

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

MURILO VALBUSA PELÁ

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ISOLADOS *Bipolaris*
spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE CARURU (*Amaranthus Hybridus* e *Amaranthus*
Viridis)**

MONTE CARMELO

2025
MURILO VALBUSA PELÁ

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ISOLADOS *Bipolaris*
spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE CARURU (*Amaranthus Hybridus* e *Amaranthus*
Viridis)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Agronomia da
Universidade Federal de Uberlândia,
Campus Monte Carmelo, como requisito
necessário para a obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Bruno Sérgio Vieira

MONTE CARMELO

2025
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

MURILO VALBUSA PELÁ

**CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ISOLADOS *Bipolaris*
spp. NO CONTROLE BIOLÓGICO DE CARURU (*Amaranthus Hybridus* e *Amaranthus*
Viridis)**

Prof. Dr. Bruno Sérgio Vieira
Orientador

Homologado pelo Colegiado do Curso
Supervisionado em: ____/____/20____

Coordenador do Curso

MONTE CARMELO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar ao meu lado em todas as fases da minha vida.

Ao meu orientador, Bruno Sérgio Vieira, por desempenhar essa função com dedicação, paciência e amizade.

Aos meus pais, Gabriela e Evandro, e ao meu irmão, Thiago, pelo apoio e incentivo incondicionais, por nunca soltarem a minha mão e por sempre acreditarem em mim. Não existem palavras suficientes para expressar o quanto sou grata por tudo o que fizeram por mim.

Ao grupo de pesquisa Núcleo de Estudos em Controle Biológico (NCBio) do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (LAMIF), em especial à Bruna Ferreira, Letícia Alves e André, pela amizade e pelas valiosas contribuições no desenvolvimento deste projeto.

Aos amigos Nathan, Henrique S., Henrique Braga, Ivania, Lara, Lauren, Leonardo, Gabriel e aos familiares que fizeram parte da minha formação e que continuarão presentes na minha vida.

À Universidade Federal de Uberlândia e ao seu corpo docente, pelo comprometimento com a qualidade e excelência do ensino.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

2025 SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 JUSTIFICATIVA	12
3 OBJETIVO GERAL	13
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
4 REFERENCIAL TEORICO.....	13
4.1 Caracterização morfológica de fungos Fitopatogênicos.....	13
4.2 O Genêro <i>Bipolaris</i>	14
4.3 <i>Amaranthus</i> como hospedeiro.....	15
4.4 Filogenia molecular do gênero <i>Bipolaris</i>	15
5. MATERIAIS E METODOS.....	15
5,1 Local de pesquisa.....	15
5.2 Obtenção do isolado fúngico.....	15
5.3 Identificação taxonômica dos isolados	16
5.3.1 Cultivo e Preparação dos isolados de <i>Bipolaris</i>	17
5.3.2 Identificação e Caracterização Morfológica.....	17
5.4 Caracterização molecular	17
5.4.1 Extração do DNA	17
5.5 Análises filogenéticas	18
5.6 Manutenção das plantas de <i>Amaranthus</i> spp.....	18
5.7 Teste de patogenicidade	19
5.8 Avaliação do potencial dos isolados como agentes de controle biológico.....	20
5.8.1 Condições pós-inoculação e avaliação da severidade.....	20
5.9 Análise dos dados	21
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6.1 Caracterização morfológica	21
6.2 Caracterização molecular	22
6.3 Testes de patogenicidade	25
6.4 Avaliação do potencial de controle biológico	26
7 CONCLUSÕES.....	29
8 REFERÊNCIAS	31

RESUMO

O gênero *Amaranthus*, conhecido como caruru, reúne espécies de plantas daninhas amplamente distribuídas em áreas agrícolas brasileiras. Entre elas, *A. palmeri* destaca-se pela elevada resistência a herbicidas, dificultando seu controle. Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo caracterizar morfológicamente e molecularmente dois isolados fúngicos do gênero *Bipolaris* (BA005 e BA055), obtidos de plantas de caruru com sintomas de manchas foliares, e avaliar seu potencial como agentes de biocontrole. Foram realizados testes de patogenicidade e agressividade em *A. hybridus* e *A. viridis*, em condições de umidade uniforme. Ambos os isolados causaram lesões necróticas nas plantas hospedeiras, com maior severidade sob alta umidade. O isolado BA005 apresentou controle de até 95% sobre *A. viridis* em uma das repetições, variando entre controle moderado (50%) e deficiente (25%) nas demais. Já o isolado BA055 demonstrou desempenho limitado, com controle em torno de 25%. Para *A. hybridus*, ambos os isolados mostraram baixa eficácia, com supressão entre 10% e 25%. Esses resultados demonstram que o isolado BA005 possui potencial promissor como agente de biocontrole para *A. viridis*, atendendo ao objetivo proposto, enquanto o BA055 requer ajustes metodológicos e formulações alternativas para melhorar sua efetividade.

Palavras-chave: Biocontrole. Plantas daninhas. Fitossanidade.

ABSTRACT

Amaranthus is a genus of weed species widely distributed in Brazilian agricultural areas, commonly known as caruru. Among them, *A. palmeri* stands out due to its high adaptability and resistance to herbicides, making its management particularly challenging. In this context, the present study aimed to perform morphological and molecular characterization of two fungal isolates from the genus *Bipolaris* (BA005 and BA055), collected from caruru plants showing leaf spot symptoms, and to evaluate their potential as biocontrol agents. Pathogenicity and aggressiveness tests were conducted on *A. hybridus* and *A. viridis* under varying humid conditions. Both isolates cause necrotic lesions on host plants, with greater severity observed under high humidity. Isolate BA005 achieved up to 95% control of *A. viridis* in one repetition, ranging from moderate (50%) to poor control (25%) in others. In contrast, isolate BA055 showed consistently low performance, with approximately 25% control. For *A. hybridus*, both isolates demonstrated low efficacy, with suppression levels between 10% and 25%. These findings indicate that isolate BA005 shows promising potential as a biocontrol agent for *A. viridis*, fulfilling the study's objective, while BA055 requires formulation adjustments and further experimental approaches to enhance its effectiveness.

Keywords: Biological control. Weeds. Plant health.

1 INTRODUÇÃO

No mundo, existem cerca de 60 espécies de plantas classificadas botanicamente como pertencentes ao gênero *Amaranthus* (carurus) e aproximadamente 10 destas possuem importância como plantas infestantes das lavouras brasileiras (Kissmann & Groth, 1999). Os carurus estão presentes em grande parte das áreas agrícolas do Brasil, destacando-se: *A. deflexus* (caruru-rasteiro), *A. hybridus* (caruru-roxo), *A. lividus* (caruru-folha-decuia), *A. retroflexus* (caruru-gigante), *A. spinosus* (caruru-de-espinho) e *A. viridis* (caruru-de-mancha). As espécies de caruru que infestam lavouras brasileiras são plantas daninhas anuais, com reprodução exclusivamente por sementes, o que contribui para sua elevada capacidade de disseminação e proliferação (WARD et al., 2013; JHA, 2008).

No campo, a identificação precisa dessas espécies é frequentemente desafiadora devido à sua similaridade morfológica. Em algumas espécies de caruru, uma planta de grande porte pode produzir quantidades superiores a 200.000 sementes (Kissmann; Groth, 1999; Lorenzi, 2000). Essa elevada capacidade reprodutiva contribui significativamente para a dificuldade de manejo do gênero em campo, pois as sementes formam um banco no solo com ampla variação no tempo de germinação, o que permite sua perpetuação ao longo de vários ciclos agrícolas. Nas áreas agrícolas, os carurus podem ser caracterizados como plantas de difícil manejo, devido ao extenso período de germinação do banco de sementes, rápido crescimento e desenvolvimento, elevada produção de sementes viáveis, longa viabilidade de suas sementes no solo e dificuldade na identificação das diferentes espécies no campo (Horak; Loughin, 2000). Segundo a Bayer (2023), o aumento de casos de resistência de espécies de *Amaranthus* a herbicidas no Brasil evidencia um grande desafio para a agricultura moderna, especialmente em culturas como soja, milho e algodão. Dados da base de registros da Weed Science (2024) documentam casos notáveis de resistência múltipla a diferentes mecanismos de ação, o que exige estratégias de manejo mais diversificadas.

A presença de resistência múltipla em espécies de *Amaranthus* tem se intensificado nas últimas décadas, dificultando o manejo químico em diversas culturas agrícolas. Em 2018, *Amaranthus hybridus* foi identificado em áreas de soja com resistência simultânea a herbicidas inibidores da ALS, como o clorimurrom-etílico, e da EPSPS, como o glyphosate (Heap, 2018; Moreira; Bragança, 2010; Embrapa, 2017). De forma semelhante, *Amaranthus palmeri*, detectado no Brasil em 2016, apresentou resistência múltipla aos inibidores da ALS (imazetapir, clorimurrom-etílico e cloransulam-methyl) e da EPSPS (glyphosate) (Heap, 2016; Carvalho et

al., 2015; Ward et al., 2013). Essas resistências estão associadas a mutações genéticas que comprometem a eficácia dos herbicidas, especialmente nas culturas de soja, milho e algodão.

Nesse contexto, outras espécies também têm demonstrado resistência preocupante. *Amaranthus viridis*, identificado em lavouras de algodão em 2011, apresentou resistência aos herbicidas que atuam no Fotossistema II, como atrazine e prometryne (Heap, 2016; Nicolai et al., 2008). Já *Amaranthus retroflexus*, registrado em 2014, revelou resistência a três mecanismos de ação distintos: PROTOX (fomesafen), ALS (pyrithiobac-sodium e trifloxysulfuron-sodium) e Fotossistema II (atrazine e prometryne) (Heap, 2016; Wise et al., 2009). Esses casos evidenciam a necessidade urgente de práticas diversificadas no manejo de plantas daninhas.

Além do glyphosate, há relatos de biótipos resistentes a herbicidas inibidores da Acetil CoA carboxilase – ACCase (PAES, 2018). Apesar disso, esse grupo de herbicidas continua sendo amplamente utilizado no controle químico pós-emergente de espécies de caruru (LOPES et al., 2021). Segundo Carvalho (2013), no Brasil, os inibidores da ACCase são classificados em dois grupos químicos: Ariloxifenoxi-propionatos (FOPs) e Ciclohexanodionas (DIMs).

Frente a esse cenário de resistência crescente, torna-se viável e necessário considerar o controle biológico como alternativa complementar dentro do manejo integrado de plantas daninhas, visando maior sustentabilidade e eficácia no controle de *Amaranthus* spp.

O controle biológico, definido como a supressão ou estabilização de populações de espécies indesejáveis por meio do uso de inimigos naturais (Embrapa, 2006), representa uma alternativa promissora dentro do manejo integrado de plantas daninhas. Diante do crescente desafio representado pelas espécies de *Amaranthus* spp. nas áreas agrícolas, especialmente em função da resistência a múltiplos mecanismos de ação de herbicidas, torna-se urgente a busca por alternativas sustentáveis e eficazes de manejo. Nesse contexto, o controle biológico surge como uma estratégia promissora, capaz de integrar-se ao manejo integrado de plantas daninhas, oferecendo vantagens como seletividade, menor impacto ambiental e potencial de longo prazo na supressão populacional das espécies alvo (Agrolink, 2023; Embrapa, 2018). A utilização de agentes biológicos, como fungos entomopatogênicos e microrganismos antagonistas, pode representar uma ferramenta inovadora no enfrentamento da resistência de carurus aos herbicidas convencionais, contribuindo para a diversificação das práticas agrícolas e a redução da dependência de insumos químicos.

Embora ainda existam desafios a serem superados — como a especificidade dos bioagentes, a necessidade de condições ambientais favoráveis para sua eficácia, e a variabilidade de desempenho entre ambientes controlados e campo — esses obstáculos não invalidam o

potencial da abordagem. Pelo contrário, reforçam a importância de investimentos em pesquisa, desenvolvimento tecnológico e políticas públicas que viabilizem sua aplicação em larga escala. Estudos aprofundados sobre formulação, armazenamento, regulação e impactos ecológicos são fundamentais para ampliar a aceitação e a segurança do uso desses agentes no controle de *Amaranthus spp.* e outras plantas daninhas de difícil manejo (Embrapa, 2018; Vasconcelos et al., 2022).

Avanços na pesquisa e no desenvolvimento de tecnologias são essenciais para superar essas lacunas e ampliar o uso do controle biológico no manejo sustentável de *Amaranthus spp.* (CHARUDATTAN, 2001).

Este estudo tem como objetivo avaliar o potencial de dois isolados de *Bipolaris spp.* como agentes de biocontrole para o manejo e a supressão de duas espécies de caruru, *Amaranthus hybridus* e *A. viridis*.

2 JUSTIFICATIVA

A rápida expansão de espécies do gênero *Amaranthus* tem se tornado um desafio crescente para a agricultura brasileira, especialmente em culturas como soja, milho e algodão. O caruru é altamente competitivo, disputando por luz, água e nutrientes com as culturas comerciais, o que compromete diretamente a produtividade e a qualidade das lavouras (GAZZIERO; SILVA, 2017). Além disso, espécies como *Amaranthus hybridus*, *A. viridis*, *A. spinosus* e *A. palmeri* têm se destacado pela resistência a herbicidas de diferentes mecanismos de ação, dificultando o manejo químico e elevando os custos de produção.

Os métodos de controle cultural do caruru é baseado no uso intensivo de herbicidas químicos, principalmente o glyphosate. Porém, com o aumento de populações resistentes, o controle químico tem perdido eficácia, além de trazer sérios impactos ambientais, como a degradação do solo, contaminação de recursos hídricos e riscos à saúde humana e animal (GAZZIERO; ADEGAS, 2020). Essa realidade destaca a necessidade de métodos sustentáveis e integrados para o manejo do caruru.

O controle biológico surge como uma alternativa promissora, pois utiliza inimigos naturais, como fungos fitopatogênicos, para reduzir populações de plantas daninhas de forma específica e com menor impacto ambiental. O uso de *Bipolaris spp.* como agente biocontrolador

representa um avanço, oferecendo uma solução mais sustentável e eficaz, com menos dependência de herbicidas (SILVA; SANTOS, 2021).

Essa abordagem, além de reduzir o uso de químicos, minimiza os efeitos negativos ao meio ambiente e à saúde pública, integrando-se facilmente a sistemas de manejo integrado de plantas daninhas. Dessa forma, o estudo do potencial de isolados de *Bipolaris* spp., identificados como BA005 e BA055, como agentes de biocontrole é fundamental para promover práticas agrícolas mais equilibradas e eficientes, contribuindo para a inovação e sustentabilidade na agricultura brasileira (SILVA; SANTOS, 2021).

3 OBJETIVO GERAL

Caracterizar e realizar a descrição completa dos isolados fúngicos coletados e identificado como pertencente ao gênero *Bipolaris*.

3.1 Objetivos Específicos

1) Realizar a classificação taxonômica dos isolados BA 005 e BA055 por meio de análises morfológicas e moleculares.

2) Analisar o potencial dos isolados fúngicos BA005 e BA055, em pós-emergência, no biocontrole de *A. hybridus* e *A. viridis*.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

A caracterização morfológica é uma etapa fundamental na identificação de fungos fitopatogênicos, sendo baseada na observação das estruturas vegetativas e reprodutivas, como hifas, conidióforos, conídios e clamidósporos. Essas estruturas são analisadas quanto à coloração, septação, forma, tamanho e padrão de crescimento em diferentes meios de cultura (LAZAROTTO, 2013). Embora seja uma abordagem tradicional, a morfologia isoladamente pode ser insuficiente para a identificação precisa de espécies, especialmente em gêneros com alta variabilidade fenotípica.

Por esse motivo, a caracterização morfológica é frequentemente complementada por análises moleculares, que permitem maior acurácia na delimitação taxonômica e na compreensão das relações evolutivas entre os organismos (MARIN-FELIX; HERNÁNDEZ-RESTREPO; CROUS, 2020).

4.2. O GÊNERO *BIPOLARIS*

O gênero *Bipolaris* pertence à família Pleosporaceae e inclui diversas espécies de fungos fitopatogênicos que afetam gramíneas e outras plantas de importância agrícola. Esses fungos são caracterizados por produzir conídios multicelulares, geralmente fusiformes, com coloração marrom e septação transversal. Os conidióforos são simples ou ramificados, e as colônias apresentam crescimento rápido em meios como batata-dextrose-água (PDA), com coloração variando entre marrom-oliva e cinza (MANAMGODA et al., 2014).

A identificação morfológica de *Bipolaris* é baseada principalmente na análise dos conídios, que podem apresentar de três a sete septos, com hilo proeminente e forma obclavada ou elíptica. A presença de clamidósporos também pode ser observada em algumas espécies, contribuindo para a diferenciação entre elas (PINHEIRO, 2004).

4.3. *AMARANTHUS* COMO HOSPEDEIRO

O gênero *Amaranthus* inclui espécies amplamente distribuídas em ambientes agrícolas e urbanos, muitas vezes classificadas como plantas daninhas devido à sua alta capacidade competitiva e resistência a herbicidas (TREVIZAN, 2020). Algumas espécies, como *Amaranthus retroflexus*, *A. viridis* e *A. spinosus*, são hospedeiras potenciais de fungos fitopatogênicos, incluindo *Bipolaris*, que podem causar lesões foliares necróticas e comprometer o desenvolvimento da planta.

Estudos recentes têm investigado o uso de fungos como agentes de biocontrole para *Amaranthus*, explorando a patogenicidade de isolados de *Bipolaris* como alternativa ao controle químico (FABBRIS, 2022). A caracterização morfológica desses isolados é essencial para determinar sua identidade e potencial como mico-herbicidas.

4.4. FILOGENIA MOLECULAR DO GÊNERO *BIPOLARIS*

A filogenia molecular tem sido uma ferramenta essencial para a identificação precisa e o entendimento das relações evolutivas entre espécies do gênero *Bipolaris*, especialmente devido à sobreposição de características morfológicas entre diferentes táxons (FERDINANDEZ et al., 2022). Técnicas como o sequenciamento de regiões genéticas específicas — incluindo os espaçadores internos transcritos (ITS), o gene da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GPDH) e o fator de elongação da tradução 1- α (TEF1- α) — têm sido amplamente utilizadas para delimitar espécies e revelar novos registros em hospedeiros como arroz, gramíneas forrageiras e plantas daninhas.

Estudos recentes demonstraram que os genomas mitocondriais de espécies como *Bipolaris maydis*, *B. zeicola*, *B. oryzae*, *B. sorokiniana* e *B. cookei* apresentam alta conservação na organização gênica, mas variabilidade significativa em regiões intrônicas, especialmente no gene *cox1*, o que contribui para a diferenciação entre espécies (SONG et al., 2024). A análise filogenética baseada em conjuntos de genes mitocondriais revelou topologias bem suportadas, reforçando a confiabilidade dos dados moleculares para estudos evolutivos e taxonômicos.

Além disso, a aplicação da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR) tem permitido a amplificação de fragmentos específicos de DNA fúngico, facilitando a identificação de isolados patogênicos em diferentes hospedeiros, como *Amaranthus*, e contribuindo para o desenvolvimento de estratégias de controle biológico mais eficazes (PINHEIRO, 2004).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local e Período da Pesquisa

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia - LAMIF, localizado na Universidade Federal de Uberlândia, campus Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil, durante o período de junho/2024 a maio/2025.

5.2 Obtenção dos Isolados Fúngicos

Com base na necessidade de alternativas sustentáveis para o manejo de *Amaranthus spp.*, foi realizada uma prospecção de agentes fúngicos com potencial de biocontrole nas regiões de

Goiás, Triângulo Mineiro e São Paulo. A atividade foi conduzida pelo Núcleo de Estudos em Controle Biológico (NCBio) da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Monte Carmelo. Foram coletadas plantas de caruru apresentando sintomas de doenças foliares, como manchas e lesões necróticas, em áreas agrícolas dessas regiões.

As amostras vegetais foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia (LAMIF), onde se procedeu ao isolamento dos microrganismos associados por meio de técnicas de isolamento direto e indireto, conforme a natureza da amostra e o tipo de lesão observada. Para o isolamento direto, tecidos vegetais lesionados foram desinfestados superficialmente com solução de hipoclorito de sódio a 1% por 1 minuto, seguidos de três lavagens em água destilada estéril. Em seguida, fragmentos desses tecidos foram transferidos diretamente para placas de Petri contendo meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), visando o crescimento de microrganismos presentes nas lesões. As placas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD) a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

Já o isolamento indireto foi utilizado em situações em que não havia lesões visíveis ou quando se buscava microrganismos endofíticos. Nesse caso, os tecidos foram macerados em solução tampão estéril e a suspensão obtida foi plaqueada em meio BDA, permitindo o crescimento de microrganismos presentes internamente nos tecidos vegetais. Após o crescimento fúngico, as colônias foram submetidas à purificação por meio de técnicas de ponta de hifa ou cultivo monospórico, resultando em culturas puras para posterior identificação e testes de patogenicidade.

A caracterização morfológica preliminar dos conídios e conidióforos permitiu a identificação dos isolados em nível de gênero. Todos os isolados foram codificados como BA (Biocontrol *Amaranthus spp.*) e preservados simultaneamente em duas formas: em solução de glicerol a 10% armazenada em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, e em meio salino (solução de cloreto de sódio a 0,85%). Essa estratégia de dupla preservação foi adotada com o objetivo de assegurar a viabilidade dos microrganismos e a manutenção da coleção ao longo do tempo, permitindo sua reativação para estudos futuros. Para os ensaios posteriores, dois isolados previamente identificados como pertencentes ao gênero *Bipolaris*, denominados BA005 e BA055, foram selecionados e reativados por meio da inoculação de discos miceliais em placas de BDA, seguindo os mesmos parâmetros de incubação descritos anteriormente.

5.3 Identificação taxonômica dos isolados

5.3.1 Cultivo e preparação dos isolados de *Bipolaris* spp

Os isolados fúngicos BA005 e BA055 foram cultivados simultaneamente em três meios de cultura distintos: batata dextrose ágar (BDA), Malt Extract Agar (MEA) e Oat Meal Agar (OA), todos acondicionados em placas de Petri de 90 mm de diâmetro. A escolha por diferentes composições de meio teve como objetivo avaliar o padrão de crescimento micelial, esporulação e morfologia dos isolados sob diferentes condições nutricionais. Essa abordagem permite observar possíveis variações fenotípicas induzidas pela composição do meio, contribuindo para a caracterização morfológica dos isolados e para a seleção do meio mais adequado para futuras aplicações em testes de patogenicidade e formulações biológicas. As placas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD) a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com um fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, por um período de 7 dias para o completo crescimento das colônias.

5.3.2 Identificação e Caracterização Morfológica

A caracterização morfológica dos isolados foi realizada através da observação microscópica e macroscópica. A primeira foi realizada com auxílio do microscópio óptico Nikon para observação das estruturas reprodutivas (conídios, conidióforos, células conidiogênicas) e estruturas vegetativas (hifas). Foram realizadas 30 medições de cada estrutura (comprimento e largura) e avaliação de pigmentação, formato e terminações. As características macroscópicas das colônias, como coloração, textura e crescimento radial foram registradas após 7 dias de cultivo em BDA, MEA e OA.

5.4 Caracterização molecular

5.4.1 Extração do DNA

Os isolados fúngicos foram cultivados em meio de cultura BDA e incubados em BOD a 25°C por 7 dias. O Kit *Wizard Genomic DNA Purification* (Promega) foi utilizado para a extração do DNA, seguindo as instruções do fabricante.

A identificação molecular dos isolados fúngicos foi realizada por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que promove a amplificação de regiões específicas do DNA. Para os isolados deste estudo, foram utilizadas as regiões Translation Elongation Factor

1-Alpha - TEF (EF1-728F/ EF1-986R), descrito por O'Donnell et al. (1998) e Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase – GAPDH (GPD1/GPD2), descrito por Berbee et al. (1999).

Cada reação de PCR foi conduzida em um volume total de 25 µL, contendo: 0,3 µL de Taq DNA polimerase, 0,5 µL de dNTP (10 mM), 2,5 µL de solução tampão 10x, 1,25 µL de cada primer (10 µM), 1 µL de DNA (10-15 ng/µL) e 18,2 µL de água ultrapura esterilizada. Os produtos amplificados foram analisados em gel de agarose a 1,2% e visualizados em transiluminador. Em seguida, os fragmentos amplificados foram purificados e sequenciados pela empresa ACTGene.

5.5 Análises Filogenéticas

Após o sequenciamento, os eletroferogramas e as sequências de cada isolado foram analisados no software SeqAssem 07/2008. As sequências geradas, junto com aquelas obtidas do GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), foram alinhadas utilizando o programa MEGA 7.0 e otimizadas pelas ferramentas MAFFT e Gblocks disponíveis na plataforma NGPhylogeny (<https://ngphylogeny.fr/>), seguindo as configurações padrão. Arquivos no formato PHY foram gerados no SequenceMatrix 1.7.8. A inferência filogenética deste estudo foi realizada com base no método de Máxima Verossimilhança (MV). A análise foi conduzida utilizando o algoritmo RAxML v.7.0.3, aplicando o modelo GTR com 22 parâmetros e 1000 replicações bootstrap (Felsenstein, 1985), por meio da plataforma online CIPRES Science Gateway v.3.3 (Miller et al., 2010) (<https://www.phylo.org/>). A árvore filogenética foi visualizada no FigTree v1.4.4 e editada no Foxit PDF Editor v.2.2.1.1119 e no Canva (<https://www.canva.com/>).

Para a caracterização molecular, a similaridade das sequências obtidas foi calculada utilizando o software MEGA X (Kumar et al., 2018).

5.6 Manutenção das Plantas de *Amaranthus* spp.

Para os testes de patogenicidade, foram cultivadas seis espécies e um híbrido de *Amaranthus*, previamente identificados e selecionados com base em sua relevância agrônoma e ocorrência nas áreas de cultivo da região. No entanto, para o ensaio com aplicação de suspensão micelial, foram escolhidas apenas duas espécies: *Amaranthus hybridus* e *Amaranthus viridis*. A seleção dessas espécies se deu por apresentarem maior representatividade nas

lavouras locais e por serem reconhecidas como hospedeiras potenciais dos isolados fúngicos testados, conforme registros anteriores de ocorrência e suscetibilidade. Essa abordagem permitiu uma avaliação mais direcionada da eficiência dos agentes biológicos em condições controladas, otimizando os recursos experimentais e garantindo maior precisão nos resultados obtidos.

As plantas de *A. hybridus* e *A. viridis* foram cultivadas em casa de vegetação da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Monte Carmelo. As sementes foram adquiridas da empresa AgroCosmos® e armazenadas a 5 °C até o momento da semeadura. O substrato foi preparado com uma mistura de solo, areia e esterco bovino curtido, nas proporções 1:1:1, e posteriormente autoclavado por 1 hora para eliminação de contaminantes. Bandejas de 1,2 L foram preenchidas com o solo autoclavado e a semeadura foi realizada manualmente. Após duas semanas da germinação, as plântulas que apresentavam dois pares de folhas foram transplantadas para vasos de 0,5 L, mantidos em ambiente protegido. O manejo hídrico foi realizado por meio de irrigação automatizada, com duração de 10 minutos nos horários de 8h, 12h e 15h, garantindo condições uniformes de crescimento e desenvolvimento das plantas para os testes subsequentes.

5.7 Teste de Patogenicidade

Plantas de *Amaranthus hybridus* e *A. viridis* com dois a quatro pares de folhas verdadeiras foram selecionadas para os testes de patogenicidade. Para a inoculação, discos de micélio foram obtidos por meio da compressão de canudos plásticos estéreis sobre colônias ativas dos isolados *Bipolaris* spp. BA005 e BA055, previamente cultivados conforme descrito no item 4.4.1. Os discos contendo micélio foram depositados cuidadosamente na face adaxial das folhas das plantas, uma por vaso, respeitando três repetições por espécie e por isolado.

O tratamento controle consistiu na aplicação de discos de meio BDA estéril, obtidos da mesma forma e posicionados igualmente na face adaxial das folhas. Após a inoculação, os vasos foram organizados em bandejas e mantidos em câmara úmida por 48 horas, com o objetivo de favorecer o processo de infecção. Ao final desse período, foi realizada a primeira avaliação visual dos sintomas. Em seguida, todas as plantas, incluindo o tratamento controle, foram transferidas para casa de vegetação, onde permaneceram sob condições controladas para monitoramento da evolução dos sintomas. O experimento foi conduzido em duas repetições independentes, garantindo a reprodutibilidade dos resultados.

5.8 Avaliação do Potencial dos Isolados como Agentes de Controle Biológico

Para os testes de patogenicidade, sementes de *Amaranthus hybridus* e *Amaranthus viridis* foram semeadas em bandejas plásticas com capacidade de 1,2 L, contendo substrato esterilizado composto por solo, areia e esterco bovino curtido na proporção 1:1:1. A densidade de semeadura foi de 60 sementes por bandeja. Após sete dias, realizou-se o desbaste, mantendo-se 50 plântulas por bandeja, com o objetivo de garantir uniformidade no crescimento. As bandejas foram mantidas em ambiente protegido, sob condições controladas de temperatura e irrigação automatizada.

A avaliação do potencial patogênico dos isolados BA005 e BA055, previamente ativados a partir da coleção preservada em glicerol (10%) a -80°C , foi realizada por meio de inoculação com fragmentos de micélio. Para isso, os isolados foram cultivados em meio batata-dextrose líquido (BD) por sete dias sob agitação constante. O micélio foi coletado, fragmentado mecanicamente com auxílio de agitador magnético e aplicado diretamente sobre a face adaxial das folhas das plântulas com dois pares de folhas, utilizando pipeta estéril. Após a aplicação, as plantas foram mantidas em câmara úmida por 24 horas para favorecer a infecção e posterior avaliação dos sintomas.

5.8.1 Condições pós-inoculação e avaliação da severidade

Após a inoculação, todas as bandejas, incluindo os tratamentos com esporos, micélio e controle, foram mantidas em câmara úmida por 48 horas para favorecer o processo de infecção. Em seguida, foram transferidas para casa de vegetação, sob condições controladas. As avaliações de severidade da doença foram realizadas sete dias após a inoculação, utilizando a escala da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD, 1995). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, para validação dos resultados.

TABELA 1

Descrição de conceitos aplicados na avaliação de controle*

Conceitos e classes de severidade	Descrição
A - 86-100%	Controle excelente ou total da espécie em estudo.
B - 66-85%	Controle bom, aceitável para a infestação da área.
C - 41-65%	Controle moderado, insuficiente para a infestação da área.
D - 0-40%	Controle deficiente ou inexpressivo.
E - 0	Ausência de controle.

* SBCPD (1995)

5.9 Análise dos Dados

Os dados obtidos nas avaliações de severidade da doença foram organizados em planilhas eletrônicas e analisados por meio de estatística descritiva, com cálculo de médias e desvio padrão para cada tratamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento. As análises foram realizadas utilizando o software Microsoft Excel®, e os resultados foram interpretados com base na variação entre os tratamentos e na escala de severidade da SBCPD (1995).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Caracterização morfológica

Plantas de *Amaranthus spp.* coletadas em campo apresentaram sintomas foliares compatíveis com infecção fúngica, caracterizados por lesões necróticas de coloração marrom a castanho-escuro, com formato oval ou elíptico e presença de halo clorótico ao redor das áreas afetadas. Essas lesões estavam distribuídas de forma irregular nas folhas, principalmente nas mais velhas, e evoluíram rapidamente sob condições de alta umidade. Embora tais sintomas sejam frequentemente associados a infecções por fungos do gênero *Bipolaris*, a confirmação do agente etiológico requer isolamento, caracterização morfológica e, preferencialmente, análise molecular, uma vez que outras espécies fúngicas podem induzir sintomas semelhantes. Não foram observados sintomas sistêmicos como murcha ou necrose vascular, o que reforça a hipótese de infecção localizada, típica de alguns fitopatógenos foliares.

A análise morfológica dos isolados BA005 e BA055 revelou estruturas fúngicas compatíveis com o gênero, como conídios multicelulares, de coloração marrom-escuro, com septos transversais bem definidos. Embora ambos os isolados compartilhem características gerais, foram observadas diferenças sutis entre eles quanto às dimensões dos conídios e ao comportamento em diferentes meios de cultura, o que pode indicar variabilidade intraespecífica.

O isolado BA005 apresenta conidióforos fusiformes, simples e septados, com células basais inchadas e coloração marrom escura. As medidas variaram entre 15 e 107 μm de comprimento e entre 2,56 e 5,97 μm de largura. As células conidiogênicas foram monos e politréticas, com dimensões entre 2 e 22,92 μm de comprimento e 1,24 a 10,94 μm de largura. Os conídios apresentaram formas elípticas a obclavadas, curvos ou retos, com coloração marrom pálido a escuro, medindo entre 17,11 e 59,96 μm de comprimento por 5,25 a 9,65 μm de largura, com número de septos variando de 3 a 15. O hilo é conspícuo, com medidas entre 2,2 e 3,7 μm .

As hifas observadas são marrom-escuras, septadas, ramificadas e de crescimento superficial, com diâmetro de 2,46 μm . Em meio BDA, o isolado BA005 apresentou colônias de crescimento lento (14 dias), com aspecto cottonoso e coloração preta com áreas cinza-esbranquiçadas. O diâmetro médio das colônias foi superior ao observado para o isolado BA055. Lesões necróticas nas folhas de *Amaranthus* inoculadas com BA005 apresentaram coloração marrom claro, formato irregular e alongado, localizadas principalmente nas margens e ápices, medindo entre 5,5 e 10 cm de comprimento por 0,4 a 0,7 cm de largura.

O isolado BA055 também apresentou conidióforos fusiformes, simples e septados, com células basais inchadas, porém com dimensões ligeiramente superiores às do BA005, variando entre 14,72 e 146,30 μm de comprimento e entre 2,56 e 6,22 μm de largura. As células conidiogênicas foram mono e politréticas, com medidas semelhantes às do BA005. Os conídios apresentaram maior variação de tamanho, com comprimento máximo de até 71,40 μm e largura de até 12,23 μm , mantendo o padrão de coloração marrom escuro e número de septos entre 3 e 15. O hilo permaneceu destacado, com dimensões entre 2,23 e 3,65 μm .

As hifas eram semelhantes às do BA005, com coloração marrom, septadas e ramificadas. Em meio BDA, o crescimento micelial foi mais lento, com colônias de coloração escura homogênea e menor diâmetro médio. As lesões foliares causadas por BA055 foram similares às do BA005 em forma e coloração, porém com menor agressividade e avanço mais lentos

6.2 Caracterização Molecular

A identificação molecular dos isolados foi realizada por meio do sequenciamento de duas regiões genéticas: a região do espaçador interno transcrito (Internal Transcribed Spacer – ITS) e o gene da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase – GPDH). Os resultados confirmaram que ambos os isolados pertencem ao gênero *Bipolaris*. A análise filogenética posicionou o isolado BA005 próximo à espécie *Bipolaris yamadae*, enquanto o isolado BA055 apresentou divergências significativas em relação às sequências conhecidas, sugerindo a possibilidade de representar uma espécie ainda não descrita.

A utilização combinada de marcadores genéticos conferiu maior robustez à inferência taxonômica, especialmente considerando que o sequenciamento da região ITS, embora amplamente utilizado, não é suficiente para delimitar espécies dentro do gênero *Bipolaris*, devido à baixa resolução filogenética em alguns grupos (Manamgoda et al., 2014). A inclusão do gene GPDH, por apresentar maior variabilidade entre espécies próximas, permitiu uma distinção mais precisa entre os isolados e reforçou a hipótese de diversidade genética dentro dos agentes fúngicos associados a *Amaranthus spp.*

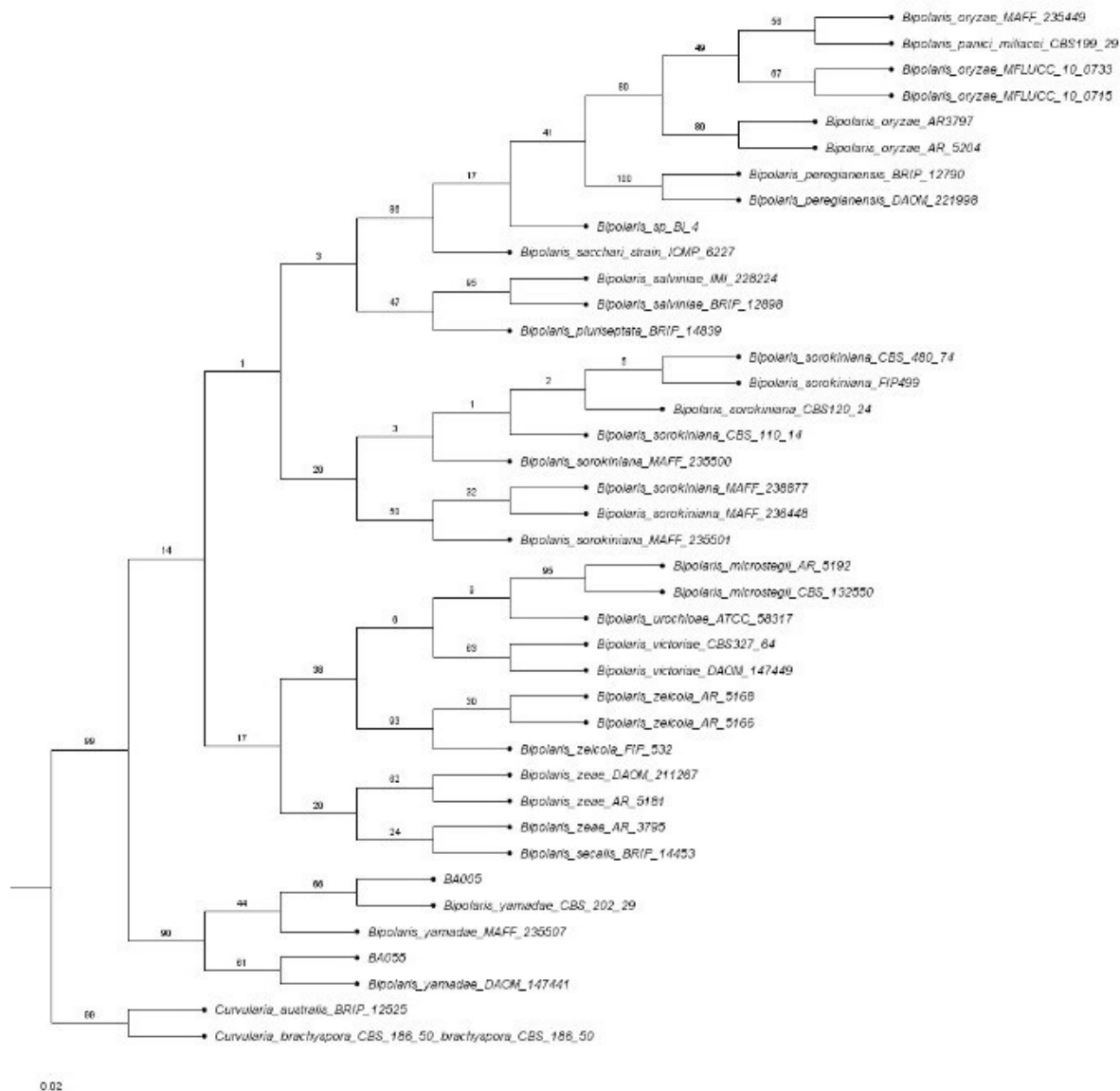


Figura 1– Análise filogenética inferida por máxima verossimilhança baseada no alinhamento da região ITS (Internal Transcribed Spacer) e do gene da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase – GAPDH), de dois isolados fitopatogênicos associados a *Amanranthus* spp (cauru), pertencentes a uma mesma família e um grupo externo. Os agrupamentos refletem relações evolutivas entre os táxons, com suporte estatístico indicado nos ramos, evidenciando o posicionamento taxonômico das espécies analisadas. A análise filogenética foi enraizada com os isolados *Curvularia australis* BRIP 12525 e *Curvularia brachyspora* CBS 186 50.

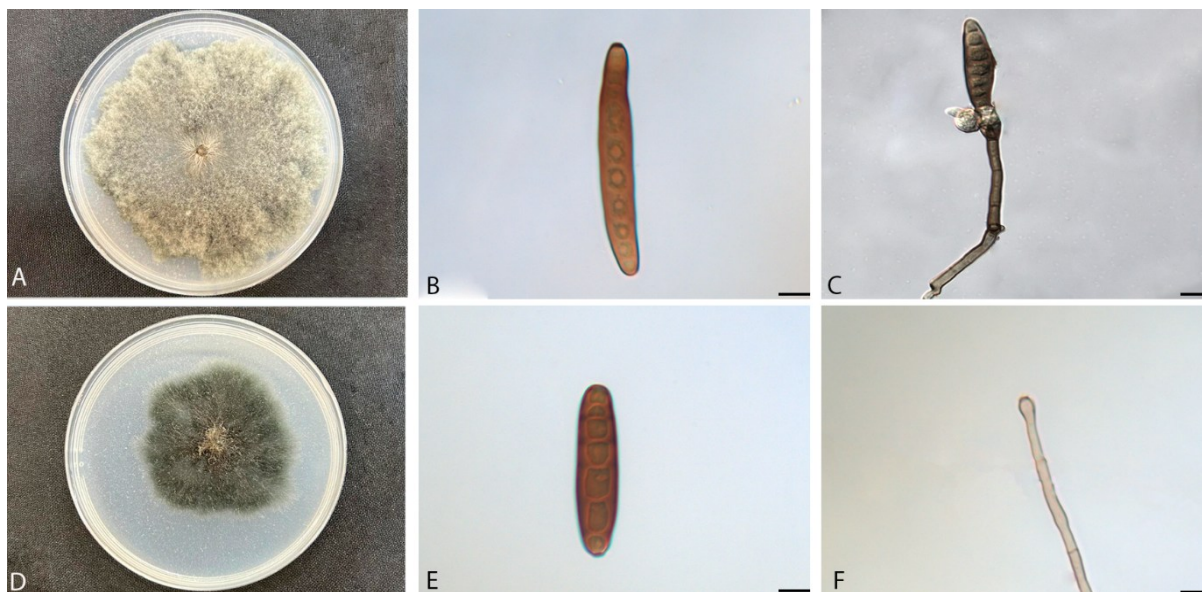


Figura 2. *Bipolaris* spp. **A.** Colônia do isolado BA005 cultivada em meio BDA, apresentando crescimento micelial denso e coloração acinzentada-esbranquiçada. **B.** Fructoconídio distoseptado do isolado BA005. **C.** Conidióforo e conídio do isolado BA005. **D.** Colônia de *Bipolaris* (isolado BA055) cultivada em meio BDA, com micélio denso e coloração escura no centro. **E.** Fructoconídio distoseptado do isolado BA055. **F.** Conidióforo e célula conidiogênica do isolado BA055. Barras de escala=20 µm.

6.3 Teste de Patogenicidade

Os testes de patogenicidade realizados em câmara de crescimento demonstraram que ambos os isolados fúngicos, BA005 e BA055, foram capazes de induzir sintomas característicos de infecção nas folhas de *Amaranthus viridis* e *A. hybridus*. As lesões iniciais surgiram nas margens e ápices das folhas, apresentando coloração marrom-escura e halo clorótico. Com o avanço da infecção, observou-se necrose difusa — definida como a expansão irregular e progressiva da morte celular em áreas amplas do tecido foliar, sem delimitação precisa das bordas lesionadas.

As plantas foram mantidas sob alta umidade relativa durante o período de incubação, o que favoreceu significativamente a expressão dos sintomas. Esse fator ambiental é crítico para o desenvolvimento de doenças fúngicas, pois promove a germinação dos conídios, facilita a penetração do patógeno e intensifica a colonização do tecido vegetal. Em contraste, as plantas do grupo controle, inoculadas com discos de meio BDA estéril, permaneceram assintomáticas, confirmando a relação causal entre os isolados de *Bipolaris* spp. e os sintomas observados.

Embora a seleção inicial dos isolados tenha considerado o comportamento em sete genótipos de *Amaranthus*, os testes de patogenicidade foram conduzidos apenas em *A. hybridus* e *A. viridis*. Essa escolha se justifica pela ampla ocorrência dessas espécies em áreas agrícolas brasileiras e pela relevância agrônômica associada à sua resistência a herbicidas, especialmente aos inibidores da ALS e EPSPS.

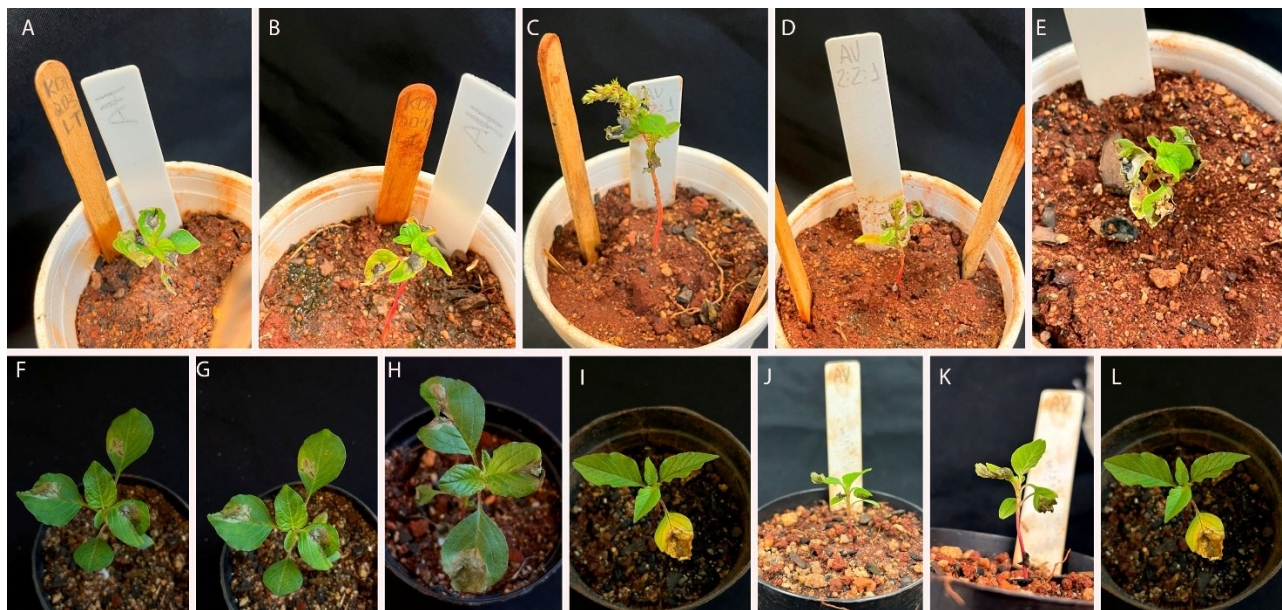


Figura 3. Sintomas foliares em plantas de *Amaranthus* spp. inoculadas com isolados de *Bipolaris* spp. (A–C) *Amaranthus hybridus* inoculado com BA005; (D–E) *Amaranthus viridis* inoculado com BA005; (F–I) *Amaranthus hybridus* inoculado com BA055; (J–L) *Amaranthus viridis* inoculado com BA055.

6.4 Avaliação do Potencial de Controle Biológico

A severidade da doença foi avaliada segundo a escala da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas – SBCPD (1995) (Tabela 1). Para *Amaranthus viridis*, o isolado BA005 apresentou desempenho variável entre as três repetições. Em uma delas, foi observado controle excelente da planta daninha, com severidade classificada na classe A (95%). Nas demais repetições, os resultados oscilaram entre controle moderado (classe C – 50%) e controle deficiente (classe D – 25%).

Essas oscilações indicam que, embora o isolado BA005 tenha potencial para o controle biológico de *A. viridis*, sua eficácia foi influenciada por fatores experimentais. A principal

diferença entre os tratamentos foi o método de umidificação utilizado durante a incubação: para BA005, empregou-se um umidificador de ar, enquanto BA055 foi mantido sob irrigação por vapor controlada. Essa variação pode ter afetado a germinação dos conídios e a colonização do tecido foliar, já que a umidade relativa é um fator crítico para a expressão de sintomas em doenças fúngicas (AGRIOS, 2005).

Por outro lado, o isolado BA055 apresentou desempenho uniforme e insatisfatório em todas as repetições, sendo classificado exclusivamente na classe D (controle deficiente – 25%). A ausência de variação reforça um padrão de baixa eficiência de controle, sugerindo que o isolado possui virulência limitada ou apresenta restrições na interação com o hospedeiro. investigar alternativas, como o uso de conídios como inóculo ou ajustes na concentração da suspensão.

A baixa severidade observada na maioria dos tratamentos pode estar relacionada ao método de inoculação empregado, baseado em discos e fragmentos de micélio. Embora viável em testes preliminares, esse procedimento pode limitar a uniformidade do inóculo e reduzir a velocidade de colonização do tecido foliar, refletindo em níveis de controle inferiores (SILVA et al., 2019). Nesse sentido, recomenda-se que estudos futuros avaliem o uso de suspensões de esporos como forma alternativa de inoculação, visto que esse método possibilita maior homogeneidade na aplicação, rápida germinação dos conídios e maior aderência às superfícies foliares, fatores que favorecem a expressão da doença (FERREIRA; OLIVEIRA, 2020).

Trabalhos anteriores com fungos fitopatogênicos de interesse em biocontrole demonstram que suspensões ajustadas em concentrações de 10^5 a 10^6 conídios/mL, acrescidas de agentes tensoativos como Tween 80, podem proporcionar níveis de severidade mais expressivos e reprodutíveis, ampliando a avaliação do real potencial dos isolados de *Bipolaris* no manejo de *Amaranthus spp.* (COSTA et al., 2018; VASCONCELOS; MENDES, 2021).

De modo geral, os resultados obtidos demonstram que o isolado BA005 apresenta potencial para o manejo biológico de *Amaranthus viridis*, com desempenho variável entre as repetições, mas com evidência de controle eficaz em pelo menos uma delas. Por outro lado, o isolado BA055 apresentou desempenho consistentemente deficiente, sendo classificado na classe D (controle de 25%) em todas as repetições. Esse padrão uniforme indica baixa eficácia no controle da planta daninha, o que também representa um resultado relevante dentro dos objetivos da pesquisa.

A proposta deste estudo é avaliar de forma criteriosa a eficácia de diferentes isolados de *Bipolaris spp.* no biocontrole de *Amaranthus spp.*, reconhecendo que nem todos os isolados apresentam desempenho satisfatório. O comportamento limitado do isolado BA055, classificado consistentemente na classe D (controle de 25%), contribui para a seleção de agentes com real potencial de aplicação, reforçando a importância de testes comparativos e repetitivos para validação da eficiência.

Esse padrão de baixa eficácia, observado de forma constante entre as repetições, indica limitações intrínsecas ao isolado, sem necessidade de justificar variações pontuais. Estudos como os de Vasconcelos et al. (2022) e Ferreira e Oliveira (2020) também destacam que a variabilidade entre isolados de um mesmo gênero é comum, e que a seleção de cepas mais agressivas é essencial para o sucesso em programas de manejo biológico.

Embora o método de inoculação com fragmentos de micélio tenha sido eficaz para detectar sintomas, trabalhos anteriores demonstram que o uso de suspensões de esporos ajustadas entre 10^5 e 10^6 conídios/mL, acrescidas de agentes tensoativos como Tween 80, pode aumentar a severidade da infecção e a reprodutibilidade dos resultados (Embrapa, 2012; Costa et al., 2018). Assim, investigações futuras devem considerar ajustes na concentração do inóculo, formulações alternativas, frequência de aplicação e testes em condições de campo, visando ampliar a aplicabilidade dos isolados promissores, como o BA005, em programas sustentáveis de manejo de plantas daninhas.



Figura 4. Inoculação de *Bipolaris* (isolado BA005). **A.** *Amaranthus viridis* testemunha (à esquerda) e planta inoculada (à direita). **B.** *Amaranthus hybridus* testemunha (à esquerda) e planta inoculada (à direita).

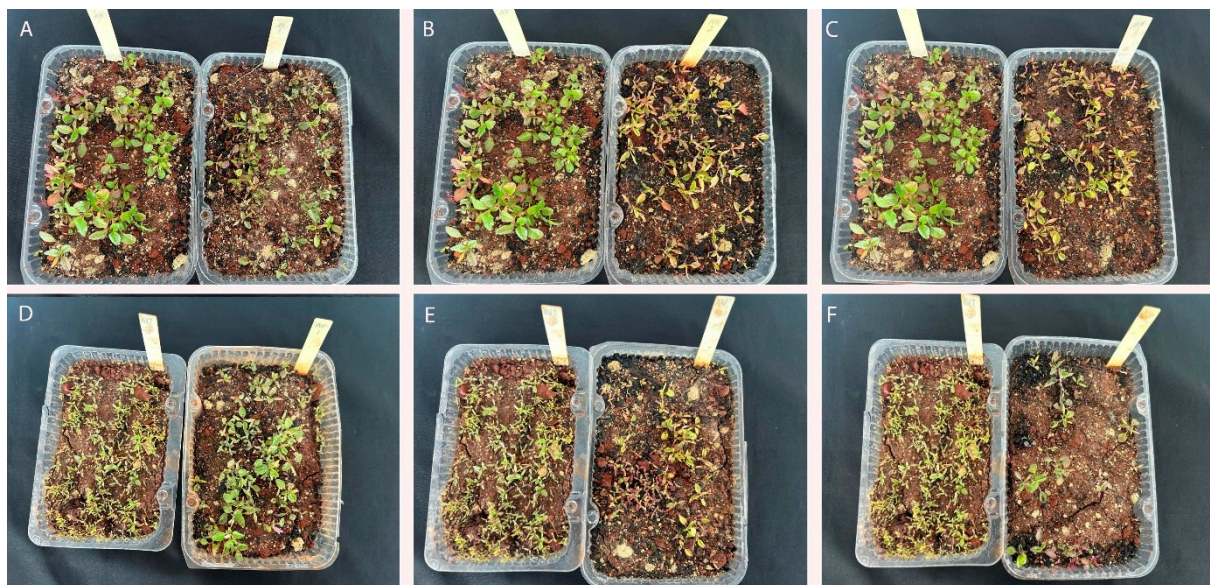


Figura 5. Inoculação de *Bipolaris* spp. (isolado BA055). Plantas de *A. hybridus* (A, B, C – testemunha à esquerda) e plantas de *A. viridis* (D, E, F – testemunha à esquerda), após inoculação com o isolado BA055.

Espécie hospedeira	Isolado	Classes observadas	Severidade	Desempenho de controle
<i>Amaranthus viridis</i>	BA055	A;C;D	95%, 50%, 25%	Controle variável; potencial moderado
<i>Amaranthus viridis</i>	BA055	D	25%	Controle deficiente e uniforme
<i>Amaranthus hybridus</i>	BA055	D	10-25%	Controle deficiente; baixa suscetibilidade
<i>Amaranthus hybridus</i>	BA055	D	10-25%	Controle deficiente; baixa suscetibilidade

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo indicam que os isolados fúngicos BA005 e BA055, pertencentes ao gênero *Bipolaris*, são capazes de induzir sintomas necróticos em espécies de *Amaranthus*, com maior impacto observado em *A. viridis*. A caracterização morfológica e molecular, baseada nas regiões TEF1- α e GPDH, confirmou a identidade dos isolados e revelou diferenças sutis entre eles quanto à agressividade e ao comportamento em meio de cultura. O isolado BA005 apresentou desempenho variável, com destaque em uma das repetições, onde foi observado até 95% de controle. Já o isolado BA055 demonstrou controle mais limitado e

consistente, em torno de 25%. Para *A. hybridus*, os dados sugerem baixa suscetibilidade aos isolados testados, o que reforça a necessidade de explorar novos agentes ou estratégias complementares. A análise filogenética posicionou BA005 próximo à espécie *Bipolaris yamadae*, enquanto BA055 apresentou distanciamento genético que podem indicar uma possível nova espécie, exigindo estudos adicionais. Este trabalho contribui para o avanço do controle biológico de plantas daninhas e destaca a importância de abordagens integradas e contínuas para o desenvolvimento de soluções sustentáveis na agricultura brasileira.

8 REFERÊNCIAS

- AGROLINK. Controle biológico de plantas daninhas. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/manejo-integrado/manejo-integrado-de-plantas-daninhas/controle-biologico-de-plantas-daninhas_487860.html. Acesso em: 20 set. 2025.
- BAYER. Como controlar caruru. Disponível em: <https://www.agro.bayer.com.br/conteudos/como-controlar-caruru>. Acesso em: 15 nov. 2024.
- BERBEE, M. L.; PIRSEYEDI, M.; HUBBARD, S. Cochliobolus phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia*, v. 91, p. 964–977, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2307/3761627>.
- CAROLLO, E. M.; SANTOS FILHO, H. P. Manual básico de técnicas fitopatológicas. Brasília: Embrapa, 2016. 109 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1054670/1/CartilhaManualFitopatologia.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2024.
- CARVALHO, S. J. P.; MENDES, M. R.; VASCONCELOS, M. L. Detection of glyphosate-resistant *Amaranthus palmeri* in agricultural areas of Mato Grosso, Brazil. *Planta Daninha*, v. 33, p. 579-586, 2015.
- DALAZEN, G. Controle de espécies resistentes ao glifosato. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/349506287_Controle_de_especies_resistentes_ao_glifosato. Acesso em: 15 nov. 2024.
- EMBRAPA. Apostila do IV Curso Teórico e Prático sobre *Trichoderma spp.* Campinas: Embrapa Meio Ambiente, 2012. Disponível em: https://www.cnpma.embrapa.br/down_site/forum/2012/trichoderma/Apostila_Trichoderma_2012.pdf. Acesso em: 23 set. 2025.
- EMBRAPA. Controle de plantas daninhas: métodos físico, mecânico, cultural, biológico e alelopatia. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1103281/controle-de-plantas-daninhas-metodos-fisico-mecanico-cultural-biologico-e-alelopatia>. Acesso em: 20 set. 2025.
- EMBRAPA. Identificação e manejo de plantas daninhas em sistemas produtivos agrícolas. Londrina: Embrapa Soja, 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/159778/1/Doc-384-OL.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2024.
- EMBRAPA. Plantas invasoras de lavouras brasileiras. Brasília: Embrapa, 2017.

- EMBRAPA Soja. Caracterização e manejo de *Amaranthus palmeri*. Londrina: Embrapa.
- EVANS, H. C.; ELLISON, C. A. Fungi as biological control agents of weeds: perspectives for the 1990s. In: *Biological Control of Weeds: Advances in Plant Pathogens*. New York: CAB International, 1990.
- FABBRIS, L. M. Caracterização morfológica e molecular de isolados de *Bipolaris spp.* com potencial para controle biológico de *Amaranthus spp.* 2022. 78 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.
- FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*, v. 125, n. 1, p. 1-15, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/284325>.
- FERNANDEZ, J. A. et al. Morphological and molecular characterization of *Bipolaris* species associated with leaf spot in grasses. *Journal of Fungal Research*, v. 28, n. 3, p. 215–228, 2022.
- FMC AGRO. Stone®: o herbicida de alta performance. Disponível em: <https://fmcagricola.com.br/stone/>. Acesso em: 15 nov. 2024.
- GAZZIERO, D. L. P.; ADEGAS, F. S. Impactos do manejo químico em sistemas de produção. Circular Técnica Embrapa Soja, Londrina, 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 18 nov. 2024.
- GAZZIERO, D. L. P.; SILVA, A. F. Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. Londrina: Embrapa Soja, 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 18 nov. 2024.
- HEAP, I. M. International survey of herbicide-resistant weeds. Disponível em: <https://www.weedscience.org>. Acesso em: 15 nov. 2024.
- HORTA E FLORES. Cultivo do amaranto. Disponível em: <https://www.hortae flores.com/2015/09/cultivo-do-amaranto.html>. Acesso em: 15 nov. 2024.
- LAZAROTTO, M. Identificação e caracterização de fungos fitopatogênicos. *Revista Brasileira de Micologia*, v. 41, n. 2, p. 89–96, 2013.
- MANAMGODA, D. S. et al. The genus *Bipolaris*. *Studies in Mycology*, v. 79, p. 221–288, 2014.
- MARIN-FELIX, Y.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; CROUS, P. W. Phylogenetic revision of *Bipolaris* and allied genera. *Fungal Diversity*, v. 94, p. 1–59, 2020.
- MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*: New Orleans. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>.

- MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. Dinâmica de espécies invasoras. *Revista Brasileira de Herbologia*, v. 10, n. 4, p. 15-20, 2010.
- NICOLAI, M. et al. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS (Grupo B). In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.). *Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas*. 3. ed. Campinas: HRAC-BR, 2008. p. 3-22.
- O'DONNELL, G. Poliarquias e a (in) efetividade da lei na América Latina. *Novos Estudos CEBRAP*, v. 51, p. 37-61, 1998.
- PINHEIRO, J. B. Aplicação da técnica de PCR na identificação de fungos fitopatogênicos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v. 29, p. 38-42, 2004.
- SILVA, B. D.; ROSÁRIO, D. K. A. D.; CONTE-JUNIOR, C. A. Can droplet size influence antibacterial activity in ultrasound-prepared essential oil nanoemulsions? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, p. 1-11, 2022. DOI: 10.1080/10408398.2022.2103089.
- SILVA, J. A.; SANTOS, C. F. Controle biológico de plantas daninhas no Brasil: avanços e desafios. *Revista Brasileira de Herbologia*, Londrina, v. 20, p. 30-45, 2021. DOI: 10.1111/j.1365-3180.
- SILVA, J. D. F.; DA SILVA, Y. P.; PIATNICKI, C. M. S.; BÖCKEL, W. J.; MENDONÇA, C. R. B. Microemulsões: componentes, características, potencialidades em química de alimentos e outras aplicações. *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, v. 10, n. 2, p. 45-60, 2015. Disponível em: <https://www.revistabrasileirademeioambiente.com>. Acesso em: 23 set. 2025.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. SBCPD, 1995. 42 p.
- SONG, Y. et al. Comparative analysis of mitochondrial genomes of *Bipolaris* species reveals intron diversity and phylogenetic relationships. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, p. 1-12, 2024.
- TEMPLETON, G. E. Biological herbicides: discovery, development, deployment. *Weed Science*, v. 30, p. 430-433, 1982. Disponível em: <https://www.cambridge.org>. Acesso em: 15 nov. 2024.
- TREVIZAN, L. R. *Amaranthus spp.*: biologia, resistência e manejo. *Revista Brasileira de Plantas Daninhas*, v. 39, p. e020220, 2020.
- VASCONCELOS, J. M.; LIMA, R. C.; SILVA, M. A. Impactos das plantas daninhas nas culturas agrícolas e seus métodos de controle. *Revista VIE CIT*, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 1-15, 2022. Disponível em: <https://periodicos.universidadebrasil.edu.br/index.php/viecit/article/download/151/245/1033>. Acesso em: 20 set. 2025.

WHITE, T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A. et al. (Eds.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, 1990. p. 315–322