

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Diego Vieira da Silva

Potencial de *Colletotrichum cf. truncatum* como mico-herbicida para o picão-preto

Monte Carmelo - MG

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Diego Vieira da Silva

Potencial de *Colletotrichum cf. truncatum* como mico-herbicida para o picão-preto

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia, *campus* Monte Carmelo, da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Dr. Bruno Sérgio Vieira

Monte Carmelo - MG

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Diego Vieira da Silva

Potencial de *Colletotrichum cf. truncatum* como mico-herbicida para o picão-preto

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia, *campus* Monte Carmelo, da Universidade Federal de Uberlândia, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

Monte Carmelo, 21 de novembro de 2018

Banca examinadora

Prof. Dr. Bruno Sérgio Vieira
Orientador

Prof. Dr. Edson Aparecido dos Santos
Membro da Banca

Prof. Dr. André Luiz Firmino
Membro da Banca

Monte Carmelo - MG

2018

RESUMO

As plantas daninhas representam um dos principais fatores limitantes à produtividade agrícola em todo o mundo. Dentre as espécies de plantas daninhas de grande importância econômica para a agricultura brasileira, destaca-se o picão, *Bidens pilosa* L. O objetivo do trabalho foi estudar com mais detalhes a utilização de *C. truncatum* como um potencial agente de controle biológico do picão preto. Em experimento prévio foi selecionado o meio de cultura extrato de malte, do qual apresentou melhor produção de conídios a partir de fermentação difásica. Visando estudar a epidemiologia de *C. truncatum* x *B. pilosa* em casa de vegetação, foram delineados dois experimentos: 1) Verificar o efeito do atraso do molhamento foliar na severidade da doença: onde os níveis mais adequados para o controle de picão foram obtidos com atraso do molhamento foliar de 0 e 6 horas. 2) Determinar o efeito do volume de calda do mico-herbicida na severidade da doença; o volume de calda (L/ha) que se destacou foi o de 600 L/ha. Para o estudo da infectividade do fungo a sementes de picão não foi observado infectividade a partir da microbiolização com conídios. Foi observado que a temperatura ótima para germinação dos conídios foi de 20° C. Para verificar o efeito de uma possível toxina produzida pelo fungo em meio líquido foi observado melhor resultado para teor de clorofila ($\mu\text{g cm}^{-2}$) com extrato fúngico; os melhores resultados para altura (cm) foram obtidos com o extrato fúngico e o meio de cultura + Tween 0,05%; para o diâmetro de raiz (cm), peso úmido de parte aérea, sistema radicular e peso seco de parte aérea (cm) apresentaram melhores resultados com o extrato fúngico; para o peso seco de sistema radicular (g) os melhores resultados foram obtidos com o extrato fúngico e o meio de cultura + Tween 0,05%. A maior porcentagem de germinação de conídios em função de diferentes adjuvantes, foi obtida quando o fungo foi adicionado sozinho às placas de Petri. Esses resultados confirmam o potencial de *C. truncatum* como um possível mico-herbicida para o controle de *Bidens pilosa*.

Palavras-chave: Antracnose; Controle biológico; Planta infestante;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
2.1 Produção de conídios de <i>Colletotrichum truncatum</i> em fermentação difásica.....	11
2.2 Epidemiologia do patossistema <i>C. truncatum</i> x <i>B. pilosa</i> em casa de vegetação.....	12
2.2.1. Efeito do atraso de molhamento foliar na severidade da doença.....	12
2.2.2. Efeito do volume de calda do mico-herbicida na severidade da doença.....	13
2.3. Infectividade de <i>Colletotrichum truncatum</i> a sementes de picão preto (<i>Bidens pilosa</i>).....	14
2.4. Efeito de diferentes temperaturas na germinação de conídios de <i>C. truncatum</i>	15
2.5. Efeito de uma possível toxina produzida por <i>C. truncatum</i> em meio líquido a <i>B. pilosa</i>	15
2.6. Efeito de adjuvantes na germinação de conídios de <i>C. truncatum</i>	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
3.1 Produção de conídios de <i>Colletotrichum truncatum</i> em fermentação difásica.....	17
3.2 Epidemiologia do patossistema <i>C. truncatum</i> x <i>B. pilosa</i> em casa de vegetação.....	18
3.2.1. Efeito do atraso de molhamento foliar na severidade da doença.....	18
3.2.2. Efeito do volume de calda do mico-herbicida na severidade da doença.....	19
3.3. Infectividade de <i>Colletotrichum truncatum</i> a sementes de picão preto (<i>Bidens pilosa</i>).....	21
3.4. Efeito de diferentes temperaturas na germinação de conídios de <i>C. truncatum</i>	22
3.5. Efeito de uma possível toxina produzida por <i>C. truncatum</i> em meio líquido a <i>B. pilosa</i>	23
3.6. Efeito de adjuvantes na germinação de conídios de <i>C. truncatum</i>	25
4. CONCLUSÕES.....	27
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas ou também conhecidas como plantas infestantes representam um dos principais fatores limitantes para a produtividade agrícola em todo o mundo. Seu efeito deletério sobre as culturas é múltiplo, envolvendo a competição por água, luz, ou nutrientes minerais do solo; interfere na colheita contaminando o produto colhido com sementes e outras partes vegetais e aumenta o teor de umidade do produto colhido, dificultando seu beneficiamento, preservação e reduzindo o seu valor. Segundo VASCONCELOS et al. (2012), além da competição, as plantas daninhas podem agir como hospedeiras de pragas e patógenos, além de exercer efeitos de alelopatias e serem tóxicas para animais e para o homem. De acordo com OERKE & DEHNE (2004), mesmo utilizando todas as medidas de manejo de plantas daninhas disponíveis, ainda sobraram indivíduos suficientes para causar prejuízos da ordem de 2 bilhões de dólares, estimados para o Brasil nas culturas de soja e milho na safra de 2003. Parte da perda de grãos pela cultura é provavelmente decorrente da convivência inicial com as plantas daninhas quando da decisão tardia de seu manejo com herbicidas de aplicação em pós-emergência Zagonel et al., 2000; Meschede et al., (2002, 2004).

Dentre as espécies de plantas daninhas que causam grande impacto econômico para a agricultura brasileira, ressalta-se a espécie de picão, *Bidens pilosa* L. É uma planta amplamente dispersa, pantropical, sendo considerada uma das mais problemáticas plantas daninhas em culturas economicamente importantes HOLM et al., (1991). Segundo KISSMANN & GROTH (1999) esta planta daninha está presente em quase todo o território nacional, principalmente nas áreas agrícolas da região Centro-Sul. O picão preto apresenta alta agressividade, sua reprodução se dá por sementes, possui crescimento rápido e pode ser encontrada durante o ano todo (KISSMAN, 1997).

Ainda que no gênero *Bidens* encontram-se diversas espécies ornamentais, *B. pilosa* é muito conhecida em todo o mundo por ser uma planta daninha muito agressiva (GROMBONE-GUARATINI et al., 2004). Dentre as características que fazem com que o picão preto seja extremamente danoso para as plantas cultivadas, pode-se destacar a sua alta produção de sementes e germinação assincrônica. Pela ocorrência do fenômeno da dormência, permite a sobrevivência e a viabilidade do banco sementes em condições externas adversas ao longo do tempo e espaço (BAIO et al., 2013).

Além de provocar perdas de produtividade devido à interferência por água e nutrientes sobre as plantas cultivadas, a problemática causada pela presença do picão preto é agravada, uma vez que existem diversos casos comprovados de resistência do complexo *Bidens pilosa*

aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) no Brasil (PONCHIO, 1997, HRAC-BR, 2004). GELMINI (2001) comprovou a existência de biótipos de picão-preto com resistência cruzada aos inibidores da ALS dos grupos das sulfoniluréias e imidazolinonas. Em geral, o picão preto apresenta elevada variabilidade genética em sua população ou entre populações, com potencial para se adaptar ao manejo empregado no seu controle (HOLT & HOCHBERG, 1997). Segundo ANTUNES (2015), a resistência de plantas daninhas aos principais herbicidas disponíveis no mercado tem aumentado os custos de produção nas lavouras de grãos e, somente no Rio Grande do Sul, custos adicionais e perdas no rendimento de grãos na safra 2014 foram estimados em R\$ 1,15 bilhão.

Existem diferentes métodos para o controle de plantas daninhas, sendo eles o controle preventivo, mecânico, físico, químico e biológico. Dentre os métodos citados, o mais utilizado para o controle de *B. pilosa* é o controle químico, haja vista que se o controle for realizado de forma mecânica em pouco tempo se tem novas gerações das plantas pela disseminação de suas sementes (RABELO et al., 2008). Os herbicidas inibidores da enzima acetolactatosintase (ALS) têm sido amplamente utilizados no controle de picão preto e, o uso intensivo de herbicidas com esse mecanismo de ação, durante anos consecutivos, tem selecionado biótipos de picão preto resistentes (HERNANDES et al., 2005). O uso constante e sem a preocupação com a rotação de princípios ativos tem sido a principal causa para o aparecimento de biótipos resistentes de plantas daninhas aos herbicidas. Essa pressão de seleção gerada pelos herbicidas aumenta a frequência dos biótipos resistentes (RIZZARDI et al., 2002). Nas lavouras de soja das regiões Centro-Oeste e Sul, tornam-se cada vez mais frequentes relatos de aparecimento de biótipos resistentes de *Bidens* spp. aos inibidores da ALS (CARVALHO et al., 2004). A resistência das plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS é o resultado de uma alteração do gene responsável pela codificação desta enzima (SHANER, 1991). Essa alteração do gene faz com que a enzima ALS perca a sensibilidade à ação dos herbicidas que atuam inibindo sua atividade, e essa ausência de sensibilidade da enzima resulta da substituição de seus aminoácidos (BAIO et al., 2013).

Perante ao que foi exposto, necessita-se assim, buscar novas alternativas para o controle dessa planta daninha, haja vista que ela que vem causando grandes problemas para a agricultura do país nos últimos anos. Uma alternativa é o controle biológico que se apresenta como sendo uma alternativa viável, pois têm resultados satisfatórios descritos na literatura e junto a isso, apresenta baixo ou nenhum dano ao meio ambiente, o que não é encontrado no controle químico, onde, se não for feito o manejo correto pode causar grandes problemas ao meio ambiente.

O conceito de mico-herbicida introduzido por DANIEL et al. (1973) demonstrou que um patógeno nativo pode ser completamente destrutivo para uma planta daninha suscetível. De acordo com VICTORIA FILHO (2000), o controle biológico das plantas daninhas é definido como a ação de organismos na manutenção/diminuição de uma população da planta daninha em uma densidade menor àquela que ocorre naturalmente, e que, portanto, não cause danos econômico. Há duas abordagens principais para o uso de fitopatógenos como agentes de controle biológico de plantas daninhas: o método clássico ou inoculativo (envolvendo a introdução de um patógeno inimigo natural de uma “planta-alvo” desde o seu centro de origem até a nova área de distribuição da planta, onde esta livre então de seus inimigos naturais tornou-se agressiva, visando restabelecer o equilíbrio) e o método de mico-herbicida, ou inundativo, (tipicamente envolvendo o uso de fungos fitopatogênicos endêmicos, já associados à planta-alvo, que são produzidos em massa, formulados e aplicados de modo semelhante a um herbicida químico onde a população da planta daninha está estabelecida), sendo esta última abordagem objeto do presente trabalho.

O alvo do trabalho, *B. pilosa*, tem os fungos como potenciais agentes de biocontrole os fungos. Um dos gêneros de fungos que possui relevantes resultados como mico-herbicida é o gênero *Colletotrichum*. Este gênero compreende várias espécies, incluindo saprófitas e fitopatogênicas, sendo estas responsáveis por muitas doenças economicamente importantes e que ocorrem numa ampla gama de hospedeiros (MENEZES, 2002). Espécies de *Colletotrichum* se encontram presentes principalmente em regiões tropicais, onde a alta temperatura e alta umidade proporcionam condições favoráveis para o seu desenvolvimento.

Diversos patógenos foram considerados como potenciais bioherbicidas, mas na realidade poucos obtiveram sucesso comercial (ZIDACK & QUIMBY 1999). O potencial mico-herbicida de espécies de *Colletotrichum* tem sido estudado e contribuído para uma melhor compreensão da especificidade desses patógenos a certos hospedeiros (GRESSEL et al., 1998). ASKEW et al. (2011) citam que já foram identificadas algumas espécies de *Colletotrichum* como importantes agentes de biocontrole. Dentre os produtos comerciais a base de *Colletotrichum* pode se citar o Collego®, comercializado sob novo nome – (LockDown®) composto por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc. f.sp. *aeschynomene* para o controle de *Aeschynomene virginica*; Lu-Bao®, a base de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cuscutae*, para o controle de *Cuscuta* spp e BioMalR=Mallet WP a base de *Colletotrichum gloeosporioides* para controle de *Malva* spp.

Outros possíveis agentes de controle com satisfatórios resultados de eficiência têm falhado na etapa de obtenção de registro e uso comercial limitado por dificuldades de produção,

competição com herbicidas químicos e mercado não lucrativo (FIORILLO, 2007); além da sensibilidade de propágulos fúngicos a fatores ambientais, tais como: radiação ultravioleta, dessecação por calor, faixa muito estreita de temperatura ótima para germinação de conídios.

Pelo exposto acima e devido a ampla disseminação de sementes de plantas daninhas e estabelecimento de populações resistentes ao controle químico, faz-se necessário maiores estudos e pesquisas afim de manejar de forma eficiente esses biótipos por outros métodos, como o controle biológico.

Durante o levantamento de fungos fitopatogênicos associados a *B. pilosa* e *B. subalternans* na região do Alto Paranaíba (Minas Gerais), foram observadas plantas doentes de picão apresentando lesões deprimidas típicas de antracnose (Figura 1) próximas ao município de Iraí de Minas (Minas Gerais), inclusive com plantas mortas. Procedeu-se então coletas destas plantas e encaminhadas para o LAMIF (Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia) da Universidade Federal de Uberlândia – Campus de Monte Carmelo) para preparo de lâminas e isolamento do fungo em cultura pura. O fungo foi identificado morfológicamente como *Colletotrichum truncatum* e após inoculações com suspensões de conídios em plantas de picão saudias, confirmou-se a patogenicidade do fungo (Figura 2).



Figura 1: Haste de picão (*Bidens pilosa*) naturalmente infectadas por *Colletotrichum truncatum*



Figura 2: Plantas de *Bidens pilosa* saudáveis à esquerda (testemunha). Planta morta de *Bidens pilosa* após 5 dias da inoculação de uma suspensão contendo 1×10^5 conídios/mL de *Colletotrichum truncatum* à direita.

Vários experimentos foram delineados com propósito de avaliar o potencial de *Colletotrichum truncatum* como micro-herbicida para *B. pilosa*, tais como: estudos sobre a fisiologia de *Colletotrichum truncatum* e sobre produção massal de conídios em meios de cultura líquido (Vieira et al.; 2018), estudos de eficiência de *Colletotrichum truncatum* sobre *B. pilosa* em casa de vegetação e da especificidade de *Colletotrichum truncatum* (dados não publicados)

O presente trabalho objetiva estudar com mais detalhes a utilização de *C. truncatum* como um potencial agente de controle biológico do picão preto (*B. pilosa*), preenchendo algumas lacunas no conhecimento do patossistema *C. truncatum* x *B. pilosa*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (LAMIF) da Universidade Federal de Uberlândia – Campus de Monte Carmelo. Os experimentos foram divididos em etapas, sendo a primeira relacionada a produção de conídios de *C. truncatum* em fermentação difásica; a segunda parte sobre estudos de eficiência de *C. truncatum* sobre *B. pilosa* em casa de vegetação, a terceira sobre a possível infectividade de *C. truncatum* a sementes de picão preto (*Bidens pilosa*) e avaliou-se também, o efeito da temperatura na germinação de conídios de *C. truncatum*; na quarta parte avaliou-se o efeito da utilização de diferentes adjuvantes juntamente a *C. truncatum* na severidade da doença em picão preto. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR, e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelos testes de Tukey a 5% de significância.

2.1. Produção de conídios de *Colletotrichum truncatum* em fermentação difásica

O isolado selecionado foi avaliado quanto a esporulação em diferentes meios de cultura. Para tal, o isolado foi repicado para placas de Petri contendo os meios de cultura selecionados, a saber:

1) JP (Jenkins-Prior) : 30 g de sacarose, 20 g de extrato de levedura, 20 g de ágar, 1 L de água destilada.
2) CVA (caldo de vegetais ágar) : 400 g de batata, 400 g de beterraba, 400 g de abóbora, 400 g de cenoura, 400 g de taioba, 400 g tomate, 200 g de repolho, 100 g de couve, 100 g de cebolinha, 100 g de salsa. Verter uma amostra de 100 mL de CVA em 400 mL de água, adicionar 10 g de ágar.
3) BDA (batata dextrose ágar) : extrato de batata (200 g/500 mL), 20 g de dextrose, 20 g de ágar, 1L de água destilada.
4) Czapek-Dox-ágar (CZAPEK DOX) : 30 g de sacarose, 2 g de NaNO ₃ , 1 g de K ₂ HPO ₄ , 0,5 g de MgSO ₄ .7H ₂ O, 0,5 g de KCl, 0,01 g de FeSO ₄ , 20 g de ágar, 1L de água destilada.
5) Cenoura-ágar (CA) : extrato de cenoura triturada (20 g/400 mL), 20 g de ágar, 1 L de água destilada.

6) **Meio extrato de malte (MALTE):** 20 g de extrato de malte, 20 g de ágar, 1 L de água destilada.

7) **Meio sacarose-extrato de levedura-asparagina (ASPARAGINA):** 10 g de sacarose, 2 g de L-asparagina, 2 g de extrato de levedura, 1 g de KH_2PO_4 , 0,1 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,00044 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,00048 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,00036 g de MnCl_2 , 15 g de ágar, 1L de água destilada.

Para fermentação líquida o isolado fúngico foi semeado em erlenmeyers de 125 mL contendo 50 mL de meio líquido e colocados em agitador orbital com velocidade de 150 rpm por 7 dias a 20 °C. Para a fermentação difásica, o micélio obtido a partir do crescimento em meio de cultura líquido, descrito acima, foi triturado dentro dos erlenmeyers, utilizando um microtritador/homogeneizador, e em seguida 10 mL de suspensão de micélio triturado foi vertida em placas de Petri contendo os respectivos meios sólidos. As placas foram mantidas nas condições de temperatura de 20 °C e fotoperíodo 12 h/12 h e após 7 dias foram adicionados 10 mL de água destilada e esterilizada por placa de Petri e a suspensão obtida filtrada em gaze. Uma alíquota de 1 mL da suspensão foi colocada em uma em câmara de Neubauer para quantificação de conídios/mL. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelos testes de Scott Knott a 5% de significância.

2.2 Epidemiologia do patossistema *C. truncatum* x *B. pilosa* em casa de vegetação

2.2.1. Efeito do atraso de molhamento foliar na severidade da doença

Plantas de *Bidens pilosa* no estágio fenológico de 2 a 4 pares de folhas foram inoculadas separadamente. Imediatamente após a inoculação, um grupo de plantas foi colocado em câmara úmida, e os demais grupos 6, 12, 24 e 48 horas após a inoculação. Plantas de todos os períodos de atraso de molhamento permaneceram por 48 horas de molhamento foliar. Após cada período, as plantas foram mantidas nas condições de casa de vegetação. Plantas pulverizadas com água + Tween 20 0,05% e submetidas às mesmas condições foram utilizadas como controle. As avaliações foram feitas aos 7 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos utilizando-se a escala de notas confeccionada para avaliação do controle de *Bidens pilosa*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, cuja unidade experimental consistiu de um vaso.

Tabela 1. Escala de notas a serem utilizadas para avaliação do controle de *B. pilosa*

Nota	Descrição da Nota	Porcentagem de controle
0	Planta sem sintoma	0
1	Planta com amarelecimento	10
2	Planta sem morte de ponteira com menos de 20% das folhas com mancha	20
3	Planta sem morte de ponteira com 20-50% das folhas com mancha	30
4	Planta sem morte de ponteira com mais de 50% das folhas com mancha	40
5	Planta sem morte de ponteira com todas as folhas com mancha	50
6	Planta com morte de ponteira com folhas saudias	60
7	Planta com morte de ponteira com até 2 folhas com mancha	70
8	Planta com morte de ponteira com mais de 2 folhas com manchas	80
9	Planta com haste ainda verde sem folhas com morte de ponteira	90
10	Planta morta	100

Adaptado de: Bruno Sérgio Vieira, 2004.

2.1.2. Efeito do volume de calda do micro-herbicida na severidade da doença

Sete grupos de plantas de *Bidens pilosa* foram cultivados em vasos plásticos (20 plantas/caixa) (separadamente). Ao atingirem o estágio de 1 a 2 pares de folhas (20 a 30 dias após o plantio), as plantas foram pulverizadas com uma suspensão contendo $1,4 \times 10^5$ conídios/mL de *C. truncatum* ou com o herbicida Glifosato (1,0 L/ha), com um volume proporcional a cada um dos volumes/hectare listados abaixo:

- 1) 600 L/ha de suspensão de conídios de *Colletotrichum truncatum* (F 600)
- 2) 600 L/ha de Glifosato (GLI 600)
- 3) 400 L/ha de suspensão de conídios de *Colletotrichum truncatum* (F 400)
- 4) 400 L/ha de Glifosato (GLI 400)
- 5) 200 L/ha de suspensão de conídios de *Colletotrichum truncatum* (F 200)
- 6) 200 L/ha de Glifosato (GLI 200)
- 7) testemunha (pulverização com água + Tween 20 0,05%).

As pulverizações foram feitas utilizando-se um minipressurizador e com a adição de Tween 20 0,05%. As pulverizações foram feitas ao anoitecer e as plantas foram deixadas ao relento durante todo o tempo do experimento. As avaliações foram feitas aos 7 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos utilizando-se a escala de notas de controle adotada pela Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD 1995) (Tabela 2). Na avaliação final foram colhidas as plantas e determinado o peso seco médio de parte aérea (P.M.P.A) e peso médio do sistema radicular (P.M.S.R) de plantas de cada tratamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo cada repetição representada por um vaso contendo 20 plantas.

Tabela 2. Descrição de conceitos aplicados na avaliação de controle*

Classes de controle	Descrição
A - 90-100%	Controle excelente ou total da espécie em estudo.
B – 80-89%	Controle bom, aceitável para a infestação da área.
C – 60-79%	Controle moderado, insuficiente para a infestação da área.
D – 50-59%	Controle deficiente ou inexpressivo.
E – 0-49	Ausência de controle.

* SBCPD (1995)

2.3. Infectividade de *Colletotrichum truncatum* a sementes de picão preto (*Bidens pilosa*)

O potencial para o desenvolvimento de uma formulação mico-herbicida de *Colletotrichum truncatum* efetiva para controle do picão preto em aplicações em pré-emergência só se confirmaria mediante uma demonstração de que este fungo consegue infectar as sementes desta planta. Para atender esta finalidade foi testada uma possível infectividade do fungo pela microbiolização de sementes sadias de picão preto com conídios do fungo. 150 sementes foram colocadas em um erlenmeyer contendo uma suspensão de conídios de *Colletotrichum truncatum* em meio de cultura líquido 1×10^5 conídios/mL e deixadas sobre um agitador orbital ajustado para uma velocidade de agitação de 150 rpm por 2 horas. A testemunha consistiu de 150 sementes deixadas nas mesmas condições, mas suspensas apenas em água destilada estéril. Passado este período as sementes expostas ao fungo ou não foram colocadas separadamente no interior de caixas gerboxes forradas internamente com papel filtro estéril

umedecido com água estéril em número de 25 por caixa e distribuídas com um afastamento de cerca de 2 cm entre as sementes. Em seguida, as caixas gerboxes foram colocadas em BOD à 25 °C e com fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada após 5 dias, através da contagem do número de sementes germinadas e pela observação da formação ou não de estruturas típicas de *Colletotrichum truncatum* na superfície das sementes através do Microscópio Estereoscópica Leica Zoom 2000. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada repetição consistindo de 1 gerbox contendo 25 sementes.

2.4. Efeito de diferentes temperaturas na germinação de conídios de *C. truncatum*

Este ensaio teve como objetivo verificar a temperatura ideal a germinação de conídios de *C. truncatum*. Para tal, foram distribuídas com auxílio de uma alça de Drigalski alíquotas de 1 mL de uma suspensão de conídios (2×10^5 conídios/mL) por placa de Petri contendo ágar-água. Posteriormente as placas de Petri foram acondicionadas em BOD em diferentes temperaturas: 15° C, 20° C, 25° C e 30° C. A determinação da viabilidade de conídios foi efetuada mediante o percentual de germinação dos mesmos, utilizando uma contagem direta nas placas de Petri, 24 horas após o plaqueamento, com auxílio de microscópio óptico (Nikon modelo E100), em aumento de 400x. Foram considerados germinados os conídios que apresentaram tubo germinativo com comprimento maior ou igual ao seu diâmetro, contando-se 100 conídios por placa de Petri. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri.

2.5. Efeito de uma possível toxina produzida por *C. truncatum* em meio líquido a *B. pilosa*

Com objetivo de verificar o efeito de uma provável toxina produzida por *C. truncatum* a *B. pilosa*, alíquotas de 100 mL do meio de cultura extrato de malte foram colocados em erlenmeyers de 250 mL e em seguidas autoclavados 1 hora a 120 °C. Após o resfriamento foram adicionados asépticamente três discos de micélio de cultura do fungo em cada erlenmeyer. A produção do fungo em meio líquido extrato de malte durou 15 dias em agitador orbital regulado a 180 rpm em 25 °C \pm 2 °C. Após os 15 dias, a biomassa fúngica produzida em cada erlenmeyer foi filtrada a vácuo através de papel de filtro Whatman nº 1, permanecendo até que a biomassa fúngica e o papel de filtro se tornasse seco. O filtrado fúngico obtido (extrato bruto-EB) foi

transferido para tubos Falcon e, em seguida foi realizada uma pulverização do referido EB em *B. pilosa* com minipressurizador até o escorrimento da calda nas plantas. Os tratamentos testados foram os seguintes: 1) Filtrado de cultura (EB) + Tween (0,05%); 2) Meio de cultura extrato de malte + Tween (0,05%); 3) Água + Tween (0,05%). As avaliações foram realizadas 7 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo avaliado o teor de clorofila com auxílio de SPAD-502; altura média das plantas (cm) (A.M), diâmetro médio de raiz (cm) (D.M.R), peso úmido médio de parte aérea (g) (P.U.M.P.A), peso úmido médio de sistema radicular (g) (P.U.M.S.R), peso seco médio de parte aérea (g) (P.S.M.P.A) e peso seco médio do sistema radicular (g) (P.M.S.R) para cada tratamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, cuja unidade experimental consistiu de um vaso contendo 1 planta.

2.6. Efeito de adjuvantes na germinação de conídios de *C. truncatum*

Com objetivo de verificar o efeito diferentes adjuvantes (TA 35, Áureo, Flex, Ourobor, Assist, Vertex P, VS, Óleo Vegetal Nortox, Intec, Silwet, Óleo Vegetal Dufol e Agroil) na germinação de conídios de *C. truncatum* em placas de Petri, foram preparadas 60 placas de Petri (6 x 6 cm de diâmetro) assepticamente com meio de cultura CVA (caldo de vegetais ágar). Foi obtida uma suspensão de conídios de *C. truncatum*, com um volume da alíquota de 250 µl na concentração de $1,6 \times 10^6$ conídios/mL e uma alíquota no volume de 250 µl de cada adjuvante, que foram espalhadas em placas de Petri. Primeiramente espalhou-se a suspensão de conídios em cada placa seguida da alíquota de cada adjuvante testado. As placas foram acondicionadas em incubadora B.O.D à 20° C com ausência de fotoperíodo. Após 24 horas, foi feita a contagem, em microscópio óptico dos 100 primeiros conídios germinados ou não. Foram considerados germinados aqueles conídios que apresentaram tubo germinativo igual ou maior ao diâmetro do conídio. A testemunha consistiu de placas de Petri contendo suspensão de conídios sem a presença de adjuvante. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo cada unidade experimental uma placa de Petri.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Produção de conídios de *Colletotrichum truncatum* em fermentação difásica

O meio de cultura extrato de malte (MEA) ($5,9 \times 10^6$ conídios/mL) foi o que mais se destacou em relação a esporulação de *C. truncatum*, diferindo estatisticamente dos demais meios de cultura (Figura 3). O crescimento de *C. truncatum* nos meios de cultura CVA ($1,42 \times 10^6$ conídios/mL), cenoura ágar (CEN AGAR) ($0,97 \times 10^6$ conídios/mL), batata dextrose ágar (BDA) ($0,34 \times 10^6$ conídios/mL) e o meio sacarose-extrato de levedura-asparagina (MSELA) ($0,07 \times 10^6$ conídios/mL), resultou em menores índices de produção de conídios de *C. truncatum*, não diferindo estatisticamente entre si. Não foi verificada a esporulação nos meios de cultura JP (Jenkins-Prior) e Czapek-Dox-ágar.

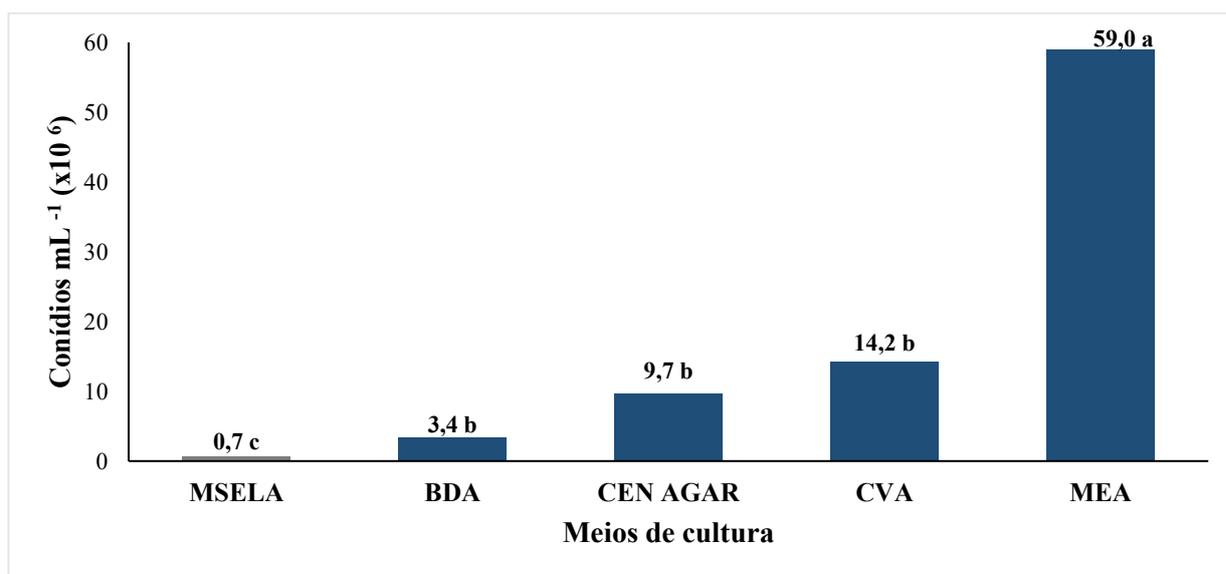


FIGURA 3: Produção de conídios/mL de *C. truncatum* em diferentes meios de cultura líquidos, aos 15 dias de incubação.

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott.

Legenda: MSELA: Meio sacarose-extrato de levedura-asparagina; BDA: Meio batata dextrose ágar; CEN AGAR: Meio cenoura-ágar; CVA: Meio caldo de vegetais ágar; MEA: Meio extrato de malte.

Segundo estudos realizados por (PENARIOL et al., 2008), a fermentação do tipo sólida consiste na produção de conídios aéreos em substratos sólidos compostos em sua maioria por grãos, derivados de cereais e resíduos agroindustriais, já na fermentação do tipo líquida submersa, o fungo é produzido em meios ricos nutricionalmente, estando prontamente disponíveis, produzindo conídios submersos, blastósporos, aglomerados de micélios e por vezes estruturas conhecidas como microescleródios (JACKSON & JARONSKI, 2009; MASCARIN et al., 2015).

Segundo (MACHADO et al., 2013) na fermentação difásica é utilizada a biomassa do fungo proveniente da fermentação líquida fazendo a inoculação em substratos sólidos ou material inerte para produção de conídios aéreos.

Muitos fatores têm influência sobre a esporulação e crescimento dos fungos, como: nutricionais e químicos, temperatura, luz, umidade, aeração, entre outros (GRIFFIN, 1993; DHINGRA e SINCLAIR, 1995). Segundo BELMINO (2004) um meio de cultura adequado suporta alta esporulação e baixo crescimento micelial, sendo que, geralmente, a esporulação é favorecida pela exaustão nutricional. COUTO e MENEZES (2004), em trabalho com *Colletotrichum musae* verificaram que a produção de conídios em meio asparagina foi insatisfatória, como verificado no presente trabalho.

Segundo estudos de CARLILE e WATKINSON (1996), as condições para esporulação e crescimento vegetativo para alguns fungos diferem. Os resultados obtidos nesse ensaio experimental mostraram que existem variações na produção de conídios/mL de *C. truncatum* em diferentes meios de cultura.

C. truncatum (isolado de *B. pilosa*) produz abundantemente conídios em meios de cultura líquido (Vieira et al.; 2018), o que torna esse isolado potencialmente viável em termos industriais, pois a técnica de produção de esporos fúngicos por meio da fermentação líquida é mais barata e simples em termos operacionais.

3.2 Epidemiologia do patossistema *C. truncatum* x *B. pilosa* em casa de vegetação

3.2.1. Efeito do atraso de molhamento foliar na severidade da doença

Os resultados do presente trabalho mostraram que os níveis mais adequados para o controle de *B. pilosa* foram obtidos com os períodos de atraso do molhamento foliar com 0 e 6 horas, os quais não diferenciaram significativamente entre si, sendo superior aos demais tratamentos.

Tabela 3. Porcentagem de controle (severidade) de *B. pilosa* em função de diferentes períodos de atraso de molhamento foliar após 14 dias de inoculação.

Atraso de molhamento foliar (horas)	Controle (%)
0 horas	100,0 a
6 horas	94,0 a
12 horas	66,0 b
24 horas	38,0 c
48 horas	00,0 c

Média geral: 5,95**CV (%) = 11,38%**

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo WAGGONER (1960) o período de molhamento foliar é um fator ambiental considerado indispensável para a germinação da maioria dos esporos de fungos. A presença de água e o tempo de molhamento foliar são fundamentais para que haja germinação dos esporos e seja estabelecida a infecção (DE WEILLE, 1964)

Segundo Piccinin et al (2005), longos períodos de molhamento foliar, alta umidade relativa ar, e temperaturas não muito elevadas (entre 22° e 25 °C) são as principais condições favoráveis a infecção por espécies de *Colletotrichum*.

A dependência de longos períodos de molhamento foliar para a morte de plantas de *B. pilosa* por *C. truncatum* é um limitante para o desenvolvimento de um produto comercial à base deste fungo. Tal dependência poderia ser superada com a adição de adjuvantes à calda de aplicação.

3.2.2. Efeito do volume de calda do mico-herbicida na severidade da doença

As aplicações que produziram melhores resultados de controle de *B. pilosa*, foram as pulverizações contendo a suspensão de conídios de *C. truncatum* nos volumes de 600, 400 e 200 L/ ha, onde foi observado controle de 80, 75 e 72% de controle de *B. pilosa*, a testemunha não apresentou nenhum nível de controle, aos 7 dias após as pulverizações (Figuras 4 e 5). Tal nível de controle é avaliado como bom, aceitável para a infestação da área em estudo (SBCPD, 1995), como observado por (VIEIRA, 2008) na utilização de *Lewia chlamidosporiformans* como mico-herbicida para *Euphorbia heterophylla*. As doses de glifosato resultaram em 72, 70 e 68% de controle de *B. pilosa* nos volumes de 600, 400 e 200 L/ ha, respectivamente, aos 7 dias após as pulverizações, o qual, mesmo não apresentando diferença significativa em relação a suspensão de conídios de *C. truncatum* em todos os volumes de calda (L/ ha), mostrou-se inferior aos volumes de calda testados com a suspensão de conídios (Figura 4). Aos 14 dias após as aplicações, foram observados níveis de controle de *B. pilosa* de 71, 69 e 63% para a suspensão de conídios de *C. truncatum* e 93, 86 e 92 % para o glifosato, sendo superior aos volumes testados com a suspensão de conídios; respectivamente nos volumes de 600, 400 e 200 L/ ha, a testemunha não apresentou nenhum nível de controle (Figura 6). Foi observada uma

diminuição significativa no peso seco de plantas de *B. pilosa*, tanto da parte aérea quanto do sistema radicular com o aumento do volume de calda utilizado (tanto para suspensões contendo conídios de *C. truncatum* quanto para o glifosato) (Tabela 4), como observado por (VIEIRA, 2008) em estudo com utilização de *Lewinia chlamidosporiformans* como mico-herbicida para *Euphorbia heterophylla*. Para a variável peso seco de sistema radicular (g) de *B. pilosa*, o menor peso seco foi encontrado nas plantas pulverizadas com a suspensão de conídios de *C. truncatum* no volume de 600 L/ha, sendo superior a todos os outros tratamentos, seguido dos tratamentos GLI 200, GLI 400, GLI 600, respectivamente; os quais não diferenciaram significativamente entre si, porém foram superiores aos demais volumes de calda testados (Tabela 4). Para variável peso seco de parte aérea de *B. pilosa*, o tratamento que mais se destacou foi a aplicação de suspensão de conídios num volume de calda de 600 L/ha, sendo superior estatisticamente aos demais tratamentos. O maior peso seco de parte aérea encontrado foi no tratamento (F 200), sendo estatisticamente inferior aos demais tratamentos.

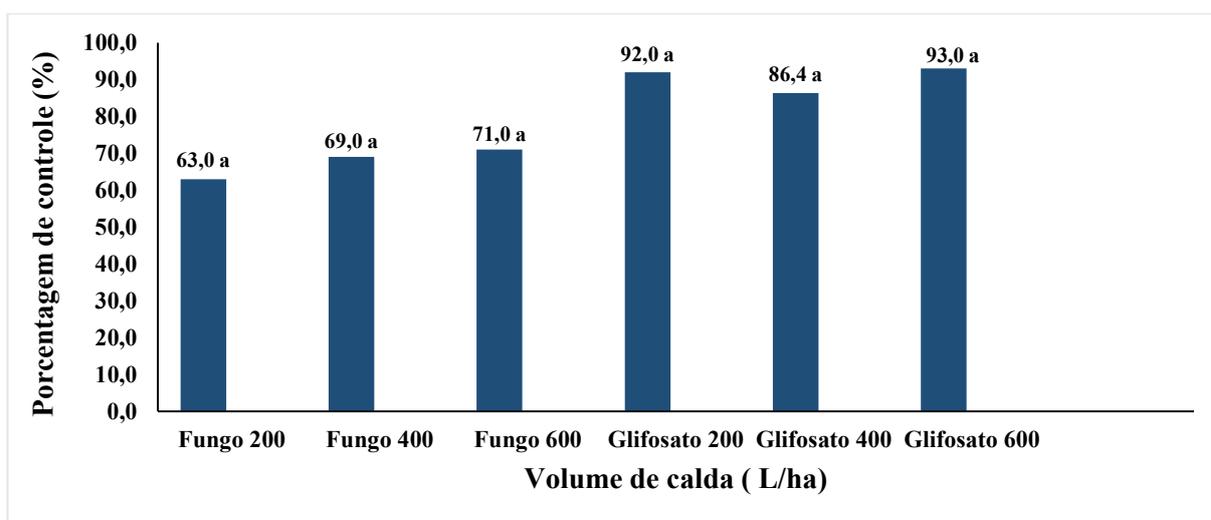


FIGURA 4. Porcentagem de controle de *B. pilosa* em função de diferentes volumes de calda (L/ha), aos 7 dias após as pulverizações.

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.



Figura 5. A esquerda parcela infestada com *B. pilosa* (Testemunha). Ao centro, detalhe do controle obtido com a inoculação de conídios de *C. truncatum*, aos 7 dias após as pulverizações, no volume de calda de 600 L/ha. A direita controle obtido com a aplicação de Glifosato na dose de 1 L/ha, num volume de calda de 600 L/ha, após 7 dias da pulverização.

Tabela 4. Controle, peso seco do sistema radicular e da parte aérea (g) de *B. pilosa* em função de diferentes volumes de calda contendo conídios de *C. truncatum* ou glifosato

Volume de calda (L/ha)	Controle (%)	P.M.S.R (g)	P.M.P.A (g)
Fungo 200	63,0 b	1,86 c	3,11 e
Fungo 400	69,0 b	0,45 b	0,96 c
Fungo 600	71,0 b	0,06 a	0,32 a
Glifosato 200	92,0 a	0,22 a	1,36 d
Glifosato 400	86,4 a	0,11 a	0,66 b
Glifosato 600	93,0 a	0,11 a	1,20 d
Testemunha	0,0 c	3,49 d	5,97 f
CV (%) =	8,75	14,25	14,25

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

3.3 Infectividade de *Colletotrichum truncatum* a sementes de picão preto (*Bidens pilosa*)

Nas condições estabelecidas no presente trabalho, *Colletotrichum truncatum* não foi infectivo às sementes de picão preto (*B. pilosa*).

3.4. Efeito de diferentes temperaturas na germinação de conídios de *C. truncatum*

A temperatura mais adequada para a germinação de conídios de *C. truncatum* foi observada na faixa de 20 a 25 °C, sendo superior estatisticamente em relação as demais temperaturas testadas (Tabela 5). Temperaturas acima de 25 °C e abaixo de 20 °C reduziram drasticamente a germinação de *C. truncatum*.

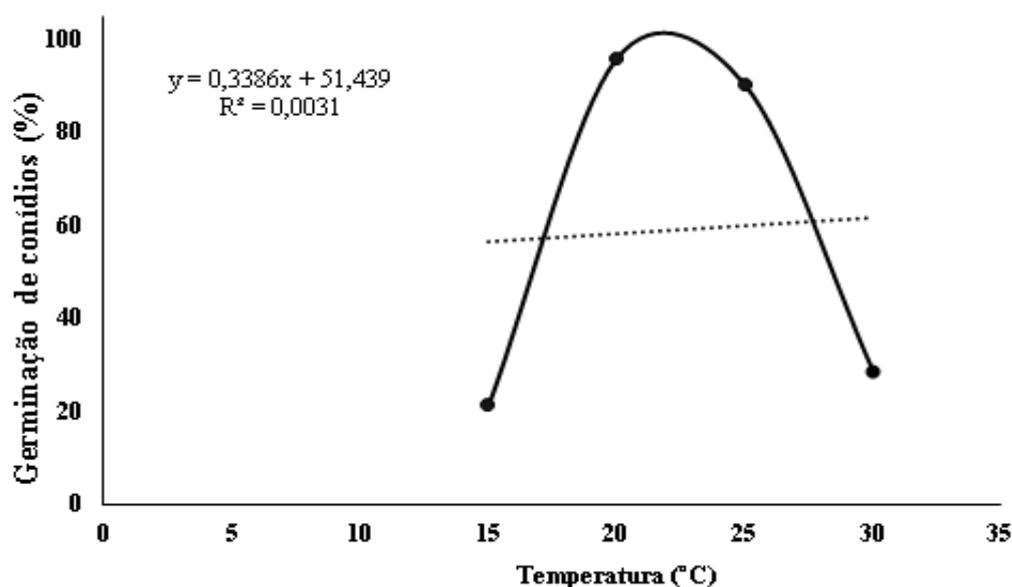


Figura 6- Porcentagem de germinação de esporos de *C. truncatum* em função de diferentes temperaturas de incubação (°C)
Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

De acordo com CARLILE & WATKINSON (1994), os fungos, assim como outros microrganismos, são capazes de sobreviver em uma ampla faixa de temperatura. Em trabalho com *Bipolaris euphorbiae*, potencial agente de biocontrole para o leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) MORAES (2009) verificou que a temperatura ótima para esporulação de *B. euphorbiae* foi de 22°C e na temperatura de 13°C tanto a esporulação quanto o crescimento do fungo foram reduzidos, mostrando o efeito inibitório de baixas temperaturas. Em trabalho visando desenvolver um agente de biocontrole para o fedegoso, AVILA et al. (2000), observaram que a temperatura de 25°C foi a mais adequada para a esporulação de *Alternaria cassiae*.

DIAS et al. (2002) em trabalho envolvendo vários isolados de *Colletotrichum* spp., observaram que a produção ótima de esporos se situa na faixa de temperatura entre 23 e 25°C. Costa e Carvalho (2011), observaram que a temperatura ótima para germinação de esporos de *Thielaviopsis paradoxa* foi na temperatura de 28 °C, evidenciando que a temperatura tem grande influência sobre a germinação de esporos fúngicos.

3.5. Efeito de uma possível toxina produzida por *C. truncatum* em meio líquido a *B. pilosa*

A aplicação do extrato fúngico de *C. truncatum* na parte aérea de *B. pilosa* reduziu significativamente o teor de clorofila das folhas (T.C.M) ($\mu\text{g cm}^{-2}$) de *C. truncatum*, sendo superior aos demais tratamentos (Meio de cultura + Tween 0,05% (MC+ TWEEN) e testemunha (TEST), respectivamente. Os melhores resultados para altura de plantas (A.M.) (cm), foram obtidos com o extrato fúngico e o meio de cultura + Tween 0,05% respectivamente, os quais não diferenciaram significativamente entre si, sendo superiores a testemunha (Tabela 6).

O melhor resultado para diâmetro de raiz (D.M) (cm), peso úmido de parte aérea (P.U.M.P.A) (g), peso úmido de sistema radicular (P.U.M.S.R) (g) e peso seco de parte aérea (P.S.M.P.A) (g) foram obtidos com a aplicação do extrato fúngico, sendo superior aos demais tratamentos (Tabelas 6 e 7).

Para a variável peso seco de sistema radicular (P.S.M.S.R) (g), os melhores resultados foram observados com os tratamentos extrato fúngico e meio de cultura + Tween 0,05%, os quais não diferiram significativamente entre si, sendo superiores a testemunha (Tabela 7).

Fatores como a diversidade estrutural e a capacidade de produzir efeitos fitotóxicos em pequenas concentrações e de atuar por novos mecanismos de ação fazem com que fitotoxinas fúngicas sejam consideradas uma fonte promissora para a produção de novos herbicidas naturais (Hoagland, 2001; Duke et al., 2002).

Em estudos anteriores (VIEIRA, 2013) observou a produção de metabólitos fitotóxicos produzidos pela espécie fúngica *Alternaria euphorbiicola*, que causou extensas necroses foliares e desfolha em plantas de *Euphorbia heterophylla*.

Tabela 6. Teor de clorofila médio ($\mu\text{g cm}^{-2}$), altura média e diâmetro médio de raízes (cm) em função de diferentes tratamentos.

Tratamentos	T.C.M ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	A.M (cm)	D.M. (cm)
EXT FUNGICO	5,86 a	4,50 a	4,64 a
MC + TWEEN	20,98 b	5,02 a	14,74 b
TEST	24,80 c	8,80 b	28,96 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 7. Peso úmido médio de parte aérea, sistema radicular (g) e peso seco médio de parte aérea e sistema radicular (g) em função de diferentes tratamentos.

Tratamentos	P.U.M.P.A (g)	P.U.M.S.R (g)	P.S.M.P.A (g)	P.S.M.S.R (g)
EXT FUNGICO	0,45 a	0,21 a	0,01 a	0,01 a

MC + TWEEN	1.06 b	1,09 b	0,08 b	0,07 a
TEST	1.52 c	1,32 c	0,16 c	0,24 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.



Figura 8. Plantas pulverizadas com extrato fúngico de *C. truncatum* aos 7 dias após aplicação.



Figura 9. Plantas pulverizadas somente com meio de cultura (extrato de malte) + Tween (0,05%) aos 7 dias após aplicação.



Figura 10. Testemunha aos 7 dias após aplicação.



Figura 11. Comparação dos tratamentos. À esquerda destaque ao controle obtido com a pulverização com extrato fúngico de *C. truncatum* em parte aérea de *B. pilosa* em relação a aplicação do meio de cultura + Tween (0,05%).

À direita, destaque ao amarelecimento, diminuição de área fotossintética e tamanho reduzido após foi pulverização do extrato fúngico de *C. truncatum* em *B. pilosa* relação a testemunha.



Figura 12. Comparação dos tratamentos. À esquerda, destaque ao controle obtido após a pulverização do extrato fúngico de *C. truncatum* em *B. pilosa*. Diminuição do volume do sistema radicular, amarelecimento das folhas e crescimento reduzido da parte aérea. À direita, testemunha, evidenciando maior crescimento de parte aérea, área fotossintética e maior volume do sistema radicular.

3.6. Efeito de diferentes adjuvantes comerciais na germinação de conídios de *C. truncatum*

A maior porcentagem de germinação de conídios de *C. truncatum* foi obtida quando o fungo foi adicionado sozinho às placas de Petri, sem adição de adjuvante, sendo estatisticamente superior aos demais tratamentos (Tabela 8). A adição de adjuvantes a calda contendo conídios de *C. truncatum* reduziu drasticamente a germinação de *C. truncatum*, nas respectivas concentrações testadas (Tabela 8).

Em estudos anteriores sobre o fungo *Lewia chlamidosporiformans* Vieira & Barreto (Vieira, 2005), observaram um elevado potencial para o desenvolvimento de um mico-herbicida para o controle do leiteiro, conforme já demonstrado numa série de trabalhos anteriores (Nechet, 2002; Vieira, 2004; Vieira *et al.*, 2008; Nechet *et al.*, 2008). Tais estudos envolveram aplicações de formulações líquidas de *L. chlamidosporiformans* na parte aérea de plantas de leiteiro (condição de controle em pós-emergência).

Vieira & Barreto (2005) observaram que o tipo de adjuvante e sua concentração afetam grandemente sobre os níveis de controle sobre *E. heterophylla*. No estudo em questão foi observado que os melhores desempenhos alcançados no controle foram obtidos com os adjuvantes nas concentrações de: Veget Oil 10%, Silwet 0,5%, Break thru 0,5%, Kinetic 2% e 1%, onde o controle observado foi excelente ou total de *E. heterophylla*, também foi observado que uma simples aplicação de uma suspensão de clamidósporos de *L. chlamidosporiformans* em água sem a adição de adjuvante não produziu qualquer controle de *E. heterophylla*, os resultados mostraram que em formulações de clamidósporos de *L. chlamidosporiformans* foram o ingrediente ativo, o uso de adjuvantes é fundamental para que se obtenha o controle do leiteiro. O adjuvante Silwet a 0,5% foi o único adjuvante que apresentou danos severos em plantas de leiteiro quando aplicado isoladamente, os demais adjuvantes não mostraram nenhuma fitotoxidez quando aplicados isoladamente.

Tabela 8. Germinação de conídios de *C. truncatum* (%) em função da ação de diferentes adjuvantes na calda

Tratamentos	Germinação média de conídios de <i>C. truncatum</i> (%)	
ÓLEO VEGETAL DUFOL	13.66	f
SILWET	15.33	f
AGROIL	17.33	f e
INTEC NONIL	19.00	f e
VERTEX STRIKE	22.33	e
ÓLEO VEGETAL NORTOX	24.33	e
VERTEX PREMIUM	25.00	e
TA 35 LAURIL ÉTER	35.00	d
ÁUREO	43.00	d c
FLEX	49.33	c b
OUROBOR	51.66	b
ASSIST	55.00	b
FUNGO SOZINHO	99.33	a
Média geral: 36,3		
CV (%) = 7,5%		

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

4. CONCLUSÕES

O meio de cultura extrato de malte (MEA) foi o que mais se destacou em relação à esporulação de *C. truncatum* pela fermentação difásica.

Os níveis mais adequados para o controle de *B. pilosa* foram obtidos com os períodos de atraso do molhamento foliar com 0 e 6 horas. *C. truncatum* é dependente de um período prolongado de molhamento foliar para matar as plantas de picão.

No atual estado da arte, é necessário um volume de 600 L/ha contendo conídios de *C. truncatum* para um controle efetivo de *B. pilosa*.

Colletotrichum truncatum não foi infectivo às sementes de picão.

A temperatura mais adequada à germinação de conídios de *C. truncatum* foi 20 °C.

O extrato fúngico de *C. truncatum* afetou o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular de plantas de *B. pilosa*, comprovando a produção de uma possível toxina, sendo necessário maiores estudos para a identificação desta última.

A adição de adjuvantes comerciais em suspensões contendo conídios de *C. truncatum* (nas doses testadas) afetou negativamente a germinação dos conídios.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, J. M. Plantas daninhas podem aumentar em 10% custos de produção de grãos. 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/3382931/plantas-daninhas-podem-aumentar-em-10-custos-de-producao-de-graos>>. Acesso em: 8 nov. 2018.

ASKEW SE, SHAMOUN SF, VAN DER KAMP BJ. Assessment of *Colletotrichum gloeosporioides* as a biological control agent for management of hemlock dwarf mistletoe (*Arceuthobium tsugense*). Forest Pathology, 41, 444–452, 2011

ÁVILA, Z.R., MELLO, S.C.M., RIBEIRO, Z.M.A. & FONTES, E.M.G. Produção de inóculo de *Alternaria cassiae*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 35:533-541. 2000.

BAIO, F. H. R.; PIRES, L. F.; TOMQUELSKI, G. Mapeamento de picão preto resistente aos herbicidas inibidores da ALS na região sul mato-grossense. Bioscience Journal, v. 29, n. 1, 2013.

BELMINO, C. S. Resistencia do feijão-caupi a *Colletotrichum truncatum*. Tese (Doutorado), 2004, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C. The fungi. London: Academic Press, p.428, 1994.

CARLILE, M. J.; WATKINSON, S. C. Fungi and biotechnology. The Fungi, p. 253-264., 1996.

CARVALHO, S. J. P., LÓPEZ-OVEJERO, R. F., MOYSÉS, T. C., CHAMMA, H. M. C. P., CHRISTOFFOLETI, P. J. Identificação de biótipos de *Bidens* spp. resistentes aos inibidores da ALS através de teste germinativo. Planta daninha. v. 22, n. 3, p. 411-417, 2004.

COSTA, R.R., Carvalho et al. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de esporos de *Thielaviopsis paradoxa* isolado de coqueiros em Sergipe Scientia Plena 7, (2011). DEMUNER, A. J.

COUTO, E.F. & MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. Fitopatologia Brasileira v.29, p:406-412, 2004.

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

DE WEILLE, G.A. Forecasting crop infection by the potato blight fungus. Mededelingen en Verhandelingen 82: 1-144, 1964.

VIEIRA, B. S. Toxicidade de filtrados de cultura de *Alternaria euphorbiicola* em folhas de *Euphorbia heterophylla*. Planta Daninha, v. 31, p. 1-9, 2013.

DHINGRA, O. D., SINCLAIR, J. B. Basic Methods in Plant Pathology, 2ed. Lewis Publishers. 434p. 1995.

DUKE, S. O. et al. Chemicals from nature for weed management. Weed Sci., v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.

FIORILLO, C., M., T. Controle biológico de *sagittaria montevidensis* com *cylindrocarpon* sp.. Tese (Doutorado), 2007, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal, 2007.

GELMINI, G. A. Resistência de biótipos de *Euphorbia heterophylla* L., *Bidens subalternans* L. e *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. a herbicidas utilizados na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). 2001. 147 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2001. 147 p.

GRESSEL, J.; MICHAELI, D.; WARSHAWSKY, A. & KAMPEL, V. Enhancing infectivity of a *Colletotrichum* mycoherbicide by chemically inhibiting callose biosynthesis. In: Proceedings of the 6th international mycological congress – host specificity, pathology and host-pathogen interaction of *Colletotrichum* workshop. Int. Mycol. Soc.: Jerusalem, Israel: 1998. p.31 (abstract).

GRIFFIN, D. H. Fungal Physiology. New York: John Wiley & Sons 2ed. 1993, 458p.

GROMBONE-GUARATINI, M. T.; SOLFERINI, V. N.; SEMIR, J. Reproductive biology in species of *Bidens* L. (Asteraceae). *Scientia Agricola*. v. 61, n. 2, p. 185-189, 2004.

HERNANDES, G. C.; VIDAL, R. A.; WINKLER, L. M. Levantamento de práticas agronômicas e distribuição geográfica de *Bidens* spp. resistentes aos herbicidas inibidores de ALS nos Estados do Rio Grande do Sul e do Paraná. *Planta Daninha*. v. 23, p. 677-682, 2005.

HOAGLAND, R. E. Microbial allelochemicals and pathogens as bioherbicidal agents. *Weed Technol.*, v. 15, n. 4, p. 835- 857, 2001.

HOLM, L. The world's worst weeds – distribution and biology. Krieger Publishing Company, Malabar, USA, 1991.

HOLT, R. D.; HOCHBERG, M. E. When is biological control evolutionary stable. *Ecology*, Longton, v. 78, n. 14, p. 1673-1683, 1997.

JACKSON M. A & JARONSKI S. T. Production of microsclerotia of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their potential for use as a biocontrol agente for soil-inhabiting isects. *Mycological Research*, Cambridge, v. 113, n. 8, p. 842 – 850, 2009

KISSMANN, G. K. Plantas daninhas e nocivas. 2. ed. São Bernardo do Campo: BASF Brasileira, 1997. 825

KISSMANN, C. G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. São Paulo: BASF, 1999. 978 p. t. 2.

MACHADO, A. C. .R; MOCHI, D. .A; MONTEIRO, A. C. Crop optimization and pre-steps standardization to get a *Bipolaris euphorbiae*-based biohebicide. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 43, n. 4, p. 392-399, 2013.

MASCARIN, G. M.; JACKSON M. A.; KOBORI, N. N.; BEHLE, R. W.; DELALIBERA JÚNIOR, I. Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosarosea* strains. *Journal of Invertebrate Phatology*, San Diego, v. 127, p. 11 – 20, 2015.

MESCHEDE, D. K. et al. Período crítico de interferência de *Euphorbia heterophylla* na cultura da soja sob baixa densidade de semeadura. *Planta Daninha*, v. 20, p. 381-387, 2002.

MESCHEDE, D. K. et al. Período anterior à interferência de plantas daninhas em soja: estudo de caso com baixo estande e testemunhas duplas. *Planta Daninha*, v. 22, p. 239-246, 2004.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. *Fitopatologia brasileira*, 27 (suplemento): S23, 2002.

MORAES, C. Produção massal e influência de fatores físicos no cultivo e viabilidade de *Bipolaris euphorbiae*. 2009. 75f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

Nechet, K. L.; Vieira, B. S.; Barreto, R. W.; Silva, A. A. 2008. Combination of a mycoherbicide with selected chemical herbicides for control of *Euphorbia heterophylla*. In: XII International Symposium on Biological Control of Weeds, 22nd-27th April 2007, La Grande Motte, France.

OERKE, E. C.; DEHNE, H. W. Safeguarding production - losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, n. 23, p. 275-285, 2004.

PENARIOL, M. C.; MONTEIRO, A. C.; PITELLI, R. A.; PEREIRA G. T. Produção de *Bipolaris euphorbiae* em meios de cultura sólidos e líquidos obtidos de grãos e resíduos agroindustriais. *Bragantia*, Campinas, v. 67, n. 4, p. 805 – 814, 2008.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças da goiabeira (*Psidium guajava* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.;

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

RABELO, G. O., FERREIRA, A. L. S., YAMAGUSHI, M. Q., VESTENA, S. Potencial alelopático de *Bidens pilosa* L. na germinação e no desenvolvimento de espécies cultivadas. Revista Científica FAMINAS. v. 4, n. 1, 2008.

RIZZARDI, M. A.; VIDAL, R. A.; FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D. Resistência de plantas aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase. Planta Daninha. v. 20, n. 1, p. 149-158, 2002.

SHANER, D. L. Mechanisms of resistance to acetolactate synthase/acetohydroxyacid synthase inhibitors. Butterworth-Heinemann. p. 27-43, 1991.

Sociedade brasileira de ciência de plantas daninhas. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina: SBCPD. 42 pp, 1995.

VASCONCELOS, M. C. C.; SILVA, A. F. A.; LIMA, R. S. Interferência de plantas daninhas sobre plantas cultivadas. Agropec. Cient. Semi-Árido, v. 8, n. 1, p. 1-6, 2012.

VICTORIA FILHO, R. Estratégias de manejo de plantas daninhas. In: ZAMBOLIM, L. Manejo integrado de doenças, pragas e plantas daninhas, Viçosa, 2012, p. 349-362.

VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W. ; LOPES, E. A. ; Silva, A.A. . Efeito da dose e do volume de calda de uma formulação contendo clamidósporos do fungo *Lewia chlamidosporiformans* no controle do leiteiro (*Euphorbia heterophylla*). In: XXVI CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, XVIII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE MALEZAS, 2008, Ouro Preto-MG.

VIEIRA, B. S.; DIAS, L. V. S. A. ; LANGONI, V. D. ; LOPES, E. A. . Liquid fermentation of *Colletotrichum truncatum* UFU 280, a potential mycoherbicide for beggartick. AUSTRALASIAN PLANT PATHOLOGY, v. 47, p. 1-7, 2018.

VIEIRA, B. S.; Nechet, K. L.; Barreto, R. W. 2008. *Lewia chlamidosporiformans*, a mycoherbicide for *Euphorbia heterophylla*: isolate selection and mass production. In: XII

International Symposium on Biological Control of Weeds, 22nd-27th April 2007, La Grande Motte, France.

VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W. . First record of *Cercospora richardiaeicola* causing leaf spots on *Zantedeschia aethiopica* in Brazil. Plant Pathology, New Disease Report, v. 9, 2004..

VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W. . *Lewia chlamidosporiformans* sp. nov. from *Euphorbia heterophylla*. MYCOTAXON, v. 94, p. 245-248, 2005.

WAGGONER, P. E. Forecasting epidemics. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Ed). Plant pathology. San Francisco: Academic, 1960. v. 3, p. 291 – 310.

ZAGONEL, J.; VENÂNCIO, W. S.; KUNZ, R. P. Efeitos de métodos e épocas de controle das plantas daninhas na cultura do milho. Planta Daninha, v. 18, p. 143-150, 2000.

ZIDACK, N. K., QUIMBY P. C. Formulation and application of plant pathogens for biological weed control. In: Methods in Biotechnology – Biopesticides Use and Delivery (eds FR Hall, JJ Menn.). Humana Press Inc., Totowa, NJ, USA. Methods in Biotechnology, p. 371–379, 1999.