

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Edital MCT/CNPq/FNDCT/FAPs/MEC/CAPES/PRO-CENTRO-OESTE Nº 031/2010

Proposta de projeto

LEVANTAMENTO DA OCORRÊNCIA, IDENTIFICAÇÃO E CONTROLE DE PATÓGENOS ASSOCIADOS ÀS RAIZES E PARTE AÉREA DE *Brachiaria brizantha* cv. Marandu EM MATO GROSSO

Coordenador

Dr. Daniel Cassetari Neto

REDE DE PESQUISA

DESENVOLVIMENTO DE CULTIVARES DE FORRAGEIRAS NATIVAS E EXÓTICAS: MUDANÇAS CLIMÁTICAS E PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE PROTEÍNA ANIMAL

Coordenadora

Dra. Cacilda Borges do Valle

Instituição proponente

Universidade Federal de Mato Grosso

**Cuiabá, MT
Novembro de 2010**

Edital MCT/CNPq/FNDCT/FAPs/MEC/CAPES/PRO-CENTRO-OESTE Nº 031/2010

Anexo I – Modelo Estruturado de Projeto

Edital:	Edital MCT/CNPq/FNDCT/FAPs/MEC/CAPES/PRO-CENTRO-OESTE Nº 031/2010
Coordenador/Proponente:	Daniel Cassetari Neto
Título da Proposta:	Levantamento da ocorrência, identificação e controle de patógenos associados às raízes e parte aérea de <i>brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em Mato Grosso
Tipo de Proposta (Projeto de Pesquisa/Projeto de Rede):	Projeto de Pesquisa
Nome da Rede de Pesquisa:	Desenvolvimento de cultivares de forrageiras nativas e exóticas: mudanças climáticas e produção sustentável de proteína animal
Linha de Pesquisa e Tema:	Linha 1: Ciência, Tecnologia e Inovação para Sustentabilidade da Região Centro-Oeste Temas: - Plantas de relevância regional e resistência a estresses bióticos (pragas, ervas daninhas, fungos, bactérias, vírus e nematódeos) e abióticos (alterações climáticas, limitações edáficas, entre outros). - Novas tecnologias de controle biológico/semioquímico e manejo integrado de pragas de plantas e de animais de importância regional (mosca-do-chifre, carrapato, berne, helmintos, platelmintos, mosca-da-fruta, entre outros).
Instituição Executora:	Universidade Federal de Mato Grosso
Unidade da Federação:	Mato Grosso
Instituições Colaboradoras:	Universidade Federal de Mato Grosso, Universidade Brasília, Universidade Estadual Paulista - Campus Jaboticabal, Embrapa Cerrados e Embrapa Arroz e Feijão
Valor Total Solicitado pelo Projeto de Pesquisa (R\$):	146.805,85
Prazo de Execução:	36 meses

Projeto de Pesquisa:

a) identificação da proposta, da localidade escolhida e do tipo de projeto

- **Identificação da proposta:** Levantamento da ocorrência, identificação e controle de patógenos associados às raízes e parte aérea de *brachiaria brizantha* cv. Marandu no Mato Grosso.
- **Localidade escolhida:** Estados da Região Centro-Oeste do Brasil
- **Tipo de Projeto:** Pesquisa aplicada

b) Identificação da Linha de Pesquisa e Tema da proposta

Linha 1: Ciência, Tecnologia e Inovação para Sustentabilidade da Região Centro-Oeste

Temas:

- Plantas de relevância regional e resistência a estresses bióticos (pragas, ervas daninhas, fungos, bactérias, vírus e nematódeos) e abióticos (alterações climáticas, limitações edáficas, entre outros).
- Novas tecnologias de controle biológico/semioquímico e manejo integrado de pragas de plantas e de animais de importância regional (mosca-do-chifre, carrapato, berne, helmintos, platelmintos, mosca-da-fruta, entre outros).

c) Identificação do(s) Programa(s) de Pós-Graduação envolvido(s) na proposta, bem como dos mecanismos de integração propostos no âmbito do projeto de Rede;

A proposta de pesquisa contempla a participação direta de três Programas de Pós-Graduação stricto sensu, com a participação de integrantes da rede, quais sejam:

- Programa de pós-graduação em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal/Mestrado: Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campus de Aquidauana-MS
Professor credenciado: Dr. Celso Dornelas Fernandes;
- Programa de pós-graduação em Agricultura Tropical/Mestrado e Doutorado: Universidade Federal de Mato Grosso, Campus de Cuiabá-MT.
Professor credenciado: Dr. Daniel Cassetari Neto
- Programa de Programa de Pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola)/Mestrado e Doutorado: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho/FCAV, Campus de Jaboticabal, SP.
Professor credenciado: Dr. Jaime Maia dos Santos;

d) Qualificação do principal problema a ser abordado

O capim-marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) foi lançado em 1983 pela Embrapa Gado de Corte e Embrapa Cerrados. É uma gramínea com boa aceitação pelos produtores, principalmente nas regiões do Cerrado e Amazônia. Estima-se que existam hoje 60 milhões de hectares dessa gramínea no país, alimentando 40% do rebanho nacional.

O sucesso dessa forrageira deve-se ao rápido estabelecimento, boa produtividade, a alta disponibilidade e qualidade das sementes, resistência a cigarrinhas das pastagens e a alta capacidade de competição com as plantas invasoras. Essas características fizeram com que o capim-marandu fosse introduzido em Mato Grosso e outras regiões do país.

Porém, nos últimos dez anos, tem-se verificado a morte das pastagens no Brasil, especialmente nas regiões Centro-Oeste e Norte. O problema do declínio e da mortalidade de forrageiras foi reportado no estado de Mato Grosso, e em diferentes locais dessas regiões. Avaliações técnicas demonstram diversos elementos como causas do problema, alguns parcialmente identificados e outros ainda não bem esclarecidos (MARCHI et al., 2006).

A morte do capim-marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) vem se tornando importante causa de degradação de pastagens no estado de Mato Grosso. Ao conjunto de fatores como degradação ambiental e das pastagens em função do uso contínuo sem manutenção adequada das áreas, estresse hídrico na estação seca ou excesso de umidade que causam alterações nas pastagens denominou-se síndrome da morte súbita da pastagem. A ocorrência de patógenos de solos e de parte aérea pode ser relacionada como um dos fatores causadores da doença (DUARTE et al., 2007).

Duarte et al. (2007) relataram a ocorrência de *Pythium perillum* e *Rhizoctonia solani* em plantas com sintomas de morte súbita no Estado do Pará, Maranhão e Tocantins. A identificação dos patógenos e a confirmação dos sintomas observados em campo foi realizada através de experimentos, onde foram inoculados os patógenos em plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, sendo confirmada, então, a importância de *Pythium perillum* como importante agente patogênico envolvido na podridão do coleto dessa forrageira. Dentre os fitonematóides, o gênero *Pratylenchus* também tem sido também relatado por pesquisadores que têm investigado a doença.

A diagnose da doença, no que diz respeito à identificação do(s) agente(s) patogênico(s), deve contemplar estudos relacionados à avaliação de sementes, planta e o solo de cultivo para posterior adoção de medidas de controle. Dentre as medidas cabíveis encontra-se o controle biológico com o fungo *Trichoderma*.

Espécies do gênero *Trichoderma* são consideradas saprófitas potentes e eficientes por atuarem como antagonistas de alguns fitopatógenos de importância econômica, e também por promoverem o crescimento de plantas.

As pesquisas que envolvem essas espécies têm aumentado significativamente devido às facilidades de isolamento e quantificação de propágulos em meios de cultura, ao desenvolvimento de novas técnicas de sobrevivência e proliferação no solo e na rizosfera (CHAO et al., 1986) e, ainda, à

existência de novos biótipos resistentes a fungicidas (ADB-EL MOITY et al., 1982; PAPAIVIZAS, 1982). Em vários ensaios realizados em solos variando de ácido a alcalino, foi constatado que *Trichoderma harzianum* é capaz de colonizar todas as partes do sistema radicular em plantas ornamentais, além de feijão e milho. O mesmo acontece em solos leves e pesados e com alto teor de matéria orgânica (HARMAN & BJÖRKMAN, 1998).

Este fungo pode ainda se estabelecer nas raízes, crescer juntamente com o sistema radicular, permanecendo funcional durante todo o ciclo de uma cultura anual e, ainda, ter dominância localizada na rizosfera de alguns solos durante todo ano.

Lynck (1992) relatou o potencial do *Trichoderma* como agente biológico na agricultura, pela habilidade em estimular o crescimento de plantas. Neste sentido, Menezes (1992) avaliou o efeito antagônico, via tratamento de sementes de feijão e de soja, com espécies de *Trichoderma* no controle de *Macrophomina phaseolina*. Ele verificou que os antagonistas promoveram melhor germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas de feijão e maior índice de velocidade de germinação em plantas de soja.

O Estado de Mato Grosso apresenta 12 milhões de hectares explorados com pastagens cultivadas e deste total 5 milhões estão degradadas, sendo que a principal forrageira plantada é a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Esta forrageira difundiu-se no Mato Grosso devido à sua adaptação a solos arenosos e argilosos, com acidez moderada, resultando em boa produtividade e relativo valor nutritivo. Porém, requer solos profundos, com boa drenagem no perfil e fertilidade média a alta, para se estabelecer e persistir na pastagem uma característica marcante é não tolerar encharcamento (ALCÂNTARA, 1993).

A grande área ocupada por essa "oligocultura", com a diversidade climática e edáfica dessas imensas regiões, sem dúvida, está estabelecendo outro patamar de pressão de seleção para doenças, e suas relações com o clima e solo, após algum tempo de utilização com pastejo.

Pesquisadores relatam que isolamentos feitos em plantas de brachiário assemelhando-se aos sintomas de morte em reboleira no Pará detectaram a presença dos patógenos *Pythium* spp e *Rhizoctonia solani* (ALBUQUERQUE et al. 2000). Tais patógenos são de grande relevância, pois além de permanecerem no solo por tempo relativamente prolongado, são passíveis de serem transmitidos por sementes. Entretanto, nos últimos anos, tem sido observada a morte de capim-Marandu no Estado de Mato Grosso causando danos severos, podendo inviabilizar extensas áreas de pastagens como o cultivo dessa forrageira. A necessidade de busca de estratégias de controle desta importante doença é eminente, dada a importância no estado de Mato Grosso e toda a região norte do Brasil. É com este propósito que se propõe este projeto.

e) Objetivos, metas a serem alcançadas e seus respectivos indicadores

Objetivo geral

- Identificar os patógenos relacionados com a morte de capim-marandu presentes em raiz e parte aérea e, com isso, gerar produtos e processos capazes de reverter o quadro de mortalidade de pastos nas regiões abrangidas por este projeto

Objetivos específicos, metas e indicadores

- Identificar, em 36 meses, os patógenos associados com a morte do capim-marandu. Indicador: patógenos identificados;

- Avaliar, em 36 meses, a ocorrência da doença no Estado de Mato Grosso. Indicador: ocorrência da doença avaliada;

- Avaliar, em 36 meses, a resistência de germoplasma de *Brachiaria* e *Panicum* aos patógenos associados à síndrome da morte súbita do capim Marandu.

- Avaliar, em 36 meses, a eficiência e formas de aplicação de *Trichoderma* spp. para o controle da síndrome da morte súbita do capim Marandu. Indicador: controle biológico avaliado;

f) descrição de como o projeto está inserido no Plano de Gestão da Rede

O projeto está inserido na Rede “Desenvolvimento de cultivares de forrageiras nativas e exóticas: mudanças climáticas e produção sustentável de proteína animal” (Figura anexada ao final deste projeto), coordenado pela Dra. Cacilda Borges do Valle, da Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande-MS. Os resultados alcançados com a realização deste projeto contribuirão, sobremaneira, para o sucesso da Rede como um todo, pois, para forrageiras, a obtenção de fontes de resistência a doenças e pragas, é condição essencial para o sucesso do uso de uma cultivar, já que várias outras formas de controle, como o químico, não se ajustam, devido ao baixo retorno econômico da pecuária por unidade de área.

g) Metodologia a ser empregada

Ação 1 - Identificação de patógenos associados aos sintomas da síndrome de morte súbita do capim Marandu

1.1 Coleta

Serão realizados levantamentos dos patógenos da parte aérea e do sistema radicular do capim *B. brizantha* cv. Marandu com sintomas de morte súbita. A coleta de amostras será feita em propriedades com ocorrência de áreas atingidas pela síndrome da morte súbita das pastagens.

1.2 Isolamento de *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Fusarium* spp. e demais patógenos associados

Amostras de plantas, com suspeita de infecção pelos patógenos causadores da morte súbita, serão acondicionadas em sacos de plástico, identificadas e transportadas aos laboratórios de Fitopatologia da UFMT, nos campi de Cuiabá e Barra do Garças, MT, para posterior avaliação.

As amostras de plantas serão lavadas em água corrente e usadas para isolamento de fungos patogênicos que serão posteriormente submetidas à câmara úmida por 24 a 72h para indução de esporulação e isolamento direto ou isolamento indireto e multiplicação em meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA), para posterior identificação das características morfológicas do organismo em estudo. Para o isolamento indireto, pequenos fragmentos de tecido, retirados a partir das lesões de onde o patógeno estiver infectando, serão desinfetados superficialmente com álcool 50% durante 30 segundos, em solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante um minuto e 15 segundos e então lavados em água destilada com posterior plaqueamento em meio ágar-água. As placas serão mantidas em câmara BOD com temperatura próxima aos 28°C e fotoperíodo de 12 horas. Após dois dias, discos das culturas serão repicados em placas com meio batata-dextrose-ágar (BDA), nas mesmas condições citadas anteriormente. Para *Pythium* spp., caso não se tenha sucesso do seu isolamento usando esta metodologia, utilizar-se-á a técnica de isca, usando-se sementes de sorgo em bandeja contendo solo encharcado e raízes da planta infectada.

A diferenciação dos gêneros dos fungos fitopatogênicos será feita com base nas características morfológicas dos conídios, conidióforos e corpo de frutificação segundo a literatura (Barnet & Hunter, 1972; Sutton, 1980).

Os isolados obtidos das diferentes áreas serão purificados (culturas monospóricas) e devidamente identificados e caracterizados, considerando as características de gênero e espécie. A preservação dos isolados, será feita utilizando-se o método Castellani (preservação em água destilada e esterilizada), bem como em meio de cultura.

1.3 Detecção do nematóide *Pratylenchus brachyurus* e demais nematóides associados

Amostras de raízes e solo oriundas das propriedades descritas anteriormente serão também processadas para extração dos fitonematóides, em especial *Pratylenchus brachyurus*.

As amostras serão processadas nos laboratórios de Fitopatologia da UFMT, campus Cuiabá e Barra do Garças. Para a extração do nematóide as raízes serão separadas do solo, lavadas em água

corrente e, após secarem sobre papel jornal por aproximadamente 20 minutos, serão pesadas. A seguir, todo o sistema radicular será picado em segmentos de aproximadamente 1 cm e processados pelo método de Coolen e D' Herde (1972) para a extração dos nematóides.

O solo será processado pelo método de Jenkins (1964) ou método do peneiramento em flutuação em centrífuga. Tal técnica permite a separação dos nematóides, presentes na amostra, da matéria orgânica e das frações arenosas e argilosas do solo. As amostras de solo e de raízes coletadas serão processadas nos laboratórios de Fitopatologia da UFMT, campus Cuiabá e Barra do Garças e a identificação e quantificação dos fitonematóides presentes nas amostras serão realizadas no Laboratório de Fitonematologia da UNESP de Jaboticabal.

Ação 2 - Avaliação do grau de resistência de plantas forrageiras aos patógenos associados à síndrome da morte súbita do capim Marandu

Esse experimento visará avaliar o nível de resistência de diferentes espécies de plantas forrageiras a patógenos associados à síndrome, a fim de obter informações relevantes perante o planejamento de sucessão de culturas em sistema de integração lavoura-pecuária.

Assim, serão avaliados, em casa de vegetação, cerca de 20 materiais de *Brachiaria* spp. e 20 de *Panicum* spp., dentre cultivares comerciais e genótipos promissores pré-selecionados para a produção de sementes e forragens adaptadas às condições edafoclimáticas de Mato Grosso.

2.1 Ensaio em casa de vegetação

Os delineamentos experimentais serão inteiramente casualizados com cinco repetições e os tratamentos serão representados pelos genótipos das forrageiras, inoculados isoladamente e ou em combinação (doença de causa complexa) com os patógenos identificados pela Ação 1. A testemunha será constituída por plantas sem a presença de inóculo.

a) *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Fusarium* spp. e outros

Estes patógenos serão produzidos em meio de cultura BDA, conforme descrito na Ação 1. As mudas dos materiais a serem avaliados serão produzidas em substratos e recipientes específicos e posteriormente transplantadas para vasos com 2,5L de capacidade, contendo uma mistura (1:1) de solo + areia autoclavada. A inoculação ocorrerá na camada 0-5cm do solo e, posteriormente, será realizada a semeadura da forrageira em teste. Um tratamento adicional sem a aplicação dos patógenos constituirá a testemunha.

b) Teste de hospedabilidade de plantas forrageiras à *Pratylenchus brachyurus*

A produção de inóculo de *P. brachyurus* ocorrerá em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) cv. 'Santa Cruz', por promover alto índice de reprodução de *Pratylenchus brachyurus* (Charchar & Huang, 1981). A cv. será semeada em tubetes plásticos contendo substrato para a produção de mudas e mantidos em casa de vegetação. Após o período de desenvolvimento inicial, as plântulas serão transplantadas para vasos de argila, com capacidade de 2,5 L, preenchidos com solo + areia (1:1) autoclavado, onde serão inoculadas com cerca de 2000 ovos/juvenis de *P. brachyurus*.

A inoculação será realizada mediante pipetagem de volumes pré-ajustados da solução contendo ovos/juvenis de *Pratylenchus brachyurus*, obtidos através do processamento de raízes de tomateiro e posterior deposição em 2 orifícios de 2cm de profundidade à 2cm de distância do colo das plantas.

Os espécimes de *P. brachyurus* recuperados das raízes e do solo, serão inativados em banho-maria à temperatura de 55°C por 5 minutos e fixados em formalina (2%) para serem quantificados. A determinação do número de nematóides será realizada, por amostragem, em alíquotas de 1,0mL, com o auxílio de lâmina de contagem de Peters, sob microscópio óptico binocular.

O experimento de hospedabilidade visará avaliar a dinâmica de *P. brachyurus* em presença dos materiais genéticos das forrageiras. Serão utilizados os materiais de Soja 'Monsoy 8866', milho 'BRS – 106' (Dias-Arieira *et al.* 2009) e *Tagetes patula* (Inomoto *et al.* 2006) considerados como padrões, os dois primeiros de suscetibilidade e o terceiro de resistência.

Mudas dos materiais a serem avaliados serão produzidas em substratos e recipientes específicos e posteriormente transplantadas para vasos com 2,5L de capacidade, contendo uma mistura (1:1) de solo + areia autoclavada. Após o estabelecimento das mudas, estas serão inoculadas com 1000 ovos/juvenis de *P. brachyurus*, conforme descrito anteriormente. Aos 90 dias após a inoculação serão realizadas as avaliações através do processamento das raízes e do solo, quantificação dos espécimes obtidos e cálculo das variáveis.

Serão avaliados os nematóides por grama de raiz (NGR – número total de nematóides contidos na amostra dividido pelo peso total de raízes desta amostra), o Fator de reprodução (FR – corresponde ao valor obtido através da divisão da População Final (PF) pela População Inicial (PI) de nematóides contidos nas raízes), Nematóides no solo (NS – através da quantificação dos espécimes recuperados do solo contido nos vasos) e a Produção de matéria seca da parte aérea (MS – obtido pela diferença entre o peso fresco e o peso seco das folhas e do caule das plantas).

2.2 Ensaios em campo

Em condições de campo, em quatro propriedades de Mato Grosso onde foi registrada a síndrome da morte súbita, proceder-se-á a semeadura das cultivares de forrageiras consideradas resistentes à doença em experimentos de casa de vegetação, tendo como testemunha o capim Marandu. Os ensaios serão em blocos ao acaso com quatro repetições e a parcela experimental será de 5 x 5m, espaçadas entre si de 3m e entre blocos 5m. Os experimentos serão conduzidos durante dois anos e a incidência de plantas com sintomas da doença, bem como a disponibilidade de cada forrageira serão avaliadas mensalmente no período das chuvas, quando a doença ocorre normalmente. Ao final, os dados serão analisados fornecendo a área abaixo da curva de progresso da doença, estabelecendo-se assim os germoplasmas resistentes e/ou tolerantes.

Ação 3 - Avaliação do potencial de controle biológico dos patógenos associados à síndrome da morte súbita do capim Marandu com *Trichoderma* spp.

Para avaliar a eficiência do controle biológico sobre os patógenos serão utilizados diferentes isolados de *Trichoderma harzianum*, provenientes de formulações comerciais produzidas por empresas idôneas. Estes isolados serão cultivados em placas de Petri contendo meio BDA incubadas a 28 ± 1 °C com fotoperíodo de 12 horas para promover o crescimento e conidiogênese.

3.1 Efeito de *Trichoderma harzianum* no controle biológico de *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Fusarium* spp.

a) Avaliação da ação do antagonista *in vitro*

Os testes serão realizados, inicialmente, *in vitro*. Para os testes, discos de meio contendo o fungo antagonista serão colocados em placas de Petri contendo meio BDA, juntamente com discos contendo os patógenos (pareamento). Serão realizadas avaliações do crescimento dos fungos para observação do antagonismo. As avaliações serão realizadas a cada 24 horas até que as placas contendo apenas os fungos patogênicos sejam completamente colonizadas por eles.

b) Avaliação do efeito do antagonista *in vivo*, em casa de vegetação

Após os testes *in vitro*, os materiais serão testados em casa de vegetação. Os isolados patogênicos serão incorporados ao solo esterilizado, isoladamente e/ou associados, utilizando vasos com capacidade para 5L. O solo será inoculado com o antagonista e semeado com o capim-marandu.

Para testar o efeito do antagonista no controle dos patógenos do solo, serão utilizadas diferentes concentrações, sendo: 0 = sem antagonista; 1= 1×10^6 conídios/mL por vaso; 2= 2×10^6 conídios/mL por vaso; 3= 3×10^6 conídios/mL por vaso e 4= 4×10^6 conídios/mL por vaso, e uma testemunha absoluta, sem inóculo do antagonista e do(s) patógeno (s).

Serão realizadas avaliações a cada dois dias para observação do aparecimento de sintomas e severidade desses sintomas na planta.

c) Avaliação do efeito do antagonista *in vivo* no campo

Será utilizado o mesmo genótipo testado no ensaio em casa de vegetação. Assim, em área de ocorrência da morte súbita, serão preparadas parcelas experimentais, cujo delineamento será em blocos ao acaso, com quatro repetições de cada tratamento. Serão coletadas amostras de solo, para obtenção dos valores da densidade de inóculo presente na área antes da semeadura. Nas parcelas com *Trichoderma harzianum* as avaliações serão feitas antes da aplicação do produto, 30 e 60 dias após a sua aplicação, de modo que a redução do inóculo no solo será um dos critérios para avaliação dos experimentos. Outros critérios serão a incidência e severidade de doenças e a produtividade das áreas.

3.2 Efeito de *Trichoderma harzianum* no controle biológico de *Pratylenchus brachyurus* em plantas forrageiras

Esta ação de pesquisa será realizada em casa de vegetação e à campo, para verificar o efeito de *T. harzianum* como agente de controle biológico de *P. brachyurus*, bem como, a eficiência do mesmo mediante os diferentes métodos de aplicação.

a) Ensaio em casa de vegetação

Neste experimento será utilizado o genótipo mais suscetível a *P. brachyurus* de cada espécie testada no experimento de hospedabilidade, além de Soja 'Monsoy 8866' e milho 'BRS – 106', como padrões de suscetibilidade. Para tanto, cada material a ser analisado será inoculado apenas com a população do nematóide que se apresentar mais agressiva para o referido material.

Sementes dos materiais genéticos serão inoculadas com o substrato comercial a base de *T. harzianum*, conforme indicação do fabricante e semeadas em vasos com 2,5L de capacidade, contendo uma mistura (1:1) de solo + areia autoclavada. Após a emergência das plântulas, ocorrerá o desbaste de modo a obter população final de quatro plantas por vaso.

Após o estabelecimento das mudas, estas serão inoculadas com 1000 ovos/juvenis de *P. brachyurus*. Aos 90 dias após a inoculação, serão realizadas as avaliações através do processamento das raízes e do solo, quantificação dos espécimes obtidos e cálculo das variáveis, enquanto que a parte aérea das plantas será avaliada quanto à produção de matéria seca, através da pesagem e secagem em estufa ventilada à temperatura de 60°C ±5, por no mínimo 72 horas. Serão consideradas como testemunhas, aquelas inoculadas apenas com *P. brachyurus*.

b) Ensaio à campo

Serão utilizados os mesmos genótipos testados no ensaio em casa de vegetação. Assim, em área naturalmente infestada por *P. brachyurus*, serão preparadas parcelas experimentais, cujo delineamento será em blocos ao acaso, com quatro repetições de cada tratamento. Por ocasião da semeadura, serão coletadas amostras de solo para obtenção dos valores da população inicial de *P. brachyurus*. Os tratamentos consistirão de:

- a. *Trichoderma harzianum* via tratamento de sementes
Será utilizado produto comercial a base de *T. harzianum* no tratamento de sementes, conforme indicação do fabricante, estas serão semeadas nas parcelas correspondentes a este tratamento
- b. *Trichoderma harzianum* via aplicação no sulco de plantio

Será utilizado produto comercial a base de *T. harzianum*, nas dosagens recomendadas pelo fabricante, através de pulverização no sulco de plantio no momento da semeadura, nas parcelas correspondentes a este tratamento.

A testemunha será representada pela semeadura das sementes não tratadas.

Aos 90 dias da semeadura serão realizadas as avaliações da população de *P. brachyurus* em cada tratamento. Para tanto, serão coletadas, em cada parcela, uma amostra composta por quatro sub-amostras, sendo que cada sub-amostra conterá solo e raízes para extração de nematóides, para posterior quantificação dos espécimes e cálculo das variáveis, enquanto que a parte aérea será utilizada para a

avaliação da produção de matéria seca, através da pesagem e secagem em estufa ventilada a uma temperatura de 60°C ±5, por no mínimo 72 horas.

h) principais contribuições científicas ou tecnológicas da proposta, com ênfase nos benefícios esperados para a Região Centro-Oeste

Várias serão as contribuições científicas, tecnológicas e de inovação geradas com a realização do projeto, uma vez vários resultados obtidos possibilitarão a geração de novas cultivares a serem lançadas para a região Centro-Oeste e outras regiões do Brasil. Várias publicações serão geradas e, o mais importante, vários estudantes da região serão qualificados com a realização do projeto.

Os produtos ou processos que serão gerados, caso pertinentes, serão submetidos a processos de propriedade intelectual e serão patenteados pelas instituições parceiras.

i) orçamento detalhado, incluindo previsão de participação de reuniões internas de acompanhamento e integração dos projetos da Rede

Discriminação do item	Valor unitário	Quantidade	Valor total
Agar agar puro fr. c/ 500 g	450,00	6	2.700,00
Ácido acético P A fr. c/ 1 L	16,00	1	16,00
Ácido láctico fr. c/ 1 L	29,00	1	29,00
Água sanitária (L)	1,90	24	45,60
Álcool 96 - comercial	7,00	34	238,00
Álcool etílico P.A. 99,5 %	12,50	4	50,00
Algodão hidrófilo (500 g)	12,00	5	60,00
Recarga para cilindros de CO ₂ para pulverizador	25,00	15	375,00
Antibiótico Sulfato de Estreptomicina (25 g)	98,00	1	98,00
Areia lavada (m ³)	90,00	2	180,00
Aveia flocos finos Quacker (500 g)	7,50	3	22,50
Azul de bromotimol fr. c/ 5 gr.	35,00	4	140,00
Baldes plásticos reforçados (15L)	10,00	4	40,00
Bandejas plásticas 20x30x8cm	4,50	200	900,00
Bastão de vidro (8 mm)	2,30	10	23,00
BDA - batata, dextrose e agar (500 g)	120,00	2	240,00
Becker graduado vidro (500mL)	9,00	25	225,00
Bobina de papel Kraft New 60 cm (rolo)	30,00	1	30,00
Borracha branca com cinta	0,75	10	7,50

Mercur			
Caixa plástica (\pm 28,5 cm x 18,5 cm x 10,0 cm)	30,00	40	1.200,00
Calcário dolomítico (t) - campo e casa-de-vegetação	100,00	6	600,00
Calcário dolomítico ultrafino - sementes	250,00	1	250,00
Câmara de Newbauer dupla espelhada	180,00	3	540,00
Câmara de Peters	180,00	2	360,00
Caneta BIC azul cristal/preta/vermelha	0,50	30	15,00
Canetas para plástico e vidro	1,50	15	22,50
Canetas para quadro branco e papel (ponta porosa)	3,50	15	52,50
Cartucho p/ impressora	55,00	4	220,00
Cartucho para impressora jato de tinta colorido	9,70	10	97,00
Cartucho para impressora jato de tinta preto	10,90	14	152,60
Cd gravavel	2,35	30	70,50
Cola Tenaz (90g)	1,90	3	5,70
Combustível (L) diesel	2,10	1000	2.100,00
Combustível (L) gasolina	2,70	1000	2.700,00
Contador manual de inox	40,00	4	160,00
Copo descartável (50 mL, com 100)	2,00	2	4,00
Copo descartável (500 mL, com 100)	5,00	10	50,00
Demais vidrarias para laboratório (diversas)	800,00	1	800,00
Detergente doméstico	1,10	24	26,40
Dextrose alimentar (500g)	17,00	4	68,00
Dextrose P.A fr. c/ 500gr	8,50	4	34,00
Enxada tramontina 2,5 libras com cabo	25,00	8	200,00
Erlenmeyer 1000mL	20,00	5	100,00
Escova para Limpeza Interna de Tubos de Ensaio e Provetas	4,00	3	12,00
Espátula com colher, Chapa de aço inox 304 com 15 cm de comprimento	10,00	5	50,00
Esponjas para limpeza Scotch (pcte com 3)	4,00	10	40,00

Estacas de madeira 1,40 m	2,00	60	120,00
Etiqueta campeão	3,00	200	600,00
Fertilizantes químicos (diversos), macro e micronutrientes – campo e casa-de-vegetação	1.000,00	1	1.000,00
Filme PVC transparente	5,00	20	100,00
Fita alerta rolo c/ 50 m	18,00	6	108,00
Fita crepe 3M (19mmx50m)	2,15	60	129,00
Fita durex 12X30 500 BOPP 3M	1,10	5	5,50
Fungicidas diversos	500,00	1	500,00
Garfo com 4 dedos reto com cabo	20,00	4	80,00
Gaze hidrófila 100% algodão não esterilizada (9 fios/cm ² – rolo 340g)	55,00	2	110,00
Glicerina PA fr. c/ 1 L	42,00	1	42,00
Grampos para grampeador (cx)	3,90	2	7,80
Herbicidas diversos	500,00	1	500,00
Hipoclorito de sódio 4-6% P.A 1000mL	5,10	8	40,80
Inseticidas diversos e acaricidas	500,00	1	500,00
Lâminas para Bisturi nº 24	30,00	1	30,00
Lâminas para microscopia 26x76mm cx. c/ 50 un	6,20	5	31,00
Lamínula de vidro 24 x 24mm (cx com 100)	4,00	15	60,00
Lamínulas microscopia 24x60mm cx. c/ 100 um	7,72	5	38,60
Lâmpada fluorescente de 20W – luz negra	47,90	10	479,00
Lâmpada fluorescente de 40W	4,00	30	120,00
Lâmpada fluorescente H9 - 110V	12,00	30	360,00
Lâmpada germicida UV G13/T8-15 Watts220V	60,00	3	180,00
Lápis preto nº 2 Faber Castell	0,38	30	11,40
Luva de procedimento tam. G (com 100)	20,00	2	40,00
Luva de procedimento tam. M (com 100)	20,00	2	40,00
Luva de procedimento tam. P (com 100)	20,00	2	40,00
Lysoform	10,00	5	50,00

Macacão para trabalho de campo	30,00	4	120,00
Macroelementos individuais - sementes	500,00	1	500,00
Marreta	35,00	4	140,00
Máscara flexível para pó (com 100)	8,00	1	8,00
Microelementos individuais - sementes	200,00	1	200,00
Óleo mineral nujol L	155,00	3	465,00
Outros materiais de campo (não contemplados)	600,00	1	600,00
Outros materiais de escritório (não contemplados)	200,00	1	200,00
Outros materiais de laboratório (não contemplados)	600,00	1	600,00
Papel A4 (resma)	10,45	10	104,50
Papel A4 pct. c/ 500 fls.	12,00	2	24,00
Papel alumínio (7m)	5,00	10	50,00
Papel alumínio rolo 30m	3,00	4	12,00
Papel de filtro de 15cm Ø pct. c/ 100 un	16,50	25	412,50
Papel-toalha crepado 3 dobras 19,5X26,5 (com 1000)	18,00	4	72,00
Parafilm "m" 10,2cm (4") largura x 38,1m (125ft)	90,00	1	90,00
Parafilme rolo 30m	3,00	10	30,00
Pinça para relojoeiro ponta fina	15,00	10	150,00
Pinça para relojoeiro ponta grossa	15,00	10	150,00
Pinça reta tam. 14 cm	28,90	3	86,70
Pipeta Pasteur (plástica) (com 100)	35,00	1	35,00
Pisseta plástica	3,90	10	39,00
Placas de Petri de vidro de 10cm Ø emb. c/48pçs	4,07	5	20,35
Placas de Petri de vidro de 15cm Ø cx. c/ 20pçs	7,10	15	106,50
Polvilhadeira guarany para o controle de formigas	17,00	2	34,00
Prancheta	1,45	5	7,25
Proveta de vidro 100 ml graduada	6,40	8	51,20
Proveta graduada, vidro, 1000 mL	29,00	5	145,00

Pulverizador manual para inoculação	20,00	20	400,00
Rastelo comum com cabo	20,00	6	120,00
Saco branco chão	5,00	20	100,00
Saco de papel (capacidade 1 kg) (mil)	15,00	7	105,00
Saco de papel (capacidade 3 kg) (mil)	30,00	5	150,00
Saco de papel (capacidade 5 kg, reforçado) (mil)	50,00	4	200,00
Saco de papel cap. 500gr pct. c/ 1kg	10,00	5	50,00
Saco de plástico cap. 500gr pct. c/ 1kg	10,00	5	50,00
Sacos de ráfia	2,00	500	1.000,00
Sacos para pipoca nº 1 (com 500)	10,00	1	10,00
Sacos plásticos (tamanhos diversos) - quilo	10,00	15	150,00
Seringas 10 mL descartáveis	1,20	100	120,00
Sulfato de estreptomicina fr. 25g	55,60	2	111,20
Tesoura de poda	30,00	2	60,00
Tinta acrílico branca fr. c/ 3600 mL	180,00	4	720,00
Tinta acrílico preta fr. c/ 250 mL	22,00	4	88,00
Tinta guache	2,00	1	2,00
Tinta plástica	2,70	1	2,70
Trena de 50 metros	50,00	1	50,00
Tubo de ensaio (15x160 mm) tampa rosqueável	1,75	50	87,50
Vasos de plástico cap. 10L	5,00	300	1.500,00
Vasos de plástico cap. 5L	3,90	300	1.170,00
Vasos de plástico cap. 8 L	8,00	600	4.800,00
Vassoura piaçava com cabo	6,50	20	130,00
Vermiculita (pcte)	25,00	10	250,00
Xilol fr. c/ 1 L	38,00	1	38,00

36.590,30

Passagens e Diárias	Valor unitário (R\$)	Quantidade	Valor total (R\$)
Passagens para 3 pesquisadores do projeto para participarem de Workshop anual de apresentação de resultados parciais de pesquisa realizada (local Cuiabá-MT)	750,00	9	6.750,00
Passagens para o coordenador do projeto visitar experimentos e discutir estratégias de pesquisa com os coordenadores locais de atividades em MS e GO (uma viagem por ano/local)	750,00	9	6.750,00
Diárias no país para a coleta de amostras e avaliações de experimentos e reuniões anuais dos participantes do projeto	187,83	85	15.965,55

29.465,55

CAPITAL	Quantidade	Valor unitário	Valor total
Câmara para Germinação de Plantas e Sementes (Inc. tipo B.O.D. com Fotoperíodo e alternância de temperatura)	1	7000,00	7.000,00
Forno Micondas	1	350,00	350,00
Geladeira 430 L para armazenamento de amostras	1	1100,00	1.100,00
Impressora multifuncional laser	1	500,00	500,00
Material bibliográfico			2.550,00
Microcomputador Intel Core i5-750 2.66GHz 8MB cache - Placa mãe Intel BOXDP55WB S/R Giga LGA1156 - Core i5 Série 750 e Core i7 Série 800, Chipset Intel P55, FSB 1333MHz, 4 DDR3 1066/1333Mhz (até 16GB), 1 PCI-e x16, 1 PCI-e x1, 1 PCI, 6 SATAII RAID: 0, 1, 5, 10 & Matrix, 8+6USB 2.0, Firewire: 2 (1 externo / 1 interno). (sem PS/2, serial e paralela). Memória DDR3 4GB (2x2048MB) kingston, HD 1000 GB SATA2 7200 RPM, Placa vídeo 1024MB GeForce GT240 PCI Express PCI DDR3 VGA+DVI+HDMI HDTV SLI 128BIT, R-VGA-150930-SD3, Gabinete 4 baias, Kit Teclado e Mouse Óptico Microsoft , Pad Mouse. Monitor	1	3000,00	3.000,00
Microscópio estereoscópico binocular, c/ ocular de 10x, objetivas 2x e 4x, ampliação de 20 a 40x marcaOptech	1	3150,00	3.150,00
No-break para computador	1	300,00	300,00

17.950,00

BOLSA	Quantidade	Nº meses	Valor mensal	Valor (R\$)
Mestrado - GM	1	24	1.200,00	28.800,00
				28.800,00

j) cronograma físico-financeiro

Ações	Ano I		Ano II		Ano III		Total (R\$)
	1	2	1	2	1	2	
1	11.987,67	11.453,54	3.452,27	2.319,32	1.321,98	1.213,45	31.748,23
2	22.876,42	13.761,90	8.657,98	5.723,09	4.532,21	453,98	56.005,58
3	23.859,87	16.832,43	7.987,21	3.987,67	5.360,88	1.023,98	59.052,04
Total (R\$)	58.723,96	42.047,87	20.097,46	12.030,08	11.215,07	2691,41	146.805,85

Ação 1: Identificação de patógenos associados aos sintomas da síndrome de morte súbita do capim Marandu

Ação 2: Avaliação do grau de resistência de plantas forrageiras aos patógenos associados à síndrome da morte súbita do capim Marandu

Ação 3: Avaliação do potencial de controle biológico dos patógenos associados à síndrome da morte súbita do capim Marandu com *Trichoderma* spp.

k) disponibilidade efetiva de infraestrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto.

A contrapartida da UFMT e demais instituições envolvidas para a execução deste projeto refere-se à infra-estrutura que as mesmas oferecem em termos de Laboratórios especializados, dotados da maioria dos equipamentos necessários para a execução das ações de pesquisa previstas. Assim, está sendo requisitado ao CNPq apenas parte dos equipamentos que serão necessários, como também recursos para custeio, com disponibilidade restrita. Para a instalação dos experimentos de campo, área, máquinas e mão-de-obra serão disponibilizadas, tanto pela UFMT quanto pelas demais instituições parceiras. Além dos pesquisadores envolvidos no projeto, pessoal de apoio qualificado estará disponível para auxiliar na instalação e avaliação dos experimentos. As instituições envolvidas, sobretudo a UFMT e a Embrapa Gado de Corte, também oferecerão os serviços de correios, internet e de telefonia, assim como acervo bibliográfico para consultas.

l) identificação dos demais participantes do projeto, descrevendo as atividades de cada um deles;

Pesquisadores	CPF	Titulação	Instituição	Atividades desenvolvidas no projeto
Daniel Cassetari Neto	345.851.336-15	Doutor	UFMT	Coordenação do Projeto e Responsável por todas as Ações
Andréia Quixabeira Machado	805.481.051-20	Mestre	UNIVAG/MT	Colaborar em todas as Ações
Celso Fernandes Dornelas	453.918.316-87	Doutor	Embrapa Gado de Corte	Colaborar nas Ações 1 e 2
Jaqueline R. Verzignassi	080.351.768-89	Doutora	Embrapa Gado de Corte	Colaborar nas Ações 1 e 2
Leimi Kobayasti	488.607.001-91	Doutora	UFMT	Colaborar em todas as Ações
Murillo Lobo Junior	622.558.516-87	Doutor	Embrapa Arroz e Feijão	Colaborar na Ação 3
Rosângela Aparecida da Silva	571.841.601-00	Doutora	UNIVAG/MT	Colaborar em todas as Ações
Apoio Técnico	CPF	Categoria/Instituição		
Margareth Vieira Batista	365.182.471-34	Embrapa Gado de Corte		Colaborar na Ação 1
Alunos/bolsistas	CPF	Categoria/Instituição		Atividades desenvolvidas no projeto
Carolina de Arruda Queiróz	011.703.081-39	Mestranda em Agronomia/UEMS		Colaborar na Ação 1
Guilherme Mallmann	939.082.880-53	Doutor/ Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional/CNPq/Micologia/Embrapa Gado de Corte		Colaborar nas Ações 1 e 2
Guilherme Sobral de Macedo	023.176.031-00	Graduando/ Zootecnia/UFMS		Colaborar na Ação 1
Katyuce da Silva Chermouth	959.973.931-00	Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial Nível II/CNPq/Embrapa Gado de Corte		Colaborar na Ação 1
Marcelo José da Silva	986.796.601-59	Graduando/ Ciências Biológicas/UNIDERP-Anhanguera		Colaborar na Ação 1
Maria Luiza Nunes Costa	786.666.006-91	Doutora/ Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional/CNPq/Micologia/UFMT Araguaia		Colaborar na Ação 3
Bianca Hardman Alves	006.180.481-97	Graduanda/Agronomia/UFMT		Colaborar em todas as Ações

m) indicação de colaborações ou parcerias já estabelecidas com outros centros de pesquisa na área, incluindo contrapartida das instituições participantes;

Para o desenvolvimento do Projeto, várias instituições estarão envolvidas, conforme pode ser observado no quadro da equipe, descrita no item “i” desta proposta. Vale ressaltar a parceria entre a Embrapa e a Unipasto (Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras Tropicais, que congrega 27 dos maiores produtores de sementes de forrageiras tropicais do Brasil, os quais são os principais usuários das tecnologias geradas e que também atuam como transferidores de tecnologia).

De modo geral, a contrapartida das instituições envolvidas para a execução deste projeto refere-se à infra-estrutura que as mesmas oferecem em termos de Laboratórios especializados, dotados da maioria dos equipamentos necessários para a execução das ações de pesquisa previstas. Assim, está sendo

requisitado ao CNPq apenas parte dos equipamentos que serão necessários, como também recursos para custeio, com disponibilidade restrita. Para a instalação dos experimentos de campo, área, máquinas e mão-de-obra serão disponibilizadas pelas instituições envolvidas. Além dos pesquisadores envolvidos no projeto, pessoal de apoio qualificado estará disponível para auxiliar na instalação e avaliação dos experimentos. As instituições envolvidas, sobretudo a UFMT, também oferecerão os serviços de correios, internet e de telefonia, assim como acervo bibliográfico para consultas.

n) estimativa dos recursos financeiros de outras fontes que serão aportados por eventuais parceiros

Não há.

o) indicação do grau de interesse e comprometimento de agentes dos setores público e privado ou de organizações sociais com o escopo da proposta, quando for o caso

Existe forte compromisso de todas as instituições envolvidas nessa Proposta, bem como dos produtores e todos os demais elos do setor produtivo de sementes de forrageiras tropicais, pelo desenvolvimento das atividades previstas no Projeto.

p) outras considerações

Não há.

q) referências bibliográficas

ADB-EL MOITY, T. H.; PAPAIVAS, G. L.; SHATLA, M. N. Induction of new isolates of *Trichoderma harzianum* tolerant to fungicides and their experimental use for control of white rot of onion. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 72, n. 4, p. 394-400, Apr. 1982.

ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M.L.R.; VALDEBENITO SANHUEZA, R. M.; SIMÃO NETO, M.; TEIXEIRA NETO, J.F. Ocorrência da podridão do coleto do capim braquiarião no Estado do Pará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, supl, p. 352, 2000. Edição dos resumos do 33. Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Belém, 2000.

ALCÂNTARA, P.B.; PEDRO JÚNIOR, M.J.; DONIZLLI, P.L. **Zoneamento edafoclimático de plantas forrageiras**. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSISTEMA DE PASTAGENS, 2, 1993. Jaboticabal, SP. **Anias...** Jaboticabal, 1993. p. 1-16.

BARNETT, L. & HUNTER, B.B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**, 3^a ed. Minnesota, Burgess Publishing Company, 1972. 241 p.

CHAO, W. L.; NELSON, E. B.; HARMAN, G. E.; HOCH, H. C. Colonization of the rhizosphere by biological control agents applied to seeds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 76, n. 1, p. 60-65, Jan. 1986.

DUARTE, M.L.R., ALBUQUERQUE, F.C., SANHUEZA, R.M.V.; VERZIGNASSI, J.R. & KONDO, N. Etiologia da podridão do coleto de *Brachiaria brizantha* em pastagens da Amazônia. **Fitopatologia Brasileira** 32:261-265. 2007.

HARMAN, G. E.; BJÖRKMAN, T. Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement. In: HARMAN, G. E.; KUBICEK, C. P. **Trichoderma and Gliocladium**. London: Taylor & Francis, 1998. v. 2, p. 229-265.

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

LYNCK, J. Pesquisa inglesa com agentes biológicos. **Jornal Agroceres**, São Paulo, v. 212, p. 2, maio/jun. 1992.

MARCHI, C. E. ; FERNANDES, C. D. ; SANTOS, J. M. dos ; JERBA, V. F. ; FABRIS, L. R. . Mortalidade de *Brachiaria brizantha* cultivar Marandu: causa patológica?. In: Barbosa, R. A.. (Org.). **Morte de pastos de braquiárias**.. 1 ed. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2006, p. 115-134.

MENEZES, M. Avaliação de espécies de *Trichoderma* no tratamento de feijão e do solo, visando o controle de *Macrophomina phaseolina*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 25., 1992, Gramado, RS. Resumos... Brasília: SBS, 1992. p. 159.

PAPAVIZAS, G. C. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and pea and bean rhizospheres. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 72, n. 1, p. 121-125, Jan. 1982.

SUTTON, B. C. The Coelomycetes: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Kew, **Crommonwealth Mycological Institute**, 1980. 696 p.

