

Etiologia de fungos e suas interações com sementes comerciais de *Brachiaria* produzidas no Brasil

Etiology of fungi and its interactions with Brachiaria commercial seeds produced in Brazil

Patrícia Resplandes Rocha dos Santos¹, Vanilza Dias Cardoso², Marcos Vinícius Giongo Alves³, Cibelle Christine Brito Ferreira⁴, João Paulo de Olivetra Santos⁵, Gil Rodrigues dos Santos⁶

RESUMO: Acredita-se que a intensificação da atividade pecuária e a expansão da área cultivada com forrageiras no Brasil, contribuiu para o surgimento de doenças nas pastagens. Apesar da importância das plantas forrageiras, existem poucos trabalhos demonstrando a influência da qualidade sanitária das sementes, bem como seu papel na disseminação de fitopatógenos e produção das forragens em áreas tropicais. Objetivou-se caracterizar a qualidade fisiológica e sanitária em 31 lotes de sementes de *Brachiaria*, cultivadas nas principais regiões produtoras do Brasil. A sanidade foi determinada pelo método *blotter test*, além do potencial de germinação. Também foi avaliada a emergência, transmissão dos fungos presentes nas sementes para as plântulas e sua patogenicidade sobre a produção de massa seca e área foliar. A micoflora de sementes comerciais de *Brachiaria* produzidas nos estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo, é composta, principalmente, pela alta frequência e incidência de fungos como *Phoma*, *Curvularia* e *Bipolaris*. Fungos como *Bipolaris sorokiniana*, *Curvularia lunata* e *Exserohilum rostratum* foram patogênicos à *B. brizantha* cv. Marandu. Também se constatou que *Bipolaris*, *Curvularia* e *Phoma* foram transmitidos via semente-planta. Verificou-se que, a presença de fungos nas sementes, causou redução da germinação e emergência das plântulas. Porém, é importante ressaltar neste estudo que, apesar da importância epidemiológica na transmissão e disseminação de fitopatógenos, infecções que ocorreram na parte aérea das forrageiras avaliadas, causando manchas foliares, demonstraram pouca ou nenhuma influência na produção de massa seca e área foliar.

Palavras-chave: Forrageiras; Germinação; Micoflora; Qualidade sanitária; Transmissão de fungos.

ABSTRACT: It is believed that the intensification of livestock activity and the expansion of cultivated forage area in Brazil contributed to the emergence of diseases in pastures. Despite the importance of forage plants, there are few studies demonstrating the influence of seed health quality, as well as their role in the spread of phytopathogens and forage production in tropical areas. The aim this study was to characterize the physiological and sanitary quality in 31 lots of *Brachiaria* seeds, cultivated in the main producing regions of Brazil. The health was determined by the blotter test method, in addition to the germination potential. It was also evaluated the emergence, fungal transmission present in the seeds to the seedlings and their pathogenicity on the dry mass production and leaf area. The mycoflora of *Brachiaria* commercial seeds produced in the states of Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul and São Paulo, is composed mainly by the high frequency and incidence of fungi as *Phoma*, *Curvularia* and *Bipolaris*. Fungi like *Bipolaris sorokiniana*, *Curvularia lunata* and *Exserohilum rostratum* were pathogenic to *B. brizantha* cv. Marandu. It was also found that *Bipolaris*, *Curvularia* and *Phoma* were transmitted via seed-plant. It was found that the presence of fungi in the seeds caused reduction of germination and emergence of seedlings. However, it is important to emphasize in this study that, despite the epidemiological importance in the transmission and dissemination of phytopathogens, infections that occurred in the aerial part of the evaluated forages, causing leaf spots, showed little or no influence on the production of dry mass and leaf area.

Keywords: Forages; Germination; Mycoflora; Health quality; Fungal transmission.

Autor correspondente: Patrícia Resplandes Rocha dos Santos
E-mail: patriciaresplandes.agro@gmail.com

Recebido em: 01/02/2023
Aceito em: 26/02/2024

¹ Doutora em Produção Vegetal pela UFT, Pós-doutoranda Júnior no Instituto Federal do Tocantins (IFTO), Lagoa da Confusão (TO), Brasil.

² Engenheira Agrônoma formada pela UFT. Gurupi (TO), Brasil.

³ Doutor em Ambiente e Território pela Università degli Studi del Molise (UNIMOL). Docente da Universidade Federal do Tocantins, Gurupi (TO), Brasil.

⁴ Doutora em Produção Vegetal pela UFT, Gurupi (TO), Brasil.

⁵ Doutor em Agronomia pela UFPB. Engenheiro Agrônomo do Instituto Federal do Tocantins, Lagoa da Confusão (TO), Brasil.

⁶ Doutor em Fitopatologia pela UnB. Docente da Universidade Federal do Tocantins, Gurupi (TO), Brasil.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma extensa área de pastagens naturais e formadas para exploração pecuária, tendo cerca de 159 milhões de hectares (IBGE, 2017). Dentro desta extensão territorial, o gênero *Brachiaria*, pertencente à tribo Paniceae com cerca de 100 espécies, distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais (VALLE et al. 2009), é o mais utilizado. Na América tropical as espécies mais utilizadas como plantas forrageiras são: *B. arrecta*, *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. dictyoneura*, *B. humidicola*, *B. mutica* e *B. ruziziensis* (KELLER-GREIN et al. 1996).

A partir da expansão das pastagens e intensificação da atividade pecuária, várias doenças em plantas forrageiras começaram a ter importância significativa, especialmente nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil, causando perdas em produtividade, qualidade da forragem e das sementes (MALLMANN et al. 2013). De acordo com Fernandes et al. (2005) e Sbalcheiro et al. (2014), a associação de patógenos às sementes representa impacto significativo no estande, desenvolvimento das plantas, produção de sementes e persistência das forrageiras no campo. Além disso, a presença de patógenos nas sementes constitui entrave para sua exportação.

Apesar da importância das pastagens no agronegócio brasileiro, não existem muitas informações sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de plantas forrageiras comercializadas. Esta situação tem provocado problemas relacionados às causas diversas nas áreas de pastagens, levando a danos provocados pelo ataque direto dos patógenos às sementes, folhas, caules e raízes das plantas e/ou à perdas econômicas pelo fraco desenvolvimento das plantas ou necessidade de replantio em áreas recém instaladas.

Desta forma, esse trabalho objetivou analisar a sanidade, germinação e emergência de sementes de *Brachiaria* sp. cultivadas nas principais regiões produtoras do Brasil, determinando a etiologia dos fungos, além de seu transporte, transmissão e patogenicidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ORIGEM DAS SEMENTES E INCIDÊNCIA DE FUNGOS

As sementes comerciais de cultivares de *Brachiaria* sp. foram adquiridas junto a representantes agropecuários, cuja composição engloba diversas empresas e produtores de forrageiras das principais regiões geográficas do país. Foram obtidos um total de 31 lotes de sementes do gênero *Brachiaria* (BRQ 01 a BRQ 31) produzidos nas safras 2015/16 e 2016/17, descritos na tabela 1, classificados por lote, unidade federativa e cultivar.

Para a avaliação da incidência de fungos, foi utilizado o método *blotter test* (BRASIL, 2009a). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com 31 tratamentos (lotes de sementes) em quatro repetições. Foram utilizadas 200 sementes por tratamento, sem desinfestação prévia. As sementes foram alocadas em câmara de incubação sob condições de fotoperíodo de 12 h e temperatura de 25 ± 2 °C, durante sete dias. Após o período de incubação, realizou-se a análise morfológica dos fungos presentes nas sementes por meio de microscópio estereoscópico e ótico, visualizando as características morfológicas das estruturas fúngicas. A identificação a nível de gênero dos fungos foi realizada com base em literaturas especializadas como Ellis (1971), Barnett e Hunter (1998) e Watanabe (2010). A frequência e a incidência dos fungos foram classificadas como 0% a $\leq 20\%$ (baixa), $> 20\%$ a $\leq 50\%$ (moderada) e acima de 50% (alta), sendo estimadas conforme (LEVIĆ et al. 2011):

$$F(\%) = \frac{NLF}{NTL} \times 100$$

Onde: F(%) = Frequência; NLF = número de lotes de semente em que ocorreu um gênero fúngico; NTL = número total de lotes de semente.

$$I(\%) = \frac{NSF}{NTS} \times 100$$

Onde: I(%) = Incidência; NSF = número de sementes em que ocorreu um gênero fúngico; NTS = número total de sementes.

2.2 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS

O teste de germinação foi realizado concomitantemente ao teste de sanidade. A primeira avaliação foi realizada aos sete dias após incubação, e após 28 dias, foi realizada a contagem total da germinação, expressa em porcentagem (BRASIL, 2009b).

O teste de emergência foi realizado em DIC com 31 tratamentos (lotes), a partir da semeadura de 100 sementes, divididas em quatro repetições. A semeadura ocorreu em vasos com capacidade para 5 L, utilizando como substrato a mistura de areia e solo na proporção 1:1, ambos, previamente autoclavados. O material foi conservado em casa de vegetação, sendo mantida a umidade dos vasos de acordo com a capacidade de campo. Ao final de 28 dias após a semeadura (DAS) foi realizada a contagem de plântulas emergidas, expressa em porcentagem.

2.2 TRANSMISSÃO DE FUNGOS VIA SEMENTES PARA PLÂNTULAS

No teste de transmissão, utilizou-se um total de 100 sementes de cada lote (31 tratamentos) com incidência a partir de infecção natural de fungos. A semeadura ocorreu em vasos com capacidade para 5 L de substrato. O material foi conservado em casa de vegetação, sendo mantida a umidade dos vasos de acordo com a capacidade de campo. Ao final de 30 DAS foram realizadas as avaliações das plantas com sintomas de doenças e testes para a confirmação dos Postulados de Koch.

2.3 PATOGENICIDADE E DANOS ÀS PLANTAS

Para o teste de patogenicidade, foram cultivados em meio BDA isolados monospóricos de potenciais fungos fitopatogênicos e depois realizada a inoculação em plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, devido ser a mais cultivada no Brasil. Para a obtenção das plantas foi feita semeadura em vasos com capacidade de 15 L de substrato com densidade de semeadura de 11,12 kg/ha de sementes (VC 40%).

Aos 25 DAS, com auxílio de um borrifador manual, foram pulverizadas nas folhas das plantas suspensões com conídios na concentração de 1×10^6 conídios/ml dos fungos *Bipolaris* sp., *Chaetomium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Exserohilum* sp., *Myrothecium* sp. e *Phoma* sp. Para *Fusarium* sp., foram utilizados discos (0,5 cm) contendo micélio e conídios, introduzidos e fixados no colmo das plantas com auxílio de alfinete estéril. Plantas testemunhas foram borrifadas apenas com água destilada e esterilizada, mantendo-as sob mesma condição. Após a inoculação, as plantas permaneceram em câmara úmida escura por 36 h, em seguida, transferidas para estufa por 10 dias. Os tecidos com sintomas foram isolados em meio BDA, a fim de confirmar os Postulados de Koch (ALFENAS E MAFIA, 2007).

Para o estudo de danos, determinou-se após 15 dias da inoculação dos fungos, apenas para plantas com sintomas de doenças e testemunha, a massa seca (MS) e área foliar (AF) total das plantas, a partir da

adaptação do método dos discos foliares descrito por Hinnah et al. 2014. A massa da matéria seca total das folhas (g) foi determinada em balança analítica. A área foliar total das plantas (m²) foi estimada pela fórmula:

$$AF (m^2) = MF \times \frac{AD}{MD}$$

Onde: AF = Área foliar; MF = Massa fresca das folhas; AD = Área conhecida do disco; MD = Massa fresca do disco.

A identificação molecular dos fungos considerados fitopatogênicos foi realizada a partir da extração do DNA (DOYLE E DOYLE, 1987), submetidos à reação em cadeia pela polimerase (PCR), seguidos pelo sequenciamento (Sanger).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a realização da análise de variância, foi feita comparação das médias para incidência fúngica, germinação, emergência, massa seca total e área foliar total pelo teste Scott-Knott, 5% de probabilidade, utilizando o *software* SISVAR (FERREIRA, 2014). Também foi realizada análise de componentes principais utilizando os dados a nível de espécies de *Brachiaria*, conforme Hair et al. (2009), com auxílio do *software* R[®] versão 3.5 (R CORE TEAM, 2013).

3. RESULTADOS

3.1 ANÁLISE SANITÁRIA DE FUNGOS EM CULTIVARES FORRAGEIRAS

A análise sanitária dos 31 lotes de *Brachiaria* sp., permitiu a identificação de 17 gêneros fúngicos associados às sementes, detectados em 10 cultivares distintos, provenientes de cinco estados brasileiros. A figura 1, apresenta a incidência média dos gêneros fúngicos nos lotes de sementes, de acordo com a região onde foram produzidas. Exceto, para o gênero *Colletotrichum*, que foi detectado em cinco lotes de sementes, porém, estes não tiveram sua origem geográfica informada.

Neste estudo (Figura 1), para a região Nordeste do Brasil, representado pelo Estado da Bahia, foi detectado a presença de 13 gêneros fúngicos, observados em dois lotes de sementes, com incidência entre 0,25% e 16%, classificada como baixa, à exceção de *Phoma* sp. que apresentou incidência moderada (44,5%). Na região Centro-Oeste, composta pelos estados de Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul foram encontrados até 15 gêneros fúngicos presentes nos lotes de sementes. Ressaltando a incidência moderada de fungos comumente relacionados a manchas foliares em gramíneas, como *Bipolaris*, *Phoma* e *Curvularia*. Para a região Sudeste, caracterizada pelo Estado de São Paulo, foram identificados 14 gêneros fúngicos associados as sementes de *Brachiaria*, destacando a incidência moderada, variando entre 21,38 e 39,38%, de fungos como *Bipolaris*, *Curvularia*, *Phoma* e *Rhizopus*.

(Conclusão)

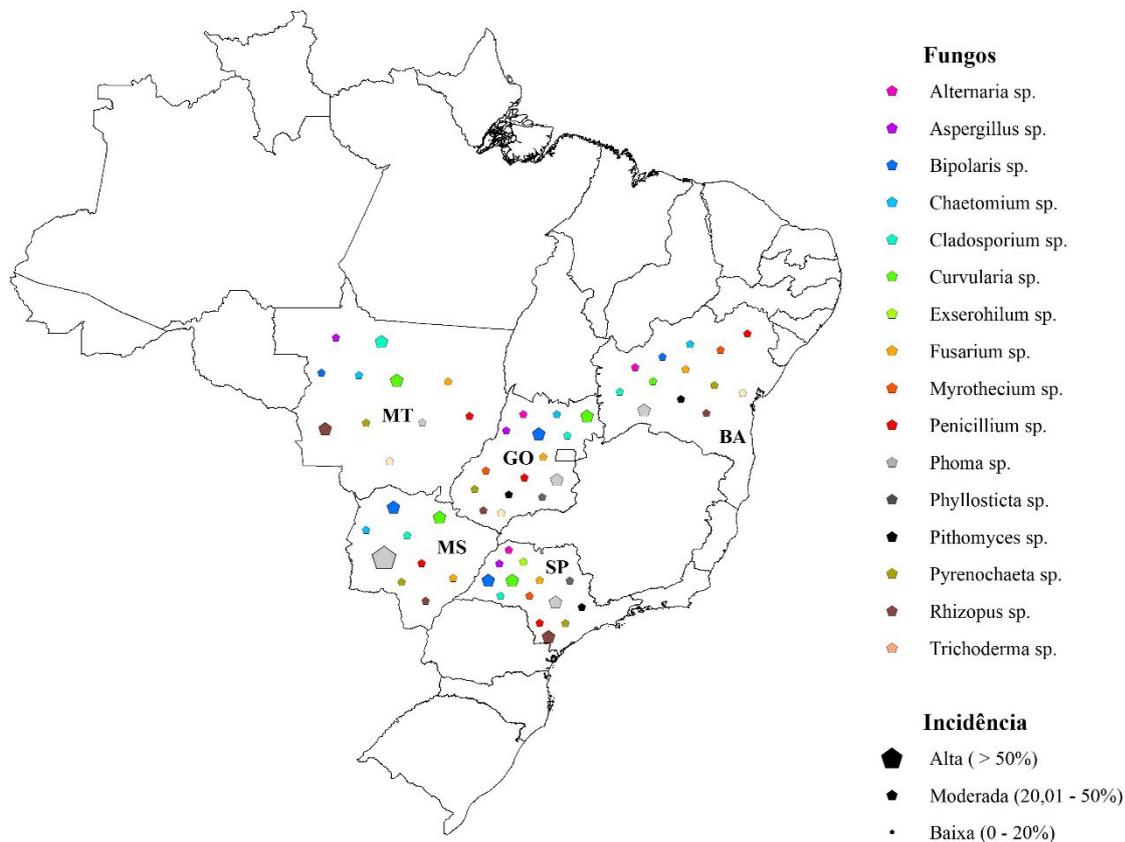


Figura 1. Distribuição geográfica por estado dos gêneros fúngicos associados a sementes de *Brachiaria* sp. produzidas nas safras 2015/16 e 2016/2017

Na tabela 1, é possível observar a incidência fúngica detalhada para cada lote de semente de *Brachiaria* sp., de acordo com estado provedor e cultivar. Nota-se uma frequência alta nos lotes de sementes para os gêneros *Bipolaris* (90,3%), *Cladosporium* (96,8%), *Curvularia* (96,8%), *Fusarium* (96,8%), *Penicillium* (96,8%), *Pyrenochaeta* (58,1%) e *Rhizopus* (96,5%). Deve-se evidenciar a alta frequência (100% dos lotes) de *Phoma* sp. Os gêneros *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Myrothecium*, *Phyllosticta*, *Pithomyces* e *Trichoderma* tiveram frequência moderada (22,6% a 48,4%). Os demais gêneros fúngicos, *Alternaria*, *Colletotrichum* e *Exserohilum*, apresentaram frequência baixa nos lotes de sementes, entre 12,9% a 16,1%.

Na análise geral, a incidência total de fungos por lote de sementes, apresentou incidência alta em 13 lotes, variando de 51,7% a 91,3%, sendo que a maioria deles (7), são da cultivar Marandu. Os demais lotes (18), apresentaram incidência moderada, entre 26,2% e 45,8%, sem a predominância de uma cultivar (Tabela 1).

Ao analisar os lotes BRQ 20 e BRQ 26, sendo *B. decumbens* cv. Basilisk (Tabela 1), houve maior incidência de *Phoma* e *Bipolaris*. Observou-se diferença para *Bipolaris* sp., com maior incidência nas sementes de BRQ 20 (31% - moderada). Comparados quanto à presença de *Phoma* sp., o lote BRQ 26 apresentou maior incidência significativa (53% - alta).

Tabela 1. Descrição da incidência fúngica (%) em sementes de *Brachiaria* sp., arrançadas por cultivar, unidade federativa (UF) e lote

Cultivar	UF	Lote	INC Total	ALT	ASP	BIP	CHA	CLA	COL	CUR	EXS	FUS	MYR	PEN	PHO	PHY	PIT	PYR	RHI	TRI
Basilisk	GO	BRQ 20	33,5 e	0,0 c	0,0 b	31,0 c	0,0 e	3,0 e	0,0 c	11,5 f	0,0 c	4,0 c	0,0 c	0,5 e	26,5 d	0,0 b	0,0 d	9,5 b	0,0 f	1,0 c
	-	BRQ 26	36,7 e	0,0 c	0,0 b	22,0 d	0,0 e	2,5 e	0,0 c	11,5 f	0,0 c	1,5 c	0,5 c	2,0 e	53,0 a	0,0 b	1,5 c	0,0 d	0,5 f	0,5 c
Humidicola	MT	BRQ 02	54,8 c	0,0 c	0,5 b	0,0 f	1,0 e	4,5 e	0,0 c	45,5 c	0,0 c	0,0 c	0,0 c	18,5 c	2,5 f	0,0 b	0,0 d	0,0 d	67,5 b	2,5 b
	GO	BRQ 09	51,7 c	0,0 c	0,5 b	0,0 f	2,0 e	10,0 d	0,0 c	14,5 f	0,0 c	10,0 b	0,0 c	46,5 a	9,5 f	0,0 b	1,5 c	3,5 c	36,5 d	0,0 c
	GO	BRQ 11	43,5 d	0,0 c	0,5 b	8,0 f	2,5 d	18,5 b	0,0 c	15,0 f	0,0 c	16,0 a	0,0 c	4,0 e	27,5 d	1,5 a	3,0 c	11,5 b	3,5 f	1,5 c
	GO	BRQ 19	61,5 c	0,0 c	0,5 b	0,0 f	0,0 e	20,0 b	0,0 c	3,5 g	0,0 c	5,5 c	0,0 c	31,5 b	1,0 f	0,0 b	0,0 d	0,0 d	98,0 a	0,0 c
	-	BRQ 28	42,7 d	0,0 c	0,0 b	4,5 f	0,0 e	16,0 c	1,0 c	26,0 d	0,0 c	11,0 b	0,0 c	9,5 d	14,0 e	0,0 b	0,0 d	0,0 d	29,0 d	0,0 c
Ipyporã	-	BRQ 23	60,4 c	1,5 b	0,0 b	36,0 c	0,0 e	21,5 b	3,5 a	23,0 e	3,5 a	4,5 c	2,5 b	2,0 e	23,5 e	2,0 a	0,5 d	1,5 d	31,5 d	0,0 c
Llanero	GO	BRQ 05	40,2 d	0,0 c	0,5 b	2,0 f	4,5 c	12,0 d	0,0 c	20,5 e	0,0 c	1,0 c	0,5 c	25,5 c	5,5 f	0,0 b	0,5 d	5,0 c	27,0 d	0,0 c
	SP	BRQ 12	45,8 d	0,0 c	0,0 b	11,0 e	0,0 e	15,5 c	0,0 c	37,0 d	0,0 c	4,0 c	0,0 c	1,5 e	48,5 b	0,0 b	0,0 d	0,0 d	1,5 f	0,0 c
	-	BRQ 29	35,6 e	0,0 c	0,0 b	5,5 f	0,0 e	1,5 e	0,0 c	25,5 d	0,0 c	20,0 a	0,5 c	3,0 e	35,0 c	0,0 b	0,0 d	0,5 d	0,5 f	0,5 c
Marandu	MT	BRQ 01	57,3 c	0,0 c	4,5 a	17,5 d	8,5 b	43,0 a	0,0 c	10,0 f	0,0 c	2,5 c	0,0 c	20,0 c	20,0 e	0,0 b	0,0 d	3,5 c	14,5 e	5,0 a
	GO	BRQ 03	57,7 c	0,0 c	1,5 b	29,5 c	4,5 c	3,0 e	0,0 c	31,5 d	0,0 c	4,0 c	1,0 c	24,0 c	16,0 e	0,0 b	0,0 d	0,0 d	35,0 d	0,0 c
	GO	BRQ 04	58,1 c	0,0 c	0,0 b	41,5 b	1,0 e	1,0 e	0,0 c	60,5 b	0,0 c	2,0 c	1,5 b	2,0 e	36,0 c	0,0 b	3,5 c	1,0 d	1,0 f	0,0 c
	GO	BRQ 06	39,2 d	0,0 c	3,0 a	0,5 f	16,0 a	20,5 b	0,0 c	4,5 g	0,0 c	5,5 c	1,5 b	3,0 e	18,0 e	0,0 b	1,0 d	23,0 a	3,0 f	0,0 c
	GO	BRQ 07	71,9 b	0,0 c	0,5 b	56,5 a	1,0 e	1,0 e	0,0 c	57,5 b	0,0 c	7,5 c	4,5 a	2,5 e	38,0 c	0,0 b	9,0 b	5,5 c	3,5 f	0,0 c
	GO	BRQ 08	60,6 c	0,5 c	0,5 b	31,0 c	1,0 e	13,0 c	0,0 c	22,0 e	0,0 c	12,0 b	0,5 c	11,5 d	26,5 d	0,0 b	0,5 d	3,0 c	35,5 d	0,0 c
	SP	BRQ 10	74,2 b	0,0 c	0,5 b	41,5 b	0,0 e	14,5 c	0,0 c	12,5 f	0,0 c	16,5 a	0,5 c	38,5 b	10,0 f	1,5 a	3,0 c	7,5 c	46,5 c	0,0 c
	GO	BRQ 15	40,8 d	0,0 c	0,0 b	23,0 d	0,0 e	3,5 e	0,0 c	27,0 d	0,0 c	6,5 c	0,0 c	6,5 e	35,0 c	0,0 b	0,0 d	1,0 d	3,5 f	0,0 c
	MS	BRQ 21	55,2 c	0,0 c	0,0 b	20,5 d	5,5 c	8,5 d	0,0 c	29,0 d	0,0 c	6,0 c	0,0 c	2,0 e	56,0 a	0,0 b	0,0 d	15,5 b	0,5 f	0,0 c
	-	BRQ 30	38,7 d	0,5 c	0,0 b	26,5 c	0,0 e	4,5 e	2,5 b	12,0 f	2,0 b	12,0 b	2,5 b	2,5 e	28,5 d	0,0 b	0,5 d	0,0 d	6,0 f	0,5 c
Paiaguás	GO	BRQ 17	44,8 d	0,0 c	0,0 b	32,5 c	0,0 e	3,0 e	0,0 c	18,0 e	0,0 c	11,5 b	0,0 c	1,5 e	43,5 b	0,5 b	0,0 d	4,5 c	1,5 f	0,0 c
	-	BRQ 24	42,9 d	0,0 c	0,0 b	33,0 c	0,0 e	11,0 d	0,0 c	19,5 e	0,0 c	14,0 a	0,0 c	4,0 e	9,5 f	0,5 b	0,0 d	2,0 d	17,0 e	1,0 c
Piatã	GO	BRQ 18	38,7 d	0,0 c	0,0 b	16,0 e	0,0 e	1,0 e	0,0 c	28,5 d	0,0 c	4,0 c	0,5 c	1,5 e	48,5 b	0,0 b	0,0 d	0,0 d	0,5 f	0,0 c
	-	BRQ 31	39,8 d	0,0 c	0,0 b	49,5 a	1,5 e	0,0 e	2,0 b	5,5 g	0,0 c	9,5 b	1,0 c	1,5 e	30,5 d	0,0 b	0,5 d	0,0 d	2,0 f	0,0 c
Ruziziensis	BA	BRQ 13	31,9 e	0,0 c	0,0 b	12,0 e	0,5 e	7,5 d	0,0 c	0,0 g	0,0 c	4,0 c	0,0 c	1,0 e	42,0 b	0,0 b	0,0 d	3,5 c	12,5 e	0,0 c
	-	BRQ 27	52,5 c	0,0 c	0,0 b	6,5 f	0,0 e	4,5 e	0,0 c	4,0 g	0,5 c	1,5 c	0,0 c	17,5 c	3,0 f	0,0 b	0,0 d	0,0 d	99,0 a	0,0 c
Tupi	SP	BRQ 14	91,3 a	3,0 a	0,0 b	50,5 a	0,0 e	6,0 d	0,0 c	87,0 a	0,5 c	9,5 b	0,0 c	2,5 e	41,0 b	0,0 b	0,0 d	0,0 d	37,5 d	0,0 c
Xaraés	SP	BRQ 16	42,5 d	0,0 c	0,0 b	13,5 e	0,0 e	8,5 d	0,0 c	13,0 f	0,0 c	3,0 c	0,0 c	1,0 e	58,0 a	0,5 b	0,0 d	13,0 b	0,0 f	0,0 c
	BA	BRQ 22	41,7 d	2,0 b	0,0 b	20,0 d	3,0 d	4,5 e	0,0 c	6,5 g	0,0 c	5,0 c	1,0 c	0,0 e	47,0 b	0,0 b	14,0 a	0,0 d	5,0 f	0,5 c
	-	BRQ 25	26,2 e	0,0 c	0,0 b	9,5 f	0,0 e	6,0 d	1,5 b	6,0 g	0,0 c	9,0 b	1,5 b	14,0 d	5,0 f	0,5 b	0,0 d	0,0 d	15,0 e	0,0 c
Frequência de fungos nos lotes de sementes (%)				16,1	35,5	90,3	45,20	96,8	16,1	96,8	12,9	96,8	48,4	96,8	100,0	22,6	41,9	58,1	96,5	29,0

Legenda: INC: Incidência total de fungos em relação ao lote de semente; ALT: *Alternaria* sp.; ASP: *Aspergillus* sp.; BIP: *Bipolaris* sp.; CHA: *Chaetomium* sp.; CLA: *Cladosporium* sp.; COL: *Colletotrichum* sp.; CUR: *Curvularia* sp.; EXS: *Exserohilum* sp.; FUS: *Fusarium* sp.; MYR: *Myrothecium* sp.; PEN: *Penicillium* sp.; PHO: *Phoma* sp.; PHY: *Phyllosticta* sp.; PIT: *Pithomyces* sp.; PYR: *Pyrenochaeta* sp.; RHI: *Rhizopus* sp.; TRI: *Trichoderma* sp.; (-) Não informado. Médias seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Para as sementes de *B. humidicola* cv. Humidicola, houve efeito significativo para a incidência fúngica total entre os lotes, sendo BRQ 11 e BRQ 28, com incidência moderada (42,7% a 43,5%) e BRQ 02, BRQ 09 e BRQ 19, com incidência alta (51,7% a 61,5%). O gênero *Curvularia*, de um modo geral, teve baixa incidência nas sementes dos lotes produzidos em Goiás, sendo BRQ19 (3,5%), BRQ 09 (14,5%) e BRQ 11 (15,0%). Porém, nos lotes BRQ 02 (Mato Grosso) e BRQ 28 (local não informado), foram observados incidência moderada, com maior destaque para BRQ 02, com 45,5% de incidência de *Curvularia* sp. (Tabela 1).

Para os gêneros fúngicos, normalmente considerados contaminantes ou de armazenamento, *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. tiveram incidência baixa na maioria dos lotes, exceto BRQ 02, que teve 67,5% (alta) de incidência para o gênero *Rhizopus*. Já nos lotes BRQ 09 e BRQ 19, houve incidência moderada a alta de *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., atingindo 98,0% de incidência de *Rhizopus* nas sementes do lote BRQ 19. *Colletotrichum* sp. foi observado apenas em 1,0% das sementes do lote BRQ 28, classificado mesmo assim, em incidência baixa.

O lote *B. brizantha* cv. BRS RB331 Ipyporã (BRQ 23), proveniente de local de produção não informado, teve incidência total alta de 60,4% de fungos nas sementes. Neste lote foi observado a presença dos gêneros *Bipolaris* (36,0%), *Cladosporium* (21,5%), *Curvularia* (23,0%), *Phoma* (23,5%) e *Rhizopus* (31,5%), todos com incidência moderada (Tabela 1).

Para *B. humidicola* cv. Llanero, os lotes provenientes dos estados de Goiás (BRQ 05) e São Paulo (BRQ 12), apresentaram incidência total estatisticamente iguais e o lote BRQ 29, apresentou incidência mais baixa estatisticamente, porém, os três lotes avaliados foram classificados com incidência moderada (35,6% a 45,8%). Fungos dos gêneros *Curvularia* e *Phoma*, apareceram com incidência moderada (Tabela 1).

A cultivar *B. brizantha* cv. Marandu teve sementes provenientes dos estados de Mato Grosso, Goiás, São Paulo e Mato Grosso do Sul. Dos lotes avaliados, BRQ 07 (71,9% - alta) e BRQ 10 (74,2% - alta), apresentaram, estatisticamente, as maiores incidências de fungos associados às sementes de capim Marandu, produzidas em estados distintos, Goiás e São Paulo, respectivamente. Nos lotes BRQ 01, BRQ 03, BRQ 04, BRQ 08 e BRQ 21, foram observadas incidência alta de fungos (55,2% a 60,6%), embora, estatisticamente, tenha sido menor se comparado aos lotes BRQ 07 e BRQ 10. Dentre os fungos encontrados nas sementes houve maior incidência de *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp., *Phoma* sp. e *Rhizopus* sp., apesar de uma distribuição desuniforme dos gêneros fúngicos em cada lote. Fungos importantes, pelo seu potencial fitopatogênico às culturas agrícolas, como *Colletotrichum* sp. (2,5%) e *Exserohilum* sp. (2,0%), foram observados em incidência baixa apenas no lote BRQ 30, proveniente de local não informado (Tabela 1).

Para sementes de *B. brizantha* cv. BRS Paiaguás, com lotes adquiridos no estado do Goiás (BRQ 17) e outro lote de local não informado (BRQ 24), ambos, apresentaram incidência fúngica total estatisticamente iguais, classificados com incidência moderada. Foram observadas incidência moderada para o fungo *Bipolaris* sp. Destaca-se a incidência moderada (43,5%) de *Phoma* sp. apenas para o lote BRQ 17, produzido no estado de Goiás (Tabela 1).

Outra cultivar de braquiária comumente conhecida é a *B. brizantha* cv. BRS Piatã, onde obteve-se dois lotes de sementes, provindos do estado do Goiás (BRQ 18) e de local não informado (BRQ 31). A incidência fúngica total foi considerada moderada, sem efeito significativo entre os lotes. O lote BRQ 31, teve destaque para a incidência de *Bipolaris* sp. (49,5%) e *Phoma* sp. (30,5%), com incidência moderada. No lote BRQ 18 foi observada incidência moderada apenas para os gêneros *Curvularia* e *Phoma*, com 28,5% e 48,5%, respectivamente (Tabela 1).

Os lotes de *B. ruziziensis* cv. Ruziziensis foram provenientes da Bahia (BRQ 13) e o segundo de um local não informado (BRQ 27). O BRQ 27 apresentou maior incidência fúngica associada as sementes

(52,5% - alta), com efeito significativo comparado ao primeiro lote que apresentou incidência moderada de 31,9%. O destaque para o lote BRQ 27 está relacionado a presença de *Rhizopus* sp. nas sementes, com 99,0% de incidência, considerada alta. Para o lote BRQ 13, houve incidência moderada do gênero *Phoma*, com 42,0% de incidência nas sementes (Tabela 1).

A *B. humidicola* cv. BRS Tupi foi analisada em apenas um lote (BRQ 14), proveniente do estado de São Paulo, com incidência total de fungos alta (91,3%). Este lote foi o que apresentou maior incidência de fungos comparados, estatisticamente, aos outros 30 lotes de sementes de *Brachiaria* adquiridos pelas revendas. Deve-se destacar a alta incidência de *Bipolaris* sp. (50,5%) e *Curvularia* sp. (87,0%) e incidência moderada de *Phoma* sp. (41,0%) e *Rhizopus* sp. (37,5%) nas sementes do capim Tupi (Tabela 1).

A última cultivar analisada foi *B. brizantha* cv. Xaraés, com três lotes de sementes, sendo um proveniente de São Paulo (BRQ 16), um do estado da Bahia (BRQ 22) e por último, um lote (BRQ 25) com local de procedência não informado. Entre os fungos identificados na cultivar Xaraés, destaca-se a incidência de *Phoma* sp., com incidência alta em BRQ 16 (58,0%), moderada em BRQ 22 (47,0%) e baixa em BRQ 25 (5,0%). Apenas no lote BRQ 22, produzido no estado da Bahia, foi observado a presença de *Pithomyces* sp., em incidência baixa (14,0%) (Tabela 1).

A figura 2, demonstra os valores médios de germinação, emergência e incidência de fungos associados a sementes de *Brachiaria*. De um modo geral, sementes com alta incidência fúngica, tendem a apresentar menores taxas de germinação e emergência, como pode ser observado na figura a partir do lote BRQ 27. Nota-se que sementes de uma mesma cultivar/genética, pode apresentar variações nas taxas de germinação e incidência de fungos. A exemplo do que houve nos lotes BRQ 30 e BRQ 07, de capim Marandu, quando o primeiro teve germinação acima de 50% enquanto o segundo lote (BRQ 07), praticamente não germinou, quando quase dobrou a incidência de fungos (Figura 2A).

Para espécies de *B. brizantha*, que correspondeu a 58% dos lotes obtidos, 11 lotes apresentaram germinação abaixo do padrão mínimo estabelecido pela legislação brasileira ($> 60\%$), condizendo com os lotes BRQ 30, BRQ 22 e BRQ 25, que apresentaram germinação média (46,1%). Nos lotes BRQ 23, BRQ 08, BRQ 06, BRQ 10, BRQ 01, BRQ 03, BRQ 07 e BRQ 04, foi observado baixa germinação ($\leq 29\%$) e incidência fúngica moderada a alta ($> 39,2\%$). Os demais lotes, BRQ 15, BRQ 16, BRQ 17, BRQ 18, BRQ 21, BRQ 24 e BRQ 31, apresentaram germinação dentro dos padrões de comercialização ($> 60\%$), embora a incidência fúngica tenha seguido entre moderada a alta nas sementes (38,7% a 55,2%) (Figura 2A).

A espécie *B. decumbens* cv. Basilisk, representada pelos lotes BRQ 20 e BRQ 26, apesar de apresentarem incidência relevante de algumas espécies de fungos (33,5% e 36,7%), mostraram-se com alto potencial germinativo, ou mais resistentes ao ataque de fungos, estando dentro dos padrões de comercialização para a espécie ($> 60\%$) (Figura 2A).

Em todos os lotes de *B. humidicola*, foram observados padrões de germinação abaixo do estipulado pela legislação brasileira ($> 40\%$). Os lotes BRQ 12, BRQ 11, BRQ 19, BRQ 29, BRQ 28, BRQ 14, BRQ 02, BRQ 05 e BRQ 09, apresentaram apenas 0,50% a 16,00% de germinação, sendo que os dois últimos, não germinaram. A incidência fúngica desses lotes com problemas na germinação foi moderada a alta, variando entre 35,6% até 91,3%, tendo grande influência sobre a qualidade das sementes (Figura 2A).

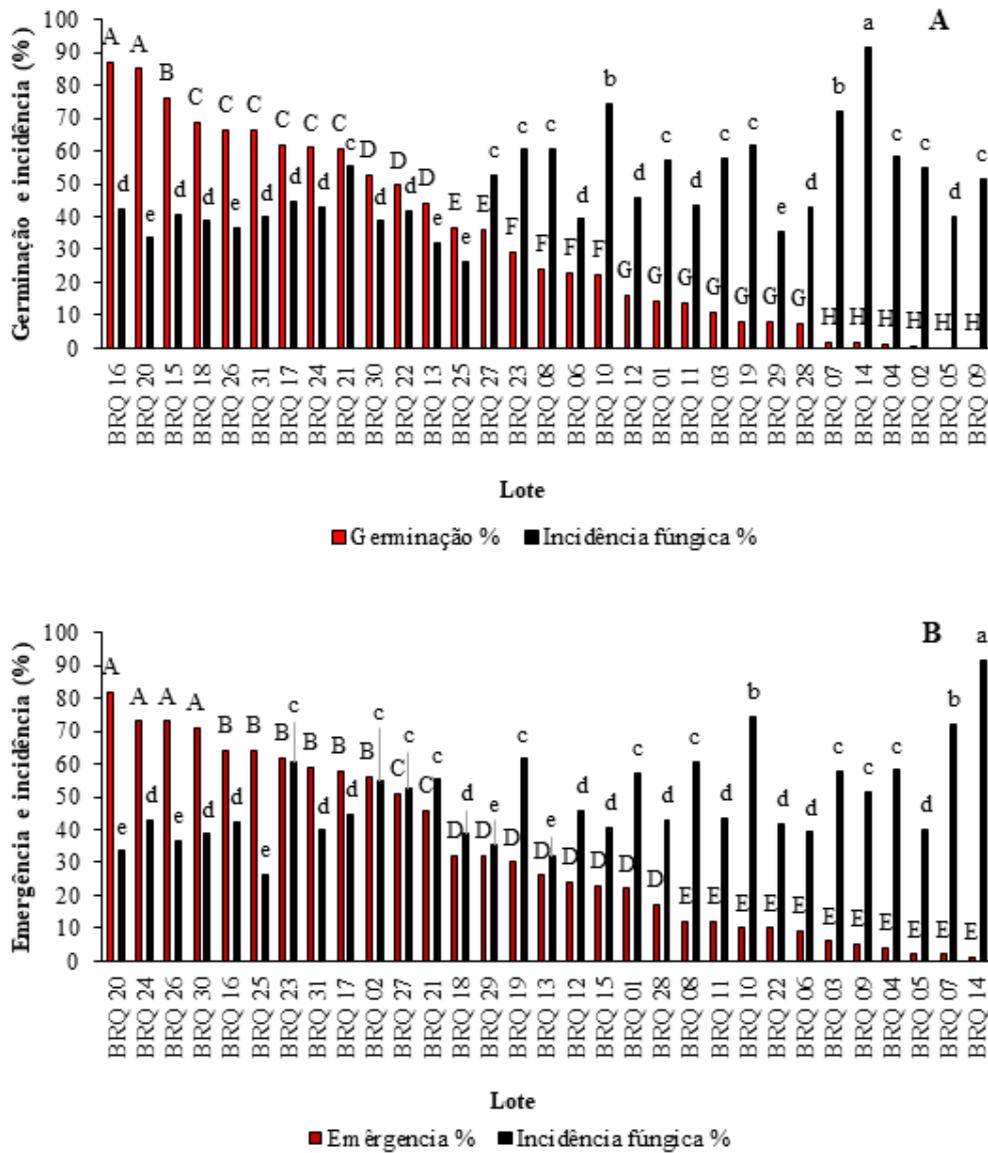


Figura 2. (A) Germinação e incidência fúngica em lotes de sementes de *Brachiaria* sp.; (B) Emergência e incidência fúngica em lotes de sementes de *Brachiaria* sp.

Médias seguidas por mesma letra, maiúscula para germinação ou emergência e minúscula para incidência, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os dois lotes de *B. ruziziensis*, sendo BRQ 13 e BRQ 27, apresentaram taxas de germinação, também, abaixo do estabelecido para comercialização (> 60%), entretanto, tiveram comportamento diferente um do outro. O BRQ 13, resultou em 44,0% das sementes germinadas e incidência fúngica moderada de 31,9%. Já o lote BRQ 27, teve uma influência maior de fungos, com incidência alta de 52,5%, o que pode ter resultado em uma taxa de germinação de apenas 36% (Figura 2A).

Em relação à emergência dos lotes de *Brachiaria* sp., estes seguiram a mesma tendência de germinação, ou seja, com o aumento da incidência fúngica nas sementes, a emergência também foi menor (Figura 2B). Verificou-se que a partir do lote BRQ 27, a incidência de fungos passou a ser sempre maior que a taxa de emergência, ou seja, em 71% dos lotes, incluindo BRQ 23. Para estes lotes, a emergência de plântulas foi inferior à 50%. Em termos práticos, o produtor teria que aumentar a quantidade de sementes durante o semeio ou fazer o replantio para a formação de número de plantas ideal na pastagem.

Ao analisar a relação entre microrganismo e semente, deve-se principalmente, estabelecer índices de tolerância, onde a presença de um determinado fungo ou conjunto de gêneros fúngicos (condição sanitária), não interfira nos processos de desenvolvimento fisiológico da semente.

Com isso, a análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para descrever padrões ocultos que a ANOVA não consegue prever. Nota-se que, os dois primeiros componentes (PC1 com 51% e PC2 com 32,5%) foram responsáveis por 83,5% da variação total da incidência fúngica, germinação e emergência para as quatro espécies de *Brachiaria* (Figura 3). O que torna evidente a qualidade da análise, com percentual mínimo de 80% da variação total.

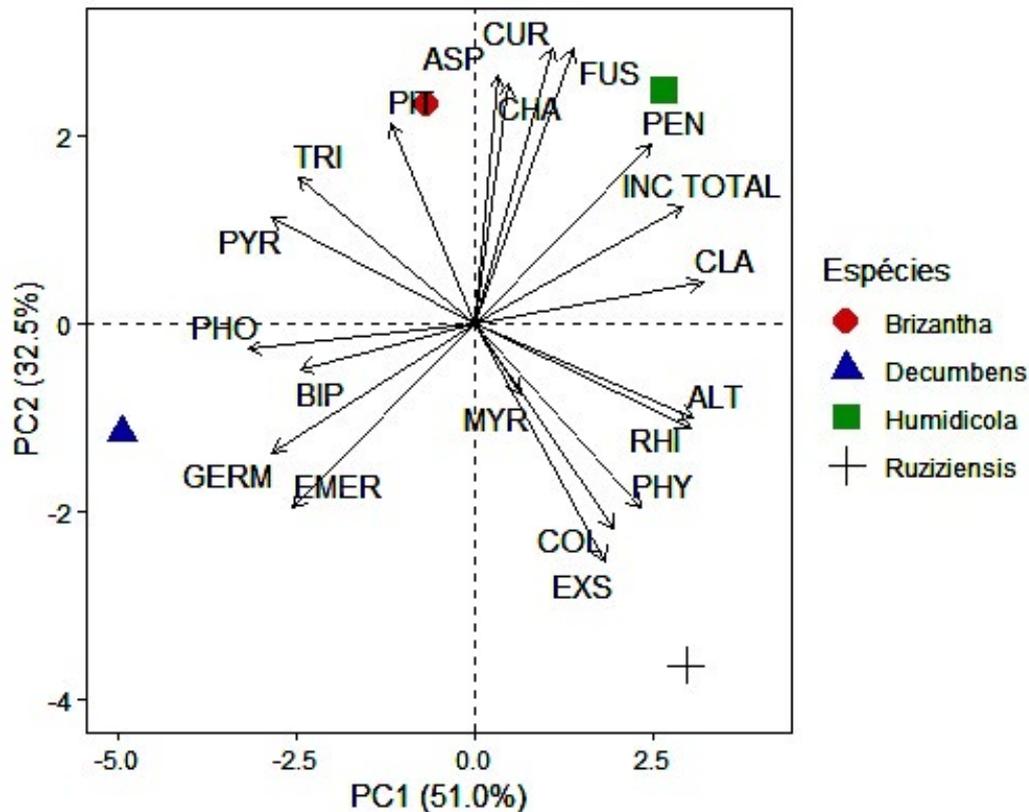


Figura 3. Correlação da incidência fúngica, germinação e emergência das espécies de *Brachiaria* para os dois primeiros componentes principais

Legenda: PC1: primeiro componente; PC2: segundo componente; PYR: *Pyrenochaeta* sp.; TRI: *Trichoderma* sp.; PIT: *Pitheomyces* sp.; ASP: *Aspergillus* sp.; CHA: *Chaetomium* sp.; CUR: *Curvularia* sp.; FUS: *Fusarium* sp.; PEN: *Penicillium* sp.; INC TOTAL: Incidência fúngica total para todos os lotes; CLA: *Cladosporium* sp.; ALT: *Alternaria* sp.; RHI: *Rhizopus* sp.; PHY: *Phyllosticta* sp.; COL: *Colletotrichum* sp.; EXS: *Exserohilum* sp.; MYR: *Myrothecium* sp.; EMER: Emergência de plântulas; GERM: Germinação de sementes; BIP: *Bipolaris* sp.; PHO: *Phoma* sp.

Verifica-se que a distribuição de alguns gêneros de fungos ocorreu inversamente à germinação das sementes e emergência de plântulas (Figura 3), ou seja, variáveis positivamente correlacionadas são agrupadas e negativamente correlacionadas são posicionadas em lados opostos da origem do gráfico (quadrantes opostos). Desta forma, infere-se que o aumento da incidência dos gêneros *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Cladosporium*, possivelmente, provocaram maior redução na germinação e emergência (quadrantes opostos) entre as espécies de *Brachiaria*. A maioria destes fungos citados, exceto algumas espécies de *Fusarium* e *Curvularia*, são considerados de armazenamento, porém, podem comprometer significativamente a qualidade fisiológica de sementes, causando podridão dos tecidos.

A análise também demonstra que fungos fitopatogênicos como *Bipolaris* sp. e *Phoma* sp., não afetam a germinação das sementes, porém, estão presentes nas plântulas emergidas. Sabe-se que com o

desenvolvimento das plantas, poderão causar a morte e serem transmitidos via plantas-sementes, afetando diretamente a qualidade e vigor das mesmas, além de inviabilizar todo o sistema produtivo.

Quanto as espécies de forrageiras, *B. humidicola* se mostrou mais sensível à incidência de fungos, tendo maior redução da qualidade fisiológica das sementes, com correlações positivas para os gêneros *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Cladosporium*. Já a *B. decumbens* se mostrou mais tolerante à associação de fungos em sementes, demonstrando assim, boa germinação e emergência (Figura 3). Fungos do gênero *Pyrenochaeta*, *Trichoderma* e *Pithomyces* tiveram maior correlação positiva com sementes da espécie de *B. brizantha*. Sementes da espécie *B. ruziziensis* tiveram maior correlação com os gêneros *Alternaria*, *Rhizopus*, *Phyllosticta*, *Colletotrichum*, *Exserohilum* e *Myrothecium*. Por fim, fungos considerados como importantes patógenos de gramíneas, *Phoma* sp. e *Bipolaris* sp., tiveram maior correlação com sementes da espécie de *B. decumbens*.

3.2 ETIOLOGIA, PATOGENICIDADE E TRANSMISSÃO DE FUNGOS ASSOCIADOS ÀS SEMENTES E DANOS ÀS PLANTAS

Após análise molecular, os agentes etiológicos das doenças foram relacionados aos seguintes fitopatógenos: *Bipolaris sorokiniana* (MT588115), *Curvularia lunata* (MT586110) e *Exserohilum rostratum* (MT755902), com seus respectivos fragmentos depositados no GenBank.

A partir da inoculação de *B. sorokiniana* no capim Marandu, foi visível o surgimento de pequenas lesões, inicialmente elípticas, tornando-se alongadas e necróticas, de coloração cinza a pardo com halo escuro, que mais tarde coalesceram. *C. lunata* também é um patógeno comumente associado a gramíneas. Este fungo após a inoculação nas folhas causou pequenas manchas necróticas ligeiramente ovaladas de bordos avermelhados e centro pardo-claro. *E. rostratum*, após a inoculação, foi o fungo que mais provocou lesões em folhas de *B. brizantha* cv. Marandu, com manchas foliares, inicialmente, pequenas com formato elíptico, de cor parda avermelhada e posteriormente, aumentaram e coalesceram, ocupando toda a área foliar, matando o tecido. Plantas utilizadas como controle, não apresentaram sintomas de doenças (Tabela 2).

Tabela 2. Patogenicidade de fungos à *Brachiaria brizantha* cv. Marandu

Fungo	Patogenicidade
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	+
<i>Curvularia lunata</i>	+
<i>Exserohilum rostratum</i>	+
Controle	-

(+) Fungo fitopatogênico; (-) Fungo não fitopatogênico.

Quanto aos danos às plantas, sabe-se que para muitas culturas agrícolas, o impacto da ação das doenças na parte aérea, ocasionado pela ação de fungos fitopatogênicos, tem resultado direto na área fotossintética do vegetal e redução de massa seca foliar, juntamente com perda de área foliar. Entretanto, conforme observado na figura 4, aos 15 dias após a inoculação dos fitopatógenos, não houve efeito significativo na produção de massa seca total final para plantas com sintomas de doenças comparadas com plantas utilizadas como controle.

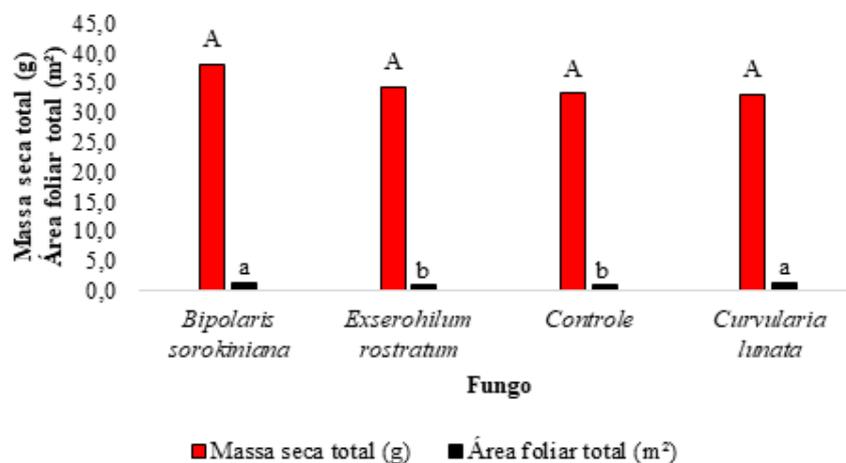


Figura 4. Massa seca e área foliar total de plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, 15 dias após inoculação de fungos fitopatogênicos

Médias seguidas por mesma letra, maiúscula para massa seca total e minúscula para área foliar total, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade

Em plantas de *B. brizantha* cv. Marandu, inoculadas com *B. sorokiniana*, *E. rostratum* e *C. lunata*, foram observados valores de massa seca semelhantes às plantas utilizadas como controle (CV 11,01%), provavelmente, devido a capacidade de rebrota destas culturas forrageiras. Para resultados de área foliar, plantas com sintomas de doenças causadas por *B. sorokiniana* e *C. lunata* apresentaram área foliar maior que plantas inoculadas com *E. rostratum* (CV 7,46%).

Com relação à transmissão de patógenos via semente-plântula, lesões características de fungos que incidem comumente em espécies gramíneas, foram diagnosticadas nas cultivares de *Brachiaria* spp. (Tabela 3).

Tabela 3. Transmissão de fungos via semente-planta por lote de sementes de *Brachiaria* sp.

Cultivar	Fungo transmitido por lote de semente		
	<i>Bipolaris</i> sp.	<i>Curvularia</i> sp.	<i>Phoma</i> sp.
Marandu	BRQ 21; BRQ 30	BRQ 21; BRQ 30	-
Xaraés	BRQ 22	BRQ 16; BRQ 22	BRQ 16
Humidicola	-	BRQ 11	-

Após a semeadura dos lotes de BRQ 21, BRQ 22 e BRQ 30, identificados como *B. brizantha*, cultivares Marandu e Xaraés, evidenciou-se a capacidade na transmissão de *Bipolaris* sp. Sementes de *B. brizantha*, cultivares Xaraés e Marandu, e *B. humidicola* cv. Humidicola, transmitiram *Curvularia* sp. para suas plantas, correspondendo aos lotes BRQ 11, BRQ 16, BRQ 21, BRQ 22 e BRQ 30. Com relação ao gênero *Phoma*, foi verificada a sua transmissão via semente-planta no lote BRQ 16 (*B. brizantha* cv. Xaraés), apresentando aspecto coalescente nas folhas, evoluindo para necrose. Para todas as confirmações de transmissão destes fungos via semente-planta, a etiologia foi confirmada após o reisolamento das lesões foliares e cumprimento dos Postulados de Koch.

4. DISCUSSÃO

A distribuição dos gêneros fúngicos incidentes nas sementes de *Brachiaria* sp. foi elevada e proporcional em todos os estados (média de 13 gêneros), considerando a diferença do número de lotes adquiridos em cada região.

No presente trabalho, os fungos *Cladosporium* sp., *Bipolaris* sp. e *Phoma* sp., ocorreram em incidência moderada a alta em grande parte dos lotes, sobretudo na cultivar Marandu, demonstrando que estas duas cultivares, Marandu e Humidicola, tem grande potencial no transporte de fungos patogênicos e saprófitas através das sementes. Witt et al. (2015), também identificaram que estes gêneros tiveram maior incidência nas sementes de *B. brizantha* cv. Marandu e *B. humidicola* cv. Humidicola. Em outro trabalho realizado por Martins et al. (2017), analisando sementes de *B. brizantha*, cultivares Marandu e Xaraés, também identificaram a incidência de *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia* sp. e *Fusarium* sp.

Ao que se observa, estes gêneros citados, são comumente relatados em associação com gramíneas forrageiras, sobretudo, em sementes. Isto demonstra que a sanidade das sementes é muito influenciada pelo manejo adotado no local de produção e que a maioria das cultivares apresenta suscetibilidade a estes fungos.

Em trabalho recente, analisando sementes de *B. brizantha* cv. BRS Piatã, Silva et al. (2019), relataram a incidência de 37 gêneros fúngicos potencialmente patogênicos e transmitidos por sementes. Neste presente estudo, a cultivar Piatã também não se destacou quanto a comercialização de sementes livres de microrganismos, pois tem grande potencial no transporte de fungos dos gêneros *Bipolaris*, *Curvularia* e *Phoma*. Para esta cultivar, os lotes BRQ 18 e BRQ 31, apresentaram incidência de *Phoma* sp., acima de 30%, sendo um fungo responsável pela baixa germinação de sementes e morte de plântulas (LASCA et al. 2004; SBALCHEIRO et al. 2014). Dada esta importância ao gênero *Phoma*, ressalta-se que houve incidência em todos os lotes de sementes de *Brachiaria* sp. avaliados.

A elevada incidência de fungos associados às sementes forrageiras, também podem ter como causa as condições climáticas favoráveis nas regiões produtoras, além do processo contínuo de produção de sementes na mesma área, sendo estas, com histórico de ocorrência de fungos, favorecendo no aumento da incidência desses patógenos, devido ao incremento do inóculo (MENTEN, 1995). Notou-se no presente estudo, uma distribuição homogênea entre os gêneros fúngicos nas regiões geográficas avaliadas, porém, existiu variação na incidência entre os lotes de sementes.

Estudos apontam que, entre os principais fatores responsáveis pela ocorrência de fungos em sementes, sobretudo forrageiras, são a ausência de padrões sanitários e informações sobre a sanidade das sementes produzidas e comercializadas no Brasil (MARCHI et al. 2010a; MALLMANN et al. 2013) e que a partir da expansão das pastagens e intensificação da atividade pecuária nos últimos anos, várias doenças de forrageiras começaram a ter importância significativa (MALLMANN et al. 2013), principalmente nas regiões caracterizadas pelo presente estudo.

Outra vertente a respeito da sanidade de sementes, refere-se na identificação de fungos nocivos à animais. À exemplo, nos estados da Bahia, Goiás e São Paulo, com frequência em 41,9% dos lotes, foi observada incidência do fungo *Pithomyces* sp., associado a sementes das espécies de *B. decumbens*, *B. humidicola* e *B. brizantha*, e que baseado na literatura (SOARES et al. 2000; MARCHI et al. 2010b), a ocorrência deste gênero em sementes é um fato relevante, pois a espécie de *P. chartarum* tem sido associada a casos de fotossensibilização hepática em bovinos.

Espécies de *Aspergillus* e *Fusarium*, frequentemente associados aos lotes de sementes de *Brachiaria* spp. analisados neste trabalho, também podem produzir micotoxinas e estas, ao serem ingeridas, podem causar intoxicações em animais (VECHIATO et al. 2010). Hemckmeier et al. (2018), abordam a relação de *Bipolaris* sp., como causa de ergotismo em bovinos no estado de Santa Catarina, após surtos em 13 animais, no caso desta pesquisa, houve acentuada frequência (90,3%) de *Bipolaris* sp. aos lotes de sementes. A incidência de *Trichoderma* sp. nos lotes de *Brachiaria*, também mostra a importância da identificação da micoflora associada a semente, mesmo que em incidência baixa, pois este gênero pode atuar no controle biológico de doenças (WOO et al. 2014).

Comumente, tem sido relatado a incidência de fungos secundários ou de armazenamento, junto a sementes de *Brachiaria*, como *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp. (MARCHI et al. 2010b), causando danos na qualidade da semente. Em geral, estes fungos ocorrem em sementes recém-colhidas e se manifestam em porcentagem baixa. Porém, os gêneros *Cladosporium*, *Penicillium* e *Rhizopus* ocorreram em mais de 90% das amostras analisadas no presente trabalho, sendo que em lotes como BRQ 19 e BRQ 27, onde apresentaram incidência maior que 98% de *Rhizopus* sp. nas sementes, a germinação esteve abaixo do padrão de comercialização.

Estes dados inferem diretamente na qualidade fisiológica das sementes, pois gêneros como *Aspergillus* e *Rhizopus*, saprófitos cosmopolitas, típicos de armazenamento, são conhecidos por ocasionar deterioração de sementes, apodrecimento dos órgãos e morte do embrião, culminando com a redução da germinação e vigor (CIRIO E LIMA, 2003; BARRETO et al. 2004). A associação de patógenos com sementes pode ocorrer por contaminação superficial ou por colonização dos tecidos internos. Se os patógenos estiverem associados internamente, a chance de transmissão às plântulas é mais efetiva, porém, se a contaminação for externa, os danos serão nas fases iniciais do processo de germinação (NEERGAARD, 1979), sendo que estes danos iniciais são causados principalmente, pelos gêneros citados acima, levando à deterioração dos tecidos da semente.

Da mesma forma que patógenos causam danos as plantas à nível de campo, fungos de armazenamento também possibilitam grandes perdas nos lotes de sementes. Alguns gêneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Rhizopus*, têm sua atividade regulada pelas condições ambientais vigentes durante o período de armazenamento e pelas condições do lote de sementes, especialmente de seu estado físico, teor de umidade e inóculo inicial. Os danos causados às sementes são bastante variados, originando perdas significativas quanto ao valor do produto armazenado, levando a redução da germinação, descoloração dos tecidos da semente, aumento da taxa de ácidos graxos, aquecimento da massa de sementes e produção de toxinas (PESKE et al. 2012).

Martins et al. (2017), relatam que a incidência de *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. e *Nigrospora* sp. reduz a germinação de sementes de capim Xaraés. No presente trabalho, a maioria dos lotes de *Brachiaria*, especialmente a espécie *B. brizantha*, apresentaram germinação abaixo do estabelecida pela Instrução Normativa Nº 30 de 2008, proporcionando incidência moderada a alta dos fungos comumente causadores de danos a sementes e plântulas. Em casos como *B. humidicola*, a cultivar Tupi apresentou incidência fúngica em 91,34% das sementes e teve germinação e emergência do lote abaixo de 5%, indicando uma forte relação entre incidência fúngica e qualidade fisiológica de sementes.

Em *Brachiaria* sp., de acordo com Lasca et al. (2004) e Sbalcheiro et al. (2014), os gêneros *Bipolaris*, *Phoma*, *Exserobolium*, *Phoma* e *Curvularia*, quando presentes nas sementes, podem ser transmitidos para as plântulas, afetando as plantas provenientes destas sementes. Este fato também foi observado no presente trabalho, onde houve a transmissão de *Bipolaris* sp. e *Phoma* sp., via semente-planta em *B. brizantha*.

Fungos como *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. e *Exserobolium* sp., são conhecidos por causarem manchas foliares em gramíneas, sobretudo, em *Brachiaria* (MACEDO E BARRETO, 2007; MARCHI et al. 2011), sendo que no presente trabalho, houve uma severidade muito alta das lesões causadas por *E. rostratum* no capim Marandu. Santos et al. (2014), relataram que *Bipolaris* sp. é patogênico às plântulas de *Brachiaria* sp., *Crotalaria* sp. e *Panicum* sp. e que ainda, *Bipolaris* sp. e *Curvularia* sp. são transmitidos das sementes para plântulas. Dados estes, em consonância com resultados encontrados no presente trabalho, após atestar a patogenicidade de *B. sorokiniana*, *C. lunata* e *E. rostratum*, e transmissão de *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. e *Phoma* sp.

Estas espécies, além de patogênicas às forrageiras, também são importantes causadores de doenças em plantas cultivadas, que servem como potenciais hospedeiras de fungos na natureza. *B. sorokiniana*,

C. lunata e *E. rostratum* são comumente relatados como causadores de manchas foliares e de sementes, causando consideráveis perdas na produção, como em cevada, arroz, trigo e feijão (MOREJON et al. 2006; SILVA et al. 2014; FERRARI E POSSAMAI, 2015; FARAG E ATTIA, 2020).

B. brizantha cv. Marandu, cultivar utilizada nos testes de patogenicidade, é uma gramínea de rápido estabelecimento e perfilhamento, com boa produtividade e adaptação a diferentes condições edafoclimáticas (VERZIGNASSI et al. 2012). Devido esse potencial de perfilhamento e renovação da área foliar, juntamente com condições de clima, pode se relacionar ao fato de não ter havido interferência da patogenicidade dos fungos no desenvolvimento vegetativo do capim Marandu. Notou-se que as plantas infectadas pelos patógenos inoculados, recuperaram-se rapidamente com o tempo de desenvolvimento, porém, apresentando períodos de maior suscetibilidade ao ataque dos patógenos. Assim, condições climáticas mais favoráveis ao desenvolvimento da doença poderão favorecer o progresso da epidemia nas plantas infectadas.

Sabe-se que os fatores ambientais, umidade e temperatura, podem alterar a predisposição das plantas às doenças (GHINI, 2005). Desta forma, as condições de clima observadas durante o ensaio de patogenicidade do presente trabalho foram com temperaturas entre 22,7 °C e 33,1 °C, de mínima e máxima, respectivamente, além de precipitação acumulada de 96 mm e umidade relativa do ar em torno de 80%, conforme dados observados da estação meteorológica local. Considerando a patogenicidade dos fungos inoculados, na ausência de um desses fatores climáticos favoráveis por um determinado período de tempo durante o processo de infecção do patógeno, a doença não progrediu de modo a causar interferência na produção de massa seca do capim Marandu. Desta forma, pode-se concluir que se trata de uma cultivar que pode ser tolerante à mancha foliar, causada pelos fitopatógenos inoculados.

Dados sobre a interferência de doenças na produção de massa seca e perda de área foliar ainda são incipientes, quando se trata de gramíneas forrageiras, estes trabalhos apenas consideram se estes microrganismos podem ou não serem patogênicos, sem considerar o dano real causado pela relação patógeno/hospedeiro. O resultado direto neste trabalho sobre a ação de patógenos em pastagens, é a relação negativa da incidência fúngica na qualidade sanitária e fisiológica das sementes forrageiras.

5. CONCLUSÕES

Entre os fungos encontrados nas sementes dos estados com produção comercial, destaca-se com alta frequência os gêneros: *Phoma* sp., *Curvularia* sp. e *Bipolaris* sp. Nas espécies de forrageiras avaliadas, *B. decumbens* cv. Basilisk teve menor incidência de fungos e *B. humidicola* cv. Tupi apresentou maior quantidade de patógenos transportados pelas sementes. Os fungos afetaram a qualidade fisiológica da semente, reduzindo a germinação e emergência.

B. sorokiniana, *C. lunata* e *E. rostratum* transportados pelas sementes, foram patogênicos à *B. brizantha* cv. Marandu. Houve a transmissão de *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp. e *Phoma* sp. via sementes para órgãos aéreos, causando sintomas de doença em *B. humidicola* cv. Humidicola e *B. brizantha* cv. Marandu e cv. Xaraés. No presente estudo, verificou-se que, embora patogênicos, uma vez a planta estabelecida, fungos causadores de manchas foliares demonstraram pouca ou nenhuma influência na produção de massa seca.

REFERÊNCIAS

ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em Fitopatologia**. UFV, Viçosa, 2007.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. APS Press, Saint Paul, 1998.

BARRETO, A.F.; EGBERTO, A.; BONIFÁCIO, B.F.; FERREIRA, O.R.R.S.; BELÉM, L.F. Qualidade fisiológica e a incidência de fungos em sementes de algodoeiro herbáceo tratadas com estratos de agave. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.8, p.839-849, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (MAPA), Brasília, 2009a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (MAPA), Brasília, 2009b.

CIRIO, G.M.; LIMA, M.L.R.Z.C. Métodos de detecção do gênero *Aspergillus* em sementes de milho (*Zea mays*) em 270 dias de armazenamento. **Visão Acadêmica**, v.4, p.19-23, 2003.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987.

ELLIS, M.B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, 1971.

FARAG, M.F.; ATTIA, F.M. A First record of *Exserobolium rostratum* as a new pathogen causing bean blight in Egypt. **Journal of Plant Pathology & Microbiology**, v.11, p.496, 2020.

FERNANDES, C.D.; MARCHI, C.E.; JERBA, V.F.; BORGES, M.F. Patógenos associados às sementes de forrageiras tropicais e estratégias de controle. In: ZAMBOLIM, L. (ed) **Sementes, qualidade fitossanitária**. UFV, Viçosa, p.183-213, 2005.

FERRARI, J.T.; POSSAMAI, E. Incidência de *Bipolaris sorokiniana* nas sementes e transmissão para plantas de cevada. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, p.320-329, 2015.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciênc Agrotec**, v.38, p.109-112, 2014.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doenças de plantas**. Embrapa Meio Ambiente: Jaguariúna, 104p. 2005.

HAIR, J.; ANDERSON, R.; TATHAM R. **Análise multivariada de dados**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 600p. 2009.

HEMCKMEIER, D.; GALINDO, C.M.; MELCHIORETTO, E.; GAVA, A.; CASA, R.T. *Claviceps purpurea* e *Bipolaris* sp. como causa de ergotismo em bovinos no estado de Santa Catarina. **Pesq Vet Bras**, v.38, p.875-882, 2018.

HINNAH, F.D.; HELDWEIN, A.B.; MALDANER, I.C.; LOOSE, L.H.; LUCAS, D.D.P.; BORTOLUZZI, M.P. Estimativa da área foliar da berinjela em função das dimensões foliares. **Bragantia**, v.73, p.213-218, 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário: Resultados preliminares 2017**. IBGE, Rio de Janeiro, 2017.

KELLER-GREIN, G.; MAASS, B.L.; HANSON, J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germoplasm collections. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (ed) **Brachiaria: biology, agronomy and improvement**. CIAT, Colombia, p.16-42, 1996.

LASCA, C.C.; VECHIATO, M.H.; KOHARA, E.Y. Controle de fungos de sementes de *Brachiaria* spp.: eficiência de fungicidas e influência do período de armazenamento de sementes tratadas sobre a ação desses produtos. **Arq Inst Biol**, v.71, p.465-472, 2004.

LEVIĆ, J.; PETROVIĆ, T.; STANKOVIĆ, S.; KRNJAJA, V.; STANKOVIĆ, G. Frequency and incidence of *Pyrenochaeta terrestres* in root internodes of different maize hybrids. **J Phytopathol**, v.159, p.424-428, 2011.

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.; VECHIATO, M.H.; INÁCIO, C.A.; BATISTA, M.V.; QUEIROZ, C.A. Fungos e nematoides associados a sementes de forrageiras tropicais. **Summa Phytopathol**, v.39, p.201-203, 2013.

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**, v.77, p.65-73, 2010b.

MARCHI, C.E.; FERNANDES, C.D.; BUENO, M.L.; BATISTA, M.V.; FABRIS, L.R. Microflora fúngica de sementes comerciais de *Panicum maximum* e *Stylosanthes* spp. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, p.575-584, 2010a.

MARCHI, C.E.; FERNANDES, C.D.; VERZIGNASSI, J.R. **Doenças em plantas forrageiras**. Embrapa Gado de Corte. 2011. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/916862/1/DoencasemplantasforrageirasDOC187.pdf>>. Acesso em: 19 de agosto de 2019.

MARTINS, C.C.; MELO, P.A.F.R.; PEREIRA, F.E.C.B.; ANJOS NETO, A.P.; NASCIMENTO, L.C. Sanitary quality of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu and Xaraés seeds harvested in different states in Brazil. **Biosci J**, v.33, p.1431-1440, 2017.

MENTEN, J.O.M. Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. In: MENTEN, J.O.M. (ed) **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. ESALQ/FEALQ, Piracicaba, p.115-136, 1995.

MOREJON, K.R.; MORAES, M.H.D.; BACH, E.E. Identification of *Bipolaris bicolor* and *Bipolaris sorokiniana* on wheat seeds (*Triticum aestivum* L.) in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.247-250, 2006.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. Macmillan, London, 1979.

PESKE, S.T.; ROSENTHAL, M.D.; ROTA, G.R.M. **Sementes: Fundamentos científicos e tecnológicos**. Editora Rua Pelotas, Pelotas, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013.

SANTOS, G.R.; TSCHOEKE, P.H.; SILVA, L.G.; SILVEIRA, M.C.A.C.; REIS, H.B.; BRITO, D.R.; CARLOS, D.S. Sanitary analysis, transmission and pathogenicity of fungi associated with forage plant seeds in tropical regions of Brazil. **J Seed Sci**, v.36, p.54-62, 2014.

SBALCHEIRO, C.C.; JOSÉ, S.C.B.R.; BARBOSA, J.C.R.C.M. Physiological and sanitary quality, and transmission of fungi associated with *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex. A. Rich.) Stapf seeds submitted to termal and chemical treatments. **J Seed Sci**, v.36, p.443-450, 2014.

SILVA, G.Z.; MARTINS, C.C.; NASCIMENTO, L.C.; BARRETO, G.G.; FARIAS, O.R. Phytosanitary quality of *Brachiaria brizantha* BRS Piaã seeds in function of climate conditions. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.23, p.237-243, 2019.

SILVA, M.S.B.S.; RODRIGUES, A.A.C.; OLIVEIRA, L.J.M.G.; SILVA, E.K.C.; PEREIRA, T.S. Sanidade de sementes de arroz, biocontrole, caracterização e transmissão de *Curvularia lunata* em semente-plântula de arroz. **Revista Ceres**, v.61, p. 511-517, 2014.

SOARES, P.C.; MOTA, R.A.; TEIXEIRA, M.N.; SANTOS, N.V.M. Aspectos epidemiológicos e clínicos da intoxicação por *Pithomyces chartarum* em ovinos da raça Santa Inês, no município de Gravatá - PE. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.7, p.78-82, 2000.

VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, v.56, p.460-472, 2009.

VECHIATO, M.H.; APARECIDO, C.C.; FERNANDES, C.D. **Frequência de fungos em lotes de sementes comercializadas de *Brachiaria* e *Panicum***. Instituto Biológico, (Documento técnico, 7), São Paulo, 11p. 2010.

VERZIGNASSI, J.R.; POLTRONIERI, L.S.; BENCHIMOL, R.L.; FRANÇA, S.K.S.; CARVALHO, E.A.; FERNANDES, C.D. *Pyricularia grisea*: novo patógeno em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no Pará. **Summa Phytopathol**, v.38, p.254, 2012.

WATANABE, T. **Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species**. CRC Press, Boca Raton, 2010.

WITT, F.A.P.; OLIVEIRA, F.F.; TAKESHITA, V.; RIBEIRO, F.C. Qualidade sanitária de sementes de *Urochloa* e *Panicum* comercializada no norte mato-grossense. **Enciclopédia Biosfera**, v.11, p.1636-1645, 2015.

WOO, S.L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v.8, p.71-126, 2014.