

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

***Drechslera avenae*: QUANTIFICAÇÃO DA  
INCIDÊNCIA E CONTROLE DA TRANSMISSÃO DE  
SEMENTES PARA ÓRGÃOS AÉREOS EM AVEIA**

**MIRELLA FIGUEIRÓ DE ALMEIDA**

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, março de 2008

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

***Drechslera avenae*: QUANTIFICAÇÃO DA  
INCIDÊNCIA E CONTROLE DA TRANSMISSÃO DE  
SEMENTES PARA ÓRGÃOS AÉREOS EM AVEIA**

**MIRELLA FIGUEIRÓ DE ALMEIDA**

**Orientador: Prof. Ph.D. 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, março de 2008



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



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

“*Drechslera avenae*: quantificação da incidência e controle da transmissão de sementes para órgãos aéreos em aveia”

Elaborada por

MIRELLA FIGUEIRÓ DE ALMEIDA

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em  
Agronomia – Área de Fitopatologia

Aprovada em: 03/03/2008  
Pela Comissão Examinadora

Dr. Erlei Melo Reis  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientador

Dr. Wilson Antonio Klein  
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia

Dr. Ariano Moraes Prestes  
Universidade de Passo Fundo

Dr. Mauro Antônio Rizzardi  
Diretor FAMV

Dr. João Leodato Nunes Maciel  
Embrapa Trigo

Nunca desista de seus sonhos  
Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis,  
as pedras do caminho se tornam montanhas,  
os fracassos se transformam em golpes fatais.  
Mas, se você tiver grandes sonhos...  
Seus erros produzirão crescimento,  
seus desafios produzirão oportunidades,  
seus medos produzirão coragem.  
Augusto Cury

Às pessoas mais importantes da minha vida,  
que sempre acreditaram em mim, que me permitiram  
sonhar e contribuíram para a realização desses sonhos...  
meus pais Altair e Maria Elisabeth e meu irmão Leandro.

**DEDICO E OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, a quem muito acredito e tenho fé, por sempre me iluminar e guiar os meus passos.

Aos meus pais Altair e Maria Elisabeth e ao meu irmão Leandro (meus amores e meus anjos), pelo apoio, por sempre estarem ao meu lado me dando força, por me compreenderem, mas principalmente pelo amor que nos une e que sempre está presente.  
“EU AMO VOCÊS!!!”

A toda minha família que sempre estão presentes e torcendo por mim, sempre agradeço a Deus por ter me dado uma família tão maravilhosa.

Ao meu amor Marco Aurélio Tramontin da Silva, pelo incentivo inicial para eu ingressar no mestrado e não desistir dos meus sonhos, pela compreensão e pelo exemplo de planejamento e dedicação aos seus projetos.

Ao meu orientador Dr. Erlei Melo Reis, pela orientação, incentivo e compreensão. O senhor sempre será um exemplo de força, entusiasmo, dedicação e amor pela sua profissão.

A Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Professores e Funcionários, pelo auxílio e dedicação.

A CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

As minhas amigas de infância as quais sempre pude contar pra tudo na vida, minhas amigas do coração: Fabiana Cristina Haubert, Cristiane da Silva Erpen, Lia Romani dos Santos, Alexandra Fátima Decesare e Alessandra Aparecida Decesare e Francis Lauren K. de Souza.

A minha amiga do coração Marivane Segalin que desde a graduação sempre esteve ao meu lado, me ajudando, me incentivando, me ensinando, que me deu força nas horas boas e ruins, minha amiga que sempre me compreendeu porque na maioria das vezes estávamos sempre no mesmo barco.

Às pessoas que sempre estiveram ao meu lado, torcendo por mim, me ajudando desde a graduação, os amigos do laboratório de Fitopatologia Cinara de Andrade Cardoso, Paulo Gilson Tironi e Tiago Zanatta (grande amigo e colega).

Aos professores responsáveis pelo meu aprendizado e pela dedicação – Professoras: Jurema Schons, Norimar D'Ávila Denardin e Cláudia Petry e os Professores Erlei Melo Reis, Carlos Alberto Forcelini, Alexandre Nienow, Florindo Castoldi.

Em especial ao professor Forcelini, a quem muito admiro pelo exemplo de professor, por estar sempre disposto a ajudar e por sua contribuição ao meu trabalho.

Também a professora Norimar, por sua amizade, pelo empréstimo de materiais, pelo seu bom humor e por nossas longas conversas.

A secretária do PPGAgro Mari Viecegli pelo auxílio, pela paciência, por seu bom humor e por sempre me ajudar quando eu precisava.

As laboratoristas do Laboratório de sementes Dirce Maria Bonez e Glaci Flores, pelo auxílio nas análises de germinação e vigor.

Aos coordenadores do PPGAgro pelos quais passei enquanto Representante Discente e com os quais muito aprendi: Prof.<sup>a</sup> Jurema Schons, Profs. Pedro Varella Escosteguy e Vilson A. Klein.

Aos colegas e amigos que ingressaram comigo nessa caminhada: Fernanda Vilasboas, Virgínia Crestani Viero, Vânia Bianchin, Maria Fernanda Antunes da Cruz, Franciely Moschen, Diego Aléssio. E as doutorandas: Gisele da Silva Arduim, Marta Maria Casa Blum, Cheila C. Sbalcheiro, Rosemari Terezinha de Souza e Sandra Zoldan.

Em especial a Gisele pelo coleguismo, por sempre estar disposta a ajudar, por sua força, mas acima de tudo pela sua amizade e carinho.

Aos estagiários do laboratório de Fitopatologia pela amizade: Francieli Tavares Vieira, Douglas André Baruffi, Rudinei Bogorni, Luciano Remor, Mateus Zanatta e Antônio V. dos Santos Júnior. E do laboratório de Bacteriologia: Ana Cristina Trentin

Á TODOS VOCÊS MEU MUITO OBRIGADA!!!

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>RESUMO</b> .....	11
<b>ABSTRACT</b> .....	14
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	21
2.1 A cultura da aveia .....	21
2.2 Helmintosporiose da aveia .....	23
2.2.1 Etiologia .....	24
2.2.2 Ciclo de vida de <i>Drechslera avenae</i> .....	26
2.2.2.1 Fontes de inóculo .....	27
2.2.2.2 Disseminação, transporte e transmissão .....	30
2.2.2.3 Processo infeccioso .....	33
2.2.2.4 Sobrevivência .....	35
2.3 Sintomatologia.....	38
3 Detecção de patógenos em sementes .....	39
3.1 Detecção em meios agarizados.....	39
4 Controle.....	42
4.1 Tratamento de sementes visando a erradicação de fungos necrotróficos de sementes .....	43
4.1.1. Tratamento químico .....	45
4.1.2. Tratamento físico (termoterapia) .....	48
<b>CAPITULO I</b>	
<b>COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS PARA A DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM SEMENTES DE AVEIA BRANCA (<i>Avena sativa</i> L.) E PRETA (<i>Avena strigosa</i> SCHREB.) NO RIO GRANDE DO SUL</b> .....	51
<b>RESUMO</b> .....	51
<b>ABSTRACT</b> .....	52
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	53
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	57
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	59
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	65

<b>CAPITULO II</b>	
<b>IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE CAUSAL DA</b>	
<b>HELMINTOSPORIOSE DA AVEIA.....</b>	<b>66</b>
RESUMO.....	66
ABSTRACT.....	67
1 INTRODUÇÃO.....	68
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
4 CONCLUSÃO.....	76
<b>CAPITULO III</b>	
<b>DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA</b>	
<b>TRATAMENTO DE SEMENTES DE AVEIA VISANDO O</b>	
<b>CONTROLE DA TRANSMISSÃO DE <i>Drechslera avenae</i></b>	
<b>PARA ÓRGÃOS AÉREOS.....</b>	<b>77</b>
RESUMO.....	77
ABSTRACT.....	79
1 INTRODUÇÃO.....	81
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	84
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	89
4 CONCLUSÃO.....	106
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>107</b>



## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
<b>CAPÍTULO I</b>		
1	Comparação de dois meios de cultura para detecção de <i>Drechslera avenae</i> , <i>Alternaria alternata</i> e <i>Bipolaris sorokiniana</i> em sementes de aveia branca.....	61
2	Comparação de dois meios de cultura para detecção de <i>Drechslera avenae</i> , <i>Alternaria alternata</i> e <i>Bipolaris sorokiniana</i> em sementes de aveia preta.....	62
3	Incidência de patógenos em sementes de aveia branca em diferentes municípios do Rio Grande do Sul.....	64
4	Incidência de patógenos em sementes de aveia preta em diferentes municípios do Rio Grande do Sul.....	65
<b>CAPÍTULO II</b>		
5	a) Conidióforo e conídio de <i>Drechslera avenae</i> com um septo; b) Conídio com dois septos.....	76
6	Inserções dos conídios em conidióforo de <i>Drechslera avenae</i> .....	76
<b>CAPÍTULO III</b>		
7	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida guazatina sobre o controle (z) de <i>D. avenae</i> .....	91
8	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida guazatina na germinação (Z) de sementes.....	92
9	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida guazatina no vigor (Z) de sementes....	93

10	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida iprodiona sobre o controle (z) de <i>D. avenae</i> .....	95
11	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida iprodiona na germinação (Z) de sementes.....	96
12	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida iprodiona no vigor (Z) de sementes....	97
13	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida tiram sobre o controle (z) de <i>D. avenae</i> .....	98
14	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida tiram na germinação (Z) de sementes.	99
15	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida tiram no vigor (Z) de sementes.....	100
16	Efeitos da temperatura na transmissão de <i>Drechslera avenae</i> de sementes para coleóptilos de aveia.....	102
17	Área abaixo da curva de progresso da doença em experimento de campo com as sementes não tratadas (testemunha) e tratadas com guazatina..	104
18	Incidência de <i>Drechslera avenae</i> em sementes de aveia após a colheita.....	105
19	Efeitos de temperaturas (x) e tempos (y) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida guazatina na germinação (Z) de sementes.....	106

## ***Drechslera avenae*: QUANTIFICAÇÃO DA INCIDÊNCIA E CONTROLE DA TRANSMISSÃO DE SEMENTES PARA ÓRGÃOS AÉREOS EM AVEIA**

**MIRELLA FIGUEIRÓ DE ALMEIDA<sup>1</sup> & ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>**

**RESUMO** - A cultura da aveia, representada pelas espécies *Avena sativa* L. e *Avena strigosa* Schreb., é uma das principais alternativas para o cultivo durante o inverno no Sul do Brasil. Os patógenos dessa cultura, como *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif causador da helmintosporiose, sobrevive em sementes e nos restos culturais. A helmintosporiose da aveia é relatada em todas as áreas onde se cultiva aveia, isso ocorre porque o agente causal está em íntima associação com as sementes, sendo assim disseminado a longa distância. Quando sementes infectadas são plantadas, os sintomas da doença podem ser visualizados nos coleótilos das plântulas. Trata-se da transmissão do patógeno das sementes para os órgãos aéreos. Isso ocorre, porque os métodos de controle disponíveis não são suficientes para erradicá-lo. Os objetivos do presente trabalho foram: a) selecionar um método eficiente para detecção de fungos patogênicos em sementes de aveia; b) quantificar a incidência dos fungos em sementes de aveia produzidas em diferentes municípios do Rio Grande do Sul; c) identificar o agente causal da helmintosporiose da aveia isolados de

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia - mirellafa@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Orientador, Eng. Agr., Dr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

sementes naturalmente infectadas, pelo teste de patogenicidade e metodologia de caracterização morfológica do fungo; d) desenvolver uma metodologia de tratamento de sementes visando erradicar o fungo *D. avenae* de sementes de aveia, visando também evitar a transmissão do fungo das sementes para os órgãos aéreos de aveia. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo. Um total de 38 amostras foram plaqueadas em gerboxes contendo os meios de cultura e incubadas em câmara climatizada. O meio seletivo de Reis mostrou-se mais sensível na detecção de *D. avenae* e *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler em aveia branca e preta; já para *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. o meio BDA foi o mais sensível em aveia branca, para aveia preta não houve diferença estatística. Na quantificação de fungos em sementes de aveia branca e preta nos diferentes municípios, a menor e maior incidência de *D. avenae* em sementes de aveia branca variou de 12 a 76 % e em aveia preta de 4 a 90 %, para *A. alternata* variou de 3 a 53 % e 2 a 31% em aveia branca e preta respectivamente e *B. sorokiniana* em aveia branca de 0 a 16% e 0 a 3% em preta. Confirmou-se *D. avenae* como sendo o agente causador de manchas foliares em aveia e de manchas dos grãos. No teste de patogenicidade em plântulas de aveia, trigo, centeio e cevada, o fungo *D. avenae* apresentou sintomas característicos da doença somente em plântulas de aveia. Na caracterização morfológica dos conídios, o fungo apresentou conídios de coloração castanho - claros que mediram entre 20-53 x 10-15µm e de 1-4 septos. Em crescimento em meio de cultura as colônias apresentaram primeiramente uma coloração que variava entre um cinza a verde

oliváceo, e com o passar do tempo as colônias tornaram-se negras com formação de tufo branco. Utilizou-se nesse experimento sementes de aveia do cultivar UPF - 20 das safras de 2005 e 2006 naturalmente infectadas com incidência de 81,75 %. O fungicida guazatina apresentou o melhor controle do patógeno 97 %, na temperatura de 40 °C e com quatro horas de imersão. Com este tratamento as sementes não foram afetadas negativamente quanto a germinação e vigor, ficando entre 88 e 86 % respectivamente. Seguidos dos fungicidas iprodiona que obteve controle de 95 % e o fungicida tiram com controle de 92 %. A germinação e vigor das sementes tratadas com iprodiona foram de 94 e 66% e com tiram foram de 94 e 85% respectivamente. A faixa térmica letal ao patógeno e a semente foi obtida nas temperaturas de 60 e 70 °C para os três fungicidas e imersão a partir de 1 hora. Quanto a transmissão de *D. avenae* para órgãos aéreos de aveia, a temperatura que obteve eficiência máxima na transmissão assintomática foi de 16 °C. Sendo que a transmissão foi de 23, 56 % a partir de uma amostra com 54,5 % de incidência. Não se observou a transmissão sintomática nos coleóptilos das plântulas de aveia. E experimento de campo não houve diferença dos efeitos do tratamento de semente na área abaixo da curva de progresso da helmintosporiose, assim como, também não houve diferença quanto à incidência do patógeno nas sementes colhidas, sendo a incidência na testemunha de 17 % e 18 % nas sementes tratadas. A flutuação temporal dos esporos no ar sobre as parcelas das sementes não tratadas e tratadas mostrou que o inóculo teve origem na semente. Confirmou-se com o presente trabalho que o fungo *D. avenae* é um

fungo de difícil controle, uma vez que não foi possível erradicá-lo das sementes de aveia.

**Palavras - chave:** helmintosporiose, patogenicidade, patologia de sementes, tratamento de sementes, termoterapia, fungicidas.

***Drechslera avenae*: QUANTIFICATION OF INCIDENCE AND CONTROL OF THE TRANSMISSION FROM SEEDS TO ABOVE GROUND PLANT PARTS IN OATS**

**ABSTRACT** – Oat crop represented by *Avena sativa* and *A. strigosa* species, is one of the main alternative crops for farming during the winter in the South of Brazil. The fungus causal agent of oat helminthosporiosis is *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif, which survives in seeds and in crop residues. Oat helminthosporiosis is present in all areas where the crop is cultivated. Its general occurrence is because the causal agent is in association with the seeds, being spread for long distances. When infected seeds are planted, the disease symptoms may be visualized in the coleoptyles or as lesions on plumules. This occurs, because the available methods of control are not enough to eradicate the pathogen from seeds. The objectives of the present work were: a) to screen an efficient method for detection of *D. avenae* in oats seeds; b) to quantify the incidence of the fungus in oats seeds in different counties of the Rio Grande do Sul state; c) to isolate, perform the pathogenicity test and to identify the causal agent; d) to develop a methodology for seed treatment aimed at to eradicate the fungus from infected seeds, to prevent the fungus transmission from seeds to the leaves. The experiments were conducted in the

Laboratório de Fitopatologia of Faculdade de Agronomia and Medicina Veterinária of University of Passo Fundo. A total of 38 oats seeds samples were plated in gerboxes containing culture media and incubated in a growth room. The Reis selective medium was more sensitive in the detection of *D. avenae* and *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler in white and black oats than the potato dextrose medium (PDA); for *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem., the PDA medium was the most sensitive in white oats, but for black oats there was no statistical differences between media. In the quantification of the fungus in white and black oats seeds in the different counties, the minor and greater incidence of *D. avenae* in white oats seeds varied from 12 - 76 % and in black oats from 4 - 90 %. For *A. alternata* varied from 3 - 53 % and 2 - 31% white and black oats respectively and in *B. sorokiniana* in white oats from 0 - 16% and 0 3%. in black oats. The fungus *D. avenae* was confirmed as being the causal agent of leaf and grains spots in oat crop. In the pathogenicity test performed with oats, wheat, rye and barley seedlings, the fungus only presented characteristic symptoms on oats leaves. In the morphologic characterization of the fungus conidia presented spores chestnut – clear in color measuring between 20-53 x 10-15µm and with 1-4 septa. In culture medium colonies presented a color varying from ash to green-olive, and later they became black with white sectors. The pathogenicity test was conducted with oats seeds cultivar UPF – 20 harvested in 2005 and 2006 growing seasons and having an incidence of 81.75 %. The guazatine fungicide presented the best control of the fungus (97 %), at the temperature of 40 °C and with four hours of immersion. With this treatment the seeds germination and vigor were

not negatively affected presenting 88 and 86 % respectively. The fungicides iprodione showed a 95 % control and the fungicide thiram 92 % control. The germination and vigor of the seeds treated with iprodione were 94 and 66% and with thiram 94 and 85% respectively. The fungus eradication was achieved in thermal range of 60 to 70°C for the three fungicides and 1,0 hour immersion. However, seed germination and vigor were 0,0 %. The most favorable temperature for maximum symptomless transmission efficiency of *D. avenae* from seeds to above ground plant parts, was 16 °C. Under this condition transmission was of 23, 56 % for a sample with 54,5 % of incidence. The symptomatic transmission to coleoptiles was not observed. In the field experiment there was no difference for the seed treatment effect according to the area under disease progress curve as well for the incidence of the pathogen in the harvested seeds; the incidence in the control (untreated seeds) was 17 % and 18 % for treated ones. The temporal fluctuation of the spores in the air over the plots of treated and untreated seeds showed that that inoculum had origin in the seed. In this work eradication of the pathogen associated to oat seed was not achieved by all tested methods and their interactions, thus confirming that the fungus *D. avenae* is one of the most difficult control.

**Key words:** helminthosporiosis, pathogenicity, seed pathology, seed treatment, thermotherapy, fungicides.



## 1 INTRODUÇÃO

A aveia é uma das principais culturas utilizadas no Sul do Brasil, quando se visa à diversificação na exploração agrícola. Sua área de cultivo vem crescendo continuamente devido à necessidade de culturas alternativas para rotação no inverno (CBPA, 2006)

O estado do Paraná é o maior produtor de aveia branca (*Avena sativa* L.) do Brasil, seguido do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. No passado, a cultura encontrava-se restrita a pequenas áreas, onde servia para a produção de massa verde para a forragem ou pastoreio e posterior colheita de grãos. Atualmente, a aveia branca tem por finalidade a produção de grãos, forragem verde, feno, silagem e cobertura verde/morta de solo de inverno, antecedendo a implantação de culturas de verão, especialmente pelo sistema de semeadura direta (ROSA et al., 2003).

A aveia apresenta uma grande importância econômica, devido as suas múltiplas utilizações, como forrageira ou na forma de grãos. Na alimentação animal o seu maior uso é no pastoreio de bovinos, ovinos, caprinos ou no uso da aveia na forma conservada: feno ou silagem (CBPA, 2006).

Os grãos de aveia são destinados basicamente ao arração animal, e em torno de 20 % da produção mundial é processada para elaboração de alimentos para seres humanos (CBPA, 2006).

Os cultivares destinados à produção de grãos pertencem à espécie *Avena sativa* L., a qual se estima que ocupe cerca de 80 % da

área mundial de aveia destinada à produção de grãos. A aveia preta (*Avena strigosa* Schreb), como planta forrageira, apresenta áreas relativamente pequenas, tendo expressão no Conesul da América do Sul (Brasil, Argentina e Chile) (CBPA, 2006).

Esse cereal desempenha um importante papel na sustentabilidade do sistema de semeadura direta, pois os atuais cultivares de aveia branca tem alta capacidade de produção de palha, com alta relação C/N e, portanto, menor velocidade de decomposição (CBPA, 2006). O problema dessa menor velocidade de decomposição é quando se visa à eliminação de fungos necrotróficos que sobrevivem em os restos culturais, sendo este um dos principais meios de sobrevivência de fungos patogênicos, servindo também como fonte de inóculo primário, o que pode acarretar em epidemias nas lavouras comerciais.

Através da integração lavoura-pecuária, muitos agricultores do Sul, semeiam cultivares de aveia branca, imediatamente após a colheita das culturas de verão (soja e milho), nos meses de março a maio, realizam pastoreio no inverno e colhem grãos do rebrote. A produção de grãos é menor em relação ao não pastoreado e o peso do hectolitro dos grãos é baixo. Estes grãos são utilizados principalmente no arração de animais nas propriedades (CBPA, 2006).

No Mato Grosso do Sul, São Paulo, Goiás e Sul de Minas Gerais, o cultivo de aveia é destinado, principalmente, para a produção de grãos, seja na época das chuvas (janeiro a maio) ou sob condições de irrigação no período maio/setembro (CBPA, 2006).

Frente aos novos potenciais de utilização, a aveia deixou de ter importância apenas como forrageira e a utilização de grãos na alimentação animal e passou a participar na constituição de vários produtos alimentícios e cosméticos. O aumento da demanda resultou no aumento da área cultivada com aveia, que se tornou possível com a utilização de cultivares adaptados, desenvolvidos por programas de melhoramento genético executado por instituições brasileiras (CBPA, 2006).

O progresso genético obtido, nas últimas décadas, permitiu a completa substituição dos cultivares antigos, introduzidos no início dos anos 70 dos Estados Unidos, por cultivares modernos desenvolvidos pelos programas de melhoramento genético do país. Juntamente com a melhoria das técnicas de manejo da produção possibilitou aos agricultores do Sul do Brasil obter elevados rendimentos e qualidade de grãos e com isso eliminando a necessidade de importação de aveia de outros países com grande economia de divisas (CBPA, 2006).

Um dos fatores limitantes para a produção da aveia na região sul do país é a ocorrência de doenças foliares, incluindo a ferrugem (*Puccinia coronata* Cda. f. sp. *avenae* Erikss). Em anos recentes, as doenças foliares causadas por fungos necrotróficos, são frequentemente observadas causando prejuízos no rendimento de grãos (MEHTA, 1999).

Manchas nos grãos de aveia branca, cujo principal agente causal é *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif., aumentou sua frequência e incidência nos últimos anos devido a mudanças nas práticas culturais. Dentre elas, destacam-se a utilização de aveia como cultura

de cobertura do solo para semeadura direta com rotação adequada e o emprego de cultivares suscetíveis (BOCCHESE et al., 2006).

Devido aos danos causados por *D. avenae* em sementes e órgãos aéreos da aveia, necessita-se de estratégias de controle e/ou erradicação do patógenos de uso prático pelo sistema de produção de grãos.

Com isso objetivou-se nesse trabalho identificar e selecionar um método de detecção *D. avenae* em sementes de aveia através de comparação métodos; identificar o agente causal de manchas nos grãos de aveia, como também, desenvolver uma metodologia utilizando fungicidas associados à termoterapia, capaz de erradicar o fungo *D. avenae* em sementes de aveia e/ ou reduzi-lo, evitando-se assim, sua transmissão aos órgãos aéreos e epidemias nas lavouras comerciais.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura da aveia

A cultura da aveia é representada pelas espécies *Avena sativa* L, e *Avena strigosa* Schreb., e sua área cultivada vem crescendo continuamente no Sul do Brasil, tornando-se uma das principais alternativas para o cultivo durante o inverno. Um dos fatores que contribuem para o aumento da área cultivada com aveia, foi a adequação do sistema de cultivo tradicional, em substituição ao trigo ou cevada, na rotação de culturas no inverno. O outro fator é por não ser suscetível aos patógenos agentes causais de manchas foliares e de podridões radiculares dos demais cereais de inverno (REIS et al., 1999a).

A aveia é hoje um cereal adaptado às mais diferentes regiões edafoclimáticas, cultivada em todos os continentes do mundo devido ao intenso melhoramento genético e à variabilidade existente, que confere a esta cultura múltiplas formas de utilização (CBPA, 2003).

O cultivo da aveia no Brasil vem crescendo continuamente em área e rendimento nos últimos anos, classificando-se, em 2004, como a sétima cultura em área cultivada e a oitava em produção de grãos com 299.000 hectares cultivados, obtendo-se uma produção de 411.000 toneladas, o que corresponde a um rendimento médio de 1.374 kg.ha<sup>-1</sup>. O cultivo da aveia visando à produção de grãos, à forragem e a adubação verde, está concentrado no sul do Brasil,

especialmente nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina. No Mato Grosso do Sul, São Paulo e Sul de Minas Gerais, o cultivo é destinado à produção de forragem, com aumento crescente também da área destinada à produção de grãos desse cereal (CBPA, 2006).

O aumento da área cultivada de aveia pode ser atribuído a necessidade de diversificação nas propriedades, aos preços favoráveis do mercado interno, barreiras à importação, disponibilidade de cultivares com potenciais de rendimento superior, ao aumento do consumo humano de alimentos a base de aveia, o desenvolvimento de bacias leiteiras e da terminação de bovinos nas regiões tradicionais de produção de grãos em pastagem cultivada e o grande consumo pelos eqüinos, nos hipódromos e haras (CBPA, 2006).

O aumento significativo da área de plantio de aveia no sul do Brasil, que teve como consequência a sua auto-suficiência, é o resultado de um manejo intensivo de solo e estratégias de cultivo, incluindo a aplicação de fungicidas para reduzir danos e o uso efetivo de medidas para aumentar a produtividade e garantir a qualidade dos grãos. O sucesso dos programas de melhoramento e a elevação do potencial de rendimento dos novos cultivares aumentaram a proporção da aveia dentre os cereais de inverno no sistema de rotação de culturas. No entanto, a importância de algumas doenças fúngicas, como fatores limitantes de rendimento, tem aumentado consideravelmente (MARTINELLI, 2003).

A aveia utilizada para o consumo humano ou animal necessita de qualidade compatível com a exigência do mercado consumidor, sendo avaliadas muitas características como a cor externa

e interna dos grãos, o percentual de proteínas, além de outros itens (Tamaki, 1998 apud BOCCHESI et al., 2001).

Manchas nos grãos de aveia é um fator limitante para a sua comercialização, tornando o produto escuro e não possibilitando seu uso pela indústria alimentícia, tornando-se um problema para o sistema de produção brasileiro (BOCCHESI et al., 2001; ROSA et al., 2003).

## **2.2 Helmintosporiose da aveia**

No Brasil, o agente causal da helmintosporiose da aveia, foi relatado pela primeira vez por Costa Neto no Rio Grande do Sul, nos municípios de Porto Alegre, em 1953, Encruzilhada do Sul, em 1957 e Passo Fundo, em 1960 (Costa Neto, 1967 apud LÂNGARO, 1998).

Essa doença tem sido relatada em todas as áreas do mundo onde a aveia é cultivada, tendo como agente causal o fungo *Drechslera avenae* (Eidam) Scharif (forma imperfeita) ou *Pyrenophora avenae* Ito & Kurib. (forma perfeita) (ELLIS, 1971).

Um dos fatores limitantes para o cultivo da aveia na região sul do Brasil é a ocorrência de doenças foliares e da ferrugem da aveia. A helmintosporiose vem sendo frequentemente observada causando prejuízos apreciáveis no rendimento e na qualidade de grãos (MEHTA, 1999).

A ocorrência de grãos manchados deprecia o produto e impede sua comercialização, resultando na perda total dos lotes que

apresentam alta porcentagem de grãos escurecidos (ROSA et al., 2003).

### 2.2.1 Etiologia

O agente causal da helmintosporiose da aveia apresenta em seu ciclo de vida dois estádios ou fases de reprodução distintas, assexuadas ou anamórfico e sexuada ou teleomórfico, tendo para cada estádio uma morfologia que as caracteriza. E por apresentar dois estádios morfológicos distintos eles estão classificados em classes também distintas dentro de um mesmo Filo do Reino Fungi.

Em pesquisa realizada por Blum et al. (1999) foi constatada a presença de três estádios do ciclo de vida do agente causal da helmintosporiose da aveia, sendo elas: um teleomórfico (ascósporos de *P. avenae*) e dois anamórficos (conídios e picnídios de *D. avenae*). Então, pela primeira vez no Brasil, confirmou-se a etiologia da helmintosporiose da aveia e também a presença de mais um estádio do ciclo do fungo.

No estádio assexuado, também chamado de anamórfico, forma imperfeita, o fungo pertence ao filo Ascomycota, classe Deuteromycetes, classe Hyphomycetes, ordem Hyphomycetales, família Dematiaceae, gênero *Drechslera*, espécie *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif. (ELLIS, 1971).

Na forma imperfeita os conidióforos do fungo emergem isoladamente ou em grupos de 2 a 4, são cilíndricos, retos ou flexuosos, septados, freqüentemente geniculados, as vezes dilatados



da base, pardos, lisos, com comprimentos acima de 350  $\mu\text{m}$  e espessura de 8-11  $\mu\text{m}$  (ELLIS, 1971).

Conforme descrito por Ellis (1971), os conídios raramente apresentam-se em cadeia podendo ser observados de 2-3 conídios, eles geralmente apresentam-se solitários, retos, cilíndricos e com as extremidades arredondadas, podendo algumas vezes apresentar-se levemente afilados em direção ao ápice, raramente obclavados, lisos, pardo-oliváceos ou amarelo-claros, apresentando de 1-9 septos e medindo 30-170 x 11-22  $\mu\text{m}$  quando produzidos nos tecidos do hospedeiro, ou 2-5 septos e medindo 30-60 x 12-15  $\mu\text{m}$  quando produzidos em meio de cultura.

Segundo Blum et al. (1999) a germinação dos conídios ocorre lateralmente e com mais frequência na célula basal. Também se observou a ocorrência da germinação nos pólos, associados à germinação lateral. O número de septos variou de 1 a 9.

Além de conídios de *D. avenae* e de ascósporos de *P. avenae*, encontram-se picnídios de *D. avenae*, sobre restos culturais e sementes infectadas de aveia formando-se também em meio de cultura. Os picnídios apresentam forma globosa a piriforme desenvolvendo-se superficial ou parcialmente submersos no tecido do hospedeiro, imersos ou na superfície do meio de cultura ou em micélio aéreo, com poucas setas firmes e negras formadas na superfície do picnídio. Os conídios são unicelulares, hialinos e esféricos ou elipsoidais. No Brasil, este foi o primeiro relato de sua ocorrência (BLUM et al., 1999).

No estágio sexuado também chamado de teleomórfico, forma perfeita, o fungo pertence ao filo Ascomycota, classe

Loculoascomycetes, ordem Pleosporales, Família Pleosporaceae, gênero *Pyrenophora*, espécie *Pyrenophora avenae* Ito & Kurib (ELLIS, 1971).

Em pseudotécios encontrados sobre restos culturais, foram observadas ascas hialinas, cilíndrico-clavadas, bitunicadas, retas a levemente curvadas, medindo 199-233 x 45-62  $\mu\text{m}$ . Os ascósporos apresentaram-se amarelo-claros, elipsoidais a cilíndricos, arredondados nas extremidades, constrictos nos septos, com 3 a 7 septos transversais e com e sem septos longitudinais, em uma ou mais células. Estes esporos mediram 33-57 x 14-22  $\mu\text{m}$ . O número de septos transversais é uma característica fundamental que diferencia *P. avenae* das demais espécies do gênero (BLUM et al., 1999).

Segundo Blum et al., (1999) até então, não havia sido encontrada na bibliografia referência à existência de mais de 6 septos transversais em ascósporos de *P. avenae*.

### **2.2.2 Ciclo de vida de *Drechslera avenae***

Os fitopatógenos necrotróficos, como *D. avenae* são classificados quanto a seus requerimentos nutricionais e, devido a essa classificação, apresentam em seu ciclo de vida duas fases, fase parasitária e fase saprofítica.

Na fase parasitária o patógeno explora células e tecidos do hospedeiro vivo e causam sintomas como as manchas foliares. Nestas manchas determinam primeiro a morte dos tecidos pela ação das toxinas. As células do limbo foliar vão sendo mortas conforme o micélio do patógeno coloniza o hospedeiro. Deste modo, comportam-

se como saprófitas sobre hospedeiros vivos, pois primeiro destroem o protoplasma do qual se nutrem saprofiticamente (REIS & CASA, 1998).

Na fase saprofítica o patógeno continua a explorar nutricionalmente os tecidos do hospedeiro após a senescência, ou seja, nos restos culturais (REIS & CASA, 2004).

### **2.2.2.1 Fontes de inóculo**

As principais fontes de inóculo do patógeno são constituídos pelas sementes, restos culturais e por hospedeiros voluntários.

As sementes infectadas introduzem o inóculo nas lavouras. A transmissão semente-plântula pode ser visualizada pela presença de lesões nas plúmulas. Essa transmissão é denominada de ciclo primário, ou seja, é a primeira geração do patógeno na cultura. A doença teve origem do inóculo presente na semente. Sendo assim, a semente constitui-se na principal fonte de inóculo em lavouras em que se pratica a rotação de cultura (REIS & CASA, 1998).

A partir do inóculo do ciclo primário, ocorrem na cultura vários ciclos da doença, denominado de ciclo secundário que é a segunda e demais gerações do patógeno na cultura. Como consequência, o patógeno é disseminado dentro da lavoura, o que leva a um aumento no número de plantas atacadas e, também, na intensidade da doença em cada planta (REIS & CASA, 1998).

A principal fonte de inóculo secundário, no entanto, são os conídios produzidos na superfície das folhas basais mortas, as quais

são rapidamente colonizadas pelo fungo sob condições de alta umidade e temperatura, em especial a partir de outubro, por ocasião da formação dos grãos (Martinelli, dados não publicados apud MARTINELLI et al., 2003).

Posteriormente o inóculo é mantido nos restos culturais infectados em lavouras de monocultura (REIS et al., 2001).

Nos restos culturais são produzidos tanto conídios de *D. avenae* como pseudotécios de *P. avenae*. A partir da palha o inóculo facilmente atinge as folhas da planta de aveia do novo cultivo feito em monocultura. Não foram encontrados dados na literatura sobre os requerimentos de temperatura e de duração do molhamento contínuo para que ocorra a infecção nem sobre sua relação com a intensidade da doença (REIS et al., 2001).

Segundo Reis et al. (1999a) no plantio direto, a totalidade dos restos culturais é deixada na superfície do solo, favorecendo a multiplicação dos fungos necrotóficos na fase saprofítica. Neste caso, a densidade de inóculo é abundante e encontra-se em posicionamento ideal para a inoculação de patógeno na cultura recém – estabelecida. Uma vez introduzido, numa nova região por meio de sementes, o parasita terá nos restos culturais infectados a principal fonte de inóculo primário.

Neste patossistema, a semente introduz o inóculo em novas áreas, a monocultura (presença de restos culturais) garante a presença indefinida do parasita na lavoura e o plantio direto assegura as condições ótimas à sobrevivência e à inoculação (REIS et al., 1999a).

Os hospedeiros voluntários são plantas originadas de grãos deixados sobre o solo na lavoura durante a colheita (perda da

colhedora) e que vegetam, espontaneamente, no verão-outono, sem o devido controle. Recebem várias denominações regionais, como extemporâneas, guaxas, voluntárias e tigüera (REIS & CASA, 2007).

Segundo Reis & Casa (2007), essas plantas vegetam fora de sua época de cultivo, comportando-se como se fossem cultivadas em duas safras seguidas, numa mesma lavoura, num mesmo ano agrícola. Funcionam como pontes verdes, assegurando a presença de tecidos vegetais vivos para os parasitas biotróficos, podendo também ser encontrados os parasitas necrotróficos.

Com a adoção de sistema plantio direto e a utilização da aveia preta como cultura de cobertura do solo, a qual não é devidamente manejada, os parasitas biotróficos perenizam-se em muitas lavouras, visto que essas práticas contribuem decisivamente para a sua sobrevivência. Também tem sido observado que a helmintosporiose da aveia passou de uma doença de importância secundária para a mancha foliar mais importante dessa cultura em razão desse manejo deficiente. Hoje, facilmente se encontra em sementes de aveia incidência do agente causal da doença superior a 90%. A perenização da aveia (hospedeiro voluntário) transformou, assim, a doença de importância secundária em doença epidêmica, tornando-se um exemplo clássico de como o manejo de culturas é determinante no desenvolvimento de doenças. As plantas voluntárias devem ser eliminadas através do manejo correto de herbicidas logo após a emergência, já que os parasitas necrotróficos também as infectam (REIS et al., 2001).

### 2.2.2.2 Disseminação, transporte e transmissão

As sementes se constituem no mais eficiente agente de disseminação e no mais seguro abrigo à sobrevivência dos patógenos. A disseminação passiva direta ocorre quando o patógeno se utiliza de órgãos ou de partes do hospedeiro para a sua sobrevivência e disseminação. Através dessa associação, os patógenos sempre acompanham os hospedeiros, deles não se separando, pois dependem nutricionalmente da planta cultivada. A associação dos patógenos às sementes garante o acesso direto do parasita à fonte nutricional por ocasião da germinação e emergência. Na natureza ocorre um processo cíclico, indefinido quanto à duração, de infecção da semente durante a sua formação na lavoura e a posterior passagem, ou transmissão dos patógenos aos órgãos aéreos e radiculares do hospedeiro. Nesta ocasião reinicia-se a fase parasitária, a qual é detrimental à planta (REIS & CASA, 1998).

Conforme Reis & Casa (1998), através do veículo semente, os patógenos são levados a distâncias consideráveis, como de um estado ou país para outro, no processo de comercialização. A semente também reintroduz o patógeno nas lavouras em que se pratica a rotação de culturas.

Segundo Reis et al. (1999a), além da semente, o fungo pode ser disseminado pelo vento e/ou por respingos de água da chuva, na forma de conídios e ascósporos produzidos nos restos culturais.

Os conídios de *D. avenae* e os ascósporos de *P. avenae* são disseminados a curtas distâncias, pelo vento ou mesmo respingos de água (Shaner, 1981 apud BLUM, 1997).

Sendo assim, a disseminação é passiva direta quando veiculada por sementes e indireta por ventos e respingos de água (FORCELINI & REIS, 1997).

Os patógenos podem estar associados à sementes tanto dentro como fora, ou entre elas. Sendo assim, o transporte de patógenos por sementes pode ser efetuado de três maneiras: a) o patógeno pode acompanhar a semente, mas não se aderir a elas, encontra-se em mistura com as sementes, fazendo parte da fração impura do lote. As sementes podem estar misturadas a fragmentos de restos culturais infectados como glumas, ráquis e nós; b) o patógeno pode estar aderido externamente à semente, nesse caso diz-se que a semente está infestada. Nessa associação o patógeno é transportado por adesão passiva à superfície das sementes; c) o patógeno está localizado internamente na semente, seja nas camadas externas ou no embrião. Esta é a maneira mais freqüente de transporte dos patógenos. Nessa condição, as sementes são consideradas infectadas, levando as chances de transmissão do patógeno das sementes a progênies maiores (REIS & CASA, 1998; MACHADO, 2000).

Por ser um fungo necrotrófico e apresentar em seu ciclo biológico duas fases, parasitária e saprofítica *D. avenae* tanto pode ser transportado associado internamente às sementes como também em à restos culturais.

Segundo Bocchese et al. (2001), a localização de *D. avenae* nos tecidos da cariopse de aveia, é superficial e limitada aos três tecidos do pericarpo.

A transmissão de patógenos refere-se à passagem dos patógenos para os órgãos aéreos das plantas. Durante o processo de

germinação da semente, o micélio que se encontrava no pericarpo ou no endosperma reassume o seu crescimento, passando do interior à superfície da semente (LÂNGARO, 1998).

Esse processo é muito importante, pois garante a continuidade do ciclo vital dos patógenos, ao assegurar-lhes a fonte nutricional a seu crescimento e esporulação (REIS & CASA, 1998).

Segundo Machado (2000) a transmissão diz respeito à passagem de um patógeno de uma geração a outra, seja a partir de uma ou mais sementes às plantas emergentes oriundas de um mesmo lote, seja a partir de plantas doentes no campo de produção, às sementes em formação. O transporte de patógenos por sementes não implica na sua eventual transmissão entre gerações subseqüentes. Por outro lado, a passagem ou transferência de inóculo entre plantas de uma mesma geração, ou entre sementes de um mesmo lote, implica em disseminação ou dispersão de patógenos.

Em experimentos conduzidos por Reis & Soares (1995) a quantificação da transmissão de *D. avenae* de sementes para plúmulas e extremidades apicais do coleóptilo de uma amostra com incidência de 69,75% foi de 32,5 % para transmissão sintomática e de 48 % para assintomática.

Segundo Lângaro (1998), a transmissão de *D. avenae* para órgãos aéreos de aveia foi de 38,44 % e 31,10 % para transmissão sintomática e assintomática respectivamente, a partir de sementes de aveia com incidência de 58%.



### 2.2.2.3 Processo infeccioso

O processo de infecção de patógenos em tecidos vegetais se dá pelos seguintes eventos: germinação dos esporos, penetração, colonização e estabelecimento do patógeno nos tecidos (infecção), que somente ocorre se as condições ambientais forem favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Após a germinação dos esporos (conídios ou ascósporos), ocorre a formação do apressório e a penetração pode ocorrer em qualquer local da superfície da folha, mas frequentemente na junção de paredes celulares. O início da infecção ocorre quando o apressório produz hifas que colonizam as células do hospedeiro entre 12 a 20 horas após a deposição do esporo sobre a superfície da folha. O crescimento inicial do fungo é intercelular. Após determinado período, ocorre um colapso nas células do mesofilo, as células hospedeiras adquirem um tom pardo necrosando-as (Arora et al., 1978; Harder & Haber, 1992 apud LÂNGARO, 1998).

O processo de colonização ou infecção das sementes ocorre durante o desenvolvimento da doença nas infrutescências (espigas e panículas) onde o patógeno causa sintomas de manchas em glumas ou branqueamento de espiguetas. No caso da aveia o ataque do fungo *D. avenae* passa através das glumas para a semente em formação, ou seja, é direto à cariopse.

Segundo Bocchese et al. (2006), o período de maior suscetibilidade dos grãos de aveia para o estabelecimento de *D. avenae* ocorre no estágio de grão leitoso e massa mole.

O aumento da umidade, volume e maior disponibilidade de nutrientes dos grãos ocorrem a partir de 21 dias após a polinização, que coincide com os estádios de maior suscetibilidade a *D. avenae*. Com o crescimento dos grãos, estes podem entrar em maior contato com os demais componentes florais infectados, contribuindo para o acesso deste fungo e, assim, predispondo os grãos à infecção neste período (BOCCHESE et al., 2006).

Conforme Bocchese et al. (2006), a maior incidência de *D. avenae* ocorre nos componentes florais mais externos, glumas, páleas e lemas, do que nos carpelos, nos estádios de florescimento e grão aquoso. As características morfológicas da semente de aveia dificilmente permitiriam contato direto dos esporos do fungo com o grão. Conseqüentemente, estes precisam penetrar e colonizar sucessivamente, via proliferação micelial, gluma lema pálea, sendo estas as barreiras físicas iniciais para a formação da mancha nos grãos.

Em experimentos conduzidos nos anos de 2000 e 2001 por Rosa et al. (2003) a produção de conídios de *D. avenae* sobre folhas mortas de aveia foi influenciado pela precipitação pluviométrica, sendo que em 2000 a produção foi menor que em 2001. Em 2000 foi de  $2,7 \times 10^4$  conídios/g de matéria seca e em 2001 foi de  $28,4 \times 10^4$  conídios/g, justamente quando as cariopses estavam em estádio de grão de massa mole. As temperaturas médias máximas e mínimas e precipitação acumulada foram de 29,1 e 20,4 °C e precipitação 42,3 mm em 2000 e de 22,3 e 15,6 °C e precipitação de 14,8 mm em 2001. Entende-se com esse trabalho, que quanto menor precipitação acumulada durante a época de cultivo, maior é a produção de conídios.

Em pesquisa conduzida por Bocchese et al. (2006), confirma o exposto acima, onde experimentos conduzidos em 2001 e 2002 avaliando-se a incidência de *D. avenae* e número de grãos manchados mostraram grandes diferenças na precipitação pluviométrica acumulada que foi de 84,2 mm em 2001 e de 286,7mm em 2002. Sendo que, em 2001 a incidência mais alta foi de 72 % e a percentagem de grãos manchados foi de 74,6 %, já em 2002 foi de 27 e 48,9 % respectivamente.

Após a germinação da semente e a emergência da plântula a campo, o micélio reassume sua atividade e atinge o coleóptilo. O micélio pode crescer tanto interna quanto externamente, quando então infecta a plúmula. Alguns dias após a emergência da primeira folha esta pode apresentar lesões causadas por *D. avenae*. A frutificação do patógeno ocorre sobre as lesões com posterior disseminação de propágulos a novos sítios de infecção, como folhas da própria planta ou de plantas vizinhas. Desta forma, o patógeno reintroduz-se na lavoura, e volta a reencontrar os órgãos fotossintéticos do hospedeiro, completando seu ciclo biológico (MARTINELLI et al., 2003).

#### **2.2.2.4 Sobrevivência**

Os patógenos procuram não se separar de seus hospedeiros, por isso, são capazes de desenvolver mecanismos de sobrevivência como, por exemplo, o desenvolvimento de estruturas de resistência ou repouso, sobrevivência em sementes, restos culturais hospedeiros secundários e voluntários, conídios dormente no solo entre outros.

A aveia é uma planta de cultivo anual que senesce ao final do ciclo. Os patógenos dessa cultura, como *D. avenae*, para garantir sua sobrevivência na ausência de tecido do hospedeiro, desenvolvem estratégias de sobrevivência nas sementes e nos restos culturais (BLUM, 1997).

O termo sobreviver é empregado no sentido de o patógeno manter-se vivo, ou viável, no período no qual o hospedeiro, uma planta anual, por exemplo, não está sendo cultivada, ou seja, o tecido suscetível vivo está ausente (REIS & CASA, 2004).

A principal ameaça ou adversidade à viabilidade dos fitopatógenos, nesse período, não é a ação da temperatura (muito baixa ou alta), mas sim a inanição ou morte pela fome e competição microbiana. A morte por inanição ocorre quando os fitopatógenos estão na fase saprofítica. Pois, é nessa fase que os fitopatógenos enfrentam grande competição pelo substrato, em geral levando desvantagem com relação aos organismos decompositores da matéria orgânica, mais aptos a este ambiente de alta competitividade pelo substrato (REIS & CASA, 2004).

As sementes garantem a sobrevivência do patógeno na ausência do hospedeiro vivo por longos períodos (MARTINELLI et al., 2003).

Segundo Reis & Casa (2004), a maneira mais evoluída e eficiente de sobrevivência de fungos necrotróficos é estar associado à semente. Isso garante, indefinidamente, a continuidade do ciclo vital de determinado fitopatógeno, e um exemplo dessa associação, como já mencionado é *D. avenae* em sementes de aveia.

A presença de fungos necrotróficos na lavoura, assegura a infecção nas sementes, as quais, por sua vez, garantem a volta do patógeno à lavoura em áreas livres dos mesmos (REIS et al., 1999a).

Segundo Reis & Casa (1998) a semente, durante armazenamento apresenta teores de água muito baixos de 12 a 13 %, oferecendo ao patógeno infectante um ambiente adverso ao desenvolvimento micelial. Em decorrência dessa condição, tanto o patógeno como a semente encontraram-se em estado de dormência. O termo dormência, na fase de sobrevivência, significa que o microrganismo está latente, ou dormente, e não explora nutricionalmente o hospedeiro, isto é, encontra-se metabolicamente paralisado (REIS & CASA, 2004).

Na fase saprofítica, o micélio de *D. avenae* continua a colonizar os tecidos mortos do hospedeiro, produzindo esporos durante a entressafra, tanto tempo quanto existirem nutrientes para o patógeno. Nas lavouras em que o agricultor pratica a monocultura e principalmente quando os restos culturais permanecem na superfície do solo, é assegurada por maior período de tempo a sobrevivência dos patógenos nos restos culturais. É por meio desta prática que os patógenos necrotróficos são realinhados a cada seis a sete meses, quando o agricultor volta a semear a mesma espécie vegetal na mesma área (Reis, 1987b apud REIS et al., 1999a).

### **2.3 Sintomatologia**

Os sintomas comuns da helmintosporiose em órgãos aéreos, caracterizam-se por manchas foliares largas, elípticas ou oblongas, de coloração variando de azuladas a arroxeadas. As lesões se difundem pelo limbo foliar, coalescendo e, eventualmente, necrosando todo o tecido. Sob condições favoráveis, o fungo avança para as brácteas e panículas, estabelecendo-se nos grãos, onde permanece de um ano para outro. Quando as sementes infectadas são plantadas, lesões necróticas, estreitas e marrons podem ser visualizadas no coleóptilo das plântulas. Trata-se da manifestação dos sintomas em função da transmissão do patógeno da fonte primária do inóculo, as sementes, para os órgãos aéreos (FORCELINI & REIS, 1997; REIS et al., 1999a; REIS et al., 2001).

A severidade da doença pode variar de acordo com a cultivar, podendo chegar a níveis de até 80% da área foliar infectada. Combinações de umidade alta e a temperatura baixa aliado a suscetibilidade de algumas cultivares são os fatores responsáveis pela alta severidade da doença (MEHTA, 1999).

Os sintomas em sementes foi descrito por Bocchese et al. (2001) as quais apresentam-se com escurecimento generalizado na superfície do grão, sobre as três camadas superficiais da cariopse, cuja intensidade varia de marrom claro a preto dependendo da densidade do micélio e da sua atividade no local.

### **3 Detecção de patógenos em sementes**

A análise de rotina de sanidade de sementes contribui para a avaliação da qualidade de lotes de sementes em culturas de importância econômica, provavelmente devido ao fato de suas sementes transportarem patógenos que podem causar danos à germinação ou quando transmitidas aos órgãos aéreos causar doenças na cultura afetando a produção (MORAES, 1995).

Para a análise da sanidade de sementes, podem ser utilizados vários métodos de detecção, e sua escolha, depende da semente a ser analisada e dos patógenos a serem quantificados; o que depende também, do interesse de quem solicita a análise (se o interesse é quantificar todos os patógenos presentes nas sementes ou somente determinados patógenos que quando transmitidos aos órgãos aéreos podem causar grandes danos à lavoura). Para isso, existem meios de cultura seletivos que permitem detectar patógenos específicos e não seletivos que permitem detectar um maior número de patógenos presentes nas sementes.

Os testes de sanidade de sementes visam fornecer subsídios ao tratamento químico das sementes (ZAMBOLIM, 2004).

#### **3.1 Detecção em meios agarizados**

O fundamento da incubação de sementes em meio agarizado consiste no estímulo à formação de colônias típicas dos fungos a partir de sementes (MACHADO, 1988).

Nos meios de cultura agarizados, as sementes são semeadas em recipientes como as placas de petri ou em gerboxes contendo o meio e incubação sob condições controladas. O princípio de avaliação deste método é o exame macroscópico das colônias formadas pelos fungos, levando-se em consideração as características das mesmas e esporulação, permitindo a identificação mais rápida dos patógenos envolvidos (LUCCA FILHO, 1987).

Para a obtenção de dados confiáveis da relação entre transporte de patógenos por sementes e danos na cultura, é fundamental a existência de métodos sensíveis que permitam detectar e quantificar o inóculo nas sementes (MENTEN, 1995).

Para detecção de microrganismos associados às sementes, existem vários testes, entretanto, nem todos permitem o desenvolvimento de todos os patógenos presentes ou de patógenos específicos, alvo de estudos.

Em um método de detecção mais exigente em termos de assepsia, uma vez que a preparação e a manipulação indevidas de meios microbiológicos como BDA (batata-dextrose-ágar), que são apropriados para o cultivo de um grande número de fungos, podem comprometer a validade do teste pela interferência de contaminações indesejáveis (NEERGAARD, 1983; MACHADO 1988).

No método de detecção utilizando-se o meio de cultura BDA, para eliminar ou reduzir a contaminação do meio por microrganismos indesejáveis, as sementes são submetidas ao pré-tratamento com hipoclorito de sódio a uma concentração de 1 a 2% por um período de tempo de até 10 minutos (MACHADO, 1988).



Segundo Barba et al. (2002), o desempenho do meio BDA pode ser inferior quando a semente não for desinfestada, pois a presença de contaminantes de crescimento rápido, como *Trichoderma* spp. *Rhizopus* spp. e *Fusarium* spp. podem, em pouco tempo, cobrir completamente o gerbox, dificultando a identificação e detecção do fungo alvo.

Quando a análise de patológica de sementes visa detectar a presença de fungos específicos, o emprego de meios seletivos ou semi-seletivos torna-se uma ferramenta de extremo valor para o fitopatologista, pois evita o desenvolvimento de contaminantes, favorecendo eficientemente a detecção e identificação do patógeno alvo (Richardson, 1985 apud BARBA, 2001).

O princípio do meio seletivo para detecção de um fungo específico é a exclusão seletiva de microrganismos indesejáveis que podem interferir no desenvolvimento do fungo – alvo de estudo (TSAO, 1970).

Em geral, os meios seletivos constituem-se de modificações ou adaptações de meios agarizados já utilizados rotineiramente em testes de detecção. Sendo que, estas modificações podem ser feitas pela adição ou redução de substâncias químicas como fungicidas e antibióticos e também modificações nutritivas do meio.

Em experimentos conduzidos por Lângaro (1998), os métodos que apresentaram-se mais sensíveis na detecção de *D. avenae* de um total de 10 métodos comparados com um padrão (meio seletivo de Reis (Reis, 1983)) foram os métodos osmótico, seletivo de Reis e aquecimento com incidência de 61,50 %, 49,25 % e 41,75% respectivamente.

Na pesquisa feita por Reis et al. (1999b), foi avaliada a eficiência de oito métodos de detecção, avaliando-se a incidência de cinco espécies de fungos, os quais desenvolveram-se com maior incidência no meio seletivo de Reis com 80,75 % de *B. sorokiniana* em sementes de trigo, 40,25 % de *D. avenae* em sementes de aveia, 28,75 % de *D. teres* em sementes de cevada e 6,25 % *D. tritici-repentis* em sementes de trigo. Já na pesquisa realizada por Barba et al. (2002), foram testados sete métodos *B. sorokiniana* que apresentou a maior incidência também no meio seletivo de Reis com 43 % de incidência em sementes de cevada.

#### **4 Controle**

As estratégias de controle recomendadas visam, principalmente, a redução de inóculo nas fontes primárias, sejam elas sementes ou restos culturais. Através da semente infectada o patógeno é introduzido em novas áreas. Isto deve ser evitado pelo uso de sementes saudáveis ou, ainda, pelo tratamento de sementes com o método eficiente de modo a erradicar o patógeno (FORCELINI & REIS, 1997).

Os tratamentos fitossanitários aplicados de forma correta e no momento adequado evitam danos ao ambiente e contribuem para a estabilidade da produção de aveia diminuindo a disseminação de fungos fitopatogênicos nas lavouras (CBPA, 2003).

A simples constatação da presença de um microrganismo, mesmo que patogênico, em sementes não é suficiente para garantir a passagem do patógeno para a plântula proveniente da semente

infectada. Entretanto, a associação patógeno-semente indica o potencial de transmissão e o conseqüente estabelecimento da doença por ocasião da semeadura no campo se as condições do ambiente forem favoráveis (MENTEN & BUENO, 1987).

Pelo exposto acima por Menten & Bueno (1987), explica-se a necessidade de se obter metodologias eficientes de tratamento de sementes que visem a erradicação dos patógenos necrotróficos que podem ser transmitidos para os órgãos aéreos das sementes, causando manchas foliares.

O fato de controlar doenças na fase que antecede à implantação de uma lavoura ou por ocasião da semeadura, faz com que o tratamento de sementes seja considerado na agricultura moderna umas das medidas mais recomendadas, possibilitando um menor uso de defensivos químicos e, conseqüentemente, evitando problemas graves de poluição do ambiente (MACHADO, 2000).

#### **4.1 Tratamento de sementes visando a erradicação de fungos necrotróficos de sementes**

O tratamento de sementes para o controle de doenças visa eliminar os patógenos se sementes e proteger tanto a semente como as plântulas dos patógenos do solo. Isto possibilita manter ou melhorar a qualidade sanitária da semente, evitando a disseminação de microrganismos patogênicos (SOAVE & MORAES, 1987).

O tratamento de sementes tem como objetivos a eliminação ou erradicação do inóculo infectivo associado às sementes; proteção da semente por ocasião da germinação e fase inicial de

desenvolvimento, garantindo o estabelecimento pleno da cultura; proteção da parte aérea da planta contra doenças oriundas de outras fontes no campo de cultivo e prevenção da transmissão e disseminação de inóculo por meio de sementes, evitando ou reduzindo os riscos de epidemias (MACHADO, 2000).

A presença de patógenos necrotróficos na semente de cereais de inverno tem assegurado uma duração indefinida do patógeno com o hospedeiro. Isso porque os métodos de controle hoje disponíveis não são suficientes para erradicá-los. A eficácia de controle inferior a 100 % não é suficiente e tem levado a retardar o avanço no desenvolvimento de tecnologia na busca de processos erradicantes (REIS & CASA, 1998).

Segundo Reis & Casa (1998), a erradicação de patógenos em sementes é uma tarefa difícil. Por isso, poucos avanços ou sucessos foram obtidos e, portanto, publicados. Algumas dificuldades podem ser atribuídas à associação íntima do patógeno com o hospedeiro.

Conforme Menten (1996) o tratamento de sementes é a última alternativa para a obtenção de sementes “livres” de patógenos; deve-se sempre considerar a possibilidade da produção de sementes sadias através do manejo do campo de produção, beneficiamento visando a eliminação de sementes portadoras de patógenos (peneiras, mesa gravitacional, separação pela cor), armazenamento sob condições adequadas e seleção dos melhores lotes após análise sanitária das amostras.

O tratamento de sementes é uma das técnicas mais utilizadas na agricultura moderna. A sua eficiência depende,

basicamente, do tipo e localização do patógeno alvo, do vigor da semente e da existência de substâncias ou processos eficazes (MENTEN, 1996).

Segundo Machado (2000), o tratamento de sementes para o controle de patógenos, pode ser praticado utilizando-se diversos recursos, os quais são baseados em conhecimentos de pesquisa, que derivam da ação ou interferência de fatores diretamente sobre os patógenos ou sobre as doenças que esses agentes causam.

Basicamente, existem três modalidades ou três técnicas que podem ser empregadas no tratamento de sementes, sendo elas: tratamentos químicos, físicos e biológicos, dos quais será dado ênfase nessa revisão aos dois primeiros.

Conforme descrito por Machado (2000), a combinação desses recursos tem sido uma tática recomendável para o controle de inúmeros patógenos. A razão da existência de diferentes recursos para o tratamento de sementes tem seu fundamento no fato de que a diversidade e natureza dos agentes causadores de doenças são enormes e nem sempre um único método de tratamento propicia 100 % de controle de todos os casos.

#### **4.1.1. Tratamento químico**

Entende-se por tratamento químico a aplicação de fungicidas, antibióticos e nematicidas às sementes. É o método mais comum de se tratar sementes, sendo de grande valor comercial (MENTEN, 1996)

O emprego de fungicidas eficientes em tratamento de sementes de cereais de inverno tem por objetivo principal reduzir, aos níveis mais baixos possíveis, a taxa de transmissão dos patógenos, visando, apenas secundariamente a elevação de emergência. A melhoria da qualidade fisiológica das sementes é, portanto, consequência e não objetivo do tratamento com fungicidas (FORCELINI, 1995).

Muitas vezes, mesmo sem apresentar sintomas externos, as sementes de aveia podem estar infectadas por agentes causais de doenças. Em função disso, as sementes podem ser tratadas quimicamente, visando reduzir a transmissão de fungos fitopatogênicos, como é o caso de *D. avenae* na lavoura (CBPA, 2006).

Segundo Forcelini (1995) sementes já debilitadas por microrganismos patogênicos ou por más condições de colheita e armazenamento, não são revigoradas por meio deste método. Por este motivo, o primeiro passo a ser observado é a qualidade da semente a ser tratada, a qual deve possuir bom vigor e poder germinativo.

Patógenos localizados na superfície externa e no pericarpo das sementes são facilmente controlados pelo tratamento com fungicidas; entretanto, quando o patógeno localiza-se no embrião, o controle torna-se mais difícil, sendo necessário o tratamento térmico e ou emprego de fungicida sistêmico. O controle quando se emprega o tratamento térmico ou fungicida que se destina a erradicar um patógeno, no interior dos tecidos, pode resultar em morte do embrião ou reduzir a germinação das sementes. Há casos em que o método de controle não afeta a germinação, porém, não se consegue eficiência de

controle satisfatória. Portanto, a dose do fungicida sistêmico assim como o binômio tempo-temperatura, para o tratamento de sementes, são cruciais e deve ser trabalhado caso a caso. Daí como a erradicação do patógeno dos tecidos internos da semente, nem sempre é levada em consideração, tem-se como resultado, a introdução de patógenos nos campos de cultivo pelas sementes (ZAMBOLIM, 2004).

Conforme Reis & Soares (1995), concluíram que *D. avenae* é um fungo de difícil controle, pois em experimentos conduzidos pelos autores, nenhum dos fungicidas e misturas testadas controlam 100% da incidência, sendo que o controle foi de 1,47 % com triadimenol (25% EC), 10,29 % com tiram (70 % PS), 21,5 % com a mistura de iprodiona (20 %) + tiram (60 % PM) e de 29,78 % com a mistura de tiram (35,5 %) + carboxim (35,5 %) todos comparados em relação com a testemunha que apresentava 69,75 % de incidência de *D. avenae*.

Já em pesquisa realizada por Lângaro (1998), os fungicidas triadimenol (533 mL/ 100kg de sementes) controlou 97,16 % da incidência de *D. avenae*, iprodiona (600 mL/100 kg de sementes) foi de 95,18 %, iminocadina (600 mL/100 kg de sementes) o controle foi de 88,55 % e triacetato de iminocadina (350 mL/100 kg de sementes) foi de 81,43 %.

Segundo Reis & Casa (1998), o fungo *D. avenae* é difícil de ser controlado, possivelmente devido à barreiras apresentadas pela casca das sementes, uma vez que em sementes descascadas observou-se menor incidência do patógeno.

Um dos pontos críticos do tratamento de sementes diz respeito a incidência do patógenos nas sementes. O conhecimento da

incidência do patógeno e as partes da semente onde o patógeno se encontra são condições para que se tenha sucesso no tratamento químico. Na prática, dificilmente essa informação é fornecida, nos testes de sanidade, devido à falta de metodologia específica para os organismos que infectam as sementes, principalmente para os fungos (ZAMBOLIM, 2004).

#### **4.1.2. Tratamento físico (termoterapia)**

A termoterapia é utilizada como medida erradicativa de controle de muitos patógenos localizados, interna ou externamente, nas sementes de cereais, de hortaliças, e partes vegetativas utilizadas para a propagação, como toletes de cana-de-açúcar (DHINGRA et al., 1980).

A termoterapia aplicada às sementes consiste na exposição das sementes à ação do calor em combinação com o tempo de tratamento, visando à erradicação ou redução do inóculo infectivo de um agente causador de doenças. Trata-se de uma medida que requer rigoroso controle do binômio temperatura e tempo de exposição (MACHADO, 2000).

O princípio da termoterapia baseia-se no diferencial dos pontos térmicos letais, no caso de sementes e patógenos, considerando-se que o sucesso do tratamento será tanto maior na medida que esses pontos estejam mais distanciados um do outro. A medida se aplica obviamente aos casos em que o ponto térmico letal da sementes é maior que o ponto letal do patógeno (DHINGRA et al., 1980; ; SOAVE & MORAES, 1987; MACHADO, 2000).



A termoterapia se sementes emprega, como veículo de transferência de calor, água, ar seco e vapor. A eficiência desses veículos decresce na ordem de água – vapor arejado e calor seco, sendo a água no estado líquido o veículo mais eficaz, proporcionando uma condutividade de calor duas a cinco vezes maior em relação aos demais veículos (MACHADO, 2000).

O tratamento utilizando água quente pode causar desnaturação dos tecidos externos das sementes, porém, não afetando substancialmente, dentro de um determinado período de tempo, os tecidos de reserva que possibilitem a germinação das sementes (MACHADO, 2000).

Segundo Dhingra et al. (1980), o tratamento com água quente foi o primeiro método de tratamento de sementes aplicado às sementes. Foi desenvolvido por Jensen, em 1887, para controlar o carvão voador do trigo e, desde então, com diversas variações, tem sido um dos métodos de tratamento a quente, mais utilizados.

Conforme descrito por Machado (2000), a ação do calor através dos tecidos das sementes, sendo uniforme e constante, pode atingir o inóculo infectivo dos patógenos localizados mais profundamente nos tecidos dos vegetais, o que nem sempre é possível de ser alcançado com outras formas de tratamento.

Por tratar-se de uma metodologia que requer o uso de equipamentos de precisão no controle de temperatura e período de tratamento, a termoterapia é mais utilizada no tratamento de pequenos volumes de sementes, sendo direcionado para algumas espécies de olerícolas (MACHADO, 2000).

Pequenas oscilações da temperatura e tempo de tratamento podem causar sérios danos à qualidade das sementes submetidas à termoterapia. Nesses casos, a precisão e a qualidade do equipamento são requisitos fundamentais para o sucesso desse tipo de tratamento. A termoterapia é, portanto, uma medida restrita à indústria de sementes, não sendo recomendada para o uso popular entre os agricultores (MACHADO, 2000).

Os principais prejuízos da termoterapia são o retardamento ou redução da germinação e a diminuição do vigor (Menten, 1996). Ainda, segundo o autor, a pré-imersão das sementes em solução de polietilenoglicol a 30 % pode amenizar estes efeitos.

É importante que a relação volume de semente: água seja não inferior a 1:5 para que haja um máximo contato das sementes com a água quente; as sementes devem ser colocadas em um saco poroso ou recipiente de tela e a água deve ter circulação forçada. Após o tratamento, deve-se imediatamente, proceder o resfriamento em água e a secagem através de ventilação forçada (SOAVE & MORAES, 1987; MENTEN, 1996).

## CAPITULO I

**COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS PARA A DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS EM SEMENTES DE AVEIA BRANCA (*Avena sativa* L.) E PRETA (*Avena strigosa* SCHREB.) NO RIO GRANDE DO SUL****MIRELLA FIGUEIRÓ DE ALMEIDA<sup>1</sup> E ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>**

**RESUMO** - A cultura da aveia, representada pelas espécies *Avena sativa* e *A. strigosa*, é uma das principais alternativas para o cultivo durante o inverno no Sul do Brasil. Os patógenos dessa cultura, como *Drechslera avenae* causador da helmintosporiose, sobrevive em sementes e nos restos culturais. Em experimentos conduzidos em laboratório foram testados dois meios de cultura, batata-dextrose-ágar (BDA) e seletivo de Reis visando selecionar o mais sensível na detecção de *D. avenae*. Também foram avaliadas as incidências de *Alternaria alternata* e de *Bipolaris sorokiniana*. Outro objetivo foi quantificar a incidência dos fungos em sementes de aveia produzidas em municípios do Rio Grande do Sul. Um total de 38 amostras foram plaqueadas em gerboxes contendo os meios de cultura e incubadas em câmara climatizada. O meio seletivo de Reis mostrou-se mais sensível na detecção de *D. avenae* e *A. alternata* em aveia branca e preta; já para *B. sorokiniana*, o meio BDA foi o mais sensível em aveia branca, para aveia preta não houve diferença estatística. Na quantificação de

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia - mirellafa@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Orientador, Eng. Agr., Dr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF - erleireis@tpo.com.br

fungos em sementes de aveia branca e preta nos diferentes municípios, a menor e maior incidência de *D. avenae* em sementes de aveia branca variou de 12 a 76 % e em aveia preta de 4 a 90 % , para *A. alternata* variou de 3 a 53 % e 2 a 31% em aveia branca e preta respectivamente e *B. sorokiniana* em aveia branca de 0 a 16% e 0 a 3%. em preta.

**Palavras - chave:** *Drechslera avenae*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*, helmintosporiose, patologia de sementes

**COMPARISON OF TWO METHODS FOR DETECTION AND  
QUANTIFICATION OF PATHOGENIC FUNGI IN WHITE  
(*Avena sativa* L.) AND BLACK OATS (*Avena strigosa* Schreb.)  
SEEDS IN THE RIO GRANDE DO SUL STATE**

**ABSTRACT** - Oat crop, represented by the species *Avena sativa* and *A. strigosa*, is one of the most important alternatives for the agriculture during the winter in the Southern Brazil. The oat pathogen *Drechslera avenae* causal agent of helminthosporiosis, survives in seeds and in crop residues. In experiments conducted in the laboratory two culture media were tested, potato-dextrose-agar and Reis selective, aiming at to select the most sensitive in the detection of *D. avenae*. It was also evaluated two other fungi common in seeds *Alternaria alternata* and *Bipolaris sorokiniana* . Another objective was to quantify the incidence of the fungi in oat seeds produced in some counties of Rio Grande do Sul state. A total of 38 seeds samples were plated in gerboxes containing the culture media and incubated in growth room. The selective Reis medium was more sensitive in the

detention of *D. avenae* and of *A. alternata* in white and black oats; on the other hand for *B. sorokiniana*, the PDA medium was most sensitive in white oats, and for black oats there was no statistical difference. In the quantification of fungi in white and black oats seeds in the different counties, the minor and greater incidence of *D. avenae* in white oats seeds varied from 12 to 76 % and in black oats from 4 to 90 %, for the *A. alternata* varied from 3 to 53 % and 2 to 31% in white and black oats respectively and *B. sorokiniana* in white oats from 0 to 16% and 0 to 3% in black oats.

**Key words:** *Drechslera avenae*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*, helminthosporiosis, seed pathology.

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura da aveia, representada pelas espécies *Avena sativa* L, e *A. strigosa* Schreb., ocupa uma grande área cultivada no Sul do Brasil, tornando-se uma das principais alternativas para o cultivo durante o inverno. Um dos fatores que contribuíram para o aumento da área cultivada com aveia, foi a adequação do sistema de cultivo tradicional, em substituição ao trigo ou cevada, na rotação de culturas no inverno. A aveia é a principal cultura alternativa para rotação com demais cereais de inverno, por não ser suscetível aos patógenos agentes causais de manchas foliares e de podridões radiculares do trigo e da cevada (REIS *et al.*, 1999 a).

O cultivo da aveia visando à produção de grãos, à forragem e a adubação verde, estão concentrados no sul do Brasil, especialmente nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina. No Mato Grosso do Sul, São Paulo e Sul de Minas Gerais, o cultivo é destinado à produção de forragem, mostrando aumentos para a produção de grãos (CBPA, 2003).

O aumento significativo da área de plantio de aveia no sul do Brasil, que teve como consequência a sua auto-suficiência, é o resultado de um manejo intensivo de solo e estratégias de cultivo, incluindo a aplicação de fungicidas para reduzir danos e o uso efetivo de medidas para aumentar a produtividade e garantir a qualidade dos grãos. O sucesso dos programas de melhoramento e a elevação do potencial de rendimento dos novos cultivares aumentaram a proporção da aveia dentre os cereais de inverno no sistema de rotação de culturas. No entanto, a importância de algumas doenças fúngicas, como fatores limitantes de rendimento, tem aumentado consideravelmente (MARTINELLI, 2003). Como consequência de seu manejo inadequado à aveia, principalmente aveia preta encontra-se perenizada, na maioria das lavouras do Sul do Brasil. Em especial observou-se um aumento da mancha foliar e do grão denominada “helminthosporiose da aveia causada pelo fungo *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif” estando diretamente relacionada com o sistema de plantio direto (REIS *et al.*, 1999a; MARTINELLI, 2003).

Manchas nos grãos de aveia é um fator limitante para a sua comercialização, desvalorizando o produto, tornando-se um problema para o sistema de produção brasileiro (BOCCHESI *et al.*, 2001).

Sementes são insumos básicos na produção agrícola moderna. Cerca de 90 % dos alimentos são produzidos através de sementes. Todas as espécies cultivadas propagadas por sementes apresentam doenças como fator responsável pela redução na produtividade. Os danos causados por patógenos associados às sementes não foram globalmente quantificados. Os danos ocorrem pela ação de enzimas, toxinas e reguladores de crescimento produzidos pelos patógenos (MENTEN, 1995).

As maiorias dos patógenos associados às sementes são transmitidos para a parte aérea das plântulas e podem ser visualizados através de sintomas característicos (lesões). Nestas lesões o patógeno se reproduz e seus propágulos são disseminados e inoculados em tecidos da própria planta e em plantas vizinhas, aumentando a quantidade de doença na área cultivada. Quanto maior a incidência do patógeno nas sementes maior será a porcentagem de focos no campo e mais cedo terá início a epidemia (MENTEN, 1995).

A análise de rotina de sanidade de sementes contribui para a avaliação da qualidade de lotes de sementes em culturas de importância econômica, provavelmente devido ao fato de suas sementes transportarem patógenos que podem causar danos à germinação ou quando transmitidas aos órgãos aéreos causar doenças na cultura afetando a produção (MORAES, 1995).

Para a análise da sanidade de sementes, podem ser utilizados vários métodos de detecção, e sua escolha, depende da semente a ser analisada e dos patógenos a serem quantificados; o que depende também, do interesse de quem solicita a análise (se o interesse é quantificar todos os patógenos presentes nas sementes ou

somente determinados patógenos que quando transmitidos aos órgãos aéreos podem causar grandes danos à lavoura). Para isso, existem meios de cultura seletivos que permite detectar patógenos específicos e não seletivos que permite detectar um maior número de patógenos presentes nas sementes.

Nos meios de cultura agarizados, as sementes são semeadas em recipientes como as placas de Petri ou em gerboxes contendo o meio e incubação sob condições controladas. O princípio de avaliação deste método é o exame macroscópico das colônias formadas pelos fungos, levando-se em consideração as características das mesmas e esporulação, permitindo a identificação mais rápida dos patógenos envolvidos (LUCCA FILHO, 1987).

Para a obtenção de dados confiáveis da relação entre transporte de patógenos por sementes e danos na cultura, é fundamental a existência de métodos sensíveis que permitam detectar e quantificar o inóculo nas sementes (MENTEN, 1995).

Para detecção de microrganismos associados às sementes, existem vários testes, entretanto, nem todos permitem o desenvolvimento de todos os patógenos presentes ou de patógenos específicos, alvo de estudos. Com isso, um dos objetivos da pesquisa foi comparar dois métodos de detecção utilizando-se meios de cultura agarizados e estabelecer o mais sensível na detecção de *D. avenae*. E o outro, foi quantificar a incidência de *D. avenae* em sementes de aveia branca e preta produzidas no Rio Grande do Sul.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF). Amostras de sementes de aveia branca e preta da safra de 2005/06 provenientes de diferentes municípios recebidas no Laboratório de Sementes da FAMV da UPF, foram plaqueadas em gerboxes de acrílico, previamente esterilizados contendo meio de cultura.

Foram utilizadas 10 amostras de aveia branca provenientes dos municípios de Carazinho, Lagoa Vermelha (a), Lagoa Vermelha (b), Passo Fundo (a), Passo Fundo (b), Passo Fundo (c), Passo Fundo (d), Passo Fundo (e), Sarandi, e Vacaria e 28 de aveia preta dos municípios de André da Rocha, Carazinho (a), Carazinho (b), Chapada, Erechim, Ibiraiaras, Ibirubá, Lagoa Vermelha, Lajeado, Palmeira das Missões, Passo Fundo (a), Passo Fundo (b), Passo Fundo (c), Sananduva (a), Sananduva (b), Sananduva (c), Santo Augusto, São José do Ouro, Sarandi, Selbach, Sertão, Soledade, Tapejara, Tapera, Três Palmeira, Trindade do Sul, Vacaria (a) e Vacaria (b) (as letras referem-se a diferentes produtores).

O preparo dos meios de cultura procedeu-se seguindo os protocolos de acordo com Reis (1983) para o meio seletivo de Reis e Fernandez (1993) para o meio batata - dextrose - ágar (BDA).

Meio Seletivo de Reis - o meio de cultura foi preparado dividindo-se em duas partes: Parte A – consistiu de 15 g de batata cozida em 700 mL de água destilada, obtendo-se um caldo de batata que foi colocado em erlemeyer de 2000 mL onde foi adicionado 15 g de ágar e 2,5 g de

sacarose e autoclavado à 120 °C por 20 minutos; e parte B - 0, 50 g de Sulfato de Estreptomicina, 0,30 g de Neomicina e 0,30 g de Benomil, sendo que cada produto foi dissolvido em três balões volumétricos contendo 100 mL de água destilada esterilizada em cada balão. Após autoclavada a parte A foi esfriada a uma temperatura de aproximadamente 45 °C. Em câmara de fluxo laminar as partes A e B foram misturadas e foram adicionados ao meio 5 mL de botram e 3 mL de captam, cada um de uma suspensão estoque que consistiu de 0,20 g de botram e 0,133 g de captam cada um em balões volumétricos contendo 100 mL de água destilada esterilizada.

Foram plaqueadas, com auxílio de pinça previamente flambada, um total de 400 sementes de cada amostra sem assepsia. As sementes foram distribuídas de forma equidistante 25 sementes em cada gerbox (11 x 11 x 3,5 cm de altura) com quatro repetições, totalizando 100 sementes por repetição. As sementes foram incubadas à  $25 \pm 2$  °C em câmara climatizada com fotoperíodo de 12 horas durante 12 dias.

Meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) - o meio de cultura consistiu de 200 g de batata fatiada cozidas em 900 mL de água destilada, obtendo-se 900 mL de caldo de batata que foi colocado em erlenmeyer de 2000 mL e foi adicionado 15 g de ágar e 20 g de dextrose, que foi autoclavado à 120 °C por 20 minutos. Após retirar o meio da autoclave o mesmo foi esfriado a uma temperatura de aproximadamente 45 °C. Em câmara de fluxo laminar foi dissolvido 0,20 g sulfato de estreptomicina em 100 mL de água destilada esterilizada que foi adicionado ao meio BDA (Fernandez ,1993).

As sementes foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 1% por dois minutos antes do plaqueamento nesse meio, após foram lavadas três vezes em água destilada para lavar o resíduo do hipoclorito, então, o plaqueamento das sementes foi procedido conforme descrito no meio seletivo. A análise da incidência do fungo nas sementes foi feita sete dias após o plaqueamento.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados e a unidade experimental constituída por 4 gerboxes contendo 25 sementes cada.

A quantificação da incidência em sementes para os dois meios foi feita sob lupa estereoscópica (50X) considerando-se infectada a semente com presença de conidióforo e/ ou conídio do fungo alvo.

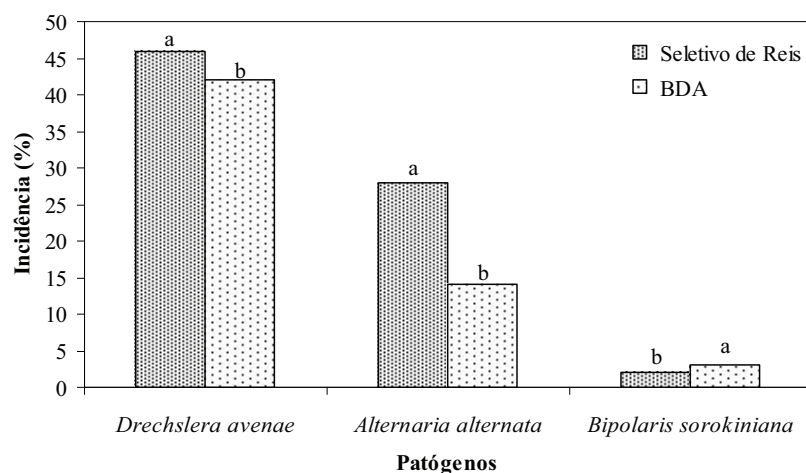
Os dados foram transformados para  $\sqrt{x+1}$  e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na comparação da sensibilidade dos dois meios de cultura e na quantificação da incidência de fungos patogênicos, além de *D. avenae* também foram avaliados a incidência de *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, comumente encontrada em sementes de cereais de inverno e *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.,

Comparando-se os meios de cultura agarizados na detecção de fungos patogênicos pode-se observar que o meio mais sensível na detecção de *D. avenae* e *A. alternata* foi o meio seletivo de Reis tanto

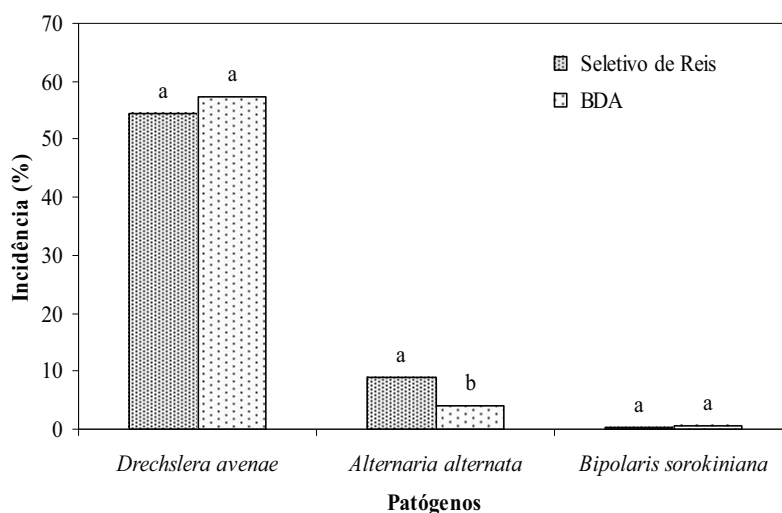
para aveia branca como para preta; já para *B. sorokiniana*, o meio BDA foi o mais sensível em aveia branca, sendo que para aveia preta não houve diferença estatística para os dois meios (Figuras 1 e 2).



**Figura 1** – Comparação de dois meios de cultura para detecção de *Drechslera avenae*, *Alternaria alternata* e *Bipolaris sorokiniana* em sementes de aveia preta. C.V. = 6,30 %, 8,61 % e 13,75 % respectivamente. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

A desinfestação superficial, procedida nas sementes de aveia com hipoclorito de sódio, antes do plaqueamento no meio BDA, foi feita com o intuito de reduzir a incidência de fungos contaminantes que ficam aderidos na superfície das sementes, pois os mesmos podem mascarar a incidência de fungos, alvo de estudos, até porque a concentração do produto utilizado não elimina os contaminantes presentes, somente reduz a incidência, conforme pesquisa realizada por Zorato *et al.* (2001). Em meio seletivo não foi necessário a

desinfestação das sementes devido à composição do meio permitir somente o desenvolvimento de fungos da família Dematiaceae.



**Figura 2** – Comparação de dois meios de cultura para detecção de *Drechslera avenae*, *Alternaria alternata* e *Bipolaris sorokiniana* em sementes de aveia preta. C.V. = 6,53 %, 15,16 % e 23,53 % respectivamente. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Segundo Barba *et al.* (2002), o desempenho do meio BDA pode ser inferior quando a semente não for desinfestada, pois a presença de contaminantes de crescimento rápido, como *Trichoderma* spp., *Rhizopus* spp. e *Fusarium* spp. podem, em pouco tempo, cobrir completamente o gerbox, dificultando a identificação e detecção do fungo alvo.

O presente trabalho vem corroborar com trabalhos de comparação de métodos de detecção de fungos em sementes de

cereais de inverno feitos por Lângaro (1998), Reis *et al.* (1999 b), Barba *et al.* (2002), nos quais o meio seletivo de Reis apresentou-se mais sensível.

De acordo com Lângaro (1998), os métodos que apresentaram-se mais sensíveis na detecção de *D. avenae* de um total de 10 métodos comparados com um padrão (meio seletivo de Reis) foram os métodos osmótico, seletivo de Reis e aquecimento com incidência de 61,50 %, 49,25 % e 41,75% respectivamente.

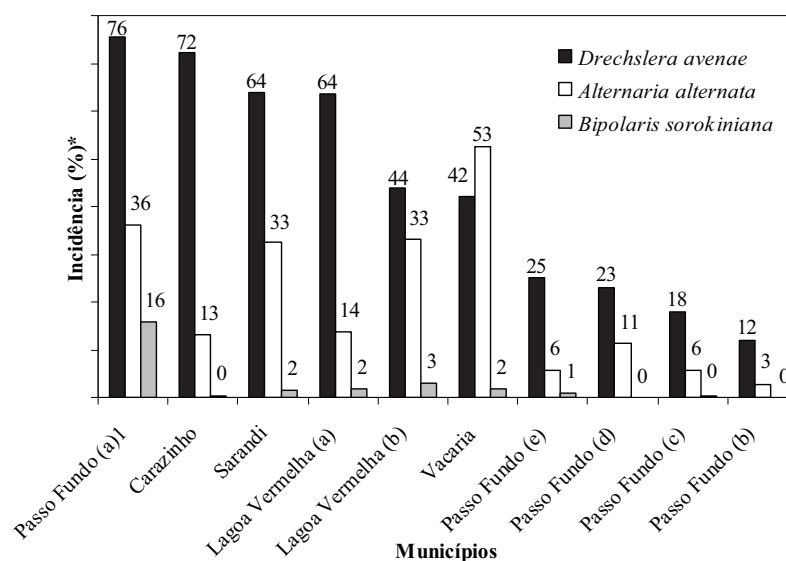
Na pesquisa feita por Reis *et al.* (1999b), foi avaliada a eficiência de oito métodos de detecção, avaliando-se a incidência de cinco espécies de fungos, os quais desenvolveram-se com maior incidência no meio seletivo de Reis com 80,75 % de *B. sorokiniana* em sementes de trigo, 40,25 % de *D. avenae* em sementes de aveia, 28,75 % de *D. teres* em sementes de cevada e 6,25 % *D. tritici-repentis* em sementes de trigo. Já na pesquisa realizada por Barba *et al.* (2002), foram testados sete métodos *B. sorokiniana* que apresentou a maior incidência também no meio seletivo de Reis com 43 % de incidência em sementes de cevada.

O aspecto positivo que deve ser salientado em relação aos métodos de detecção é que o meio seletivo de Reis além de apresentar-se mais sensível, apesar de permanecer incubado por um período de tempo maior que o meio BDA, também permitiu o desenvolvimento somente dos fungos alvo do estudo, sendo assim, um método preciso e seguro de detecção.

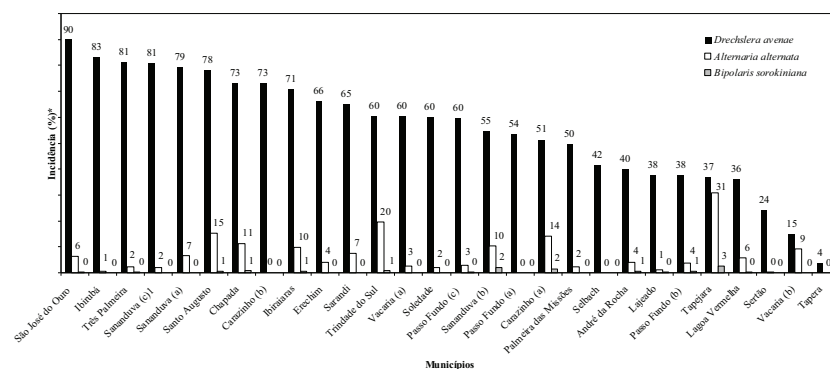
Portanto, sugere-se que o meio seletivo de Reis seja empregado como método de detecção de rotina nos laboratórios de

patologia de sementes quando se deseja conhecer a incidência de fungos patogênicos da família Dematiaceae.

Nas Figuras 3 e 4 estão apresentadas as incidências médias dos fungos detectados em sementes de aveia branca e preta nos diferentes municípios do Rio Grande do Sul, sendo que a maior incidência de *D. avenae* fungo alvo do estudo, em sementes de aveia branca e preta foi de 76 e 90 % nos municípios de Passo Fundo (a) e São José do Ouro respectivamente e a menor incidência foi detectada nos municípios de Passo Fundo (b) com 12 % e Tapera com 4% em sementes de aveia branca e preta, respectivamente.



**Figura 3** - Incidência fungos patogênicos em sementes de aveia branca em diferentes municípios do Rio Grande do Sul. <sup>(1)</sup> = As letras entre parênteses referem-se a diferentes localidades no mesmo município. (\*) = Média dos dois meios de cultura.



**Figura 4** – Incidência de fungos patogênicos em sementes de aveia preta em diferentes municípios do Rio Grande do Sul. <sup>(1)</sup> = As letras entre parênteses referem-se a diferentes localidades no mesmo município. (\*) = Média dos dois meios de cultura.

Em levantamento feito por Reis & Soares (1995) em sementes de aveia proveniente de diferentes municípios dos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso do Sul, a incidência de *D. avenae* variou de 4,25 a 70%. Já *B. sorokiniana* quando constatada apresentou baixa incidência, 1,27 % somente. Confirmou-se a baixa incidência de *B. sorokiniana* em sementes de aveia.

Segundo Carmona *et al.* (2004) em pesquisa desenvolvida na Argentina, a incidência de *D. avenae* detectada em sementes de aveia variou de 0 a 52% de um total de 24 amostras avaliadas provenientes de diferentes localidades .

O presente trabalho mostra que o agente causal da helmintosporiose da aveia *D. avenae* está amplamente distribuído em todos os municípios onde a aveia é cultivada e vem confirmar o que vem sendo observado por pesquisadores de que os patógenos



procuram não se separar do hospedeiro (sementes), sendo a principal fonte de inóculo e disseminação do patógeno. Com a elevada incidência e distribuição de *D. avenae* em sementes de aveia, sugere-se o desenvolvimento de estratégias de controle eficientes que visem à erradicação do patógeno das sementes.

#### **4 CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) A associação de *D. avenae* às sementes de aveia é responsável pela presença da doença em todas as lavouras da cultura.
- b) O método mais eficiente na detecção de *D. avenae* em sementes de aveia é o meio seletivo de Reis.

## CAPITULO II

### IDENTIFICAÇÃO DO AGENTE CAUSAL DA HELMINTOSPORIOSE DA AVEIA

MIRELLA FIGUEIRÓ DE ALMEIDA<sup>1</sup> E ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>

**RESUMO** - A helmintosporiose da aveia é relatada em todas as áreas onde se cultiva aveia, isso ocorre porque o agente causal, *Drechslera avenae*, está em íntima associação com as sementes, sendo assim disseminados a longas distâncias. Quando sementes infectadas são plantadas, os sintomas da doença podem ser visualizadas nos coleóptilos das plântulas. Trata-se da transmissão do patógeno das sementes para os órgãos aéreos. Com o objetivo de identificar o agente causal da helmintosporiose da aveia isolados de sementes naturalmente infectadas, foram procedidas testes de patogenicidade e metodologia de caracterização morfológica do fungo. Confirmou-se *D. avenae* como sendo o agente causador de manchas foliares em aveia e manchas dos grãos. No teste de patogenicidade em plântulas de aveia, trigo, centeio e cevada, o fungo apresentou sintomas característicos da doença somente em plântulas de aveia. Na caracterização morfológica dos conídios, o fungo apresentou conídios de coloração castanho - claros que mediram entre 20-53 x 10-15µm e de 1-4 septos. Em crescimento em meio de cultura as colônias

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia - mirellafa@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Orientador, Eng. Agr., Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

apresentaram primeiramente uma coloração que variava entre um cinza a verde oliváceo, e com o passar do tempo as colônias tornaram-se negras com formação de tufos brancos.

**Palavras – chave:** *Drechslera avenae*, patogenicidade, morfologia de conídios

### **IDENTIFICATION OF THE CAUSAL AGENT OF OATS HELMINTHOSPORIOSIS**

ABSTRACT – Oats Helminthosporiosis is a disease reported in all the areas where oats are cultivated, once the causal agent, *Drechslera avenae*, is associated to the seeds, which favors its spread to long distances. When infected seeds are planted, the disease symptoms may be noticed in coleoptyles and plumules. This is a result of the pathogen transmission process from seeds to the foliage. The objective of this research was to identify the causal agent of helminthosporiosis of oats isolated from infected seeds. Hence a pathogenicity test and the morphologic characterization of the fungus were performed. The pathogenicity test in oats, wheat, rye and barley seedlings the fungus only caused characteristic symptoms of the disease in oats. In the morphologic characterization of conidia, the spores were chestnut – clear color, measured 20-53 x 10-15µm and presenting 1 - 4 septa. Growing in culture medium the colonies first presented a color varying from gray to olive-green, and later the colonies become black with formation of white sectors. Based on the results it is confirmed

that the fungus *D. avenae* is the causal agent of oats leaf spots and kernels stain.

**key words:** *Drechslera avenae*, pathogenicity, conidia morphology

## 1 INTRODUÇÃO

A helmintosporiose da aveia causada pelo fungo *D. avenae*, tem sido relatada em todas as áreas do mundo onde a aveia é cultivada, tendo como agente causal o fungo *Drechslera avenae* (Eidam) Scharif (forma imperfeita) ou *Pyrenophora avenae* Ito & Kurib. (forma perfeita) (ELLIS, 1971).

O patógeno apresenta em seu ciclo uma fase parasitária, onde explora células e tecidos do hospedeiro vivo e causam sintomas como as manchas foliares. Nestas manchas determinam primeiro a morte dos tecidos pela ação das toxinas. As células do limbo foliar vão sendo mortas conforme o micélio do patógeno coloniza o hospedeiro. Deste modo, comportam-se como saprófitas sobre hospedeiros vivos, pois primeiro destroem o protoplasma do qual se nutrem saprofiticamente (REIS & CASA, 1998).

Os sintomas comuns da helmintosporiose em órgãos aéreos caracterizam-se por manchas foliares largas, elípticas ou oblongas, de coloração variando de azuladas a arroxeadas. As lesões se difundem pelo limbo foliar, coalescendo e, eventualmente, necrosando todo o tecido. Sob condições favoráveis, o fungo avança para as brácteas e panículas, estabelecendo-se nos grãos, onde permanece de um ano para outro. Quando as sementes infectadas são

plantadas, lesões necróticas, estreitas e marrons podem ser visualizadas no coleóptilo das plântulas. Trata-se da manifestação dos sintomas em função da transmissão do patógeno da fonte primária do inóculo, as sementes, para os órgãos aéreos (FORCELINI & REIS, 1997; REIS et al., 1999a; REIS et al., 2001).

Em pesquisa realizada por Blum et al. (1999) foi constatada a presença de três estádios do ciclo de vida do agente causal da helmintosporiose da aveia, sendo elas: o teleomórfico (ascósporos de *P. avenae*) e dois anamórficos (conídios e picnídios de *D. avenae*). Então, pela primeira vez no Brasil, foi relatada a presença de um terceiro estágio no ciclo de vida do fungo *D. avenae*.

No estágio assexuado, também chamado de anamórfico, forma imperfeita, o fungo pertence ao filo Ascomycota, classe Deuteromycetes, classe Hyphomycetes, ordem Hyphomycetales, família Dematiaceae, gênero *Drechslera*, espécie *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif. (ELLIS, 1971).

Conforme descrito por Ellis (1971), os conídios raramente apresentam-se em cadeia podendo ser observados de 2-3 conídios, eles geralmente apresentam-se solitários, retos, cilíndricos e com as extremidades arredondadas, podendo algumas vezes apresentar-se levemente afilados em direção ao ápice, raramente obclavados, lisos, pardo-oliváceos ou amarelo-claros.

Segundo Blum et al., (1999) a germinação dos conídios ocorre lateralmente e com mais frequência na célula basal. Também se observou a ocorrência da germinação nos pólos, associados à germinação lateral. O número de septos variou de 1 a 9.

No estágio sexuado também chamado de teleomórfico, forma perfeita, o fungo pertence ao filo Ascomycota, classe Loculoascomycetes, ordem Pleosporales, Família Pleosporaceae, gênero *Pyrenophora*, espécie *Pyrenophora avenae* Ito & Kurib (ELLIS, 1971).

Em pseudotécios encontrados sobre restos culturais, foram observadas ascas hialinas, cilíndrico-clavadas, bitunicadas, retas a levemente curvadas, medindo 199-233 x 45-62  $\mu\text{m}$ . Os ascósporos apresentaram-se amarelo-claros, elipsoidais a cilíndricos, arredondados nas extremidades, constrictos nos septos, com 3 a 7 septos transversais e com e sem septos longitudinais, em uma ou mais células. Estes esporos mediram 33-57 x 14-22  $\mu\text{m}$ . O número de septos transversais é uma característica fundamental que diferencia *P. avenae* das demais espécies do gênero (BLUM et al., 1999).

Segundo Blum et al., (1999) até então, não havia sido encontrada na bibliografia referência à existência de mais de 6 septos transversais em ascósporos de *P. avenae*.

O objetivo do trabalho foi identificar o fungo causador de manchas em grãos de aveia através do teste de patogenicidade e comparação de características morfológicas dos isolados em meio de cultura para confirmar se o fungo em estudo tratava-se de *D. avenae*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O teste de patogenicidade foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da FAMV da UPF seguindo-se os Postulados de Kock.

O isolamento monospóricoo do fungo *D. avenae* foi feito a partir de sementes naturalmente infectadas, com o auxílio de agulha histológica previamente flambada, conídios do fungo foram transferidos das sementes para um tubo de ensaio contendo 10 mL de água destilada e esterilizada. O tubo foi agitado constantemente para manter os conídios em suspensão, com o auxílio de pipeta 1,0 mL da suspensão foi vertida em placas de Petri contendo ágar-água. As placas foram incubadas a  $25 \pm 2$  °C com fotoperíodo de 12 horas, durante 24 horas. Após o período de incubação, foram retirados pequenos cubos de meio contendo um único conídio germinado, que foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA + sulfato de estreptomicina (200 g de batata + 15 g de ágar e 20 g de dextrose + 0,20 g sulfato de estreptomicina preparado segundo Fernandez (1993)). As placas foram incubadas a  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias, após o patógeno foi caracterizado e identificado.

A partir das colônias do fungo foi obtida uma suspensão de conídios, onde, adicionou-se água destilada e esterilizada na placa com a colônia pura do fungo, com o auxílio de um pincel removeu-se os esporos. A suspensão foi ajustada a uma densidade de 20.000 esporos.mL<sup>-1</sup>, foi adicionada à suspensão uma gota de Tween 20 (polioxietilenosorbitano) para melhorar a distribuição da suspensão do inóculo sobre as folhas. Com o auxílio de borrifador, o patógeno foi

inoculado em plântulas de aveia, foi feita uma câmara úmida, onde as bandejas contendo os vasos com as plântulas foram cobertas por um plástico e formam incubadas em câmara de crescimento a uma temperatura de 22 °C com fotoperíodo de 12 horas. Após 24 horas de incubação os plásticos foram retirados e as plantas permaneceram incubadas até a observação dos sintomas de helmintosporiose sobre o limbo foliar.

As folhas de aveia apresentando sintomas de helmintosporiose foram coletadas, os sintomas foram descritos. Então, foram cortados com um furador de rolhas de 8 mm de diâmetro 25 discos do tecido lesionado, foi procedida a assepsia do material vegetal em hipoclorito de sódio a 1% por dois minutos, procedeu-se a lavagem dos discos por três vezes com água destilada esterilizada para retirar o excesso de hipoclorito. Os discos foram colocados em câmara úmida em gerbox contendo tecido de nylon de 0,5 cm de espessura (espuma), sobreposto por uma camada de papel de filtro que foi encharcado com água destilada esterilizada e incubado em câmara de crescimento a  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas, por 48 horas, induzindo assim a esporulação do fungo sobre o tecido.

A partir das lesões e esporulação produzidas sobre os discos, o patógeno foi novamente isolado em meio de cultura BDA, suas características foram comparadas com as características do fungo isolado das sementes.

Para a confirmação dos sintomas apresentados sobre as folhas de aveia, procedeu-se a inoculação cruzada em plântulas de aveia, trigo, centeio e cevada. Sendo que os sintomas deveriam aparecer somente nas folhas de aveia, já que o patógeno só é descrito



para a cultura da aveia. Os sintomas observados foram comparados e descritos.

Para a identificação do fungo foram mensurados 200 conídios quanto ao comprimento, largura e número de septos e comparados com as descrições contidas na literatura.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As características do fungo em meio de cultura foram feitas após sete dias do isolamento. Tanto para os que foram isolados de sementes quanto para os isolados das folhas de aveia com sintomas característico após a inoculação, as colônias apresentaram primeiramente uma coloração que variava entre um cinza a verde oliváceo, o crescimento do fungo no meio ocorreu rapidamente, fechando a placa entre seis e sete dias. Com o passar dos dias de incubação, as colônias tornaram-se negras com formação de tufo branco a partir do centro das colônias. Características semelhantes foram descritas a partir de experimentos conduzidos por Blum (1997) e Lângaro (1998) com a única diferença de que no presente trabalho não foi observada a coloração rosa claro durante o crescimento do fungo no meio de cultura, como descritos.

No teste de patogenicidade, realizado primeiramente em plântulas de aveia, observou-se as seguintes características: quatro dias após a inoculação, observou-se a formação de pequenas lesões de coloração pardas que com o passar dos dias tornaram-se maiores com formato mais alongado com bordas de coloração arroxeadas e o centro

da lesão levemente mais clara. Com o passar do tempo, as lesões aumentaram de tamanho, necrosando assim, o tecido foliar.

O teste de patogenicidade confirmou-se com a inoculação cruzada realizada em plântulas de aveia, trigo, centeio e cevada, sendo que os sintomas descritos acima foram observados somente nas plântulas de aveia. Vindo a confirmar que o fungo inoculado tratava-se de *D. avenae*, uma vez que, o fungo não é relatado atacando plantas de trigo, centeio e cevada. Os mesmos sintomas também foram observados e descritos por Blum (1997).

Segundo Reis & Casa (2007), o patógeno ataca todos os órgãos aéreos, no entanto seus sintomas são mais visíveis sobre os limbos foliares. Sendo que lesões podem apresentar centro de cor pardo claro e bordos arroxeados. Os mesmos sintomas podem ser observados em bainhas, pedúnculos e glumas.

Quanto às características morfológicas obtidas através de mensurações dos conídios do fungo em estudo, os conídios apresentaram coloração castanho-claro, retos e cilíndricos (Figuras 1 e 2). As dimensões de comprimento e largura mediram entre 20-53 x 10-15  $\mu\text{m}$  e de 1-4 septos por conídio, ficando aproximado das mensurações descritas por Ellis (1971) e Blum (1997) que foram respectivamente de 30-60 x 12-15  $\mu\text{m}$  e número de septos de 2-5 e 27-91 x 10-15  $\mu\text{m}$ , não citando número de septos.



**Figura 1** - a) Conidióforo e conídio de *Drechslera avenae* com um septo; b) Conídio com dois septos.



**Figura 2** - Inserções dos conídios em conidióforo de *Drechslera avenae*.

#### **4 CONCLUSÃO**

Confirma-se pelo presente trabalho que o fungo isolado de sementes trata-se de *D. avenae*, agente causal da helmintosporiose da aveia, específico a essa cultura.

### CAPITULO III

#### DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA TRATAMENTO DE SEMENTES DE AVEIA VISANDO AO CONTROLE DA TRANSMISSÃO DE *Drechslera avenae* PARA ÓRGÃOS AÉREOS

MIRELLA FIGUEIRÓ DE ALMEIDA<sup>1</sup> & ERLEI MELO REIS<sup>2</sup>

**RESUMO** - O cultivo da aveia, branca e preta, no Brasil vem crescendo continuamente em área e rendimento nos últimos anos. O aumento da área cultivada de aveia pode ser atribuído a necessidade de diversificação de cultivo nas propriedades, a disponibilidade de cultivares com potenciais de rendimento superior, rotação de culturas entre outros. No entanto, a importância de algumas doenças fúngicas, dentre elas a helmintosporiose da aveia causada pelo fungo *Drechslera avenae*, como fatores limitantes de rendimento, tem aumentado consideravelmente. As principais fontes de inóculo do patógeno são constituídos pelas sementes, restos culturais e por hospedeiros voluntários. Quando as sementes infectadas são plantadas, lesões necróticas, podem ser visualizadas nos coleóptilo das plântulas, devido a transmissão do patógeno das sementes para os órgãos aéreos. Isso ocorre, porque os métodos de controle em sementes, não são suficientes para erradicá-lo. Com isso, o objetivo do trabalho foi desenvolver uma metodologia de tratamento de sementes

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia - mirellafa@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Orientador, Eng. Agr., Dr., professor da FAMV/PPGAgro/UPF – erleireis@tpo.com.br

visando erradicar o fungo *D. avenae* de sementes de aveia. O fungicida guazatina apresentou o melhor controle do patógeno com 97 % de eficiência, na temperatura de 40 °C e com quatro horas de imersão. Com este tratamento as sementes não foram afetadas negativamente quanto a germinação e vigor, ficando entre 88 e 86 % respectivamente. Seguido do fungicida iprodiona que obteve controle de 95 % e o fungicida tiram com controle de 92 %. A germinação e vigor das sementes tratadas com iprodiona foram de 94 e 66% e com tiram foram de 94 e 85% respectivamente. A erradicação foi obtida nas temperaturas de 60 e 70 °C para os três fungicidas e imersão a partir de 1 hora. Porém, a germinação e o vigor das sementes foram de 0,0 %. Quanto à transmissão de *D. avenae* para órgãos aéreos de aveia, a temperatura na qual ocorreu a máxima transmissão assintomática foi de 16 °C. Neste caso a transmissão foi de 23, 56 % a partir de uma amostra com 54,5 % de incidência. Não se observou a transmissão sintomática nos coleóptilos de aveia. Em experimento de campo não houve diferença dos efeitos do tratamento de semente na área abaixo da curva de progresso da helmintosporiose, assim como, também não houve diferença quanto à incidência do patógeno nas sementes colhidas. As incidências foram de 17 % na testemunha e 18 % nas sementes tratadas. A flutuação temporal dos esporos no ar sobre as parcelas das sementes não tratadas e tratadas mostrou que o inóculo teve origem na semente. Confirmou-se com o presente trabalho que o fungo *D. avenae* é de difícil controle, uma vez que não foi possível erradicá-lo das sementes de aveia em todos os métodos testados.

**Palavras - chave:** helmintosporiose, termoterapia, fungicidas, tratamento de sementes.

**DEVELOPMENT OF METHODOLOGY FOR OATS SEED TREATMENT TO CONTROL THE TRANSMISSION OF *Drechslera avenae* TO ABOVE GROUND PLANT PARTS**

**ABSTRACT** – The white and black oats crop, , in Brazil comes continuously growing in area and income in the last years. The increase of cultivated oats area may be attributed to the necessity of crops diversification, the availability to be cultivated with potentials of superior income, and crop rotation among others. However, the importance of some fungal diseases, among them the oat helminthosporiosis caused by the fungus *Drechslera avenae*, as limiting factor to the farm income, have increased significantly. The main inoculum sources of the pathogen are seeds, crop residues, and volunteer plants. When infected seeds are planted, necrotic lesions, may be seen in coleoptiles and plumules due to the pathogen transmission from seeds to the above ground plant parts. This occurs, because the available methods of control are not enough to eradicate the fungus. Hence the objective of this work was to develop a methodology for seed treatment aimed at to eradicate the fungus *D. avenae* in oats seeds. The guazatine fungicide presented the best pathogen control of 97 %, in the temperature of 40 °C and with four hours of seeds immersion in the aqueous fungicide suspension. With this treatment the seeds were not affected negatively regarding the germination and vigor, being between 88 and 86 % respectively. The

fungicides iprodione achieved a control of 95 % and the fungicide thiram 92 %. Seed germination and vigor treated with iprodione were 94 and 66% and with thiram of 94 and 85% respectively. The thermal range for eradication was between 60 to 70°C for the three fungicides and 1,0 hour of immersion. However, seed germination and vigor were of 0,0 %. The maximum symptomless transmission of *D. avenae* to aerial oats parts occurred at the temperature of 16 °C. The transmission was of 23,56 % from a sample with 54,5 % of incidence. The symptomatic transmission to coleoptiles and plumules was not observed. There were no differences of the effect of the seed treatment in the area under disease progress curve of helminthosporiose both for treated and untreated seed, as well as for the pathogen incidence in the harvested seeds; control incidence of 17 % and 18 % in the treated seeds. The temporal fluctuation of air spores above the plots of treated and untreated seeds showed that the inoculum may have its source in the seed. In this work eradication of *D. avenae* through seed treatment was not reached, hence was confirmed that it is one of the most difficult control.

**Key words:** helminthosporiosis, thermotherapy, fungicides, seed treatment.



## 1 INTRODUÇÃO

O cultivo da aveia, branca e preta, no Brasil vem crescendo continuamente em área e rendimento nos últimos anos. A cultura é a sétima em área cultivada com 299.000 ha e a oitava em produção de grãos com uma produção de 411.000 toneladas, o que corresponde a um rendimento médio de 1.374 kg.ha<sup>-1</sup> (CBPA, 2006).

O cultivo da aveia visando à produção de grãos, à forragem e a adubação verde, está concentrado no sul do Brasil, nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina. No Mato Grosso do Sul, São Paulo e Sul de Minas Gerais, o cultivo é destinado à produção de forragem, com aumento crescente também da área destinada à produção de grãos (CBPA, 2006).

O aumento da área cultivada de aveia pode ser atribuído a necessidade de diversificação de cultivo nas propriedades, aos preços favoráveis no mercado interno, barreiras à importação, disponibilidade de cultivares com potenciais de rendimento superior, ao aumento do consumo humano de alimentos à base de aveia, o desenvolvimento de bacias leiteiras e da terminação de bovinos nas regiões tradicionais de produção de grãos em pastagem cultivada e o grande consumo pelos equinos em hipódromos e haras (CBPA, 2006).

O aumento significativo da área de cultivo de aveia no sul do Brasil teve como conseqüência a sua auto-suficiência, que é o resultado de um manejo intensivo de solo e de estratégias de cultivo, incluindo a aplicação de fungicidas protetores para reduzir danos e o uso efetivo de medidas projetadas para aumentar a produtividade e garantir a qualidade. O sucesso dos programas de melhoramento e a

elevação do potencial dos novos cultivares aumentaram a proporção da aveia dentre os cereais de inverno no sistema de rotação de culturas. No entanto, a importância de algumas doenças fúngicas, como fatores limitantes de rendimento, tem aumentado consideravelmente (MARTINELLI, 2003).

A aveia utilizada para o consumo humano ou animal necessita de qualidade compatível com a exigência do mercado consumidor, sendo avaliadas muitas características como a cor externa e interna dos grãos, o percentual de proteínas, além de outros itens (Tamaki, 1998 apud BOCCHESI et al., 2001).

Manchas nos grãos de aveia é um fator limitante para a sua comercialização, tornando o produto escuro sendo preterido seu uso pela indústria alimentícia (BOCCHESI et al., 2001).

As principais fontes de inóculo do patógeno são constituídos pelas sementes, restos culturais e por hospedeiros voluntários.

Nos restos culturais da aveia são produzidos tanto conídios de *Drechslera avenae* como pseudotécios de *Pyrenophora avenae*. A partir da palha o inóculo facilmente atinge as folhas da aveia do novo cultivo feito em monocultura. (REIS et al., 2001).

O tratamento de sementes para o controle de doenças visa eliminar os patógenos de sementes e proteger as sementes e plântulas dos fungos presentes no solo. Isto possibilita manter ou melhorar a qualidade sanitária da semente, proporcionando população de plantas adequada e evitando a disseminação de microrganismos patogênicos (SOAVE & MORAES, 1987).

A presença de patógenos necrotróficos na semente de cereais de inverno tem assegurado uma associação de duração indefinida do patógeno com o hospedeiro. Isso porque os métodos de controle hoje disponíveis não são suficientes para erradicá-los. A eficácia de controle inferior a 100 % não é suficiente e tem levado a retardar o avanço no desenvolvimento de tecnologia na busca de processos erradicantes (REIS & CASA, 1998).

O emprego de fungicidas eficientes em tratamento de sementes de cereais de inverno tem por objetivo principal reduzir, aos níveis mais baixos possíveis, a taxa de transmissão dos patógenos, visando, apenas secundariamente a elevação de emergência. A melhoria da qualidade fisiológica das sementes é, portanto, consequência e não objetivo do tratamento com fungicidas (FORCELINI, 1995).

A termoterapia é utilizada como medida erradicativa de controle de muitos patógenos localizados, interna ou externamente, nas sementes de cereais, de hortaliças, e partes vegetativas utilizadas para a propagação, como toletes de cana-de-açúcar (DHINGRA et al., 1980).

Na termoterapia a água em estado líquido é o veículo mais eficaz, proporcionando uma condutividade de calor duas a cinco vezes maior em relação aos demais veículos (MACHADO, 2000).

O objetivo da pesquisa foi desenvolver uma metodologia de tratamento de sementes visando erradicar o fungo *D. avenae* de sementes de aveia.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitopatologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo. O presente trabalho constituiu-se de 2 experimentos conduzidos em laboratório e um no campo. Foram utilizadas sementes de aveia do cultivar UPF - 20 das safras de 2005 e 2006 naturalmente infectadas com incidência média de 81,75 %.

### **Experimento 1 – Tratamento de sementes com fungicidas associados a termoterapia**

O tratamento das sementes constou da imersão de sementes em suspensão aquosa dos fungicidas guazatina (25% EC) 0,3 %, iprodiona (50% SC) 0,1 % e tiram (50 SC) 0,3 % em banho-maria em diferentes temperaturas (30, 40, 50, 60 e 70 °C) e tempos de imersão.

Os tratamentos constaram de: 1) Testemunha (sem tratamento); 2) 0 hora (imersão das sementes na suspensão de tratamento e remoção imediata); 3) 1 hora; 4) 2 horas; 5) 3 horas e 6) 4 horas de imersão.

Em cada tratamento, 1.200 sementes foram colocadas em recipientes de tecido de algodão (gaze). Cada recipiente foi submerso em 500 mL da suspensão fungicida contida num recipiente plástico em banho-maria. Após o tempo de cada tratamento, as sementes foram imediatamente retiradas e espalhadas sobre papel de filtro para secagem em ar forçado (ventilador) por 12 horas sobre uma bancada de laboratório.

Após a secagem, 100 sementes de cada tratamento foram plaqueadas em gerboxes de acrílico contendo meio seletivo de Reis (1983) (sendo distribuídas 25 sementes em cada gerbox), com quatro repetições totalizando 400 sementes por tratamento. Os gerboxes foram incubados a  $25 \pm 2$  °C em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 12 horas. As 800 sementes restantes foram submetidas a testes de germinação (400) e vigor (400) no Laboratório de Sementes da FAMV da UPF.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados sendo a unidade experimental constituída por um gerbox contendo 25 sementes.

A quantificação da incidência do fungo nas sementes foi feita 15 dias após o plaqueamento, quantificando-se o número de sementes infectadas sob lupa esteroscópica com 50X de aumento. Foi considerada infectada a semente com presença de no mínimo um conidióforo e conídio do fungo alvo.

Os dados foram submetidos à análise estatística no Programa Statistica 6.0, obtendo-se os gráficos de superfície de resposta.

## **Experimento 2 – Quantificação da transmissão de *Drechlera avenae* de sementes para órgãos aéreos**

A avaliação da transmissão de *D. avenae* de sementes de aveia para coleótilos de plântulas foi conduzida em câmaras de crescimento climatizada. Sementes de aveia naturalmente infectadas pelo fungo foram semeadas em caixas com 30 cm de largura x 50 cm

de comprimento e 10 cm de altura, as quais continham solo turfoso oriundo de um local que a cultura da aveia nunca havia sido cultivada. O substrato foi umedecido a capacidade de campo 24 horas antes da semeadura das sementes.

Foram semeadas 100 sementes em profundidade de 2,0 cm. O experimento constituiu-se por quatro repetições de 100 sementes para cada tratamento. As caixas foram colocadas em câmara climatizada com fotoperíodo de 12 horas durante 30 dias.

Os tratamentos constaram de diferentes temperaturas: 10, 15, 20 e 25 °C para as sementes não tratadas. Nesse experimento, foi determinada a temperatura que melhor promoveu a transmissão máxima do patógeno para os coleóptilos. Com base no exposto acima, foi realizada a quantificação da transmissão das sementes tratadas.

Para quantificar a transmissão, foi necessário fazer o corte das plântulas sobre a superfície do substrato. Para o procedimento de corte das plântulas utilizou-se uma tesoura devidamente flambada para cada coleóptilo removido com a pinça utilizada para o plaqueamento. Os coleóptilos foram cortados, em média, com 1,0 cm de comprimento e plaqueados em gerboxes contendo meio seletivo de Reis (1983). O material foi incubado a  $25 \pm 2$  °C em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 12 horas, por um período de 10 dias. Após esse período, os coleóptilos foram avaliados individualmente, sob lupa estereoscópica (50X) identificando-se a presença das estruturas do fungo determinando a incidência. Foi considerado infectado o coleóptilo sobre a qual o fungo produziu, no mínimo, um conidióforo com um conídio.

Os dados foram submetidos a análise de regressão no programa estatístico SAS onde obteve-se uma equação de regressão.

### **Experimento 3 – Experimento de campo**

Em experimento conduzido no campo foram comparados dois tratamentos: sementes não tratadas (testemunha) e as que obtiveram o melhor controle do fungo alvo no Experimento 1, em locais onde nunca havia sido cultivada a aveia.

Uma semana antes da semeadura no campo foi procedido o monitoramento da presença de esporos de *D. avenae* no ar nos dois locais de semeadura. Foi instalada uma armadilha de esporos tipo cata-vento em cada local. Cada coletor continha uma lâmina de microscopia untada com líquido especial (Frederickson et al. 1989) para aderir os esporos impactados pelo vento. As lâminas foram removidas e levadas ao laboratório de Fitopatologia onde foram avaliadas sob microscópio quanto à presença e quantidade de *D. avenae*. A área de leitura da lâmina foi de 7,68 cm<sup>2</sup>.

As armadilhas coletoras de esporos permaneceram nos locais até a colheita das sementes. A avaliação da flutuação de esporos foi feita semanalmente.

Os experimentos constituíram-se de duas parcelas de 2 x 5 m (10m<sup>2</sup>) sem repetições, uma em cada local (Local 1 – testemunha e Local 2 – sementes tratadas). A distância entre os dois locais foi de aproximadamente 100 metros.

A avaliação do progresso da incidência foliar foi feita coletando-se 10 plantas ao acaso por parcela, sendo avaliado o número

de lesões/cm<sup>2</sup> por folha (total de 30 folhas por parcela para cada avaliação). Foram realizadas quatro avaliações durante todo o ciclo da cultura.

As sementes produzidas nos dois locais foram colhidas manualmente e trilhadas em máquina trilhadeira, após foram plaqueadas em meio seletivo de Reis (1983) conforme descrito no Experimento 1, assim como, a quantificação da incidência em sementes.

Os dados de incidência foliar foram comparados estatisticamente com a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Os dados da incidência de *D. avenae* nas sementes colhidas foram submetidos a análise de comparação de média e foram representados em gráfico de colunas comparando os dois tratamentos.

Os dados do número de esporos capturados no ar foram transformados em  $\sqrt{x + 1}$  e representados em gráficos de dispersão comparando os dois tratamentos.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Experimento 1 – Tratamento de sementes com fungicidas associados a termoterapia

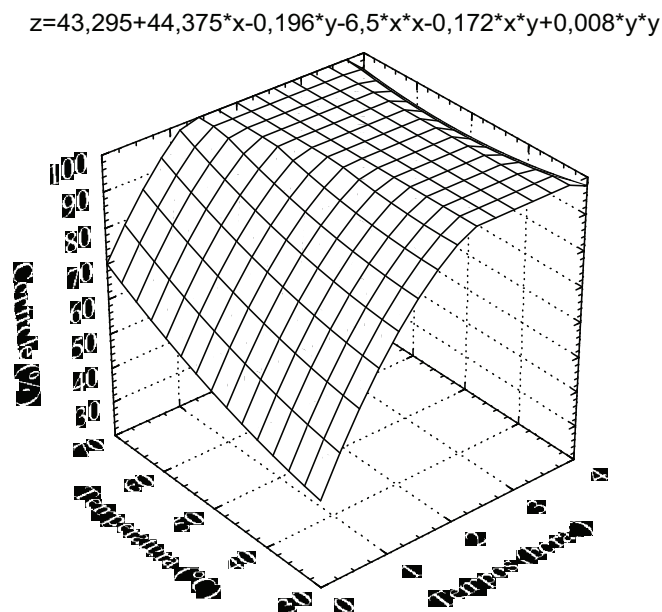
As relações entre temperatura, tempos de imersão e controle para cada fungicida foi representada por um modelo de regressão polinomial expressos pelas equações: guazatina ( $Z=43,295+44,375*x-0,196*y-6,5*x*x-0,172*x*y+0,008*y*y$ ), iprodiona ( $Z=24,295+25,216*x-2,858*y-1,632*x*x-0,267*x*y+0,016*y*y$ ) e tiram ( $Z=105,939+19,904*x-5,882*y-1,493*x*x-0,177*x*y+0,044*y*y$ ).

Na comparação dos tratamentos realizados, nenhum dos fungicidas chegou a erradicar o fungo *D. avenae* das sementes nas temperaturas e tempos de imersão esperados, entre 30 e 50 °C e 1 a 4 horas respectivamente, porém foi possível chegar a níveis de controle muito alto, chegando a 98 %.

O fungicida guazatina apresentou o melhor controle do patógeno 97 %, na temperatura de 40 °C e com quatro horas de imersão. Com este tratamento as sementes não foram afetadas negativamente quanto a germinação e vigor, ficando entre 88 e 86 % respectivamente (Figura 1, 2 e 3).

Seguindo uma ordem decrescente de controle pela associação da termoterapia e fungicidas, o segundo fungicida que controlou o fungo alvo foi o iprodiona na mesma temperatura e tempo de imersão do fungicida guazatina, obtendo um controle de 95 % e o fungicida tiram com controle de 92 % (Figuras 4 e 7). O tratamento com o iprodiona não afetou a germinação das sementes, porém, o

vigor foi afetado (Figuras 5 e 6). Já as sementes que foram tratadas com o fungicida tiram, não foram afetadas quanto a germinação e vigor como apresentados nas Figuras 8 e 9.

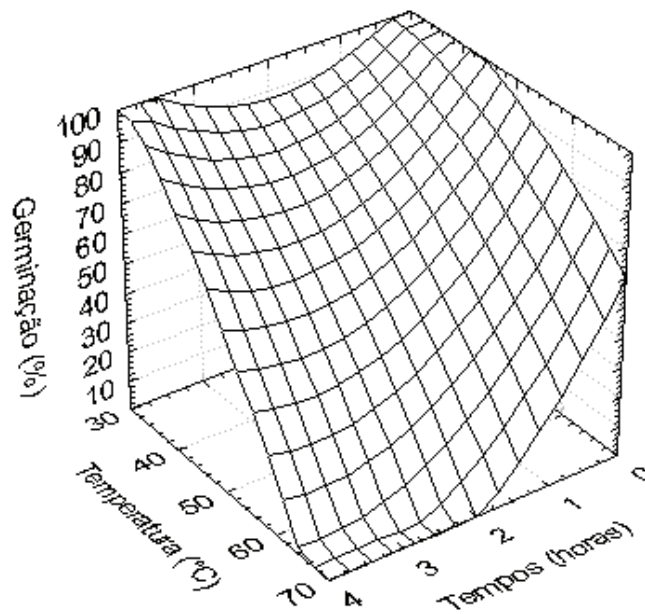


**Figura 1** - Efeito de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida guazatina sobre o controle (z) de *Drechslera avenae*.

Os efeitos das interações entre temperaturas e tempos de exposição de sementes de aveia com o fungicida guazatina no controle de *D. avenae*, mostram que a erradicação foi obtida na faixa térmica

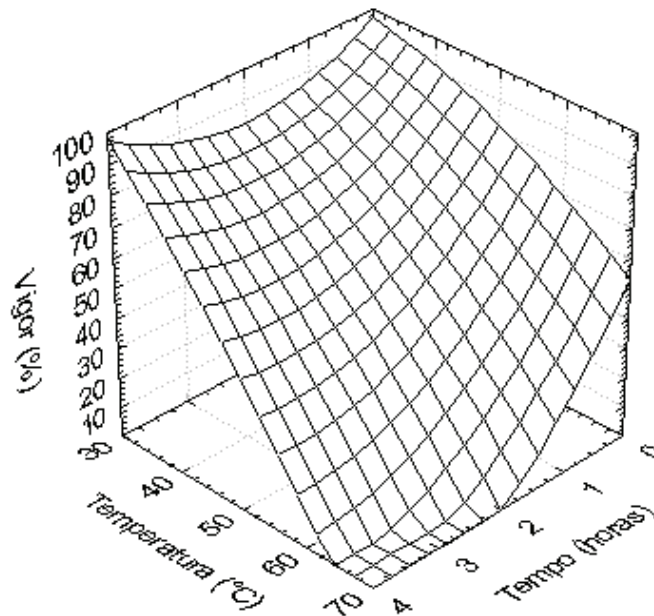
de 60 e 70 °C e imersão à partir de 1 hora. Porém, nestas condições a germinação e o vigor das sementes foi de 0,0 % (Figuras 2 e 3) o que elimina a possibilidade de uso prático desta combinação. Não se encontrou relatos na literatura de fato semelhante.

$$z=87.208-4.343*x+1.419*y+5.175*x*x-0.522*x*y-0.026*y*y$$



**Figura 2** - Efeito de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida guazatina na germinação (Z) de sementes de aveia.

$$z=93.561-0.238*x+0.662*y+3.671*x*x-0.481*x*y-0.018*y*y$$



**Figura 3** - Efeito de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida guazatina no vigor (Z) de sementes de aveia.

Os resultados obtidos com os fungicidas iprodiona e tiram, foram semelhantes ao do fungicida guazatina, sendo que, os controles mostraram-se iguais ou inferiores aos obtidos pelo fungicida guazatina.

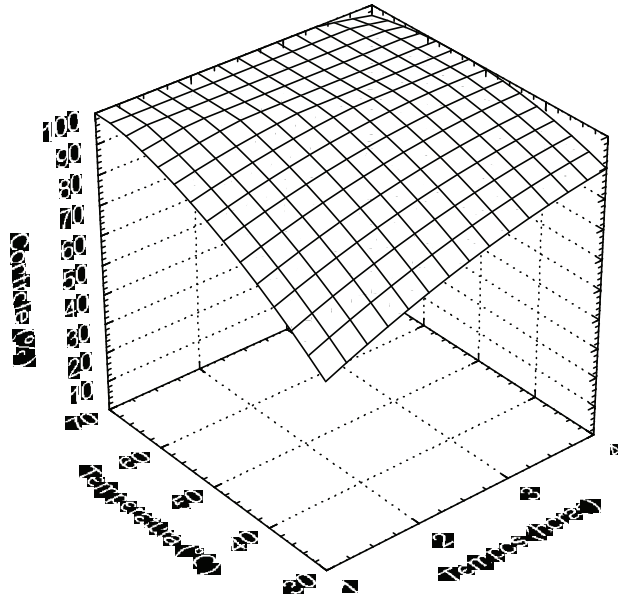
Em experimentos conduzidos por Lângaro (1998), utilizando o fungicida iprodiona (50 % SC) nas doses de 100, 200, 300 e 600 mL do p.c./ 100 kg de sementes sem a associação de termoterapia, foi obtida na maior dose um controle de 95,18 % do fungo *D. avenae* em sementes de aveia.

Segundo Carmona et al. (2001), em experimentos com o tratamento de sementes de cevada por via úmida utilizando-se 2,0 % de água mais fungicida iprodiona na dose de 50 g i.a./100kg de sementes, o controle do fungo *D. teres* foi de 96,5 %.

Isso mostra, que não foi necessária a associação de termoterapia e fungicidas, já que em tratamentos somente com 2,0 % de água e a dose do fungicida foi obtido um controle acima de 95 % para os fungos do gênero *Drechslera*.

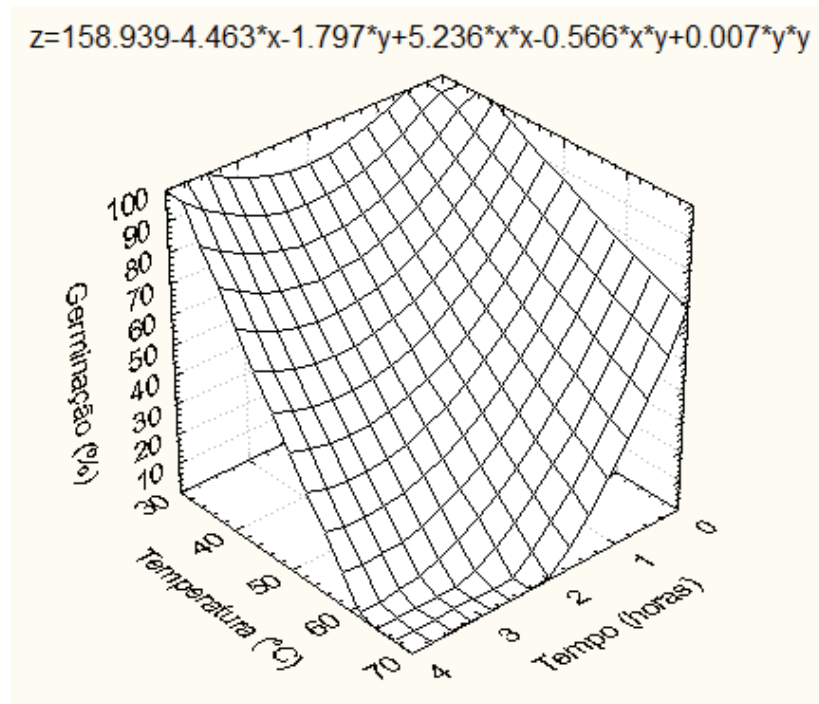
Os resultados do presente trabalho mostram que o tratamento de sementes utilizando-se a associação de termoterapia com o fungicida iprodiona, o controle de *D. avenae* foi de 95 %. Demonstrando dessa maneira, que não há a necessidade dessa associação para se obter bons níveis de controle do patógeno, o que elimina a possibilidade de uso prático desta combinação.

$$z = -24,039 + 25,216 * x + 2,858 * y - 1,632 * x * x - 0,267 * x * y - 0,016 * y * y$$

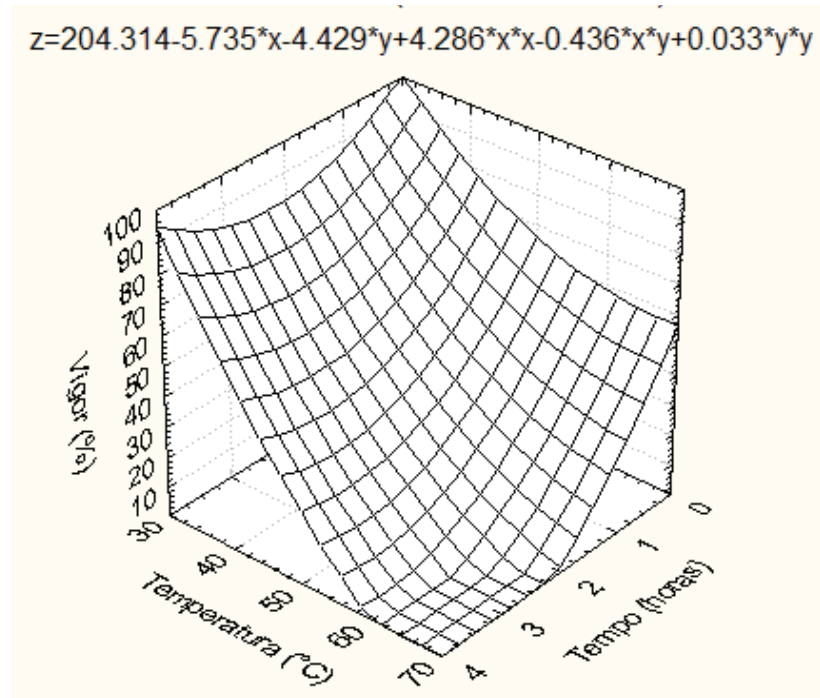


**Figura 4** - Efeitos de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes de aveia na suspensão aquosa do fungicida iprodiona sobre o controle (z) de *Drechslera avenae*.

As interações entre temperaturas e tempos de exposição de sementes de aveia na suspensão aquosa do fungicida iprodiona, também erradicou o fungo *D. avenae*, sendo que as faixas térmicas para erradicação foram de 50, 60 e 70 °C e imersão à partir de 2 horas para 50 °C e de 1 hora para 60 e 70 °C . Porém, nestas condições, a germinação e o vigor das sementes ficou abaixo de 36 e 7 % respectivamente em 50 °C chegando a 0,0 % para as temperaturas de 60 e 70 % (Figuras 5 e 6).



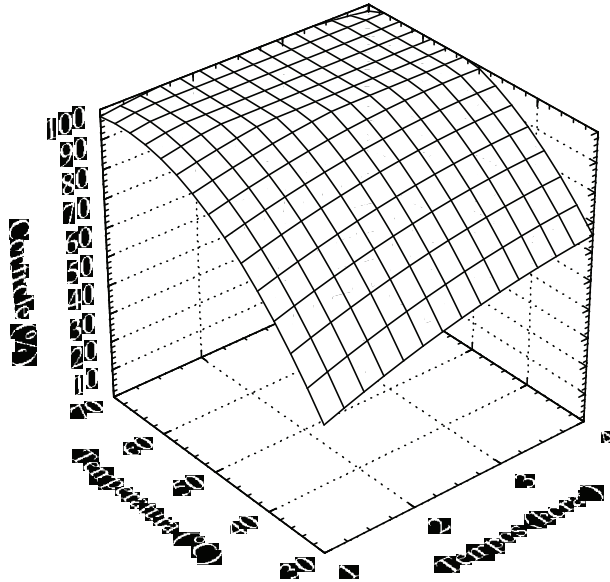
**Figura 5** - Efeitos de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes de aveia na suspensão aquosa do fungicida iprodiona na germinação (Z) de sementes.



**Figura 6 -** Efeitos de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes na suspensão aquosa do fungicida iprodiona no vigor (Z) de sementes de aveia.



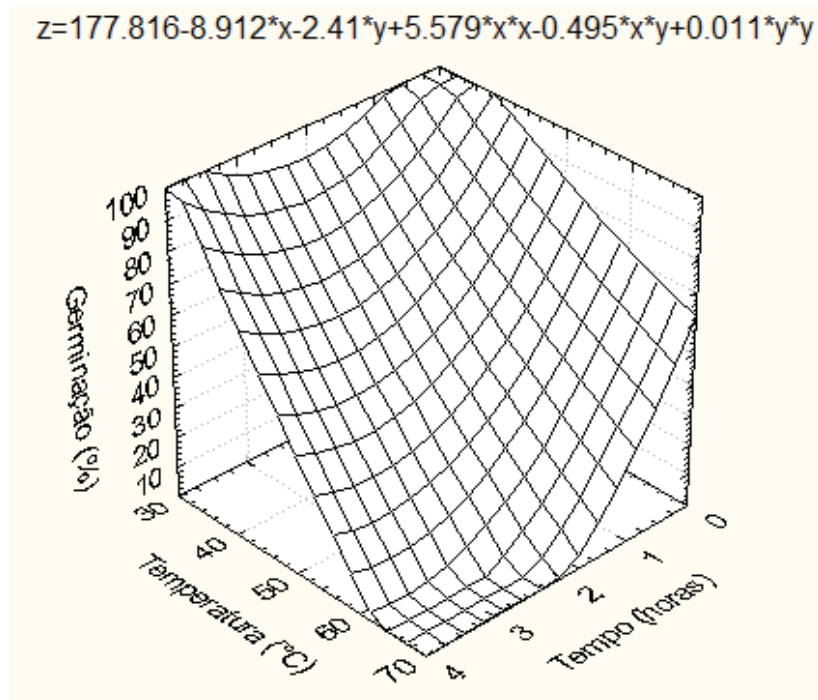
$$z = -105,939 + 19,904 * x + 5,882 * y - 1,493 * x * x - 0,177 * x * y - 0,044 * y * y$$



**Figura 7** - Efeitos de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de Sementes de aveia na suspensão aquosa do fungicida tiram sobre o controle (z) de *Drechslera avenae*.

Os dados do desempenho do fungicida tiram associados a termoterapia foram semelhantes aos dos fungicidas guazatina e iprodiona (Figuras 7, 8 e 9).

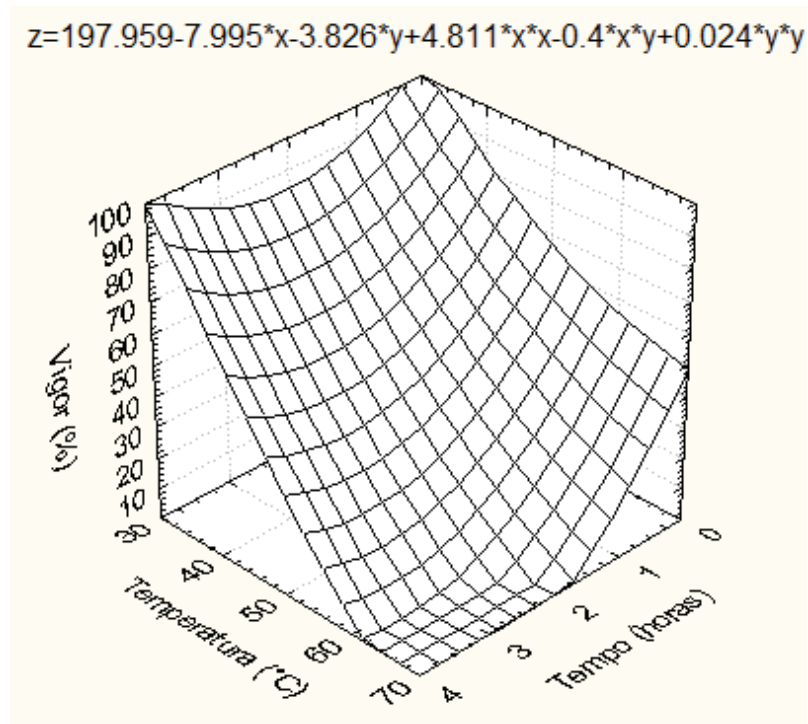
Em experimentos conduzidos no Canadá utilizando a termoterapia por Clear et al. (2002), com calor seco em sementes de cevada e trigo, os autores observaram que os fungos *Cochliobolus sativus*, *Pyrenophora teres* e *P. tritici-repentis* ainda estavam viáveis nas amostras após 14 dias de aquecimento a 70°C, sendo que *C. sativus* não foi detectado após 10 dias em 80°C.



**Figura 8** - Efeitos de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes de aveia na suspensão aquosa do fungicida tiram na germinação (Z) de sementes.

Estes fatos confirmam o relatado por Reis & Soares (1995) de que *D. avenae* é um fungo de difícil controle.

Segundo Reis & Casa (1998), o fungo *D. avenae* é difícil de ser controlado, possivelmente devido à barreiras apresentadas pela casca das sementes, uma vez que em sementes descascadas observa-se menor incidência do patógeno.



**Figura 9** - Efeitos de temperaturas (y) e tempos (x) de imersão de sementes de aveia na suspensão aquosa do fungicida tiram na vigor (Z) de sementes.

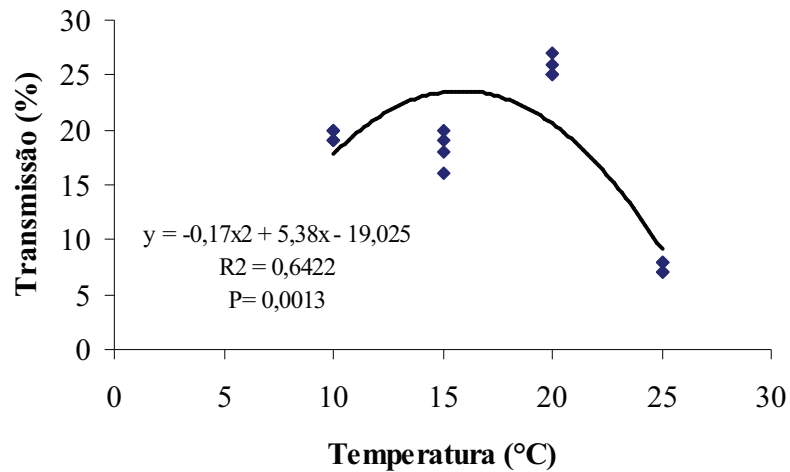
A erradicação por meios físico-químicos é difícil de ser obtida neste patossistema. Talvez uma estratégia que pode ser usada no sentido de eliminar o inóculo em sementes seria a obtenção de sementes em plantas cultivadas em casa-de-vegetação sem a ocorrência de molhamento foliar. Uma vez produzindo-se pequenas quantidades “livres” do patógeno se poderia multiplicar em regiões com clima desfavorável à doença.

## **Experimento 2 – Quantificação da transmissão de *Drechslera avenae* de sementes para órgãos aéreos**

Nesse experimento não foi quantificada a transmissão sintomática em plântulas de aveia, devido a não ocorrência de sintomas visíveis nos coleótilos. Foi quantificada somente a transmissão assintomática nas diferentes temperaturas.

A relação entre temperatura e transmissão foi representada por um modelo linear quadrático ( $y = -0,17x^2 + 5,38x - 19,025$ ), cujo coeficiente de determinação foi 0,6422 e a significância 0,0013 (Figura 10). Esse comportamento se assemelha ao obtido com outros patossistemas (BARBA, 2001) e indica a existência de temperaturas mínimas, ótimas e máximas para que a transmissão possa ocorrer.

Nesse estudo, o efeito da temperatura foi maior a 16 °C, proporcionando uma transmissão máxima de 23,56 %, a partir de uma amostra com 54,5 % de incidência do patógeno. Como a aveia é um cereal de inverno, essas condições facilmente ocorrem no sul do Brasil em condições de campo. Por outro lado, temperaturas mais elevadas foram menos favoráveis do que as temperaturas baixas.



**Figura 10-** Efeito da temperatura (x) na transmissão (y) de *Drechslera avenae* de sementes para coleóptilos de aveia.

Em experimentos conduzidos por Reis & Soares (1995) a quantificação da transmissão de *D. avenae* de sementes para plúmulas e extremidades apicais do coleóptilo de uma amostra com incidência de 69,75% foi de 32,5 % para transmissão sintomática e de 48 % para assintomática.

Segundo Lângaro (1998), a transmissão de *D. avenae* para órgãos aéreos de aveia foi de 38,44 % e 31,10 % para transmissão sintomática e assintomática respectivamente, a partir de sementes de aveia com incidência de 58%.

Nas sementes tratadas com o fungicida guazatina (Experimento 1), não se observou transmissão sintomática ou assintomática do patógeno. Os resultados da transmissão

assintomática em laboratório (câmara de crescimento) foram satisfatórios, pois não houve transmissão das sementes para os órgãos aéreos (coleóptilos de plântulas de aveia).

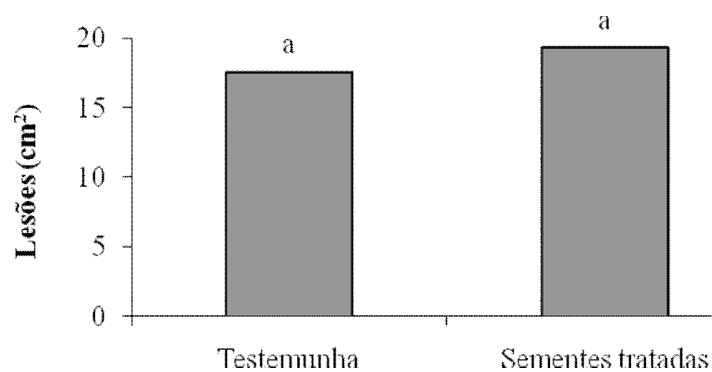
O contrário aconteceu quando as sementes tratadas foram semeadas no campo, pois foi observada a transmissão do patógeno para os órgãos aéreos. Uma hipótese que poderia ajudar a explicar esses fatos, seria a composição do solo onde foram semeadas, tanto em laboratório quanto no campo, uma vez que não foi procedida a análises de solo, quanto à salinidade, acidez, pH, nutrientes e outros. Sendo que alguns desses fatores poderiam contribuir para que ocorresse a transmissão do fungo alvo das sementes para os órgãos aéreos.

### **Experimento 3 – Experimento de campo**

Não houve diferença dos efeitos do tratamento de semente na área abaixo da curva de progresso da helmintosporiose (Figura 11). Esse fato pode ser atribuído a que, mesmo utilizando o tratamento mais eficiente nos experimentos anteriores, conduzidos em Laboratório, não se obteve a erradicação e por isso pode ter ocorrido a transmissão das sementes aos órgãos aéreos. Os ciclos secundários, posteriormente, levaram ao crescimento da doença igual nos dois tratamentos que não diferiram estatisticamente.

Se pode inferir da necessidade de se desenvolver uma metodologia de tratamento de sementes suficientemente eficaz para impedir a transmissão de sementes para os órgãos aéreos.

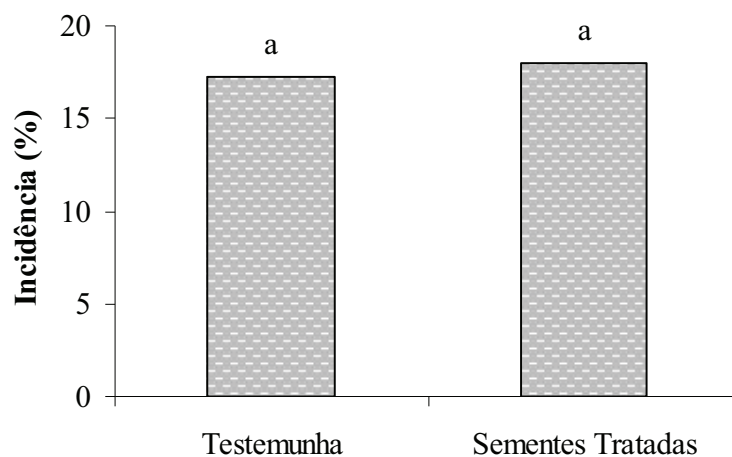
A hipótese levantada no Experimento 2, quando estudada, pode vir a contribuir com o presente trabalho, pois seria uma medida a ser tomada quando se tratar de manejo do solo associada com o tratamento de sementes.



**Figura 11** - Área abaixo da curva de progresso da helmintosporiose da aveia em experimento de campo com as sementes não tratadas (Testemunha) e tratadas com guazatina.

O progresso temporal da epidemia da helmintosporiose, função do tratamento de sementes, não mostrou diferença entre os dois tratamentos, provavelmente, pelas razões acima apresentadas.

Assim como, não houve diferença nos tratamentos no progresso da epidemia, também não houve diferença quanto à incidência do patógeno nas sementes colhidas, sendo a incidência na testemunha de 17 % e 18 % nas sementes tratadas (Figura 12).



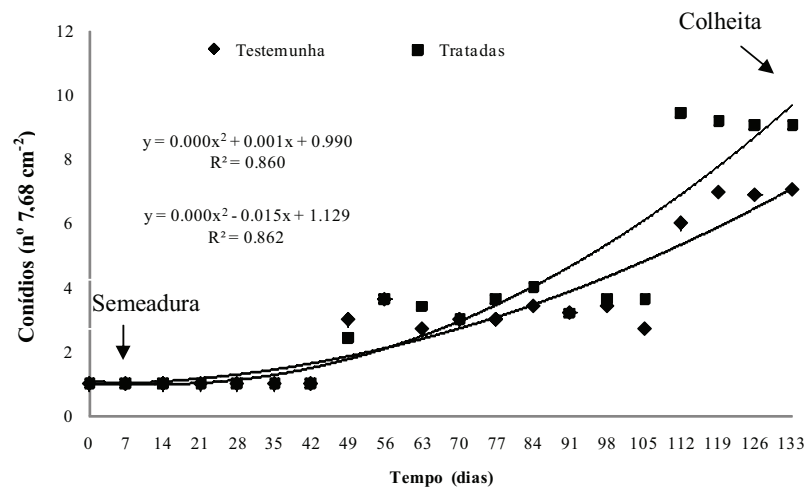
**Figura 12** - Incidência de *Drechslera avenae* em sementes de aveia colhidas.

A flutuação temporal dos esporos no ar sobre as parcelas mostra que o inóculo teve origem na semente. Na avaliação procedida uma semana antes da semeadura não detectou-se conídios do fungo alvo deste estudo, no ar, sobre as parcelas. Porém, após haver a transmissão e multiplicação do inóculo nos órgãos aéreos o inóculo foi detectado no ar.

Segundo Lângaro (1998), em experimentos conduzidos no campo, também não detectou a presença de conídios de *D. avenae* no ar antes da semeadura, somente foi detectada a presença de conídios 42 dias após a semeadura nas parcelas de com sementes não tratadas.

No presente trabalho, foi detectada a presença de esporos no ar 49 dias após a semeadura, tanto na parcela com as sementes não tratadas, quanto na parcela com sementes tratadas (Figura 13).





**Figura 13** - Flutuação populacional de conídios de *Drechslera avenae* no ar, sobre parcelas de aveia originadas de sementes não tratadas (testemunha) e tratadas com o fungicida guazatina.

Segundo Lângaro (1998), não se justifica o tratamento de sementes com fungicidas, visando ao controle de manchas foliares quando houver a presença de outras fontes de inóculo que não as sementes.

Mostra-se que as sementes infectadas transportam e introduzem o inóculo nas áreas de cultivo, uma vez que, não havia lavouras de aveia e nem restos culturais próximos aos experimentos. Deduz-se mais uma vez da importância do inóculo na semente como fonte de inóculo de manchas foliares.

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) Os procedimentos utilizados não foram eficientes para erradicar *D. avenae* em sementes de aveia;
- b) As sementes transportam e introduzem o fungo *D. avenae* em áreas aonde a aveia nunca foi cultivada;
- c) Há a necessidade de produção de sementes de aveia indenens.
- d) Sugere-se com o presente trabalho que seja estudado o efeito da composição do solo na transmissão de *D. avenae* de sementes para os órgãos aéreos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBA, J.T. *Bipolaris sorokiniana (Cochliobolus sativus) em sementes de cevada: detecção, transmissão e controle*. 2001. Dissertação, (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2001.

BARBA, J.T.; REIS, E.M. & FORCELINI, A.C. Comparação de métodos para detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v. 7, n. 4, p. 389-394, 2002.

BARBA, J.T.; REIS, E.M.; FORCELINI, C.A. Efeito de solventes orgânicos usados como veículos de fungicidas no controle *in vitro* e *in vivo* da incidência e da transmissão de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v. 28, n. 2, p. 136-142, 2003.

BLUM, M.M.C. *Pyrenophora avenae: Ocorrência, inóculo, patogenicidade e sobrevivência*. 1997. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia/Fitossanidade) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.

BLUM, M.M.C.; REIS, E.M. & CASA, R.T. Ocorrência e descrição morfológica de *Pyrenophora avenae* agente etiológico da helmintosporiose da aveia no Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v. 24, n. 4, p. 513 – 517, 1999.

BOCCHESI, C.A.C.; MARTINELLI, J.A.; MATSUMURA, A.T.S.; FEDERIZZI, L.C.; DRESCH, L.F.; TELLIER, M. Especificidade de *Pyrenophora avenae* aos tecidos da semente de *Avena sativa* e sua atividade enzimática. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v. 26, n. 2, p. 180-184, 2001.

BOCCHESI, C.A.C.; MARTINELLI, J.A.; FEDERIZZI, L.C. & ROSA, C.R.E. Processo de infecção e formação de mancha em grãos de aveia branca com níveis diferenciados de resistência para

*Pyrenophora chaetomioides*. *Fitopatologia Brasileira*, Lavras, v. 31, n. 3, p. 284-290, 2006.

CARMONA, M.A.; ZWEEGMAN, J. & REIS, E.M. Detection and transmission of *Drechslera avenae* from oat seed. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v. 29, n. 3, p. 319-321, 2004.

CARMONA, M.A.; BARRETO, D.E. & REIS, E.M. Efecto del fungicida iprodione y sus mezclas con thiram y triticonazole em El control de *Drechslera teres* em semillas de cebada. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v. 26, n. 2, p. 176-179, 2001.

CLEAR, R.M.; PATRICK, S.K.; TURKINGTON, T.K. & WALLIS, R. Effect of dry heat treatment on seed-borne *Fusarium graminearum* and other cereal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Canadá, v. 24, n. 4, p. 489-498, 2002.

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA. In: **Indicações técnicas para cultura aveia**: grãos e forrageiras. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2003.

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA. In: **Indicações técnicas para cultura aveia**. Guarapuava: A Comissão: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2006.

DHINGRA, O.D.; MUCHOVEJ, J.J. & CRUZ FILHO, J. da. *Tratamento de sementes (controle de patógenos)*. Viçosa: Imprensa Universitária /UFV, 1980.

ELLIS, M.B. *Dematiaceous hyphomycetes*. Kew: CAB, 1971

FERNANDEZ, M.R. *Manual para laboratório de fitopatologia*. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT. 1993. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 6).

FORCELINI, C.A. Tratamento de sementes de trigo no Brasil. In: MENTEN, J.O.M. *Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico*. São Paulo: Ciba Agro, 1995. p. 247 - 264.

FORCELINI, C.A.; REIS, E.M. Doenças da aveia. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BRGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. *Manual de fitopatologia, Vol. 2: Doenças de plantas cultivadas*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 105-111.

FREDERICKSON, D. E.; MANTLE, P.G.; DE MILLANO, W.A.J. Secondary conidiation of *Sphacelia sorghi* on sorghum, a novel factor in the epidemiology of ergot disease. *Mycological Research*. v. 93, n. 4, p. 497-502, 1989.

LANGARO, N.C. *Detecção, Transmissão e controle de Drechslera avenae em sementes de aveia branca*.1998. Dissertação, (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 1998.

LUCCA FILHO, O.A. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: SOAVE, J. & WETZEL, M.M.V. da S. *Patologia de sementes*. Campinas: Fundação Cargill/Abrates. 1987.p. 276-298.

MACHADO, J. da C. *Patologia de sementes: fundamentos e aplicações*. Lavras: ESAL/FAEPE, 1988.

MACHADO, J. da C. *Tratamento de sementes no controle de doenças*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000.

MARTINELLI, J. A. Manejo integrado de doenças da aveia. *Fitopatologia Brasileira*, São Paulo, v. 28, p. 98-101, 2003. Suplemento.

MARTINELLI, J.A.; FEDERIZZI, L.C.; ROSA, C.A.da; SILVA, I.F. & BOCCHESI, C.A.C. Epidemiologia de espécies de *Pyrenophora*. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. Passo Fundo, RAPP, v.11, pp. 255 - 281, 2003.

MEHTA, Y.R. Ocorrência de *Drechslera* spp. em aveia branca no Estado do Paraná. *Summa Phytopathologica*, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 265-267, 1999.

MENTEN, J.O.M. & BUENO, J.T. Transmissão de doenças pelas sementes. In: SOAVE, J. & WETZEL, M.M.V. da S. *Patologia de sementes*. Campinas: Fundação Cargill/Abrates. 1987.p. 164-191.

MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: MENTEN, J.O.M. *Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico*. São Paulo: Ciba Agro. 1995. p. 115 - 136.

MENTEN, J.O.M. Tratamento de sementes. In: SOAVE, J.; OLIVEIRA, M.R.M. & MENTEN, J.O.M. (Ed.). *Tratamento químico de sementes*. Simpósio Brasileiro de Patologia de Sementes, 4, 1996. Gramado. Anais... Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 3-23.

MORAES, M.H.D. Testes de sanidade de sementes em rotina no Brasil: situação atual, contribuições e perspectivas. In: MENTEN, J.O.M. *Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico*. São Paulo: Ciba Agro, 1995. p. 37 - 51.

NEERGAARD, P. *Seed pathology*. V. 1. London: The Macmillan Press, 1983.

REIS, E.M.; BLUM, M.M,C; CASA, R,T; *Doenças da aveia: Helminthosporiose*. São Paulo: Centralgraph Gráfica, Editora e Fitolito Ltda,1999a.

REIS, E.M. & CASA, R.T. Sobrevivência de fitopatógenos. In: VALE, F.X.R.do, JESUS JUNIOR, W.C.de & ZAMBOLIM, L. *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Belo Horizonte: Editora Perffil, 2004. p. 337-364.

REIS, E.M. & CASA, R.T. *Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle*. 2. ed. Lages: Graphel, 2007.

REIS, E.M. & CASA, R.T. *Patologia de sementes de cereais de inverno*. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 1998.

REIS, E.M. & SOARES, R.M. Levantamento, transmissão e controle de fungos patogenicos associados à sementes de aveia. In: REUNIÃO DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 15, 1995, Entre Rios, Guarapuava. *Resultados experimentais...* Entre

Rios, Guarapuava: Comissão Sul-brasileira de Pesquisa de Aveia, 1995. p. 257-260.

REIS, E.M. Selective medium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. *Plant Disease*, St. Paul, v. 67 p. 68-70, 1983.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; MEDEIROS, C. A. *Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno*. Londrina: ES, 2001.

REIS, E.M.; REIS, A.C.; CASA, R.T. & BLUM, M.M.C. Comparison of methods to detect leaf and head blighting fungi in small grain seeds. *Summa Phytopathologica*, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 364-367, 1999b.

ROSA, C.R.E.; MARTINELLI, J.A.; FEDERIZZI, L.C. & BOCCHESI, C.A.C. Quantificação dos conídios de *Pyrenophora chaetomioides* em folhas mortas de *Avena Sativa* em condições de campo. *Fitopatologia Brasileira*, Fortaleza, v. 28, n. 3, p. 319-322, 2003.

SOAVE, J. & MORAES, S.A. Medidas de controle das doenças transmitidas por sementes. In: SOAVE, J. & WETZEL, M.M.V. da S. *Patologia de sementes*. Campinas: Fundação Cargill/Abrates. 1987. p. 192-259.

TSAO, P.H. Selective media for isolation of pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 8, p. 157-186, 1970.

ZAMBOLIM, L. Importância do tratamento de sementes no manejo integrado de doenças. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8., 2004, João Pessoa, *Palestras e resumos...* João Pessoa: Tropical Hotel Tambú, 2004. p. 94-100.

ZORATO, M. de F.; HOMECHIN, M. & HENNING, A.A. Efeitos da assepsia superficial com diferentes agentes químicos na incidência de microorganismos em sementes de soja. *Revista Brasileira de Sementes*, Campinas, v. 23, n. 1, p. 159-166, 2001.