

Identificação e quantificação de fungos associados a sementes de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.)

Antonio Eduardo Loureiro da Silva¹; Erlei Melo Reis^{1,2}; Rosane Fátima Baldiga Tonin¹; Anderson Luiz Durante Danelli¹ & Aveline Avozani¹

¹Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Laboratório de Fitopatologia - Micologia, Universidade de Passo Fundo - UPF, 99001, Passo Fundo, RS, Brasil. ²Professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

Autor para correspondência: Antonio Eduardo Loureiro da Silva (loureiro@apassul.com.br)

Data de chegada: 25/09/2013. Aceito para publicação em: 16/06/2014.

10.1590/0100-5405/1935

RESUMO

Silva, A.E.L.; Reis, E.M.; Tonin, R.F.B.; Danelli, A.L.D.; Avozani, A.. **Identificação e quantificação de fungos associados a sementes de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.)**. *Summa Phytopathologica*, v.40, n.2, p.156-162, 2014.

O trabalho teve como objetivos, identificar e quantificar os fungos associados a sementes de azevém, comparar a incidência em diferentes meios de cultura, e determinar o número de escleródios de *Claviceps purpurea* presentes em amostras de sementes. Foram analisadas 37 amostras de sementes de azevém provenientes de municípios do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. As sementes foram plaqueadas em três meios de cultura: BDA, semi-seletivo de Reis e semi-seletivo de Segalin & Reis, analisando-se a incidência dos fungos. Para detecção de *C. purpurea*, foram pesados 100g de sementes por amostra e, através de exame visual, foi determinado o número de escleródios. Os fungos detectados foram *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera*

spp., *D. siccans*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp. A incidência de *A. alternata* variou de 0,0% a 33,7% e frequência de 89,2% nas amostras analisadas. Para *B. sorokiniana* a incidência foi de 0,0% a 2,2% e frequência de 62,2%, *Drechslera* spp., apresentou incidência de 0,0% a 40,3% e frequência de 78,4%. *D. siccans* a incidência foi de 0,1% a 20,0% e frequência de 100%. Para *Fusarium* spp., e *F. graminearum* a incidência foi de 0,0% a 31,0% e 0,0% a 11,3% e frequência de 81,1% e 64,9%, de 0,0% a 43,7% de incidência e 94,6% de frequência para *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp. com incidência entre 0,0% a 51,7% e frequência de 91,9%, respectivamente. O fungo *C. purpurea* foi encontrado em 81,1% das amostras em estudo.

Palavras-chave adicionais: *Drechslera siccans*, *Claviceps purpurea*, meios de cultura, azevém.

ABSTRACT

Silva, A.E.L.; Reis, E.M.; Tonin, R.F.B.; Danelli, A.L.D.; Avozani, A.. **Identification and quantification of fungi associated with seeds of ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.)**. *Summa Phytopathologica*, v.40, n.2, p.156-162, 2014.

The study aimed to identify and quantify the fungi associated with ryegrass, to compare the incidence in different culture media, and to determine the number of *Claviceps purpurea* sclerotia present in samples of ryegrass seeds. We analyzed 37 samples of ryegrass seeds from municipalities at Rio Grande do Sul, Paraná and Santa Catarina. The seeds were plated on three culture media: PDA, Reis' semi-selective medium and Segalin & Reis' semi-selective medium, to analyze the incidence of fungi. For *C. purpurea* detection, 100g seeds per sample were weighed and by means of visual examination the number of sclerotia was determined. The detected fungi were *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera* spp., *D. siccans*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium*

spp., *Aspergillus* spp. and *Penicillium* sp. The incidence of *A. alternata* ranged from 0.0% to 33.7%, and the frequency was 89.2% for the analyzed samples. For *B. sorokiniana*, the incidence was 0.0% to 2.2%, and the frequency was 62.2%, *Drechslera* spp. presented incidence of 0.0% to 40.3% and frequency of 78.4%. *D. siccans* had incidence of 0.1% to 20.0% and frequency of 100%. For *Fusarium* spp. and *F. graminearum*, the incidence was 0.0% to 31.0% and 0.0% to 11.3%, respectively, and the frequency was 81.1% and 64.9%, respectively. Incidence of 0.0% to 43.7% and frequency of 94.6% were detected for *Aspergillus* spp., while *Penicillium* sp. had incidence ranging from 0.0% to 51.7% and frequency of 91.9%. The fungus *C. purpurea* was found in 81.1% of the studied samples.

Additional keywords: *Drechslera siccans*, *Claviceps purpurea*, culture media, ryegrass.

O azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam.) é a forrageira de inverno de maior utilização na região sul do Brasil. No Rio Grande do Sul, segundo informação da APASSUL (2), ocupa uma área em torno de 1.450.000 ha sendo que, 1.000.000 ha são semeados, anualmente, e 450.000 ha originam-se de ressemeadura natural, formando pastagens perenes devido à dormência de suas sementes. Por sua capacidade de rebrote e resistência ao pastejo, produz grande quantidade de forragem de qualidade; por seu alto valor nutritivo e palatabilidade, é usado na

alimentação animal, especialmente, para bovinos de leite. Segundo Araújo (3), o azevém é uma das melhores gramíneas de inverno, completamente aclimatada no Sul do Brasil.

No controle de qualidade de sementes, vem sendo reconhecida, de forma crescente, a importância dos problemas sanitários (4). Em sementes de azevém, já foram relatados fungos patogênicos ao trigo e arroz. Lucca-Filho et al. (12) detectaram entre outros, *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium graminearum* Schwabe, *Bipolaris sorokiniana*

Shoemaker (Sacc.), *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) e *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.

A mancha-negra da folha causada por *Drechslera siccans* Shoemaker (Drechsler) é a doença encontrada com mais frequência em azevém. De acordo com Schubiger (19), o fungo está amplamente disseminado em regiões de clima temperado da Europa, Austrália e América do Norte. Tonin et al. (23), em estudos de etiologia, relataram a presença de *D. siccans* em amostras foliares de trigo. Danelli et al. (7) também mencionaram a presença desta espécie em amostras de trigo. Ressalta-se que esta espécie tem como hospedeiro principal o azevém-anual.

Lucca-Filho et al. (13) relataram a presença de escleródios de *C. purpurea* (Fries) Tulasne, em sementes fiscalizadas de azevém-anual, numa ocorrência de escleródios em 92 das 100 amostras estudadas. Nunes et al. (14) citam que *C. purpurea* é causador da doença denominada envenenamento por Ergot, que tem sido descrita em vários países afetando não apenas humanos, mas também bovinos, eqüinos, suínos, ovinos, caprinos e caninos. Informam, também, de surto de síndrome distérmica entre os anos 1985 e 1986, no Uruguai, causada pelo consumo de farelo e rações com 0,02% a 0,8% de escleródios de *C. purpúrea*, e de dois surtos ocorridos em Bagé, no Rio Grande do Sul, os quais causaram a morte de cavalos puro-sangue inglês.

Ilha et al. (10) descrevem três surtos de síndrome distérmica (hipertermia) em bovinos de leite durante o verão de 1999/2000, em três estabelecimentos do Rio Grande do Sul, localizados nos municípios de Boa Vista do Buricá, Três de Maio e Maurício Cardoso, associados à intoxicação por *C. purpurea*.

Neste sentido o azevém pode ser considerado como uma fonte de inóculo destes fungos dificultando o manejo de doenças de cereais de inverno pela rotação de culturas.

Este trabalho teve como objetivo, identificar e quantificar os fungos associados a sementes de azevém; comparar a incidência em diferentes meios de cultura, e determinar o número de escleródios presentes em amostras de sementes de azevém.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fitopatologia - Micologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo - UPF, no ano de 2011.

No ensaio, foram analisadas 37 amostras de sementes de azevém, oriundas dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Os locais de coleta das amostras foram os municípios de Água Santa (1 amostra), Almirante Tamandaré do Sul(1), Arroio Grande(1), Carazinho(1), Chapada(1), Cruz Alta(1), Espumoso(1), Ijuí(3), Jaguarão(3), Júlio de Castilhos(1), Lagoa dos três Cantos(1), Lagoa Vermelha(1), Pejuçara(1), Passo Fundo(1), Pelotas(2), Santana do Livramento(3), Santo Ângelo(1), Santo Antônio das Missões (1), Santo Antônio do Planalto(1), São Gabriel(2), Soledade(1), Vila Lângaro(1), Tupanciretã(1), Campos Novos(1), Capinzal(1), Concórdia(1), Major Vieira(1), Meleiro(1) e Curitiba(1).

Para o preparo dos meios de cultura foram utilizados os protocolos descritos em Fernandez (9) para o meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), Reis (17) para o meio semi-seletivo de Reis, e Segalin & Reis (20), para o de Segalin & Reis. As sementes foram plaqueadas com auxílio de pinça previamente flambada. A assepsia foi realizada com água + hipoclorito de sódio a 1% na proporção de 1:1 (água + hipoclorito). As sementes foram distribuídas de forma equidistante, 50 sementes em cada caixa de acrílico tipo gerbox (11 x 11 x 3,5cm de altura). As sementes

foram incubadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ em câmara climatizada com fotoperíodo de 12 horas, proporcionado por três lâmpadas fluorescentes, de 40 W, posicionadas 50 cm acima dos gerboxes, durante 12 dias para os meios semi-seletivos e 7 dias para o meio BDA.

Após o período de incubação foi realizada a análise da incidência dos fungos nas sementes, sob microscópio estereoscópico (40X) considerando-se infectada a semente com presença de conidióforo e conídio do fungo.

Para a detecção *C. purpurea* foram pesadas 100g de sementes por amostra, e separados através de quantificação visual os escleródios presentes em cada amostra, logo após os mesmos foram pesados, e transformados em percentual, levando em consideração o peso da amostra examinada.

O delineamento experimental foi de tratamentos inteiramente casualizados e a unidade experimental foi constituída por 8 gerboxes contendo 50 sementes por repetição. Para cada um dos três meios de cultura foram plaqueadas 400 sementes, totalizando 1.200 sementes por amostra.

Na comparação dos meios de cultura o arranjo fatorial foi 3x8 (meio de cultura versus fungo). Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativo no teste F, foram comparadas pelo teste Tukey com $p = 0,05$.

Na comparação das incidências de cada amostra ou município os dados foram transformados, e posterior submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade, sendo que a incidência média dos três meios de cultura e o número de escleródios em 100g de sementes foram representados graficamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na comparação dos três meios de cultura através da quantificação da incidência de fungos patogênicos foram detectados *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera siccans*, *Drechslera* spp., *Fusarium graminearum* e *Fusarium* spp. Também, foram detectados fungos de armazenamento, dentre eles *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp. (Tabela 1). Dos fungos detectados, *B. sorokiniana*, *D. siccans* e *F. graminearum* são considerados importantes patógenos de cereais de inverno.

Considerando o meio BDA (Tabela 1), as maiores incidências foram de *Aspergillus* spp. (20,6%), *D. siccans* (10,2%) e *Penicillium* sp. (5,0%). No meio semi-seletivo de Reis, a maior incidência foi de *D. siccans* (10,7%), seguido de *A. alternata* (6,7%) e *Drechslera* spp. (5,4%). Esses dados confirmam os encontrados por Almeida & Reis (1), onde este substrato mostrou-se o mais sensível na detecção de fungos patogênicos dos gêneros *Alternaria* e *Drechslera* em sementes de aveia. De acordo com Reis et al. (18), o meio semi-seletivo de Reis também foi mais sensível na detecção de *D. avenae*, em sementes de aveia, *B. sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*, em sementes de trigo, e *Drechslera teres* em sementes de cevada. Barba et al. (5) também mencionam o meio semi-seletivo de Reis como o mais sensível para detecção de *B. sorokiniana* em sementes de cevada, sendo este considerado, conforme resultados obtidos no presente estudo, um método adequado e indicado para a detecção de fungos da família Dematiaceae. No meio de Segalin & Reis, o fungo predominante foi *Aspergillus* spp. (12,6%).

Dentre os fungos detectados *A. alternata* apresentou incidência de 0,0% a 33,7% (média 6,6%) e frequência de 89,2% nas amostras analisadas. Para *B. sorokiniana* a incidência variou de 0,0% a 2,2% (média 0,5%) e frequência de 62,2%, *Drechslera* spp., apresentou

Tabela 1- Incidência (%) de fungos em sementes de azevém em três meios de cultura. Passo Fundo/RS, 2011

Fungos	Meios de Cultura			
	BDA	Reis	Segalin & Reis	Média
<i>Alternaria alternata</i>	B 4,29 b	A 6,69 a	C 1,06 b	4,01
<i>Aspergillus</i> spp.	A 20,64 a	B 2,29 b	A 12,57 a	11,83
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	A 0,26 c	A 0,61 c	B 0,07 d	0,31
<i>Drechslera siccans</i>	A 10,18 a	A 10,74 a	B 1,67 b	7,53
<i>Drechslera</i> spp.	B 2,53 b	A 5,38 a	C 0,96 c	2,96
<i>Fusarium graminearum</i>	A 0,93 b	B 0,04 c	A 0,65 c	0,54
<i>Fusarium</i> spp.	A 1,95 b	A 1,51 b	A 2,85 b	2,10
<i>Penicillium</i> sp.	A 4,97 a	B 0,49 c	A 3,20 b	2,89
Média	5,72	3,47	2,87	
CV (%)		8,0		

(*) Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparam as médias na coluna e as maiúsculas na linha.

incidência de 0,0% a 40,3% (média 4,7%) e frequência de 78,4%. *D. siccans* a incidência foi de 0,1% a 20,0% (média 6,1%) e frequência de 100%. Para *Fusarium* spp. e *F. graminearum* a incidência foi de 0,0% a 31,0% (média 4,1%) e 0,0% a 11,3% (média 1,1 %) e frequência de 81,1 % e 64,9%, de 0,0% a 43,7% (média 7,8%) de incidência e 94,6% de frequência para *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp. com incidência entre 0,0% a 51,7% (média 9,2%) e frequência de 91,9%, respectivamente.

Caldas et al. (6), analisando a qualidade sanitária de sementes de azevém-anual do banco de sementes do solo, detectaram a presença de *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Periconia* sp. e *Trichoderma* sp. nas amostras em estudo.

Silvana et al. (21), avaliando 100 amostras de sementes de azevém, oriundas de produtores e cooperativas fiscalizadas, safra agrícola 2006/2007, através do método do papel de filtro, verificaram que 76,0% dos lotes estavam contaminados por *Bipolaris* sp., e apresentaram incidência média de 3,9% (variando de 0,5% a 19,0%).

A maior incidência de *A. alternata* em sementes de azevém (Figura 1) foi detectada nos municípios de Major Vieira (33,7%), Santana do Livramento 1 (29,9%), Jaguarão 2 e 3 (25,5% e 19,8%), Pelotas 2 (13,0%), Santo Antônio das Missões (12,1%), Carazinho (11,5%), Arroio Grande (10,7%), Santo Antônio do Planalto (9,5%) e Tupanciretã (9,0%), enquanto que as maiores incidências de *B. sorokiniana* foram observadas nas amostras de Major Vieira, Pelotas 2, Chapada e Água Santa, com incidência situando-se entre 1,6% a 2,2%. Em relação a *D. siccans* (Figura 2), verificou-se que as incidências mais elevadas ocorreram nas sementes de azevém produzidas nos municípios de Arroio Grande, Pejuçara, Cruz Alta, Pelotas 2, Jaguarão 2, Água Santa, Curitiba, São Gabriel 1, Ijuí 1, Santo Antônio do Planalto, Passo Fundo, Santana do Livramento 1, Major Vieira, Lagoa Vermelha, Almirante Tamandaré, Campos Novos e Tupanciretã. Para *Drechslera* spp. as amostras procedentes de Concórdia, Carazinho, Santo Antônio das

Missões, Ijuí 2, Tupanciretã, Soledade, Chapada, Santo Antônio do Planalto, Água Santa e Passo Fundo foram as que apresentaram maior incidência. A incidência de *D. siccans* e *Drechslera* spp. variou de 5,2% a 20,0% e 6,3% a 40,3%, respectivamente.

Lam (11), analisando a presença de espécies de *Drechslera* em 39 lotes de sementes certificadas de *Lolium perenne* L., e 24 lotes de *L. multiflorum* Lam., entre 1974 e 1978, isoladas das sementes, identificou: *D. andersenii*, *D. siccans*, *D. nobleae*, *Drechslera* sp. e entre estas *B. sorokiniana*. Provavelmente espécies de *Drechslera* não identificadas neste trabalho podem ser as mesmas encontradas no trabalho de Lam (11).

As maiores incidências de *F. graminearum* foram observadas nas amostras de Capinzal (11,3%), Pelotas 2 (3,8%), Meleiro (3,0%), Soledade (2,8%), Santo Ângelo (2,5%), Chapada (2,3%), Major Vieira (2,0%), Lagoa dos Três Cantos (1,7%), Arroio Grande (1,3%), Pelotas 1 (1,2%), Almirante Tamandaré (1,2%) e Carazinho (1,1%). Para *Fusarium* sp., a maior incidência foi detectada em Major Vieira com 31,0% de sementes portadoras (Figura 3).

A maior incidência de *Penicillium* sp. foi verificada no município de Meleiro com 51,7%. Concernente a *Aspergillus* spp., as maiores incidências foram verificadas nas amostras de Espumoso (43,7%), Campos Novos (35,6%) e São Gabriel 1 (32,2%) (Figura 4). Silveira et al. (22), em levantamento de fungos de armazenamento em sementes de azevém, verificaram que as amostras analisadas, apresentaram 78,7% de *Aspergillus* sp. e 45,1% de *Penicillium* sp..

Lucca-Filho et al. (12), analisando 100 amostras de sementes obtidas de 26 localidades do estado do Rio Grande do Sul, identificaram associados às sementes de azevém-anual os fungos *Alternaria alternata*, *Aspergillus* spp., *Bipolaris sorokiniana*, *Cercospora* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum graminicola*, *Curvularia lunata*, *Drechslera* spp., *Epicoccum* sp., *Fusarium* spp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* spp., *Phoma* sp., *Pyricularia grisea* e *Tricothecium* sp.

Em outro estudo, Portela et al. (16) realizaram trabalho visando a

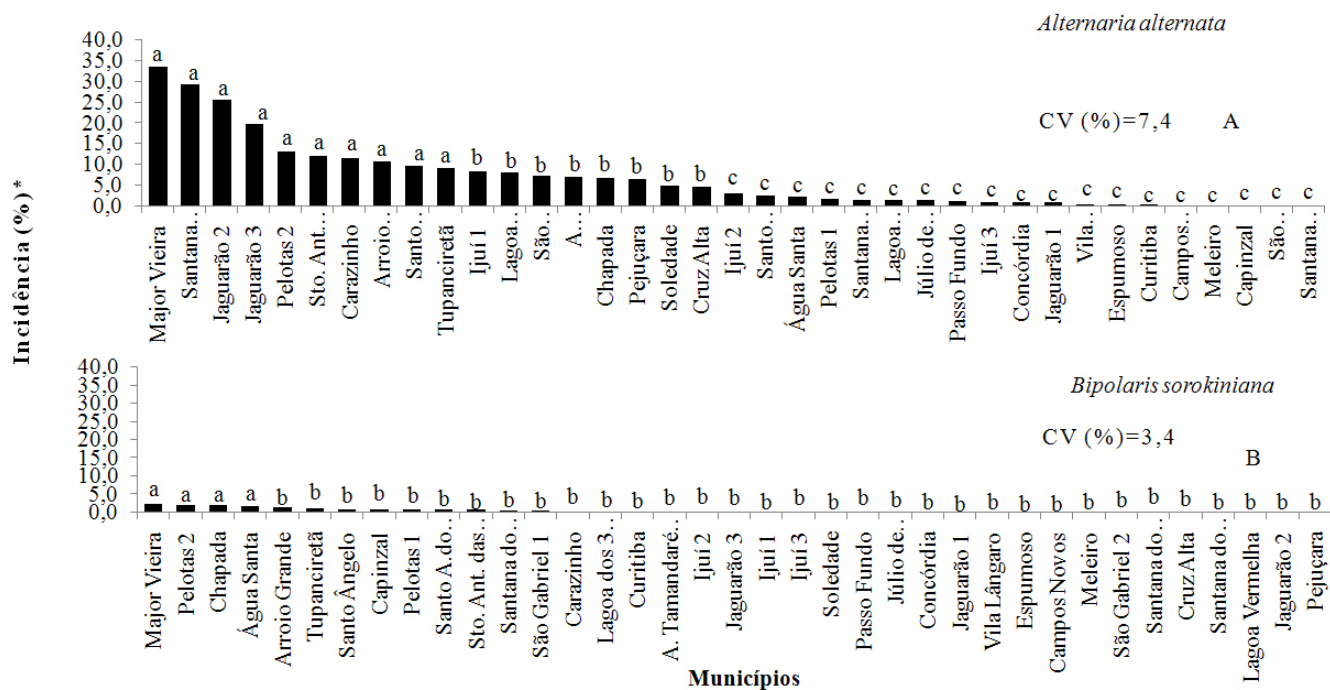


Figura 1. Incidência de *Alternaria alternata* (A) e *Bipolaris sorokiniana* (B) em sementes de azevém de diferentes municípios do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina. Passo Fundo/RS, 2011. (*) Média dos três meios de cultura. Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5%.

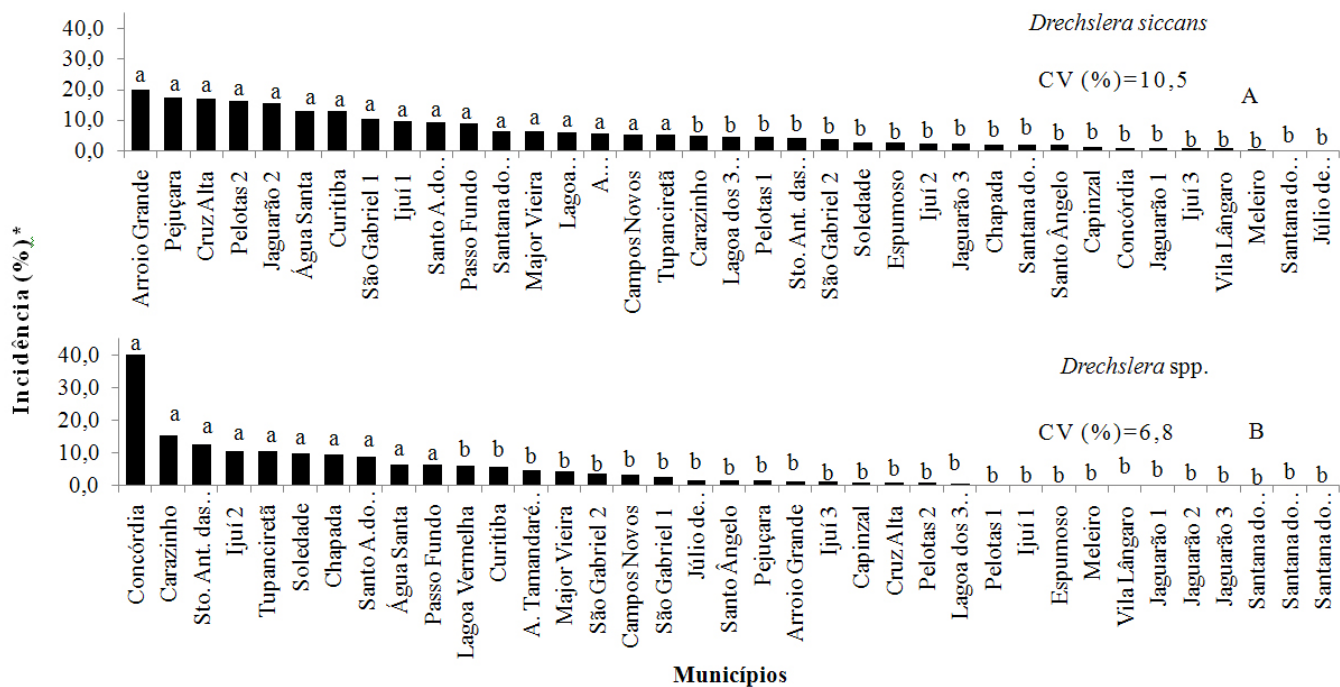


Figura 2. Incidência de *Drechslera siccans* (A) e *Drechslera spp.* (B) em sementes de azevém de diferentes municípios do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina. Passo Fundo/RS, 2011. (*) Média dos três meios de cultura. Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5%.

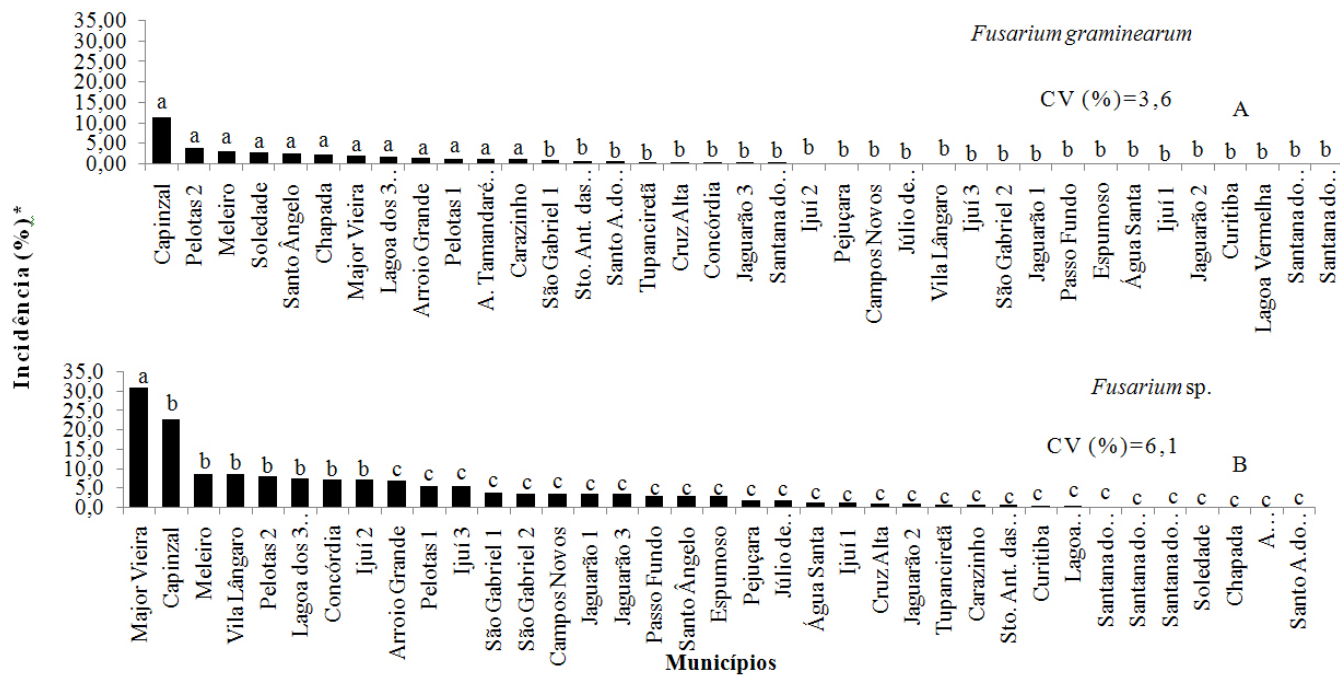


Figura 3. Incidência de *Fusarium graminearum* (A) e *Fusarium sp.* (B) em sementes de azevém de diferentes municípios do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, Passo Fundo/RS, 2011. (*) Média dos três meios de cultura. Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5%.

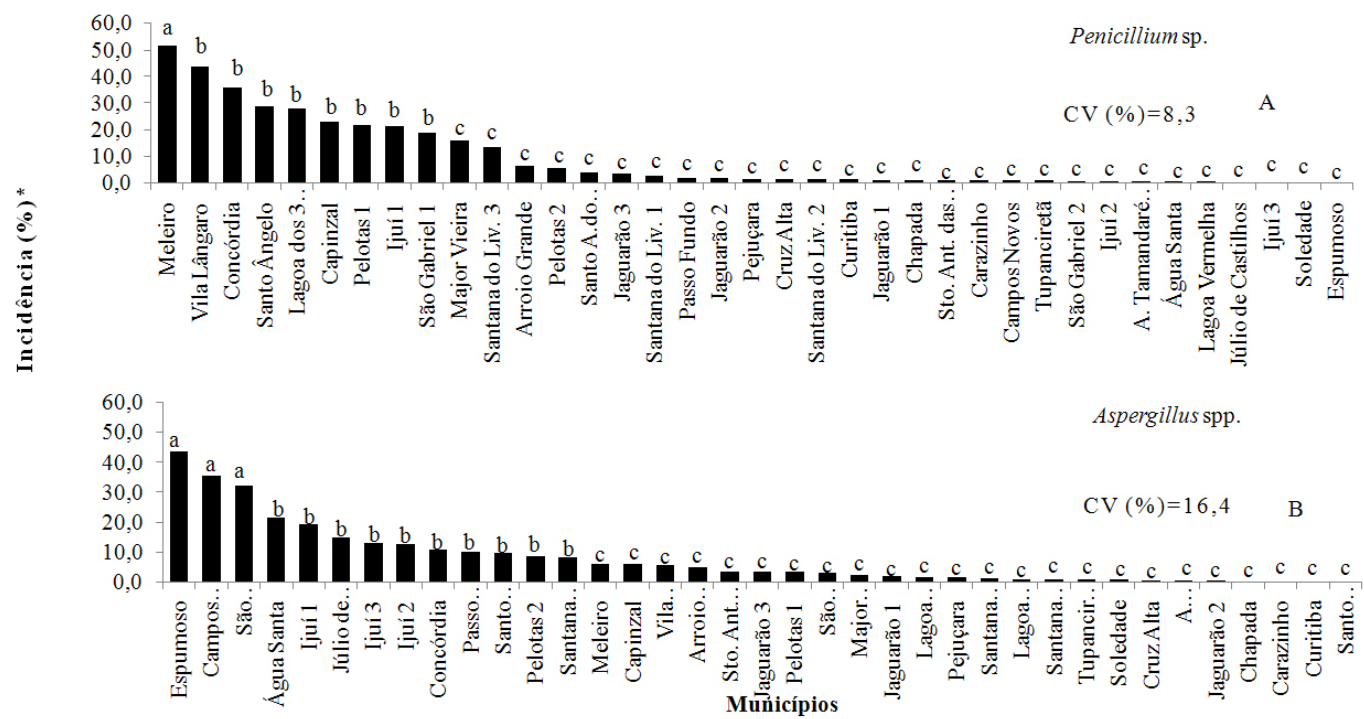


Figura 4. Incidência de *Penicillium sp.* (A) e *Aspergillus spp.* (B) em sementes de azevém de diferentes municípios do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, Passo Fundo/RS, 2011. (*) Média dos três meios de cultura. Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5%.

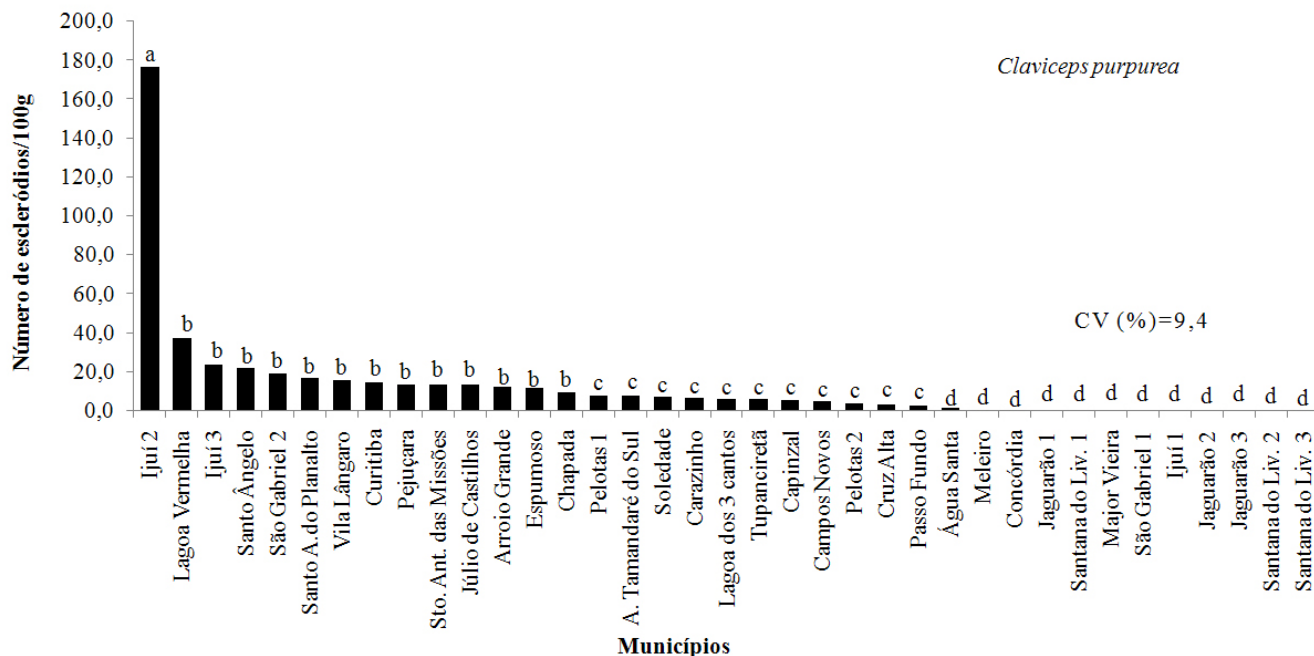


Figura 5. Número de escleródios de *Claviceps purpurea* em 100g de sementes de azevém em diferentes municípios do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina. Passo Fundo/RS, 2011. Colunas seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5%.

deteção de fungos em 10 amostras de sementes de azevém-anual de diferentes safras, utilizando o método do papel de filtro. Estes autores detectaram *A. alternata* em incidência de 55,5%, *Curvularia* sp. (40,0%), *Epicocum* sp. (0,5%), *Fusarium* sp. (6,5%), *Nigrospora* sp. (38,5%), *Phoma* sp. (1,7%), na safra 2005/06; nas sementes da safra 2006/2007, observaram *A. alternata* (11,3%), *Aspergillus* sp. (7,7%), *Curvularia* sp. (30,3%), *Epicocum* sp. (4,7%), *Fusarium* sp. (7,7%), *Nigrospora* sp. (82,3%) e *Phoma* sp. (4,0%).

Quanto à presença de escleródios de *C. purpurea*, a amostra de Ijuí 2 foi a que apresentou o maior número e peso, sendo de, aproximadamente, 180 escleródios em 100g. Em percentagem de peso, em relação à 100g de semente, estes escleródios atingiram 0,6% (Figura 5), ficando acima dos padrões internacionais mínimos estabelecidos tanto para semente como para grão. *C. purpurea* foi detectado em 81,1% das amostras, indicando que o fungo encontra-se amplamente disseminado nas áreas produtoras de sementes de azevém-anual. De acordo com Lucca-Filho et al. (13), escleródios do fungo *C. purpurea* foram detectados em 92,0% das amostras examinadas, em percentagens de peso variaram de 0,001 a 0,314g.

As sementes analisadas evidenciam baixa qualidade sanitária e presença de *C. purpurea*. Por isso, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), deveria estabelecer padrão de campo e padrão de semente de azevém-anual, azevém-híbrido e azevém-perene, e determinar um limite para a presença de plantas infectadas e de escleródios de *C. purpurea* em percentagem de peso em 60g (peso mínimo da amostra para análise) nas amostras de sementes. No Canadá, Evans (8), cita número máximo de 2 a 15 escleródios/Kg de semente para triticale e centeio, dependendo da categoria da semente. O OREGON SEED CERTIFICATION SERVICE/USA (15) estabeleceu o parâmetro Standards/Ergot, o nível de 0,05% em 500g, para todas as categorias de sementes.

CONCLUSÕES

O meio BDA foi o menos seletivo aos patógenos associados às sementes de azevém, seguido pelo de Reis e o Segalin & Reis.

Na avaliação dos meios de cultura os patógenos *Aspergillus* spp. e *Drechslera siccans* apresentaram as maiores incidências médias.

O fungo *Drechslera siccans* é o mais freqüente associado a sementes de azevém.

Escleródios do fungo *Claviceps purpurea* foram encontrados principalmente nas regiões produtoras de sementes de azevém-anual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, M. F. A.; Reis, E. M. Comparação da sensibilidade de métodos para a detecção de fungos patogênicos em sementes de aveia branca e preta no Rio Grande do Sul. **Tropical Plant Pathology**, Brasil, v.34, p.265-269, 2009.
- Associação dos Produtores e Comerciantes de Sementes e Mudanças do Rio Grande do Sul. **Estatísticas de sementes**. Passo Fundo, RS. Disponível em: <http://www.apassul.com.br.> Acesso em: 22 mar. 2011.
- Araújo, A. A. Melhoria das pastagens: agrostologia Rio-Grandense. 4. ed., Porto Alegre, Sulina, 1976. 208 p.
- Araújo, E. Rossetto, E. A. Doenças e injúrias de sementes. In: Soave, J.C.; Wetzel, M. M. Y. S. (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargil; ABRATES-COPASEM, 1987. p.146-163.
- Barba, J. T.; Reis, E. M.; Forcelini, A. C. Comparação de métodos para detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p.389-394, 2002.
- Caldas, M. T.; Amato, A. L. P.; Bonini Filho, R.; Trzeciak, M. B.; Maia, M. S. Avaliação da qualidade sanitária de sementes de azevém anual do banco de sementes do solo. In: Congresso de Iniciação Científica, 16. 2007. Capão do Leão. **Anais...Pelotas**: Universidade Federal de Pelotas, 2007.
- Danelli, A. L. D.; Reis, E. M. R.; Fiallos, F. R. G. Etiologia e intensidade de manchas foliares em cultivares de trigo em três locais do Rio Grande do Sul, Brasil. **Scientia Agropecuaria**. Universidade Nacional de Trujillo, Perú, v. 2, p.149 - 155, 2011.

8. Evans, I. R. ERGOT, biology, damage description, diagnosis, management strategy. Alberta: Government of Alberta: Agriculture and Rural Development, 2008. Disponível em: <http://www.agric.gov.ab.ca>. Acesso em: 27 abr. 2011.
9. Fernandez, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA; CNPT, 1993. 128 p.
10. Ilha, M. R. S.; Riet-Correa, F.; Barros, C. S. L. Síndrome distérmica (hipertermia) em bovinos associada à intoxicação por *Claviceps purpurea*. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 21, n. 2, p. 81-86, 2001.
11. Lam, A. Presence of *Drechslera* species in certified ryegrass seed-lots. **Grass and Forrage Science**. v. 37, p. 47-52, 1982.
12. Lucca-Filho, O. A.; Porto, M. M.; Maia, M. S. Fungos em sementes de azevém-anual (*Lolium multiflorum*) e seus efeitos no estabelecimento da pastagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p.142-147, 1999.
13. Lucca-Filho, O. A.; Pierobom, C. R.; Porto, M. M.; Dutra, L. M. C. Ocorrência de escleródios de *Claviceps purpurea* em sementes fiscalizadas de azevém-anual (*Lolium multiflorum*) produzidas no estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF. v. 21,n. 1, p. 269-272, 1999.
14. Nunes, C. D. M.; Mittelman, A. Doenças do Azevém. Documentos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, n. 27, 2009. 40 p.
15. Oregon Agricultural Information Network. Crop Profile for Ryegrass Seed in Oregon. Oregon State University Extension Service, 2002. Disponível em: <http://www.ludwig.orec.orst.edu/oain/SigIn.asp>. Acesso em: 19 abr. 2011.
16. Portela, I. P.; Pereira, D. D.; Rodrigues, S.; Nascimento, D. C.; Oliveira, A. S.; Pereira, M. S. Incidência de fungos em sementes de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) de diferentes safras. In: Congresso de Iniciação Científica, 17., Pelotas, 2008. **Anais....Pelotas: Universidade Federal de Pelotas**, 2008.
17. Reis, E. M. Selective medium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, p. 68-70, 1983.
18. 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**, Botucatu, v. 25, p. 364-367, 1999.
19. Schubiger, F. X. *Drechslera siccans*. Männedorf, 2009. Disponível em: <http://www.pflanzenkrankheiten.ch>. Acesso em: 25 fev. 2011.
20. Segalin, M.; Reis, E. M. Semi-selective medium for *Fusarium graminearum* detection in seed samples. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n. 4, p. 338-341, 2011.
21. Silvana, R.; Camargo, D. N.; Portela, I. P.; Lemos, R. P. M.; Farias, C. R. J. Incidência de *Bipolaris* sp. em sementes de azevém (*Lolium multiflorum*, Lam.) produzidas na região da Campanha-RS. In: Encontro de Pós-Graduação, 9., Pelotas, 2007. **Anais....Pelotas: Universidade Federal de Pelotas**, 2007.
22. Silveira, A. S. B.; Rodrigues, S.; Alves, M. F. M.; Roth Junior, A. Levantamento de fungos de armazenamento em sementes de azevém (*Lolium Multiflorum* L.) produzida na safra 2006/2007. In: Congresso de Iniciação Científica, 18., Pelotas, 2009. **Anais....Pelotas: Universidade Federal de Pelotas**, 2009.
23. Tonin, R.B.; Reis, E.M.; Avozani, A. Incidência de *Drechslera* sp. em folhas de trigo. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 42., Rio de Janeiro, 2009. **Anais.... Rio de Janeiro. Tropical Plant Pathology** 34 (Suplemento), Resumo 490 (Epidemiologia), 2009.