

**VINÍCIUS AMARAL DE OLIVEIRA**

**FUNGOS ASSOCIADOS A SEMENTES DE BRAQUIÁRIA E SUA POSSÍVEL  
UTILIZAÇÃO PARA O CONTROLE BIOLÓGICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: André Luiz Firmino

**RIO PARANAÍBA – MINAS GERAIS  
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Universidade Federal de  
Viçosa - Campus Rio Paranaíba**

T

O48f  
2023

Oliveira, Vinícius Amaral de, 1997-  
Fungos associados a sementes de braquiária e sua possível  
utilização para o controle biológico / Vinícius Amaral de  
Oliveira. – Rio Paranaíba, MG, 2023.  
36 f.: il. (algumas color.).

Orientador: André Luiz Firmino.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Instituto de Ciências Agrárias, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvcrp.2023.001>

1. Biocontrole. 2. Bioherbicida. 3. Planta daninha. I. ,  
-0001-. II. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências  
Agrárias. Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal).  
III. Título.

632.5

Bibliotecário(a) responsável: Crislene Silva de Sousa CRB-6/2539

VINÍCIUS AMARAL DE OLIVEIRA

**FUNGOS ASSOCIADOS A SEMENTES DE BRAQUIÁRIA E SUA POSSÍVEL  
UTILIZAÇÃO PARA O CONTROLE BIOLÓGICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 6 de abril de 2023.

Assentimento:



Vinícius Amaral de Oliveira  
Autor



André Luiz Firmino  
Orientador

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus.

Aos meus pais.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Universidade Federal de Uberlândia por ter cedido seus espaços para a realização desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

## RESUMO

OLIVEIRA, Vinícius Amaral de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2023. **Fungos associados a sementes de braquiária e sua possível utilização para o controle biológico.** Orientador: André Luiz Firmino.

Atualmente, a busca por um eficiente controle biológico para plantas daninhas ganha cada dia mais visibilidade, até porque, com melhorias nos métodos, hoje podemos ver aplicações de agentes biocontroladores com resultados tão eficientes na agilidade quanto os herbicidas químicos. Por conta disso, a utilização do controle biológico no manejo das plantas daninhas do gênero *Urochloa*, conhecidas popularmente como braquiárias, faz-se uma interessante opção, pois essas plantas daninhas são invasoras de áreas destinadas à proteção da biodiversidade nativa, local onde não é permitido o uso do controle químicos. Por tanto, o objetivo dessa pesquisa foi estudar fungos associados às sementes de capim-braquiária, *U. decumbens*, a fim de encontrar um ou mais isolados fitopatogênicos para um possível controle biológico de três espécies alvos do gênero *Urochloa* (*U. brizantha*, *U. ruzizensis* e *U. decumbens*). Para tal, dividiu-se em duas etapas: obtenção dos isolados e teste de patogenicidade/controlado. Para obtenção dos isolados, foram realizadas coletas, em campo, de sementes de capim-braquiária e a montagem do método do papel de filtro com as mesmas para o crescimento dos fungos. Com a coleção fúngica disponível, foram realizados o teste de inibição da germinação de sementes e o teste de patogenicidade e severidade em plântulas. Os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com um fatorial simples, testando 15 isolados em cada espécie com três repetições junto a testemunha (sem fungo). Os resultados demonstraram que os isolados F1 e F15 foram eficazes na inibição da germinação das três espécies, sendo que, para a espécie *U. brizantha* a porcentagem foi de 0% de sementes germinadas. Para o controle em plântulas, os isolados F11, F13 e F15 obtiveram a maior incidência de doenças e grau de severidade. De modo que, 100% das plantas de *U. brizantha* apresentaram sintomas ao inocular o isolado F11, 100% das plantas de *U. ruzizensis* apresentaram sintomas ao inocular os isolados F13 e F15 e 100% das plantas de *U. decumbens* apresentaram sintomas ao inocular os isolados F11 e F13.

Palavras-chave: Biocontrole. Bioherbicida. Planta daninha.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Vinícius Amaral de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2023. **Fungi associated with brachiaria seeds e their use for biological control.** Adviser: André Luiz Firmino.

Currently, the search for an efficient biological control for weeds is gaining more visibility every day, not least because, with improvements in methods, today we can see applications of biocontrol agents with results as efficient in agility as chemical herbicides. For this reason, the use of biological control in the management of weeds of the genus *Urochloa*, popularly known as brachiaria, is an interesting option, as these weeds invade areas intended for the protection of native biodiversity, where it is not allowed the use of chemical controls. Therefore, the objective of this research was to study fungi associated with the seeds of signalgrass, *U. decumbens*, in order to find one or more phytopathogenic isolates for a possible biological control of three target species of the genus *Urochloa* (*U. brizantha*, *U. ruziziensis* and *U. decumbens*). For this, it was divided into two stages: obtaining the isolates and testing for pathogenicity/control. To obtain the isolates, samples of signalgrass seeds were collected in the field and the filter paper method was set up with them for fungal growth. With the fungal collection available, the seed germination inhibition test and the pathogenicity and severity test in seedlings were performed. The tests were conducted in a completely randomized design, with a simple factorial, testing 15 isolates in the three species of brachiaria, with three replications with the control (without fungus). The results showed that the F1 and F15 isolates were effective in inhibiting the germination of the three species, and for the species *U. brizantha* the percentage was 0% of germinated seeds. For control in seedlings, isolates F11, F13 and F15 had the highest incidence of diseases and degree of severity. Thus, 100% of the *U. brizantha* plants showed symptoms when inoculating the F11 isolate, 100% of the *U. ruziziensis* plants showed symptoms when inoculating the F13 and F15 isolates, and 100% of the *U. decumbens* plants showed symptoms when inoculating isolates F11 and F13.

Keywords: Biocontrol. Bioherbicide. Weed.

## SUMÁRIO

1	Introdução .....	7
2	Metodologia.....	9
2.1	Coleta de sementes.....	10
2.2	Isolamento.....	10
2.3	Seleção das espécies de braquiárias .....	11
2.4	Teste de patogenicidade e severidade .....	11
2.4.1	Teste de inibição da germinação de sementes.....	11
2.4.2	Teste de patogenicidade e severidade em plântulas .....	12
2.5	Estudo Taxonômico .....	12
3	Resultados.....	13
3.1	Isolamento.....	13
3.2	Teste de patogenicidade e severidade .....	14
3.2.1	Teste de inibição da germinação de sementes.....	18
3.2.2	Teste de patogenicidade e severidade em plântulas .....	23
3.3	Estudo Taxonômico .....	27
3.3.1	F11 – Isolado S221 <i>Bipolaris</i> sp. ....	27
3.3.2	F13 – Isolado S171 <i>Bipolaris</i> sp. ....	28
3.3.3	F15 – Isolado S121 <i>Bipolaris</i> sp. ....	28
4	Discussão.....	29
5	Conclusões.....	31
6	Referências .....	33

## 1 Introdução

O gênero *Urochloa*, pertencente à família Poaceae, era classificado anteriormente como *Brachiaria*, mas, através de estudos filogenéticos, demonstraram que ambos os gêneros formam um grupo monofilético (GONZÁLEZ & MORTON, 2005). Ainda assim, mesmo com a mudança, é comum a denominação dessas gramíneas pelo nome popular, braquiária. Originárias do continente africano, sua introdução no Brasil ocorreu por volta da década de 50 e atualmente são encontradas em todas as regiões brasileiras (ALVIM & BOTREL & XAVIER, 2002; Flora do Brasil, 2020). Os motivos para a introdução, na época, atrelaram-se a sua alta adaptabilidade a variadas condições de solo e clima, a sua grande eficiência na cobertura do solo, a resistência ao pisoteio e ao fogo (até certo ponto), entre outros fatores (SERRÃO & GONDIM, 1966; CRISPIM & BRANCO, 2002). Além disso, outra justificativa para a introdução das braquiárias, deu-se pelo pensamento que as gramíneas nativas não conseguiam suportar os métodos adotados nas pastagens intensivas da época (D'ANTONIO & VITOUSEK, 1992). Dessa forma, as pastagens as quais eram em maioria compostas por gramíneas nativas, a partir da década de 70 foram aos poucos sendo substituídas pelas espécies exóticas (DIAS-FILHO, 2014). Porém, é importante ressaltar que é possível obter alto desempenho produtivo através de pastagens nativas quando manejadas de maneira adequadas, isso junto à preservação da integridade do ecossistema (ROCHA et al., 2020).

Para a agricultura moderna, as braquiárias apresentam uma importante função, pois não se limitam apenas à alimentação animal. Em consórcio com outras culturas, essas gramíneas podem diminuir a presença de plantas daninhas nas entrelinhas e melhora os aspectos físicos, químicos e biológicos do solo (OLIVEIRA et al., 2015). Sua função não se limita só à agricultura, como o uso em encostas íngremes degradadas encontradas nas margens de rodovias, o qual demonstra efeitos satisfatórios na recuperação (COSTA et al., 2013). Porém, ainda que haja vantagens em seu emprego, por sua alta adaptabilidade e agressividade, as espécies do gênero *Urochloa* também são plantas daninhas problemáticas no Brasil.

Atendendo ao conceito de “qualquer planta que ocorre onde não é desejada”, as braquiárias contemplam a maioria das características de uma planta daninha, como habilidade competitiva, capacidade de produção de propágulos e desuniformidade do processo germinativo (BRIGHENTI & OLIVEIRA, 2011). Um exemplo do gênero é a espécie *Urochloa decumbens*, a qual se propaga através de estolões, rizomas ou por sementes, das quais são produzidas em grande quantidade e germinam de forma desuniforme, favorecendo sua permanência na área (MORAES, 2019). Essas gramíneas também são hospedeiras de

patógenos e pragas, como o nematoide *Pratylenchus brachyurus* e o besouro *Costalimaita ferruginea*, os quais são problemáticos nas culturas da soja e eucalipto, respectivamente (INOMOTO, 2007; ANJOS, 1992). Mas o principal problema encontrado após a introdução dessas gramíneas exóticas, está na grande perda da biodiversidade brasileira. As espécies de braquiárias, junto a outras espécies de origem africana, são uma enorme ameaça à diversidade biológica em diversos ecossistemas no Neotrópico (WILLIAMS & BARUCH, 2000). Ademais, nas Unidades de Conservação das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, é demonstrado um alto nível de substituição de espécies vegetais nativas por espécies exóticas invasoras, sendo as principais responsáveis por essa substituição as espécies de braquiárias (ZILLER & DECHOUM, 2013). Atualmente, as principais áreas designadas para a restauração florestal possuem o histórico de serem pastagens abandonadas, sendo o principal custo para a recuperação dessas áreas, podendo atingir até 60% do custo final, destinado ao controle de indivíduos do gênero *Urochloa* (SANTOS et al., 2020).

Para a contenção do avanço das plantas das espécies de *Urochloa*, são utilizados diversos tipos de controle, sendo o químico ainda o mais empregado. Porém, como um adendo, vale ressaltar que é perceptível uma preocupação na utilização dos produtos para controle químico. Falhas na aplicação dos agrotóxicos, pressão de seleção e restrições no registro de novas fórmulas químicas, como propõe a lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989 no Brasil, são algumas das causas (CHRISTOFFOLETI & FILHO & SILVA, 1994; BRASIL, 1989). Dessa forma, para o manejo de biótipos de espécies daninhas resistentes por meio do controle químico, tentativas de aumentar a dosagem aplicada, como também o aumento da frequência de pulverizações, ou até mesmo a utilização de misturas de produtos, tornam-se ações ineficazes para solucionar o problema, não contando com que tais alternativas acarretam no aumento da contaminação, tanto para o meio ambiente como para o homem, e agravam ainda mais a pressão de seleção (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003). Ainda que não haja relatos de espécies de braquiárias resistentes a herbicidas, em áreas não agrícolas e em áreas de zona urbana, as limitações do uso dos produtos químicos são ainda maiores. Não há herbicidas químicos registrados para o controle de espécies de braquiária em Unidades de Conservação, em Reservas Legais e em Áreas de Proteção Permanente, como também não há produtos registrados para a prática de capina química em áreas urbanas, sendo assim, a utilização do controle químico torna-se ilegal e ato de crime ambiental segundo o artigo 55 da lei nº 9.605 de 12 de fevereiro de 1998 (IBAMA, 2022; ANVISA, 2010; BRASIL, 1998). Por tanto, o método mais utilizado para conter as espécies de braquiárias, atualmente, não é passível de utilizarem áreas as quais essas espécies acarretam grandes problemas.

Diante toda problemática apresentada, é inevitável a procura por outras alternativas que possam suprimir a utilização dos produtos químicos e, por isso, o controle biológico torna-se uma opção sustentável. Como definição, o controle biológico depende do uso de antagonistas vivos para reduzir a densidade populacional do alvo o qual deseja ser controlado (STENBERG et al., 2021). O controle biológico pode ser dividido em três tipos: o Controle Biológico Natural (CBN), trabalhando com os inimigos que já convivem em campo com o alvo; o Controle Biológico Clássico (CBC), com foco na introdução do inimigo natural, advindo do centro de origem do alvo, para o controle; e o Controle Biológico Aplicado (CBA), o qual tem como principal foco a multiplicação dos inimigos naturais em laboratórios e liberando em campo um grande volume para o combate do alvo (MEDEIROS & EVONEO, 2011). Levando em consideração o controle biológico aplicado, também conhecido como inundativo, por ser um método focado em multiplicar o agente biocontrolador, torna-se uma interessante escolha a ser explorada. Suas vantagens baseiam-se em resultados rápidos, equivalentes à aplicação de um herbicida químico, menor custo de capital investido em comparação ao investimento dispendido na elaboração de um novo herbicida e a capacidade de combinação de dois ou mais agentes em sequência para o controle de uma ou mais plantas daninhas (VIEIRA & BARRETO & NECHET, 2018).

Desta maneira, o uso do controle biológico em áreas de produção agrícola pode aprimorar o manejo dessas plantas daninhas junto ao químico, mas, principalmente, nos locais os quais não são permitidos a utilização de agrotóxicos, como em áreas urbanas e em áreas destinadas a proteção da natureza, torna-se ainda mais evidente a importância da busca por essa escolha. Há de se destacar, que na literatura existe uma escassez de trabalhos relacionados ao tema controle biológico de braquiárias, especialmente quando se fala no emprego de microrganismos como fungos, o que demonstra a importância em se estudar o tema.

Portanto, esse trabalho teve como objetivo efetuar um estudo sobre os fungos associados às sementes de capim-braquiária, *U. decumbens*, para auxiliar na elaboração de um programa de controle biológico eficiente em três diferentes espécies do gênero *Urochloa* (*U. brizantha*, *U. ruzizensis* e *U. decumbens*).

## 2 Metodologia

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia – LAMIF, na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), *Campus* Monte Carmelo, em Minas Gerais.

## 2.1 Coleta de sementes

As coletas foram realizadas nos municípios de Monte Carmelo e Canápolis, ambos localizados no triângulo mineiro, no estado de Minas Gerais, entre os meses de julho de 2021 e fevereiro de 2022. A presença de plantas da espécie *Urochloa decumbens* no local foi determinante para a sua escolha. Para identificar as regiões de coleta foram utilizados os códigos Área 1 – UFU (Monte Carmelo – 18°43'28.9"S 47°31'30.5"W), Área 2 – Fazenda Creolos (Monte Carmelo – 18°42'47.9"S 47°33'23.6"W) e Área 3 – Zona Urbana (Canápolis – 18°43'01.9"S 49°12'27.5"W). Para o estudo, a coleta foi realizada de forma aleatória, colhendo sementes verdes e secas, selecionando diferentes matrizes de plantas. As espiguetas foram colhidas com o auxílio de tesoura de poda e armazenadas em sacos plásticos.

## 2.2 Isolamento

Para os isolamentos dos fungos, foi montado o Teste de Blotter (ou Método do papel de filtro), onde as sementes coletadas foram previamente separadas entre secas e verdes e colocadas em caixas plásticas (gerbox) contendo duas camadas de papel-filtro (esterilizado em autoclave e umedecido com água destilada autoclavada), distribuindo 50 sementes de forma equidistantes. Para a diferenciação de ocorrência de fungos associados às sementes por infestação e infecção, 200 sementes foram desinfestadas em álcool etílico 70% por 1 min, em hipoclorito de sódio a 1% por 3 minutos e lavadas em água destilada autoclavada para retirada do excesso de hipoclorito (MAPA, 2009). Adicionalmente, outras 200 sementes foram utilizadas sem desinfestação. Ao total, foram montados 16 gerboxes por área de coleta, sendo oito com sementes desinfestadas, dos quais quatro com sementes verdes e quatro com sementes secas, e outros oito gerboxes com sementes sem desinfestação superficial, também separados entre quatro com sementes verdes e quatro com sementes secas. Após a montagem, os gerboxes foram fechados com plástico-filme para impedir a perda de umidade, e foram acondicionadas por sete dias em BOD a 25° C e sem fotoperíodo, para o crescimento dos fungos.

A partir do sétimo dia de incubação, começaram os monitoramentos diários do crescimento de fungos com o auxílio do microscópio estereoscópico. Todos os fungos foram isolados de forma direta em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), adicionado com o antibiótico Rifamicina para impedir o crescimento de bactérias. Adotou-se procedimentos usuais de rotina do laboratório para obtenção de culturas puras dos fungos, as quais foram preservadas pelo método Castellani (DHINGRA & SINCLAIR, 1995).

Para a identificação provisória dos isolados da coleção, foram realizadas as preparações microscópicas com meio de montagem lactoglicerol junto às estruturas fúngicas presentes nas sementes.

### 2.3 Seleção das espécies de braquiárias

Para testar os isolados advindos das sementes de *Urochloa decumbens*, foram selecionados três lotes de sementes comerciais de diferentes espécies de braquiárias, os quais foram disponibilizados pelo laboratório de fitotecnia (LAFIT) da UFU *campus* Monte Carmelo. As espécies utilizadas para os testes foram: *U. brizantha*, denominada como Espécie 1 (E1), *U. ruziziensis*, Espécie 2 (E2), e *U. decumbens*, Espécie 3 (E3).

### 2.4 Teste de patogenicidade e severidade

Para a reduzir a quantidade de isolados a serem avaliados, foi necessário realizar o teste inicial. Nesse teste, inoculou-se nas três espécies selecionadas cada isolado para a separação de quais causavam doença nas plantas e quais eram mais agressivos.

A avaliação sucedeu-se em plântulas com dez dias após o semeio, semeadas em copos de 50 mL com solo autoclavado. Para cada espécie, os isolados foram inoculados através de disco de micélio e avaliados por uma semana, observando qual apresentaria sintomas e o grau de severidade. O grau de severidade adotado foi: 0 significando que não houve doença; + quando os sintomas foram pouco agressivos; ++ para medianamente agressivos; +++ para severamente agressivos.

#### 2.4.1 Teste de inibição da germinação de sementes

O teste em sementes foi realizado em copos de 50 mL contendo solo autoclavado. As sementes das três espécies foram previamente tratadas com o fungicida Bravonil® (Clorotalonil), utilizando a concentração indicada no produto, por cinco minutos e lavadas com água destilada para a retirada do excesso. Para a inoculação nas sementes, preparou-se primeiramente uma suspensão de conídios através da cultura fúngica cultivada em placa de Petri com meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) com 14 dias de idade. Adicionada água destilada esterilizada à placa e através do auxílio de um palito de dente autoclavado, raspou-se as estruturas fúngicas sem retirar o meio de cultura e, em seguida, foram armazenadas em microtubos de centrífuga.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um fatorial simples, testando os 15 isolados fúngicos, advindos do teste inicial, em cada

espécie separadamente. Para cada tratamento, foram colocadas dez sementes previamente embebidas na suspensão fúngica por 5 minutos. Os tratamentos foram compostos por três repetições, além da testemunha (sem fungo). As avaliações foram realizadas todos os dias por uma semana. Foi analisado a quantidade de sementes germinadas e, caso germinasse, quantas não cresceram de forma normal, sem apresentar lesões aparentes. Além das análises visuais para selecionar os melhores isolados, foi realizado um Teste de Dunnett, o qual compara as médias dos isolados com a média da testemunha, utilizando a ferramenta do software R (R Development Core Team, 2009).

#### 2.4.2 Teste de patogenicidade e severidade em plântulas

A avaliação em plântulas foi conduzida em casa de vegetação na Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Monte Carmelo, em copos de 250 mL com solo autoclavado. Os tratamentos seguiram os mesmos feitos no teste de germinação de sementes, delineamento em DIC em fatorial simples com a mesma quantidade de repetições. Por copo, 25 sementes, não tratadas com fungicida, foram semeadas para a obtenção de plantas adultas e saudáveis. Após quinze dias à emergência, com as plantas já estabelecidas, realizou-se o desbaste em cada copo para manter apenas cinco plantas por copo e assim feita a inoculação. Os isolados fúngicos utilizados nas inoculações foram cultivados em placas de Petri contendo BDA por um período de 7 dias a uma temperatura de  $25 \pm 1$  °C sem fotoperíodo. Em cada planta presente no copo, a inoculação foi realizada depositando-se um disco de 1 cm de diâmetro de BDA contendo o crescimento fúngico sobre uma folha. Cada copo foi colocado em bandejas e submetidos à câmara úmida por 48 horas em local fresco. Após a retirada da câmara úmida, as bandejas foram para a casa de vegetação. As avaliações ocorreram todos os dias durante sete dias a fim de avaliar os sintomas iniciais e quantificar a incidência da doença por copo. A escala de severidade utilizada foi a mesma empregada no teste inicial. Após finalizar as avaliações, foram feitas as médias de cada tratamento para a realização do Teste de Dunnett, através do software R, para auxiliar na escolha dos melhores isolados junto à análise visual.

#### 2.5 Estudo Taxonômico

A identificação dos melhores isolados de fungos obtidos do teste de patogenicidade foi realizada com base no estudo da morfologia de estruturas vegetativas e reprodutivas. Foram confeccionadas lâminas, montadas através da técnica de microcultura e examinadas sob microscópio de luz, para visualização de características microscópicas. Os dados biométricos basearam-se na observação de 30 estruturas para cada isolado de interesse. Avaliou-se o

comprimento e largura dos conídios, células conidiogênicas e conidióforo utilizando o programa ZEISS ZEN 3.5 (ZEN *lite*), além disso, o programa também foi utilizado para obtenção das imagens microscópicas.

### 3 Resultados

#### 3.1 Isolamento

Os isolados os quais não foi possível identificar o gênero ou não havia alguma estrutura característica, foram identificados como Não Identificado. Ao todo, seis colônias não foram possíveis de fazer essa identificação.

Sobre os isolados da Área 1, foram isolados 59 fungos, com o número de doze isolados denominados como *Alternaria*, onze *Bipolaris*, nove *Chaetomium Like*, sete *Cladosporium*, seis *Epicoccum*, seis Não Identificado 3, três *Sordaria*, três *Trichoderma* e dois Não Identificado 5.

Para a Área 2 foram isolados 26 fungos, com o número de oito isolados denominados como *Alternaria*, cinco *Bipolaris*, três *Cladosporium*, três Não Identificados 3, dois *Chaetomium Like*, dois Não Identificados 6, um *Epicoccum*. um Asca e um Picnídio.

Para a Área 3 foram isolados 35 fungos, com o número de oito isolados denominados como *Bipolaris*, sete Não Identificados 1, sete Não Identificados 2, quatro *Chaetomium Like*, quatro Não Identificado 4, um *Alternaria*, um *Epicoccum*. um Não Identificado 3, um Asca e um *Sordaria*.

Sobre a escolha entre sementes verdes ou secas ou mesmo fazendo a desinfestação ou não, não demonstrou haver uma alteração na diversidade de fungos, a não ser quando analisados os isolados de *Alternaria* e *Epicoccum*, observados em sua maioria nas sementes que não passaram pela desinfestação superficial. Ao todo, para as três áreas, foram isolados 120 fungos através do teste de Blotter (Quadro 1).

Quadro 1 – Isolados obtidos no Teste Blotter com suas identificações provisórias e seus respectivos códigos

Isolado		Isolado		Isolado	
Identificação Provisória	Código	Identificação Provisória	Código	Identificação Provisória	Código
<i>Alternaria</i>	S121	<i>Bipolaris</i>	S481	Picnídio	S211
<i>Alternaria</i>	S131	<i>Bipolaris</i>	S482	<i>Sordaria</i>	C151
<i>Alternaria</i>	S132	<i>Bipolaris</i>	S483	<i>Sordaria</i>	S171
<i>Alternaria</i>	C151	<i>Bipolaris</i>	S484	<i>Sordaria</i>	S172

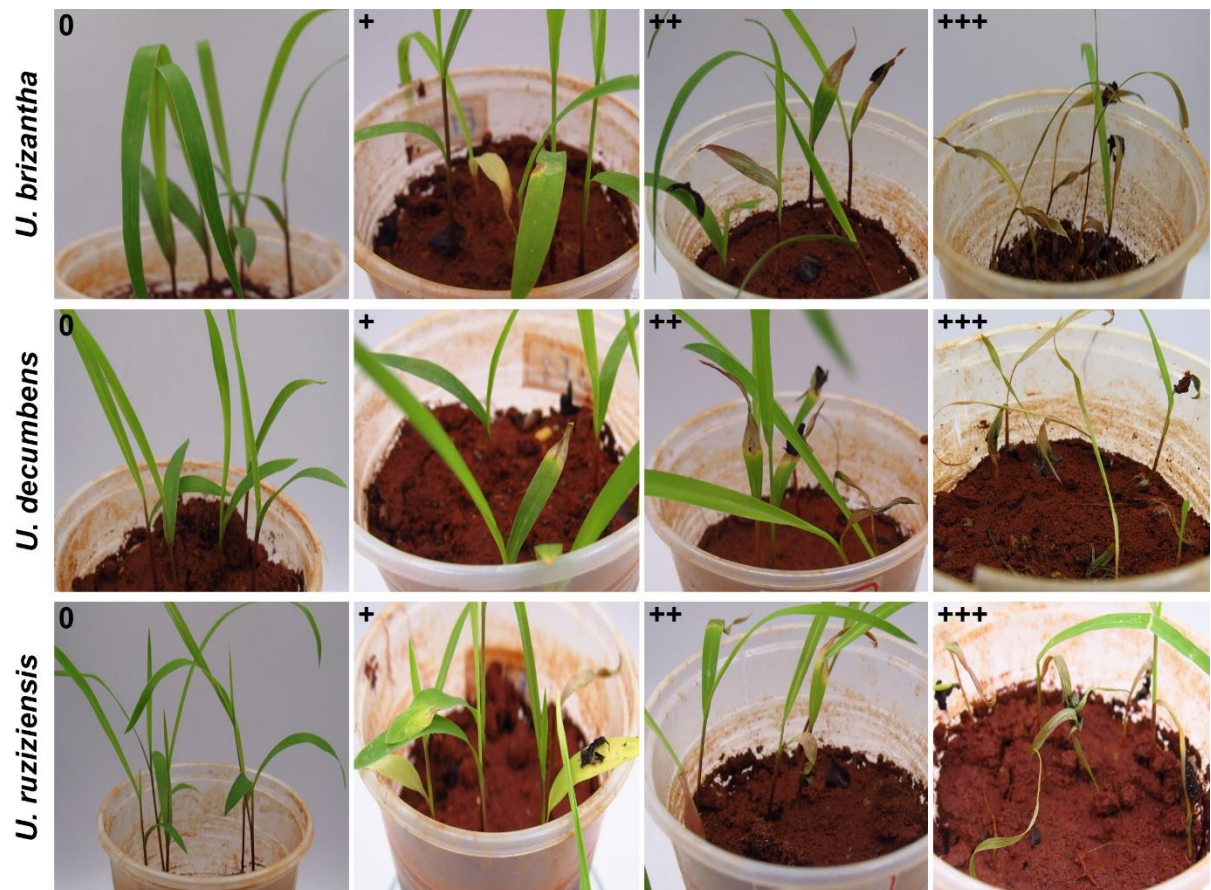
<i>Alternaria</i>	S151	<i>Bipolaris</i>	C151	<i>Sordaria</i>	S461
<i>Alternaria</i>	S161	<i>Bipolaris</i>	S151	<i>Trichoderma</i>	C111
<i>Alternaria</i>	S162	<i>Bipolaris</i>	C152	<i>Trichoderma</i>	C112
<i>Alternaria</i>	S163	<i>Chaetomium</i> Like	C111P	<i>Trichoderma</i>	C151
<i>Alternaria</i>	S164	<i>Chaetomium</i> Like	C112V	N.I. <sup>1</sup> 1	S421
<i>Alternaria</i>	S181	<i>Chaetomium</i> Like	C113V	N.I. <sup>1</sup> 1	C471
<i>Alternaria</i>	S182	<i>Chaetomium</i> Like	C121P	N.I. <sup>1</sup> 1	S471
<i>Alternaria</i>	S183	<i>Chaetomium</i> Like	C122P	N.I. <sup>1</sup> 1	C481
<i>Alternaria</i>	C232	<i>Chaetomium</i> Like	C123P	N.I. <sup>1</sup> 1	S481
<i>Alternaria</i>	C241	<i>Chaetomium</i> Like	C124P	N.I. <sup>1</sup> 1	S483
<i>Alternaria</i>	S251	<i>Chaetomium</i> Like	C125R	N.I. <sup>1</sup> 1	S484
<i>Alternaria</i>	S252	<i>Chaetomium</i> Like	C126R	N.I. <sup>1</sup> 2	C411
<i>Alternaria</i>	C271	<i>Chaetomium</i> Like	S211C	N.I. <sup>1</sup> 2	C431
<i>Alternaria</i>	S271	<i>Chaetomium</i> Like	C241R	N.I. <sup>1</sup> 2	S441
<i>Alternaria</i>	S281	<i>Chaetomium</i> Like	C412P	N.I. <sup>1</sup> 2	S442
<i>Alternaria</i>	S282	<i>Chaetomium</i> Like	C431V	N.I. <sup>1</sup> 2	S451
<i>Alternaria</i>	S471	<i>Chaetomium</i> Like	S461C	N.I. <sup>1</sup> 2	C452
Asca	C421	<i>Chaetomium</i> Like	S462C	N.I. <sup>1</sup> 2	S471
Asca	C242	<i>Cladosporium</i>	S111	N.I. <sup>1</sup> 3	C111
<i>Bipolaris</i>	C121	<i>Cladosporium</i>	S121	N.I. <sup>1</sup> 3	C112
<i>Bipolaris</i>	S121	<i>Cladosporium</i>	S122	N.I. <sup>1</sup> 3	S121
<i>Bipolaris</i>	S131	<i>Cladosporium</i>	S152	N.I. <sup>1</sup> 3	S131
<i>Bipolaris</i>	C151	<i>Cladosporium</i>	C153	N.I. <sup>1</sup> 3	S151
<i>Bipolaris</i>	S151	<i>Cladosporium</i>	C171	N.I. <sup>1</sup> 3	S172
<i>Bipolaris</i>	C152	<i>Cladosporium</i>	C172	N.I. <sup>1</sup> 3	S221
<i>Bipolaris</i>	S171	<i>Cladosporium</i>	C211	N.I. <sup>1</sup> 3	S231
<i>Bipolaris</i>	S172	<i>Cladosporium</i>	S223	N.I. <sup>1</sup> 3	S262
<i>Bipolaris</i>	C221	<i>Cladosporium</i>	C241	N.I. <sup>1</sup> 3	S471
<i>Bipolaris</i>	S221	<i>Epicoccum</i>	S121	N.I. <sup>1</sup> 4	C421
<i>Bipolaris</i>	C232	<i>Epicoccum</i>	S151	N.I. <sup>1</sup> 4	C441
<i>Bipolaris</i>	C261	<i>Epicoccum</i>	C152	N.I. <sup>1</sup> 4	S441
<i>Bipolaris</i>	S282	<i>Epicoccum</i>	S161	N.I. <sup>1</sup> 4	S442
<i>Bipolaris</i>	C421	<i>Epicoccum</i>	S162	N.I. <sup>1</sup> 5	C111
<i>Bipolaris</i>	C451	<i>Epicoccum</i>	S171	N.I. <sup>1</sup> 5	S111
<i>Bipolaris</i>	C452	<i>Epicoccum</i>	S212	N.I. <sup>1</sup> 6	C211
<i>Bipolaris</i>	C471	<i>Epicoccum</i>	S411	N.I. <sup>1</sup> 6	C232

<sup>1</sup> N.I.: Não Identificado, adotado quando não foi possível identificar um gênero ou alguma característica marcante.

### 3.2 Teste de patogenicidade e severidade

Através do teste inicial realizado com os 120 isolados, pôde-se notar o comportamento de cada isolado em relação às espécies de braquiária testada, percebendo, dessa forma, quais

causaram doença e quais não causaram, como também a severidade dos sintomas quando apresentou-se a doença (Tabela 1). Esse teste foi primordial para que se pudesse selecionar os quinze isolados utilizados no teste de inibição da germinação de sementes e no teste de patogenicidade e severidade em plântulas. O teste, além disso, auxiliou na construção de uma escala de notas para as análises dos testes posteriores (Figura 1).



**Figura 1** – Escala de notas adotada para separar os isolados os quais causaram doença e sua severidade.

**Tabela 1** – Relação entre as espécies do gênero *Urochloa* e os 120 isolados testados. Isolados em negrito foram selecionados para continuação dos testes.

Isolado	<i>Urochloa decumbens</i>	<i>Urochloa brizantha</i>	<i>Urochloa ruziziensis</i>
<i>Alternaria</i> S121	0	0	0
<b><i>Alternaria</i> S131</b>	<b>++</b>	<b>++</b>	<b>++</b>
<b><i>Alternaria</i> S132</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<i>Alternaria</i> C151	0	0	0
<i>Alternaria</i> S151	0	0	0
<i>Alternaria</i> S161	0	0	0
<i>Alternaria</i> S162	0	0	0

<i>Alternaria</i>	S163	0	0	0
<i>Alternaria</i>	S164	0	0	0
<b><i>Alternaria</i></b>	<b>S181</b>	+	++	+++
<i>Alternaria</i>	S182	0	0	0
<i>Alternaria</i>	S183	0	0	0
<i>Alternaria</i>	C232	0	0	0
<i>Alternaria</i>	C241	0	0	0
<i>Alternaria</i>	S251	0	0	0
<i>Alternaria</i>	S252	0	0	0
<i>Alternaria</i>	C271	0	0	0
<i>Alternaria</i>	S271	0	0	0
<i>Alternaria</i>	S281	0	0	0
<i>Alternaria</i>	S282	0	0	0
<b><i>Alternaria</i></b>	<b>S471</b>	<b>0</b>	<b>+++</b>	<b>0</b>
Asca	C421	0	++	0
Asca	C242	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	C121	0	0	0
<b><i>Bipolaris</i></b>	<b>S121</b>	+	+++	+++
<i>Bipolaris</i>	S131	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	C151	0	0	0
<b><i>Bipolaris</i></b>	<b>S151</b>	++	++	+++
<i>Bipolaris</i>	C152	0	0	0
<b><i>Bipolaris</i></b>	<b>S171</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b><i>Bipolaris</i></b>	<b>S172</b>	+	++	+++
<i>Bipolaris</i>	C221	0	0	0
<b><i>Bipolaris</i></b>	<b>S221</b>	+	++	++
<i>Bipolaris</i>	C232	0	0	0
<b><i>Bipolaris</i></b>	<b>C261</b>	+	+++	++
<i>Bipolaris</i>	S282	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	C421	+	++	++
<i>Bipolaris</i>	C451	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	C452	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	C471	0	+	0
<i>Bipolaris</i>	S481	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	S482	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	S483	0	+	++
<i>Bipolaris</i>	S484	0	0	0
<i>Bipolaris</i>	C151	0	0	++
<i>Bipolaris</i>	S151	0	++	0
<i>Bipolaris</i>	C152	0	+	++
<i>Chaetomium</i> Like	C111P	0	0	0
<b><i>Chaetomium</i> Like</b>	<b>C112V</b>	++	++	+++
<i>Chaetomium</i> Like	C113V	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	C121P	0	0	0

<i>Chaetomium</i> Like	C122P	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	C123P	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	C124P	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	C125R	+	+	++
<i>Chaetomium</i> Like	C126R	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	S211C	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	C241R	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	C412P	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	C431V	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	S461C	0	0	0
<i>Chaetomium</i> Like	S462C	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	S111	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	S121	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	S122	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	S152	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	C153	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	C171	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	C172	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	C211	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	S223	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	C241	0	0	0
<i>Epicoccum</i>	S121	0	0	0
<i>Epicoccum</i>	S151	0	0	0
<i>Epicoccum</i>	C152	0	0	0
<b><i>Epicoccum</i></b>	<b>S161</b>	<b>0</b>	<b>++</b>	<b>++</b>
<i>Epicoccum</i>	S162	0	0	0
<i>Epicoccum</i>	S171	0	0	0
<i>Epicoccum</i>	S212	0	0	0
<i>Epicoccum</i>	S411	0	0	0
Picnídio	S211	0	0	0
<i>Sordaria</i>	C151	0	0	0
<i>Sordaria</i>	S171	0	0	0
<b><i>Sordaria</i></b>	<b>S172</b>	<b>0</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
<i>Sordaria</i>	S461	0	0	0
<i>Trichoderma</i>	C111	0	0	0
<i>Trichoderma</i>	C112	0	0	0
<i>Trichoderma</i>	C151	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 1	S421	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 1	C471	0	0	0
<b>N.I.<sup>1</sup> 1</b>	<b>S471</b>	<b>+</b>	<b>+++</b>	<b>0</b>
N.I. <sup>1</sup> 1	C481	0	<b>++</b>	0
N.I. <sup>1</sup> 1	S481	0	0	<b>++</b>
N.I. <sup>1</sup> 1	S483	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 1	S484	0	0	0

N.I. <sup>1</sup> 2	C411	0	0	0
<b>N.I.<sup>1</sup> 2</b>	<b>C431</b>	<b>0</b>	<b>++</b>	<b>++</b>
N.I. <sup>1</sup> 2	S441	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 2	S442	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 2	S451	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 2	C452	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 2	S471	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	C111	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	C112	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S121	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S131	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S151	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S172	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S221	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S231	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S262	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 3	S471	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 4	C421	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 4	C441	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 4	S441	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 4	S442	0	0	+
N.I. <sup>1</sup> 5	C111	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 5	S111	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 6	C211	0	0	0
N.I. <sup>1</sup> 6	C232	0	0	0

<sup>1</sup>N.I.: Não Identificado, adotado quando não foi possível identificar um gênero ou alguma característica marcante.

Nota: 0 não apresentou sintomas, + apresentou sintomas e severidade leve, ++ severidade média e +++ severidade alta.

Os 15 isolados escolhidos foram separados e organizados em uma nova identificação mais simplificada para os tratamentos dos seguintes testes de patogenicidade. As novas identificações foram: *Sordaria* (S172) como **F1**; N.I. 1 (S471) **F2**; N.I. 2 (C431) **F3**; *Epicoccum* (S161) **F4**; *Chaetomium* Like (C112V) **F5**; *Alternaria* (S471) **F6**; *Alternaria* (S181) **F7**; *Alternaria* (S132) **F8**; *Alternaria* (S131) **F9**; *Bipolaris* (C261) **F10**; *Bipolaris* (S221) **F11**; *Bipolaris* (S172) **F12**; *Bipolaris* (S171) **F13**; *Bipolaris* (S151) **F14**; *Bipolaris* (S121) **F15**.

### 3.2.1 Teste de inibição da germinação de sementes

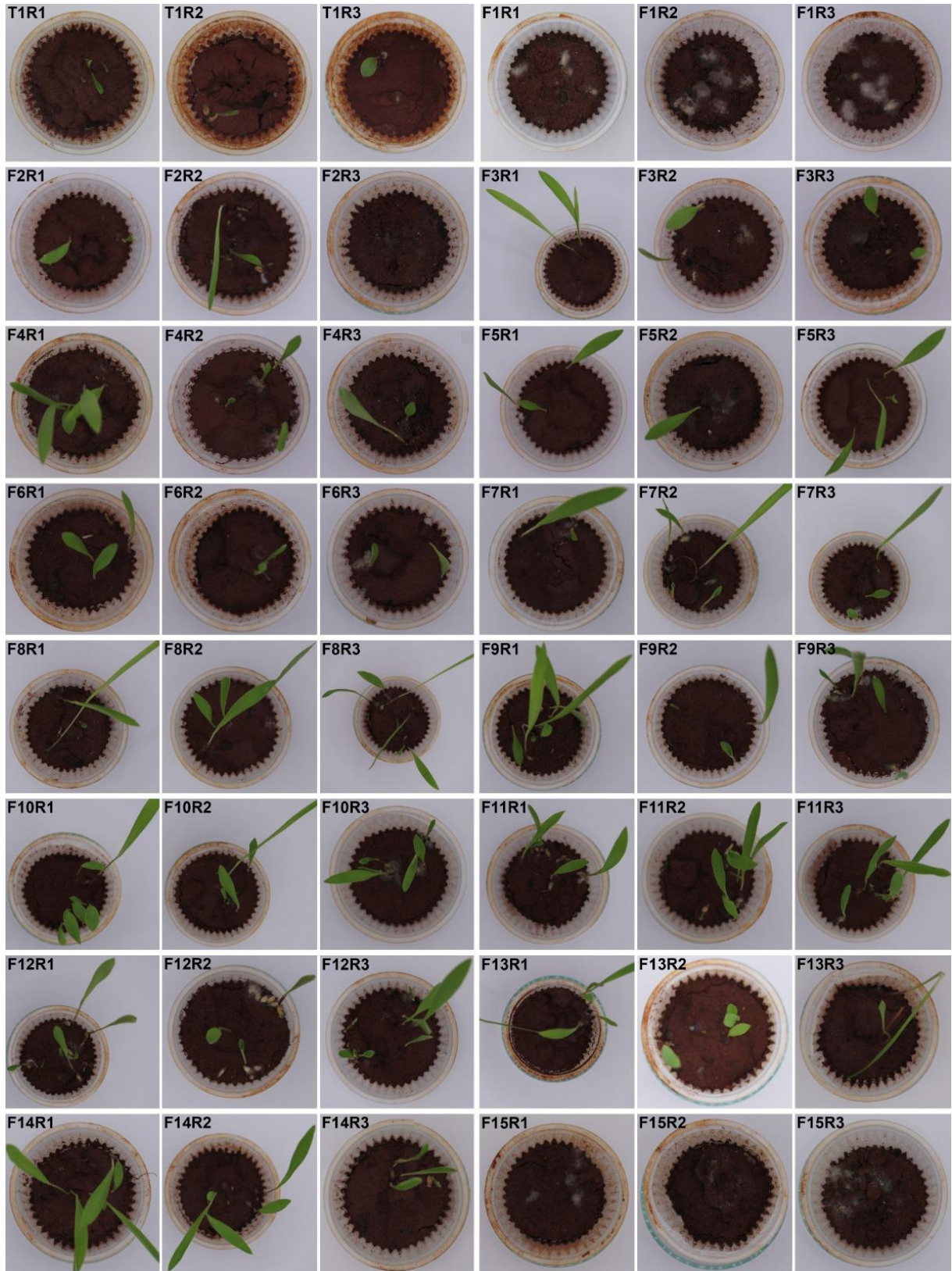
Foi possível constatar a interferência dos isolados fúngicos testados sobre a germinação das sementes das três espécies de braquiárias, observando tanto de forma visual

como pelo Teste de Dunnett. Para as espécies *Urochloa ruziziensis* e *U. decumbens*, os 15 isolados obtiveram médias das quais diferiram da testemunha, ou seja, houve uma diminuição na taxa média de germinação das sementes quando tratadas com a suspensão fúngica em comparação à testemunha (Tabela 2). Os isolados F2, F3, F4, F5, F8, F12, F13 e F14, para *U. ruziziensis*, inibiram 100% das sementes (Figura 3). Já para *U. decumbens*, os isolados que inibiram 100% das sementes foram F1, F2, F4 e F13 (Figura 4). Sobre a espécie *U. brizantha*, nenhum isolado teve a média diferida da média da testemunha através do teste de Dunnett, porém é possível notar que os isolados F1 e F15 inibiram totalmente a germinação de todas as sementes (Figura 2). Dessa forma, com base nos isolados os quais se diferiram das médias e da análise visual, é possível falar, para as três espécies, que os isolados F1 e F15 obtiveram os melhores desempenho em diminuir a germinação.

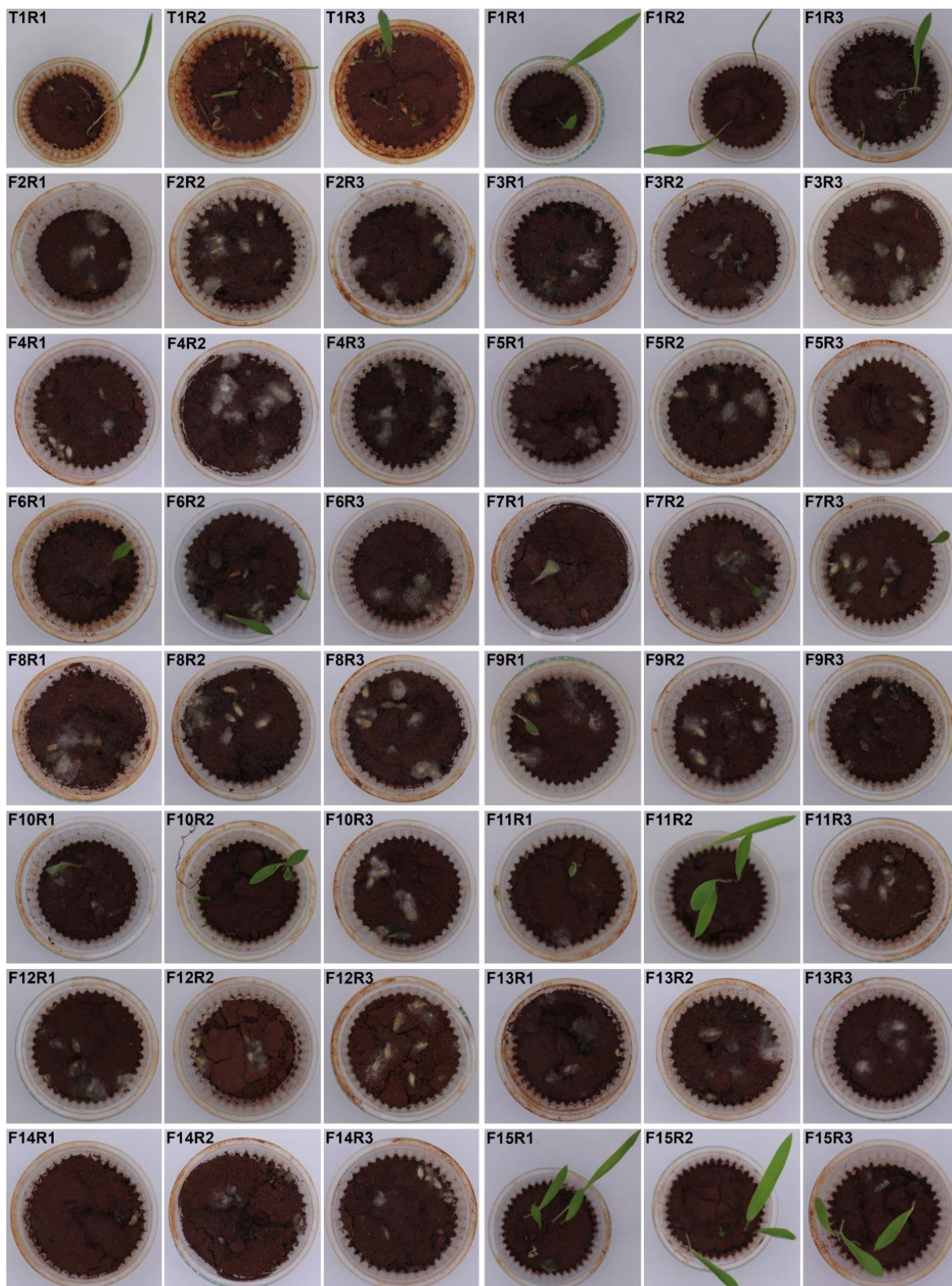
Tabela 2 – Porcentagem de inibição da germinação de sementes de *Urochloa brizantha*, *U. ruziziensis* e *U. decumbens* após a microbiolização com suspensões de isolados fúngicos.

Isolado	Sementes germinadas (%)		
	Espécie		
	<i>U. brizantha</i>	<i>U. ruziziensis</i>	<i>U. decumbens</i>
F1	0	27*	0*
F2	13	0*	0*
F3	20	0*	10*
F4	37	0*	0*
F5	27	0*	3*
F6	20	17*	13*
F7	33	13*	13*
F8	43	0*	10*
F9	50	7*	3*
F10	57	13*	7*
F11	53	10*	20*
F12	60	0*	13*
F13	53	0*	0*
F14	57	0*	10*
F15	0	37*	13*
<b>Testemunha</b>	<b>27</b>	<b>77</b>	<b>43</b>

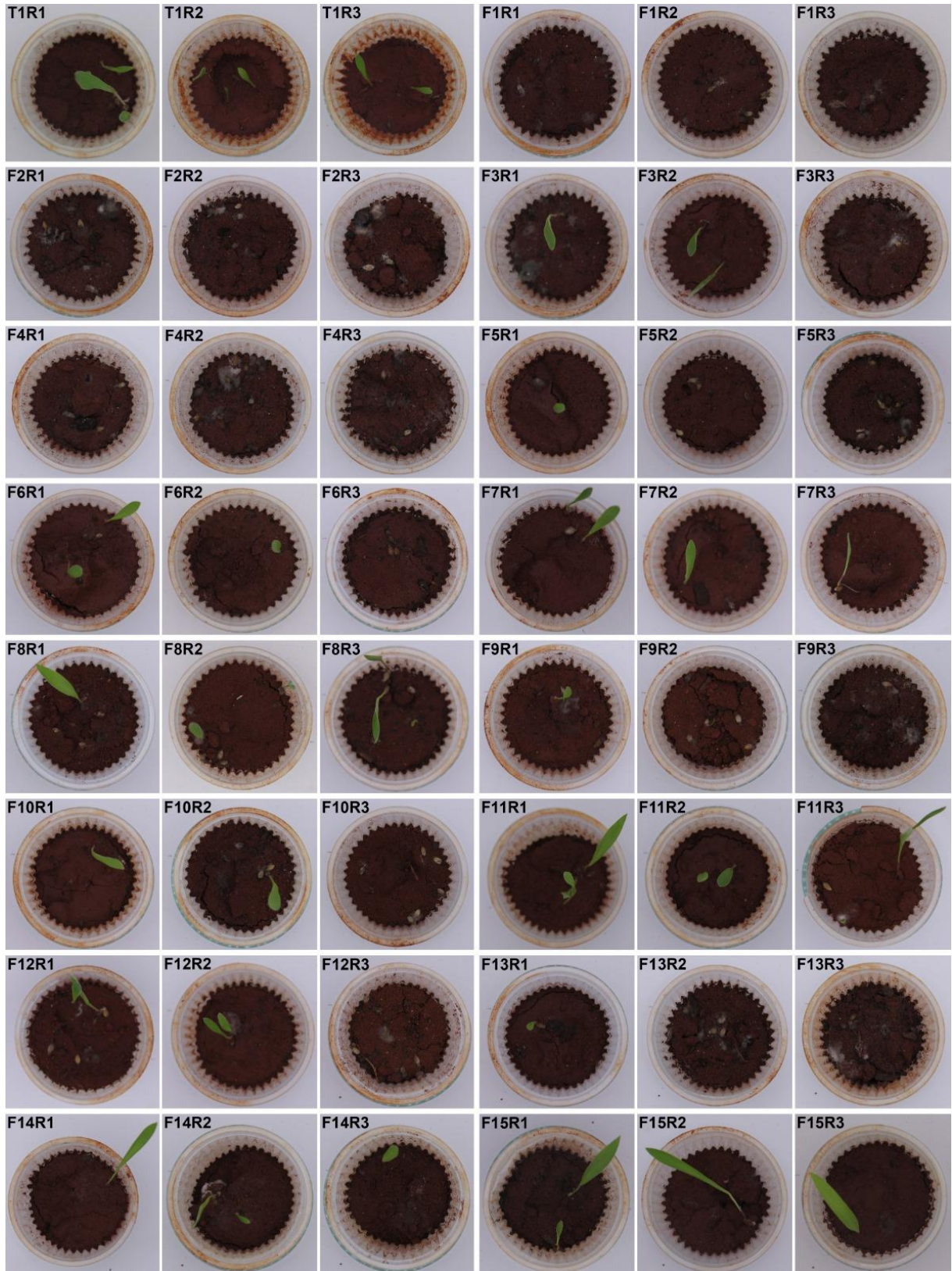
Nota: Médias que diferem da testemunha pelo teste de Dunnett à 0,05 de significância apresentam o \* após o número.



**Figura 2** – Teste de inibição da germinação de sementes de *Urochloa brizantha*. Comparação dos 15 isolados (F's) e da Testemunha (T1) através das três repetições por tratamento (R1, R2 e R3). Fonte: Autoria própria.



**Figura 3** – Teste de inibição da germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis*. Comparação dos 15 isolados (F's) e da Testemunha (T1) através das três repetições por tratamento (R1, R2 e R3). Fonte: Autoria própria.



**Figura 4** – Teste de inibição da germinação de sementes de *Urochloa decumbens*. Comparação dos 15 isolados (F's) e da Testemunha (T1) através das três repetições por tratamento (R1, R2 e R3). Fonte: Autoria própria.

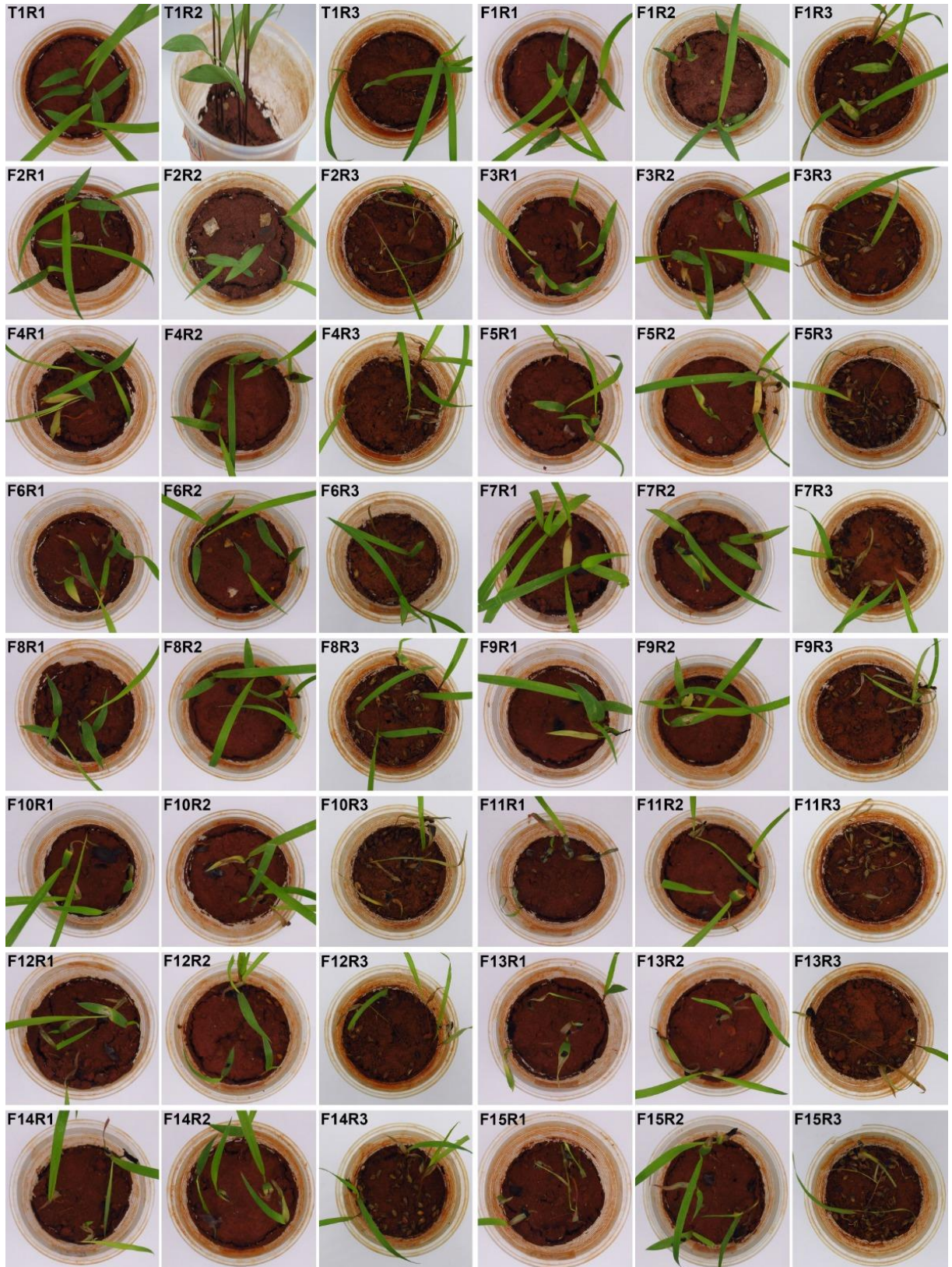
### 3.2.2 Teste de patogenicidade e severidade em plântulas

Para todas as espécies de *Urochloa* estudadas, quando expressada a doença, a região da área foliar em contato com o disco de micélio apresentou sintomas de necrose e, conforme a intensidade da doença, a morte da planta. Conforme o Teste de Dunnett, é possível notar que a espécie *U. ruzizensis* foi a que apresentou a maior taxa de plantas doentes, sendo o isolado F1 o único o qual a média não se diferenciou da testemunha, ou seja, todos os outros 14 isolados obtiveram uma incidência maior de sintomas quando inoculados nas plantas dessa espécie. Para a espécie *U. brizantha*, os isolados que diferiram da testemunha foram F3, F5, F7, F10, F11, F12, F13, F14 e o F15, enquanto para a espécie *U. decumbens*, os isolados que diferenciaram da testemunha foram F5, F10, F11, F12, F13 e F15 (Tabela 3). Além do teste, foi notado que o número de plantas doentes era maior para os isolados do gênero *Bipolaris*, sendo que os isolados F11, F13 e F15 causaram doença em um maior número de plantas e também maior severidade nos sintomas, chegando a matar o maior número de plantas inoculadas (Figura 5, Figura 6 e Figura 7).

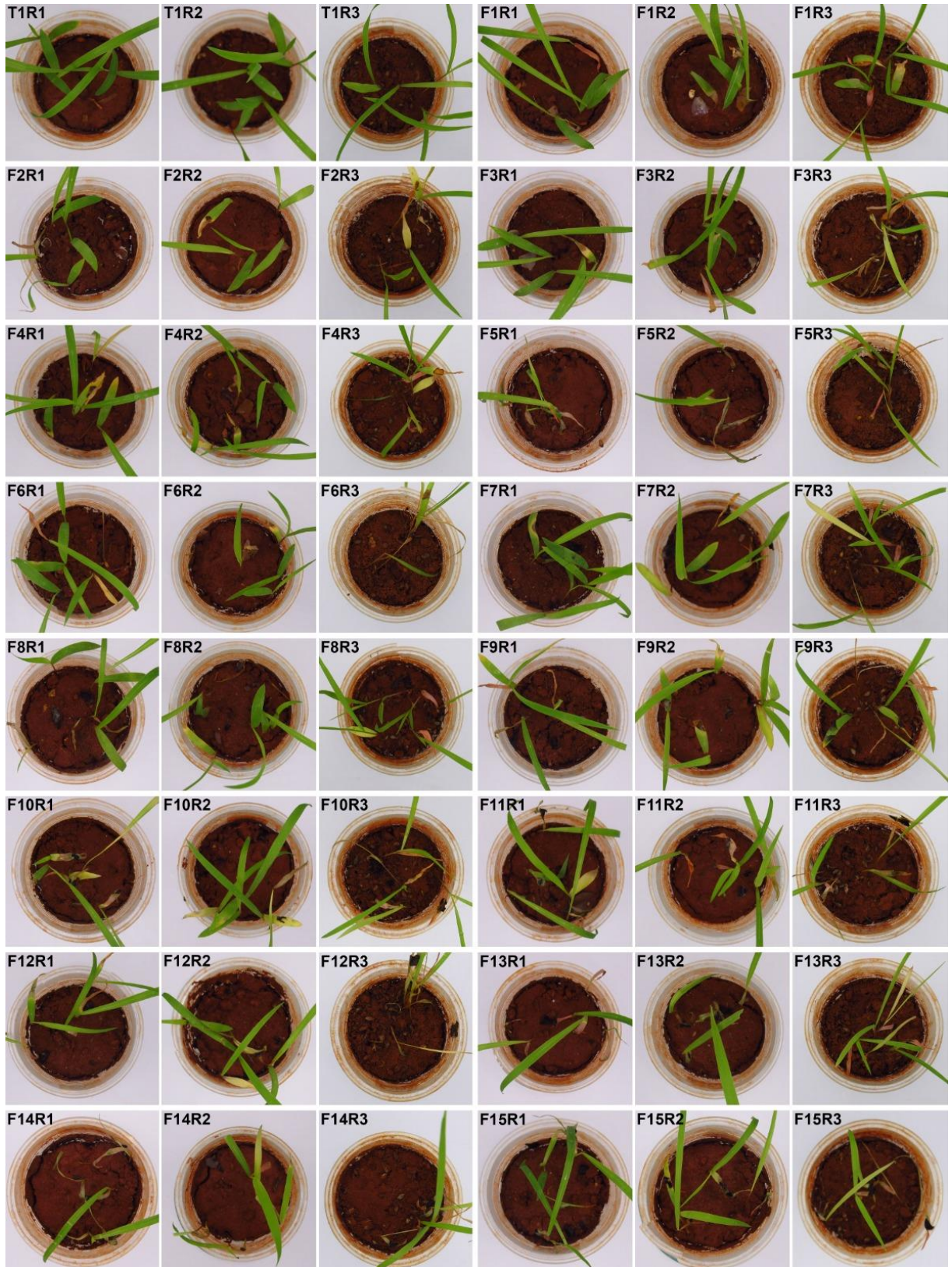
Tabela 3 – Porcentagem de plantas infectadas de *Urochloa brizantha*, *U. ruzizensis* e *U. decumbens* após a inoculação de isolados fúngicos.

Isolado	Plantas Infectadas (%)		
	Espécies		
	<i>U. brizantha</i>	<i>U. ruzizensis</i>	<i>U. decumbens</i>
F1	13	40	47
F2	7	53*	33
F3	67*	53*	67
F4	40	80*	53
F5	93*	100*	93*
F6	47	67*	40
F7	60*	73*	53
F8	33	47*	47
F9	40	87*	47
F10	93*	87*	80*
F11	100*	93*	100*
F12	73*	87*	100*
F13	93*	100*	100*
F14	87*	100*	73
F15	93*	100*	93*
<b>Testemunha</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

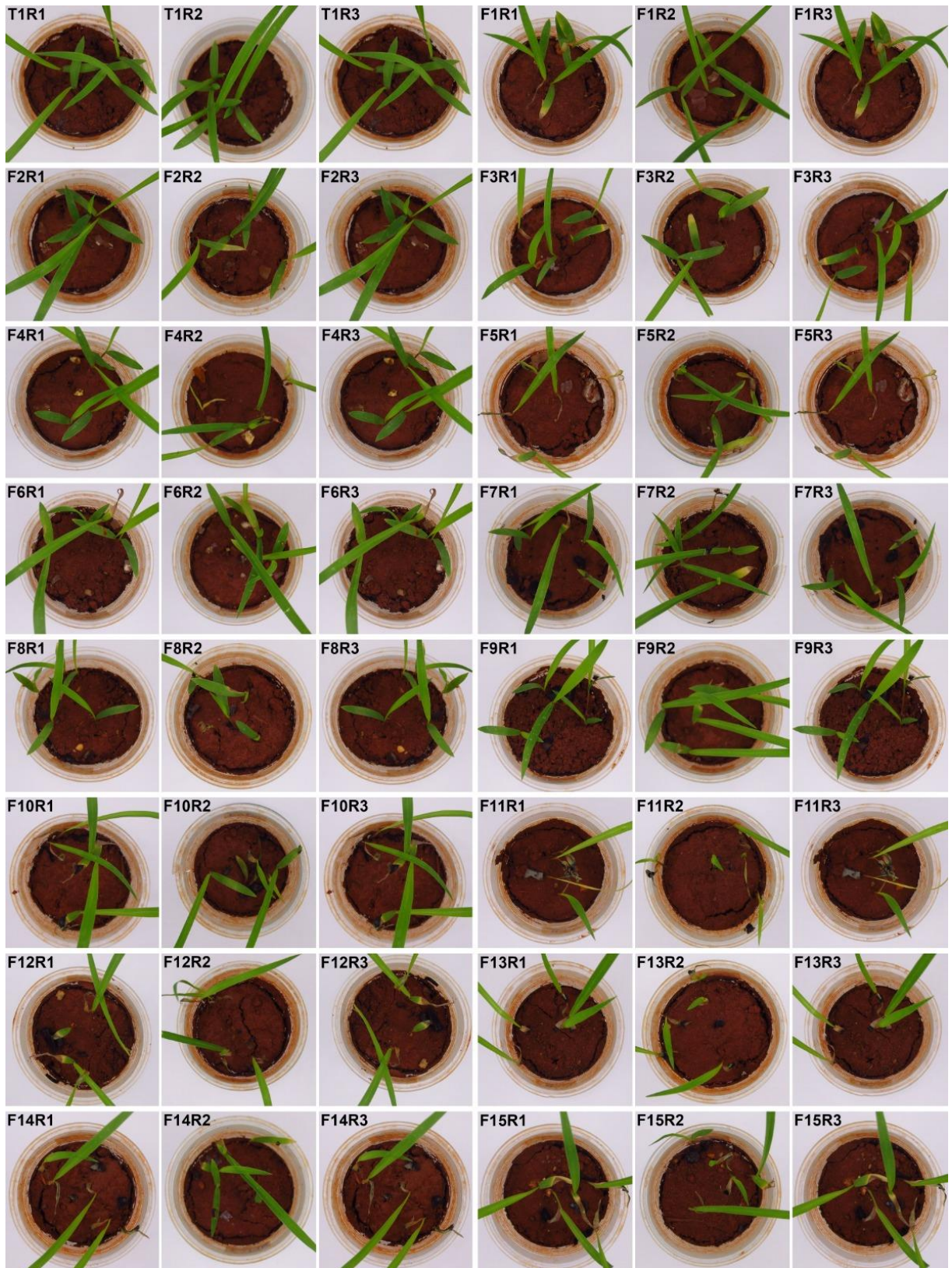
Nota: Médias que diferem da testemunha pelo teste de Dunnett à 0,05 de significância apresentam o \* após o número.



**Figura 5** – Teste de patogenicidade em plântulas de *Urochloa brizantha*. Comparação dos 15 isolados (F's) e da Testemunha (T1) através das três repetições por tratamento (R1, R2 e R3).  
Fonte: Autoria própria.



**Figura 6** – Teste de patogenicidade em plântulas de *Urochloa ruziziensis*. Comparação dos 15 isolados (F's) e da Testemunha (T1) através das três repetições por tratamento (R1, R2 e R3). Fonte: Autoria própria.



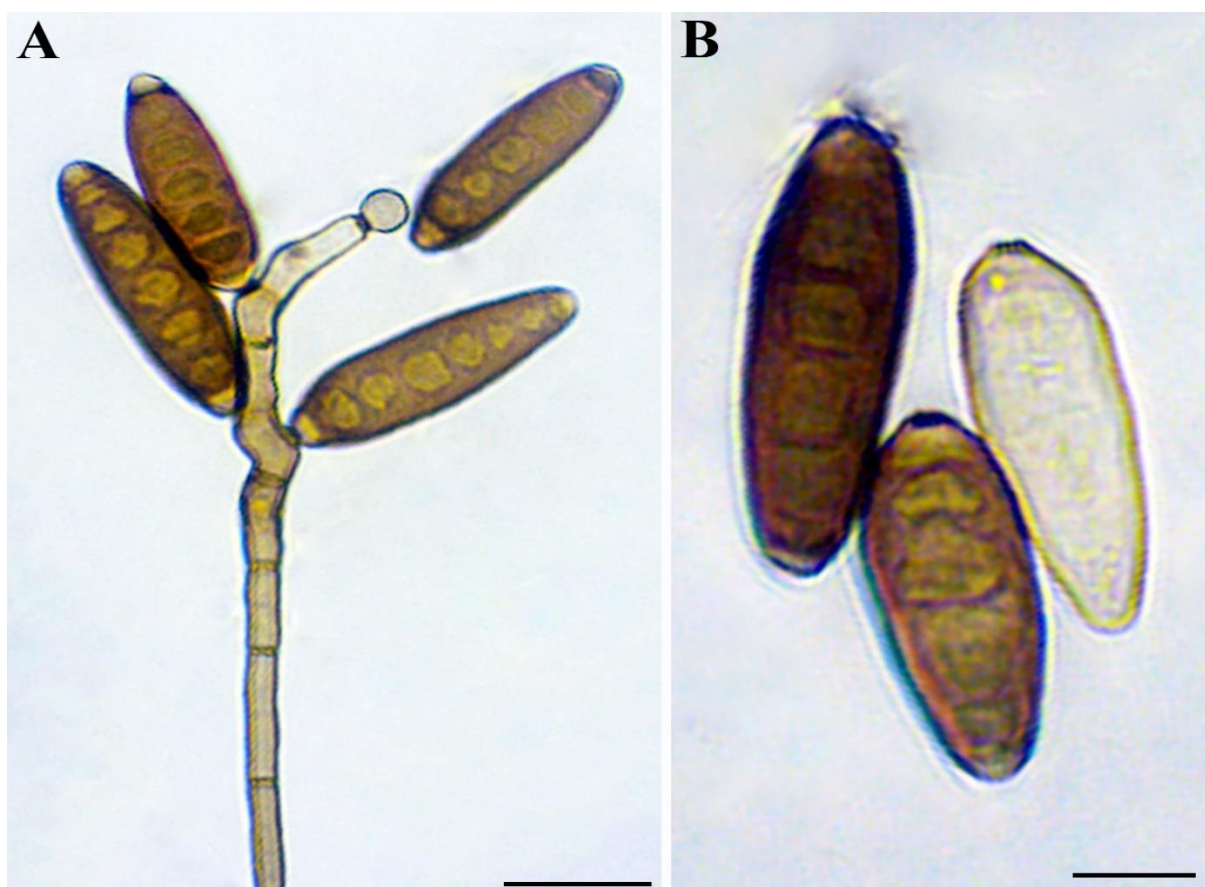
**Figura 7** – Teste de patogenicidade em plântulas de *Urochloa decumbens*. Comparação dos 15 isolados (F's) e da Testemunha (T1) através das três repetições por tratamento (R1, R2 e R3). Fonte: Autoria própria.

### 3.3 Estudo Taxonômico

A seleção dos isolados deu-se através dos resultados dos testes de patogenicidade e severidade, sendo eles: o isolado F11, o F13 e o F15. As avaliações ocorreram em estruturas assexuadas dos fungos, avaliando conídios, conidióforos e células conidiogênicas.

#### 3.3.1 F11 – Isolado S221 *Bipolaris* sp.

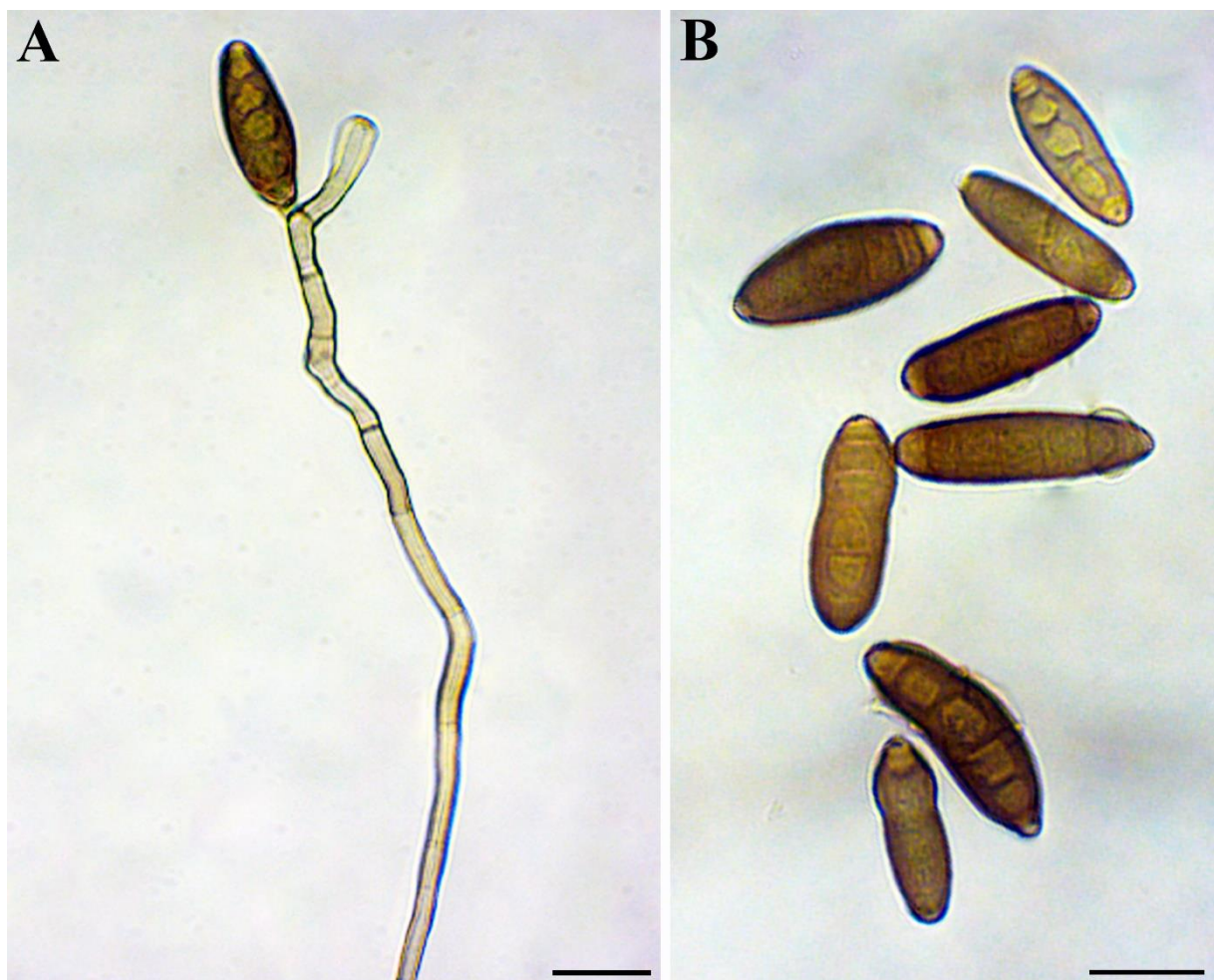
Conidióforos  $31\text{--}273 \times 2\text{--}3 \mu\text{m}$ , pigmentação escura, cor marrom oliva, encontrados geralmente isolados ou em pequenos grupos, tipicamente simples, raramente ramificados, septados, geniculados nas partes superiores e retos ou flexuosos. Células conidiogênicas  $3\text{--}12 \times 2\text{--}4 \mu\text{m}$ , com a coloração marrom, poliblasticas e com superfície lisa. Conídios  $10\text{--}28 \times 4\text{--}7 \mu\text{m}$ , hialinos quando imaturos e conforme o amadurecimento, passam de marrom-oliva para marrom ou marrom escuro, lisos, sem apêndices, multicelulares, fragmosporos com 3 ou mais pseudoseptos, retos ou ligeiramente curvados, não ficam confinados no ápice do conidióforo.



**Figura 8** – F11 – Isolado S221 *Bipolaris* sp. A Conidióforo e células conidiogênicas com conídios. B Conídios. Escalas: A =  $10 \mu\text{m}$ , B =  $5 \mu\text{m}$ . Fonte: Autoria própria.

### 3.3.2 F13 – Isolado S171 *Bipolaris* sp.

Conidióforos  $13\text{--}191 \times 2\text{--}5 \mu\text{m}$ , de coloração escura, marrom, surgem geralmente isolados ou em pequenos grupos, simples ou ramificados, constituído de várias células, septados, retos ou flexuosos. Células conidiogênicas  $1\text{--}10 \times 1\text{--}6 \mu\text{m}$ , de coloração marrom, com a superfície lisa e são poliblasticas. Conídios  $9\text{--}23 \times 2\text{--}7 \mu\text{m}$ , lisos, multicelulares, fragmosporos, retos, raramente curvados, obclavados ou cilíndricos, hialinos quando imaturos e ao amadurecer tornam-se marrom a marrom escuro, os conídios não são confinados no ápice do conidióforo.

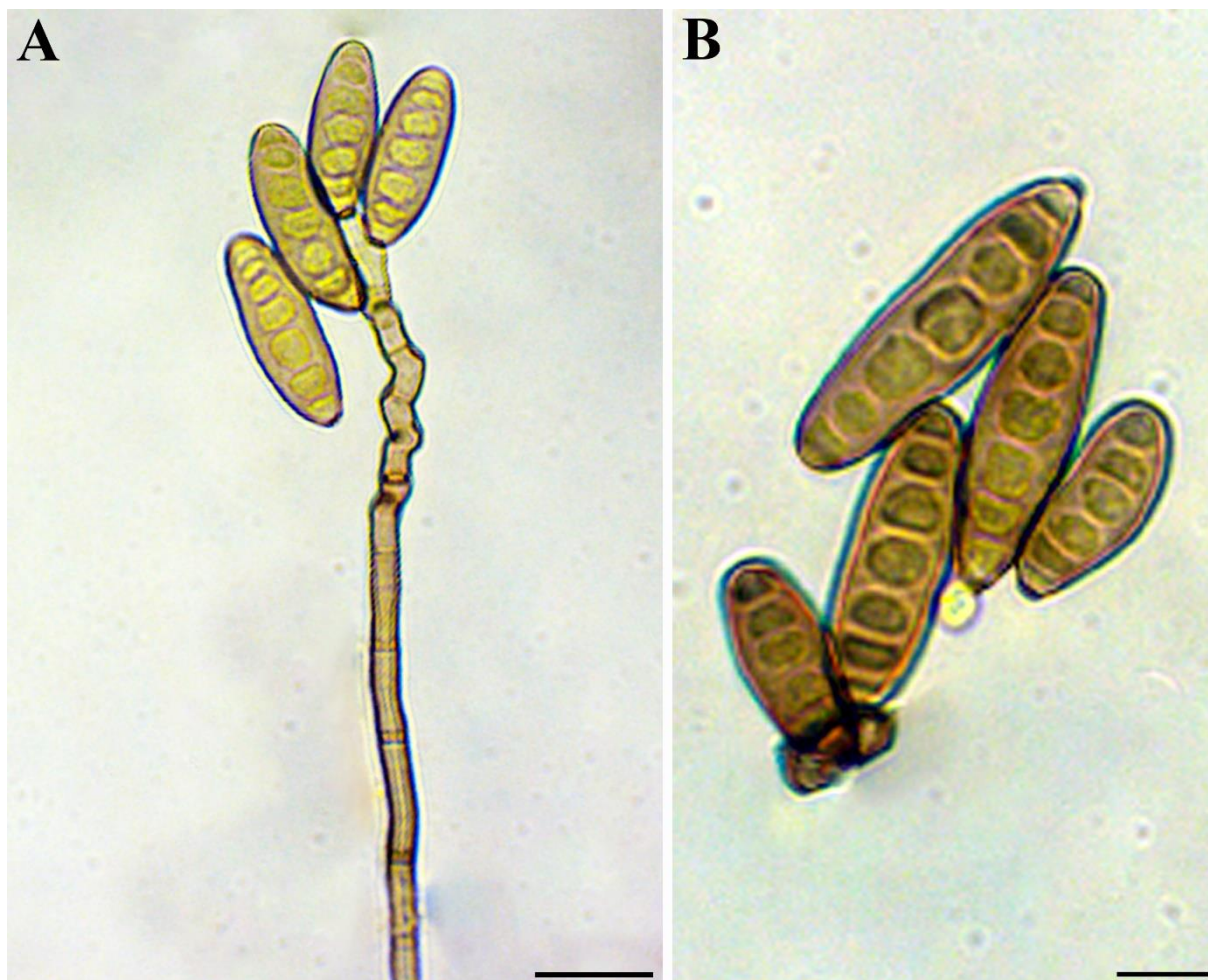


**Figura 9** – F13 – Isolado S171 *Bipolaris* sp. A Conidióforo e células conidiogênicas com conídio. B Conídios. Escalas: A =  $10 \mu\text{m}$ , B =  $10 \mu\text{m}$ . Fonte: Autoria própria.

### 3.3.3 F15 – Isolado S121 *Bipolaris* sp.

Conidióforos  $34\text{--}267 \times 2\text{--}3 \mu\text{m}$ , com pigmentação escura distinta, em maioria amarronzados, surgem geralmente isolados ou em pequenos grupos, tipicamente simples ou, raramente, ramificados, possuem várias células, septados, retos ou flexuosos, às vezes

geniculados nas partes superiores. Células conidiogênicas  $3-8 \times 2-4 \mu\text{m}$ , amarronzadas, poliblasticas. Conídios  $14-31 \times 5-10 \mu\text{m}$ , lisos, multicelulares, fragmosporos, retos ou ligeiramente curvados, obclavados ou cilíndricos, hialinos quando imaturos e ao amadurecer tornam-se marrom dourado, os conídios não são confinados no ápice do conidióforo.



**Figura 10** – F15 – Isolado S121 *Bipolaris* sp. A Conidióforo e células conidiogênicas com conídios. B Conídios. Escalas: A =  $10 \mu\text{m}$ , B =  $5 \mu\text{m}$ . Fonte: Autoria própria

#### 4 Discussão

Inicialmente, os isolados F11, F13 e F15 foram identificados como pertencentes ao gênero *Bipolaris*. Através das preparações microscópicas, foi possível avaliar as estruturas fúngicas e validar a identificação inicial por meio da chave de Barnett & Hunter (1987) e pelo trabalho taxonômico de Manamgoda et al. (2014). Atualmente, nenhum programa consolidado e difundido de controle biológico clássico, natural ou por mico-herbicidas utiliza espécies do gênero *Bipolaris* para o controle de plantas daninhas, como também, não há nenhum programa para controlar espécies do gênero *Urochloa* pelo mundo (WINSTON et al.,

2014). Porém, deve-se destacar que os estudos utilizando espécies de *Bipolaris* já ocorrem há um tempo e demonstram a possibilidade da utilização de espécies do gênero no controle de importantes plantas daninhas (NECHET & BARRETO & MIZUBUTI, 2006; WINDER & DYKE, 1990; ZHANG et al., 2022). Além disso, o uso de fungos fitopatogênicos como agentes de controle biológico de plantas daninhas demonstram uma alta taxa de estabelecimento em campo e com porcentagens significativas no controle de plantas daninhas (SCHWARZLÄNDER et al., 2018).

A utilização de fungos fitopatogênicos dos quais já ocorrem naturalmente associados a espécies de plantas daninhas é uma interessante alternativa por não necessitar introduzir novas espécies, como sugere o controle biológico clássico, assim trabalhando com os antagonistas que já ocorrem na região. Essa alternativa torna-se interessante quando considerado as áreas com a finalidade de proteger a natureza, até porque, por tratarem-se de áreas com a finalidade de proteger a biodiversidade nativa do local, a introdução de espécies exóticas perde o sentido. No Brasil a ocorrência de espécies de *Bipolaris* associadas a indivíduos do gênero *Urochloa* já é descrita desde o século passado, como *B. sorokiniana* em *U. plantaginea* e *B. incurvata* em *U. brizantha* (MENDES & URBEN, 2023). O primeiro relato no Brasil da espécie *B. cynodontis* em *U. brizantha* ocorreu em 2005, causando uma necrose a qual se inicia no ápice da folha e segue até a base, acarretando em uma queima completa da planta (MACEDO & BARRETO, 2007).

Para todos os isolados de *Bipolaris*, os sintomas iniciaram com uma necrose na área inoculada com o disco de micélio e no ápice das folhas, conforme a doença progredia, a necrose seguia até a base e, logo após, a planta toda ficou necrosada, causando sua morte. Além disso, vale ressaltar que os sintomas já eram visíveis dois dias após a inoculação e se estabeleciam no quinto dia. Esse período de tempo é interessante quando comparado ao período de controle de alguns herbicidas químicos testados nas mesmas condições, em plântulas de braquiárias semeados em vasos com apenas quinze dias de idade. Os herbicidas sethoxydim, haloxyfop-methyl e fluazifop-p-butyl possuem elevados níveis de controle da espécie *U. decumbens* já aos 4 dias após aplicação com lesões bem aparentes nas folhas e tendo a morte dos indivíduos após 14 dias (MARQUES & RODELLA & MARTINS, 2011).

Ainda que os isolados F11 e F13 não tiveram bons resultados em conter a germinação das sementes de *Urochloa brizantha*, o isolado F15 mostrou nos testes grande potencial em inibir a germinação de todas as sementes dessa espécie, como também foi capaz de reduzir a germinação das sementes de *U. ruziziensis* e *U. decumbens*. Outro ponto importante é que o isolado F13 impediu que todas sementes testadas das espécies *U. ruziziensis* e *U. decumbens*

germinassem. O que é um ponto positivo, já que, além do controle das plantas em pós-emergência, também há o banco de sementes a se controlar. Normalmente, por tratar-se de plantas daninhas, controlar o banco de sementes é extremamente difícil, pois, além de haver uma grande quantidade de sementes depositada no solo, apresentam a dormência que interfere na uniformidade de germinação no tempo, sendo assim, a prevalência dessas plantas é maior na área (VIVIAN et al, 2008).

Considerando a associação entre o hospedeiro e o patógeno para o entendimento de quais fungos fitopatogênicos estão associados às braquiárias, a opção de trabalhar com as sementes de braquiária para obter os isolados patogênicos pelo teste de Blotter, de fato, mostrou-se uma forma eficiente, quando comparado aos patógenos advindos de manchas foliares, pois, a diversidade de isolados tornou-se maior junto a facilitação do processo de isolamento. Testes de sanidade de sementes comerciais também comprovam a alta incidência desses fitopatógenos em lotes de espécies de braquiárias de diferentes regiões brasileiras (MARCHI et al., 2010; MALLMANN et al., 2013). Porém, mesmo ao se trabalhar com sementes, não é possível encontrar patógenos biotróficos, que são em sua maioria, mais específicos, dos quais são interessantes pelo histórico de coevolução entre patógeno e hospedeiro.

Por isso, antes de qualquer decisão sobre os três isolados, mais testes deverão ser executados para a consolidação do entendimento sobre a utilização dos mesmos em um programa de controle biológico das três espécies do gênero *Urochloa*. Tais testes baseiam-se em testes de especificidade em culturas comerciais, como milho, arroz e sorgo, e também em espécies de gramíneas nativas do bioma Cerrado, já que, é necessário a compreensão de uma possível patogenicidade dos isolados fora das espécies das quais são o foco do controle. Além disso, também são necessários testes para a avaliação do comportamento dos isolados quando em condições de campo, até porque, é nesse processo que será observado formas eficientes de aplicação do fungo para controlar as braquiárias e também a compreensão sobre sua permanência em controlar as espécies. Por fim, análises filogenéticas para a correta identificação dos isolados a nível de espécie, trazendo ainda mais compreensão, até mesmo, sobre a ecologia e biologia desses isolados de *Bipolaris* deverão ser realizadas.

## 5 Conclusões

O teste de inibição da germinação em sementes demonstra que os melhores isolados para inibir a germinação das três espécies de *Urochloa* foram o F1 e o F15.

Os isolados que apresentaram maior agressividade em sintomas no teste de patogenicidade em plântulas nas três espécies, foram o F11, F13 e F15.

Nas três espécies, os isolados de *Bipolaris* foram os que apresentaram maior potencial de controle.

Através do uso de sementes em teste Blotter é possível isolar fitopatógenos com potencial no uso em controle biológico de plantas daninhas.

## 6 Referências

- ALVIM, M. J.; BOTREL, M. de A.; XAVIER, D. F., **As principais espécies de *Brachiaria* utilizadas no país**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2002. 4 p. (EMBRAPA Gado de Leite. Comunicado Técnico, 22);
- ANJOS, N., **Taxonomia, ciclo de vida e dinâmica populacional de *Costalimaita ferruginea* (Fabr., 1801) (Coleoptera: Chrysomelidae), praga de *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae)**. 1992. 165 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1992;
- ANVISA, **Nota sobre o uso de agrotóxicos em área urbana**. Brasília: Diretoria Colegiada da ANVISA, 2010. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/agrotoxicos/publicacoes/informe-uso-de-agrotoxicos-em-area-urbana.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2023;
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B., **Illustrated genera of imperfect fungi**. New York: **Macmillan Publishers**, 5° ed., 1987;
- BRASIL. **Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989**, Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, [...] e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências, Brasília: Presidência da República, 1989. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l9605.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9605.htm). Acesso em: 13 mar. 2023;
- BRASIL. **Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998**, Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências, Brasília: Presidência da República, 1998. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l7802.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm). Acesso em: 17 mar. 2023;
- BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, M. F. **Biologia de plantas daninhas**. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 1–36;
- COSTA, A. S. V. da; NETO, A. P. D.; CAMELO, G. N.; BOECHAT, C. L.; da SILVA, M. B. da, **Utilização de técnicas vegetativas na recuperação de encostas íngremes degradadas as margens de rodovias**. **Revista de Ciência e Tecnologia do Vale do Mucuri**, (4), 79–94, 2013;
- CRISPIM, S. M. A.; BRANCO, O. D., **Aspectos gerais das braquiárias e suas características na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, MS**. Corumbá: EMBRAPA Pantanal, 2002; 27 p. (EMBRAPA Pantanal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 33);
- D'ANTONIO, C. M.; VITOUSEK, P. M., **Biological invasions by exotic grasses, the grass/fire cycle and global change**. **Annual Review of Ecology and Systematic**. 23: p. 63–87, 1992;
- DIAS-FILHO, M. B., **Diagnóstico das Pastagens no Brasil**. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2014. 38 p. (EMBRAPA Amazônia Oriental. Documentos, 402);

GONZÁLEZ, A. M. T.; MORTON, C. M., Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 37 (1), p. 36–44, 2005;

IBAMA, **Registro de Agrotóxicos de Uso Não Agrícola**. Gov.br, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/registros/registro-de-agrotoxicos-de-uso-nao-agricola>. Acesso em: 17 mar. 2023;

INOMOTO, M. M.; MACHADO, A. C.Z.; ANTEDOMÊNICO, S. R., Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 341–344, 2007;

MACEDO, D. M.; BARRETO, R.W., First report of leaf blight of *Brachiaria brizantha* in Brazil caused by *Bipolaris cynodontis*. **Plant Pathology**, v. 56, p. 1041, 2007;

MALLMANN, G.; VERZIGNASSI, J. R.; FERNANDES, C. D.; SANTOS, J. M. dos; VECHIATO, M. H.; INÁCIO, C. A.; BATISTA, M. V.; QUEIROZ, C. de A., Fungos e nematoides associados a sementes de forrageiras tropicais. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 39, n. 3, p. 201–203, 2013;

MANAMGODA, D.S.; ROSSMAN, A. Y.; CASTLEBURY, L. A.; CROUS, P. W.; MADRID, H.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D., The genus *Bipolaris*. **Studies in Mycology**, v. 79, p. 221–288, 2014;

MARCHI, C. E.; FERNANDES, C. D.; BUENO, M. L.; BATISTA, M. V.; FABRIS, L. R., Fungos veiculados por sementes comerciais de braquiária. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.1, p.65–73, 2010;

MARQUES, R. P.; RODELLA, R. A.; MARTINS, D., Controle químico em pós-emergência de espécies de *Brachiaria* em três estádios vegetativos. **Arq. Inst. Biol.**, v.78, n.3, p. 409–416, 2011;

MEDEIROS, M. L. P.; EVONEO, B. F., Tipos de controle biológico. *In*:\_\_\_\_\_. (org.). Fundamentos de controle biológico de insetos-praga. Natal: IFRN, 2011. p. 37–39;

MENDES, M. A. S.; URBEN, A. F., **Fungos relatados em plantas no Brasil**, Laboratório de Quarentena Vegetal. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Disponível em: <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michtml/fgbanco01.asp>. Acesso em: 20/3/2023;

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Manual de análise sanitária de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 202 p., 2009;

MORAES, C. P. de., **Efeitos de doses subletais de glyphosate no crescimento, consumo de água e absorção de nutrientes em *Urochloa decumbens***. 2019. Tese (Doutorado) – Curso de Agronomia, Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp, Botucatu, 2019;

NECHET, K. de L.; BARRETO, R. W.; MIZUBUTI, E. S. G., *Bipolaris euphorbiae* as a biological control agent for wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla*): host-specificity and variability in pathogen and host populations. **BioControl**, v. 51, p. 259–275, 2006;

OLIVEIRA, P. de; KLUTHCOUSKI, J.; BORGHI, E.; CECCON, G.; CASTRO, G. S. A., Atributos da braquiária como condicionador de solos sob Integração Lavoura-Pecuária e Integração Lavoura-Pecuária-Floresta. In: CORDEIRO, L. A. M.; VILELA, L.; KLUTHCOUSKI, J.; MARCHÃO, R. L. (Ed.). **Integração lavoura-pecuária-floresta: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. p. 333–353;

R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2009. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 13 mar. 2023;

ROCHA, A. K. P.; ALVES, C. P.; SILVA, J. N. da; SILVA, T. G. F. da; LEITE, M. L. de M. V.; CIRINO JUNIOR, B. Main ecosystems used as native pasture in Brazil: a review. Research, **Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e3859108592, 2020;

SANTOS, F. A. M. dos; LELES, P. S. dos S.; RESENDE, A. da S.; NASCIMENTO, D. F. do; SANTOS, G. R. dos, Estratégias de controle de braquiárias *Urochloa* spp. na formação de povoamento para restauração florestal. **Ciência Florestal**, v. 30, n. 1, p. 29–42, 2020;

SCHWARZLÄNDER, M.; HINZ, H. L.; WINSTON, R. L.; DAY, M. D., Biological control of weeds: an analysis of introductions, rates of establishment and estimates of success, worldwide. **BioControl**, v. 63, p. 319–331, 2018;

SERRÃO, E. A. S.; GONDIM, A. G., **Capim braquiária**. IPEAN, Culturas da Amazonia (1), 5 p., 1966;

STENBERG, J. A.; SUNDH, I.; BECHER, P. G.; BJÖRKMAN, C.; DUBEY, M.; EGAN, P. A.; FRIBERG, H.; GIL, J. F.; JENSEN, D. F.; JONSSON, M.; KARLSSON, M.; KHALIL, S.; NINKOVIC, V.; REHERMANN, G.; VETUKURI, R. R.; VIKETOFT, M., When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. **Journal of Pest Science**, 94(3), p. 665–676, 2021;

*Urochloa in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB20516>. Acesso em: 22 jan. 2023;

VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W.; NECHET, K. de L., Controle biológico de plantas daninhas com fungos fitopatogênicos. In: OLIVEIRA, M. F. de; BRIGHENTI, A. M., **Controle de plantas daninhas: método físico, mecânico, cultural, biológico e alelopatia**. Brasília: EMBRAPA, 2018. p. 113–136;

VIVIAN, R.; SILVA, A. A.; GIMENES, J. M.; FAGAN, E. B.; RUIZ, S. T.; LABONIA, V., Dormência em sementes de plantas daninhas como mecanismo de sobrevivência: breve revisão. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 695–706, 2008;

WILLIAMS, D. G.; BARUCH, Z. African grass invasion in the Americas: ecosystem consequences and the role of ecophysiology. **Biological Invasions**, v. 2, p. 123–140, 2000;

WINDER, R. S.; DYKE, C. G. V., The pathogenicity, virulence, and biocontrol potential of two *Bipolaris* species on Johnsongrass (*Sorghum halepense*). **Weed Science**, v. 38, p. 89–94, 1990;

WINSTON, R. L.; SCHWARZLÄNDER, M HINZ, H. L.; DAY, M. D.; COCK, M. J. W.. JULIEN, M. H., **Biological control of weeds: a world catalogue of agents and their target weeds, 5th edition**. USDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team, Morgantown, West Virginia. 5° ed., 838 p., 2014;

ZHANG, J.; DUAN, G.; YANG, S.; YU, L.; LU, Y.; TANG, W.; YANG, Y., Improved bioherbicidal efficacy of *Bipolaris eleusines* through herbicide addition on weed control in paddy rice. **Plants**, v. 11, 12 p., 2659, 2022;

ZILLER, S. R.; DECHOUM, M. de S. Plantas e vertebrados exóticos invasores em Unidades de Conservação no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, 3(2): p. 4–31, 2013.