a inoculação, porém uma diagnose segura deve ser realizada com base nos sinais, formação de conídios, evitando-se confundí-la com a mancha foliar causada por *Septoria* que forma picnídios.

Danos: na Austrália, Rees & Platz (1983) relatam danos devido à doença de 13 a 48 %, sendo grande parte da redução da produtividade devido à redução do tamanho dos grãos. No ano de 1991, Picinini & Fernandes (1992) avaliando o controle de manchas foliares com fungicidas, verificaram rendimentos de 46 a 59 % superiores aos da testemunha, quando a predominância foi de mancha amarela em folhas de trigo.

Fontes de inóculo: o patógeno causador da mancha amarela do trigo, *D. tritici-repentis*, é introduzido na lavoura através do uso de sementes infectadas, forma pela qual o patógeno é levado a longas distâncias. Após sua entrada em uma área ou região, sua sobrevivência pode ser garantida nos resíduos culturais pela produção de pseudotécios (*P. tritici-repentis*) ou conídios (*D. tritici-repentis*). Assim, a semente infectada e a presença de restos culturais infectados serão as principais fontes de inóculo primário para o próximo cultivo (REIS & CASA, 1996).

Hospedeiros: os principais hospedeiros de *D. tritici-repentis* são o centeio, o trigo e o tritcale (REIS et al., 2001a). O trigo é o hospedeiro mais importante, porém existe uma ampla gama de hospedeiros secundários (REIS & CASA, 1996).

Epidemiologia: os respingos de chuva e o vento fazem a disseminação dos ascósporos e conídios a curtas distâncias (REIS et al., 2001a). Tanto os conídios quanto os ascósporos são infectivos e, ao atingirem a superfície verde da planta, iniciam a infecção na presença de água líquida, sendo o período de molhamento requerido de 6 a 48 horas (REIS et al., 2001a; WIESE, 1987). Segundo Reis et al. (2001a), a temperatura ótima para o desenvolvimento da doença está entre 18 e 28 °C e, para a infecção, 30 horas de molhamento. Os conídios produzidos sobre as lesões serão a fonte de inóculo secundário (WIESE, 1987).

2.3 Controle das manchas foliares em trigo

As principais medidas de controle visam reduzir o inóculo, erradicando-o ou diminuindo sua densidade a nível inferior ao limiar numérico de infecção (REIS & CASA, 1996). Os fungos *D. tritici-repentis* e *B. sorokiniana* são parasitas necrotróficos, ou seja, possuem a habilidade de extrair nutrientes de tecidos mortos do hospedeiro. Assim, a presença dos restos culturais dos cereais de inverno numa lavoura possibilita a sobrevivência dos patógenos necrotróficos (REIS et al., 2001a).

Prestes et al. (2002) evidenciam que a prática da rotação de culturas por um ou dois anos sem trigo reduz a incidência de manchas foliares em trigo. A prática da rotação de culturas pode erradicar *D. tritici-repentis* de uma área (CARMONA et al., 1999; REIS & CASA, 1996) sendo que a aveia e espécies de folha larga como ervilhaca, chícharo, nabo forrageiro, colza, linho, serradela, trevos, etc, não são hospedeiras e portanto indicadas para a rotação de culturas (Santos et al., 1987). De acordo com Reis et al. (1998) um inverno com uma espécie vegetal não suscetível é suficiente para reduzir a incidência de *B. sorokiniana*, pois se demonstrou que a esporulação do fungo acompanhou a curva de decomposição dos restos culturais e não foi detectada após 17 meses.

O pousio pode manter o inóculo de *B. sorokiniana* através da manutenção de hospedeiros como o capim arroz, papuã e milhã (REIS, 1982).

Ensaio realizados por Picinini & Fernandes (1992) avaliando o controle químico das doenças da cultura do trigo, com duas aplicações de fungicidas, uma no estágio de emborrachamento e outra no início da floração, mostraram que, para os anos de 1990 e 1991 onde a doença predominante foi a mancha amarela da folha do trigo, o controle esteve entre 73 a 83 % e 70 a 89 % respectivamente para os anos citados. No ano de 1991, para os fungicidas epoxiconazole, tebuconazole, propiconazole, diniconazole, fembuconazole e procloraz proporcionaram rendimentos de 46 a 59 % superiores aos da testemunha.

Reis & Carmona (2001) sugerem que as manchas foliares, causadas por *B. sorokiniana*, *D. tritici-repentis* e *S. nodorum* sejam controladas utilizando como critério o Limiar de Ação (LA) de 10 a 15 %, a partir da elongação. O LA pode ser calculado diminuindo-se 5 % do valor do Limiar de Dano Econômico (LDE) e significa o valor de incidência da doença na qual o benefício do controle é igual ao custo do controle.

O tratamento de sementes com fungicidas eficientes, associado a outras estratégias, como a rotação de culturas e o uso de cultivares resistentes, podem reduzir o número de aplicações de fungicidas no controle de doenças foliares em trigo (PICININI & FERNANDES, 2003).

Forcelini (2005) enfatiza que as estratégias do controle integrado, como rotação de culturas, sementes de boa qualidade, tratamento de sementes e aplicação foliar de fungicidas, são medidas preventivas que visam atrasar o estabelecimento das doenças no campo e reduzir sua quantidade inicial. Conforme Indicações (2005), a associação do uso de sementes saudáveis, do tratamento de sementes com fungicidas e doses eficientes e da rotação de culturas, reduz o inóculo primário de fungos causadores de manchas foliares e a aplicação de fungicidas na parte aérea deve ser feita com base no LDE, sendo calculado com base na função de dano $R = 1000 - 5,7 I$ (R = rendimento de grãos e I = incidência foliar da doença) sendo que a reaplicação dos fungicidas poderá ser feita quando o limiar for novamente atingido.

2.4 Sensibilidade de fungos a fungicidas

A história do uso de fungicidas em larga escala para o controle de doenças em plantas teve seu início com a descoberta da calda bordalesa por Millardet em 1882, em Bordeaux na França, cuja mistura composta de sulfato de cobre e cal consistiu no principal fungicida utilizado por mais de 50 anos (DEKKER & GEORGOPOULOS, 1982). Os autores descrevem que poucos problemas relacionados com resistência a este fungicida tem sido relatados e o mesmo ocorre com os compostos organo-mercuriais, introduzidos por volta de 1914, os ditiocarbamatos introduzidos na década de 1930 e outros orgânicos desenvolvidos mais tarde que possuem a característica de fornecer proteção à planta, ficando apenas na sua superfície.

Após a Segunda Guerra Mundial iniciou-se a pesquisa por produtos que penetrassem na planta e erradicassem patógenos após sua infecção ou protegessem partes da planta que não entraram em contato direto com o fungicida (DEKKER & GEORGOPOULOS, 1982). Kimati (1996) cita que, na década de 1960, os primeiros fungicidas sistêmicos lançados no mercado foram os benzimidazóis e carboxamidas. Expõe também que as vantagens dos sistêmicos em relação aos não sistêmicos são tão grandes que em 1980 já eram contabilizados mais de 40 princípios ativos. Entre as vantagens cita: a especificidade de ação, maior fungitoxicidade inerente, maior efeito protetor, curativo e erradicante, menor fitotoxicidade, menor dosagem e menor contaminação ambiental,

porém como desvantagem surge a possibilidade do surgimento de populações de patógenos resistentes.

Por definição, fungicidas são substâncias químicas que matam fungos (*fungus* do latim significa fungo e *caedo* significa matar), contudo uma substância química para ser fungicida não necessariamente deve matar o fungo, pois pode possuir ação fungistática e antiesporulante, e há também substâncias que não agem diretamente sobre o agente causal, mas que atuam no sistema de autodefesa da planta, como exemplo o acibenzolar metílico e o fosetil alumínio (REIS et al., 2001b).

Os fungicidas, de acordo com o seu modo de ação, podem ser classificados em sistêmicos e não sistêmicos onde os sistêmicos são absorvidos pelas raízes e folhas, translocados pelo sistema condutor da planta principalmente xilema ou transporte acropetal e os fungicidas não sistêmicos não são absorvidos e translocados dentro da planta como os protetores e os de contato (REIS et al., 2001b). Edgington et al. (1980) descrevem que fungicidas sistêmicos podem ter translocação translaminar, ou seja, sendo aplicados em uma superfície da folha serão translocados até a outra. Reis et al. (2001b) abordam a atividade translaminar como fungicidas mesostêmicos e definem como sendo produtos químicos que possuem estreita afinidade com a camada de cera, formando um depósito na superfície do órgão vegetal, sendo posteriormente redistribuídos na superfície da planta por sua fase vapor e com translocação vascular mínima ou inexistente. Como exemplo de

fungicidas mesostêmicos tem-se o grupo das estrobilurinas, descoberto em 1983.

Conforme Staub & Sozzi (1984), a primeira e talvez a mais difícil tarefa no desenvolvimento de um novo fungicida é estimar o risco inerente de resistência a um certo patógeno podendo-se, para isto, realizar-se estudos laboratoriais 'in vitro' ou 'in vivo' ou monitoramentos precoces em resultados e considerações sobre parâmetros epidemiológicos. Ghini & Kimati (2000) citam que informações sobre a ocorrência de resistência são baseadas no desempenho dos produtos e monitoramento durante o uso comercial.

Staub & Sozzi (1984) descrevem que entre os fatores de risco inerentes para o desenvolvimento de resistência (biologia do fungo, química do fungicida) são úteis para avaliar o risco de resistência para uma certa combinação fungo x fungicida, e relacionam-se ao modo bioquímico de ação, à adaptação da raça resistente, taxa de reprodução do fungo alvo, disseminação dos esporos e a duração da alta pressão de seleção em virtude de condições climáticas. E que, como fatores devidos ao manejo dos fungicidas há a duração da exposição (em gerações), presença de outros fatores de controle (misturas eficazes de produtos, resistência do hospedeiro), tamanho da população do fungo, escape e proporção da área de cultivo tratada. Segundo os autores, os fatores de risco devido ao manejo dos fungicidas podem ser minimizados pelo uso de cultivares resistentes ou práticas culturais que reduzam a pressão de

seleção da doença quando os fatores inerentes estão presentes, já que estes estão além do nosso controle.

Edgington et al. (1980) apontam para o risco de resistência dos fungicidas sistêmicos devido à toxicidade para um único sítio de ação do fungo e uma única alteração neste pode resultar em resistência ao fungicida. Conforme Ghini & Kimati (2000), diferenças estruturais que ocorrem dentro de uma classe química podem influenciar o risco de resistência mesmo existindo uma estreita ligação entre a resistência e o grupo químico de fungicidas. Os autores citam como exemplo o grupo dos fungicidas triazóis que diferem consideravelmente quanto à ocorrência de resistência para um determinado patógeno e que os diferentes fungicidas inibidores da demetilação (DMIs) apresentam diferenças no espectro de atividade.

No Brasil Ghini & Kimati (2000) apresentam relatos de ocorrência de resistência de fungos, conforme o Quadro 1.

A descrição de redução da sensibilidade e/ou resistência a fungicidas inibidores da demetilação (DMIs), em isolados provenientes de campo, descritos pela primeira vez, é apresentada por De Waard (1994), conforme Quadro 2.

Quadro 1. Relatos de ocorrência de fungos a fungicidas no Brasil (GHINI & KIMATI, 2000)

Patógeno	Hospedeiro	Fungicida	Referência
<i>Alternaria dauci</i>	cenoura	iprodiona	Fancelli & Kimati (1988)
<i>Botrytis cinerea</i>	morango	benomil	Cabrini & Kimati (1986)
	eucalipto	benomil	Ghini & Krüger (1987)
	rosa	benomil	Mosca et al. (1989)
	berinjela	benomil	Ghini (1990)
	crisântemo,	benomil	Ghini (1996)
	batata,		
	ciclame,		
violeta,			
begônia,			
pimentão			
	maçã, uva	benomil	Baldebenito-Sanhueza (comunicação pessoal)
<i>Botrytis squamosa</i>	cebola	benomil	Ghini & Kimati (1989, 1990)
<i>Cercosporidium personatum</i>	amendoim	benomil	Mariotto (1985)
<i>Colletotrichum fragarie</i>	morango	benomil	Tanaka et al. (1997)
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	eucalipto	benomil	Alfenas et al. (1988)
<i>Drechslera teres</i>	cevada	triadimenol	Reis et al. (1997)
<i>Fusarium subglutinam</i> f. sp. <i>ananas</i>	abacaxi	benomil	Santos et al. (1999)
<i>Fusarium solani</i>	abacaxi	benomil	Dianese et al. (1982)
<i>Guinardia citricarpa</i>	citros	benomil	Martins et al. (1998)
<i>Glomerella cingulata</i>	maçã	benomil	Fortes (1985)
<i>Monilinia fructicola</i>	pêssego	benomil	Fortes & Ferreira (1985)
<i>Mycosphaerella fragarie</i>	morango	Benomil, tiofanato	Remiro & Kimati (1974)
<i>Penicillium</i> sp.	maçã	benomil	Fortes (1985)
<i>Phytophthora infestans</i>	batata	metalaxil	Dados não publicados
<i>Plasmopara viticola</i>	uva	metalaxil	Nogueira et al. (1988)
<i>Venturia inaequalis</i>	maçã	benomil	Valdebenito-Sanhueza (comunicação pessoal)
		dodine e IBE*	Valdebenito-Sanhueza (comunicação pessoal)

*Redução de sensibilidade sem perda de controle no campo.

Quadro 2. Lista cronológica de relatos na redução de sensibilidade e/ou resistência de campo a fungicidas IDM em patógenos de plantas (DE WAARD, 1994)

Patógeno	Hospedeiro	Autores
<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>hordei</i>	Centeio	Fletcher & Wolfe (1981)
<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	Pepino	Schepers (1983)
<i>Pyrenophora teres</i>	Centeio	Sheridan et al. (1985)
<i>Venturia inaequalis</i>	Maçã	Stanis & Jones (1985)
<i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	Trigo	De Waard et al. (1986)
<i>Rhynchosporium secalis</i>	Centeio	Hunter et al. (1986)
<i>Penicillium digitatum</i>	Citrus	Eckert (1987)
<i>Uncinula necator</i>	Videira	Steva et al. (1990)
<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i>	Trigo	Leroux & Marchegay (1991)
<i>Botrytis cinerea</i>	Hortaliças	Elad (1992)
<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	Banana	anônimo (1992)
<i>Puccinia horiana</i>	Crisântemo	Cevat (1992)
<i>Septoria tritici</i>	Trigo	Hollomon (comunicação pessoal, 1993)

Maringoni & Barros (2002) relatam a ocorrência de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav. com resistência cruzada aos fungicidas do grupo dos benzimidazóis, no Estado de São Paulo.

McGrath & Shishkoff (2003) fazem o primeiro relato de resistência a fungicidas do grupo das estrobilurinas em cucurbitáceas nos Estados Unidos para oídio, causada por *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & N. Shishkoff, onde observaram, no ano de 2002, redução drástica no controle da doença em vários locais onde houve predominância ou exclusividade de uso de estrobilurinas.

Hollomon (2006) cita a situação da resistência a estrobilurinas em trigo para *Blumeria graminis* DC. Speer f. sp. *tritici* Marchal na Europa, em cevada para *Blumeria graminis* DC. Speer f. sp. *hordei* Marchal na Escócia, em abobrinha para *S. fuliginia* na Ásia e Espanha, em abobrinha para *Pseudoperonospora cubensis* (Berk et Curtis) Rostowzew no Japão, para *P. viticola*, míldio da videira, na França e Itália, para *M. fijiensis*, sigatoka negra da bananeira na Costa Rica e para *V. inaequalis*, sarna da macieira, na Alemanha.

De acordo com Dekker (1972), organismos resistentes são aqueles que exibem redução da sensibilidade para um produto tóxico, por exemplo, um fungo que não tem seu desenvolvimento reduzido ou inibido em concentrações de um produto onde se verificava inibição para outros fungos ou outras raças do mesmo. Cita ainda que, deve-se considerar que pode existir uma resistência natural existente em uma população, espécie, família, classe ou ordem de um fungo, ou resistência adquirida em raças de uma espécie normalmente sensível.

Ghini & Kimati (2000) sugerem que os termos tolerância e insensibilidade não sejam usados como sinônimo de resistência. Tolerância nem sempre envolve alterações genéticas e o termo insensibilidade sugere completa falta de sensibilidade sendo assim, na prática raramente poderia ser utilizado, entretanto pode-se usá-lo para designar fungos para os quais o fungicida nunca teve nenhum efeito. Explicam ainda que, a resistência cruzada refere-se à resistência apresentada pelo mesmo fator genético a dois ou mais fungicidas e que

não deve ser confundida com resistência múltipla, na qual diferentes fatores genéticos coordenam a resistência a dois ou mais fungicidas, implicando nesse caso que os fungicidas possuam diferentes modos de ação.

Edgington et al. (1971) classificaram a sensibilidade de fungos a fungicidas seguindo o seguinte critério: insensíveis se a $DE_{50} \geq 50$ ppm; moderadamente sensíveis se a DE_{50} estiver entre 1 e 10 ppm; altamente sensíveis se a $DE_{50} < 1$ ppm, sendo DE_{50} definido como a concentração do ingrediente ativo capaz de inibir em 50 % do crescimento miceliano do isolado.

De acordo com Sharvelle (1961) a DL_{50} corresponde à dose letal capaz de inibir 50 % dos esporos viáveis de um fungo. Segundo Torgeson (1967) a determinação de valores da DE_{50} (dose efetiva onde 50 % dos esporos morrem) e DE_{95} é comum e usada para descrever a potência de um fungicida. Para Hassal (1990) a DE_{50} é um índice mais sensível de toxicidade que outra dose e é usualmente adotada como um padrão de comparação da toxicidade de uma substância.

Segundo Ghini & Kimati (2000) não é tão fácil classificar a linhagem como sensível ou resistente se não for identificado um padrão de sensibilidade antes do uso em larga escala do fungicida. Os autores explicam que a resistência a fungicidas é controlada geneticamente e o seu surgimento pode ser visto como um processo evolutivo para garantir a sobrevivência do fitopatógeno quando em condições adversas, como a aplicação de fungicidas.

Gergopoulos (1982) descreve que, como regra vários genes (resistência poligênica ou quantitativa) controlam a sensibilidade para um mesmo fungicida ou grupo de fungicidas e, segundo Ghini & Kimati (2000) o conhecimento do tipo de herança genética envolvida é fundamental para avaliações do risco de resistência e desenvolvimento de estratégias de controle.

CAPÍTULO I

ETIOLOGIA DOS AGENTES CAUSAIS DE MANCHAS FOLIARES EM AMOSTRAS DE FOLHAS DE TRIGO

ROSEANA EDA STOLTE¹ e ERLEI MELO REIS²

RESUMO – As manchas foliares do trigo podem causar danos na cultura de até 80 %. Entre os agentes causais cita-se *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis* e *Septoria nodorum*. Este trabalho objetivou identificar os fungos agentes causais de manchas foliares de trigo da região de Castro, PR, enviadas ao Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo pela Fundação ABC no período de 2003 a 2005. Foram analisadas oito amostras do ano de 2003, 23 do ano de 2004 e 28 do ano de 2005 que foram avaliadas em meio de cultura Batata Sacarose Ágar (2003) e em câmara úmida (2004 e 2005) após sete dias de incubação em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Os postulados de Koch foram seguidos para um isolado de *D. tritici-repentis* e de *B. sorokiniana*, inoculando-os em aveia e trigo. Foram também, realizadas mensurações de conídios de dois isolados de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis*, produzidos em meios de cultura Batata Dextrose Ágar e suco V8, respectivamente. Constatou-

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

se a incidência de *D. tritici-repentis* em todas as amostras que variou em frequência de 64,3 a 100 % e incidência média de 6,9 a 35,2 %. Verificou-se apenas a ocorrência dos gêneros *Bipolaris* e *Drechslera* nas amostras avaliadas e a predominância de *D. tritici-repentis*. Para os postulados de Koch, confirmou-se a patogenicidade de *B. sorokiniana* em aveia e trigo e de *D. tritici-repentis* em trigo. Os sintomas produzidos, semelhantes aos descritos na literatura confirmaram os agentes causais. As mensurações dos conídios de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis* apresentaram valores de comprimento, largura e número de pseudoseptos semelhantes às descrições de literatura.

Palavras-chave: *Bipolaris*, *Drechslera*, conídios, incidência.

ETHIOLOGY OF CAUSAL AGENTS OF WHEAT LEAF SPOTS IN WHEAT SAMPLES

ABSTRACT – Wheat leaf spots may cause damage to the crop up to 80 %. Among the causal agents are related *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis* and *Septoria nodorum*. The goal of this work was to identify the fungi causal agents of wheat leaf spots in the region of Castro, Paraná, sent to the “Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo” by “Fundação ABC” in the period of 2003 to 2005 growing seasons. In 2003 growing season were analyzed eight samples,

23 in 2004 and 28 for the year 2005. The study was conducted by isolations in culture medium of Potato Sucrose Agar (2003) and in moist chamber (2004 and 2005). After seven days of incubation in a growth room at the temperature of 25 ± 2 °C and photoperiod of 12 hours. Koch's postulates were followed with one isolate of *D. tritici-repentis* and of *B. sorokiniana*, inoculated in oats and wheat. It was also measured the spores size of the two isolates of *B. sorokiniana* and of *D. tritici-repentis*, grown on Potato Dextrose Agar and V8 juice, respectively. It was found an incidence of *D. tritici-repentis* in all samples varying in frequency of 64.3 to 100.0 % and a mean incidence of 6.9 to 35.2 %. It was detected in the samples just the presence of the genera *Bipolaris* and *Drechslera* with the dominance of *D. tritici-repentis*. Considering the Koch's postulates it was confirmed the pathogenicity *B. sorokiniana* in oats and wheat and of *D. tritici-repentis* to wheat and based on symptoms, similar to those described in the literature, confirmed the causal agents. The measurements of conidia of *B. sorokiniana* and of *D. tritici-repentis* showed values of length, width and pseudosepta similar to those described in the literature.

Key-words: *Bipolaris*, *Drechslera*, conidia, incidence.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) pode sofrer danos decorrentes de doenças e nos últimos anos principalmente no Rio Grande do Sul, verificou-se o aumento na ocorrência de manchas foliares, que podem causar danos de 38 a 80 % (FORCELINI, 2005).

A predominância dos patógenos causadores de manchas foliares em trigo segue uma definição espacial de ocorrência mais ou menos definida. Assim, a mancha marrom causada por *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem. predomina nas regiões mais quentes, como nos estados do Paraná, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais e no Rio Grande do Sul na região das Missões. A mancha amarela da folha do trigo, causada por *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker ocorre em todas as regiões tritícolas. *Stagonospora nodorum* (Berk.) Cast. & Germ. predomina no planalto médio do Rio Grande do Sul e *Septoria tritici* Rob. Ex. Desm. ocorre com menor frequência e em anos com prolongado período de molhamento foliar associado à temperaturas amenas e monocultivo de trigo (REIS et al., 2001a). A brusone do trigo, causada por *Pyricularia grisea* Cav., que apesar de ter seu sintoma principal em espigas pode provocar manchas foliares elípticas, ocorre principalmente no norte do Paraná, sul de São Paulo e Mato Grosso do Sul (REIS et al., 1997).

Picinini et al. (1996) relatam a ocorrência de oídio, ferrugem da folha, septoriose da gluma e a mancha amarela em ensaios avaliados

no período de 1981 a 1992, na Embrapa-Trigo, Passo Fundo, RS. Conforme Soares & Castro (2003), a avaliação em cultivares do Ensaio Estadual e linhagens do Ensaio Regional de trigo no Rio Grande do Sul, no ano de 2002, indicou que tanto as cultivares como as linhagens apresentam maior suscetibilidade às manchas foliares do que ao oídio e à ferrugem da folha.

O presente trabalho teve por objetivo quantificar a incidência e identificar os fungos causadores de manchas foliares em amostras de folhas de trigo enviadas pela Fundação ABC, localizada em Castro, PR, ao laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo nos anos de 2003, 2004 e 2005.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Identificação dos agentes causais de manchas foliares: amostras de folhas de trigo com sintomas de manchas foliares oriundas da Fundação ABC, localizada em Castro-PR, recebidas pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo nos anos de 2003, 2004 e 2005 foram analisadas. As amostras referentes ao ano de 2003 possuíam registro de coleta na data de 14-10-2003, com a identificação: amostra 01 – cultivar Avante; amostra 02 – cultivar BRS 208; amostra 03 – cultivar Ônix; amostra 04 – cultivar ORL 99006; amostra 05 – cultivar CD 108; amostra 06 – cultivar CD 105; amostra 07 – cultivar Fundacep 36 e amostra 08 – cultivar Alcover. Em abril do ano de 2004 foram cortados

fragmentos das lesões, com aproximadamente 3 x 3 mm. Para o isolamento, inicialmente os fragmentos foram imersos em solução contendo álcool 99 %, lavados ligeiramente em água destilada e após desinfestados com hipoclorito de sódio (1 %) por dois minutos, lavando-os novamente em água destilada para retirar resíduos de hipoclorito. Foram plaqueados cinco fragmentos por placa, em 20 placas de Petri, totalizando 100 fragmentos em meio de cultura Batata Sacarose Ágar (BSA). A incubação foi feita em ambiente controlado, com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas, em prateleiras com três lâmpadas fluorescentes luz do dia especial de 40 W de potência, localizadas 50 cm acima das placas, sendo as placas de Petri dispostas de maneira casualizada. A avaliação foi feita após 7 dias, em microscópio estereoscópico, avaliando-se a incidência e a identificação do fungo pelas características da colônia e/ou dos esporos.

Para as amostras recebidas no ano de 2004 e 2005 o procedimento para a identificação foi semelhante ao das amostras de 2003, porém discos de 0,7 cm de diâmetro das lesões foram colocados em câmara úmida, em gerbox com papel filtro e espuma umedecidos em água destilada e esterilizada. As amostras de 2004 continham a seguinte identificação: 01 – BRS 220; 02 – CD 112; 03 – CD 111; 04 – CD 110; 05 – BRS 210; 06 – ALCOVER; 07 – OR 1; 08 – IPR 110; 09 – IPR 118; 10 – BR 18; 11 – CD 108; 12 – AVANTE; 13 – BRS 177; 14 – BRS 208; 15 – IAPAR 78; 16 – IAC 370; 17 – IPR 109; 18 – IAC 364; 19 – CD

105; 20 – IPR 87; 21 – IAC 24; 22 – ÔNIX e 23 – CD 104. As amostras recebidas em 2005 possuíam apenas identificação numérica de 01 a 28.

Postulados de Koch: os postulados de Koch foram seguidos para um isolado de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis*. Foram preparadas suspensões de conídios de *B. sorokiniana* (aproximadamente 20.000 esporos. mL⁻¹) e de micélio de *D. tritici-repentis*, pela dificuldade de esporulação em meio de cultura desse fungo. O inóculo utilizado apresentava sete dias de crescimento em meio Batata Sacarose Ágar (BSA) onde, para *B. sorokiniana* foi escolhido o isolado da amostra BRS 220 (amostra de 2004) e para *D. tritici-repentis* o isolado da amostra 8-Alcover (amostra de 2003). A inoculação dos patógenos foi realizada em aveia (cultivar UPFA 20 – Teixerinha) e trigo (cultivar BR 23) cultivados em vasos e mantidos em ambiente com temperatura de 23 °C e fotoperíodo de 12 horas oferecido por lâmpadas fluorescentes luz do dia especial com 40 W de potência. A unidade experimental foi representada por um vaso com cinco plantas e com quatro repetições. Logo após a inoculação, as plantas permaneceram cobertas com um saco plástico por 24 horas para mantê-las com molhamento suficiente para favorecer a infecção. Após duas semanas foi realizada a avaliação do número de lesões.folha⁻¹, avaliando-se 10 folhas de cada vaso, com presença dos sintomas do patógeno. Das manchas foliares, 25 discos de 0,7 cm de diâmetro foram colocados em gerbox contendo espuma sintética e papel filtro umedecidos. Após cinco dias foram avaliados em microscópio

estereoscópico para a identificação e quantificação da incidência do agente causal.

Foram mensurados, em microscópio ótico com ocular com graduação micrométrica, 150 conídios de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis*, de colônias em meio BDA e V8 (suco V8 – Vegetable 8), respectivamente, quanto ao comprimento, à largura e ao número de pseudoseptos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Incidência dos agentes causais de manchas foliares: a avaliação das amostras referentes ao ano de 2003 (Tabela 1) apresentou incidência de *D. tritici-repentis* de 2 a 18 % (média de 6,9 %). As amostras do ano de 2004 (Tabela 2) apresentaram incidência de *B. sorokiniana* entre 0 e 7 % (média de 1,6 %) e de *D. tritici-repentis* entre 17 e 68 % (média de 35,2 %). Entre as amostras analisadas no ano de 2005 (Tabela 3) verificou-se a presença de *B. sorokiniana* em incidência de 0 a 36 % (média de 5,9 %), *D. tritici-repentis* em incidência de 0 a 26 % (média de 8,8 %), *Bipolaris sp.* de 0 a 8 % (média de 2,2 %) e *Drechslera sp* de 0 a 20 % (média de 4,0 %).

Tabela 1. Incidência e frequência de fungos isolados de manchas foliares do trigo em amostras da Fundação ABC, Castro, PR, no ano de 2003

Amostra	<i>Drechslera</i>
	<i>tritici-repentis</i>
	%
01	18
02	10
03	2
04	4
05	5
06	6
07	3
08	7
Média	6,9
Frequência	100

Tabela 2. Incidência e frequência de fungos isolados de manchas foliares do trigo em amostras da Fundação ABC, Castro, PR, no ano de 2004

Amostra	<i>Drechslera</i>	<i>Bipolaris</i>
	<i>tritici-repentis</i>	<i>sorokiniana</i>
	%	
01	48	5
02	31	4
03	42	3
04	27	1
05	47	0
06	31	0
07	22	0
08	68	5
09	34	7
10	39	2
11	27	2
12	30	0
13	24	0
14	23	1
15	42	1
16	40	1
17	43	2
18	17	0
19	22	0
20	21	0
21	36	0
22	47	2
23	48	0
Média	35,2	1,6
Frequência	100	56,5

Tabela 3. Incidência e frequência de fungos isolados de manchas foliares do trigo em amostras da Fundação ABC, Castro, PR, no ano de 2005

Amostra	<i>Drechslera</i>	<i>Drechslera</i> sp.	<i>Bipolaris</i>	<i>Bipolaris</i> sp.
	<i>tritici-repentis</i>	% <i>sorokiniana</i>		
01	22	0	32	0
02	16	0	16	0
03	18	2	36	0
04	22	4	14	0
05	16	0	2	2
06	24	0	10	0
07	26	0	8	6
08	6	2	10	8
09	20	4	10	4
10	8	0	0	2
11	0	0	0	0
12	0	2	0	6
13	0	0	0	4
14	12	2	0	4
15	14	2	0	6
16	14	0	0	2
17	4	4	0	4
18	0	0	0	2
19	0	0	0	5
20	0	0	0	4
21	0	3	0	0
22	0	8	4	0
23	0	4	0	0
24	2	8	2	0
25	2	2	4	4
26	4	10	10	0
27	16	20	4	0
28	0	10	4	0
Média	8,9	4,0	5,9	2,2
Frequência	64,3	57,1	53,6	53,6

Os valores obtidos dos resultados de incidência de manchas foliares nas amostras analisadas indicam a predominância dos gêneros *Drechslera* e *Bipolaris*. Na amostra referente ao ano de 2003 apenas *D. tritici-repentis* foi detectada conduzindo à suspeita de que poderia existir resistência do fungo aos fungicidas empregados nas lavouras de trigo.

As amostras do ano de 2004 apresentaram incidência e frequência superiores de *D. tritici-repentis* a *B. sorokiniana* (Tabela 2), indicando novamente que haveria possibilidade de *D. tritici-repentis* não estar sendo controlada pelos fungicidas.

Na avaliação das amostras correspondentes ao ano de 2005 (Tabela 3) verificou-se a presença de uma outra espécie de *Drechslera* que, pela dificuldade de produção de conídios em meio artificial, não foi mensurada, mas visualmente apresentava tamanho de conídios inferiores aos de *D. tritici-repentis*. A maior frequência e incidência nas amostras analisadas foi de *D. tritici-repentis*, houve maior incidência de *B. sorokiniana* que no ano de 2004 e apenas os gêneros *Drechslera* e *Bipolaris* foram encontrados.

Informações referentes ao número de aplicações, época, produtos e dosagens, em qualquer das amostras recebidas e analisadas, não foram repassadas e, portanto não há como discutí-las no presente trabalho.

Observou-se também que, em nenhuma das amostras analisadas foram encontrados os fungos *S. nodorum* e/ou *S. tritici* e que se pode suspeitar que esteja ocorrendo alta eficiência no controle destes fungos

pelos fungicidas utilizados em tratamento de sementes e conseqüente redução de infecção.

Postulados de Koch: o número de lesões.folha⁻¹ em aveia inoculada com *B. sorokiniana* variou de 2,2 a 7,6 (média de 4,1) e para *D. tritici-repentis* não houve nenhuma lesão. Em trigo, a inoculação com *B. sorokiniana* resultou em 7,0 a 27,9 lesões.folha⁻¹ (média de 13,6) e para *D. tritici-repentis* a variação foi de 1,3 a 2,8 (média de 1,75) lesões.folha⁻¹. O resultado para a câmara úmida apresentou 100 % de esporulação de *B. sorokiniana* e 44 % de *D. tritici-repentis*, nas lesões correspondentes a cada fungo. Os sintomas observados foram semelhantes aos descritos na literatura com manchas marrom escuras de formato elíptico para *B. sorokiniana* e manchas inicialmente cloróticas, passando a amarelas com o passar do tempo, elípticas, para *D. tritici-repentis* (REIS et al., 2001a).

Os resultados das inoculações confirmam a patogenicidade de *B. sorokiniana* em trigo e aveia e de *D. tritici-repentis* em trigo. Os baixos valores de lesões.folha⁻¹ de *D. tritici-repentis* podem ser devidos ao predomínio de micélio na suspensão inoculada e não de conídios.

Os valores da mensuração dos conídios de *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis* constam na Tabela 4. A morfologia dos conídios de *B. sorokiniana* quanto ao comprimento, largura e número de pseudoseptos foi semelhante à descrita por Barba et al. (2004) em meio de cultura BDA, que descreve o comprimento de 29 a 100 (média de 65,3) µm, a

largura de 15 a 28 (média de 22,8) μm e o número de pseudoseptos de 1 a 8 (média de 4,8). Para *D. tritici-repentis* semelhanças à descrição de Ellis (1971) para o comprimento dos conídios (80 a 250 μm) e a de Wiese (1987) para a largura (12 a 21 μm). O número de pseudoseptos encontrados (2 a 13) possui um limite superior maior que o descrito por Ellis (1971) (1 a 9) e por Wiese (1987) (4 a 7). Segundo Barba et al. (2004), o comprimento, a largura e o número de pseudoseptos, além de outras características não mensuráveis (forma e coloração) dos conídios de *B. sorokiniana*, são afetados por diferentes substratos como, por exemplo, meio de cultura Batata Dextrose Ágar, meio de suco V8, folhas, sementes, etc.

Santos et al. (2002) encontraram diversidade genética entre isolados de *D. tritici-repentis* de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, entretanto sem possibilidade de estabelecer relação entre a diversidade e o local de coleta das amostras. Massola Jr. & Bedendo (1993) verificaram diferenças na morfologia de conídios de *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker quando em diferentes meios de cultura. Assim, pequenas diferenças entre as mensurações de conídios são verificadas na literatura e pode-se considerar normal dados os fatores que podem influenciar nas características dos conídios.

Tabela 4 – Comprimento, largura e número de pseudoseptos de *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*, isolados 1 e 2

Isolado	Comprimento ¹	Largura ¹	Pseudoseptos ¹
	µm		(n°)
B.s. 1	20,0 – 97,5 (61,8)	12,5 – 27,5 (20,8)	2 – 9 (5,1)
B.s. 2	20,0 – 102,5 (61,0)	12,5 – 27,5 (20,5)	1 – 9 (5,3)
D.t.r. 1	70,0 – 270,0 (162,9)	10,0 – 25,0 (15,8)	3 – 13 (6,8)
D.t.r.2	70,0 – 260,0 (163,4)	11,0 – 23,0 (14,3)	2 – 12 (7,1)

1 = Limite inferior, superior e média

B.s. 1 = *Bipolaris sorokiniana*, isolado 1; B.s. 2 = *Bipolaris sorokiniana*, isolado 2; D.t.r. 1 = *Drechslera tritici-repentis*, isolado1; D.t.r. 2 = *Drechslera tritici-repentis*, isolado 2.

4 CONCLUSÕES

As manchas foliares em trigo presentes em amostras referentes aos anos de 2003, 2004 e 2005, procedentes da região de Castro, PR, foram causadas pelos fungos dos gêneros *Drechslera* e *Bipolaris*, havendo predominância de *D. tritici-repentis*.

Não houve a presença em nenhuma das amostras analisadas nos anos de 2003 a 2005, procedentes de Castro, PR, dos fungos *S. nodorum* e/ou *S. tritici*, também causadores de manchas foliares em trigo.

Observou-se a incidência, no ano de 2005, de *Drechslera sp.* que apresentou conídios visivelmente menores que os de *D. tritici-repentis* e que não foi mensurada pela dificuldade de produção de

conídios em meios artificiais. Recomenda-se a realização de estudos de identificação, patogenicidade e ocorrência nos próximos cultivos dessa espécie de *Drechslera*.

Os resultados obtidos pela realização dos postulados de Koch confirmam as espécies e a patogenicidade de *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*.

CAPÍTULO II

SENSIBILIDADE MICELIANA DE ISOLADOS DE *Bipolaris sorokiniana* E DE *Drechslera tritici-repentis* A FUNGICIDAS ‘IN VITRO’

ROSEANA EDA STOLTE¹ e ERLEI MELO REIS²

RESUMO: Os fungos *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*, agentes causais de manchas foliares em trigo e que podem causar danos superiores a 30 % e de 13 a 59 %, respectivamente, são controlados principalmente pela aplicação de fungicidas do grupo dos triazóis em órgãos aéreos. Na região de Castro, PR, nas últimas três safras verificou-se baixa eficiência do controle sugerindo a hipótese de que poderia ser devido à resistência dos fungos aos fungicidas, principalmente da mancha amarela da folha do trigo causada por *D. tritici-repentis*. Para esclarecer a suspeita realizou-se um ensaio para testar a sensibilidade miceliana de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis* a fungicidas ‘in vitro’, dos isolados suspeitos e, para comparação, isolados de região onde o problema não foi verificado. A avaliação do crescimento miceliano foi realizada colocando-se discos de micélio dos isolados em placas de Petri contendo concentrações de fungicida de 0, 0,1, 1, 10 e 100 ppm dos

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

princípios ativos azoxistrobina, ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, procloraz, propiconazole, tebuconazole e triadimenol. Os resultados da porcentagem de inibição do crescimento miceliano foram submetidos à análise de regressão logarítmica e calculada a dose efetiva capaz de inibir 50 % do crescimento miceliano (DE₅₀). O ensaio foi realizado duas vezes em ambiente com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, em delineamento experimental inteiramente casualizado e com três repetições. Os resultados mostraram variação em sensibilidade para os isolados de *B. sorokiniana* desde altamente sensíveis à resistentes. A resistência foi observada apenas para o princípio ativo azoxistrobina. Os isolados de *D. tritici-repentis* apresentaram-se altamente sensíveis aos fungicidas testados com alteração apenas para o flutriafol e o triadimenol que apresentaram valor da DE₅₀ que pode classificá-los como moderada e baixa fungitoxicidade, respectivamente. A suspeita de resistência do fungo *D. tritici-repentis* não foi confirmada para as amostras analisadas.

Palavras-chave: Mancha foliar, trigo, micélio, resistência.

**MYCELIAL SENSITIVITY OF ISOLATES OF *Bipolaris sorokiniana* AND OF *Drechslera tritici-repentis* TO FUNGICIDES
'IN VITRO'**

ABSTRAC: The fungi *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis*, causal agents of wheat leaf spots may cause damage higher than 30 % and of 13 to 59 %, respectively. The diseases caused are controlled mainly by the application of fungicides of the triazole group on the above ground plant parts. In the region of Castro, Paraná, in the last three growing seasons it was noticed the low controll efficiency suggesting the hypothesis that resistance to the fungicides might be involved, especially to wheat yellow spot caused by *D. tritici-repentis*. To clarify this fact, an experiment to test the mycelial sensitivity of *B. sorokiniana* and of *D. tritici-repentis* to fungicides 'in vitro', with the suspected isolates, and for comparison, isolates from the region where the problem was not noticed, was conducted. The assessment of mycelial growth was performed by placing mycelial plugs of the isolates in Petri dishes containing concentrations of the fungicides of 0, 0.1, 1.0, 10.0 and 100.0 ppm of the following active ingredients: azoxystrobin, cyproconazol, epoxiconazol, flutriafol, metconazol, procloraz, propiconazol, tebuconazol and triadimenol. Data of the mycelial inhibition percent were submitted to logarithmic regression analysis and with the formula calculated the effective dose (ED₅₀) able to inhibit 50 % of the mycelial growth. The experiment was replicated two times in environment with temperature of 25 ± 2 °C and photoperiod of 12 hours and in a complete randomized

experimental design with three replications. Results showed a variation in sensitivity for the isolates of *B. sorokiniana* since highly sensitive to resistant. Resistance was noticed just for the active ingredient azoxystrobin. The isolates of *D. tritici-repentis* showed to be highly sensitive to the tested fungicides with alterations just for flutriafol and triadimenol which showed a ED₅₀ value that may classify them as moderate to low fungitoxicity, respectively. In this work was not confirmed the suspicion that an isolate of the fungus *D. tritici-repentis* from farms in the region of Castro, PR is resistant to triazol fungicides.

Key-words: Leaf spot, wheat, mycelium, resistant.

1 INTRODUÇÃO

O trigo no Brasil é uma das poucas culturas que esteve presente desde o início da colonização do país e em quase cinco séculos de história teve fases de expansão e de retração sendo que nas últimas décadas o avanço da triticultura brasileira tem seu mérito na pesquisa científica (MUNDSTOCK, 1999).

Entre os fatores que afetam a produção do trigo estão as doenças causadas principalmente por fungos, entre eles os causadores de manchas foliares, alvo de preocupação dos produtores e também dos pesquisadores devido aos danos que podem causar à cultura se não forem devidamente controlados.

Para *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem., fungo que causa a mancha amarela da folha do trigo, Rees & Platz (1983), na Austrália, relatam danos devido à doença de 13 a 48 % e Picinini & Fernandes (1992) verificaram danos de 46 a 59 %. A mancha marrom, causada por *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem., segundo Oliveira & Gomes (1984) pode causar danos superiores a 30 %.

O controle químico, em órgãos aéreos, das manchas foliares, causadas principalmente por *B. sorokiniana*, *D. tritici-repentis*, *Stagonospora nodorum* (Berk.) Cast. & Germ. e *Septoria tritici* Rob. Ex. Desm., o uso de sementes saudáveis, o tratamento de sementes com produtos e doses eficientes e a rotação de culturas são medidas que, associadas, visam reduzir o inóculo primário, retardando o aparecimento dos fungos

causadores das manchas foliares na lavoura, mesmo em cultivares suscetíveis e em anos de condições climáticas adversas (INDICAÇÕES, 2005).

De acordo com Silva¹ (informação verbal), observou-se nas últimas três safras dificuldade no controle de manchas foliares em trigo na região de abrangência da Fundação ABC, localizada em Castro, estado do Paraná. Mesmo com três ou quatro aplicações de fungicidas do grupo dos triazóis o controle não foi satisfatório. A hipótese de resistência ou perda de sensibilidade de fungos causadores de manchas foliares em trigo originou a necessidade da realização de um trabalho que esclarecesse essa suspeita.

Os fungicidas triazóis são fungicidas que agem na inibição da síntese de esteróis (REIS et al., 2001b). Conforme De Waard (1994), a avaliação da resistência aos fungicidas inibidores de esteróis é difícil visto que o nível de resistência é frequentemente baixo e o seu desenvolvimento só será detectado quando há estudos prévios que ofereçam valores de referência.

Assim, o objetivo desse trabalho foi testar 'in vitro' a sensibilidade miceliana de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis* isolados de amostras de folhas de trigo com manchas foliares, da região de Castro - PR, a fungicidas.

¹ SILVA, OLAVO CORRÊA da Fundação ABC, Castro, PR.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo no período de abril de 2004 a março de 2006.

Para a avaliação do crescimento miceliano e da sensibilidade de isolados de *D. tritici-repentis* e de *B. sorokiniana* a fungicidas ‘in vitro’ foram utilizados dois isolados de ambos os fungos. Um dos isolados foi, hipoteticamente, considerado sensível (C. S.), ou Isolado 1, e o outro suspeito de insensibilidade (S. I.), ou Isolado 2, a fungicidas. O critério para estabelecer a hipótese foi a de que os isolados S. I. provinham de local com sucessivas aplicações de fungicidas do grupo dos triazóis. Os isolados C. S. procederam de locais com reduzido número de aplicação de fungicidas. Assim, o Isolado 1 de *D. tritici-repentis* foi obtido de folhas de trigo com manchas foliares, cultivar Ônix, proveniente da Argentina e o Isolado 2 procedeu de amostra enviada pela Fundação ABC, município de Castro – PR, cultivar Alcover. Para o fungo *B. sorokiniana*, o Isolado 1 procedeu de sementes de trigo do município de Itaiópolis – SC, cultivar não identificado, e o Isolado 2 de amostras de folhas de trigo provenientes da Fundação ABC, cultivar BRS 220. Culturas puras dos isolados selecionados foram preservadas em tubo de ensaio com meio Batata Sacarose Ágar (BSA) e também em meio seletivo de Reis (REIS, 1983a), em refrigerador à temperatura de 4 °C.

Cinco concentrações de fungicidas foram utilizadas nos ensaios: 0, 0,1, 1,0, 10,0 e 100 ppm (parte por milhão) de princípio ativo de cada fungicida testado. A concentração 0 ppm representou a testemunha do ensaio. Foram preparadas soluções estoques em balões volumétricos contendo volume final de 100 mL e a partir destas foram acrescentados os volumes necessários ao meio de cultura BDA fundente para que as concentrações requeridas fossem satisfeitas. Após a adição da solução fungicida ao meio, este foi cuidadosamente agitado para a homogeneização e vertido em placas de Petri esterilizadas.

Os fungicidas testados foram: azoxistrobina 25 % SC (Priori); ciproconazole 10 % SC (Alto 100); epoxiconazole 12,5 % CE (Opus); flutriafol 12,5 % SC (Impact); metconazole 9 % SL (Caramba 90); procloraz 45 % CE (Sportak 450); propiconazole 25 % CE (Tilt); tebuconazole 20 % CE (Folicur) e triadimenol 25% CE (Bayfidan). Os fungicidas testados são recomendados para o controle de manchas foliares em trigo (INDICAÇÕES, 2005).

No dia seguinte ao preparo dos meios de cultura, discos de micélio de cada isolado de *D. tritici-repentis* e de *B. sorokiniana*, medindo 0,64 cm de diâmetro, retiradas de colônias repicadas após sete dias de crescimento, foram colocados no centro das placas de Petri contendo as concentrações de fungicida testadas. As placas foram incubadas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 12 horas, proporcionado por três lâmpadas fluorescentes, luz do dia especial, de 40 W, posicionadas 50 cm acima das placas. O

crescimento miceliano foi avaliado diariamente com o auxílio de um paquímetro digital até que, em pelo menos em uma das placas de Petri, esse atingisse a borda.

A unidade experimental foi constituída de uma placa de Petri e as repetições foram em número de quatro.

Com os dados obtidos calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento miceliano (PICM) e realizou-se a análise de regressão não linear, logarítmica, utilizando-se o programa estatístico SAS System Version 8. A dose efetiva capaz de inibir 50 % do crescimento miceliano do fungo (DE₅₀) dos fungicidas testados, para cada isolado de *D. tritici-repentis* e *B. sorokiniana*, foi calculada pela equação gerada. O ensaio para testar a sensibilidade de *B. sorokiniana* e de *D. tritici-repentis* a fungicidas 'in vitro' foi realizado duas vezes e para distinguí-los foram chamados de Ensaio 1 e Ensaio 2.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Ensaio 1, o fungo *B. sorokiniana*, Isolado 1(Tabela 1) avaliado quanto à inibição do crescimento miceliano apresentou valores de DE₅₀ abaixo de 1,0 ppm para os princípios ativos ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, propiconazole e tebuconazole que, segundo classificação de Edgington et al. (1971), classificam-se como altamente sensíveis. Valores superiores a 1,0 ppm foram verificados para azoxistrobina (1,09 ppm), procloraz (1,26 ppm) e triadimenol (4,66 ppm),

classificando-se como moderadamente sensíveis, de acordo com Edgington et al. (1971).

O Isolado 2 (Tabela 2) apresentou valores inferiores a 1,0 ppm (altamente sensíveis) para ciproconazole, flutriafol, metconazole e tebuconazole, valores entre 1,0 e 10,0 ppm (moderadamente sensíveis) foram calculados para epoxiconazole, propiconazole e triadimenol, e acima de 50 ppm (insensível) para azoxistrobina (EDGINGTON et al., 1971). O princípio ativo procloraz teve seu valor de DE_{50} calculado em 18,38 ppm.

Para *D. tritici-repentis*, Isolado 1 (Tabela 3) e Isolado 2 (Tabela 4) valores menores que 1,0 ppm foram calculados para todos os princípios ativos testados, exceção à azoxistrobina para o Isolado 2 que não apresentou significância para a análise de regressão.

No Ensaio 2, seguindo classificação de Edgington et al. (1971), *B. sorokiniana*, Isolado 1 (Tabela 5) apresentou a DE_{50} abaixo de 1,0 ppm (altamente sensível) para ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, procloraz, propiconazole e tebuconazole, entre 1,0 e 10,0 ppm (moderadamente sensível) para triadimenol (2,03 ppm) e maior que 50 ppm (insensível) para azoxistrobina. O Isolado 2 (Tabela 6) apresentou valores inferiores a 1,0 ppm (altamente sensível) para flutriafol, metconazole, procloraz, propiconazole e tebuconazole, valores entre 1,0 e 10,0 ppm (moderadamente sensível) para ciproconazole, epoxiconazole e triadimenol e acima de 50 ppm (insensível) para azoxistrobina.

Para *D. tritici-repentis*, Isolado 1 (Tabela 7) os valores da DE₅₀ abaixo de 1,0 ppm (altamente sensível) foram calculados para azoxistrobina, ciproconazole, epoxiconazole, metconazole, procloraz, propiconazole e tebuconazole. O princípio ativo metconazole teve seu valor igual a 9,50 ppm (moderadamente sensível) e triadimenol 25,13 ppm. O Isolado 2 de *D. tritici-repentis* (Tabela 8) apresentou valores menores que 1,0 ppm (altamente sensível) para todos os princípios ativos testados.

Reis (1983b) encontrou valor da DE₅₀, para o crescimento miceliano de *B. sorokiniana*, para o fungicida propiconazole menor que 0,5 ppm. No presente trabalho os valores da DE₅₀ para o crescimento miceliano de *B. sorokiniana* para o propiconazole variaram de <0,1 a 1,02 ppm.

Hunger & Brown (1987) descrevem valores da DE₅₀ para *P. tritici-repentis*, também para o propiconazole, entre 0,012 a 0,11 ppm. Os valores para *D. tritici-repentis* aqui encontrados foram menores que 0,1 ppm.

O princípio ativo azoxistrobina apresentou resposta que pode indicar resistência, mas que, pela falta de informações sobre a exposição da população do fungo estudada ao fungicida, convém observar a descrição de Dekker (1972), o qual discute que a resistência ou tolerância pode ser manifestada por um fungo que não reduz seu desenvolvimento quando submetido a concentrações de um produto onde se verificava

inibição ou ainda que pode existir uma resistência natural em uma população.

Para os demais fungicidas testados e seguindo a classificação de Edgington et al. (1971), não se encontrou resistência para os isolados avaliados.

Em análise referente aos isolados de *D. tritici-repentis*, verifica-se que os dados gerados não confirmam a suspeita de resistência a fungicidas, lembrando que a suspeita era relacionada com os fungicidas triazóis. Com exceção de dois valores da DE₅₀ para o Isolado 1 (oriundo da Argentina e considerado sensível) no Ensaio 2, para flutriafol e triadimenol, com 9,5 e 25,13 ppm respectivamente, os valores variaram de 0,97 a <0,1 ppm, classificando-os como altamente sensíveis.

Tabela 1 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R²), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE₅₀)

Fungicida	Equação*	R ²	P	DE ₅₀ **
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 49,72 + 3,23 \text{ Ln}(x)$	77,56	< 0,01	1,09
Ciproconazole	$y = 64,79 + 6,18 \text{ Ln}(x)$	82,45	< 0,01	0,09
Epoconazole	$y = 60,45 + 5,32 \text{ Ln}(x)$	85,39	< 0,01	0,14
Flutriafol	$y = 67,09 + 6,54 \text{ Ln}(x)$	79,80	< 0,01	<0,1
Metconazole	$y = 69,81 + 6,29 \text{ Ln}(x)$	82,05	< 0,01	<0,1
Procloraz	$y = 48,81 + 5,12 \text{ Ln}(x)$	61,15	< 0,01	1,26
Propiconazole	$y = 67,28 + 5,76 \text{ Ln}(x)$	92,23	< 0,01	<0,1
Tebuconazole	$y = 79,40 + 5,73 \text{ Ln}(x)$	76,71	< 0,01	<0,1
Triadimenol	$y = 41,51 + 5,52 \text{ Ln}(x)$	48,31	0,07	4,66

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 2 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 2, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 24,43 + 1,82 \ln(x)$	42,60	0,18	>100
Ciproconazole	$y = 50,51 + 6,47 \ln(x)$	66,57	< 0,01	0,92
Epoxiconazole	$y = 45,40 + 6,35 \ln(x)$	63,15	< 0,01	2,06
Flutriafol	$y = 75,34 + 5,64 \ln(x)$	85,98	< 0,01	<0,1
Metconazole	$y = 75,40 + 6,01 \ln(x)$	89,14	< 0,01	<0,1
Procloraz	$y = 35,31 + 5,05 \ln(x)$	57,72	< 0,01	18,38
Propiconazole	$y = 49,90 + 6,36 \ln(x)$	73,41	< 0,01	1,02
Tebuconazole	$y = 74,43 + 6,29 \ln(x)$	84,43	< 0,01	<0,1
Triadimenol	$y = 41,75 + 4,96 \ln(x)$	38,20	0,37	5,27

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 3. Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Drechslera tritici-repentis*, Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	n.s.	-	7,64	-
Ciproconazole	$y = 69,36 + 2,88 \ln(x)$	25,75	2,24	<0,1
Epoxiconazole	$y = 80,99 + 3,29 \ln(x)$	53,48	0,02	<0,1
Flutriafol	$y = 61,47 + 3,80 \ln(x)$	62,64	<0,01	<0,1
Metconazole	$y = 75,72 + 3,93 \ln(x)$	64,35	<0,01	<0,1
Procloraz	$y = 78,86 + 2,50 \ln(x)$	41,04	0,23	<0,1
Propiconazole	$y = 81,74 + 3,38 \ln(x)$	54,56	0,02	<0,1
Tebuconazole	$y = 54,26 + 6,83 \ln(x)$	63,76	<0,01	0,54
Triadimenol	$y = 50,46 + 3,03 \ln(x)$	22,52	3,45	0,86

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 4 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Drechslera tritici-repentis*, Isolado 2, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	n.s.	-	10,28	-
Ciproconazole	$y = 70,67 + 1,64 \text{ Ln}(x)$	21,08	4,18	<0,1
Epoxiconazole	$y = 78,44 + 3,04 \text{ Ln}(x)$	50,66	0,04	<0,1
Flutriafol	$y = 61,42 + 5,54 \text{ Ln}(x)$	76,09	<0,01	0,13
Metconazole	$y = 76,14 + 5,24 \text{ Ln}(x)$	75,34	<0,01	<0,1
Procloraz	$y = 77,44 + 2,43 \text{ Ln}(x)$	38,18	0,37	<0,1
Propiconazole	$y = 79,41 + 3,10 \text{ Ln}(x)$	51,55	0,04	<0,1
Tebuconazole	$y = 64,72 + 5,53 \text{ Ln}(x)$	59,32	<0,01	<0,1
Triadimenol	$y = 60,55 + 5,43 \text{ Ln}(x)$	69,87	<0,01	<0,1

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 5 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 38,57 + 2,29 \text{ Ln}(x)$	46,74	0,09	>100
Ciproconazole	$y = 56,19 + 6,43 \text{ Ln}(x)$	62,58	< 0,01	0,38
Epoxiconazole	$y = 51,02 + 5,76 \text{ Ln}(x)$	59,05	< 0,01	0,84
Flutriafol	$y = 56,68 + 6,19 \text{ Ln}(x)$	85,74	< 0,01	0,34
Metconazole	$y = 68,87 + 7,03 \text{ Ln}(x)$	95,40	< 0,01	<0,1
Procloraz	$y = 58,85 + 6,00 \text{ Ln}(x)$	73,36	< 0,01	0,23
Propiconazole	$y = 65,24 + 6,57 \text{ Ln}(x)$	73,71	< 0,01	0,10
Tebuconazole	$y = 63,17 + 7,22 \text{ Ln}(x)$	84,23	< 0,01	0,16
Triadimenol	$y = 46,33 + 5,16 \text{ Ln}(x)$	76,19	<0,01	2,03

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 6. Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 30,53 + 2,20 \text{ Ln}(x)$	20,10	4,74	>100
Ciproconazole	$y = 47,02 + 5,94 \text{ Ln}(x)$	48,07	0,07	1,65
Epoxiconazole	$y = 49,16 + 5,50 \text{ Ln}(x)$	56,75	0,01	1,17
Flutriafol	$y = 58,44 + 6,08 \text{ Ln}(x)$	69,01	< 0,01	0,25
Metconazole	$y = 68,87 + 6,32 \text{ Ln}(x)$	95,59	< 0,01	<0,1
Procloraz	$y = 57,96 + 5,68 \text{ Ln}(x)$	77,61	< 0,01	0,25
Propiconazole	$y = 62,38 + 6,38 \text{ Ln}(x)$	78,58	< 0,01	0,14
Tebuconazole	$y = 62,08 + 6,12 \text{ Ln}(x)$	80,50	< 0,01	0,14
Triadimenol	$y = 48,01 + 5,26 \text{ Ln}(x)$	61,41	<0,01	1,46

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 7 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Drechslera tritici-repentis*, Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$Y = 64,93 + 4,53 \text{ Ln}(x)$	71,50	<0,01	<0,1
Ciproconazole	$y = 64,57 + 5,94 \text{ Ln}(x)$	75,18	<0,01	<0,1
Epoxiconazole	$y = 50,04 + 6,15 \text{ Ln}(x)$	65,15	<0,01	0,44
Flutriafol	$y = 36,78 + 5,87 \text{ Ln}(x)$	56,54	0,01	9,50
Metconazole	$y = 81,28 + 7,17 \text{ Ln}(x)$	88,57	<0,01	<0,1
Procloraz	$y = 79,41 + 5,77 \text{ Ln}(x)$	80,95	<0,01	<0,1
Propiconazole	$y = 79,82 + 6,27 \text{ Ln}(x)$	89,21	<0,01	<0,1
Tebuconazole	$y = 67,18 + 7,69 \text{ Ln}(x)$	89,98	<0,01	0,11
Triadimenol	$y = 33,24 + 5,20 \text{ Ln}(x)$	55,97	<0,01	25,13

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 8 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano de *Drechslera tritici-repentis*, Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 59,33 + 4,54 \text{ Ln}(x)$	81,48	<0,01	0,13
Ciproconazole	$y = 50,16 + 5,17 \text{ Ln}(x)$	65,81	<0,01	0,97
Epoxiconazole	$y = 60,46 + 5,93 \text{ Ln}(x)$	79,27	<0,01	0,17
Flutriafol	$y = 67,64 + 3,49 \text{ Ln}(x)$	46,13	0,10	<0,1
Metconazole	$y = 77,88 + 4,46 \text{ Ln}(x)$	75,64	<0,01	<0,1
Procloraz	$y = 65,88 + 5,50 \text{ Ln}(x)$	86,42	<0,01	<0,1
Propiconazole	$y = 73,66 + 6,14 \text{ Ln}(x)$	88,38	<0,01	<0,1
Tebuconazole	$y = 77,43 + 4,60 \text{ Ln}(x)$	75,91	<0,01	<0,1
Triadimenol	$y = 67,74 + 3,43 \text{ Ln}(x)$	50,42	0,05	<0,1

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

4 CONCLUSÕES

De acordo com a classificação proposta por Edgington et al. (1971) pode-se:

1. classificar o Isolado 1 de *B. sorokiniana* como altamente sensível aos princípios ativos ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, propiconazole e tebuconazole;
2. classificar o Isolado 1 de *B. sorokiniana* como alta a moderadamente sensível ao princípio ativo procloraz;
3. classificar o Isolados 1 de *B. sorokiniana* como moderadamente sensível ao princípio ativo triadimenol;

4. classificar o Isolado 1 de *B. sorokiniana* como moderadamente sensível a resistente ao princípio ativo azoxistrobina;
5. classificar o Isolado 2 de *B. sorokiniana* como resistente ao princípio ativo azoxistrobina;
6. classificar o Isolado 2 de *B. sorokiniana* como altamente sensível aos princípios ativos flutriafol, metconazole e tebuconazole;
7. classificar o Isolado 2 de *B. sorokiniana* como alta a moderadamente sensível aos princípios ativos ciproconazole e propiconazole;
8. classificar o Isolado 2 de *B. sorokiniana* como moderadamente sensível aos princípios ativos epoxiconazole e triadimenol;
9. classificar os Isolados 1 e 2 de *D. tritici-repentis* como altamente sensíveis aos princípios ativos azoxistrobina, ciproconazole, epoxiconazole, metconazole, procloraz, propiconazole e tebuconazole;
10. classificar o Isolado 1 de *D. tritici-repentis* como alta a moderadamente sensível ao princípio ativo flutriafol;
11. classificar o Isolado 2 de *D. tritici-repentis* como altamente sensível aos princípios ativos flutriafol e triadimenol;

A classificação de Edgington et al. (1971) não classifica os valores de DE_{50} maiores que 10 e menores que 50 ppm dificultando a classificação dos princípios ativos procloraz para o Isolado 2 do Ensaio 1 de *B. sorokiniana* e do triadimenol para o Isolado 1 do Ensaio 2 de *D. tritici-repentis*. Sugere-se uma classe para o intervalo acima de 10 até 50 ppm como “pouco sensível”.

A resistência de *D. tritici-repentis*, dado o seu predomínio entre os agentes causais de mancha em folha de trigo, não foi encontrada nesse trabalho.

CAPÍTULO III

SENSIBILIDADE DE *Bipolaris sorokiniana* A FUNGICIDAS 'IN VITRO' – GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS E COMPRIMENTO DO TUDO GERMINATIVO

ROSEANA EDA STOLTE¹ e ERLEI MELO REIS²

RESUMO: O fungo *Bipolaris sorokiniana* causa a mancha marrom da folha do trigo e os danos podem ser maiores que 30 %. O controle do patógeno em órgãos aéreos do trigo é realizado através de fungicidas, principalmente do grupo dos triazóis. Relatos de ineficiência do controle de manchas foliares em trigo levaram a realização de um ensaio para testar a sensibilidade de conídios de *B. sorokiniana* a fungicidas através da avaliação da germinação e do comprimento do tubo germinativo. Foram usadas suspensões de conídios de *B. sorokiniana*, isolados de manchas foliares de trigo de amostras da região de Castro, PR, suspeito de insensibilidade, e de sementes de trigo de região sem a suspeita, considerado sensível. Em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar com fungicida nas concentrações de 0, 0,1, 1, 10 e 100 ppm foram colocados 1,0 mL.placa⁻¹ da suspensão de conídios e incubados por seis horas em sala de crescimento com 25 ± 2 °C e

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

fotoperíodo de 12 horas. Os fungicidas testados foram azoxistrobina, ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, procloraz, propiconazole, tebuconazole e triadimenol. O ensaio foi inteiramente casualizado, com três repetições e realizado duas vezes. As porcentagens de inibição da germinação e do crescimento do tubo germinativo foram submetidas à análise de regressão logarítmica e calculou-se pela equação gerada a dose efetiva capaz de inibir em 50 % (DE₅₀) dos parâmetros avaliados. A germinação dos conídios de *B. sorokiniana* não foi inibida nas concentrações e para os fungicidas testados, exceção observada para o tebuconazole e o metconazole na concentração de 100 ppm. O crescimento do tubo germinativo mostrou-se altamente sensível, moderadamente sensível e resistente para o isolado 1 e altamente sensível, moderadamente sensível e pouco sensível para o isolado 2.

Palavras-chave: sensível, resistente, DE₅₀, triazóis.

SENSITIVITY OF *Bipolaris sorokiniana* TO FUNGICIDES ‘IN VITRO’ – GERMINATION OF CONIDIA AND GERM TUBE LENGTH

ABSTRACT: The fungus *Bipolaris sorokiniana* causes brown spot of wheat leaves and the damage may be higher than 30 %. Control of the pathogen in wheat above ground plant parts may be achieved through the use of fungicides, mainly those of the triazol group. Reports on the inefficient control of wheat leaf spots lead to this work to test the

sensitivity of conidia of *B. sorokiniana* to fungicides through the evaluation of germination and of germ tube length. Conidial suspension of *B. sorokiniana* isolated from wheat spots samples collected in the region of Castro, Paraná, suspected by their insensitivity, and from wheat seeds from a region without suspicion, considered sensible. Petri dishes containing the culture medium Potato Dextrose Agar supplemented with fungicide concentrations of 0.0, 0.1, 1.0, 10.0 and 100.0 ppm were seeded with 1.0 mL.plate⁻¹ of conidial suspension and incubated for six hours in a growth room with 25 ± 2 °C and photoperiod of 12 hours. The following fungicides were tested azoxystrobin, cyproconazol, epoxiconazol, flutriafol, metconazol, procloraz, propiconazol, tebuconazol and triadimenol. Experimental design was a complete randomized design with three replications. This experiment was replicated two times. Data from percent germinating inhibition and from germ tube length were submitted to logarithmic regression analysis and with the formula calculated the effective concentration able to inhibit 50 % (ED₅₀) of the assessed parameters. Germination of conidia of *B. sorokiniana* was not inhibited in the concentrations and for the tested fungicides, exception for tebuconazol and metconazol in the concentration of 100 ppm. Germ tube length showed highly sensitive, moderately sensitive and resistant for isolate 1, and highly sensitive, moderately sensitive and little sensitive for isolate 2.

Key-words: sensitive, resistant, ED₅₀, triazoles.

1 INTRODUÇÃO

O fungo *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoem. (sinônimos *H. sativum* Pammel, King & Bakke, *H. sorokinianum* Sacc. ex Sorok, *D. sorokiniana* (Sacc.) Subram. & Jain) é o agente causal da mancha marrom ou helmintosporiose e da podridão comum de raízes em trigo. Ocorre principalmente nas regiões tritícolas com clima mais quente e caracteriza-se por utilizar como substrato todos os órgãos dos cereais de inverno (REIS, 1988; REIS et al., 2001a). Plantas relatadas suscetíveis à *B. sorokiniana* são: trigo, cevada, festuca, azevém, centeio, aveias amarela, branca e preta e pensacola (DIEHL, 1983).

A infecção é favorecida por temperaturas superiores a 18 °C e com período de molhamento foliar acima de 15 horas (REIS et al., 2001a). De maneira geral, as manchas foliares são mais freqüentes e severas em lavouras onde se pratica a monocultura e o plantio direto (REIS & CARMONA, 2001) e os danos podem ser superiores a 30 % (OLIVEIRA & GOMES, 1984).

O controle envolve o uso de sementes com incidência de *B. sorokiniana* inferior a 30 %, emprego do tratamento de sementes com fungicidas em doses eficientes, rotação de culturas com espécies não suscetíveis e a aplicação de fungicidas em órgãos aéreos da planta (REIS et al., 2001a). O critério para a aplicação deve ser feito com base no Limiar de Dano Econômico (LDE), sendo calculado com base na função $R = 1000 - 5,7 I$ (R = rendimento de grãos e I = incidência foliar da

doença). A reaplicação dos fungicidas poderá ser feita quando o limiar for novamente atingido (INDICAÇÕES, 2005).

Os fungicidas recomendados para o controle de manchas foliares em trigo pertencem ao grupo dos triazóis (ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, propiconazole, tebuconazole e triadimenol), imidazol (procloraz) e estrobilurinas (azoxistrobina e trifloxistrobina). O princípio ativo trifloxistrobina recomendado é associado em mistura com tebuconazole (INDICAÇÕES, 2005).

Os fungicidas triazóis e os imidazóis possuem o mesmo mecanismo de ação, são inibidores da síntese de esteróis, e o grupo das estrobilurinas agem pela inibição da respiração mitocondrial, indisponibilizando o oxigênio para a célula (REIS et al., 2001b).

Dekker (1972) descreve que a pressão de seleção exercida sobre uma população pode promover a resistência a fungicidas devido a fatores como: quando um fungicida ou fungicidas de grupos próximos são aplicados repetidamente; quando níveis letais ou subletais de fungicidas em populações selvagens são mantidos na planta continuamente; ou quando o fungicida é usado desde uma pequena até uma grande área onde a população selvagem do fungo e sua competição é praticamente eliminada.

O reconhecimento da resistência pode ser feito pela comparação de dados entre raças de fungos resistentes e sensíveis (GEORGOPOULOS, 1982). Edgington et al. (1971) utilizam como critério para estabelecer a sensibilidade de um fungo a compostos

químicos o valor da DE_{50} (dose efetiva capaz de inibir o crescimento miceliano em 50 %). Assim, fungos que possuam DE_{50} maior ou igual a 50 ppm são considerados insensíveis, entre 1 e 10 ppm como moderadamente sensíveis e quando menor que 1 ppm como altamente sensíveis. Georgopoulos (1982) recomenda que além de avaliar-se a germinação dos esporos inclua-se a avaliação da elongação e morfologia do tubo germinativo.

De acordo com Finney (1952) apud Zadoks & Schein (1979) argumentos estatísticos mostram que a dose efetiva onde 50 % dos esporos morrem, a DE_{50} , é mais precisa para comparar a eficácia de compostos fungicidas em termos de concentração. Hassal (1990) explica que a DE_{50} é um índice mais sensível de toxicidade que outra dose qualquer e é usualmente adotada como um padrão de comparação da relativa toxicidade de uma substância, expressa por mg/kg (ou $\mu\text{g/g}$) ou parte por milhão (ppm).

Este trabalho foi realizado para avaliar o efeito dos fungicidas recomendados para o controle de manchas foliares em trigo sobre a germinação e o comprimento do tubo germinativo de *B. sorokiniana* 'in vitro'.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo no período de abril de 2004 a março de 2006.

Obtenção dos isolados: dois isolados de *B. sorokiniana* foram utilizados para o ensaio. O isolado considerado sensível foi isolado a partir de sementes de trigo infectadas, cultivar não identificado, procedentes de Itaiópolis, SC. O isolado considerado insensível foi isolado de lesões de folhas de trigo, cultivar BRS 220, procedentes da Fundação ABC, localizada em Castro, PR. Culturas puras de cada isolado foram preservadas em tubos de ensaio, em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e meio seletivo de Reis (REIS, 1983a), em refrigerador a 4 °C.

Determinação do tempo para paralisação da germinação e do crescimento dos conídios de *Bipolaris sorokiniana*: inicialmente um ensaio para a determinação do tempo necessário para a paralisação da germinação e do crescimento do tubo germinativo de *B. sorokiniana* foi realizado. Suspensão de conídios de *B. sorokiniana*, obtidos de colônias com sete dias de crescimento e concentração aproximada de 500 esporos.mL⁻¹, foi preparada e colocado 1,0 mL em cada placa de Petri, contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA). Foram testados intervalos de tempo de 2 horas, iniciando após 2 horas da adição dos esporos ao meio até 12 horas de crescimento, com quatro repetições e a

disposição das placas na sala de crescimento em delineamento experimental inteiramente casualizado. A incubação deu-se à temperatura de 25 ± 2 °C e na presença de luz (três lâmpadas fluorescentes, luz do dia especial e 40 W de potência). A paralisação do crescimento do tubo germinativo e da germinação dos esporos de *B. sorokiniana* foi realizada acrescentando-se 0,8 mL do corante Azul de Amann por placa de Petri.

A avaliação da germinação dos conídios de *B. sorokiniana* foi realizada pela contagem de 50 esporos em cada placa de Petri e expressa como porcentagem de germinação. Conforme Zadoks & Schein (1979), a germinação é o processo onde o esporo forma o tubo germinativo e o esporo é considerado germinado quando apresenta o tubo germinativo de comprimento maior ou igual ao menor diâmetro do esporo. As médias da germinação foram comparados pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Para a avaliação do comprimento do tubo germinativo, mensurou-se 50 comprimentos dessa estrutura, em cada placa de Petri, em microscópio ótico com ocular contendo graduação micrométrica. Os resultados do comprimento do tubo germinativo foram submetidos à análise de regressão linear utilizando-se o programa SAS System Version 8.

Ensaio para a determinação da sensibilidade dos conídios de *Bipolaris sorokiniana* a fungicidas, *in vitro*: foram testadas cinco

concentrações de fungicidas: 0, 0,1, 1,0, 10,0 e 100,0 ppm (partes por milhão) de princípio ativo incorporados em meio de cultura fundente. A concentração 0 ppm, ou ausência de fungicida, representou a testemunha do ensaio. Os princípios ativos foram transferidos com pipeta de vidro para um balão volumétrico contendo água destilada e esterilizada, de modo que fosse transferido 1,0 g do ingrediente ativo em volume final de 100 mL. Desta primeira solução estoque foi transferido 1,0 mL para 99,0 mL de água destilada e esterilizada, em balão volumétrico, constituindo a segunda solução estoque. A primeira solução estoque foi utilizada para atingir as concentrações de 10,0 e 100,0 ppm e a segunda solução estoque para as concentrações de 0,1 e 1,0 ppm. O meio foi agitado para a homogeneização e vertido em placas de Petri esterilizadas. A unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições.

Os fungicidas testados foram: azoxistrobina 25 % SC (Priori); ciproconazole 10 % SC (Alto 100); epoxiconazole 12,5 % CE (Opus); flutriafol 12,5 % SC (Impact); metconazole 9 % SL (Caramba 90); procloraz 45 % CE (Sportak 450); propiconazole 25 % CE (Tilt); tebuconazole 20 % CE (Folicur) e triadimenol 25 % CE (Bayfidan). Os fungicidas testados são recomendados para o controle de manchas foliares em trigo (INDICAÇÕES, 2005).

Suspensão de esporos de *B. sorokiniana* foram preparadas utilizando colônias com sete dias de crescimento, friccionando-se suavemente um pincel sobre a colônia contendo um pouco de água

destilada e esterilizada, para a remoção dos conídios. Os esporos foram transferidos para um Erlenmeyer contendo água destilada e esterilizada e a concentração de esporos foi ajustada para 500 esporos.mL⁻¹. Para o ajuste foi utilizado o método do volume da gota conhecido.

Em cada placa de Petri foi adicionado 1,0 mL da suspensão de conídios de *B. sorokiniana*. As placas foram levadas para uma sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, em regime de luz (três lâmpadas fluorescentes, luz do dia especial, 40 Watts) situadas 50 cm acima das placas de Petri. Após 6 horas o desenvolvimento foi paralisado adicionando-se 0,8 mL do corante Azul de Amann em cada placa.

Para a avaliação da sensibilidade de conídios de *B. sorokiniana* a fungicidas 'in vitro', outro critério de avaliação foi a mensuração de 50 tubos germinativos por placa de Petri, com três repetições, em microscópio ótico com ocular contendo graduação micrométrica, considerando-se germinado o tubo que possuía comprimento maior ou igual ao menor diâmetro do esporo (ZADOKS & SCHEIN, 1979).

O tubo germinativo é definido como uma hifa curta que cresce a partir do poro germinativo (abertura na parede do esporo) ou fenda germinativa (fissura longitudinal na parede do esporo) durante a germinação e que tem desenvolvimento contínuo sob condições favoráveis formando uma hifa de maior comprimento (micélio). Também representa uma nova fase assimilativa do fungo (ULLOA & HANLIN, 2000).

A porcentagem de germinação dos esporos em cada concentração dos fungicidas testados foi realizada pela contagem de 50 esporos em cada placa de Petri, com três repetições, em microscópio ótico e destes a proporção dos germinados.

Com os dados obtidos calculou-se a porcentagem de inibição do crescimento do tubo germinativo e realizou-se a análise de regressão não linear, logarítmica, utilizando-se o programa estatístico SAS System Version 8.

A dose efetiva capaz de inibir 50 % da germinação e do crescimento miceliano do fungo (DE_{50}) dos fungicidas testados, para cada isolado de *B. sorokiniana*, foi calculada pela equação gerada. O ensaio foi realizado duas vezes e para distinguí-los foram chamados de Ensaio 1 e Ensaio 2.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação do tempo para paralisação do crescimento e da germinação dos conídios de *Bipolaris sorokiniana*: os conídios do fungo, após duas horas de incubação, apresentaram germinação de 26 a 44 % (média de 32,5 %). Após 4 horas de incubação a variação foi de 88 a 96 % (média de 92,5 %). Seis horas após a germinação foi de 86 a 94 % (média de 90,5 %), com 8 horas a variação foi de 86 a 100 % (média de 93,5 %). Com 10 horas de incubação a germinação foi de 84 a 86 % (média de 85 %) e com 12 horas de incubação verificou-se germinação de

78 a 94 % (média de 87,5 %) (Figura 2). A análise de variância para a germinação dos conídios mostrou diferença significativa apenas para o tratamento 2 horas, coeficiente de determinação (R^2) de 95,45 %, coeficiente de variação de 6,77 % e probabilidade menor que 0,01 %.

A análise de regressão linear para o comprimento do tubo germinativo mostrou-se altamente significativa (Figura 1) indicando que, dentro do intervalo de tempo estudado, o fungo segue um modelo linear de crescimento, definido pela equação $y = 0,85 + 15,55x$, onde y corresponde ao crescimento (μm) e x é o tempo (horas).

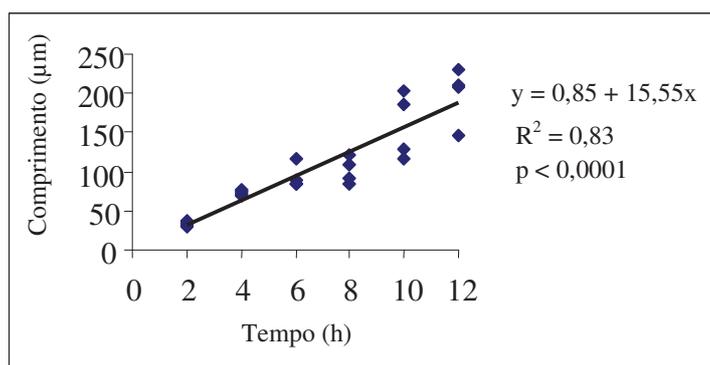


Figura 1. Relação entre o comprimento do tubo germinativo (μm) e o tempo (horas) de exposição à temperatura de 25 ± 2 °C e em presença de luz, em meio de cultura Batata Dextrose Ágar.

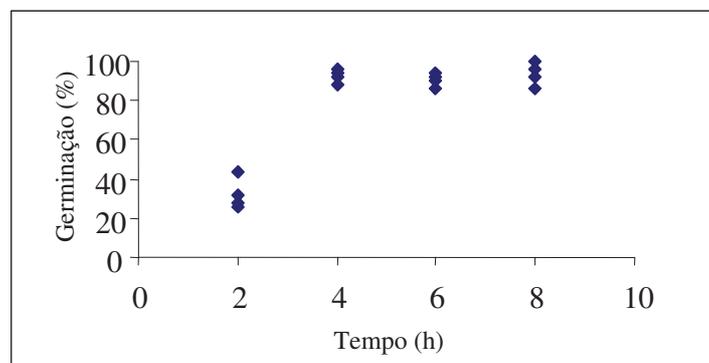


Figura 2. Relação entre a germinação (%) e o tempo (horas) de exposição à temperatura de 25 ± 2 °C e em presença de luz, em meio de cultura Batata Dextrose Ágar.

Com base nos resultados, foi adotado como critério de avaliação do ensaio o tempo de 6 horas para a paralisação da germinação e do crescimento do tubo germinativo principalmente devido à estabilização da germinação que, apesar de estabilizada a partir de quatro horas (Figura 2), optou-se por um valor acima para maior segurança. Observa-se também que após 6 horas os valores de crescimento do tubo germinativo apresentaram maior dispersão em relação à média (Figura 1).

Germinação dos conídios de *Bipolaris sorokiniana*: a germinação dos conídios de *B. sorokiniana* nas diferentes concentrações de fungicida, nos Ensaios 1 e 2 e para os Isolados 1 (C. S.) e 2 (S. I.) foi verificada em todas as concentrações testadas para os ingredientes ativos azoxistrobina, epoxiconazole, flutriafol, procloraz, propiconazole e

triadimenol. O tebuconazole inibiu a germinação dos conídios na concentração 100 ppm para os Isolados e os Ensaio 1 e 2. O princípio ativo metconazole inibiu a germinação a 100 ppm dos Isolados 1 e 2 no Ensaio 1 porém não no Ensaio 2.

A análise de regressão para a germinação dos conídios de *B. sorokiniana* não foi significativa para os princípios ativos ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole e triadimenol para o Isolado 1, Ensaio 1 (Tabela 5). No Ensaio 2, Isolado 1 (Tabela 7), não houve significância para epoxiconazole, flutriafol, metconazole, propiconazole, tebuconazole e triadimenol. O Isolado 2 (Tabela 8) não apresentou significância para ciproconazole, epoxiconazole, procloraz, propiconazole e triadimenol.

No Ensaio 1, o Isolado 1 (Tabela 5) apontou valores acima de 100 ppm da DE₅₀ para azoxistrobina, procloraz e propiconazole. O princípio ativo tebuconazole teve seu valor da DE₅₀ para a germinação dos conídios calculada em 100,64 ppm. O Isolado 2 (Tabela 6) apresentou valores da DE₅₀ maiores que 100 ppm para azoxistrobina, ciproconazole, epoxiconazole, metconazole, procloraz, propiconazole e tebuconazole.

No Ensaio 2 os valores da DE₅₀ para inibição da germinação encontram-se acima de 100 ppm para os princípios ativos azoxistrobina, ciproconazole e procloraz, Isolado 1 (Tabela 7), e azoxistrobina, flutriafol e metconazole, Isolado 2 (Tabela 8). A DE₅₀ para tebuconazole foi calculada em 99,8 ppm.

Conforme Hassal (1990), a membrana lipoproteica da parede celular dos fungos é a principal barreira de entrada para fungicidas, mas provavelmente a maioria dos fungicidas não-catiônicos passe através da parede celular, que para alguns fungos pode ser menos permeável e mais rígida que a de micélios. No entanto, os esporos normalmente tornam-se mais suscetíveis aos fungicidas com o tempo de crescimento do tubo germinativo. O autor também explica que o processo de entrada da substância é rápido, sendo 60 a 90 % completado em menos de um minuto de exposição a uma solução aquosa.

Verifica-se, de acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, que a germinação dos esporos de *B. sorokiniana* em diferentes concentrações de fungicidas não é um bom critério para determinar a sensibilidade e a DE₅₀ dos fungicidas testados já que houve a germinação para todos os fungicidas em todas as doses, exceção observada para os princípios ativos tebuconazole e metconazole na concentração mais elevada. Tal fato sugere indagar se os princípios ativos foram absorvidos, inibindo a emissão do tubo germinativo pela morte do conídio.

Pontzen & Scheinpflug (1989) encontraram diferenças na germinação dos esporos de *Botrytis cinerea* Person, *Venturia inaequalis* (Cooke) Winter e *Puccinia graminis* Pers. f.sp. *tritici* Eriks. & Henn., onde a germinação foi verificada para *B. cinerea* para tebuconazole (1 µg.mL⁻¹) nas primeiras 7 a 8 horas, para *V. inaequalis* os esporos não tiveram a alongação do tubo germinativo totalmente inibida por bitertanol (1 µg.mL⁻¹) e para *P. graminis* f. sp. *tritici* o crescimento do

tubo germinativo foi ligeiramente inibido por $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de triadimenol após 3 a 4 horas e mais tarde o crescimento foi progressivamente inibido. Os autores explicam que, como a síntese dos esteróis para os uredosporos de *P. graminis* iniciou somente após o desenvolvimento completo do tubo germinativo, testes para a germinação dos esporos desse patógeno não são recomendáveis. Assim, a afirmação de que a germinação dos esporos normalmente não é inibida por fungicidas triazóis pode ser confirmada nesse trabalho.

Crescimento do tubo germinativo dos conídios de *Bipolaris sorokiniana*: no Ensaio 1, Isolado 1 (Tabela 1), conídios do fungo apresentaram valores menores que 1,0 ppm, segundo classificação de Edgington et al. (1971) altamente sensíveis, para todos os princípios ativos testados. Para o Isolado 2 (Tabela 2) os valores abaixo de 1,0 ppm foram calculados para azoxistrobina, flutriafol, metconazole e tebuconazole. Acima de 1,0 ppm para ciproconazole (1,05 ppm), epoxiconazole (3,05 ppm), procloraz (1,53 ppm) e propiconazole (2,05 ppm), que conforme Edgington et al. (1971) classificam-se como moderadamente sensíveis, e triadimenol que teve seu valor acima de 10 ppm (20,40 ppm).

No Ensaio 2, Isolado 1 (Tabela 3), valores menores que 1,0 ppm (altamente sensíveis) foram verificados apenas para procloraz e propiconazole, valores entre 1,0 e 10,0 ppm (moderadamente sensíveis) para ciproconazole, epoxiconazole, metconazole e tebuconazole. Os princípios ativos azoxistrobina, flutriafol e triadimenol apresentaram

valores acima de 50 ppm, que segundo Edgington et al. (1971) classificaram-se como insensíveis. O Isolado 2 (Tabela 4) teve valores inferiores a 1,0 ppm (altamente sensíveis) para azoxistrobina, ciproconazole, epoxiconazole, flutriafol, metconazole, propiconazole, tebuconazole e triadimenol. Apenas procloraz teve seu valor acima de 1,0 ppm (moderadamente sensível).

Observa-se que o aparecimento de valores que classificam o Isolado 2 como insensível pode indicar a existência de raças resistentes na população. Dekker (1972) explica que a resistência a fungicidas pode surgir como uma consequência de alterações genéticas na célula do fungo, no entanto, a tolerância ao fungicida devido a fatores não genéticos tem sido frequentemente observada e os aspectos fisiológicos e bioquímicos desse fenômeno tem sido pouco estudados. Convém ressaltar que os isolamentos utilizados nos ensaios não procederam de isolamentos monospóricos o que pode explicar as diferenças entre o Ensaio 1 e 2.

Gisi & Hermann (1994), avaliaram a sensibilidade de populações de *Septoria tritici* Rob. Ex. Desm., não utilizando isolamentos monospóricos, encontrando valores que variaram de 0,1 a 0,2 ppm para ciproconazole e 0,8 a 1,0 ppm para flutriafol e expõe que a falta de dados de referência dificulta a identificação de alterações na sensibilidade da população do patógeno aos fungicidas.

Os dados encontrados nesse trabalho não confirmam a suspeita de que o Isolado 2 seria insensível e que o Isolado 1 seria sensível sendo

que os valores acima de 100 ppm para azoxistrobina, flutriafol e triadimenol são referentes ao Isolado 1.

De Waard (1994) explica que a redução de sensibilidade para raças da população do patógeno não implicam obrigatoriamente em decréscimo no desempenho de certo produto IDM (inibidores da demetilação) no campo, dependendo do nível e da frequência das raças resistentes.

Tabela 1 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento do tubo germinativo de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**} (ppm)
Azoxistrobina	$y = 59,20 + 4,25 \ln(x)$	85,09	< 0,01	0,12
Ciproconazole	$y = 55,20 + 4,24 \ln(x)$	91,75	< 0,01	0,29
Epoxiconazole	$y = 51,57 + 3,66 \ln(x)$	86,28	< 0,01	0,65
Flutriafol	$y = 58,87 + 5,04 \ln(x)$	91,43	< 0,01	0,17
Metconazole	$y = 74,62 + 6,88 \ln(x)$	91,43	< 0,01	<0,10
Procloraz	$y = 52,80 + 3,41 \ln(x)$	73,27	< 0,01	0,44
Propiconazole	$y = 56,27 + 3,99 \ln(x)$	84,57	< 0,01	0,21
Tebuconazole	$y = 57,15 + 5,86 \ln(x)$	87,11	< 0,01	0,30
Triadimenol	$y = 57,82 + 6,20 \ln(x)$	93,91	< 0,01	0,28

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 2 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento do tubo germinativo de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 2, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**} (ppm)
Azoxistrobina	$y = 56,59 + 4,57 \text{ Ln}(x)$	82,25	< 0,01	0,24
Ciproconazole	$y = 49,80 + 4,38 \text{ Ln}(x)$	94,08	< 0,01	1,05
Epoxiconazole	$y = 45,62 + 3,92 \text{ Ln}(x)$	86,19	< 0,01	3,05
Flutriafol	$y = 28,61 + 4,43 \text{ Ln}(x)$	82,97	< 0,01	0,14
Metconazole	$y = 62,20 + 5,76 \text{ Ln}(x)$	89,52	< 0,01	0,12
Procloraz	$y = 48,50 + 3,53 \text{ Ln}(x)$	70,53	< 0,01	1,53
Propiconazole	$y = 47,28 + 3,79 \text{ Ln}(x)$	83,7	< 0,01	2,05
Tebuconazole	$y = 70,63 + 6,17 \text{ Ln}(x)$	93,44	< 0,01	<0,1
Triadimenol	$y = 36,39 + 4,51 \text{ Ln}(x)$	53,74	0,19	20,40

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 3 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento do tubo germinativo de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**} (ppm)
Azoxistrobina	$y = 36,72 + 2,88 \text{ Ln}(x)$	56,75	0,12	100,28
Ciproconazole	$y = 49,59 + 4,11 \text{ Ln}(x)$	68,11	0,02	1,11
Epoxiconazole	$y = 49,49 + 3,20 \text{ Ln}(x)$	61,24	0,06	1,17
Flutriafol	$y = 24,67 + 1,85 \text{ Ln}(x)$	76,49	< 0,01	>100
Metconazole	$y = 39,14 + 5,44 \text{ Ln}(x)$	57,07	0,11	7,37
Procloraz	$y = 53,04 + 3,02 \text{ Ln}(x)$	53,27	0,20	0,37
Propiconazole	$y = 51,41 + 3,36 \text{ Ln}(x)$	67,23	0,02	0,66
Tebuconazole	$y = 49,52 + 5,58 \text{ Ln}(x)$	73,17	< 0,01	1,09
Triadimenol	$y = 22,34 + 2,05 \text{ Ln}(x)$	84,04	<0,01	>100

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 4 – Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir o crescimento do tubo germinativo de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 58,32 + 4,09 \ln(x)$	80,87	< 0,01	0,13
Ciproconazole	$y = 54,48 + 4,16 \ln(x)$	85,98	< 0,01	0,34
Epoxiconazole	$y = 50,79 + 3,33 \ln(x)$	73,15	< 0,01	0,79
Flutriafol	$y = 70,82 + 4,74 \ln(x)$	73,08	< 0,01	<0,1
Metconazole	$y = 76,12 + 5,74 \ln(x)$	85,34	< 0,01	<0,1
Procloraz	$y = 49,43 + 3,19 \ln(x)$	72,85	< 0,01	1,20
Propiconazole	$y = 50,21 + 3,21 \ln(x)$	70,57	< 0,01	0,94
Tebuconazole	$y = 76,46 + 5,82 \ln(x)$	87,06	< 0,01	<0,1
Triadimenol	$y = 64,88 + 5,14 \ln(x)$	84,93	< 0,01	<0,1

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 5. Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 1, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 24,12 + 2,45 \ln(x)$	80,64	<0,01	>100
Ciproconazole	n.s.	-	15,43	-
Epoxiconazole	n.s.	-	8,08	-
Flutriafol	n.s.	-	73,83	-
Metconazole	n.s.	-	6,51	-
Procloraz	$y = 15,48 + 1,80 \ln(x)$	58,00	0,10	>100
Propiconazole	$y = 14,86 + 1,73 \ln(x)$	58,02	0,10	>100
Tebuconazole	$y = 26,53 + 5,09 \ln(x)$	37,76	1,48	100,64
Triadimenol	n.s.	-	13,02	-

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 6. Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 2, Ensaio 1, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 17,99 + 1,92 \text{ Ln}(x)$	91,23	<0,01	>100
Ciproconazole	$y = 8,48 + 1,07 \text{ Ln}(x)$	31,43	2,97	>100
Epoxiconazole	$y = 9,76 + 1,35 \text{ Ln}(x)$	65,67	0,02	>100
Flutriafol	n.s.	-	19,92	-
Metconazole	$y = 9,74 + 1,10 \text{ Ln}(x)$	54,38	0,17	>100
Procloraz	$y = 9,60 + 1,17 \text{ Ln}(x)$	58,74	0,09	>100
Propiconazole	$y = 7,64 + 0,84 \text{ Ln}(x)$	43,71	0,73	>100
Tebuconazole	$y = 26,13 + 5,06 \text{ Ln}(x)$	37,16	1,58	>100
Triadimenol	n.s.	-	17,58	-

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 7. Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 1, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 21,33 + 2,32 \text{ Ln}(x)$	89,18	<0,01	>100
Ciproconazole	$y = 9,34 + 0,87 \text{ Ln}(x)$	36,20	1,76	>100
Epoxiconazole	n.s.	-	8,04	-
Flutriafol	n.s.	-	7,65	-
Metconazole	n.s.	-	14,88	-
Procloraz	$y = 7,32 + 0,42 \text{ Ln}(x)$	27,73	4,36	>100
Propiconazole	n.s.	-	12,26	-
Tebuconazole	n.s.	-	12,37	-
Triadimenol	n.s.	-	38,75	-

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

Tabela 8. Fungicida, equação, coeficiente de determinação (R^2), significância e dose efetiva capaz de inibir a germinação de *Bipolaris sorokiniana*, Isolado 2, Ensaio 2, em 50 % (DE_{50})

Fungicida	Equação*	R^2	P	DE_{50}^{**}
		(%)		(ppm)
Azoxistrobina	$y = 29,46 + 2,16 \text{ Ln}(x)$	68,86	<0,01	>100
Ciproconazole	n.s.	-	18,22	-
Epoxiconazole	n.s.	-	85,43	-
Flutriafol	$y = 1,60 + 0,22 \text{ Ln}(x)$	37,86	1,46	>100
Metconazole	$y = 25,31 + 4,97 \text{ Ln}(x)$	35,39	1,93	>100
Procloraz	n.s.	-	10,45	-
Propiconazole	n.s.	-	49,56	-
Tebuconazole	$y = 26,72 + 5,06 \text{ Ln}(x)$	37,65	1,50	99,8
Triadimenol	n.s.	-	17,33	-

* y = porcentagem de inibição do crescimento miceliano, x = concentração do fungicida

** Calculada pela equação

4 CONCLUSÕES

De acordo com a classificação proposta por Edgington et al. (1971) pode-se:

1. classificar o Isolado 1 como altamente sensível a procloraz e propiconazole;
2. classificar o Isolado 1 como alta a moderadamente sensível a ciproconazole, epoxiconazole, metconazole e tebuconazole;
3. classificar o Isolado 2 como altamente sensível a azoxistrobina, flutriafol, metconazole e tebuconazole;

4. classificar o Isolado 2 como alta a moderadamente sensível a ciproconazole, epoxiconazole e propiconazole;

5. classificar o Isolado 2 de como moderadamente sensível a procloraz;

O Isolado 1 apresentou valores de DE_{50} para azoxistrobina, flutriafol e triadimenol que o classificam com altamente sensíveis porém no Ensaio 2 como resistentes, sendo que esse salto em sensibilidade dificulta a compreensão e sugere que pode existir diferença em sensibilidade na população avaliada, tratando-se de uma raça resistente.

O Isolado 2, para triadimenol, variou em sensibilidade como altamente sensível e valor de 20,40 ppm para o qual não há classificação segundo Edgintgton et al. (1971). De acordo com a adaptação feita por Kimura et al. (2001) os valores de DE_{50} entre 10 e 50 ppm, e aqui sugere-se >10 a 50 ppm, classificam-se como ‘baixa sensibilidade’ do patógeno e ‘baixa fungitoxicidade’ do produto. Assim, o Isolado 2 apresentou alta e baixa sensibilidade, indicando a possibilidade e existência de raça resistente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao final desse trabalho, algumas considerações podem ser úteis para ensaios futuros, como:

- Utilizar concentrações menores que 0,1 ppm de maneira a estabelecer com maior precisão a DE_{50} dos fungicidas que se mostraram altamente fungitóxicos;
- Se o conhecimento da DE_{90} , DE_{95} ou DE_{100} for desejável, utilizar concentrações maiores que 100 ppm;
- A avaliação da sensibilidade aos fungicidas por meio do crescimento miceliano é menos laboriosa que a avaliação do crescimento do tubo germinativo e útil para os fungos necrotróficos que possuem dificuldade de produção de conídios em meios artificiais;
- A avaliação dos conídios não deve apenas levar em consideração a germinação, mas também o comprimento do tubo germinativo e talvez a sua morfologia.
- Avaliar um número maior de isolados do fungo para confirmar a existência de raça resistentes na população e sua frequência;
- A partir do reconhecimento de uma raça resistente testá-la em isolamento monospórico;
- Seria ideal que os ensaios fossem realizados ao menos três vezes principalmente devido às variações observadas e que uma terceira repetição, ou até uma quarta, facilitaria a compreensão e discussão dos resultados;

- Faz-se importante investigar as causas da ineficiência relatada, e que levou à realização deste trabalho, quanto ao controle da mancha amarela da folha de trigo, pois pode tratar-se de questões relacionadas ao momento ou à qualidade da aplicação, produtos e doses utilizadas, número de aplicações, etc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBA, J. T.; REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. *Efeito do Substrato na Morfologia de Conídios de Bipolaris sorokiniana e da Densidade de Inóculo na Intensidade da Mancha Marrom em Cevada*. Fitopatologia Brasileira, v. 29, n. 1, p. 5-10, 2004.

BISOTTO, V. Algumas Considerações Sobre a Cultura do Trigo. In: *Indicações Técnicas da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo – Trigo e Triticale – 2005. 37ª Reunião da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo*. Cruz Alta: março, 2005, p. 11-45.

CARMONA, M.; REIS, E. M.; CORTESE, P. *Manchas Foliaves Del Trigo – Mancha Amarilla, Septorios De La Hoja – Diagnóstico, Epidemiologia Y Nuevos Critérios Para El Manejo*. Basf Argentina S. A. Buenos Aires: 1999, 32 p.

CONAB *Trigo Brasil – Série Histórica de Produtividade – Safras 1990/91 a 2004/05*. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/download/safra/TrigoSerieHist.xls>>. Acesso em: 06/03/2006.

DEKKER, J. Resistance. In: MARSH, R. W. *Systemic Fungicides*. London: Longman Group Limited, 1972. p. 159-174.

DEKKER, J.; GEORGOPOULOS, S. G. *Fungicide Resistance in crop protection*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen: 1982, 265 p.

DE WAARD, M. A. Resistance to Fungicides Which Inhibit Sterol 14 α -Demethylation, an Historical Perspective. In: HEANEY, S.; SLAWSON, D.; HOLLOMON, D. W.; SMITH, M.; RUSSELL, P. E.; PARRY, D. W. *Fungicide Resistance*. Farnham: The British Crop Protection Council, 1994. p. 3-10.

DIEHL, J. A. Reação de Espécies de Gramíneas à Podridão Comum de Raízes Causada por *Cochliobolus sativus*. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 8, p. 9-12, fev. 1983.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARROW, G. L. Fungitoxic Spectrum of Benzimidazole Compounds. *Phytopathology*: vol. 61, p. 42-44, 1971.

EDGINGTON, L. V.; MARTIN, R. A.; BRUIN, G. C.; PARSONS, I. M. Systemic Fungicides: A Perspective After 10 Years. *Plant Disease*: vol. 64, n. 1, p. 19-23, 1980.

ELLIS, M. B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971, 608 p.

FORCELINI, C. A. Doenças Fúngicas do Trigo: resgatando os princípios do controle. In: *Tecnologia de Produção Para a Cultura do Trigo – Atualidades Técnicas 1*. Passo Fundo: Aldeia Norte, 2005, p. 55-60.

GEORGOPOULOS, S. G. Genetical and Biochemical Background of Fungicide Resistance. In: DEKKER, J.; GEORGOPOULOS, S. G. *Fungicide Resistance in Crop Protection*. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1982, p. 46-52.

GHINI, R.; KIMATI, H. *Resistência de Fungos a Fungicidas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000, 78 p.

GISI, U; HERMANN, D. Sensitivity Behaviour of *Septoria tritici* Populations on Wheat to Cyproconazole. In: HEANEY, S.; SLAWSON, D.; HOLLOMON, D.W.; SMITH, M.; RUSSEL, P.E.; PARRY, D.W. *Fungicide Resistance*. Farnham: The British Crop Protection Council, 1994. p.11-18.

HASSAL, K. A. *The Biochemistry and Uses of Pesticides – Structure, Metabolism, Mode of Action and Uses in Crop Protection*. Ed. 2. New York: VCH Publishers, 1990, 536 p.

HOLLOMON, D. W. *Resistência a Fungicidas – Definições e Conceitos*. Disponível em <<http://www.frac-brasil.org.br/>>. Acesso em: 13/03/2006.

HUNGER, R. M.; BROWN, D. A. Colony Color, Sporulation, Fungicide Sensitivity, and Pathogenicity of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant Disease*, v. 71, n. 10, p. 907-910, 1987.

INDICAÇÕES TÉCNICAS DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO – TRIGO E TRITICALE – 2005. 37ª Reunião da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo, Cruz Alta, março, 2005, 157 p.

KIMATI, H. Resistência de Fitopatógenos a Substâncias Químicas Usadas no Controle de Doenças de Plantas. *Summa Phytopathologica*, v. 13, p. 73-74, 1987.

KIMATI, H. Evolução dos Fungicidas. In: SIMPÓSIO - CONTROLE QUÍMICO DE DOENÇAS DE PLANTAS. *Summa Phytopathologica*, v. 22, n. 1, p. 79-80, 1996.

KIMATI, H. *Histórico da Resistência de Fungos a Fungicidas no Brasil*. Disponível em <<http://www.frac-brasil.org.br/>>. Acesso em: 13/03/2006.

KIMURA, M.K.; SOUZA, P.E. de; CASTRO, H.A. de Sensibilidade in vitro de *Botrytis cinerea* a Fungicidas. *Ciências Agrotécnicas*, Lavras, v. 25, n. 5, p. 1150-1160, set./out. 2001.

LUZ, W. C. da; BERGSTROM, G. C. Temperature-Sensitive Development of Spot Blotch in Spring Wheat Cultivars Differing in Resistance. *Fitopatologia Brasileira*, p. 197-204, v. 11, 1986.

MARINGONI, A. C.; BARROS, E. M. de Ocorrência de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* resistentes a fungicidas benzimidazóis. *Summa Phytopathologica*, v. 28, n. 2, p. 197-200, 2002.

MASSOLA JR., N. S.; BEDENDO, I. P. Produção de Conídios por *Helminthosporium oryzae*: Influência da Composição do Meio de Cultura, Período de Incubação, Regime de Luz e Temperatura. *Summa Phytopathologica*, v. 19, n. 3-4, p. 157-161, 1993.

McGRATH, M. T.; SHISHKOFF, N. First Report of the Cucurbit Powdery Mildew Fungus (*Podosphaera xanthii*) Resistant to Strobilurin Fungicides in the United States. *Plant Disease*, v. 87, p. 1007, 2003.

MEHTA, Y. R. *Doenças do Trigo e Seu Controle*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1978, 190 p.

MUCHOVEJ, J. J.; MUCHOVEJ, R. M. C. & RIBEIRO-NESIO, M. L. Taxonomia de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 13, n. 3, p. 211-223, 1988.

MUNDSTOCK, C. M. *Planejamento e Manejo Integrado da Lavoura de Trigo*. Porto Alegre: Evangraf, 1999, 228 p.

OLIVEIRA, M. A. R. de; GOMES, L. S. *Avaliação da Perda em Rendimento Causada por Helmintosporiose (*Helminthosporium sativum*) em Trigo*. Cascavel: Ocepar, Julho/1984 (Boletim Técnico nº 08).

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. *Ensaio Preliminares e Cooperativos de Fungicidas – Resultados Obtidos no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo no Período 1988 – 1991*. Passo fundo: Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, 1992, 28 p.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Efeito do Tratamento de Sementes com Fungicidas sobre o Controle de Doenças na Parte Aérea do Trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 5, p.515-520, 2003.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C.; IGNACZAK, J. C.; AMBROSI, I. Impacto Econômico do Uso do Fungicida Propiconazole na Cultura do Trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 21, n. 3, p. 362-368, 1996.

PONTZEN, R.; SCHEINPFLUG, H. Effects of Triazole Fungicides on Sterol Biosynthesis During Spore Germination of *Botrytis cinerea*, *Venturia inaequalis* and *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*. *Neth. J. Pl. Path.*: 95, Supplement 1, p. 151-160, 1989.

PRATES, L. G.; FERNANDES, J. M. C. Avaliando a Taxa de Expansão de Lesões de *Bipolaris sorokiniana* em Trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 26, n. 2, p.185-191, 2001.

PRESTES, A. M.; SANTOS, H. P. dos; REIS, E. M. Práticas culturais e incidência de manchas foliares em trigo. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília: v. 37, n. 6, p. 791-797, 2002.

REES, R. G.; PLATZ, G. J. Effects of Yellow Spot on Wheat: Comparison of Epidemics at Different Stages of Crop Development. *Australian Journal of Agricultural Research*, n. 34, p. 39-46, 1983.

REIS, E. M. Levantamento de Plantas Cultivadas, Nativas e Invasoras Hospedeiras de Fungos Causadores de Podridões Radiculares em Cereais de Inverno e em Outras Culturas. *Summa Phytopathologica*, v. 8, p. 134-140, 1982.

REIS, E. M. Selective Medium for Isolating *Cochliobolus sativus* from Soil. *Plant Disease*, n. 67, p. 68-70, 1983a.

REIS, E. M. Sensibilidade Micelial de *Helminthosporium sativum* a alguns Fungicidas "In Vitro". *Summa Phytopathologica*, v. 9, p. 111-117, 1983b.

REIS, E. M. *Doenças do Trigo: I – Podridão comum de Raízes – Helminthosporiose*. São Paulo: Companhia Nacional de Defensivos Agrícolas, 1988, 20 p.

REIS, E. M. Contribuição dos defensivos agrícolas na proteção de plantas In: SIMPÓSIO – CONTROLE QUÍMICO DE DOENÇAS DE PLANTAS. *Summa Phytopathologica*, v. 22, n. 1, p. 78-81, 1996.

REIS, E. M.; CARMONA, M. *Avaliação do Potencial de Rendimento de Lavouras de Trigo com Vistas ao Controle Econômico de Doenças Foliaves com Fungicidas*. 3 ed. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2001, 28 p.

REIS, E. M.; CASA, R. T. *Doenças do Trigo VI – Mancha Amarela da Folha*. Passo Fundo: Bayer S. A., 1996, 16 p.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; FORCELINI, C. A. Doenças do Trigo. In: KIMATI, H. et al. *Manual de Fitopatologia – Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas*. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 725-735.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. *Diagnose, Patometria e Controle de Doenças de Cereais de Inverno*. Londrina: E. S. Comunicação S/C Ltda, 2001a, 94 p.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de Sementes para Órgãos Radiculares e Aéreos do Trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 18, n. 1, p. 76-81, 1993.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A.; REIS, A. C. *Manual de Fungicidas – Guia para o Controle Químico de Doenças de Plantas*. Florianópolis: Editora Insular, 2001b, 176 p.

REIS, E. M.; SILVA, C. E. L.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. Decomposição dos Restos Culturais do Trigo e Sobrevivência Saprófitica de *Bipolaris sorokiniana*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 23, n. 1, p. 62-64, 1998.

SANTOS, A. M. P. V. dos; MATSUMURA, A. T. S.; VAN DER SAND, S. T. Intraespecific Genetic Diversity of *Drechslera tritici-repentis* as Detected by Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Genetic and Molecular Biology*, v. 25, n. 2, p. 243-250, 2002.

SANTOS, P. H.; REIS, E. M.; VIEIRA, S. A.; PEREIRA, L. R. *Rotação de Culturas e Produtividade de Trigo no RS*. Passo Fundo: Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, 1987, 32 p.

SHARVELLE, E. G. *The Nature and Uses of Modern Fungicides*. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1961, 308 p.

SOARES, R. M.; CASTRO, R. L. Avaliação de Doenças Foliares nos Ensaios Estadual e Regional de Trigo no Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 6, p. 687, 2003.

STAUB, T.; SOZZI, D. Fungicide Resistance. *Plant Disease*, v. 86, n. 12, p. 1026-1031, 1984.

TORGESON, D. C. Determination and Measurement of Fungitoxicity. In: TORGESON, D. C. *Fungicides: An Advanced Treatise*, v. 1. New York: Academic Press, 1967, 742 p.

ULLOA, M.; HANLIN, R. T. *Illustrated Dictionary of Mycology*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 2000, 448 p.

VALIM-LABRES, M. E.; MATSUMURA, A. T. S.; PORTO, M. D. M. First Report of Chlamydospores on Hypha of *Bipolaris sorokiniana*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 23, n. 3, p. 410, 1998.

WIESE, M. V. *Compendium of Wheat Diseases*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1987, 112 p.

ZADOKS, J. C.; SCHEIN, R. *Epidemiology and Plant Disease Management*. New York: Oxford University Press, 1979, 427 p.

ZAMBOLIM, L.; CASA, R. T.; REIS, E. M. Sistema Plantio Direto e Doenças em Plantas. *Fitopatologia Brasileira*, v. 25, n. 4, p. 584-594, 2000.

ZILLINSKY, F. J. *Common Diseases of Small Grain Cereals: A Guide to Identification*. México: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, 1983, 141 p.

ZYLBERSZTAJN, D.; NEVES (Coord.), M. F.; ROSSI, R. M. (Coord.); FERRAZ, R. M. M.; CASTRO, L. T. ; MARINO, M. K.; MIZUMOTO, F. M.; CONEJERO, M. A.; FERREIRA, T. F.; ORATI, R. A. *Estratégias Para o Trigo no Brasil*. São Paulo: Atlas, 2004, 224 p.