



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

Valdívia Rocha Morceli

**FUNGOS ENDOFÍTICOS E/OU SAPROFÍTICOS
ISOLADOS EM CULTIVARES MARANDÚ E XARAÉS DE
Brachiaria brizantha (HOCHST EX RICH.) STAPP.
(POACEAE)**

Orientadora: Dra. Maria Rita Marques

Co-Orientadora: Dra. Yvelise Maria Possiede

**Campo Grande (MS)
2006**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

Valdívia Rocha Morceli

**FUNGOS ENDOFÍTICOS E/OU SAPROFÍTICOS
ISOLADOS EM CULTIVARES MARANDÚ E XARAÉS DE
Brachiaria brizantha (HOCHST EX RICH.) STAPF.
(POACEAE)**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal junto ao Departamento de Biologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

CAMPO GRANDE (MS)

2006

Dedico
aos meus pais,
com carinho.

i

AGRADECIMENTOS

AGRADEÇO:

À Deus, pela saúde, força e coragem que me permitiram chegar até aqui.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Maria Rita Marques, por ter aceitado me orientar apesar da grande quantidade de encargos que já possuía, a quem eu escolhi por sua grande capacidade e ética, e que correspondeu plenamente às minhas expectativas.

À minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Yvelise Maria Possiede, pela paciência e pela ajuda na redação desta dissertação.

Às Prof^{as} Dr^{as}. Cristina Maria de Souza Motta, Débora Maria de Massa Lima, Maria Jose dos Santos Fernandes, pela orientação na identificação dos fungos e pelos cuidados dispensados.

Às minhas amigas Oliane, Rejane, Elza e Laura pela carinhosa acolhida em Recife.

À Prof^a Dr^a Maria Rosangela Sigristi, minha tutora, pela confiança e pela ajuda durante este curso.

Ao Prof. Dr Josué Raizer pela contribuição no delineamento experimental e na análise estatística dos resultados.

Ao Prof. Denis Pires de Lima, pelo auxílio na tradução dos textos para o inglês.

Ao Prof Paulo Robson pela valiosa ajuda com as fotos.

Ao curso de pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) pela oportunidade de realização deste trabalho.

Aos professores do curso de pós-graduação em Biologia Vegetal.

Aos professores e funcionários do Laboratório de Bioquímica Vegetal.

Aos funcionários e estagiários da Micoteca do Departamento de Micologia da UFPE.

À Pro Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação (PROPP) pelas passagens e ajuda financeira durante meu treinamento na UFPE em Recife.

Às minhas estagiarias Aleny, Camila, Danila e Vivian pela ajuda na execução do trabalho de laboratório.

À minha amiga Clarice, pelo seu apoio e amizade.

ii

Ao meu marido Ayrton, pelo incentivo e apoio financeiro.

Aos meus filhos, Junya, Thais e Junior, pelo amor e paciência nas minhas ausências.

Aos meus netos, Giovanna e Marcelo, representação do mais puro afeto e alegria nos momentos mais difíceis.

RESUMO

Tendo em vista a grande importância da espécie *Brachiaria brizantha* para a pecuária brasileira e devido à escassez de informações sobre as interações entre fungos não patogênicos e esta espécie vegetal, o presente trabalho teve por objetivos o isolamento e identificação de fungos endofíticos e saprofitos associados aos cultivares Marandu e Xaraés em áreas submetidas ao pastejo e em áreas livres da presença do gado, em campos experimentais da Embrapa Gado de Corte em Campo Grande (MS). Amostras foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos estéreis. Folhas e caules foram submetidos à esterilização prévia e fragmentos deste material foram inoculados em meio de cultura. Após 7 dias, iniciou-se o isolamento das colônias de endofíticos. Material vegetal morto (serrapilheira) foi submetido à agitação em água destilada estéril por 24 horas. Alíquotas da água de lavagem foram inoculadas em meio de cultura, para isolamento dos fungos saprofitos. Para os dois grupos de fungos utilizou-se meio de cultura BDA contendo malte, cloranfenicol e gentamicina. Foram isoladas 30 espécies de 14 gêneros diferentes, sendo os mais frequentes *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., comumente associados a espécies vegetais. Este estudo mostrou que existe variação na composição de fungos epifíticos e saprofitos associados aos cultivares Marandu e Xaraés de *B.brizantha*. Verificou-se também que esta composição é relativamente alterada em amostras submetidas ao pastejo por gado, quando comparadas com aquelas presentes em áreas sem pastejo. Das espécies isoladas, somente quatro são reconhecidamente patogênicas para gramíneas (*Acremonium strictum*, *Dreschelera bicolor*, *Fusarium moniliforme* e *Colletotrichum dematium*), embora não tenham sido registrados sintomas de doenças causadas por essas espécies nas amostras analisadas. Grande parte dos gêneros isolados é considerada neutra ou parasita oportunista (e.g., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp, *Aspergillus* sp.). As espécies dos gêneros de *Rizhopus* sp., *Trichoderma* sp., *Nigrospora* sp., *Paecilomyces* sp. e *Verticillium* sp. apresentam interações mutualísticas altamente benéficas em outros sistemas fungo endófito-planta. Sugere-se que exista este mesmo tipo de interação entre os gêneros citados e os dois cultivares de *B.brizantha* analisados. Sugere-se também que a sanidade observada nas amostras pode ser decorrência da presença de fungos endofíticos benéficos associados.

Palavras-chave: micobiota, mutualismo, pastejo; saprofitismo

ABSTRACT

The species *Brachiaria brizantha* plays a basic role in the sustainability of the Brazilian cattle raising, being the used forage in pastures in Brazil. Due to scarcity of information on the interactions between nonpathogenic fungi and this vegetal species, the present work had for objectives the isolation and identification of endophytic fungi and saprophytic associated to cv Marandu and Xaraes in areas submitted to grazing and those free of the cattle. The experiment was carried out in experimental fields of the Embrapa Beef Cattle in Campo Grande (MS). Samples had been collected and stored in sterile plastic bags. Leaves and stems had been submitted to the previous sterilization and fragments of this material were inoculated in culture medium. After 7 days, the isolation of the colonies of endophytics was initiated. Dead vegetal material (litterfall) was submitted to stirring in distilled and sterile water for 24 hours. Aliquot of the water extract were inoculated in culture medium in order to isolate saprophytic fungi. For the two groups of fungi it was used BDA culture medium containing malt, chloramphenicol and gentamicin. It was isolated 30 species of 14 different genera, being the most frequent *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp., which are usually associated to vegetal species. This study showed that exist variation in the composition of epiphytic fungi and saprophytic associated to the cultivation Marandu and Xaraes of *B.brizantha*. It was also verified that this composition relatively is modified in samples submitted to grazing for the cattle, when compared with those located in areas without grazing. Among the isolated species, only four are admittedly pathogenic for grassy (*Acremonium strictum*, *Dreschelera bicolor*, *Fusarium moniliforme* and *Colletotrichum dematium*), although there has not been registered symptoms of illnesses caused for these species in the analyzed samples. Great part of the isolated species is considered neutral or opportunist parasites (e.g., *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*). The species of the genera *Rizhopus* sp, *Trichoderma* sp, *Nigrospora* sp, *Paecilomyces* sp and *Verticillium* sp present highly beneficial mutualistic interactions in other systems endophytic fungi-plant. It is suggested that there is the same type of interaction between the mentioned genera and the two analyzed cultivation of *B.brizantha*. It is also suggested that the health observed in the samples, can be in result of the presence of associated beneficial endophytic fungi.

Key words: mycobiota, mutualism, pasture, saprofitism

v

ÍNDICE

Dedicatória ----- i

Agradecimentos ----- ii

| | |
|---|-----------|
| Resumo | iv |
| Abstract | v |
| Introdução | 01 |
| Objetivos | 16 |
| Referências Bibliográficas | 17 |
| Brazilian Journal of Mycobiology (Instruções aos autores) | 25 |
| Artigo: ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS E SAPROFÍTICOS DE <i>Brachiaria brizantha</i> (Hochst ex-A.Rich) Stapf cv MARANDÚ E cv XARAÉS | 36 |
| Considerações Finais | 66 |
| Conclusões | 68 |

I. INTRODUÇÃO GERAL

1. Aspectos Ecológicos das Interações Fungo-Planta

As interações entre plantas, microrganismos e o ambiente são altamente complexas. Esta complexidade foi provavelmente alcançada pela evolução da percepção de alterações ambientais, que por sua vez modulou com maior precisão a intensidade e o tipo de resposta dos organismos envolvidos. No decurso do tempo evolutivo, desenvolveram-se intensas

inter-relações entre fungos e plantas (Mayer, 1989; Futuyma, 1992; Rodriguez e Redman, 1997).

Os fungos ocupam a base da cadeia alimentar e desempenham uma grande diversidade de funções nos ecossistemas que incluem: (1) estabelecimento da estrutura e composição do solo (Metting, 1993); (2) decomposição de matéria orgânica e reciclagem de nutrientes (Cromack e Caldwell, 1992); (3) estabelecimento de diferentes tipos de associações desde a simbiose até o parasitismo interespecífico e com outros indivíduos da comunidade (Dickman, 1992; Burdon, 1993); (4) alterações na estrutura das comunidades de plantas (Hudson, 1986); (5) fornecimento de nutrientes para muitos artrópodes e mamíferos (Lamont *et al.*, 1985), entre outras.

Os fungos constituem um grupo de organismos carbono-heterotróficos altamente versáteis que têm ocupado com sucesso, a maioria dos habitats naturais. Populações heterogêneas de fungos interagem com plantas e podem estabelecer diferentes tipos de relações ecológicas (Matta, 1982; Crawley, 1997), sendo a maioria dos fungos representada por sapróbios estritos. Aproximadamente 10% das espécies conhecidas de fungos são capazes de colonizar plantas, e fração menor é capaz de causar doenças. Entretanto, entre os agentes causais de doenças infecciosas, os fungos fitopatogênicos são os mais importantes economicamente, pelo elevado índice de perda nas culturas de várias espécies (Knooge, 1996; Fernandes, 2004). Por este motivo, a maioria dos estudos de interação fungo-planta se concentrou nas relações entre plantas cultivadas e fungos fitopatogênicos (Bailey, 1983).

Estudos realizados com diversos sistemas fungo-planta mostram que existem diferentes tipos de interações entre estes organismos. Tais interações podem ser do tipo patogênicas compatíveis e incompatíveis, neutras ou mutualistas, sendo que nestas últimas o fungo não é capaz de invadir tecidos vivos, como é o caso dos sapróbios (Adaskaveg, 1992). Fungos mutualistas conferem vários benefícios às plantas, como tolerância a drogas e metais, aumento do crescimento (Varma *et al.*, 1999), resistência a

doenças (Carrol, 1986; Freeman e Rodrigues, 1993; Redman *et al.*, 1999), resistência à herbivoria (Latch, 1993) e aumento da eficiência na aquisição de nutrientes (Read, 1999).

1.1. Fungos Endofíticos

São consideradas espécies endofíticas aquelas que habitam os tecidos internos e sub-cuticulares de uma planta, por pelo menos parte do ciclo de vida, sem lhe causar danos aparentes. Os endófitos diferem dos epífitos que vivem na superfície dos vegetais, e dos fitopatógenos, que lhes causam doenças (Araújo, 2001). Nem endófitos, nem epífitos apresentam haustórios, estrutura comum em fungos patogênicos. Em geral, as infecções por fungos endofíticos não produzem sintomas externos, podendo estar latentes ou serem assintomáticos, sendo as interações conhecidas como neutras (Azevedo *et al.*, 2002).

A teoria da associação benéfica ou neutra entre microrganismos teve início com o trabalho de Perotti (1926). Entretanto, o conhecimento de microrganismos assintomáticos em tecidos vegetais iniciou antes de 1870 com Pasteur (revisado por Smith, 1911 *apud* Hallmann *et al.*, 1997). Não há registro de espécies vegetais em ecossistemas naturais que não apresentem associações simbióticas com fungos endofíticos e/ou micorrízicos (Petrini, 1986; Redman *et al.*; 1999). Nas últimas décadas tornou-se evidente que os fungos simbiontes desempenham papel crítico na estrutura, função e equilíbrio das comunidades de plantas (Saykkonen *et al.*, 1998; Read, 1999). Na maioria dos casos estudados estas interações têm se mostrado muito benéficas e podem estar relacionadas à sanidade vegetal, já que atuam no controle do crescimento de microrganismos patogênicos, inibem a herbivoria por insetos, além de outras ações, que em conjunto, aumentam a capacidade adaptativa da planta (Varma *et al.*, 1999; Peixoto Neto *et al.*, 2002).

Exemplos de metabólitos que podem ter a síntese induzida pelos endófitos são as fitoalexinas, substâncias de baixo peso molecular com atividade antimicrobiana (Cordeiro-Neto e Dietrich, 1992). Por outro lado, os

fungos também produzem, em muitos casos, micotoxinas e/ou metabólitos secundários que eventualmente podem ter ação tóxica ou inibidora sobre herbívoros, incluindo mamíferos (Clay, 1988; D'Mello e Macdonald, 1997).

Os endófitos são potencialmente úteis na agricultura e na indústria, particularmente na alimentícia e farmacêutica. Podem ser utilizados como vetores para introdução de genes de interesse nas plantas (Fahey, 1988; Murray *et al.*, 1992), como agentes inibidores de pragas e patógenos (Volksch *et al.*, 1992; Hallmann e Sikora, 1996) e como fontes de metabólitos primários (Stamford *et al.*, 1998) e secundários de interesse. Exemplos destes últimos são o taxol, poderoso anticancerígeno (Stierle *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 2000), a criptocandina, um lipopeptídeo antimicótico (Strobel *et al.*, 1999), além de outros compostos ativos. Relatos como o do taxol, inicialmente isolado de *Taxus brevifolia* e, em seguida, de diversos endófitos desta e de outras plantas que o produzem, sugerem que a interação entre plantas e microrganismos endofíticos deve ser melhor explorada.

1.2. Fungos epifíticos

Fungos epifíticos são aqueles que habitam a superfície da planta hospedeira, também chamada filoplano. Estes microorganismos podem apresentar dois tipos de interações: comensalista e mutualística. Na primeira interação o fungo coloniza a superfície da planta sem oferecer nada em troca (Esposito e Azevedo, 2004).

Na interação mutualística os fungos colonizam a superfície da planta e impedem a colonização por microorganismos patogênicos ou produzem compostos que tornam a planta menos atrativa para herbívoros (insetos e mamíferos) beneficiando assim os dois organismos da interação. O fungo encontra um ambiente menos competitivo e com maior disponibilidade de carboidratos secretados pela planta e esta por sua vez recebe proteção. Alguns fungos epifíticos competem com fungos fitopatogênicos, onde o epifítico sintetiza compostos antagônicos que inibem o desenvolvimento de patógenos (Esposito e Azevedo, 2004).

Com a compreensão da natureza física, química e microbiológica da superfície foliar, tornou-se amplamente reconhecido que grandes populações

de microrganismos epifíticos vivem na superfície foliar e são capazes de influenciar as espécies patogênicas no processo de infecção das folhas e caules. O ambiente da superfície foliar difere sensivelmente daquele do solo, caracterizando-se pela ocorrência de variações maiores e mais rápidas. Temperatura, umidade e a disponibilidade de nutrientes (exsudatos foliares, resíduos orgânicos, grãos de pólen, secreções de afídios, macro e microelementos, diversas substâncias orgânicas, etc.) são determinantes na composição da microbiota epifítica. Além disso, novas superfícies se tornam progressivamente disponíveis para colonização durante o processo de desenvolvimento e diferenciação de plantas. Muitos pesquisadores têm observado padrões sazonais na composição da microbiota do filoplano (Andrews e Harris, 2000).

1.3. Micorrizas

Micorrizas são associações mutualistas entre certos fungos do solo e as raízes absorventes da maioria das espécies vegetais. Existem vários tipos de micorrizas, sendo as ectomicorrizas e as endomicorrizas do tipo arbuscular (MAs) as de maior importância (Siqueira, 1994). As ectomicorrizas predominam em florestas de clima temperado, enquanto as MAs são predominantes em florestas tropicais (Janos, 1980; Raven *et al.*, 2001). Estas últimas são formadas por grupo restrito de fungos pertencentes à Ordem Glomales dos Zigomicetos.

Na associação do tipo arbuscular ocorre íntima interação entre os parceiros, apresentando perfeita integração morfológica e fisiológica, o que resulta em alta compatibilidade funcional. A planta beneficia-se pelo aumento da absorção de água e nutrientes, principalmente de fósforo, proporcionados pelas hifas fúngicas, que funcionam como uma extensão do sistema radicular, enquanto a planta fornece ao fungo fotoassimilados permitindo que ele complete seu ciclo, o que só ocorre na presença do hospedeiro (Siqueira e Franco, 1988; Raven *et al.*, 2001). A simbiose micorrízica contribui para a sobrevivência e crescimento das espécies, principalmente em ambientes estressantes (Carneiro, *et al.*, 1995; Siqueira

e Saggin-Junior, 1995; Siqueira, 2002), onde as MAs exercem grande influência na estruturação das comunidades vegetais (Siqueira *et al.*, 1994).

As ectomicorrizas envolvem, mas não penetram nas células radiculares, suas hifas crescem entre as células epidérmicas da raiz e do córtex, formando uma rede característica e ramificada, a rede de Harting, que circunda muitas células epidérmicas e corticais. Em adição à rede Harting, as ectomicorrizas são caracterizadas pelo manto ou bainha de hifas que cobre a superfície da raiz. Cordões miceliais se estendem do manto para o solo adjacente. São características de certos grupos de árvores e arbustos, encontrados em diversas famílias de zonas temperadas, como as faias (Fagaceae), os carvalhos da família das bétulas (Betulaceae), os pinheiros (Pinaceae), entre outras. Embora freqüentes nas formações florestais, os fungos ectomicorrízicos, *Basidiomycetes*, *Ascomycetes*, e morchelas comestíveis (Raven *et al.*, 2001) variam em compatibilidade e eficiência, dependendo das espécies simbiotes e das condições ambientais (Garbaye, 1990; Smith e Read, 1997), exigindo estudos prévios para se detectar as melhores combinações fungo-hospedeiro-ambiente.

Assim, o controle dessas combinações, denominado controle da micorrização pode melhorar a produtividade das florestas (Garbaye, 1984). Resultados expressivos têm sido obtidos pelo controle da micorrização em diferentes países, mostrando seu grande potencial para o setor florestal (Garbaye, 1990). Outro papel que pode ser atribuído ao fungo nas raízes é o de liberar enzimas no solo para degradação de nutrientes tornando-os biodisponíveis à planta (Raven *et al.*, 2001).

1.4. Fungos fitopatogênicos

Nas interações em que os fungos invadem as células em busca de nutrientes, abrigo ou transporte, estabelece-se uma relação de parasitismo. Neste tipo de interação o benefício é unidirecional (Scarpari *et al.*, 2003). Os fungos patogênicos produzem grande diversidade de sinais potenciais, e de maneira análoga à produção de antígenos pelos patógenos de mamíferos; alguns destes são detectáveis por algumas plantas (Bent, 1996). No patógeno, um gene é chamado de “gene de avirulência” se sua expressão determina a produção de sinais que provocam forte resposta na planta, induzindo a expressão de “gene de resistência” (Keen, 1990). No entanto, a expressão do gene de avirulência não impede o patógeno de ser virulento para hospedeiros que não tenham o correspondente gene de resistência.

Flor (1956) demonstrou a complementaridade dos sistemas gênicos do hospedeiro e do patógeno. Após investigar exaustivamente as interações entre vários genótipos de linho e do fungo *Melampsora lini*, ele propôs o modelo de relação gene-a-gene. Segundo ele, a incompatibilidade acontece quando uma planta possui um gene dominante de resistência que corresponde a um gene de avirulência a um determinado patógeno. Uma única planta pode ter muitos genes de resistência, assim como o patógeno também pode ter vários genes de avirulência. A resposta de defesa, que evita a infecção, se dá a partir do momento em que a planta “reconhece” um produto particular do patógeno controlado pelo gene de avirulência. Conforme Lindsay *et al.* (1993), estes produtos do gene de avirulência implicados na percepção do ataque pela planta abrangem um grupo de moléculas coletivamente chamadas de eliciadores. Após detectarem a presença do patógeno, as plantas respondem ao ataque através da indução de um arsenal bioquímico e estrutural de defesa. Estes compostos de defesa inibem o desenvolvimento do patógeno através da digestão de suas paredes celulares, da fortificação das paredes celulares da planta, e/ou da biossíntese de compostos antimicrobianos.

Freqüentemente a primeira reação de defesa é a resposta de hipersensibilidade (HR), que envolve uma necrose localizada, devido à morte rápida de poucas células ao redor do local da penetração, após a liberação dos compostos antimicrobianos (Chasan, 1994, Barbieri e Carvalho, 2001). Assim, o sistema gene-a-gene é um mecanismo da “queda-de-braços” genética entre patógeno e hospedeiro, num processo coevolutivo que inclui o aparecimento de novas mutações ou a introdução de novos genes, que conferem maior resistência ou maior virulência ao hospedeiro e ao parasita, respectivamente.

1.5. Fungos saprofíticos

Fungos saprofíticos desempenham papel muito importante na manutenção do equilíbrio de ecossistemas, principalmente através da decomposição da matéria orgânica, utilizando sistema de enzimas digestivas secretadas no ambiente (Moore *et al.*, 2004).

Os fungos sapróbios têm recebido maior atenção como indutores potenciais de resistência (Guenoune *et al.*, 2001; Yedidia *et al.*, 2003). Existem fortes evidências de que os sapróbios induzem a produção de compostos de defesa em plantas em concentrações suficientemente altas para prevenir seu crescimento *in vitro*. Portanto, a presença destes fungos na superfície de plantas não é inteiramente passiva desde que podem induzir proteção contra infecções subseqüentes por patógenos (Yedidia *et al.*, 1999). Além disso, alguns autores verificaram que fungos sapróbios são capazes de penetrar tecidos vivos sem causar doenças (Yedidia *et al.*, 1999; Yedidia *et al.*, 2003). A tentativa de fungos sapróbios em sobrepor as barreiras de resistência interpostas pelas plantas, pode ter sido o primeiro passo na evolução destes microrganismos para formas efêmeras de vida parasitária (Yedidia *et al.*, 2003; Howell, 2003).

Marques (2006) demonstrou haver alguma correlação entre o aumento da resistência de uma espécie vegetal nativa da Mata Atlântica com a presença de esporos de fungos sapróbios na superfície foliar. Além deste, outros estudos também apontam para o envolvimento dos microrganismos

sapróbios na indução da resistência generalizada em plantas. Entre eles pode-se citar: a) os estudos da atividade eliciadora da síntese de fitoalexinas de esporos de um fungo sapróbio sobre diversas espécies de plantas nativas (Braga *et al.*, 1986; Braga e Dietrich, 1991); b) a ação sinérgica benéfica de fungos saprofitos e micorrizas vesículo-arbusculares sobre o crescimento de milho (*Zea mays*) e alface (*Lactuca sativa*) (McAllister *et al.*, 1994) e de *Citrus reshni* (Camprubi *et al.*, 1995); c) a capacidade de um fungo sapróbio em eliciar a síntese de β 1,3 glucanases e quitinases em raízes de abeto (Asiegbu *et al.*, 1994) e d) o rápido acúmulo de mRNAs típicos de genes da família dos receptores do tipo quinases, em resposta à infiltração de células de uma bactéria saprofítica em *Brassica oleracea* (Pastuglia *et al.*, 1997).

Existem inúmeros estudos que apontam para a utilização de fungos saprofitos no controle de doenças em plantas. Várias espécies de *Trichoderma* spp. são fungos que estão presentes no solo ou sobre matéria morta. As habilidades desses fungos benéficos são conhecidas desde 1930 (Yedidia *et al.*, 1999) e desde então muitos estudos têm sido feitos para comprovar a eficácia dos mesmos no controle de doenças em plantas. Estes fungos crescem através das hifas de outros fungos, interagem por uma reação mediada por lectinas e degradam as paredes celulares do fungo alvo pela secreção de diferentes tipos de enzimas líticas. Este processo, conhecido como micoparasitismo limita o crescimento e a atividade de muitos fungos fitopatogênicos (Carsolio *et al.*, 1999). Por outro lado, algumas raças específicas de *Trichoderma* spp., colonizam e penetram as raízes vegetais, desencadeando várias alterações morfológicas e bioquímicas, consideradas como parte importante das respostas de defesa de plantas, conhecida como resistência sistêmica adquirida (Yedidia *et al.*, 2001).

2. O gênero *Brachiaria* e seus aspectos

Membro da família *Poaceae* possui hábito herbáceo, caule cilíndrico ou elíptico em corte transversal, corpos de sílica nas paredes das células da

epiderme, filotaxia dística, com presença de bainha abarcante e lígula, que pode ser uma membrana ou tricomas e vai estar sempre entre a lâmina foliar e a bainha. Venação paralela, inflorescência paniculada com flores pequenas agregadas em espiguetas (Judd *et al.*, 2002). A espiguetas, unidade básica da inflorescência de gramíneas é tradicionalmente utilizada na classificação taxonômica (Clayton e Renvoize, 1986). Uma das maiores famílias de Angiospermas, é provavelmente a de maior importância econômica para o homem.

Grande número de seus representantes fornece forragem para o gado, e muitos gêneros são cultivados como grãos comestíveis, como milho, trigo, cevada, sorgo, centeio, aveia e arroz (Joly, 1991). O gênero *Brachiaria* abrange cerca de 80 espécies (Monteiro *et al.*, 1974) distribuídas nas regiões tropicais de ambos os hemisférios do globo, ocorrendo principalmente na África. No Brasil, são registradas até hoje, 16 espécies, das quais cinco são nativas; três foram provavelmente introduzidas há várias décadas, sendo, portanto, agronomicamente consideradas como nativas; e outras sete, foram introduzidas recentemente, e cultivadas como forrageiras (Sendulsky, 1977).

No Brasil, a bovinocultura de corte vem se consolidando como atividade competitiva, tendo expressiva participação no produto interno bruto. Aproximadamente 90% da produção de carne é proveniente de sistemas de criação extensivos (ANUALPEC, 2004). A alimentação do rebanho exclusivamente em pasto, chamado boi verde ou boi de pasto, tem efeito diferencial no mercado, aquecendo as exportações da carne brasileira.

A expansão da área cultivada com pastagens é uma estratégia para garantir a sustentabilidade da cadeia produtiva de carne. Estima-se que as pastagens cultivadas no país ocupem área superior a 90 milhões de hectares (Andrade *et al.*, 2004). As espécies de *Brachiaria* são as forrageiras predominantes, sobretudo nas regiões Centro-Oeste e Norte. Entre essas, *B. brizantha* (Hochst ex A. Rich.) Stapf. Cv. Marandu (popularmente conhecida como capim-marandu ou brizantão) é a mais cultivada (Andrade e Valentim,

2004). Atributos como tolerância à baixa fertilidade do solo, boa palatabilidade, altos teores de proteínas e de sólidos totais, elevada produtividade quando devidamente adubada e manejada são algumas das vantagens apresentadas por este cultivar (Salermo et al., 1990); Zimmer et al. (1998).

O lançamento de novas cultivares de gramíneas forrageiras resulta da demanda crescente pela busca por plantas mais competitivas, menos exigentes em fertilidade do solo, com menor sazonalidade de produção e maior resistência a pragas e doenças, entre outros. Em atendimento a essa demanda, o Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte da EMBRAPA lançou a cultivar de *B. brizantha* denominada Xaraés. Segundo Valle et al. (2003), a cultivar Xaraés foi liberada com o objetivo de promover a diversificação de espécies forrageiras nas pastagens do gênero *Brachiaria*, oferecendo opção alternativa de qualidade à *B. brizantha* cv. Marandu, desencorajando, assim, o monocultivo pecuário predominante no Brasil Central.

B. brizantha cv. Xaraés é uma cultivar que produz plantas vigorosas, atingindo altura média de 1,5 m. É indicada para regiões de clima tropical úmido e para as regiões de cerrados, com estação seca variando entre quatro e cinco meses (Valle et al., 2003). Desenvolve-se bem em diferentes tipos de solos, notadamente os de média a alta fertilidade natural apresentando boa resposta à adubação, bom comportamento em solos arenosos, moderada resistência ao ataque das cigarrinhas-das-pastagens e boa palatabilidade. É uma forrageira de estabelecimento rápido e com rebrotação superior à da cultivar Marandu (Valle et al., 2003). Juntas, as cultivares Marandu e Xaraés, ocupam mais de 50% das áreas de pastagens da região Centro-Oeste (Macedo, 2005) e 65 % das pastagens da região Norte (Dias-Filho e Andrade, 2005).

3. Interações Fungo-Planta em Gramíneas Forrageiras

Muitos trabalhos têm indicado que na natureza as associações entre gramíneas e fungos endofíticos devem ser mutualísticas. Clay (1987) apresenta resultados de estudos que sugerem que populações de *Lolium perenne* e *Festuca arundinacea*, as quais fazem associações com fungos endofíticos, apresentam vantagens seletivas sobre populações das mesmas espécies vegetais na ausência de tais associações. Suas sementes apresentam maior taxa de germinação, as plantas produzem mais biomassa e as pastagens vigor superior.

Acremonium caenophialum é um endofítico de gramínea e tem efeito inibitório sobre vários patógenos (Clay, 1989). Kanda *et al.* (1994) reportaram a preferência da larva de *Parapediasia teterrella* Zincken (lepidóptera) por indivíduos de *L. perenne* e *F. arundinacea* sem associação com *Acremonium* sp., enquanto a larva pode jejuar até a morte se somente plantas associadas ao fungo estiverem disponíveis.

Em levantamento realizado em pastagens de gramíneas nativas endêmicas no Kenya, foram identificados 58 gêneros de fungos filamentosos, a maioria deles, associada ao filoplano, de modo epifítico. Entre os mais freqüentes, estão os gêneros *Alternaria*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Periconia*, *Phoma* e *Pithomyces* Caretta *et al.*, 1999. Alguns destes, como espécies de *Alternaria* e *Phoma*, são essencialmente epifíticas, enquanto as folhas estão vivas. Entretanto, sob condições de estresse da planta podem vir a ser endofíticos ou até parasitas. Um colonizador comum encontrado em gramíneas, no Kenya, foi a espécie *Leptosphaerulina chartarum* e seu anamorfo *Pithomyces chartarum*, que embora tenha distribuição por todo o mundo, cresce como saprofítico somente na Nova Zelândia, Austrália e América do Sul, incluindo o Brasil, produzindo grande número de esporos contendo esporodesmina, cujo consumo causa eczema facial em ovelhas (Caretta *et al.*, 1999).

Por outro lado, existem muitas espécies de endofíticos que causam doenças em gramíneas. Os fungos *Puccinia* sp. e *Cercospora fuscimaculans*

causam manchas foliares e podem provocar perdas consideráveis em *Paspalum atratum* e *P. guenoarum*. O fungo patogênico *Tilletia ayresii* Berkerley também tem sido encontrado nas inflorescências de forrageiras em áreas de produção de sementes, principalmente em *Panicum maximum*. As flores das panículas infectadas não são capazes de formar sementes viáveis e, desta forma, a produção de sementes da forrageira fica comprometida. Ainda, em *Panicum* foram encontradas manchas foliares causadas por *Cercospora* spp. e *Phoma* spp. e sementes infectadas por diversos fungos como, por exemplo, *Fusarium* spp. Estes problemas carecem, todavia, de maiores estudos visando conhecer a extensão do dano para recomendações de controle (Verzignassi e Fernandes, 2001).

3.1. O gênero *Brachiaria* e sua interação com fungos

Com a expansão das pastagens cultivadas e intensificação da atividade pecuária nos últimos anos, várias doenças em espécies de *Brachiaria* começaram a ter importância significativa, especialmente nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil, causando perdas na produtividade e na qualidade das pastagens. Entretanto, são escassas informações referentes aos agentes causais dessas doenças nas pastagens e nos campos de produção de sementes, bem como sua influência na capacidade de suporte e produtividade destas espécies. Também são raros os resultados de pesquisa quanto à influência de patógenos na germinação, vigor e na sanidade das sementes visando sua conservação (Verzignassi e Fernandes, 2001).

A presença do fungo *Acremonium coenophialum* em espécies de *Brachiaria* induz a produção de alcalóides que causam toxicidade em bovinos, principalmente inibindo a produção de leite, provocando abortos, má formação congênita, distúrbios nervosos e morte (Kelemu *et al.*, 2001, 2002 e 2003). De acordo com Verzignassi e Fernandes (2001), entre as doenças consideradas mais importantes pode-se citar a mela-das-sementes da braquiária, causada pelo fungo *Claviceps sulcata* (forma teleomórfica de *Sphacelia* sp.). O patógeno coloniza o ovário das flores e provoca o

sintoma/sinal conhecido como "*honey-dew*" ou mela nas inflorescências e nelas são observadas gotas de coloração áurea, sobre as quais desenvolve-se o micélio hialino do fungo. Inicialmente, esse exsudato é pegajoso e atrativo a insetos e depois, torna-se mais consistente, podendo envolver toda a panícula e tornando a colheita das sementes inexequível (Verzignassi e Fernandes 2001).

Mais recentemente, em áreas com precipitação anual superior a 1.800 mm (norte de Mato Grosso, Rondônia e Acre), foram constatados danos severos a espécie de *Brachiaria* causados por *Rhizoctonia solani* (Albuquerque *et al.*, 2000). No Estado do Pará, em 2001, foi constatada a morte de plantas de *B. brizantha* cv. Marandu causada pelo fungo *Pythium perillum* associado a *Rhizoctonia solani*, atingindo cerca de 56 mil hectares (Mattos *et al.*, 2005). O carvão da braquiária, provocado pelo fungo *Ustilago operta*, é outra doença recentemente encontrada e que afeta a produção de sementes em pelo menos uma cultivar de *Brachiaria brizantha* em teste. O agente etiológico é capaz de colonizar toda a semente, formando uma massa compacta no lugar do endosperma. Esta doença ainda não havia sido relatada no Brasil, indicando tratar-se de espécie exótica. O controle, por meio de produtos químicos ainda é desconhecido e a resistência de diferentes braquiárias a esta doença deve ser investigada (Verzignassi e Fernandes, 2001).

Além desses, vários outros agentes patogênicos têm sido relatados em gramíneas forrageiras na Região Centro-Oeste, principalmente afetando a parte aérea das plantas. Há relatos da ocorrência de manchas foliares causadas por *Drechslera incurvata* de ferrugem (*Puccinia levis* var. *panicisanguinalis*), além do vírus-do-mosaico em *B. brizantha* cv. Marandu, porém sem causar prejuízos consideráveis (Verzignassi e Fernandes, 2001).

Existem relatos na literatura referentes ao isolamento e caracterização do fungo saprofítico *Pithomyces chartarum* (Dematiaceae), a partir da matéria morta de uma espécie de *Brachiaria* (Domsch *et al.*, 1980; Schenk e Schenk, 1983). O grande interesse de alguns pesquisadores por

esse fungo deve-se à correlação feita entre sua presença e o surgimento de casos de fotossensibilização em bovinos. Atribui-se à presença de *Pithomyces chartarum* a liberação de uma toxina denominada esporodesmina, causadora de uma lesão hepática que impossibilita o metabolismo da filoteritina. Esta substância foto-ativa acumula-se na circulação periférica, e com a incidência de raios UvA e UvB desencadeiam lesões cutâneas, podendo levar o animal a óbito por insuficiência hepática (Driemeier *et al.*, 1998).

Um dos poucos estudos, no Brasil, de espécies fúngicas não patogênicas que interagem com o gênero *Brachiaria* foi realizado por Rodrigues e Dias-Filho (1996). Os autores fizeram um levantamento da microbiota endofítica associada a *B.brizantha* cv. Marandu e *B. humidicola* no Estado do Pará, e encontraram, principalmente, espécies pertencentes à classe Deuteromycetes atualmente incluído no grupo artificial denominado fungos anamorfos (Kirk ,et al; 2001) e menor frequência de Ascomycetes. Alguns gêneros como *Curvalaria*, *Fusarium* e *Phoma* foram encontrados nas duas espécies de *Brachiaria*.

II. OBJETIVOS

Tendo em vista a grande importância de *Brachiaria brizantha* para a pecuária brasileira e pela escassez de informações sobre as interações entre fungos não patogênicos e esta espécie vegetal, o presente trabalho visa o isolamento e a identificação de fungos endofíticos e saprofitos associados às cultivares Marandu e Xaraés em áreas submetidas à pastejo e em área de produção de sementes, com ausência de gado. O resultado deste trabalho permitirá verificar se existe diferença na frequência e diversidade das espécies fúngicas nas diferentes cultivares e na presença e ausência de pastejo.

III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adaskaveg, J.E. Defense mechanisms in leaves and fruits of trees to fungal infection. *In: Blanchete, R.A.; Biggs, A.R. Defense mechanisms of woody plants against fungi.* Springer-Verlag-Berlin, 1992, 320p.

Albuquerque, F.C. de; Duarte, M.L.R.; Sanhueza, R.M.V.; Simão Neto, M.; Teixeira Neto. Ocorrência da podridão do coleto do capim Braquiarão no Estado do Pará. *Anais do XXXIII Congresso Brasileiro De Fitopatologia*, Belém, 2000, v.25, 352p.

Andrade, C.M.S.; Valentim, J.F.A. Síndrome da morte do capim Anuário da Pecuária Brasileira (ANUALPEC). São Paulo, 2004. 400p.

Andrade, R.P.De; Villas Boas, H.; Silveira, G.C.; Paiva,L. A parceria EMBRAPA-UNIPASTO e seu impacto na pesquisa e desenvolvimento de pastagens tropicais do Brasil, <http://www.abrasem.com.br/materia>, 2004.

Andrews, J.H.; Harris, R.H. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. *Annual Review of Phytopathology*, 38:145-180, 2000.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo. FNP Consultoria, 2004. 400p.

Araújo, W. L. Microrganismos endofíticos no controle biológico. *In: VII Reunião de controle biológico de fitopatógenos*, Anais, Bento Gonçalves, RS, Embrapa Uva e Vinho, 2001, 136p.

Asiegbu, F.O, Daniel, G; Johnsson, M. Defence related reactions of seedling roots of Norway spruce to infection by *Heterobasidion annosum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 45: 1–19, 1994.

- Azevedo, J.L.; Jr Maccheroni, W.; Araújo, W.L.; Pereira, J.O. Microrganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. *In: Serafini, L.A.; de Barros, N.M.; Azevedo, J.L. (eds) Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria.*, EDUCS, Caxias do Sul, 2002, p.131-163.
- Bailey, J.A. Biological perspectives of host pathogen interactions. *In: Bailey, A.; Deverall, B.J. (eds). The Dynamics of Host Defense.* J. Acad. Press. London, 1983, p.1-31.
- Barbieri, R.L.; Carvalho, I. F. De. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. *Rev. Bras. Agrociência*, 7(2):79-83, 2001.
- Bent, A.F. Plant disease resistance genes: function meets structure. *Plant Cell*, 8:1757-1771, 1996.
- Braga M.R; Young, M.C.M.; Ponte, J.V.A.; Emerenciano, V.P.; Dietrich, S.M.C.; Gottlieb, O.R. Phytoalexin induction in plants of tropical environment. *Biochem. Syst. Ecol.*, 14:507-514, 1986.
- Braga, M.R.; Dietrich, S.M.C. Atividade eliciadora de fitoalexinas em esporos de *Trichoderma pseudokoningii* Rifai. *Hoehnea*, 18(2):170-187, 1991.
- Burdon, J.J. The role of parasites in plant populations and communities. *In: Schulze, E.D.; Mooney, H.A. (eds) Biodiversity and Ecosystem Function.* Springer-Verlag, Berlim, p.165–179, 1993.
- Camprubi A; Calvet C; Estaun V. Growth enhancement of *Citrus reshni* after inoculation with *Glomus intradices* and *Trichoderma aureoviride* and associated effects on microbial populations and enzyme activity in potting mixes. *Plant and Soil*, 173:233-238, 1995.
- Caretta, G.; Piontelli, E.; Picco, A.M.; Del Frate, G. Some filamentous fungi on grassland vegetation from Kenya. *Mycopathologia*, 145:155-169, 1999.
- Carneiro, M.A.C; Siqueira, J.O.; Vale; F.R; Curi, N. Limitação nutricional e efeito do pré-cultivo com *Brachiaria decumbens* e da inoculação com *Glomus etunicatum* no crescimento de mudas de espécies arbóreas em solo degradado. *Ciência e Prática*, 19(3):281-288, 1995.
- Carrol, G.C. The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. *In: Fokkema, N.J.; Heuvel, J.; Van Den, J. (eds). Microbiology of Phyllosphere* Cambridge University Press, London, U.K, p.205-222, 1996.
- Carsolio C.; Benhamou, N.; Haran, S.; Cortés, C.; Gutiérrez, A.; Chet, A.; Herrera-Estrella, A. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65:929-935, 1999.
- Chasan, R. Plant-pathogen encounters in Edinburgh - Meeting report. *The Plant Cell*, 6:1332- 1341, 1994.
- CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. <http://sedac.ciesin.columbia.edu/gpw/documentation.jsp>, 2004.
- Clay, K. Clavipitaceous endophytes of grasses: their potencial as biocontrol agents. *Mycological*, 92:1-12, 1989.
- Clay, K. Effects of fungal endophyte on seed and seeding biology of *Lolium perene* and *Festuca arudinacea*. *Oecologia*, 73:358-362, 1987.

- Clay, K. Fungal endophytes of grasses: a defensive mutualism between plants and fungi. *Ecologia*, 92:10-16, 1988.
- Clayton W.D., Renvoize S.A. Genera *Graminum*, Grasses of the world. Kew, London. Royal Botanic Gardens, Kew Bulletin. Additional series V, XIII Her Majesty's Stationery Office, p. 256-283, 1986.
- Cordeiro-Neto, F; Dietrich, S.M.C. Phytoalexin induction by fungi from de leaf surface of tropical Rubiaceae. *Ciência e Cultura* 44:32-345, 1992.
- Crawley, M. J. *Plant ecology*. Ed. Blackwell Scientific publications. Boston, USA, Oxford, .1997,717p.
- Cromack, K.Jr.; Caldwell, B.A. The role of fungi in litter decomposition and nutrient cycling. In: Carroll, G.C.; Wicklow, D. (eds) *The Fungal Community*. 2nd edition. Marcel Dekker, N.Y., , p. 653-668,1992.
- Dias-Filho, M.B.; Andrade, C.M.S. Pastagens no ecossistema tropico úmido.In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia,.42.,2005, Goiânia. A produção animal e o foco no agronegócio.anais.Goiânia:SBZ: Universidade Federal de Goiás, P.94-104, 2005.
- Dickman, A. Plant Pathogens and Long-Term Ecosystem Changes. In: Carrol, G.C.; Wicklow, D.T. (eds). *The Fungal Community: its organization and role in the Ecosystem*. Marcel Dekker, New York, p. 499-520, 1992.
- D´Mello, J.P.F.; MacDonald, A. M.C. Mycotoxins. *Animal Feed Sci. and Technol.*, 69:155-166, 1997.
- Domsch, K.H.; Gams, W.; Anderson, T.H. *Compendium of soil fungi*. Academic Press. London, UK, 1980.859p.
- Driemeier, D.; Barros, S.S.; Peixoto, P.V.; Tokarnia, C.H.; Döbereiner, J.; Brito, M.F. Estudos histológico, histoquímico e ultraestrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (foam cells.). *Pesq. Vet. Bras.*, 18:29-34, 1998.
- Esposito, E.; Azevedo, J.L. Fungos: *uma introducao a biologia, bioquimica e biotecnologia*. Educus., Caxias do Sul, 2004, 510p.
- Fahey, J.W. Endophytic bacteria for the delivery of agrochemicals to plants. In: H.O., Cutler, (ed). *Biologically Active Natural Products. Potential Use in Agriculture*. American Chemical Society Symposium, Washington, p.120-128,1988.
- Fernandes, C.F. Expressão de enzimas relacionadas ao estresse oxidativo e ao mecanismo de defesa do feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Briosi & Cav. Fortaleza, 2004, 162p. (Tese de Doutorado. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. UFC).
- Flor, H.H. The complementary genetic system in flax rust. *Adv. Genet.*, 8:29-59, 1956.
- Freeman, S; Rodriguez, R.J. Genetic conversion of a fungal plant pathogen to an nonpathogenic, endophytic mutualist. *Science*, 260: 75-78, 1993.

Futuyma, D. *Biologia Evolutiva*. Sociedade Brasileira de Genética e CNPq. 2ª ed. Ribeirão Preto. 1992, 631p.

Garbaye, J. Competitivité des champignons ectomycorhiziens: premiers résultats et application à la sélection de souches pour la mycorhization contrôlée du hêtre et du chêne rouvre dans le nord-est de la France. *Revue Forestière Française*, 36(1):33-43, 1984.

Garbaye, J. Utilisation des mycorhizes en sylviculture. In: Strullu, D.G. (ed). Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées Lavoisier. Paris, p.197-250, 1990.

Guenoune, D.; Galili, S.; Phillips, D.A.; Volpin, H.; Chetokon, Y.; Kapulnik, Y. The defense response elicited by pathogen *Rhizoctonia solani* is suppressed by colonization of the AM-fungus *Glomus intradices*. *Plant. Sci.*, 160:925-932, 2001.

Hallmann, J.; Quadt-Hallmann, A.; Mahaffee, W. F.; Kloepper, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.*, 43:895-914, 1997.

Hallman, J.; Sikora, R.A. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soilborne plant pathogenic fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 102:55-162, 1996.

Howell, C.R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.*, 87:4-7, 2003.

Hudson, H.J. *Fungal Biology*. Edward Arnold (Publishers) Ltda. London. 1986, 730p.

Janos, D.P. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica*, 12(2):56-64, 1980.

Judd, W.S; Campbell, C.S; Kellog, E.A; Stevens, P.F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA. XVI. 2002, 464 p.

Jolly, A.B. *Botânica: Introdução à taxonomia vegetal*. Editora Nacional, São Paulo, 8ª. ed. 1991, 777p.

Kanda, K.; Hirai, Y.; Koga, H.; Hasegawa, K. Endophyte-enhanced resistance in perennial ryegrass and tall fescue to bluegrass webworm. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 38: 141-145, 1994.

Keen, N.T. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. *Ann. Rev. Genet.*, 24: 447-463, 1990.

Kelemu, S.; Wite, J. F.; Munoz, F.; Takayama, Y. An endophyte of the tropical forage grass *Brachiaria brizantha*: isolating, identifying and characterizing the fungus and determining its antimycotic properties. *Can J. Microbiol.*, 47:55-62, 2001.

Kelemu, S.; Dongyi, H.; Guixiu, H.; Takayama, Y. Detecting and differentiating *Acremonium implicatum*: Developing a PCR-based method for an endophytic fungus associated with the genus *Brachiaria*. *Mol. Plant Pathol.*, 4(2): 115-118, 2003.

Kelemu, S., Dongyi, H., Guixiu, H. and Takayama, Y. A PCR-based assay for specific detection of *Acremonium implicatum*, an endophytic fungus in species of *Brachiaria*. *Phytopathol.*, 92:541-549. 2002.

Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C. & Stalpers, J.A. Dictionary of the fungi. 9ª ed. CAB international Wallingford (UK) 2001, 655p.

- Knooge W. Fungal infection of plants. *Plant Cell*, 8:1711-1722, 1996.
- Lamont, B.B.; Ralph, C.S.; Christensen, P.E.S. Mycophagous marsupials as dispersal agents for ectomycorrhizal fungi on *Eucalyptus calophylla* and *Gastrolobium bilobum*. *New Phytologist.*, 101:651-656, 1985.
- Latch, G.C.M. Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts: biotic stress tolerance imparted to grasses by endophytes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 44:143-156, 1993.
- Leuchtman, A.; Clay, K. *Atkinsonella hypoxylon* and *Balansia cyperi*, epiphytic members of the Balansiae. *Mycologia*, 80:192-199, 1988.
- Lindsay, W.P.; Lamb, C.J.; Dixon, R. Microbial recognition and activation of plant defense systems. *Trends in Microbiol.*, 1(5):181-186, 1993.
- Macedo, M.C.M. Pastagens no ecossistema do cerrado: pesquisas para o desenvolvimento sustentável. Simpósio Sobre Pastagens Nos Ecossistemas Brasileiros: Pesquisas Para O Desenvolvimento Sustentável. Brasília, p.28-62,1995.
- Macedo, M.C.M. Pastagens no ecossistema cerrado: Evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Goiânia A Produção animal e o foco no agronegócio.anais. Goiânia: SBZ: 42,2005,. Universidade Federal de Goiás, p.56-84, 2005.
- Marques, M.R.; Buckeridge, M.S.; Braga, M.R.; Dietrich, S.M.C. Characterization of an extracellular endopolygalacturonase from the saprobe *Mucor ramosissimus* and its action as trigger of defensive response in tropical plants. *Mycopathologia*, No prelo. 2006.
- Matta, A. Mechanisms in non-host resistance. In: Wood, R.K.S. (ed) *Active defense mechanisms in plants*. Plenum Press, New York, p.119-141, 1982.
- Mattos J.S.; Gomide J.A.; Martinez C.A. Crescimento de espécies de *Brachiaria* sob déficit hídrico e alagamento em campo. *Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science*, 34(3):22-29, 2005.
- Mayer, A.M. Plant-fungal interactions: a plant physiologist viewpoint. *Phytochem.*, 28(2):311-317, 1989.
- Mcallister, C.M., Garcia-Romera, I., Godeas, A., Ocampo, J. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophytic inoculants. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(10):1363-1367, 1994.
- Metting Jr., F.B. *Structure and physiological ecology of soil microbial communities*. Marcel Dekker, Inc. New York, p 3-25,1993.
- Monteiro, M.C.C.; Lucas, E.D.; Souto, S.M. Estudo de seis espécies forrageiras do gênero *Brachiaria*. *Pesq. Agropec. Bras. sér. Zootec.*, 9(3):17-20, 1974.
- Moore, J.C.; Berlow, E.L.; Coleman, D.C.; De Ruiter, P.C.; Dong, Q.; Johnson, N.C.; McCann, K.S.; Melville, K.; Morin, P.J.; Nadelhofer, K.; Rosemond, A.D.; Post, D.M.; Sabo, J.L.; Scow, K.M.; Vanni, M.J.; Wall, D.H. Detritus, trophic dynamics, and biodiversity. *Ecol. Lett.*, 7:584-600, 2004.

- Murray, F.R.; Latch, G.C.M. and Scott, D.B. Surrogate transformation of perennial ryegrass *Lolium perenne* using genetically modified *Acremonium* endophyte. *Molecular General Genetics*, 233:1-9, 1992.
- Pastuglia M.; Roby D., Dumas C.; Cock J.M. Rapid induction by wounding and bacterial infection of an S gene family receptor-like kinase gene in *Brassica oleracea*. *Plant Cell*, 9(1):49-59, 1997.
- Peixoto Neto, P.A.S.; Azevedo, J.A.; Araújo, W.L. Microorganismos Endofíticos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, 29:62-76, 2002.
- Perotti, R. On the limits of biological enquiry in soil science. *Proc.Int. Soc. Soil Sci.*, 2:146-161, 1926.
- Petrini, O. Taxonomy of endophytic fungi of aerial plant tissues *In*: N.J. Fokkema, N.J.; J. Heuvel, J.; Van Den, J. (eds). *Microbiology of Phyllosphere*. Cambridge University Press, London, U.K, p.175-187, 1986.
- Raven, F.H.; Evert, R.T.; Curtis, H. *Biologia Vegetal*. 6^a ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001, 906p.
- Read, D.J. Mycorrhiza - The state of the art. *In*: Varma, A.; Hock, B. (eds). *Mycorrhiza*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, p.3-34, 1999.
- Redman, R.S.; Freeman, S.; Clifton, D.R.; Morrel, J.; Brown, G; Rodriguez, R.J. Biochemical analysis of plant protection afforded by a nonpathogenic endophytic mutant of *Colletotrichum magna*. *Plant Physiol.*, 119:795-804, 1999.
- Rodrigues, K.F.; Dias-Filho, M. Fungal endophytes in the tropical grasses *Brachiaria brizanta cv.marandu* and *B.humidicola*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 31(12):905-909, 1996.
- Rodriguez, R.J.; Redman, R.S. Fungal life-styles and ecosystem dynamics: biological aspects of plant pathogens, plant endophytes and saprophytes. *Advances in Botanical Research*, 24:169-193, 1997.
- Salermo, A.R.; Vetterle, C.P.; Deschamps, F.C.; Freitas, E.A.G. Gramíneas forrageiras estivais perenes no Baixo Vale do Itajaí. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina, Florianópolis, *Boletim Técnico*, 49, 1990.
- Saykkonen, K.; Faeth, S.H.; Helander, M.; Sullivan, T.J. Fungal endophytes: A Continuum of Interactions With Host Plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 29: 319-343, 1998.
- Scarpari L.M.; Lambais M.R.; Carraro D.M.; Carrer H.; Cell-density dependent expression of *Xylella fastidiosa* putative pathogenesis-related genes. I Simpósio Genoma Funcional da *Xylella fastidiosa*. Resumos. Serra Negra, SP, 2003.
- Schenk, M.A.M.; Schenk, J.A.P. Aspectos gerais da fotossensibilização hepatógena de bovinos. *Comunicado Técnico*. EMBRAPA-CNPQC, 19: 7, 1983.
- Sendulsky, T. Chave para identificação de *Brachiaria*. *J. Agroceres*, 5(56): 4-5, 1977.
- Siqueira, E.R. Comportamento inicial de espécies florestais exóticas na região da Mata Atlântica de Sergipe. *Árvore*, 26(1):13-17, 2002.

- Siqueira, J.O. Micorrizas arbusculares. *In*: R.S. Araújo, R.S.; Hungria, M. (eds). *Microrganismos de importância agrícola*. EMBRAPA: SPI., p.151-194, 1994
- Siqueira, J.O.; Saggin-Junior, O. J. The importance of mycorrhizae association in natura in low fertility. *In*: Machado, A.T.; Magnavaca, R.; Pandey, S; Silva, A.F. (eds). *Proc. Int. Symposium on Environmental Stress: maize in perspective*. Anais, Sete Lagoas: EMBRAPA, p.240-280, 1995.
- Siqueira, J.O.; Franco, A.A. *Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas*. Brasília: MEC/ABEAS/ESAL/FAEPE, 1988, 236p.
- Smith, S.E.; Read, D.J. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London, U.K. 1997, 605p.
- Stamford, T.L.M.; Araújo, J.M.; Stamford, N.P. Atividade enzimática de microrganismos isolados do jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 18(4):382-385, 1998.
- Stierle, A.; Strobel, G.; Stierle, D. taxol and taxane production by *Taxomyces andreane*, an endophytic fungus of pacific yew. *Science*, 260: 214-216, 1993.
- Strobel, G. A.; Miller, R. V.; Martinez-miller, C.; Condrón, M. M.; Teplow, D. B.; Hess, W. M. Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Microbiology*, 17:417-423, 1999.
- Valle, L. da C.S.; Valério, J.R.; Souza, O.C. de; Fernandes, C.D.; Correa, E.S. Embrapa. Diagnostico de morte de pastagens nas regiões Leste e Nordeste do Estado de Mato Grosso. Campo Grande. Embrapa Gado de Corte. *Documentos* 97. 2000, 13p.
- Valle; C.B.; Jank, L.; Resende, R.M.S. Lançamentos de cultivares de forrageiras: o processo e seus resultados – cvs. Massai, Pojuca, Campo Grande, Xaraés. Núcleo de Estudos em Forragicultura. Universidade Federal de Lavras. Lavras. MG., p.179-225, 2003.
- Varma, A.; Sudha, S.; Franken, P. *Piriformospora indica*: a cultivable plant growth promoting root endophyte with similarities to arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65:2741-2744, 1999.
- Verzignassi, J.R.; Fernandes, C.D. Doenças em forrageiras. Embrapa: Campo Grande, MS. *Comunicado Técnico*, 200(50):32-39, 2001.
- Volksch, B.; Ullrich, M.; Fritsche, W. Identification and population dynamics of bacteria in leaf spots of soybean. *Microbial Ecology*, 24:305-311, 1992.
- Yedidia, I.; Shores, M.; Kerem, Z.; Benhamou, N.; Kapulnik, Y.; Chet, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperillum* (T-203) and the accumulation of phytoalexins. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69:7343-7353, 2003.
- Yedidia I, Srivastva AK, Kapulnik Y and Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil*, 235:235-242, 2001.

Yedidia, I.; Benhamou, N.; Chet, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65:1061-1070, 1999.

Zimmer, A. H.; Euclides, V. P. B.; Filho, K. E.; Macedo, M. C. M. Considerações sobre índices de produtividade da pecuária de corte em Mato Grosso do Sul. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, *Doc. 70*. 1998, 53p

Wang, J.; Li, G.; Lu, H.; Zheng, Z.; Huang, Y.; Su, W. Taxol from *Tubercularia* sp. strain TF5, an endophytic fungus of *Taxus mairei*. *FEMS-Microbiology Letters*, 193:249-253, 2000.

Scope and editorial policy

Brazilian Journal of Microbiology, published by the Brazilian Society of Microbiology, publishes original research papers, research notes and, occasionally, reviews, covering all aspects of Microbiology.

The following categories of papers are acceptable for publication in **Brazilian Journal of Microbiology**:

Research paper: the research paper reports results of original research, which has not been published elsewhere.

Short Communication: a Short Communication is a concise account of new and significant findings.

Mini-review: Review articles should deal with microbiological subjects of broad interest. Specialists will be called upon to write the reviews.

Submission of a manuscript

Submission of a manuscript to Brazilian Journal of Microbiology is understood to imply that it has not previously been published (except in an abstract form) and that it is not being considered for publication elsewhere.

All manuscript should be typewritten in English and submitted in triplicate to the [Editors](#). **A disk or CD with the text should also be included.** Manuscripts submitted by **fax** or **Email** will **not be accepted**.

Publication of a manuscript

Manuscripts are accepted for publication after having been critically reviewed. Referees are indicated by the Editors. The manuscript will be returned to the nominated author for revision according to suggestions made by the reviewers. The author should return the reviewed manuscript to the Editors within the stipulated date. The author is notified when a manuscript is received and also when it is accepted or rejected for publication.

On acceptance of a paper, the nominated author will be requested to send the text in a computer disquette. Galley proofs will be sent to the author for correction. They should be checked carefully and handed promptly according to

instructions which are attached.

Membership in Brazilian Society for Microbiology is not a prerequisite for submission of a manuscript for publication. Nonmember scientists from Brazil and other countries are invited to submit papers for analysis.

Submission of a manuscript implies that all authors and their institutions have agreed with its publication. Responsibility for the accuracy of the manuscript content lies entirely with the author.

Preparation of originals

General

1. *All manuscripts* should be typed double-spaced with 3 cm margins and pages should be numbered sequentially. Manuscripts must be written in English, and include an abstract in Portuguese (*Resumo*). The Editors recommend that a manuscript should be critically read by someone fluent in English before submission. Manuscripts written in poor English will not be accepted.
2. The paper should be organized in topics, as described in the next paragraph. The name of the topics should be typed in capital letters (e.g. ABSTRACT, INTRODUCTION, etc). Citation of tables and figures should initiate with capital letters (e.g. as shown in Table 1..., as presented in Fig.2..., etc).
3. *Research papers* consists of 12 to 15 double-space typewritten pages **including references, tables and figures**. An abstract (*Resumo*) with title and three to five key-words (*Palavras-chave*) in Portuguese must be provided. The text should be restricted to 15 printed pages, **including references, tables and figures**.
4. *Short Communications* should be restricted to 6 printed pages. It should be written according to the guidelines given for the research papers (see above) but without heading divisions. It's abstract and *resumo* (in Portuguese) should not exceed 50 words. Figures and tables should be restricted to a maximum of two figures or two tables, or one table and one figure. The author should state that the manuscript is a short communication so that it can be properly evaluated during the review process.
5. *Mini-review*: In addition to the Abstract in English and in Portuguese (*Resumo*), they may contain a list of contents.

6. *Abbreviations* of terms and symbols should follow the recommendations of IUPAC-IUB Commission and the Metric System is to be used throughout.
7. As a rule, the references in the text should be cited by their numbers. Exceptionally, when authors are mentioned in the text, the mention should be done according to the following examples: Bergdoll (number) reported that..., Bailey and Cox (number) observed that..., or Smith *et al.* (number) mentioned that... Do not use capital letters.
8. Authors of accepted papers will be requested to send a 3 1/2" disk or CD containing the text prepared in a P.C. based word processor. Authors may also send this material by e-mail.

Organization

Title page: A separate page should be used to give the title of the paper, complete name (including first name and middle initials) and affiliation of each author. An asterisk should be placed after the name of the author to whom correspondence about the paper should be sent. The telephone and fax numbers and e-mail address of this author should be given in the bottom of the page. No text of the manuscript should appear on the title page. The title should be as brief as possible, contain no abbreviations and be truly indicative of the subject of the paper. Expressions like "Effects of", "Influence of", "Study on", etc, should be avoided. Care should be exercised in preparing the title since it is used in literature retrieval systems.

Abstract: The abstract should be typed in a separate page and should not exceed 250 words. It should summarize the basic content of the paper. The abstract should be meaningful without reference to the text. An abstract should not contain references, tables or unusual abbreviations. Abstracts are reprinted by abstracting journals and therefore will be read by persons who do not have access to the entire paper. Three to five key-words should be provided.

Resumo: *Resumo* is the abstract written in Portuguese. Its preparation should follow the same recommendations for the Abstract in English. The *resumo* should also contain a title in Portuguese. The rules for the title in Portuguese are the same as for the title in English (see above). Three to five *palavras-chave* (key-words) have also to be included. The *resumo* and the title in Portuguese should also be typed in a separate page.

Introduction: The introduction should begin on a new page and provide the reader with sufficient information so that the results reported in the paper can be properly evaluated

without referring to the literature. However, the introduction should not be an extensive review of the literature. The introduction should also give the rationale for and objectives of the study that is being reported.

Materials and methods: This section should provide enough information for other investigators to repeat the work. Repetition of details of procedures which have already been published elsewhere should be avoided. If a published method is modified, such modification(s) must be described in the paper. Sources of reagents, culture media and equipment (company, city, state, country) should be mentioned in the text. Names that are registered trade marks should be so indicated. Subheading often make this section easier to read and understand.

Results: This section should, by means of text, Tables and/or Figures, give the results of the experiments. If a *Discussion* section is to be included, avoid extensive interpretation of results but do so in the *Discussion* section. If *Results and Discussion* are combined, then results should be discussed where, in the text, is the more appropriate. Tables should be numbered independently of the figures using Arabic numerals. All tables and figures must be mentioned in the text. The approximate location of tables and figures in the text should be indicated.

Discussion: This section should discuss the results in relation to the literature cited.

References: Should be numbered consecutively and in alphabetical order, by last name of the author. All authors must be cited. References should be cited in the text by their numbers. Journal names should be abbreviated according to *Biological Abstracts* or *Chemical Abstracts*. All references given in the list should be cited in the text and all references mentioned in the text should be included in the list.

Examples:

a. Journal article

Camello, T.C.F.; Mattos-Guaraldi, A.L.; Formiga, L.C.; Marques, E.A. Nondiphtherial *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens in a University Hospital, Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 34 (1), 39-44, 2003.

b. Paper or chapter in a book

Franco, B.D.G.M.; Landgraf, M.; Destro, M.T.; Gelli, D.S. Foodborne diseases in Southern South America. *In: Miliotis, M.D., Bier, J.W. (eds). International Handbook of Foodborne Pathogens.* Marcel Dekker,

- New York, 2003, p.733-743.
- c. Book
- Salyers, A.A.; Whitt, D.D. *Bacterial pathogenesis. A molecular approach*. ASM, Washington, 1994, 418p.
- d. Patent
- Hussong, R.V.; Marth, E.H.; Vakaleris, D.G. Manufacture of cottage cheese. *U.S. Pat. 3,117,870*. Jan.14, 1964.
- e. Thesis
- Dilkin, P. *Intoxicação oral prolongada de suínos por aflatoxina B1 e fumonisinas*. São Paulo, 2003, 130p. (Ph.D. Thesis. Instituto de Ciências Biomédicas. USP).
- f. Communications in events (Symposia, Conferences, etc)
- Korenblum, E.; Sebastián, G.V.; Rosado, A.S.; Seldin, L. Production of antimicrobial substances by different *Bacillus* strains isolated from oil reservoirs. XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia, Foz do Iguaçu, 2001, p.35.
- g. Publication in the web
- De Marco, J.L.; J.L.; Felix, C.R. Characterization of a protease produced by a *Trichoderma harzianum* isolate which controls cocoa plant witches´broom disease. *BMC Biochemistry*, <http://www.biomedcentral.com/1472-2091/3/3>, 2002.

References citing "personal communication" or "unpublished data" are discouraged, although it is recognized that sometimes they must be used. In these cases, they should be cited in the text and not in the list of references.

References consisting of papers that are "accepted for publication" or "in press" are acceptable. However, references of papers that are "submitted" or "in preparation" are not acceptable.

Acknowledgments: This section is optional and should be presented in a separate page. It acknowledges financial and personal assistance. This page will not be included in the total number of pages of the manuscript.

Tables: Tables should not be included in the text. Each table must be typed in a separate sheet and numbered sequentially in Arabic number. The title of a table should be placed in the top of it and should be brief but fully descriptive of the information contained. Headings and subheadings should be concise with columns and rows of data carefully

centered below them.

Figures: Arabic numbers should be used to number the figures. Data presented in the tables should not be repeated in the figures. The legend of the figures should be placed at their bottom.

Photographs and line drawings: Should be kept to a minimum strictly necessary for the understanding of the paper. Photoprints should be of sufficient quality to ensure good reproduction. They should be numbered on the back and identified with the nominated author's name. Legends of line drawings and photographs should not exceed the printing area. All elements in the drawing should be prepared to withstand reductions. Drawings and line figures should be drawn or printed in black and should be prepared as indicated for the photographs. Colored illustrations are not accepted.

Reprints: Ten reprints of each paper will be mailed to the nominated author, free of charge. Additional reprints may be ordered and will be charged.

[\[Home\]](#) [\[About this journal\]](#) [\[Editorial board\]](#) [\[Subscription\]](#)

© *SBM*

Departamento de Microbiologia - ICB II - USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374 - Sala 214
Cidade Universitária
05508-900 São Paulo SP - Brasil
Tel. / Fax: +55 11 3813-9647



bjm@sbmicrobiologia.org.br

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS E SAPROFÍTICOS DE *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex Rich.) Stapf. cv MARANDU E cv XARAÉS

Valdívia Rocha Morceli¹; Yvelise Maria Possiede²; Josué Raizer²; Maria Cristina de Souza Motta,³; Débora Maria Massa Lima³; Maria José dos Santos Fernandes³; Camila de Lima Silva²; Vivian Almeida Assunção²; Maria Rita Marques^{1*}

- (1) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Departamento de Morfofisiologia, MS, Brasil (2) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Departamento de Biologia, MS, Brasil; (3) Universidade Federal de Pernambuco/Departamento de Micologia, PE, Brasil.

* Autora para correspondência: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Departamento de Morfofisiologia. Laboratório de Bioquímica. Caixa Postal 549. CEP 79070-900. PABX: (0xx67) 3345-7000. Fax: (0xx67) 3345-7015. e-mail: mrmrx@nin.ufms.br

Tendo em vista a grande importância da espécie *Brachiaria brizantha* para a pecuária brasileira e devido à escassez de informações sobre as interações entre fungos não patogênicos e esta espécie vegetal, o presente trabalho teve por objetivos o isolamento e identificação de fungos endofíticos e saprofíticos associados aos cultivares Marandu e Xaraés em áreas submetidas ao pastejo e em áreas livres da presença do gado, em campos experimentais da Embrapa Gado de Corte em Campo Grande (MS). Amostras foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos estéreis. Folhas e caules foram submetidos à esterilização prévia e fragmentos deste material foram inoculados em meio de cultura. Após 7 dias, iniciou-se o isolamento das colônias de endofíticos. Material vegetal morto (serrapilheira) foi submetido à agitação em água destilada estéril por 24 horas. Alíquotas da água de lavagem foram inoculadas em meio de cultura, para isolamento dos fungos saprofíticos. Para os dois grupos de fungos utilizou-se meio de cultura BDA contendo malte, cloranfenicol e gentamicina. Foram isoladas 30 espécies de 14 gêneros diferentes, sendo os mais frequentes *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., comumente associados a espécies vegetais. Este estudo mostrou que existe variação na composição de fungos epifíticos e saprofíticos associados aos cultivares Marandu e Xaraés de *B.brizantha*. Verificou-se também que esta composição é relativamente alterada em amostras submetidas ao pastejo por gado, quando comparadas com aquelas presentes em áreas sem pastejo. Das espécies isoladas, somente quatro são reconhecidamente patogênicas para gramíneas (*Acremonium strictum*, *Dreschlera bicolor*, *Fusarium moniliforme* e *Colletotrichum dematium*), embora não tenham sido registrados sintomas de doenças causadas por essas espécies nas amostras analisadas. Grande parte dos gêneros isolados é considerada neutra ou parasita oportunista (e.g., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp, *Aspergillus* sp.). As espécies dos gêneros de *Rizhopus* sp., *Trichoderma* sp., *Nigrospora* sp., *Paecilomyces* sp. e *Verticillium* sp. apresentam interações mutualísticas altamente benéficas em outros sistemas fungo endófito-planta. Sugere-se que exista este mesmo tipo de interação entre os gêneros citados e os dois cultivares de *B.brizantha* analisados. Sugere-se também que a sanidade observada nas amostras pode ser decorrência da presença de fungos endofíticos benéficos associados.

Palavras-chave: micobiota, mutualismo, pastejo; saprofitismo

ABSTRACT

The species *Brachiaria brizantha* plays a basic role in the sustainability of the Brazilian cattle raising, being the used forage in pastures in Brazil. Due to scarcity of information on the interactions between nonpathogenic fungi and this vegetal species, the present work had for objectives the isolation and identification of endophytic fungi and saprophytic associated to cv Marandu and Xaraés in areas submitted to grazing and those free of the cattle. The experiment was carried out in experimental fields of the Embrapa Beef Cattle in Campo Grande (MS). Samples had been collected and stored in sterile plastic bags. Leaves and stems had been submitted to the previous sterilization and fragments of this material were inoculated in culture medium. After 7 days, the isolation of the colonies of endophytics was initiated. Dead vegetal material (litterfall) was submitted to stirring in distilled and sterile water for 24 hours. Aliquot of the water extract were inoculated in culture medium in order to isolate saprophytic fungi. For the two groups of fungi it was used BDA culture medium containing malt, chloramphenicol and gentamicin. It was isolated 30 species of 14 different genera, being the most frequent *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp., which are usually associated to vegetal species. This study showed that exist variation in the composition of epiphytic fungi and saprophytic associated to the cultivation Marandu and Xaraes of *B.brizantha*. It was also verified that this composition relatively is modified in samples submitted to grazing for the cattle, when compared with those located in areas without grazing. Among the isolated species, only four are admittedly pathogenic for grassy (*Acremonium strictum*, *Dreschelera bicolor*, *Fusarium moniliforme* and *Colletotrichum dematium*), although there has not been registered symptoms of illnesses caused for these species in the analyzed samples. Great part of the isolated species is considered neutral or opportunist parasites (e.g., *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*). The species of the genera *Rizhopus* sp, *Trichoderma* sp, *Nigrospora* sp, *Paecilomyces* sp and *Verticillium* sp present highly beneficial mutualistic interactions in other systems endophytic fungi-plant. It is suggested that there is the same type of interaction between the mentioned genera and the two analyzed cultivation of *B.brizantha*. It is also suggested that the health observed in the samples, can be in result of the presence of associated beneficial endophytic fungi.

Key words: mycobiota, mutualism, pasture, saprofitism

INTRODUÇÃO

No Brasil, a bovinocultura de corte vem se consolidando como atividade competitiva, tendo expressiva participação no produto interno bruto. Aproximadamente 90% da produção de carne é proveniente de sistemas de criação extensivos (ANUALPEC, 2004). A alimentação do rebanho exclusivamente em pasto, chamado boi verde ou boi de pasto, tem efeito diferencial no mercado, aquecendo as exportações da carne brasileira. Estima-se que as pastagens cultivadas nas regiões tropicais do país ocupem uma área superior a 90 milhões de hectares (Andrade *et al.*, 2004). As espécies do gênero *Brachiaria* são as forrageiras predominantes, sobretudo nas regiões Centro-Oeste e Norte do país. Entre essas, *B.brizantha* (Hochst ex-A.Rich) Stapf cv Marandu (popularmente conhecida como capim-marandu ou brizantão) é a mais cultivada (Andrade e Valentim, 2004). Com o objetivo de promover a diversificação de espécies forrageiras nas pastagens do gênero *Brachiaria*, a Embrapa Gado de Corte (Campo Grande-MS) lançou em 1996 um novo cultivar denominado Xaraés. É uma forrageira de estabelecimento rápido e com rebrotação superior à do cultivar Marandu (Valle *et al.*, 2003). Juntos, os cultivares Marandu e Xaraés ocupam mais de 50% das áreas de pastagens da região Centro Oeste (Macedo, 2005) e 65 % das pastagens da região Norte (Dias-Filho e Toledo, 1993; Dias-Filho, 2005).

Com a expansão das pastagens cultivadas e intensificação da atividade pecuária nos últimos anos, várias doenças em espécies de *Brachiaria* começaram a ter importância significativa, especialmente nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil, causando perdas na produtividade e na qualidade das pastagens. Informações referentes aos agentes causais dessas doenças nas pastagens e nos campos de produção de sementes, bem como sua influência na capacidade de suporte e produtividade da braquiária são escassas. Também são raros os resultados de pesquisa quanto à influência de patógenos na germinação, vigor e na sanidade das sementes visando sua conservação (Verzignassi e Fernandes, 2001). Entre as doenças consideradas mais importantes está a mela-das-sementes da braquiária, causada pelo fungo *Claviceps sulcata* (Versignassi e Fernandes, 2001); a morte de *B.brizantha* cv. Marandu causada pelos fungos *Pythium perillum* associado a *Rhizoctonia solani* em áreas com alta precipitação anual (Albuquerque *et al.*, 2000) e o carvão da braquiária, provocado pelo fungo *Ustilago operta*, que afeta a produção de sementes em pelo menos um tipo de *Brachiaria brizantha* (Versignassi e Fernandes, 2001).

Em um levantamento realizado em pastagens de gramíneas nativas endêmicas no Kenya, foram identificados 58 gêneros de fungos filamentosos, a maioria deles, associada ao filoplano, de modo epifítico. Entre os mais freqüentes, estão os gêneros *Alternaria*, *Pithomyces*, *Phoma*, *Bipolaris*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Periconia* e *Nigrospora* (Caretta, *et al.*, 1999). Um colonizador comum encontrado em gramíneas, no Kenya, foi a espécie *Leptosphaerulina chartarum* e seu anamorfo *Pithomyces chartarum*, que embora tenha distribuição por todo o mundo, somente na Nova Zelândia, Austrália e América do Sul, incluindo o Brasil, cresce como saprofítico, produzindo um grande número de esporos contendo esporodesmina, cujo consumo causa eczema facial em ovelhas (Caretta, *et al.*, 1999).

Um dos poucos estudos de espécies fúngicas não patogênicas que interagem com o gênero *Brachiaria* no Brasil foi realizado por Rodrigues e Dias-Filho (1996). Os autores fizeram um levantamento da microbiota endofítica associada a *B.brizantha* cv. Marandu e *B. humidicola* no estado do Pará, e encontraram, em sua maioria, espécies pertencentes aos Deuteromicetos e uma menor freqüência de Ascomicetos. Alguns gêneros como *Curvularia*, *Phoma* e *Fusarium* foram encontrados nas duas espécies de *Brachiaria*.

Nas últimas décadas tornou-se evidente que os fungos simbiotes ou que estabelecem interações neutras desempenham papel crítico na estrutura, função e equilíbrio das comunidades de plantas (Read, 1999). Na maioria dos casos estudados estas interações têm se mostrado muito benéficas e podem estar relacionadas à sanidade vegetal, já que atuam no controle do crescimento de microrganismos patogênicos, inibem a herbivoria por insetos, e a vários estresses abióticos, que em conjunto, aumentam a capacidade adaptativa da planta (Peixoto Neto *et al.*, 2002). Algumas evidências também mostram que fungos endofíticos podem influenciar na dinâmica de populações, na diversidade da comunidade vegetal e na função de uma determinada espécie dentro de um ecossistema. Estudos mais recentes sugerem que interações planta-endófito são variáveis e vão do antagonismo ao mutualismo. Tintjer e Rudgers (2006) discutem a história de vida de algumas dessas interações e propõe que fatores como reprodução e padrão de infecção do endófito, bem como a variação fenotípica além de outros fatores ecológicos, influenciam a direção e a força da interação endófito-planta hospedeira.

Azevedo e colaboradores (2000, 2002) ressaltam a extrema importância da presença de endofíticos no controle de pragas e doenças na agricultura. Estes autores propõem o desenvolvimento de programas de melhoramento vegetal voltados para a introdução de espécies endofíticas que contribuam para o estabelecimento de novas características agronômicas. Microorganismos endofíticos podem ser utilizados como vetores para introdução de genes de em plantas (Fahey, 1988; Murray *et al.*, 1992), como agentes inibidores de pragas e patógenos (Volksch *et al.*, 1992; Hallmann e Sikora, 1996) ou como fontes de metabólitos primários (Stamford *et al.*, 1998) e secundários de interesse. Algumas espécies de *Brachiaria* têm desenvolvido características agronômicas que são atribuídas à sua interação com o fungo endofítico *Acremonium implicatum*, como o aumento de resistência a doenças importantes como a mancha foliar causada pelo fungo *Rhizoctonia* sp. e à doenças causadas por *Drechslera* sp., além de maior tolerância à seca e ao ataque de insetos (CIAT, 2004).

Os fungos saprófitos são conhecidos há muito tempo como decompositores da matéria orgânica, utilizando um sistema de enzimas digestivas secretadas no ambiente, desempenhando um papel fundamental na manutenção do equilíbrio de ecossistemas (Moore *et al.*, 2004). Mais recentemente, os sapróbios têm sido considerados importantes indutores de resistência (Guenoune *et al.*, 2001; Yedidia *et al.*, 2003). Existem fortes evidências de que os sapróbios induzem a produção de compostos de defesa em plantas em concentrações suficientemente altas para prevenir seu crescimento *in vitro*. Portanto, a presença destes fungos na superfície de plantas não é inteiramente passiva desde que podem induzir proteção contra infecções subseqüentes por patógenos (Yedidia *et al.*, 1999). Além disso, alguns autores verificaram que fungos sapróbios são capazes de penetrar tecidos vivos sem causar doenças (Yedidia *et al.*, 1999; Yedidia *et al.*, 2003). Marques (2006) demonstrou haver alguma correlação entre o aumento da resistência de *Palicourea marcgravii*, uma espécie vegetal nativa da Mata Atlântica, com a presença de esporos do fungo sapróbio *Mucor ramosissimus* na superfície foliar desta espécie vegetal. Muitos sapróbios são micoparasitas de fungos patogênicos, limitando seu crescimento e atividade, outros podem desencadear alterações morfológicas e bioquímicas consideradas como parte importante das respostas de defesa de plantas (Carsolio *et al.*, 1999).

Tendo em vista a grande importância da espécie *Brachiaria brizantha* para a pecuária brasileira e devido à escassez de informações sobre as interações entre

fungos não patogênicos e esta espécie vegetal, o presente trabalho visa o isolamento e identificação de fungos endofíticos e saprofíticos associados a estes dois cultivares em áreas submetidas à pastejo e em áreas livres da presença do gado. O resultado deste trabalho permitirá verificar se existe diferença na frequência e diversidade das espécies fúngicas nos diferentes cultivares e na presença e ausência de pastejo pelo gado.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de coleta

O material vegetal foi coletado em campos experimentais denominados áreas de produção de sementes de pastagem (APSP) e em áreas de pastagem convencional (PC) do Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte – CNPGC/EMBRAPA, localizada em Campo Grande, MS, Brasil. Na APSP as gramíneas são plantadas em parcelas de 2 x 2 m, as amostras foram retiradas de todas as plantas das cultivares (cv Marandu e cv Xaraés) em estudo. Nas PCs foram coletadas amostras em áreas de 1 hectare em 20 pontos ao acaso, distantes entre si, no mínimo, 100 m. Amostras da parte aérea das plantas (para isolamento dos fungos endofíticos) e de serrapilheira (para isolamento dos fungos saprofíticos) foram acondicionadas e lacradas em sacos plásticos previamente esterilizados e armazenadas a 4°C. Foi realizada uma coleta, no mês de agosto de 2005, em que a temperatura média mensal foi de 22,3°C e umidade relativa 46%.

Isolamento, purificação e identificação dos fungos

O trabalho de isolamento e purificação foi realizado nos Laboratórios de Bioquímica Vegetal e Biologia Geral da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Para os fungos endofíticos, porções da parte aérea das plantas foram desinfetadas superficialmente por imersão em detergente comercial 10% por 10 minutos, hipoclorito (NaOCl) 10% por 10 minutos, lavagem em água destilada esterilizada, imersão em álcool 70% por 3 minutos. Posteriormente foi realizada lavagem em água destilada por cinco vezes. Após secagem com gaze e papel filtro, caule e folhas foram recortados assepticamente e fragmentos de 1 cm² foram distribuídos em placas de Petri com meio BDA malte, contendo cloranfenicol (100 mg/L) e sulfato de gentamicina (250 mg/L) e

incubados a 35°C até 7 dias. Cada uma das colônias foi transferida para sucessivas placas com o mesmo meio de cultura, e quando puras foram transferidas para tubos com meio inclinado, incubadas e armazenadas a 4°C para posterior análise.

Para o isolamento dos fungos saprofiticos, porções de 40g de serrapilheira foram imersas em frascos com 200 mL de água destilada esterilizada e agitadas continuamente por 48 horas. Alíquotas de 2 mL foram semeadas em placas de Petri com meio BDA malte, adicionado de cloranfenicol (100 mg/L) e sulfato de gentamicina (250 mg/L) e incubados a 35°C de 7 dias até 5 semanas. Cada uma das colônias foi transferida para sucessivas placas com o mesmo meio de cultura, e quando puras foram transferidas para tubos com meio inclinado, incubadas e armazenadas a 4°C para posterior análise. Foram isoladas 150 morfoespécies saprofíticas e 400 morfoespécies endofíticas, sendo que destas foram identificadas até o momento todas as saprofíticas e 340 morfoespécies endofíticas.

A identificação dos fungos foi realizada através da observação das estruturas de reprodução em lâminas a fresco coradas com azul de algodão, por microcultivo (Riddell, 1950) e cultura de lâminas (Dalmau, 1929), após cultivo em meio BDA, BDA malte, suco de tomate, Saborau e Chapek. Este último meio de cultura foi específico para fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Paecylomices* (Lacaz, 1991). As chaves utilizadas para a identificação foram aquelas descritas por Raper, *et al.*, 1949; Rifai, 1969; Booth, 1971; Ellis, 1971; Samson, 1974; Ellis, 1976; Raper e Fennell, 1977; Baijal, 1980; Domsch, 1980; Sutton, 1980; Pitt, 1988; Bissett, 1991a; Bissett, 1991b; Sutton, 1992; Kirk *et al.*, 2001; Klich, 2002; Samson, 2004. O sistema de classificação utilizado foi o proposto por Hawksworth (1995). Os fungos identificados serão depositados na Micoteca do Departamento de Micologia Universidade Federal de Pernambuco.

Análise estatística

Para obter gradientes de variação em composição de espécies de fungos endofíticos, foram utilizadas ordenações por escalonamento multidimensional híbrido (HMDS) (Faith *et al.*, 1987), considerando as matrizes de associação de Sorensen, a partir das matrizes de presença e ausência das espécies de fungos nas amostras. Para interpretar a contribuição relativa de cada espécie com o gradiente da ordenação, calculamos a correlação das espécies com o resultado do HMDS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foram isoladas 32 espécies de 14 gêneros, sendo *Aspergillus* e *Fusarium* os gêneros mais representativos, com cinco espécies amostradas, seguido por *Fusarium*, *Penicillium*, *Curvularia Phoma*, *Paecilomyces*, *Trichoderma* e *Nigrospora*, que são gêneros comumente associados a espécies vegetais (Tabela 1). A maioria das espécies isoladas são anamórficas, exceto *Cunningamela echinulata* e *Rhizopus sp.* pertencentes ao Filo Zigomycota. Dezoito espécies apresentaram-se apenas como endofíticas, nove como endofíticas e saprofíticas e três foram amostradas na serapilheira (Tabelas 2 e 3). Na cv. Marandu foi isolado um maior número de espécies (24spp) que na cv. Xaraés (21 spp) (Tabela 1). Das espécies amostradas nove foram exclusivas da cv. Marandu (*Coletotrichum dematium*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium lateritum*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma aureoviride*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Verticillium lecanii*, *Curvularia lunata*) e cinco da cv Xaraés (*Acremonium strictum*, *Curvularia leonensis*, *Curvularia pallescens*, *Drechslera bicolor*, *Paecilomyces lilacinus*) (Tabela 1).

Nas avaliações estatísticas, pode-se observar que o gradiente obtido pela ordenação (HMDS) das amostras de fungos isolados neste trabalho mostra uma separação clara em composição de espécies entre as variedades de *B.brizantha* (Figura 1). Esta separação reflete dois conjuntos distintos de espécies; um composto por *Acremonium strictum*, *Curvularia pallescens*, *Drechslera bicolor* e *Paecilomyces lilacinus* associadas à variedade Xaraés, e outro composto por *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum* e *Penicillium waksmanii* associadas à variedade Marandu (Figura 1).

Observa-se que a riqueza de espécies de fungos endofíticos é maior em amostras de folhas coletadas nas áreas com pastejo do que nas áreas livres da presença do gado (Tabela 2). Já no caule, o número de espécies é menor e existe pouca diferença entre amostras com e sem pastejo. As espécies *Cunningamela echinulata*, *Drechslera bicolor* *Nigrospora sacchari*, *Penicillium purpurogenum*, *Phoma glomerata* foram isoladas somente em amostras sem pastejo, enquanto apenas *Fusarium moniliforme* foi exclusiva de com pastejo. Já as espécies *Coletotrichum dematium*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium lateritum*, *Penicillium funiculosum*, *Trichoderma aureoviride*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Verticillium lecanii*, *Curvularia lunata* foram isoladas somente em folhas do cv. Marandu com pastejo.

Dentre as 11 espécies que apresentaram correlação maior do que 0,6 com o plano da ordenação, *Fusarium solani* e *Phoma eupirena* não contribuíram para a separação das variedades de *B.brizantha*. Entretanto, na variedade Xaraés a composição de espécies de fungos endofíticos pode ser explicada pelo pastejo, sendo que *Acremonium strictum* e *Fusarium solani* ocorreram principalmente em amostras utilizadas pelo gado e *Curvularia pallescens*, *Paecilomyces lilacinus* e *Phoma eupirena* em áreas sem pastejo (Figura 1). Estes resultados indicam que podem existir fatores genéticos que determinam associações específicas para cada cultivar. Observa-se também que o pastejo alterou a composição de espécies de fungos endofíticos nos dois cultivares, o que pode aumentar ou diminuir a capacidade adaptativa da planta, bem como sua resistência a fungos patogênicos e outros herbívoros.

A Tabela 3. descreve as espécies de fungos saprofitos isolados da serrapilheira de *B.brizantha* cv Marandu e cv Xaraés, respectivamente. No cultivar Marandu prevaleceram os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, enquanto no cv Xaraés o gênero *Aspergillus* foi dominante. Como observado em endofíticos, a riqueza de espécies de saprofitos foi maior no cv Marandu do que no cv Xaraés. As espécies *Cunninghamella equinulata*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium funiculosum* e *Penicillium purpurogenum* foram isolados exclusivamente em áreas sem pastejo (Tabelas 3). *Acremonium strictum* e *Penicillium waskmanii* foram encontradas exclusivamente em áreas com pastejo.

Nas amostras da variedade Marandu que não sofreram pastejo ocorreu o maior riqueza de espécies de fungos saprofitos (dez), enquanto naquelas com gado registramos a menor número de espécies (cinco). Na variedade Xaraés seis espécies ocorreram na área com pastejo e seis na área sem pastejo. A maior riqueza deve-se ao registro de quatro espécies exclusivas das amostras da variedade Marandu na área sem pastejo (Figura 2). Sugere-se que as espécies *Cunninghamella equinulata*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium funiculosum* e *Penicillium purpurogenum* tiveram seu crescimento inibido pela presença do gado. Uma hipótese plausível é a presença de espécies saprofitas nas áreas com pastejo que competem pelo mesmo nicho, impedindo seu crescimento.

Características Gerais dos Gêneros Isolados

Cunninghamella spp. é um fungo filamentoso encontrado em solos e material vegetal, particularmente no Mediterrâneo e zonas subtropicais, isolado em material

vegetal, queijos e castanhas. É um gênero oportunista que pode causar infecções em hospedeiros imunodeprimidos (Larone, 1995).

Dias-Filho e Toledo (1993) verificaram a incidência pronunciada de *Drechslera* spp. e de *Fusarium* sp. em sementes de *Brachiaria* spp. Estes fungos também se destacaram nas sementes de braquiária, em trabalho realizado por Chagas e Oliveira (1983). A elevada ocorrência de *Drechslera* sp. vem confirmar as afirmações feitas por Neergaard (1977) de que este patógeno apresenta notável afinidade por gramíneas.

Uma cultura de *Nigrospora sacchari* mostrou forte atividade herbicida em plantas tratadas em casa de vegetação. Quatro lactonas, isoladas desta espécie, causaram danos por rompimento de membrana e extrusão do conteúdo celular em cotilédones de pepino (Fukushima *et al.*, 1998).

Fusarium moniliforme é considerado como o principal fitopatógeno de várias gramíneas. No entanto, em milho leva à alterações bioquímicas e histológicas da planta, como decomposição acelerada de lignina nas raízes a qual pode dificultar a penetração de patógenos, aumentando a resistência da planta hospedeira. Entretanto, tem sido verificado que em algumas formas de resistência a doenças, a planta deve apresentar uma predisposição para ser colonizada por endofíticos específicos, os quais podem conferir esse caráter (Azevedo, *et al.*, 2002; Macheroni Jr. *et al.*, 2004). Salazar e Garcia (2005) propõe que os gêneros de endófitos *Acremonium*, *Nigrospora* e *Phoma* encontrados em rosas (*Rosa hybrida*) possuam potencial como antagonistas de patógenos que atacam plantas.

O gênero *Penicillium* possui espécies cosmopolitas, contaminantes de ambientes, produtores de antibióticos, muito utilizados na alimentação, produzem metabólitos secundários e micotoxinas de acordo com o substrato que utiliza (Sonjak 2005). Os *Aspergillus* spp. são cosmopolitas, tendo sido isolados de inúmeras fontes biológicas. Possuem espécies patogênicas para plantas e animais, mas geralmente de forma oportunista, não sendo considerados de grande importância econômica para a agricultura, exceto para grãos armazenados (Pitt *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2006). Wessels (1993) isolou uma proteína de parede celular de *Aspergillus niger*, denominada hidrofobina que atua na morfogênese fúngica, além de interferir positivamente nas interações simbióticas ou parasitas com plantas hospedeiras.

Rhizopus é um fungo filamentosos encontrado em solos, frutos e vegetais mortos e em fezes de animais (Larone, 1995). Stamford *et al.* (1998) isolaram várias espécies de endofíticos e epifíticos de *Pachyrhizus erosus* L. Urban, entre eles o gênero *Rhizopus* e verificaram uma alta atividade proteolítica e amilolítica presente neste

fungo. Marques et al (2006), isolaram a enzima endopoligalacturonase de *Mucor ramosissimus*, da mesma ordem de *Rhizopus* sp. (Mucorales) e verificaram que extratos desta enzima, bem como frações da parede celular de *M. ramosissimus* induziram a síntese de fitoalexinas em *Palicourea marcgravii* e cotilédones de soja (*Glycine max* L.)

Acremonium spp. (*Neotyphodium* sp. (sin: *Acremonium* sp.), um endofítico de várias espécies forrageiras, produz o peptídeo leucostatina A com propriedades fitotóxicas, antifúngicas e anticancerígenas. Esse composto pode não ser tóxico para a planta que produz a enzima UDP glicose: leucostatina A glucosil transferase que glicosila o peptídeo, reduzindo sua ação fitotóxica (Strobel et al., 1997). Espécies do gênero *Acremonium* tem sido encontradas inibindo fungos patogênicos (CIAT 2004). Talvez esteja acontecendo este tipo de interação entre esta espécie e as duas cultivares (cv. Xaraés e cv. Marandu) estudadas, nas quais foi registrada a presença do patógeno *Drechslera*, mas sem a ocorrência de doenças. *Acremonium strictum* ocorre também em trigo milho, algodão e tremoço. Causa a podridão carbonosa do talo a podridão de sementes e morte de plântulas na cultura do milho (*Zea mays* L (CAB International, 2000) interferindo diretamente no estande, vigor e produtividade final das plantas (Teixeira et al., 2005). Por outro lado, McGee et al (1991) isolaram *Acremonium strictum* de várias espécies do gênero *Pennisetum* e observaram que esta espécie de fungo inibe, *in vitro*, a velocidade de crescimento de cinco espécies patogênicas de gramíneas. Extratos da cultura dos isolados de *A. strictum* também inibiram a alongação de hifas, evidências que levaram a classificação destes isolados de *A. strictum* como endofíticos mutualistas.

A espécie *Curvularia lunata* é patógeno facultativo de plantas, não havendo registros como causadora de doenças importantes. Esta espécie foi isolada em diversos gêneros de Poaceae como: *Cynodon*, *Oryza*, *Pennisetum*, *Sorghum*, *Triticum*, *Zea* (Webster e Gunnell, 1992). *C. lunata* vem sendo utilizada como parasita no controle biológico de *Hymenachne amplexicaulis*, uma espécie vegetal nativa da América do Sul, que se tornou uma invasora de pastagens na Austrália. Estudos têm demonstrado que *C. lunata* é um patógeno fraco de milho e de algumas gramíneas (Monteiro et al., 2003). *Curvularia pallescens* causa manchas foliares em milho, resultantes da redução na espessura da epiderme adaxial, descoloração e agregação de cloroplastos (Fragoso e Torres, 2000).

Paecilomyces lilacinus é uma espécie fúngica utilizada no controle biológico de nematóides, sendo uma das mais estudadas a campo. Santiago et al. (2001)

selecionaram isolados de *P. lilacinus* quanto à capacidade de controlar *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro cv. “Santa Clara”, em de casa-de-vegetação. Todos os tratamentos com incorporação de *P. lilacinus* reduziram a população de *M. paranaensis* em raízes de tomateiro, inclusive com a utilização de filtrados da cultura deste fungo.

Algumas raças específicas de *Trichoderma* spp., colonizam e penetram as raízes vegetais, desencadeando várias alterações morfológicas e bioquímicas, consideradas como parte importante das respostas de defesa de plantas, conhecida como resistência sistêmica adquirida (Yedidia *et al.*, 2001), sendo que várias espécies do gênero *Trichoderma* produzem enzimas que já estão sendo usadas no biocontrole de fungos fitopatogênicos (Druzhinina e Kubicek, 2005). Por outro lado, existem registros da incidência de algumas espécies desse gênero como sapróbios micoparasitas de fungos patogênicos, limitando seu crescimento e atividade (Carsolio *et al.*, 1999).

Verticillium lecanii tem sido bastante utilizado no controle biológico de muitos insetos pertencentes aos grupos dos hemípteros, afideos e outros (Leite *et al.*, 2005).

Conclusões

Fungos endofíticos sistêmicos formam associações com 20 a 30% das espécies de gramíneas em todo mundo, incluindo aquelas economicamente importantes (Leuchtman, 1992). No entanto estes endofíticos podem aumentar a competitividade, ou se tornarem neutros ou parasitas, dependendo de algumas condições bióticas ou abióticas. Estudos prévios sugerem que tanto as variações interespecíficas como as intraespecíficas em endofíticos podem influenciar as interações com herbívoros, através de mecanismos tais como produção de alcalóides, massa micelial e níveis de plasticidade fenotípica do hospedeiro (Clay e Schardl, 2002).

Este estudo mostrou que existe variação na composição de fungos epifíticos e saprófitos associados aos cultivares Marandu e Xaraés de *B.brizantha*. Verificou-se também que esta composição é relativamente alterada em amostras submetidas a pastejo pelo gado, quando comparadas com aquelas presentes em áreas sem pastejo. Das 32 espécies isoladas, somente quatro são reconhecidamente patogênicas para gramíneas (*Acremonium strictum*, *Dreschelera bicolor*, *Fusarium moniliforme* e *Colletotrichum dematium*), embora não tenham sido registrados sintomas de doenças causadas por essas espécies nas amostras de *B.brizantha* analisadas. Além disto,

existem registros de que *Acremonium strictum* e *Fusarium moniliforme* se comportaram como antagonistas de fungos patogênicos em outros estudos.

Também foram isolados fungos considerados neutros, parasitas oportunistas, patogênicos para gramíneas e/ou outras espécies vegetais, assim como endofíticos reconhecidamente mutualistas. O gênero *Rhizopus* e as espécies de *Trichoderma* spp, *Nigrospora* spp, *Paecilomyces* spp e *Verticillium* spp, apresentam interações mutualísticas altamente benéficas em outros sistemas fungo endófito-planta. É possível que exista o mesmo tipo de interação entre os gêneros citados e os dois cultivares de *B.brizantha* analisados, assim como a sanidade observada nas amostras, pode ser decorrência da presença dos fungos endofíticos benéficos associados.

Tabela 1. Espécies de fungos saprofitos e endofíticos isolados em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e cv. Xaraés em áreas com e sem pastejo

| Espécie | cultivar Marandu | | cultivar Xaraés | | |
|--|------------------|-------------|-----------------|-------------|-------------|
| | hábito | com pastejo | sem pastejo | com pastejo | sem pastejo |
| <i>Acremonium strictum</i> W. Gams | E, S | | | X | |
| <i>Aspergillus flavus</i> Link | E, S | X | X | X | X |
| <i>A. fumigatus</i> Fresen. | E, S | X | X | | X |
| <i>A. niger</i> Tiegh. | E, S | X | X | | X |
| <i>A. orizae</i> var <i>effusus</i> (Tirab.) Y. Ohara | E, S | X | X | | |
| <i>A. terreus</i> Thom | S | | | | |
| <i>Colletotrichum dematium</i> (Pers. ex. Fr.) Grove | E | X | | | |
| <i>Cunninghamella echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt. ex Blakes | E, S | | X | | |
| <i>Curvularia leonensis</i> M. B. Ellis | E | | | X | |
| <i>C. lunata</i> Boedijn var. <i>aeria</i> M. B. Ellis | E | X | | X | |
| <i>C. pallescens</i> Boedijn | E | X | X | X | X |
| <i>Drechslera bicolor</i> (Mitra) Subram. & Jain | E | | X | X | X |
| <i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc. | E | X | | X | |
| <i>F. lateritum</i> Nees | E | X | | | |
| <i>F. moniliforme</i> J. Sheld. | E | X | | | X |
| <i>F. oxysporum</i> Schldl. | E | X | X | | |
| <i>F. solani</i> (Mart.) Sacc. | E | X | | | |
| <i>Nigrospora sacchari</i> (Speg.) E. W. Mason | E | | X | X | |
| <i>N. sphaerica</i> (Sacc.) E. W. Mason | E | X | X | | |
| <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson | E | | | X | |
| <i>P. variotti</i> Bainier | S | | | | |
| <i>Penicillium crustosum</i> Thom | S | | | | |
| <i>P. funiculosum</i> Thom | E, S | X | | | |
| <i>P. purpurogenum</i> Stoll | E, S | | X | | |
| <i>P. waksmanii</i> K. M. Zalesky | E, S | | | | X |
| <i>Phoma crysanthemicola</i> Hollós | E | X | X | X | |
| <i>P. eupyrena</i> Sacc. | E | | | X | |
| <i>P. glomerata</i> (Corda) Wollenw. & Hochapfel | E | | X | | |
| <i>Rhizopus</i> sp. Ehrenb. | E | | | | X |
| <i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai | E | X | | X | |
| <i>T. longibrachiatum</i> Rifai | E | X | | X | |
| <i>Verticillium lecanii</i> (Zimm.) Viégas | E | X | | X | |
| Total | | 17 | 13 | 14 | 8 |

Tabela 2. Fungos isolados como endofíticos em amostras de caule e folha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e Marandu em áreas com e sem pastejo.

| Espécie | cultivar Marandu | | | | cultivar Xaraés | | | |
|---|------------------|-----------|-------------|-----------|-----------------|----------|-------------|----------|
| | com pastejo | | sem pastejo | | com pastejo | | sem pastejo | |
| | caule | folha | caule | folha | caule | folha | caule | folha |
| <i>Acremonium strictum</i> W. Gams | | | | | X | X | | |
| <i>Aspergillus flavus</i> Link | | X | | X | X | | X | |
| <i>A. fumigatus</i> Fresen. | | X | | X | | | | X |
| <i>A. niger</i> Tiegh. | | X | | X | | | | X |
| <i>A. orizae</i> var <i>effusus</i> (Tirab.) Y. Ohara | | X | | X | | | | |
| <i>Colletotrichum dematium</i> (Pers. ex. Fr.) Grove | | X | | | | | | |
| <i>Cunninghamella echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt. ex Blakes. | | | | X | | | | |
| <i>Curvularia leonensis</i> M. B. Ellis | | | | | X | | | |
| <i>C. lunata</i> Boedijn var. <i>aeria</i> M. B. Ellis | | X | | | X | | | |
| <i>C. pallescens</i> Boedijn | | X | | X | X | X | X | X |
| <i>Drechslera bicolor</i> (Mitra) Subram. & Jain | | X | X | | X | X | X | |
| <i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Sacc. | | X | | | | X | | |
| <i>F. lateritum</i> Nees | | X | | | | | | |
| <i>F. moniliforme</i> J. Sheld. | X | | | | | | | X |
| <i>F. oxysporum</i> Schltdl. | X | X | | X | | | | |
| <i>F. solani</i> (Mart.) Sacc. | X | | | | | | | |
| <i>Nigrospora sacchari</i> (Speg.) E. W. Mason | | | X | X | X | | | |
| <i>N. sphaerica</i> (Sacc.) E. W. Mason | | X | X | | | | | |
| <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson | | | | | X | | | |
| <i>P. funiculosum</i> Thom | | X | | | | | | |
| <i>P. purpurogenum</i> Stoll | | | X | X | | | | |
| <i>P. waksmanii</i> K. M. Zalesky | | | | | | | | X |
| <i>Phoma crysanthemicola</i> Hollós | X | X | X | | | X | | |
| <i>P. eupyrena</i> Sacc. | | | | | X | | | |
| <i>P. glomerata</i> (Corda) Wollenw. & Hochapfel | | | | X | | | | |
| <i>Rhizopus</i> sp. Ehrenb. | | | | | | | | X |
| <i>Trichoderma aureoviride</i> Rifai | | X | | | | X | | |
| <i>T. longibrachiatum</i> Rifai | | X | | | | X | | |
| <i>Verticillium lecanii</i> (Zimm.) Viégas | | X | | | X | X | | |
| Total | 4 | 17 | 5 | 10 | 10 | 8 | 3 | 6 |

Tabela 3. Fungos Saprófitos isolados em serrapilheira de *B.brizantha* cv. Marandu e cv. Xaraés em área com e sem pastejo.

| Espécie | Marandu (11 spp.) | | Xaraés (7 spp.) | |
|---|-------------------|-------------|-----------------|-------------|
| | com pastejo | sem pastejo | com pastejo | sem pastejo |
| <i>Acremonium strictum</i> W.Gams | | | X | |
| <i>Aspergillus flavus</i> Link | | X | X | X |
| <i>A. fumigatus</i> Fresenius | X | X | X | X |
| <i>A. niger</i> Tiegh | X | X | X | X |
| <i>A. orizae var effusus</i> (Tira) Ohara | X | X | | X |
| <i>A. terreus</i> Thom | X | X | X | X |
| <i>Cunninghamella equinulata</i> (Thaxt.) Thaxt. ex Blakes. | | X | | |
| <i>Paecilomyces variotti</i> Baim | X | X | X | X |
| <i>Penicillium crustosum</i> Thom | | X | | |
| <i>P. funiculosum</i> Thom | | X | | |
| <i>P. purpurogenum</i> Stoll | | X | | |
| <i>P. waksmanii</i> K. M. Zalessky | X | | | |
| Total | 6 | 10 | 6 | 6 |

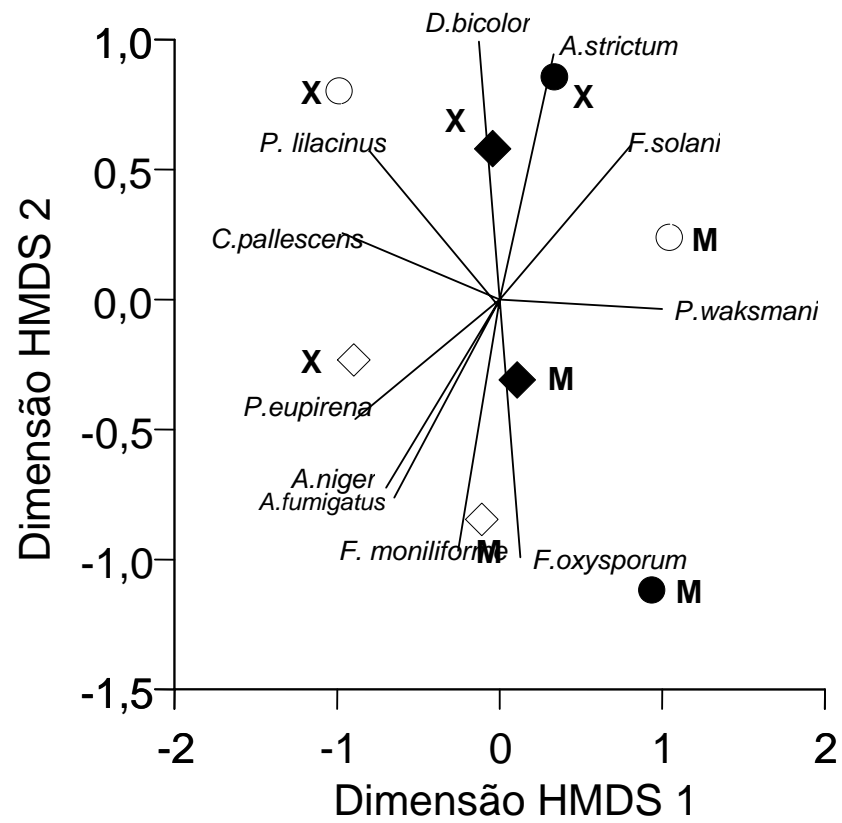


Figura 1. Ordenação (escalonamento multidimensional híbrido - HMDS) das amostras de fungos endofíticos em duas cultivares de *Brachiaria brizantha* (X = Xaraés e M = Marandu), obtidas de caules (círculos) e folhas (losangos). As amostras foram obtidas em áreas com (pontos preenchidos) e sem (pontos vazios) pastejo, nos campos experimentais do Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte CNPGC/EMBRAPA Gado de Corte, Campo Grande, MS. Os vetores indicam a contribuição relativa das espécies que apresentaram correlação maior do que 0,6 com o plano da ordenação.

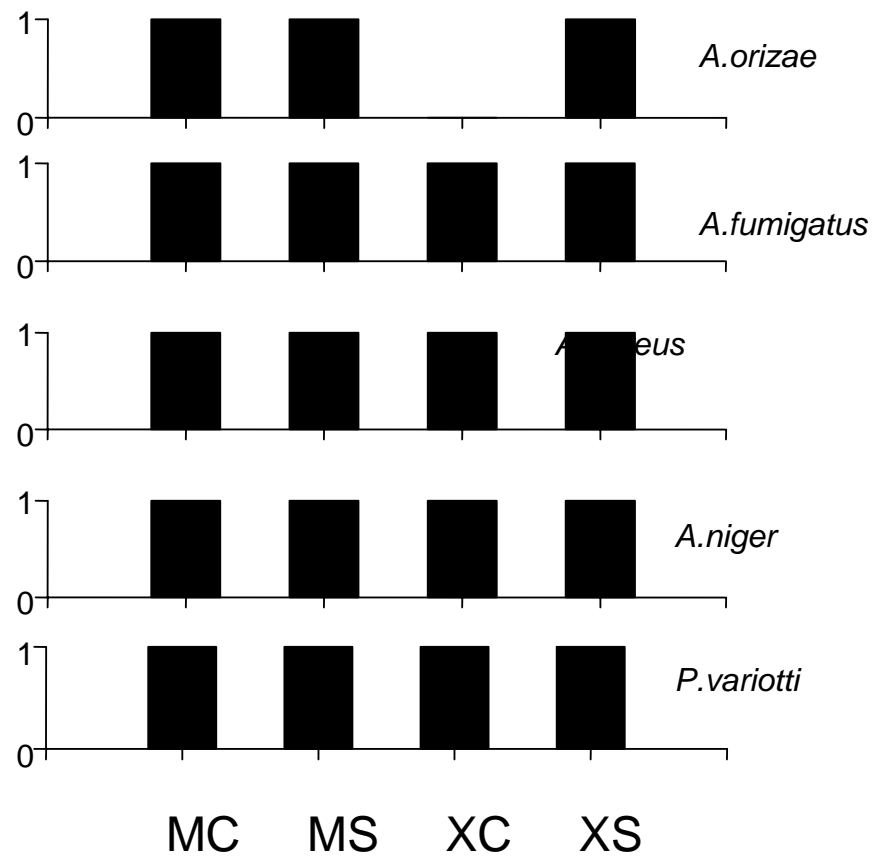
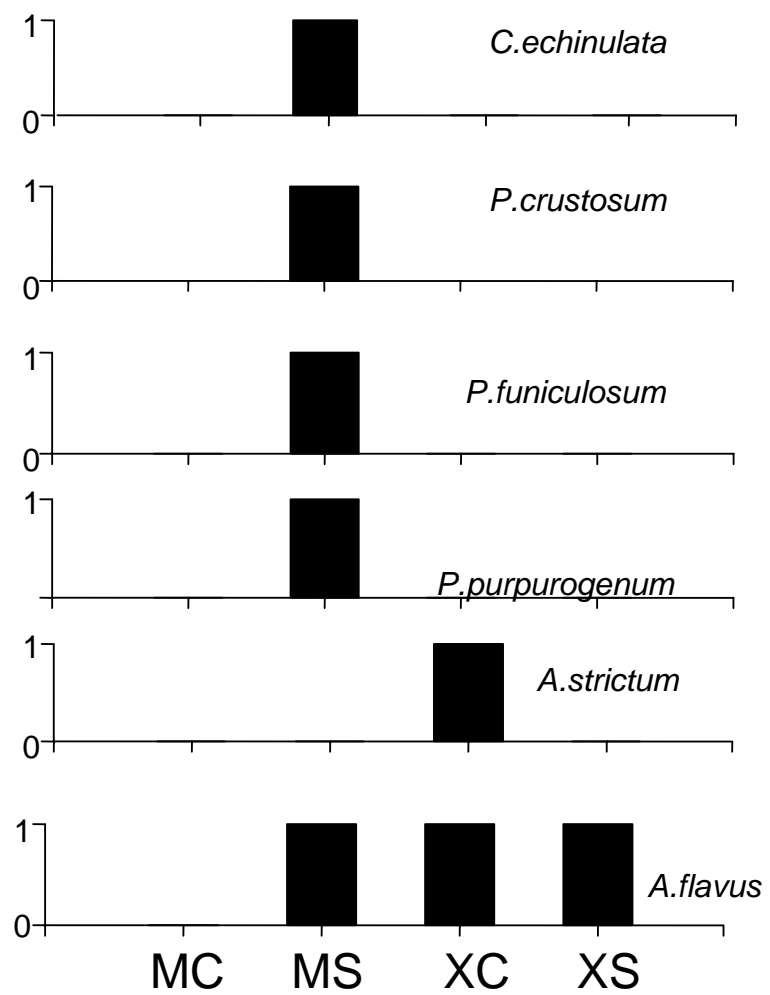


Figura 2. Variação em composição de espécies de fungos saprofitos em quatro áreas experimentais do Centro Nacional e Pesquisa em Gado de Corte CNPGC/EMBRAPA, com ou sem a presença de gado, ocupada por *Brachiaria brizantha*, cultivares Marandu ou Xaraés. MC: Marandu com pastejo; MS: Marandu sem pastejo; XC: Xaraés com pastejo; XS: Xaraés sem pastejo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque, F.C. de; Duarte, M.L.R.; Sanhueza, R.M.V.; Simão Neto, M.; Teixeira Neto. Ocorrência da podridão do coleto do capim Braquiarião no Estado do Pará. Anais do XXXIII Congresso Brasileiro De Fitopatologia, Belém. 2000, 352 p.
- Andrade, C.M.S.; Valentim, J.F.A. Síndrome da morte do capim. Anuário da Pecuária Brasileira (ANUALPEC). São Paulo. 2004, 400 p.
- Andrade, R.P.De; Villas Boas, H.; Silveira, G.C.; Paiva, L. A parceria EMBRAPA-UNIPASTO e seu impacto na pesquisa e desenvolvimento de pastagem tropicais do Brasil. <http://www.abrasem.com.br/materia>. 2004.
- ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo. FNP Consultoria. 2004, 400p.
- Azevedo, J.L.; Jr Maccheroni, W.; Araújo, W.L.; Pereira, J.O. Microrganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: *Biotechnologia: avanços na agricultura e na agroindústria*. Serafini, L.A.; de Barros, N.M.; Azevedo, J.L. (eds), EDUCS, Caxias do Sul. 2002.
- Azevedo, J.L.; Maccheroni-Junior, W.; Pereira, J.O.; Araújo, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic J. Biotech*, 3(1): 40-65. 2000.
- Baijal, U. & Mehrotra, B.S. The genus *Cunninghamella*-reassessment *Sydowia* 33 1-3 1980.
- Booth, C. *The genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Surrey. 1971, 237p.
- Bissett, J. A revision of the genus *Trichoderma* III. Section *Pachybasium* sect. nov. *Can. J. Botany*, 69:2373-2417. 1991.
- Bissett, J. A revision of the genus *Trichoderma* IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Can J. Botany*, 69:2418-2420. 1991.
- CAB INTERNACIONAL, 2000. <http://faem.ufpel.edu.br/dfs/patologiasementes/cgi-bin/semes/detalhes.cgi?praga=62>
- Caretta, G.; Piontelli, E.; Picco, A.M.; Del Frate, G. Some filamentous fungi on grassland vegetation from Kenya. 145:155-169. 1999.
- Carsolio C.; Benhamou, N.; Haran, S.; Cortés, C.; Gutiérrez, A.; Chet, A.; Herrera-Estrella, A. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase, gene ech42, in mycoparasitism. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 929-935. 1999.
- Chagas, D; Oliveira, D.P. Fungos associados a sementes de gramíneas e leguminosas forrageiras. *Fitopatol.Bras.*, 8 (1):131-135. 1983.

CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. <http://sedac.ciesin.columbia.edu/gpw/documentation.jsp>, 2004.

Clay, K.; Schardl, C. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *Am. Nat.* 160: 99-127. 2002.

Dalmau, L.M. Observations on mycological technique with particular reference to pathogenic fungi. *Porto Rico Journal of Public and Health and Tropical Medicine*, 5:302-311. 1929.

Dias, D.C.F.S.; De Toledo, F.F. Germination and fungi incidence in tests with *Brachiaria brizantha* Stapf. *Seeds. Sci. Agric.*, 50(1): 68-76. 1993.

Dias-Filho, M.B.; Andrade, C.M.S. Pastagens no ecossistema tropico úmido. *Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Universidade Federal de Goiás. Goiania. 2005.

Domsch, K. H., Gams, W. & Anderson, T. H. *Compendium of Soil fungi*. Academic Press: London. 1980. I, 859p.

Druzhinina, I.; Kubicek, C. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters? *J. Zhejiang. Univ. Sci. B.* 6(2), 100–112. 2005.

Ellis, M.B. *Dematiaceus Hyphomycetes*. CAB Press, London. 1971. 608p.

Ellis, M.B. *More Dematiaceus Hyphomycetes*. CAB Press, London. 1976, 116p.

Fahey, J. W. Endophytic bacteria for the delivery of agrochemicals to plants. *In: Biologically Active Natural Products. Potential Use in Agriculture*. H.O., Cutler, (ed). American Chemical Society Symposium. Washington. p.120-128, 1988..

Faith, D.P.; Minchin, P.R.; Belbin, L. Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance: a theoretical model and computer simulations. *Vegetatio*, 69: 57–68, 1987.

Fragoso, O.M.; De Torres, E.C. Penetration and histological changes induced by *Curvularia pallescens* in two corn hybrids. *Fitopatol. Venezol.*, 13(2): 34-37, 2000.

Fukushima T.; Tanaka M.; Gohbara M.; Fujimori T. Phytotoxicity of three lactones from *Nigrospora sacchari*. *Phytochemistry* 48 (4): 625- 630, 1998.

Guenoune, D.; Galili, S.; Phillips, D.A.; Volpin, H.; Chetokon, Y.; Kapulnik, Y. The defense response elicited by pathogen *Rhizoctonia solani* is suppressed by colonization of the AM-fungus *Glomus intradices*. *Plant. Sci.*, 160:925-932,. 2001.

Hallman, J.; Sikora, R.A. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant parasitic nematodes and soilborne plant pathogenic fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 102:155-162, 1996.

Hawksworth, D.L., Kirk, P.M., Sutton, B.C. & Pegler, D.N. *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi*. 8. ed. Wallingford: CAB international, 1995.

- Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; David, J.C. & Stalpers, J.A. Dictionary of the fungi. 9^a ed. CAB international Wallingford (UK) 2001, 655p
- Klich M.A Identification of common *Aspergillus* species. Utrecht, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures. 2002, 116 p.
- Lacaz, C.S.; Porto, C.; Martins, J.E.C. Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. Sarvier –EDUSP. São Paulo, 1991. 695p.
- Larone, D.H. Medically important fungi – a guide to identification. 3 ed. ASM Press. Washington, D.C. 1995.
- Leite, M.S.P.; Penteadó, S.R.C.; Zaleski, S.R.M., Camargo, J.M.M.; Ribeiro, R.D. Seleção de isolados de *Verticillium lecanii* para o controle de *Cinara atlântica*. *Pesq. Agropec. Bras.* 40 (11):1141-1144, 2005.
- Leuchtman, A. Systematics, distribution, and host specificity of grass endophytes. *Natural Toxins* 1:150-162, 1992.
- Macedo, M.C.M. Pastagens no ecossistema cerrados: Evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.
- Macheroni Jr., W; Araújo, W.L.; Lima, A.O.S. Ecologia: habitat e interações fúngicas com plantas, animais e fungos. In; Espósito, E.; Azevedo, J.L. *Fungos: uma introdução À biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: Educus, p.451-490, 2004.
- Marques, M.R.; Buckeridge, M.S.; Braga, M.R.; Dietrich, S.M.C. Characterization of an extracellular endopolygalacturonase from the saprobe *Mucor ramosissimus* and its action as trigger of defensive response in tropical plants. *Mycopathologia*. No prelo. 2006.
- McGee, P.A.; Hincksman, M.A.; White, C.S. Inhibition of growth of fungi isolated from plants by *Acremonium strictum*. *Australian J. Agric. Res.*, 42(7):1187 – 1194. 1991.
- Monteiro, F.T.; Vieira, B.S.; Barreto, R.W. *Curvularia lunata* and *Phyllachora* sp.: two fungal pathogens of the grassy weed *Hymenachne amplexicaulis* from Brazil. *Australasian Plant Pathol.*, 32(4):449–453. 2003.
- Moore, J.C.; Berlow, E.L.; Coleman, D.C.; De Ruiter, P.C.; Dong, Q.; Johnson, N.C.; McCann, K.S.; Melville, K.; Morin, P.J.; Nadelhofer, K.; Rosemond, A.D.; Post, D.M.; Sabo, J.L.; Scow, K.M.; Vanni, M.J.; Wall, D.H. Detritus, trophic dynamics, and biodiversity. *Ecol. Lett.*, 7: 584-600, 2004.
- Murray, F.R.; Latch, G.C.M. and Scott, D.B. Surrogate transformation of perennial ryegrass *Lolium perenne* using genetically modified *Acremonium* endophyte. *Molecular General Genetics*, 233:1-9, 1992.

- Neegard, P. Seed pathology. London: MacMillan Press, 2v., 1977, 1191p. .
- Peixoto Neto, P.A.S.; Azevedo, J.A.; Araújo, W.L. Microorganismos Endofíticos. *Biotecnologia Ciência e desenvolvimento*, 29:62-76, 2002.
- Pitt, J.I. *A laboratory guide to common Penicillium species*. 2nd ed. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, North Ryde. 1988,184.p.
- Pitt, J.I.; Basilico, J.C.; Abarca, M.L.; Lopez, C. Mycotoxins and toxigen fungi. *Med. Mycol.*, 38:41-46, 2000.
- Raper, K.B.; Fennell, D.I. *The genus Aspergillus*. Williams & Wilkins Company, Florida. United States of America 1977.686p
- Raper, K.B.; Thom, C.; Fennell, D.I. *A manual of the penicillia*. Williams & Wilkins Company, Baltimore. 1949, 875p.
- Read, D.J. Mycorrhiza - The state of the art. *In: Mycorrhiza*. Varma and Hock, B. (eds). Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1999. p.3-34
- Riddell, R.W. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. *Mycologia*, 42: 265-270, 1950.
- Rifai, M.A. A revision of the genus Trichoderma. *Mycological Papers*, Wallingford, v.116, p.1-56, 1969.
- Rodrigues, K.F.; Dias-Filho, M. Fungal endophytes in the tropical grasses *Brachiaria brizanta* cv.marandu and *B.humidicola*. *Pesq. Agro. Bras.*, 31(12):905-909, 1996.
- Salazar, C.S.; Garcia; M.C.C. Aislamento de hongos endófitos em rosa (*Rosa hybrida*) em Bogotá, Colômbia. *Rev. Iberoam. Micol.* 22: 99-101. 2005
- Samson, R.A. & Frisvad, J.C. *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes and mycotoxins and other extrolites. *Studies in Mycology* 49:260. 2004.
- Samson R.A Paecilomyces and some allied hyphomycetes. *Studies in Mycology* 6. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, 1974, 116 p.
- Santiago, D.C.; Homechin, M.; Silva, J.F.V.; Ribeiro, E.R.; Gomes, B.C.; Santoro, P.H.. Selection of isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson to control *Meloidogyne paranaensis* in tomato. *Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, 26 (4):749, 2001.
- Sonjak,S.A.; Frisvad,J C.; Cimerman N.G. Comparison of secondary metabolite production by *Penicillium crustosum* strains, isolated from Arctic and other various ecological niches *FEMS Microbiology Ecology* 53 51–60. 2005.
- Stamford, T.L.M.; Araújo, J.M.; Stamford, N.P. Atividade enzimática de

microrganismos isolados do jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 18(4):382-385, 1998.

Strobel G.A.; Torczynski, R.; Bollon, A. *Acremonium* sp.- a leucinostatin A producing endophyte of European yew (*Taxus baccata*) *Plant Sci.* 128 (1):97-108, 1997.

Sutton. B.C. *The Coelomycetes*. Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute. 1980, 696p.

Sutton, B.C. The Genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J. A, Jeger, M. J. (Eds). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford, U.K.: CAB International, p.1-26. 1992.

Teixeira, H.; Machado, J.C.; Oride, D.; Alves, M.C.; Noda, A. Técnica de restrição hídrica: efeito sobre *Acremonium strictum*, protrusão de sementes e obtenção de sementes de milho infectadas. *Fitopatol. Bras.*, 30(2): 109-114, 2005.

Tintjer, T.; Rudgers, J.A. Grass-herbivore interactions altered by strains of a native endophyte. *New Phytol.*, 170: 513-521, 2006.

Valle; C.B.; Jank, L.; Resende, R.M.S. Lançamentos de cultivares de forrageiras: o processo e seus resultados – cvs. Massai, Pojuca, Campo Grande, Xaraés. Núcleo de Estudos em Forragicultura. Universidade Federal de Lavras. Lavras. MG. P 79-225, 2003.

Verzignassi, J.R.; Fernandes, C.D. Doenças em forrageiras. Embrapa: Campo Grande, MS. *Comunicado Técnico*, 200(50): 32-39, 2001.

Volksch, B.; Ullrich, M.; Fritsche, W. Identification and population dynamics of bacteria in leaf spots of soybean. *Microbial Ecology*, 24: 305-311, 1992.

Webster, R.K.; Gunnell, P.S. (eds) *Compendium of Rice Diseases*. American Phytopathological Society, Society Press, St. Paul, Minnesota, USA Selection of isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson to control *Meloidogyne paranaensis* in tomato. 1992. 62p

Wessels, J.G.H. Wall growth, protein excretion and morphogenesis in fungi. *New Phytol.*, 123:397-413, 1993.

Yedidia I.; Srivastva, A.K.; Kapulnik, Y.; Chet, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and soil*, 235:235-242, 2001.

Yedidia, I.; Benhamou, N.; Chet, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65:1061-1070, 1999.

Yedidia, I.; Shosh, M.; Kerem, Z.; Benhamou, N.; Kapulnik, Y.; Chet, I. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv *lachrymans* in

cucumber by *Trichoderma asperillum* (T-203) and the accumulation of phytoalexins. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69:7343-7353, 2003.

Zhao, W.; Panepinto, J.C.; Fortwendel, J.R.; Fox, L.; Oliver, B.G.; Askew, D.S.; Rhodes, J.C. Deletion of the regulatory subunit of protein kinase A in *Aspergillus fumigatus* alters morphology, sensitivity to oxidative damage and virulence. *Infect. Immun.*, 74:4865-4874, 2006.

IV. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo das interações entre fungos e espécies de *Brachiaria* sp. comercialmente importantes, pode contribuir para o conhecimento da comunidade endofítica benéfica a este gênero. Determinadas interações podem conferir à planta maior vigor e biomassa, bem como aumento da resistência a fungos fitopatogênicos, insetos, nematóides e fatores abióticos causadores de estresse.

No presente trabalho, foram isoladas 150 morfoespécies saprofitas, 400 morfoespécies endofíticas e 55 epifíticas, dos cultivares Marandu e Xaraés de *B. brizantha*, em áreas com e sem pastejo. Destas foi possível a identificação, até o presente momento, de 490 morfoespécies que resultaram em 37 espécies. O Anexo 1 traz algumas características morfológicas das espécies isoladas. Além disso, 60 isolados de caule e folha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés e Marandu estão sendo avaliados, e ao que tudo indica pertencem a um grupo que não produz esporos, denominado *Micelia sterilia*.

Não foi possível concluir a identificação de todas as morfoespécies epifíticas isoladas. Aquelas identificadas até o momento são: *Emericella nidulans* var. *equinulata*, *Pithomyces sacchari*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotti* e *Aspergillus fumigatus*.

Estudos das interações entre fungos não patogênicos e gramíneas são muito escassos. Acreditamos que é importante a continuação deste trabalho, no sentido de contribuir para o conhecimento de tais interações com espécies de gramíneas importantes comercialmente, visando melhorar a sanidade das mesmas. Sugerimos um novo levantamento da microbiota fúngica associada a *B. brizantha* na estação chuvosa, para comparação com os dados obtidos até o momento (estação seca) e para

auxiliar no entendimento de muitas doenças observadas nesta espécie vegetal em regiões com alta umidade.

Uma outra abordagem seria a realização de ensaios de indução de resistência em *B.brizantha*, em casa de vegetação, utilizando esporos ou extratos de cultura das espécies endofíticas benéficas detectadas neste trabalho. Posteriormente as plantas seriam inoculadas com fungos patogênicos para verificar se ocorre a indução de mecanismos de resistência nas plantas pré-tratadas com endofíticos mutualistas.

V. CONCLUSÕES

- Foram isoladas de folhas, caule e serrapilheira de *B.brizantha* cv Marandu e Xaraés, 30 espécies de 14 gêneros diferentes, sendo os mais freqüentes *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., comumente associados a espécies vegetais.
- Este estudo mostrou que existe variação na composição de fungos epifíticos e saprofíticos associados aos cultivares Marandu e Xaraés de *B.brizantha*.
- Verificou-se que a composição da comunidade fúngica é relativamente alterada em amostras submetidas a pastejo pelo gado, quando comparadas com aquelas presentes em áreas sem pastejo.
- Das espécies isoladas, somente quatro são reconhecidamente patogênicas para gramíneas (*Acremonium strictum*, *Drescherella bicolor*, *Fusarium moniliforme* e *Colletotrichum dematium*), embora não tenham sido registrados sintomas de doenças causadas por essas espécies nas amostras analisadas.
- Grande parte das espécies isoladas são consideradas neutras ou parasitas oportunistas (e.g., *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*).
- As espécies dos gêneros de *Rizhopus* sp, *Trichoderma* sp, *Nigrospora* sp, *Paecilomyces* sp e *Verticillium* sp apresentam interações mutualísticas altamente benéficas em outros sistemas fungo endófito - planta. Sugere-se que exista este mesmo tipo de interação entre os gêneros citados e os dois cultivares de *B.brizantha* analisados.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)