

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI  
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

***Magnaporthe grisea*: BIOLOGIA E IDENTIFICAÇÃO DE  
PATÓTIPOS ISOLADOS DE PLANTAS DE ARROZ NA REGIÃO  
TROPICAL DO BRASIL**

**JUSTINO JOSÉ DIAS NETO**

**GURUPI-TO**

**2008**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Trabalho realizado junto ao Mestrado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, sob orientação do Professor Dr. Gil Rodrigues dos Santos, com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

**Banca examinadora:**

---

**Gil Rodrigues do Santos, Dr.**

Professor da Universidade Federal do Tocantins  
(Orientador)

---

**Marta Cristina Corsi de Filippi, Ph.D.**

EMBRAPA Arroz e Feijão  
(Avaliadora)

---

**Wilson Ferreira de Oliveira, Dr.**

Professor da Universidade Federal do Tocantins  
(Avaliador)

---

**Gleiber Quintão Furtado, Dr.**

Professor da Universidade Federal do Tocantins  
(Avaliador)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI  
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

***Magnaporthe grisea*: BIOLOGIA E IDENTIFICAÇÃO DE  
PATÓTIPOS ISOLADOS DE PLANTAS DE ARROZ NA REGIÃO  
TROPICAL DO BRASIL**

**JUSTINO JOSÉ DIAS NETO**

Dissertação apresentada ao  
Mestrado em Produção Vegetal  
da Universidade Federal do  
Tocantins, em 14 de Outubro de  
2008, como parte das exigências  
para a obtenção do título de  
Mestre em Produção Vegetal -  
Área de Concentração em  
Fitopatologia.

Gurupi-TO  
2008

Aos meus pais Lindiomar e Oldmares.  
Aos meus irmãos Delmira, Adelaide e Ângelo.  
Meus sobrinhos Paulo Victor, Bruna Letícia e Daniel.

**Dedico**

## **Agradecimentos**

À **Deus**, pela vida e pelas oportunidades.

Aos meus pais por todos os esforços e sacrifícios, pela compreensão, amor e confiança em mim depositados.

Aos meus irmãos pelo companheirismo e incentivos.

Aos meus familiares, em especial tia Niub pelas “traduções” e carinho.

À Universidade Federal do Tocantins, pela oportunidade de realização do curso.

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

Ao Professor Dr. Gil Rodrigues dos Santos, pela orientação e ensinamentos transmitidos e por sua amizade.

Aos Drs. Paulo Hideo Nakano Rangel e Márcio Elias Ferreira, pelas oportunidades, orientações e principalmente pela amizade e apoio.

À minha amiga Liamar M<sup>a</sup>. Dos Anjos Silva, pelo companheirismo, dedicação no desenvolvimento dos trabalhos, compreensão e pela grande amizade.

Aos estagiários Azelma, Eutania e Bruno, pela amizade, ajuda no desenvolvimento dos trabalhos, eficiência e companheirismo.

Aos proprietários e funcionários das fazendas e projetos onde se procederam as coletas, pelo auxílio nas coletas e informações concedidas.

Ao Eng<sup>o</sup> Agrônomo Breno Lima Colonnelli (ADEPARÁ), pelo auxílio no deslocamento, localização das propriedades e coletas.

A querida professora Susana, pelos ensinamentos, confiança e grande amizade.

Aos professores Tarcisio, Juliana, Wilson, Leonardo, Joênes, Moab e Raimundo, pelos ensinamentos e amizade.

Aos professores do curso do Campus de Gurupi, pelos ensinamentos durante o mestrado e a graduação.

À Maira Ignácio, pelas traduções dos abstracts.

Aos amigos de mestrado Diogo e Thiago, pelo companheirismo e amizade.

À amiga e eterna professora Vilma, pela grande amizade, companheirismo, força e incentivos.

Aos colegas Julia, Clauber, Ricardo e Marlos.

Aos funcionários da Universidade Federal do Tocantins, pelo companheirismo, dedicação e compreensão, em especial Rosana, Fernanda, Sueli, Miramar, Leandro, Edimar, Jair, Álda, Tatiana, Neide, as Marias, Geraldo, Renato, Rodrigo, Elaine, Socorro, Adriana, Liliane, Roberta e Manuel.

Aos grandes e inesquecíveis amigos: Domício, Tarliane, Lilia, Kellen Cristina, Zilmara, Pollione, Adriana, Knandes e Roberto, simplesmente pela amizade e apoio.

Aos amigos (as) Nívea, Selma, Sula, Soraia, Lívea e Marcelo, e Lorena

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

*“Nunca ande pelos caminhos traçados,  
pois eles conduzem somente até onde os outros já foram.”*

Graham Bell

*“Diante de mim estavam dois caminhos;  
Eu escolhi o que era menos utilizado  
E isso fez a diferença.”*

Robert Frost

*“se amanhã eu despertar infeliz com sua ausência, terei a certeza que o amor  
mora no meu peito e que a saudade desperta todas  
as manhãs para eu te amar mais e mais, não importa se sorrindo ou  
chorando..... apenas te amando!”*

Sula Terra



## ÍNDICE

<b>RESUMO DA DISSERTAÇÃO</b> .....	13
<b>ABSTRACT</b> .....	16
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	19
<b>A cultura do Arroz</b> .....	19
<b>A Brusone</b> .....	20
<b>Etiologia e morfologia</b> .....	23
<b>Epidemiologia</b> .....	24
<b>Ciclo de vida</b> .....	25
1) Produção e liberação de conídios na planta.....	25
2) Pré-penetração.....	25
3) Penetração e colonização.....	26
4) Desenvolvimento das lesões.....	27
<b>Sintomatologia</b> .....	27
<b>Principais métodos de controle</b> .....	28
1) Cultivares resistentes.....	29
2) Adubação Equilibrada.....	29
3) Utilização de Silício.....	30
4) Aplicação de fungicidas.....	31
5) Tratamento de sementes.....	32
<b>Resistência genética</b> .....	33
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35

<b>CAPÍTULO I – INFLUÊNCIA DO MEIO DE CULTURA NA CONIDIOGENESE DE <i>Pyricularia grisea</i> E DA CONCENTRAÇÃO DO INÓCULO NA SEVERIDADE DA BRUSONE DO ARROZ</b> .....	41
--	----

<b>RESUMO</b> .....	42
<b>ABSTRACT</b> .....	42
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	43
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	44

<b>Ensaio I – Influência de meios de cultura na produção de conídios de <i>P. grisea</i></b> .....	44
--	----

<b>Ensaio II – Influência da concentração de conídios da solução do inóculo na severidade da brusone das folhas, em diferentes cultivares de arroz irrigado</b> .....	46
---	----

<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	48
<b>Ensaio I – Influência de meios de cultura na produção de conídios de <i>P. grisea</i></b> .....	48

<b>Ensaio II – Influência da concentração de conídios da solução do inóculo na severidade da brusone das folhas, em diferentes cultivares de arroz irrigado</b> .....	50
---	----

CONCLUSÕES.....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
<b>CAPITULO II – INFLUÊNCIA DA IDADE DO MICÉLIO, NÚMERO DE REPICAGENS E DA COLORAÇÃO DAS CULTURAS NA PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Pyricularia grisea</i> EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.....</b>	<b>56</b>
RESUMO.....	57
ABSTRACT.....	58
INTRODUÇÃO.....	59
MATERIAIS E MÉTODOS.....	60
Ensaio I – Influência da idade do micélio na formação de conídios de <i>P. grisea</i> . .....	60
Ensaio II – Influência do número de repicagens na produção de conídios de <i>P. grisea</i> . .....	61
Ensaio III – Influência da coloração das culturas na produção de conídios de <i>P. grisea</i> .....	62
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
Ensaio I – Influência da idade do micélio na formação de conídios de <i>P. grisea</i> . .....	63
Ensaio II – Influência do número de repicagens na produção de conídios de <i>P. grisea</i> . .....	64
Ensaio III – Influência da coloração das culturas na produção de conídios de <i>P. grisea</i> .....	66
CONCLUSÕES.....	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	
<b>CAPÍTULO III – IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS FISIOLÓGICAS DE <i>Magnaporthe grisea</i> NA REGIÃO TROPICAL DO BRASIL Coleta de plantas infectadas.....</b>	<b>71</b>
RESUMO.....	72
ABSTRACT.....	73
INTRODUÇÃO.....	74
MATERIAIS E MÉTODOS.....	75
Coleta de plantas infectadas.....	76
Produção do inóculo (Isolados monospóricos).....	78
Identificação de raças fisiológicas de <i>Magnaporthe grisea</i> .....	79
a) Plantio das diferenciadoras.....	79
b) Multiplicação do inóculo.....	80
c) Inoculação do patógeno nas diferenciadoras.....	80
d) Avaliação das reações.....	81

<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>82</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>96</b>

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO GERAL

<b>Figura 1:</b> Conídios e conidióforos de <i>P. grisea</i> formado em meio de cultura, observados em microscópio óptico comum.....	<b>25</b>
--	-----------

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1:</b> Influência de diferentes meios de cultura na produção de conídios de <i>P. grisea</i> . T1 - Aveia (Av); T2 - Farelo de Arroz (FA); T3 - Farinha de trigo (FT); T4 – BDA; T5 - Milharina (Mi); T6 - BDA (comercial); e T7 - V8 (suco concentrado de tomate).....	<b>49</b>
---	-----------

### CAPITULO II

<b>Figura 1:</b> Categorias de coloração do micélio de <i>M. grisea</i> em meio BDA: Negra (T1), Cinza escuro com estreitas bordas claras (T2), Cinza Claro (T3), Centro Cinza com extensas bordas Brancas (T4) e branco (T5).....	<b>62</b>
--	-----------

<b>Figura 2:</b> Influência da idade do micélio na formação de conídios de <i>P. grisea</i> .....	<b>63</b>
---	-----------

<b>Figura 3:</b> Influência do número de repicagens na produção de conídios de <i>M. grisea</i> em meio BDA. ....	<b>65</b>
---	-----------

<b>Figura 4:</b> Influência de aspectos culturais de isolados de <i>M. grisea</i> na produção de conídios em BDA. T1= Negra; T2=Cinza escuro com estreitas bordas brancas; T3=Cinza claro; T4= Centro cinza com extensas bordas brancas e T5= Branco. ....	<b>67</b>
--	-----------

### CAPÍTULO III

<b>Figura 1:</b> Diagrama esquemático da relação entre municípios e cultivares em cada região onde foram realizadas coletas de arroz com sintomas típicos de brusone, safras 2006/2007 e 2007/2008.....	<b>77</b>
---	-----------

### LISTA DE QUADROS

#### CAPÍTULO III

<b>Quadro 1:</b> Grupos, Série Internacional de Diferenciadoras de raças fisiológicas de <i>Magnaporthe grisea</i> e sua origem.....	<b>79</b>
--	-----------

### LISTA DE TABELAS

#### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1:</b> Severidade de brusone nas folhas em função de três concentrações de esporos de <i>P. grisea</i> em três cultivares de arroz.....	<b>51</b>
---	-----------

#### CAPÍTULO III

<b>Tabela 1:</b> Ensaio com multilinhas e cultivares compostas de arroz irrigado no qual foram realizadas coletas de plantas de arroz com sintomas típicos de brusone na safra 2007/2008.....	<b>76</b>
---	-----------

<b>Tabela 2:</b> Análise química: Ca, Mg, Al, H+Al, CTC (T), CTC efetiva (t) e SB em cmol/dm <sup>3</sup> , K e P em ppm, MO em %, pH em CaCl <sub>2</sub> .....	<b>80</b>
--	-----------

<b>Tabela 3:</b> Grupos da série internacional de diferenciadoras (SID), raças de <i>P. grisea</i> e numero de raças por grupos identificadas na Região Central do Brasil, safras 2006/2007 e 2007/2008.....	<b>84</b>
--	-----------

<b>Tabela 4.</b> Raças fisiológicas de <i>M. grisea</i> identificadas na Região tropical do Brasil em ordem de prevalência, nas safras 2006/2007 e 2007/2008...	<b>85</b>
---	-----------

<b>Tabela 5.</b> Ocorrência de raças fisiológicas de <i>M. grisea</i> em municípios do estado do Tocantins (Formoso do Araguaia, Lagoa da Confusão e Dueré), Goiás (Luiz Alves) e Pará (Paragominas), nas safras 2006/2007 e 2007/2008.....	<b>88</b>
---	-----------

<b>Tabela 6.</b> Ocorrência de raças de <i>M. grisea</i> nas cultivares coletadas. 1 - Var. Comp.; 2- Best 2000, 3 - BRS Curinga; 4 - Epagri 108; 5 - Epagri 109; 6 - Epagri 112; 7 - Epagri 114; 8 - Km 113; 9 – Piracema e 10 –	
---	--

BRS Primavera.....	90
--------------------	----

## ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Chave para identificação de raças fisiológicas de <i>Magnaporthe grisea</i> em arroz, conforme metodologia de Ling & Ou, (1969).....	96
--	----

## RESUMO DA DISSERTAÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos mais importantes cereais em termos de valor econômico, sendo considerado o cultivo alimentar de maior importância em muitos países em desenvolvimento. A planta do arroz apresenta ampla adaptabilidade às diferentes condições de solo e clima, porém, durante todo seu ciclo, é afetada por doenças que reduzem a produtividade e a qualidade dos grãos. Dentre as doenças do arroz, a brusone é uma das mais importantes, pela sua ampla distribuição geográfica e capacidade de causar danos. O agente causal da brusone do arroz é o fungo *Magnaporthe grisea* (Barr) [anamorfo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.], apresenta um grande número de hospedeiros.

As perdas causadas pela doença são muito variáveis, e sob condições favoráveis podem chegar até 100%. A brusone sob condições ambientais adequadas se desenvolve rapidamente desde o estágio de plântula até a fase de maturação da cultura.

Os sintomas nas folhas iniciam-se com a formação de pequenas lesões necróticas, de coloração marrom, que evoluem, aumentando de tamanho. Na panícula as manchas não apresentam forma definida e quando infectada imediatamente após sua emissão até a fase de grãos leitosos pode causar o chochamento total dos grãos, ficando de coloração esbranquiçada.

Para o controle eficiente da brusone do arroz é indispensável à utilização do manejo integrado, sendo este um desafio para produtores e técnicos. A principal medida de controle atualmente recomendada é o uso de cultivares resistentes aliadas a aplicações de fungicidas e adubação equilibrada. As cultivares resistentes podem ter sua resistência quebrada em torno de dois a três anos após o lançamento. Assim, o plantio de cultivares com diferentes genes de resistência seria uma medida eficiente para reduzir os riscos e as

perdas pela doença. No entanto a variabilidade desse fungo, permite que raças virulentas, aumentem de frequência, diminuindo a vida útil e a resistência das cultivares. Portanto, torna-se necessário conhecer as raças predominantes em um determinado local para auxiliar os programas de melhoramento genético no desenvolvimento de cultivares com resistência mais durável.

No capítulo I, foram testados diferentes meios de cultura para produção de conídios de *P. grisea* e a influência da concentração da solução de inóculo na severidade da brusone do arroz. Os ensaios foram desenvolvidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições. O primeiro ensaio foi composto por 7 tratamentos composto por diferentes meios de cultura e o segundo ensaio composto por três diferentes concentrações da solução do inóculo pulverizados em três cultivares de arroz irrigado. Os melhores resultados foram obtidos nos meios de cultura a base de aveia, V8, farelo de arroz e BDA não comercial. O tratamento constituído pelo meio de cultura aveia, foi significativamente superior aos demais, produzindo 202,5 mil conídios/ml. Em todas as três cultivares a maior concentração de esporos proporcionou maior severidade da brusone. Entre as cultivares avaliadas, a BRS Jaçanã foi considerada resistente e as cultivares Metica 1 e Epagri 109 foram suscetíveis em todas as concentrações testadas.

No capítulo II, foram realizados três experimentos. O Primeiro ensaio objetivou verificar a idade do micélio na produção de conídios, e foi instalado em DIC com 6 tratamentos e 4 repetições. Cada tratamento foi composto por culturas com idade variada, de dez a trinta dias a intervalos de quatro dias entre os tratamentos, sendo: 10, 14, 18, 22, 26 e 30 dias após a repicagem. No segundo ensaio, a partir de um isolamento de folha de arroz infectada foi estudado o efeito do número de repicagens na produção de conídios de *M. grisea*. Foram utilizados 5 tratamentos e 5 repetições em um DIC. Os tratamentos foram obtidos através de repicagens sucessivas a intervalos de 12 dias de idade da cultura original, sendo representados por: 1, 2, 3, 4 e 5 repicagens sucessivas. No terceiro ensaio, estudou-se a influência da coloração das culturas na esporulação de *M. grisea*. O ensaio foi instalado em um DIC com 5 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos foram obtidos através da classificação de culturas de *M. grisea* com características diferentes (negra; cinza escuro com estreitas bordas claras; cinza claro; centro cinza com

extensas bordas brancas e branco). No primeiro ensaio verificou-se que a idade do micélio exerceu grande influência sobre a produção de conídios. As melhores épocas para esporulação foram aos 10 e 14 após a repicagem, havendo aumento na produção de conídios e diminuição após estas épocas. No segundo ensaio, verificou-se que repicagens sucessivas em um determinado isolado monospórico de *M. grisea*, causaram alterações na quantidade de conídios produzidos. Existiu grande produção nas duas primeiras repicagens (1 e 2), diminuindo drasticamente nas repicagens sucessivas (3, 4 e 5). No terceiro ensaio, observou-se que a maior produção de conídios foi obtida nas culturas classificadas como sendo de coloração negra, seguida pelas culturas de centro cinza com extensas bordas brancas e cinza escuro com estreitas bordas brancas.

No capítulo III, em função da necessidade de desenvolvimento e recomendação de cultivares de arroz resistentes a brusone, torna-se necessário o conhecimento da diversidade e prevalência das raças fisiológicas nas regiões onde as cultivares serão recomendadas. Foram realizadas coletas de plantas com sintomas típicos de brusone nas folhas e panículas em diversas regiões do Brasil Central. Das amostras coletadas foram produzidos e analisados 534 isolados monospóricos de *M. grisea*. A identificação das raças se deu através da avaliação das combinações de reações na série internacional de diferenciadoras após inoculação dos isolados monospóricos. Foram identificadas sessenta e uma raças nas regiões avaliadas. Estas raças estão presentes em oito dos nove grupos de patótipos. Os dez mais prevalentes foram compostos pelas raças IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 e IB-41 que apresentaram respectivamente 20.6, 11.8, 10.86, 6.18, 5.43, 4.49, 4.31, 3.75, 3.18 e 3% do total de raças identificadas. Uma maior quantidade de raças foi verificada nos municípios de Lagoa da Confusão e em Formoso do Araguaia. Ao se analisar a prevalência das raças em cada um dos locais, pode se verificar uma mudança quanto à composição das dez raças prevalentes. De um total de 250 isolados monospóricos obtidos nas áreas experimentais de multilinhas e variedades compostas distribuídos em Lagoa da Confusão e Formoso do Araguaia foram identificadas 45 raças fisiológicas. Também foram identificadas 37 raças procedentes de 284 isolados monospóricos originários de cultivares comerciais plantados em áreas de arroz

localizadas nos estados do Tocantins (Lagoa da Confusão, Formoso do Araguaia e Dueré), Goiás (Luiz Alves) e Pará (Paragominas). Os dados mostraram que existe alta variabilidade do fungo *M. grisea* nas regiões avaliadas, principalmente nas áreas orizícolas localizadas no estado do Tocantins.

## **ABSTRACT**

The rice (*Oryza sativa* L.) is one of the most important cereals because of its economic value. This cereal is considered to be the most important staple food in many developing countries. The rice plant presents a wide adaptability to different soil and weather conditions. However, during the whole culture cycle, this plant can be affected by diseases that caused yield and grain quality losses. Among all the rice diseases, blast is one of the most important, because of its wide geographic distribution and destruction capacity. The causal agent of blast in rice is the fungus *Magnaporthe grisea* (Barr) [anamorph: *Magnaporthe grisea* (Cooke) Sacc.]. This fungus colonize a wide number of hosts. The yield loss caused by this disease is quite variable and, when the environmental conditions are favorable, the losses can reach 100%. Blast can be quickly developed when favorable conditions exist and occur since seedling stage until the maturation of the culture, affecting all aerial parts of the plant.

The symptoms in the leaves start with the formation of small necrotic lesions presenting brown spots that evolve and increase in size. The spots do not present a given form on the panicles. When the panicles are infected between its emission and the milky stage, it can lead to incomplete grain filling, and consequently keeping the panicles white.

To reach an efficient control of blast in rice, it is necessary the implementation of disease management. However, this is a challenge to farmers and technicians. Nowadays, the main control measurements are the use of resistant cultivars, fungicides application and right fertilization methods. Resistant cultivars can be broken between two and three years after its release in the market. Thus, the sowing of a high number of resistant cultivars could be an efficiently measurement to decrease the risks of diseases and losses. Nevertheless, the genetic variability of this fungus produces new virulent races, what have made difficult the work of breeders. In breeding programs it is



important the knowledge of the main races present in the studied site for the development of resistant cultivars with broad resilience.

In the chapter 1, sporulation of *M. grisea* was evaluated in different culture mediums, as well as, blast severity on rice in the several conidia concentration. The experiments were carried out in complete randomized design with four replicates. The first experiment consisted of seven treatments (different culture mediums) and the second experiment consisted of nine treatments (three spore concentrations inoculated in three cultivars). In the first experiment, the best results were obtained in the oats culture medium, V8, rice bran and not commercial Potato Dextrose Agar. The oats culture medium was significantly better when compared to the others, producing 202,500 conidia/ml. In the second experiment, all three evaluated cultivars presented the following result: high concentration of spore resulted in high blast severity. Among the evaluated cultivars, the cultivar BRS Jaçanã was resistant, whereas the cultivars Metica 1 and Epagri 109 were susceptible in all studies concentration.

In the chapter 2, three experiments were carried out under laboratory conditions aiming to minimizing the diversity of the factors that can affect the developed of the fungus *M. grisea*. The first experiment aimed to determine how many years the mycelium remain producing conidia. To answer this question, an experiment was carried out in complete randomized design with six treatments and four replicates. Each treatment consisted of cultures with different age and with intervals varying from 10 to 30 days after subculture (10, 14, 18, 22, 26 and 30). In the second experiment, the effected of the number of subcultures on production of *M. grisea* conidia was studied, through of conidia isolation from rice infected leaves. The experiment was carried out in complete randomized design with five treatments and five replicates. The treatments consisted of successive subcultures (1, 2, 3, 4 and 5) always with 12 days among subcultures. In the third experiment, the relation from culture coloration than sporulation of *M. grisea* was evaluated. The experiment was installed in a complete randomized design with five treatments and five replicates. The treatments consisted of the classification of different colors of *M. grisea* culture (black, dark-gray with clearly narrow edge, clearly gray, gray with widener white edge and white). Results from the first experiment, showed that the age of mycelium affected the conidia production. The best periods for sporulation were

10 and 14 days after the subculture, showing an increasing production of conidia, which subsequently decreased after these periods. In the second experiment, the results showed that the successive subcultures, in the determined monosporic isolate of *M. grisea*, caused alteration in the amount of produced conidia. In the first two subcultures (1 e 2) there was a high production of conidia, which severely decrease in the successive subcultures (3, 4 e 5). In the third experiment, the results showed that the highest conidia production was obtained in the cultures classified as black coloration followed by gray with widener white edge and dark-gray with clearly narrow edge.

In the chapter 3, we aimed to study the diversity and prevalence of physiological races on the areas where future cultivars will be recommended. It was because of the need of the development and recommendation of resistant rice cultivars to blast. In this study we collected plants with blast symptoms on the leaves and on the panicles. Experiments were carried out in several areas of central Brazil. It was obtained 534 monosporic isolates of *M. grisea* from the collected samples, and subsequently analyzed. For the races identification, a combination of the reaction of the monosporic isolates inoculated in the International Standard Differential (ISD) was used. A total of 61 races was identified in the areas under study. These races were found in eight out of nine pathotypes groups. The most ten prevalent pathotypes consisted of the following races: IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 and IB-41, that presented 20.6, 11.8, 10.86, 6.18, 5.43, 4.49, 4.31, 3.75, 3.18 and 3%, respective, of the total of identified races. The higher number of races was found at Lagoa da Confusão and Formoso do Araguaia, respectively. When analyzed the prevalence of races on each studied areas, it was observed that from the 10 most prevalent races, each area presented a different race composition. A total of 45 physiological races were identified in a total of 250 monosporic isolates obtained in experimental areas of multilines and varieties mixture at Lagoa da Confusão and Formoso do Araguaia. In the areas planted with commercial rice cultivars, a total of 37 races were identified in 284 monosporic isolates collected at Tocantins state (Lagoa da Confusão, Formoso do Araguaia and Dueré), state of Goiás (Luiz Alves) and state of Pará (Paragominas). The overall results showed that there is a high variability of the

fungus *M. grisea* in the evaluated areas, mainly in the rice farms located at the state of Tocantins.

## **INTRODUÇÃO GERAL**

### **A cultura do Arroz**

O arroz (*Oryza sativa* L.), planta hidrófila da família das gramíneas (*Poaceae*) pertencente ao gênero *Oryza* é constituída por sete espécies, sendo a mais conhecida *O. sativa*. A planta em seu processo evolutivo adaptou-se aos mais variados ambientes MACLEAN *et al.*, (2002). Originário da Ásia Meridional o arroz atravessou fronteiras e conquistou o mundo. Atualmente está entre as culturas mais plantadas e consumidas, sendo considerada a base da alimentação da maior parte da população mundial (VAUGHAN *et al.*, 2005). É considerada a terceira maior cultura cerealífera do mundo, perdendo apenas para o milho e o trigo.

As formas de plantio do arroz no mundo são agrupadas em dois grandes sistemas: semeadura direta e transplântio. Na semeadura direta, as sementes são distribuídas diretamente no solo, na forma de sementes secas ou pré-germinadas, a lanço ou em linhas, em solo seco ou inundado. O sistema de transplântio, as plântulas são produzidas primeiramente em viveiros ou sementeiras, antes de serem levadas para o local definitivo. O sistema de semeadura direta engloba os cultivos de arroz sequeiro (terras altas) e os sistemas irrigados (aspersão, várzea úmida e alagada). Em transplântio é utilizado somente o sistema alagado.

O arroz é um dos mais importantes grãos em termos de valor econômico. É considerado o cultivo alimentar de maior importância em muitos países, principalmente na Ásia e Oceania, onde vivem 70% da população dos países em desenvolvimento e cerca de dois terços da população subnutrida mundial. Quanto ao aspecto nutricional, é considerado um dos alimentos mais balanceados, fornece 20% da energia e 15% da proteína *per capita* necessária

ao homem. É alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas e, segundo estimativas, até 2050, haverá uma demanda para atender o dobro desta população (EMBRAPA, 2005).

Cerca de 150 milhões de hectares de arroz são cultivados anualmente no mundo, produzindo 590 milhões de toneladas, das quais mais de 75% desta produção é oriunda do sistema de cultivo irrigado (EMBRAPA, 2005). Segundo GCEA/IBGE (2008), atualmente no Brasil, a cultura de arroz abrange uma área de 2,92 milhões de hectares e uma estimativa de produção calculada em 12,0 milhões de toneladas, indicando uma variação de +8,6% em relação à safra anterior. O Brasil ocupa hoje a 9ª posição no ranking mundial, destacando-se como o maior produtor fora do continente asiático (BENSKOW, 2005).

O cultivo de arroz sob sistema irrigado no Estado de Tocantins é de grande importância socioeconômica para a região, constituindo-se em uma das principais culturas que compõem o panorama agrícola do Estado. A disponibilidade de água, solos sistematizados, condições climáticas favoráveis e a extensão territorial conferem a este Estado grande potencial para produção agrícola, ressaltando-se o arroz irrigado por inundação (EMBRAPA, 2005). Atualmente, o estado do Tocantins é considerado o terceiro maior produtor nacional com cerca de 60.000 ha plantados, perdendo apenas para Rio Grande do Sul e Santa Catarina (SANTOS *et al.*, 2003a). Aliado aos aspectos citados acima, o Estado ainda apresenta localização geográfica estratégica em relação as grandes capitais do Norte e Nordeste, juntamente com uma boa malha viária para escoamento da produção (IBGE, 2006).

A cultura do arroz é afetada por doenças que reduzem a produtividade e a qualidade dos grãos, bem como a qualidade fisiológica e sanitária da semente. Mais de 80 doenças causadas por patógenos, incluindo fungos, bactérias, vírus e nematóides, foram registradas na literatura em diferentes países (EMBRAPA, 2005). Dentre as doenças do arroz, a brusone é uma das mais importantes, pela sua ampla distribuição geográfica e danos causados (NUNES, *et al.*, 2007; OU, 1972). A doença tem sido um desafio para os orizicultores, e constitui-se um dos fatores limitantes da produtividade do arroz irrigado (várzeas) e de sequeiro (terras altas), em todo o território brasileiro e no mundo (IGARASHI *et al.*, 1986).

## A Brusone

Segundo Bedendo (1997), os registros da ocorrência da brusone (*Magnaporthe grisea*) datam de 1600 e foram feitas na China. Sua distribuição geográfica é ampla, sua ocorrência foi relatada em 70 países, ocorrendo praticamente onde o arroz é cultivado (OU, 1985). No Brasil, a brusone foi relatada pela primeira vez em 1912 no Estado de São Paulo (PRABHU & FILIPPI, 2006).

A doença ocorre em todo o território brasileiro, do Rio Grande do Sul ao Amazonas. Na Região Nordeste e nos Estados do Pará e Amazonas, a incidência da brusone é baixa e de menor importância que as outras doenças que ocorrem no arroz (EMBRAPA, 2004).

O fungo causador da brusone tem um grande número de hospedeiros, ocorre em mais de 50 espécies de gramíneas (DIAS MARTINS, 2004). O agente causal desta doença possui capacidade de infectar várias gramíneas como arroz "vermelho" e "preto" (*Oryza sp.*), trigo (*Triticum aestivum*), aveia (*Avena sp.*), azevém (*Lolium multiflorum* Lam), cevada (*Hordeum vulgare*), centeio (*Secale cereale*), capim arroz (*Echinochloa spp.*), grama boiadeira (*Leersia hexandra*), *Brachiaria mutica*, etc (EMBRAPA, 2005). Marchi *et al* (2005) relataram também o ataque do patógeno causador da brusone em plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no Mato Grosso do Sul. O *M. grisea* fungo apresenta uma variabilidade muito grande em relação a características culturais, exigência nutricional e patogenicidade (BEDENDO, 1997).

As perdas causadas pela brusone são muito variáveis em função da pressão do inóculo, que é dependente das condições climáticas, do sistema de produção e das práticas culturais, do grau de resistência da cultivar utilizada, da ocorrência do patógeno virulento e da época de incidência da doença (DARIO *et al*, 2005).

Sob condições favoráveis ao desenvolvimento da doença as perdas causadas pela doença podem chegar em até 100% (EMBRAPA, 2004). A redução no rendimento de grãos é causada através de efeitos diretos e indiretos da brusone sobre a planta. Como efeito direto pode-se citar que durante a fase vegetativa ocorre a redução da estatura da planta e número de

perfilhos, na fase reprodutiva percebe-se a redução do número de grãos por panícula e o peso de grãos (PRABHU *et al.*, 1986). As indiretas são ocasionadas pela doença afetar a fotossíntese e a respiração durante o ciclo da cultura, afetando, conseqüentemente, a produtividade (SUN *et al.*, 1986 e BASTIAANS *et al.*, 1994).

A doença pode ocorrer em toda a parte aérea da planta, desde os estádios iniciais de desenvolvimento até a fase final de produção de grãos, sendo mais crítica a infecção nas folhas entre 20 e 50 dias de idade e nas panículas, na fase de enchimento dos grãos (BEDENDO, 1997). O aumento da resistência é observado com a idade da planta a partir dos 55 a 60 dias, resultando na redução da severidade da brusone (EMBRAPA, 2005). Nesta fase do ciclo da planta, ocorre a silicificação da parede celular (PRABHU & FILIPPI, 1995).

Durante o enchimento de grãos, a fase entre grão leitoso e pastoso (10 a 20 dias após a emissão das panículas) é a fase mais suscetível à brusone na fase reprodutiva. A ocorrência de chuvas durante o enchimento de grãos também reduz a severidade da brusone nas panículas. Em geral, a incidência da brusone nas panículas é menor em campos irrigados por aspersão, do que naqueles sujeitos à deficiência hídrica (BEDENDO, 1997).

Inadequações quanto à dosagem e época de aplicação do nitrogênio (N), além de reduzir a produção, aumentam a incidência da brusone FAGERIA *et al.*, (1997). O desequilíbrio nutricional aumenta a severidade da brusone nas folhas e panículas, principalmente do nitrogênio em doses excessivas. Também a aplicação de N no sulco, na ocasião do plantio aumenta significativamente a severidade da brusone quando comparada com N parcelado (SANTOS *et al.*, 1986). A alta concentração de nitrogênio reduz a produção de compostos fenólicos (fungistáticos) e de lignina das folhas, diminuindo a resistência aos patógenos obrigatórios. O N aumenta também a concentração de aminoácidos e de amidas no apoplasto e na superfície foliar, que aparentemente têm maior influência que os açúcares na germinação e no desenvolvimento dos conídios, favorecendo, pois, o desenvolvimento das doenças fúngicas (MARSCHNER, 1995).

O patógeno pode permanecer na área e sobreviver na forma de micélio ou conídio em plantas hospedeiras secundárias, restos culturais, sementes e

plantas de arroz que permanecem no campo até que as condições ambientais sejam favoráveis ao seu desenvolvimento, ocorrendo sua disseminação e infecção (DIAS MARTINS, 2004; CORNÉLIO *et al.*, 2000; IGARASHI & BALAN, 2004). As sementes infectadas, contudo, não provocam epidemia em condições de plantios bem conduzidos (DIAS MARTINS *et al.*, 2004). Outra fonte de inóculo primário são os esporos do fungo que sobrevivem nos restos culturais, em lavouras de cultivos consecutivos. Os esporos, trazidos pelo vento, produzidos nas lavouras vizinhas ou distantes, plantadas mais cedo, constituem-se também em fonte importante de inóculo primário (EMBRAPA, 2005; URASHIMA *et al.* 2007).

O agente causal da brusone é composto por raças fisiológicas. Raças fisiológicas são patógenos da mesma espécie, com morfologia similar ou idêntica, mas com diferentes níveis de virulência. É também denominada raça patogênica ou patótipo.

### **Etiologia e morfologia**

O agente causal da brusone do arroz é o fungo *Magnaporthe grisea* (Barr) [anamorfo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.].

O teleomorfo (*Magnaporthe*) pertence à classe dos Ascomycetos e ordem Diaporthales. Os ascósporos são hialinos, fusiformes, com três septos e os ascos unitunicados. Não foi verificado até o momento a presença do teleomorfo na natureza (PRABHU & FILIPPI, 2006).

O anamorfo pertence a classe dos fungos Mitospóricos, subclasse Hyphomycetidae, ordem Moniliales, e família Moniliaceae (MENEZES & OLIVEIRA, 1993). Com relação à Fitopatologia, os fungos anamorfos causam grandes problemas com o ataque, na maioria das vezes, às folhas, causando necroses, murchas, reduzindo o desenvolvimento e levando as plantas à morte BERGAMIN FILHO *et al.* (1995). Segundo Kirk *et al.* (2001), os Hyphomycetes apresentam 1.800 gêneros e 9.000 espécies. Fungos Anamorfos ou conidiais são organismos que apresentam formas filamentosas. As formas filamentosas apresentam estruturas de reprodução assexuadas representadas pelos conidióforos, células conidiogênicas e conídios e por estruturas somáticas do tipo apressório (BONONI & GRANDI, 1999).

Os conídios de *P. grisea* são piriformes, obclavados, com a base circular e o ápice fino, levemente escuros ou hialinos, com pequeno hilo na base, a maioria possui um ou dois septos transversais; ligam-se ao conidióforo pelo seu lado mais dilatado e medem entre 17-23 µm de comprimento por 8-11 µm de largura. Existe uma variação considerável entre isolados de arroz quanto ao tamanho dos conídios, principalmente quanto ao comprimento. Os conídios maduros possuem tipicamente três células e apresentam um apêndice basal no ponto de conexão com o conidióforo, (PRABHU & FILIPPI, 2006).

## **Epidemiologia**

A brusone se desenvolve rapidamente quando existem condições adequadas. Todas as fases do ciclo da doença, desde a germinação dos esporos até o aparecimento de lesões, são influenciadas, em grande parte, pelos fatores climáticos; Dentre os fatores ambientais que podem afetar as relações patógeno-hospedeiro, a água e a temperatura são os mais importantes (REIS *et al.*, 1988).

A umidade (água no estado líquido ou gasoso) através do molhamento das folhas pelas chuvas ou pela deposição de orvalho é o fator determinante e essencial à ocorrência das doenças, ao passo que a temperatura age como catalisador, retardando ou acelerando o processo infeccioso e de reprodução do patógeno (REIS *et al.*, 1988).

As temperaturas entre 20°C e 25°C durante o dia (EMBRAPA, 2005), e noturnas variando de 17 a 21°C são ótimas para a infecção e esporulação do fungo e rápido desenvolvimento da doença (POTAFOS, 1995). Ou (1972) observou que as condições ambientais requeridas à infecção são temperaturas entre 21 e 27 °C e 10 a 14 horas de molhamento. Alves & Fernandes (2006) observaram que quando a umidade relativa é elevada, ≥90% a conidiogenese é favorecida.

A liberação de conídios é influenciada pela temperatura e normalmente ocorre na faixa de 15 a 35 °C. Em relação à germinação dos conídios a temperatura deve ser entre 22 a 28 °C (TOLEDO & ESCOBAR, 2002).

A luz também pode ter influência sobre o crescimento micelial e dos conídios. A alternância de luz tem um papel importante sobre a esporulação.



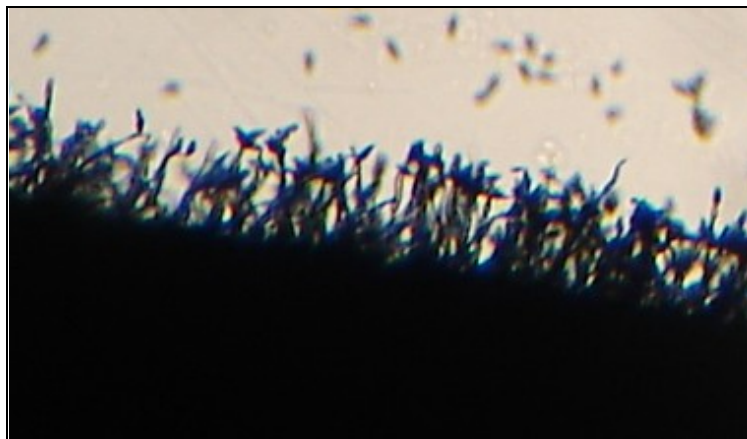
Quanto menor for o número de horas diárias de sol, maiores serão as probabilidades do ataque de *M. grisea* (PRABHU & FILIPPI, 2006).

Ou (1985) citado por Urashima *et al.* (2007), descreve o fungo como sendo um patógeno policíclico e que uma lesão típica é capaz de produzir de 2.000 a 6.000 conídios por dia por aproximadamente 14 dias em condições de laboratório.

## Ciclo de vida

### 1) Produção e liberação de conídios na planta

Os conídios são produzidos quando a umidade do ar for superior a 93 %. A intensidade da luz afeta negativamente o alongamento do tubo germinativo e a produção de esporos, por isso a liberação e a disseminação dos conídios ocorre geralmente durante a noite (PRABHU & FILIPPI, 2006). A disseminação ocorre pela ação do vento (RIBEIRO, 1985), podendo ser transportados à longas distâncias pelas correntes de vento, especialmente em rajadas fortes que provocam o atrito entre as plantas, liberando os esporos (PICININI & FERNANDES, 1995). A liberação dos conídios ocorre com facilidade após sua formação (Figura 1).



**Figura 1:** Conídios e conidióforos de *P. grisea* formado em meio de cultura, observados em microscópio ótico comum.

### 2) Pré-penetração

A adesão é considerada um pré-requisito essencial durante a patogênese de fungos. A mucilagem tem como função, permitir a aderência do conídio em qualquer superfície, mesmo na água. O fungo acumula material

extracelular adesivo em porções na extremidade do conídio e, uma vez em contato com uma superfície adequada, o este é liberado (PRABHU & FILIPPI, 2006). Esse material adesivo estabelece uma firme ligação, porém não específica, com superfícies cobertas com cera. Tentativas vigorosas para desalojar os conídios nessa fase geralmente não têm sucesso. A composição química do material adesivo ainda não foi determinada, mas, acredita-se que exista o envolvimento de resíduos de glucose e manose (HAMER *et al.*, 1988; HOWARD & VALENT, 1996 citado por LEITE *et al.*, 2001).

Fixado no hospedeiro os conídios germinam. A germinação ocorre geralmente em água livre ou em condições de umidade que variam de 92 a 96% (REIS *et al.*, 1988). Os conídios iniciam a germinação com a emissão do tubo germinativo que ocorre em torno de 30 a 90 minutos após o contato com a água. O tubo germinativo é produzido pela célula basal ou pela célula apical, raramente pela célula mediana (PRABHU & FILIPPI, 2006).

O apressório é uma estrutura desenvolvida por vários fungos para romper a superfície foliar do hospedeiro. Sua formação ocorre pelo inchaço no ápice do tubo germinativo. Cada célula do conídio contém um núcleo. Uma delas dá origem ao tubo germinativo. Enquanto o tubo germinativo alonga-se, simultaneamente o núcleo desta célula submete-se a uma divisão mitótica. Um núcleo permanece no conídio e o outro é transferido para o futuro apressório, o qual separa-se do tubo germinativo através da formação de um septo. A parede celular do apressório imaturo começa a engrossar-se através da deposição de uma camada de melanina (MENDGEN *et al.*, 1996).

### 3) Penetração e colonização

A penetração ocorre diretamente na epiderme da folha do hospedeiro, logo após a formação do apressório, que exerce força mecânica gerada pela atividade enzimática das reservas acumuladas no conídio. O apressório quebra mecanicamente a cutícula das folhas de arroz através da hifa de penetração “Peg”, evento que necessita de elevada pressão de turgor interna para a penetração durante a patogênese. A camada de melanina que é depositada sobre a parede celular do apressório em formação é considerada essencial para o processo de penetração. Após a estrutura de penetração ter rompido a cutícula da planta, atravessa a parede celular da epiderme e forma a hifa de

infecção. Esta, por sua vez, dá origem a hifas secundárias e subseqüentes dentro das células da epiderme e do mesófilo, resultando na colonização do tecido invadido e na formação das lesões (PRABHU & FILIPPI, 2006; MENDGEN *et al.*, 1996).

#### 4) Desenvolvimento das lesões

As lesões nas folhas de arroz, visíveis 72 horas após a inoculação, crescem em tamanho e número até coalescerem. Em 144 horas e sob condições de alta umidade, começam a produzir esporos em abundância, os quais são liberados e dispersos pelo vento, fornecendo o inóculo para um ciclo de infecção subseqüente (PRABHU & FILIPPI, 2006).

### **Sintomatologia**

Os sintomas nas folhas iniciam-se com a formação de pequenas lesões necróticas, de coloração marrom, que evoluem, aumentando de tamanho, tornando-se elípticas, com margem marrom e centro cinza ou esbranquiçado. Lesões estas que podem variar de 1 a 2 cm de comprimento por 0,3 a 0,5 cm de largura. As lesões crescem no sentido das nervuras e às vezes são circundadas por um halo amarelado (BEDENDO, 1997). A forma, tamanho e cor das manchas variam em função das condições ambientais, idade da planta e grau de resistência da cultivar (CARDOSO & KIMATI, 1980).

Em condições favoráveis, quando a doença ocorre severamente nos estádios iniciais de desenvolvimento da planta, as lesões coalescem, podendo tomar áreas significativas do limbo foliar causando morte das folhas. Muitas vezes pode levar a planta a morte (BEDENDO, 1997; RIBEIRO, 1988).

Nas variedades altamente resistentes as manchas resumem-se em pontuações ou mancha marrons de tamanho pequeno. Nas variedades de resistência moderada as manchas podem se tornar circulares ou elípticas, mais sempre com alguns milímetros de tamanho. A margem marrom está diretamente ligada com a resistência da planta (CARDOSO & KIMAT, 1980).

A infecção, em outras partes da planta, afeta os nós do colmo, entrenós e várias partes da panícula. A infecção do nó da base da panícula é mais conhecida como brusone de pescoço. A brusone afeta também todas as

ramificações da panícula, causando o chochamento das espiguetas (POTAFOS, 2005).

Os sintomas nos nós e entrenós aparecem, geralmente, na fase de maturação. Os sintomas observados nos entrenós são comuns somente nas cultivares suscetíveis de arroz de terras altas. A infecção na região dos nós é freqüentemente encontrada somente em cultivares suscetíveis de arroz irrigado (EMBRAPA, 2005).

Nos entre-nós, os sintomas evidenciam-se na forma de manchas elípticas escuras com centro cinza e bordos marrom-avermelhados. As manchas crescem no sentido do comprimento do colmo. Os sintomas característicos dos nós são lesões marrons, que rompem o tecido da região nodal causando a morte das partes acima deste ponto e a quebra do colmo, no entanto, permanece ligada a planta. Na panícula as manchas não apresentam forma definida e podem atingir qualquer parte da panícula. Este órgão quando infectado após sua emissão até a fase de grãos leitosos pode causar o chochamento total dos grãos, ficando esbranquiçadas. Quando a doença afeta as panículas mais desenvolvidas ocorre a redução do peso dos grãos podendo ocorrer a quebra das panículas na região afetada. (BEDENDO, 1997).

### **Principais métodos de controle**

A severidade da brusone depende de uma série de condições relacionadas à resistência do hospedeiro, à presença do patótipo e à prevalência de fatores do ambiente favoráveis ou não à doença (BEDENDO, 1997). Para o controle eficiente da brusone do arroz, é indispensável à utilização do manejo integrado, sendo este um desafio para produtores e técnicos. Tal manejo deve ser um conjunto entre a utilização de cultivares resistentes, controle químico do patógeno, nutrição das plantas, aplicação de formas corretas de irrigação, entendimento das relações entre as culturas e plantas daninhas, preparo do solo, utilização de sementes inspecionadas, trocas de cultivares, escalonamento de cultivo e densidades recomendadas, dentre outras.

## 1) Cultivares resistentes

As práticas recomendadas para o controle da brusone nas folhas e nas panículas correspondem a cerca de 15% do custo de produção da cultura. Portanto, a medida mais econômica para o controle dessa doença é a utilização de cultivares resistentes (CUTRIM *et al.*, 2007).

A principal medida de controle, atualmente, é o uso de cultivares com resistência vertical. Este tipo de resistência é governado por um ou poucos genes que facilmente pode ser quebrada pelo patógeno. A pressão do inóculo sobre as cultivares resistentes apresenta na região uma quebra rápida da resistência das cultivares, em geral de dois a três anos (SANTOS *et al.*, 2003b). Assim, o plantio de maior número de cultivares resistentes seria uma medida eficiente para reduzir os riscos e as perdas por esta doença (SANTOS *et al.*, 2002). No entanto, a variabilidade desse fungo, produzindo novas raças virulentas, tem dificultado esse trabalho. É necessário conhecer as raças predominantes em um determinado local para que o melhorista e o fitopatologista possam direcionar melhor suas pesquisas (CORNÉLIO *et al.*, 2003). Dessa forma, é importante que se faça a identificação dos patótipos e sua frequência para auxiliar os programas de melhoramento genético no desenvolvimento de cultivares com resistência durável.

## 2) Adubação equilibrada

O uso eficiente de nitrogênio (N) é significativo no aumento da produção de culturas anuais, como o arroz. Fertilizantes nitrogenados, entretanto, podem poluir o meio ambiente se não forem utilizados na dose adequada e aplicados de modo correto. A eficiência de recuperação do N pela cultura do arroz irrigado situa-se entre 32% e 49% nos solos de várzea do Brasil Central, dependendo da dose de aplicação. Existe grande possibilidade de lixiviação de nitrato nos solos de várzea, podendo causar poluição na água subterrânea. Porém, o aumento na eficiência do uso de N por meio de práticas culturais pode aumentar substancialmente a produtividade do arroz, sem custo adicional dos insumos além de amenizar o problema da contaminação ambiental (FAGERIA & PRABHU, 2004). Na cultura do arroz irrigado, o grau de perda de N e sua eficiência de uso são altamente dependentes do manejo da água (FAGERIA *et al.*, 2003).

A influência do N sobre a brusone varia de acordo com a quantidade, a forma disponível e a suscetibilidade da planta. A aplicação total de N no sulco, por ocasião do plantio, aumenta significativamente a incidência da brusone comparada com a aplicação parcelada desse elemento (SANTOS *et al.*, 1986).

A utilização do N em excesso aumenta a suscetibilidade ao patógeno nas folhas e na panícula; por outro lado, sua deficiência pode predispor as plantas a outras doenças como escaldadura das folhas e queima das bainhas. O fósforo é um elemento importante para bom desenvolvimento da planta e, mesmo com a ocorrência da brusone, pode contribuir para a produtividade da mesma. O potássio, aplicado no plantio, desfavorece o patógeno (BEDENDO, 1997).

O emprego da nutrição mineral como forma de aumentar a resistência das plantas às doenças é uma alternativa sustentável, pois contribui para a conservação dos solos de cerrado e para a preservação da saúde humana através do menor uso de fungicidas (CORREA-VICTORIA *et al.*, 1996).

### 3) Utilização de silício

O silício (Si), embora não faça parte da lista dos elementos essenciais, é considerado elemento útil para o crescimento e produção de muitas gramíneas. O silício tem sido demonstrado como elemento útil para o arroz, capaz de aumentar o rendimento desta cultura através da diminuição da toxidez de Fe e Mn e do aumento da disponibilidade de P, devido a sua liberação dos fosfatos de Fe (BARBOSA FILHO *et al.*, 2000). Além desse efeito no solo, o Si também está relacionado com a reação do arroz a várias e importantes doenças tais como a brusone. A incidência de doenças é menor quando o teor de Si no tecido da planta é maior. Acredita-se que o mecanismo de resistência da planta esteja associado com o teor de Si no tecido da parede celular, tornando-a mais resistente à degradação enzimática. Uma vez depositado, torna-se imóvel e não mais se redistribui nas plantas (BARBOSA FILHO, 2000; SANTOS *et al.*, 2003c).

O Si absorvido pela planta é transportado pelo xilema e as maiores quantidades são depositadas principalmente na parede celular, abaixo da cutícula, aumentando a rigidez da célula e podendo elevar os conteúdos de hemicelulose e lignina da parede celular. O mecanismo de resistência a

doenças é atribuído à associação do Si com constituintes da parede celular, tornando-as menos acessíveis às enzimas de degradação. Apesar disso, existem pesquisadores que acreditam que o Si, além do efeito puramente mecânico, também teria um papel de proteção sistêmica contra fungos (CORREA-VICTORIA *et al.*, 1996).

Santos *et al.* (2003 c) verificaram menor severidade de brusone nas folhas e maiores produtividades foram verificadas nos tratamentos com maiores doses de silício. Santos *et al.* (2003 d) observaram que em termos médios, a produção de arroz foi 33% superior nas parcelas tratadas com silício.

Provavelmente, o efeito do Si sobre a produção não se resume apenas ao seu efeito no controle de doenças. A formação de uma dupla camada de sílica na epiderme das folhas do arroz mantém as mesmas mais eretas, promovendo um maior aproveitamento de luz e em decorrência uma maior eficiência fotossintética (TAKAHASHI, 1996). De acordo com Agarie *et al.* (1992) a maior atividade fotossintética proporcionada pela adubação com Si pode ser uma das razões para o aumento da produção de grãos e matéria seca.

Apesar do silício ainda não ser utilizado em larga escala no Brasil, pode-se inferir a possibilidade do seu uso como mais uma alternativa de controle da brusone foliar e de aumento da produtividade do arroz irrigado (SANTOS *et al.*, 2003 c).

#### 4) Aplicação de fungicidas

Apesar dos estudos de melhoramento desenvolvidos na região indicarem boas perspectivas de seleção de genótipos superiores, atualmente todos os cultivares plantados são suscetíveis em maior ou menor grau a algumas doenças. Os fungicidas utilizados na parte aérea não têm controlado eficientemente a brusone, contribuindo para o encarecimento do processo de produção (SANTOS *et al.*, 2003b).

Segundo Dario *et al.* (2005), aplicação dos fungicidas trifloxystrobin, propiconazole, fluoxystrobin e tebuconazole, nas doses recomendadas, são eficientes no controle de Brusone, além de não apresentarem fitointoxicação as plantas na cultura do arroz. Segundo Santos *et al.* (2005) os produtos tricyclazol, trifloxistrobina em mistura com propiconazol; e também tricyclazol

em mistura com mancozeb na forma líquida são eficientes no controle da brusone.

#### 5) Tratamento de sementes

O uso de sementes sadias ou tratadas é importante para evitar a introdução de novos patótipos em novas áreas, principalmente devido ao fato deste patógeno apresentar variabilidade alta, um dos motivos pela baixa durabilidade da resistência das cultivares comerciais de arroz (PRABHU *et al.*, 1999). Os métodos que reduzem o inóculo inicial incluem o uso de sementes sadias ou a erradicação do patógeno com produtos químicos ou outros tratamentos (LOBO, 2008).

O tratamento de sementes é considerado como uma das práticas culturais de baixo custo, para proteger as culturas contra doenças em arroz de terras altas e varzeas. Os fungicidas sistêmicos registrados especificamente para o tratamento de sementes contra brusone nas folhas incluem carboxim + thiram, thiabendazole e pyroquilon (KIMATI *et al.*, 1986). A eficiência desses produtos varia, bem como seus efeitos residuais. Apesar da importância da brusone no arroz, atualmente são poucos os fungicidas registrados para essa cultura, principalmente os de ação sistêmica. Os poucos produtos registrados, apresentam baixa atividade residual e alguns estão sendo utilizados há mais de vinte anos, outros já não apresentam a eficiência desejada (LOBO, 2008).

#### **Resistência genética**

A resistência genética tem sido a forma mais eficiente no controle de doenças de plantas, tanto pelas suas vantagens econômicas, quanto ambientais. No entanto, a obtenção de uma resistência durável, continua sendo na maioria dos patossistemas, um desafio para os melhoristas e fitopatologistas (CASELA & GUIMARÃES, 2005).

Segundo Vanderplank (1963), a resistência pode ser classificada, de acordo com sua efetividade contra patótipos, em resistência vertical e horizontal. A resistência vertical é específica aos patótipos, sendo conferida por genes maiores que apresentam resistência a uma ou poucas raças fisiológicas do fungo, sendo pouco estáveis. A resistência horizontal, além de não ser



específica às raças do patógeno é conferida por genes menores que apresentam resistência uniforme contra todas as raças do fungo, sendo considerada durável por apresentar maior estabilidade. Mais tarde Vanderplank (1982) definiu que a resistência vertical é monogênica, demonstra efeitos grandes e interação diferencial e que a resistência horizontal é poligênica, com efeitos pequenos e não apresenta interação diferencial.

Robinson (1971) definiu a natureza de resistência vertical e resistência horizontal em termos de agricultura, epidemiologia e de seus mecanismos de herança. Sob o ponto de vista agrônomo, a principal característica de resistência vertical é a quebra da resistência, enquanto que a resistência horizontal se caracteriza pela sua estabilidade.

A existência de dois tipos de resistência, uma vertical e outra horizontal, são reconhecidas em diversos sistemas patógeno-hospedeiro (VANDERPLANK, 1963). Como a resistência vertical pode ser facilmente incorporada nos cultivares comerciais, o melhoramento do arroz baseou-se nesta resistência (OU, 1977).

A doença é o produto da interação entre hospedeiro, patógeno e o ambiente. A severidade da doença nas plantas são variáveis devido a alterações na frequência da população do patógeno virulento ao nível de resistência do hospedeiro ou a modificações do ambiente (PRABHU & MORAIS, 1993). A interação patógeno-hospedeiro é considerada compatível quando a planta não reconhece a presença do patógeno. Quando o patógeno inicia a colonização do tecido foliar se manifesta os sintomas típicos da doença. Nesse caso, o patógeno é considerado virulento e a planta, suscetível. Numa interação incompatível, o patógeno é reconhecido pela planta e não consegue colonizar a planta hospedeira e provocar doença. Assim, a planta é considerada resistente e o patógeno, avirulento. No reconhecimento do patógeno pela planta ocorre, a nível molecular, várias reações de defesa do hospedeiro a tempo ábil de impedir que o patógeno se estabeleça HAMMOND-KOSACK & JONES, (2000).

Desta forma, a diferença entre resistência e suscetibilidade está na capacidade da planta de reconhecer o patógeno invasor e ativar de maneira rápida seus mecanismos de defesa GUZZO, (2004). Este reconhecimento ocorre quando há interação entre uma molécula receptora (alelos de

resistência) da planta e um elicitador (alelos de avirulência) do patógeno, de forma direta ou indireta (HAMMOMD-KOSACK & PARKER, 2003).

A reação entre o elicitador e o receptor desencadearia uma reação complexa no sítio de infecção, resultando em uma reação incompatível (ausência de doença), em que a infecção e a colonização do tecido do hospedeiro pelo patógeno seriam limitadas. Por outro lado, se o patógeno possuir um alelo de virulência, não será reconhecida pela molécula receptora da planta hospedeira, a qual, conseqüentemente, não reconhecerá a infecção, dando origem a uma reação compatível (presença de doença) (BERGAMIN FILHO *et al.*, 1995). Assim, uma raça contendo tanto o alelo de avirulência como o de virulência é capaz de causar doença em uma planta que contenha o alelo de suscetibilidade, pois esta não produz moléculas receptoras que acusam a presença do patógeno (BERGAMIN FILHO *et al.*, 1995).

A vulnerabilidade genética a doenças pode estar ligada a diversos fatores como existência de uma base genética estreita; plantio de um único genótipo em grandes extensões de área; introdução de patógenos; associação de algumas características agronômicas desejáveis à suscetibilidade de alguns patógenos; quebra da resistência vertical por mudanças ocorridas na população do patógeno e também a ocorrência de fatores ambientais favoráveis à epidemia. Todos estes fatores são influenciados, diretos ou indiretamente, pela capacidade evolutiva do patógeno (CASELA & GUIMARÃES, 2005).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARIE, S.; AGATA, W.; KUBOTA, F.; KAUFMAN, P. B. Physiological roles of silicon in photosynthesis and dry matter production in rice plants. **Japan Journal Crop Science**, v. 61, p. 200-206, 1992.

ALVES K. J. P. & FERNANDES J. M. C. Influência da temperatura e da umidade relativa do ar na esporulação de *Magnaporthe grisea* em trigo.. **Fitopatologia Brasileira**. v.31, n.6 p.579-584, 2006.

BARBOSA FILHO, M.P.; SNYDER, G.H.; PRABHU, A.S.; DATNOFF, L.E.; ORNDÖRFER, G.H. **Importância do silício para cultura do arroz (uma revisão de literatura)** POTAFOS, INFORMAÇÕES AGRONÔMICAS Nº 89 – MARÇO/2000

BASTIAANS, L.; RABBINGE, R.; ZADOKS, J.C. Understanding and modeling leaf blast effects on crop physiology and yield. In: ZEIGLER, R.S.; LEONG, S.A.; TENG, P.S. (Ed.). Rice blast disease. Wallingford: CAB, 1994. p.357-380.

BEDENDO, I.P. Ambiente e Doença. In: BERGAMIN FILHO, A. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. Vol.1 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 332-341

BEDENDO, I.P. Doenças do arroz. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.85-99.

BENSKOW, P. R. **O arroz na história. A formação da economia arrozeira do Rio Grande do Sul**. IRGA - Consumo de Arroz. 2005. Disponível em: <http://200.96.107.174/coma-arroz/paginas/ahistoria.php>. Acesso em: 30 mar. 2005

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Princípios e conceitos. **Manual de fitopatologia**. 3oed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p. 919.

BONONI, V.L.R. & GRANDI, R.A.P. (coords.). Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas. Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo. 1999.

CARDOSO, C. A. A.; **Desenvolvimento de um sistema de aviso para a brusone do trigo causada por *Magnaporthe grisea***. Dissertação (Mestrado) Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2006.

CARDOSO, C.O.N. KIMATI, H. Doenças do Arroz. In: GALLI F. et al. (Ed.) **Manual de fitopatologia – Doenças de plantas cultivadas** H. Vol. II, 2 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. p. 75-86.

CORNELIO, V. M. O.; SOARES, A. A.; FILHO, J. S. S. B.; SOARES, P. C. **Identificação de Raças Fisiológicas de *Magnaporthe grisea* em Arroz no Estado De Minas Gerais.** Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.5, p.1016-1022, set./out., 2003

CORNÉLIO, V.M.O.; SANTOS, P.G., SOARES, A.L.; LOPES, T.L.V. **Associação entre a incidência de brusone e a presença de *Magnaporthe grisea* nas sementes de arroz.** Pesquisa Agropecuária brasileira, Brasília, v. 35, n.3, p.639-645, mar. 2000.

CORREA-VICTORIA, F.; DATNOFF, L.E.; WINSLOW, M.D.; OKADA, K.; FRIESEN, D.K.; SANZ, J.I.; SNYDER, G.H. **Deficiência de sílica em arroz de sequeiro em solos de savana altamente degradados da Colômbia. II. Doenças e qualidade de grão.** In: Arroz na América Latina: perspectivas para o incremento da produção e do potencial produtivo. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, 1996. v.2, p.161. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 62).

CASELA, C.R.; GUIMARÃES, F. B.. Rotação de genes no manejo da resistência a doenças. LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. RAAP: v. 13, p. 321-349, 2005.

CUTRIM, V.A.; RANGEL, P.H.N.; FONSECA, J.F.; CORDEIRO, A.C.C.; LOPES, A.M.; SANTIAGO, C.M. **BRS Jaçanã: Cultivar de arroz irrigado para a região tropical.** Comunicado técnico 140. ISSN 1678-961X. Santo Antônio de Goiás, GO Dezembro, 2007.

DARIO, G.J.A.; MANFRON, P.A.; BONNECARRÉRE, R.A.G.; DOURADO NETO, D.; MARTIN, T.N.; CRESPO, P.E.N. Controle químico de brusone em arroz irrigado. **Revista da FZVA.** Uruguaiana, v.12, n.1, p. 25-33. 2005

DIAS MARTINS, T., LAVORENTI, N.A. & URASHIMA, A.S. **Comparação entre métodos para avaliação de transmissão de *Magnaporthe grisea* através de sementes em triticale.** Fitopatologia Brasileira v.29, n 4, p: 425-428. 2004.

ELLIS, M.B. *Dematiaceous hyphomycetes.* Kew Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute/CAB, 1971. 608p.

EMBRAPA-Embrapa Clima Temperado. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil** Sistemas de Produção, 3 ISSN 1806-9207 Versão Eletrônica Nov./2005. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/sistemas/arroz/autores.htm>, Acesso em: 08/12/2006

EMBRAPA-Embrapa Arroz e Feijão Sistemas de Produção, **Cultivo do Arroz Irrigado no Estado do Tocantins.** N. 3 ISSN 1679-8869 Versão eletrônica Nov./2004. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoTocantins/index.htm>. Acesso em: 08/12/2006.

FAGERIA, N.K. & PRABHU, A.S., **Controle de brusone e manejo de nitrogênio em cultivo de arroz irrigado.** Pesq. agropec. bras., Brasília, v.39, n.2, p.123-129, fev. 2004.

FAGERIA, N.K.; SLATON, N.A.; BALIGAR, V.C. Nutrient management for improving lowland rice productivity and sustainability. **Advances in Agronomy**, v.80, p.63-152, 2003.

FAGERIA, N.K.; BALIGAR, V.C.; JONES, C.A. **Growth and mineral nutrition of field crops**. 2nded. New York: M. Dekker, 1997. 624p.

GCEA/IBGE, DPE, COAGRO - Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias – Instituto Brasileiro de geografia e Estatística - **Levantamento Sistemático da produção Agrícola**, Abril 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>. Acesso em: 06 Junho 2008.

GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 2004. 236p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura)-Universidade de São Paulo, Piracicaba.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; PARKER, J.E. Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.14, n.2, p.177-193, 2003.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Response to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W. JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: ASPP, 2000. p.1102-1156.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Mapas interativos 2006**. Disponível em: <http://mapas.ibge.gov.br/>. Acesso em: 11/12/2006

IGARASHI, S., BALAN, M.G. Brusone do trigo. *Atualidades Agrícolas da Basf*. p. 28-31, 2004

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C.M. IGARASHI, L.C., KAZUMA, A.H. & LOPES, R.S. ***Magnaporthe* em trigo. Ocorrência de *Magnaporthe* sp. no Estado do Paraná**. *Fitopatologia Brasileira* 11:351-352. 1986.

KIMATI H, SOAVE J, ESKES AB, KUROZAWA C, BRIGNANI NETO F, FERNANDES NG (1986) Guia de fungicidas agrícolas. Piracicaba SP. Grupo Paulista de Fitopatologia.

KIRK, P.M., CANNON, P.F., DAVID, J.C. & STALPERS, J.A. Dictionary of the Fungi. 9 ed. CAB International, Wallingford. 2001.

LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F.; KITAJIMA, E.W. ISCHIDA, M.L.. Mecanismos de adesão de bactérias e fungo às plantas hospedeiras. *RAAP*: v. 9, p. 119-157, 2001.

LOBO, V. L. S. Efeito do tratamento químico de sementes de arroz no controle da brusone nas folhas e na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. **Tropical plant pathology**. vol.33, no.2, p.162-166, 2008.

MACLEAN, J. L.; DAWE, D. C.; HARDY, B.; HETTER, G. P. Rice Almanac. 3<sup>a</sup> ed. **Internacional Rice Research Institute**, Los Baños, Phillipines. 2002 p. 59-235.

MARCHI, C. E. FERNANDES, C. JERBA, D. V. DE F.. BORGES M. DE F. LORENZETTI E. R. **Brachiaria brizantha: novo hospedeiro de Magnaporthe grisea** Pasturas Tropicales, Vol. 27, No. 2. 2005. Disponível em: [www.ciat.cgiar.org/forrajes/pdf /pasturas\\_tropicales\\_2005/pt\\_27\\_2\\_52\\_54.pdf](http://www.ciat.cgiar.org/forrajes/pdf/pasturas_tropicales_2005/pt_27_2_52_54.pdf). Acesso em:11/12/2006

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2ed. San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.

MENDGEN, H.; HAHN, M. & DEISING, H. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34:367-86. 1996

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S.M.A de. *Fungos fitopatogênicos*. Recife: Imprensa Universitária, 1993.

NUNES, C. D. M.; CARVALHO, F. I. F.; PIEROBOM, C. R. & OLIVEIRA, A. **Genética da Resistência de Cultivares de Arroz à Raça IA-1 de Magnaporthe grisea**. *Fitopatol. Bras.* 32(1), jan - fev 2007.

OU, S. H.; Rice Diseases. 2.0ed. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1985. 198p.

OU, S. H. Rice. In: Breeding Plants for Disease Resistance. Concepts and applications. University Park, Pennsylvania, The Pennsylvania State University Press. 1977. p. 91-109.

OU, S. H. Fungus diseases – Foliage Diseases. In: *Rice diseases*. England. 1 ed. 1972. p. 97-184.

PICININI, E.C.; FERNANDES, J.M.C. Doenças de cereais de inverno: aspectos epidemiológicos e controle. Passo Fundo: CNPT/EMBRAPA, 1995. 58p.

POTAFOS. **Doenças do arroz: Sintomatologia e controle**. Arquivo do agrônomo N° 10 - setembro/95 Disponível em: [www.potafos.org/.../87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/\\$FILE/Arroz18-22.pdf](http://www.potafos.org/.../87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d5fbc829a2f54298832569f8004695c5/$FILE/Arroz18-22.pdf). Acesso em 09/12/2006.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 388 p.

PRABHU AS, FILIPPI MC, RIBEIRO AS (1999) Doenças e seu controle. In: Vieira NRA, Santos AB, Santana EP (Eds.) A cultura do arroz no Brasil. Santo Antônio de Goiás GO. Embrapa Arroz e Feijão. pp. 262-307.

PRABHU, A.S. & FILIPPI, M.C. Age mediated resistance and fungicide application for leaf blast control for upland rice. **International Journal of Pest Management** 41:8-13. 1995.

PRABHU, A.S.; MORAIS, O.P.. Resistência estável às doenças de plantas. LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. RAAP: v.1, p. 239-273, 1993.

PRABHU, A.S.; FARIA, J.C.; CARVALHO, J.R.P. Efeito da brusone sobre a matéria seca, produção de grãos e seus componentes em arroz de sequeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 5, p.495-500, 1986.

REIS, E.M., FERNANDES, J.M.C., PICININI, E.C.. Estratégias para o controle de doença do trigo. Passo Fundo: CNPT/EMBRAPA, 1988. 50p.

RIBEIRO DO VALE, F.X., PARLEVLIET, J.E. & ZAMBOLIM, L. Concepts in plant disease resistance. *Fitopatologia Brasileira*. V.26, n.3, p.577-589. 2001.

RIBEIRO, A.S. Doenças do arroz irrigado. Pelotas, CPATB, (Circular Técnica, 19), 1988. 56p.

RIBEIRO, A.S. Capítulo 11: Doenças. Fundação Cargill. Fundamentos para a cultura do arroz irrigado. Campinas, 1985.

ROBINSON, R. A..Vertical resistance. *Plant Pathology*. v. 50, n. 5, p. 233-239, 1971.

SANTOS, A.B.; PRABHU, A.S.; AQUINO, A.R.L. Épocas, modos de aplicação e níveis de nitrogênio sobre brusone e produtividade de arroz de sequeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.21, p.697-707, 1986.

SANTOS, G. R. ; SANTIAGO, C. M. ; MARRA, B. ; DIDONET, J. ; PELÚZIO, J. M. . Efeito da aplicação de fungicidas sobre o controle das principais doenças e produtividade do arroz irrigado e de terras altas. *Revista Agropecuária Técnica*, Areia-PB, v. 26, n. 1, p. 44-50, 2005.

SANTOS, G.R.; RANGEL, P.H.N.; CAMARA, R.K. Avaliação de genótipos de arroz irrigado à queima e mancha das bainhas em Tocantins. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v.19, n.1, p. 15-21, 2003. (a)

SANTOS, G. R.; KORNDÖRFER, G. H; REIS FILHO, J. C. D.; PELÚZIO, J. M. Adubação com silício: Influência sobre as principais doenças e sobre produtividade do arroz irrigado por inundação. *Revista CERES*, Imprensa Universitária, v. 50, n. 287, p. 1-8, 2003 (b)

SANTOS, G.R.; KORNDÖRFER, G.H.; PELÚZIO, J.M.; DIDONET, J.; REIS FILHO, J.C.D.; CÉSAR, N.S.; Influência de fontes de Silício sobre incidência e severidade de doenças e produtividade de arroz irrigado. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v.19, n.2, p. 65-72, 2003. (c).

SANTOS, G.R.; KORNDORFER, G.H.; PRABHU, A.S. Eficiência do silício combinado com nitrogênio e tratamento de sementes no controle de doenças do arroz irrigado por inundação. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v.19, n.3, p. 43-49, 2003. (d)

SANTOS, G.R.; SABOYA, L. M. F; RANGEL, P. N. N; OLIVEIRA FILHO, J. C. **Resistência de genótipos de arroz a doenças no sul do Estado do Tocantins**. Bioscience Journal, v.18, n.1, p.3-12, 2002.

SUN, S. Y.; JIN, M. Z.; ZHANG, Z. M.; TAO, X. L.; TAO, R. X.; FANG, D. F. **Rice blast disease and its control**. Shanghai: Shanghai Scientific and Technology, 1986. 182 p.

TAKAHASHI, E. Uptake mode and physiological functions of silica. In: Science of the rice plant Physiology. Food and Agriculture. **Policy Research**, v. 2, p. 420-433, 1996.

TOLEDO, J.; ESCOBAR, R. *Piricularia o bruzone del trigo*. CIAT. Santa Cruz, Bolívia. **CIAT**, 2002. 20p.

URASHIMA, A.S., LEITE, S.F., GALBIERI, R. Eficiência da disseminação aérea em *Magnaporthe grisea*. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.3, p.275-279, 2007.

VANDERPLANK, J.E. Host pathogen interaction in plant disease. New York, Academic, 1982.

VANDERPLANK, J.E. Plant disease: epidemics and control. New York: Academic, 1963. 349p.

VAUGHAN DA, KADOWAKI K, KAGA A, TOMOOKA N. On the phylogeny and biogeography of the genus *Oryza*. **Breeding Science**. 55:113-122. 2005.



**CAPÍTULO I – INFLUÊNCIA DO MEIO DE CULTURA NA CONIDIOGENESE DE *Pyricularia grisea* E DA CONCENTRAÇÃO DO INÓCULO NA SEVERIDADE DA BRUSONE DO ARROZ.**

## RESUMO

Objetivou-se nesse trabalho testar diferentes meios de cultura para produção de conídios de *P. grisea* e a influência da concentração de conídios na solução do inóculo na severidade da brusone do arroz. Ambos os ensaios foram desenvolvidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, sendo o primeiro composto por 7 tratamentos representados por meios de cultura e o segundo ensaio representado por três concentrações de esporos inoculados em três cultivares de arroz irrigado. Os melhores resultados foram obtidos nos meios de cultura a base de aveia, V8, farelo de arroz e BDA não comercial. O tratamento a base de aveia foi significativamente superior aos demais, produzindo 202,5 mil conídios/ml. Em todas as três cultivares a maior concentração de conídios proporcionou maior severidade da brusone das folhas. Entre as cultivares avaliadas a BRS Jaçanã foi considerada resistente e Metica 1 e Epagri 109 foram suscetíveis em todas as concentrações estudadas.

**Palavras chave:** *Oryza sativa*, *Magnaporthe grisea*, substrato, esporulação.

## ABSTRACT

### **Influence of culture medium on the sporulation of *Magnaporthe grisea* and the conidia concentration on blast severity on rice**

Two experiments were carried out aiming to evaluate different culture medium for sporulation of *M. grisea* and the influence of conidia concentration in rice blast severity. Both experimental were performed in a completely randomized block scheme with four replicates. The first experimental consisted of seven culture media (7 treatments) and the second was constituted of three spore concentration that were inoculated in three irrigated rice cultivars (9 treatments). The best results were obtained in the oats culture medium, V8, rice bran and not commercial Potato Dextrose Agar. The oats medium culture was significantly better when compared to the others, producing 202,500 conidia/ml. In all the three evaluated cultivars, the highest concentration of spore resulted in the highest blast severity. Among the evaluated cultivars, the cultivar BRS Jaçanã presented more resistance, while the cultivars Metica 1 and Epagri 109 were susceptible in all the studies concentrations.

**Keywords:** *Oryza sativa*, *Pyricularia grisea*, substrate, sporulation.

## INTRODUÇÃO

O fungo *Pyricularia grisea* Sacc (teleomorfo *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr) agente causal da brusone, possui uma ampla gama de hospedeiros que causa doenças em mais de 50 espécies de gramíneas. No Brasil, arroz, trigo, triticale, milho e cevada são as culturas que sofrem quedas significativas de produtividade devido ao ataque desse patógeno (GALBIERI & URASHIMA, 2008; ALVES. & FERNANDES, 2006). Dentre os vários hospedeiros desse fungo, o arroz (*Oryza sativa* L.) é o mais importante pela sua ampla distribuição geográfica, em praticamente todas as regiões produtoras do mundo e também pela sua capacidade de destruição (NUNES, *et al.*, 2007). A brusone é considerada uma ameaça à segurança alimentar no mundo (VALENT, 2004).

Diversos pesquisadores e instituições de pesquisa em todo mundo tem estudado o fungo *Magnaporthe grisea*. Segundo Prabhu & Filippi (2006), estas razões são claras. Não há na história da Fitopatologia um patógeno como o *M. grisea*, que causa tantos impactos em abrangência mundial para a cultura do arroz e, em menor escala para outras gramíneas. Por estas razões, a brusone vem sendo intensivamente estudada desde o início do século passado.

Mesmo sendo um patógeno amplamente estudado, o fungo *M. grisea* apresenta limitações de cultivo, em condições controladas. Desta forma, características quanto às exigências nutricionais de cada isolado a ser utilizado em estudos também podem ser variáveis e exigir adaptações, ou inovações, para possibilitar o desenvolvimento mais eficiente dos ensaios. Na composição do meio de cultura, as fontes de carbono e nitrogênio, são mencionadas como os principais fatores para a obtenção de culturas *in vitro* de diversos fungos fitopatogênicos (MONTARROYOS, 2007). O fungo *M. grisea* apresenta grande variabilidade comportamental em meio de cultura, mesmo em cultura monospórica (SOAVE *et al.*, 1975).

No entanto, pouco se sabe sobre a influência de diferentes meios de cultura na produção de conídios e das concentrações destes na inoculação de *P. grisea*. Estes estudos devem ser realizados para isolados obtidos em diferentes regiões. O presente estudo teve como objetivo avaliar diferentes

meios de cultura para esporulação de *M. grisea* e a influência da concentração de conídios da solução do inóculo na severidade da brusone em arroz.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Gurupi.

### **Ensaio I – Influência de meios de cultura na produção de conídios de *P. grisea*.**

O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 7 tratamentos (meios de cultura) e 4 repetições, sendo repetido por duas vezes. Foram utilizados os meios de cultura: T1 - Aveia (Av); T2 - Farelo de Arroz (Fa); T3 - Farinha de trigo (Ft); T4 – BDA; T5 - Milharina (Mi); T6 - BDA (comercial); e T7 - V8 (suco concentrado de tomate).

Para o preparo dos meios de cultura a base de aveia; farelo de arroz; farinha de trigo e milho foram utilizadas 50g da base (Av, Fa, Ft e M). As bases foram submetidas individualmente a um processo de cozimento em 1,0 litro de água destilada por um período de cinco minutos. Após o cozimento foram filtrados e os volumes completados para 1,0 Lt com água destilada, em seguida foram adicionados 20g dextrose, 15g Agar e 250mg de antibiótico para cada meio de cultura. O meio BDA comercial (Potato Dextrose Agar) foi preparado utilizando-se 39g do produto comercial (Acumedia), correspondente a 4g de infusão de batata desidratada, 20g de dextrose e 15g de Agar, sendo acrescido 250mg de antibiótico (Ampicilina). Para o preparo do meio de cultura BDA não comercial foram utilizados 250g de batata picada em pequenos cubos, obtendo-se o extrato através de cozimento em 1,0 litro água destilada. Com o extrato de batata pronto, foram adicionados 20g dextrose, 15g Agar e 250mg de antibiótico, sendo completado o volume com água destilada para 1,0 litro. Para o preparo do V8 (suco concentrado de tomate) foram utilizados 300g de tomate cortado em cubos adicionado-se 500ml de água destilada para

cozimento durante 10 minutos, em seguida o material foi peneirado, obtendo-se somente o suco concentrado. Foram utilizados 230g de suco tomate concentrado, sendo adicionados 3g CaCO<sub>3</sub>, 20g dextrose, 15g Agar e 250mg de antibiótico e em seguida o volume foi completado para 1,0 litro. Para o preparo dos meios de cultura foram utilizados os reagentes: Agar-Agar granulado (puro, purificado e livre de inibidores microbiológicos com pH inferior a 6,0); Dextrose (D[+] glucose anidra C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) e Antibiótico (Ampicilina).

Os meios de cultura foram submetidos ao processo de esterilização por autoclavagem. Em seguida, foram vertidos em placas de Petri sobre condições assépticas. Com o auxílio de um bisturi, um isolado monospórico de *M. grisea* classificado anteriormente como pertencente à raça IA-1 foi repicado para todas as placas contendo os meios de cultura. Após a transferência as placas foram encubadas em BOD no escuro, com temperatura de para 25°C.

Aos doze dias de crescimento as colônias foram submetidas a um estresse para indução da esporulação. As placas foram abertas em condições assépticas e o micélio superficial foi removido com um bastão de aço estéril. Em seguida os isolados foram colocados em câmara de crescimento com temperatura ajustada para 25°C com as placas abertas, cobertas apenas por pano crepe para evitar a contaminação e saque dos conídios por formigas. As culturas foram mantidas sob luz fluorescente contínua por 48 horas.

A avaliação do número de conídios foi realizada aos 14 dias após a repicagem. Para quantificação da produção de conídios, cada placa foi lavada com 20ml de água destilada estéril, e foi realizada a remoção com o auxílio de um pincel de cerdas macias para desprendimento dos conídios dos micélios. Em seguida, a solução foi filtrada em gaze e os conídios foram quantificados em câmara de Neubauer.

Para a análise estatística, utilizou-se a média dos ensaios e os dados foram tabulados e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT (SILVA & AZEVEDO, 2006).

## **Ensaio II – Influência da concentração de conídios da solução do inóculo na severidade da brusone das folhas, em diferentes cultivares de arroz irrigado.**

O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, em esquema fatorial de 3 x 3, sendo o fator A= cultivares e o fator B= concentrações de conídios. Foram utilizadas as cultivares de arroz irrigado Epagri 109, BRS Jaçanã e Metica-1. As concentrações do inóculo testadas foram  $3 \times 10^3$ ,  $3 \times 10^4$  e  $3 \times 10^5$  conídios/ml. As sementes foram semeadas em bandejas plásticas, com dimensões de 45 x 30 x 10 cm, contendo 4,0 Kg de substrato comercial PLANTMAX (casca de pinus, vermiculita, turfa, corretivo de acidez, super fosfato simples e nitrato de potássio), autoclavado a 120°C por 30 minutos. Não foi realizada adubação de plantio em função do tempo de permanência da cultura no substrato e dos teores de nutrientes apresentados em análise química: Ca, Mg, Al, H+Al apresentando 16.4, 10.1, 0.24, 10.1 cmol/dm<sup>3</sup> respectivamente; K 709.5 ppm e P 362 ppm, 10.7% de matéria orgânica e pH 5.2 em CaCl<sub>2</sub>. Em cada bandeja semeou-se as 3 cultivares, com 15 sementes por lounha. Após o semeio as bandejas foram mantidas em casa-de-vegetação aclimatizada com temperatura controlada para 25°C até o momento da inoculação. Aos quinze dias após a emergência das plântulas foi realizada adubação de cobertura com 3g de Uréia (45% N) por bandeja.

Simultaneamente ao desenvolvimento das plantas foi realizada a multiplicação do inóculo, sendo utilizado a raça IA-1 considerada como a mais freqüente no Estado do Tocantins (DIAS NETO et al., 2008). Foram realizadas repicagens do micélio da placa matriz para 10 placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Após obtenção das culturas as placas foram acondicionadas em incubadora tipo B.O.D., com temperatura ajustada para 25°C para o crescimento micelial. Aos 12 dias as culturas foram submetidas ao estresse e em seguida os conídios foram quantificados conforme descrito no ensaio 1.

Os tratamentos consistiram de três diferentes concentrações do inóculo, foram elas  $3 \times 10^3$ ,  $3 \times 10^4$  e  $3 \times 10^5$  conídios. mL<sup>-1</sup>. 20ml da solução de inóculo foi pulverizado em cada bandeja, com auxílio de um borrifador manual. As soluções de inóculo foram distribuídas homogeneamente entre as três

variedades de cada bandeja. Após a inoculação, as plantas foram encubadas por 24 horas sob condições de câmara úmida com umidade relativa maior que 95% proporcionada por umidificador em ambiente fechado e com ausência total de luz. Em seguida, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 25°C, 70% de umidade relativa do ar e fotoperíodo de 12 horas por sete dias.

A severidade foi avaliada aos nove dias após a inoculação. Para isso foi utilizada a escala de notas de seis graus (0, 1, 3, 5, 7 e 9) proposta por Leung *et al.* (1988). Porém modificada, sendo adicionado a nota 4 de uma escala padronizada de 1 a 9 (STANDARD evaluation system for rice, 1976), (0, 1, 3, “4”, 5, 7 e 9) conforme também sugerido por Prabhu & Filippi (2006). A escala de sete graus utilizada permite diferenciar com clareza os tipos de infecção, sendo: 0 - Ausência total de lesões; 1 - Pequenas lesões cabeça de alfinete de cor marrom e que não se desenvolvem; 3 - Lesões pequenas, na sua maioria pouco alongadas com pouco ou nenhuma esporulação; 4 - Poucas lesões típicas e esporulativas, com centro cinza caracterizada por algumas lesões abertas; 5 - Muitas lesões típicas e altamente esporulativas que podem estar isoladas ou coalescentes; 7- Lesões coalescentes e com mais de 50% da área foliar afetada; e 9 - Muitas lesões que coalescem e causando murcha e morte das folhas.

O experimento foi conduzido por duas vezes. Para a análise estatística, utilizou-se a média dos ensaios e os dados originais de severidade (notas) foram transformados em  $(\sqrt{x + 0,5})$ , sendo submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico ASSISTAT (SILVA & AZEVEDO, 2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Ensaio I – Influência de meios de cultura na produção de conídios de *P. grisea*.

Houve diferença significativa entre os tratamentos (**Figura 1**). Verificou-se que a maior produção de conídios de *P. grisea* foi proporcionada pelo meio de cultura a base de aveia, produzindo 202,5 mil conídios/ml. Se destacaram também o meio V8 (130 mil conídios/ml) e farelo de arroz (129,5 mil conídios/ml) que não se diferiram estatisticamente. Resultado semelhante foi obtido por Cruz & Prestes (2007) quando testaram diferentes meios de cultura na esporulação de *P. grisea*. Os tratamentos a base de AV, FA e V8 foram descritos por Prabhu & Filippi (2006) como sendo considerados adequados para a produção de conídios de *P. grisea*. Com relação a outros patógenos, Brunelli *et al.* (2006) trabalhando com o efeito de diferentes meios de cultura na esporulação de *Cercospora zea-maydis*, agente causal da cercosporiose do milho constatou que o meio V8 induziu a produção de uma grande quantidade de conidióforos. Também verificaram neste estudo que os meios BDA e aveia estimularam a formação de conidióforos, porém em quantidade bem inferior ao V8. Segundo Lukens (1963) e Strandberg (1987) citados por Brunelli *et al.* (2006), o meio V8 apresenta grande riqueza nutricional e de carboidratos complexos, onde estas características são capazes de induzir a reprodução de muitos fungos. O meio V8 é relatado como bom indutor de esporulação em várias espécies de fungos também considerados de difícil esporulação como, por exemplo, do gênero *Cercospora* (HANADA *et al.*, 2002; QUEIROZ & MENEZES, 1993). Sabe-se que, alguns meios de cultura são mais favoráveis para a esporulação de fungos que outros, por apresentarem carboidratos complexos que são menos adequados para a produção de hifas vegetativas, porém mais adequados à produção de esporos (DINGRA & SINCLAIR, 1995). Andrade *et al.* (2007), trabalhando com *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose no mamoeiro verificou que diferentes meios de cultura além de ocasionar diferenças quanto ao crescimento e desenvolvimento das

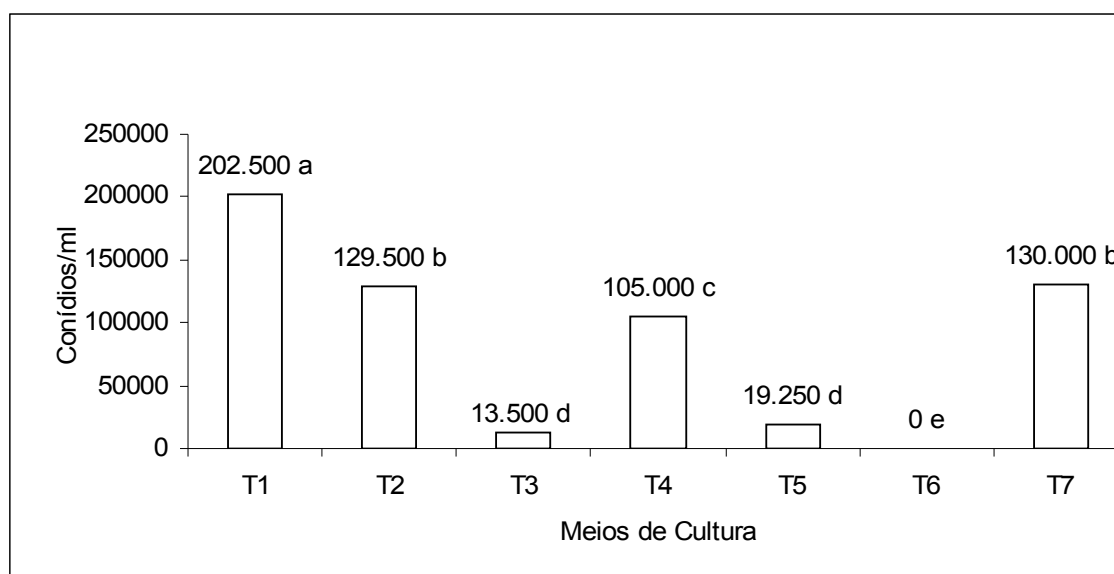


culturas podem influenciar na futura severidade do patógeno na cultura inoculada.

Em relação ao meio BDA não comercial, embora não seja este o mais produtivo entre os tratamentos avaliados, justifica-se o seu uso em função da praticidade do seu preparo e obtenção de um número razoável de conídios.

Os meios de culturas a base de farinha de trigo e milho, não produziram conídios em quantidade satisfatória. Ao comparar os tratamentos com meios de cultura a base de aveia, farinha de trigo e milho, verificou-se que onde se utilizou farinha de trigo e milho formou-se apenas 6,7 e 9,5% dos esporos produzidos em relação ao meio aveia.

Dos sete substratos analisados, somente o meio BDA comercial não induziu formação de conídios. Este fato pode estar relacionado com a presença de alguma substância na composição do produto que estaria atuando como inibidor da conidiogênese.



**Figura 1:** Influência de diferentes meios de cultura na produção de conídios de *P. grisea*. T1 - Aveia (Av); T2 - Farelo de Arroz (FA); T3 - Farinha de trigo (FT); T4 - BDA; T5 - Milharina (Mi); T6 - BDA (comercial); e T7 - V8 (suco concentrado de tomate).

- Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; CV= 8,71%.

Pôde-se verificar através de análise visual, grande variação das características culturais fúngicas em relação aos meios de culturas testados. As colorações variaram de cinza escuro ao branco e a massa miceliana de ralas a cotonosas. Resultado semelhante foi descrito por Ellis (1971),

quanto as características culturais do patógeno. De acordo com Prabhu & Filippi (2006), as culturas podem apresentar hifas grossas e de aspecto algodãoceas.

Verificou-se que diferentes meios de cultura podem induzir a conidiogênese de *P. grisea*. No entanto, o desenvolvimento de determinada pesquisa, como por exemplo, na identificação de patótipos de *M. grisea*, apenas um meio de cultura deve ser utilizado. Segundo Prabhu & Filippi, (2006), o método deve ser padronizado com a finalidade de se evitar falhas. Santoro *et al.* (2007), pesquisando a interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos, verificaram que existe diferença na virulência entre conídios produzidos em diferentes meios de cultura. Também o uso de meios naturais pode evitar a seleção de mutantes nutricionais menos patogênicos muito comuns quando se utiliza meios artificiais (PEREIRA & EIRA, 1999)

## **Ensaio II – Influência da concentração de conídios na severidade da brusone em diferentes cultivares de arroz irrigado.**

Os resultados obtidos através da inoculação de três concentrações de conídios de *P. grisea*, em diferentes cultivares de arroz irrigado, mostraram que existe correlação positiva entre a concentração de conídios e a severidade da brusone nas folhas. Para as cultivares suscetíveis Epagri 109 e Metica 1 o coeficiente de correlação foi  $R=0,7037$ . Para a BRS Jaçanã, cultivar que se mostrou resistente, o coeficiente de correlação foi  $R=0,3602$ . A maior concentração de conídios proporcionou maior severidade da brusone nas folhas, nas três cultivares inoculadas, apresentando diferença estatística significativa nas cultivares Metica 1 e BRS jaçanã (**Tabela 1**). As concentrações de  $3 \times 10^3$  e  $3 \times 10^4$  não apresentaram diferença estatística entre si. Estes resultados concordam com os obtidos por outros autores. Arendt (2006), testando diferentes concentrações de inóculo de *P.grisea* em trigo observou que a severidade do patógeno aumentou gradativamente conforme o aumento da concentração do inóculo. Araujo & Prabhu (2002), trabalhando com diferentes concentrações de inóculo em somaclones de arroz também verificaram aumento na severidade da brusone em função da crescente

concentração do inóculo. Este fato também já foi verificado em outros patossistemas. Silveira *et al.* (2004), trabalhando com *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, causador na mancha-aquosa do melão verificaram reação similar da doença em função da concentração do inóculo.

**Tabela 1:** Severidade de brusone nas folhas em função de três concentrações de esporos de *P. grisea* em três cultivares de arroz.

Cultivares	Concentração (esporos mL <sup>-1</sup> )		
	3x10 <sup>3</sup>	3x10 <sup>4</sup>	3x10 <sup>5</sup>
<b>Epagri 109</b>	4,6 aB	5,1 aB	7,0 aA
<b>Metica 1</b>	4,1 aB	4,6 aAB	4,9 bA
<b>BRS Jaçanã</b>	0,5 bB	1,0 bAB	1,3 cA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si de acordo com o teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; CV = 11,32%.

Entre as cultivares avaliadas a BRS Jaçanã foi a única que se mostrou resistente à brusone nas folhas para a raça inoculada (IA-1). Cutrim *et al.* (2007), testando a cultivar BRS Jaçanã no Viveiro Nacional de Brusone nos anos agrícolas de 2002/03 e 2003/04, mostrou que esta cultivar apresentou boa resistência à brusone nas folhas. Os autores comentaram que a resistência pode ser devido a um de seus genitores, o IRI 344, ser fonte de resistência a essa doença. Mesmo a cultivar sendo considerada resistente, o aumento da concentração do inóculo causou o aumento da severidade da doença. As cultivares Epagri 109 e Metica 1 foram amplamente plantadas no Estado do Tocantins e são consideradas suscetíveis a brusone. A cultivar Epagri 109 em todas as concentrações do inóculo mostrou-se mais suscetível do que a cv. Metica 1, apresentando maiores índices de severidade, chegando a obter nota 7 na maior concentração utilizada. Segundo Prabhu *et al* (2002), esta cultivar foi lançada em 1996 a partir do Estado de Santa Catarina. Apesar do seu elevado potencial produtivo e qualidade de grãos ainda é utilizada pelos produtores, mesmo com o alto grau de suscetibilidade apresentado. Metica 1 também mostrou-se suscetível em todas as concentrações utilizadas, cuja severidade variou de 4,1 a 4,9. Esta cultivar foi desenvolvida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), sendo introduzida no Brasil em 1981, pela Embrapa - de Arroz e Feijão (CNPAP). Quando foi lançada, em 1986, mostrou moderada suscetibilidade à brusone nas folhas e panículas e foi

recomendada para cultivo em condições irrigadas no Brasil (PRABHU & FERREIRA, 1991). Tal suscetibilidade aumentou ao longo dos anos, resultando em perdas significativas de produtividade. Mas por causa do seu potencial produtivo, e certa rusticidade permanece como uma das cultivares plantadas por alguns produtores (ARAUJO *et al.*, 2002).

## **CONCLUSÕES**

O meio de cultura a base de aveia foi o que apresentou melhor eficiência na produção de conídios de *P. grisea*.

O meio de cultura a base de BDA comercial não induziu a esporulação.

Existe grande influência do meio de cultura sobre a produção de conídios de *P. grisea*.

O aumento da concentração de conídios aumentou a severidade da brusone foliar em arroz.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES K. J. P. & FERNANDES J. M. C. Influencia da temperatura e da Umidade Relativa do Ar na Esporulação de *Magnaporthe grisea* em Trigo. **Fitopatologia Brasileira** 31:579-584. 2006

ARAUJO, L. G. & PRABHU, A. S. Somaclones da cultivar de arroz aromático Basmati-370 resistentes à brusone. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1127-1135, ago. 2002

ARAUJO, L. G. & PRABHU, A. S. **Indução de variabilidade na cultivar de arroz Metica-1 para resistência a *Pyricularia grisea***. Pesq. agropec. bras., , vol.37, no.12, p.1689-1695. 2002

ARENDDT, P. F. **Resistência de genótipos de trigo à brusone**. 2006.75p. Dissertação (Mestrado em agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

BRUNELLI, K.R.; FAZZA, A.C.; ATHAYDE SOBRINHO, C.; CAMARGO, L.E.A. Efeito do meio de cultura e do regime de luz na esporulação de *Cercospora zeaemaydis*. **Summa Phytopatologica**, Botucatu, v. 32, n.1, p. 92-94, 2006

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura. In: I Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale e do VII Seminário Técnico de Trigo, 2007, Londrina. I Reunião da Comissão Brasileira de pesquisa de trigo e triticale e do VII Seminário Técnico de trigo, 2007. Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do71\\_tc21-1.PDF](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do71_tc21-1.PDF)

CUTRIM, V.A.; RANGEL, P.H.N.; FONSECA, J.F.; CORDEIRO, A.C.C.; LOPES, A.M.; SANTIAGO, C.M. **BRS Jaçanã: Cultivar de arroz irrigado para a região tropical**. Comunicado técnico 140. ISSN 1678-961X. Santo Antônio de Goiás, GO Dezembro, 2007.

DIAS NETO JJ, SANTOS GR, SILVA LMA, RANGEL PHN, FERREIRA ME, CUNHA ACF, CANJÃO ER, CASTRO NETO MD. **Identificação de raças fisiológicas de *Pyricularia grisea* em arroz no Estado do Tocantins**. 41º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. IN: Fitopatologia – Novos Horizontes. Belo Horizonte – MG, 2008

DINGRA, O.; SINCLAIR, J.B. Basic Plant Pathology Methods. Boca Raton, CRC Press, Inc. 1995.434p.

ELLIS, M.B. Dematiaceous hyphomycetes. Kew Surrey, England: ommonwealth Mycological Institute/CAB, 1971. 608p

GALBIERI, R., URASHIMA, A.S. Caracterização, compatibilidade e ocorrência de reprodução sexual entre isolados de *Pyricularia grisea* de diferentes hospedeiros. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.1, p.22-28, 2008

HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R. Esporulação de *Mycosphaerella fijiensis* em diferentes meios de cultura. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.2, p.170-173, 2002.

LEUNG, H., BORROMEO, E.S., BERNARDO, M.A. & NOTTEGHEM, J.L. Genetic analysis of virulence in the blast fungus *Magnaporthe grisea*. **Phytopathology** 78:1227-1233. 1988.

MONTARROYOS, A.V.V., COELHO, R.S.B., FERRAZ, G. DE M.G., SANTOS, R. DOS, SANTOS, V.F. DOS, ANDRADE, P.P. DE. Efeitos de meio de cultura, fontes de carbono e nitrogênio, pH e regime luminoso no crescimento de *Mycosphaerella musicola*. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.1, p.86-89, 2007.

NUNES, C. D. M.; CARVALHO, F. I. F.; PIEROBOM, C. R. & OLIVEIRA, A. **Genética da Resistência de Cultivares de Arroz à Raça IA-1 de *Pyricularia grisea***. Fitopatol. Bras. 32(1), jan - fev 2007

PEREIRA, S.R.M. e EIRA, A.F. Metodologia para produção de *Metarhizium anisopliae* (metsch.) Sorokin em cultivo submerso: esporulação da biomassa, efeito da concentração de açúcar e custo do inoculante. *Ciência Rural*, v. 29, n. 3, 1999.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 388 p.

PRABHU, A.S., FILIPPI, M.C., ARAUJO, L.G. & FARIA, J.C. Genetic and phenotypic characterization of isolates of *Pyricularia grisea* from the rice cultivars Epagri 108 and 109 in the State of Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**, vol.27, no.6, p.566-573. 2002.

PRABHU, A. S.; FERREIRA, R. P. Avaliação e seleção no melhoramento de arroz visando resistência a brusone e mancha parda. In: REUNIÓN SOBRE MEJORAMIENTO DE ARROZ EN EL CONO SUR, 1989, Goiânia. **Trabajos...** Montevideu: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, p. 75-85. 1991.

QUEIROZ, F.M.; MENEZES, M. Efeito de meios de cultura e do regime de luz na esporulação de *Cercospora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, n.4, p.545-547, 1993.

SANTORO, P.H, NEVES, P.M.O.J., ALEXANDRE, T.M.; ALVES, L.F.A. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. **Pesq. agropec. bras.**, vol.42, no.4, p.483-489. 2007.

SILVA, F. A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN**

**AGRICULTURE**, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

SILVEIRA, E.B., MARIANO, R.L.R., MICHEREFF, S.J. & OLIVEIRA, S.M.A. Influência da temperatura, umidade, concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* e idade do fruto no desenvolvimento da mancha-aquosa em melão. **Fitopatologia Brasileira** v.29, n.1, p. 34-38. 2004.

SOAVE, J.; GALLI, F; KIMATI, H. Estudo do crescimento vegetativo e da esporulação de *Pyricularia oryzae* Cavara, em diferentes meios de cultura. *Summa Phytopathologica*, São Paulo, v.1, n.4, p.258-266, dez. 1975.

STANDARD evaluation system for rice. 2. ed. Los Baños: International Rice Research Institute, 1976.

VALENT, B. Plant disease: Underground life for rice foe. **Nature**. 431:516-517. 2004.

**CAPITULO II – INFLUÊNCIA DA IDADE DO MICÉLIO, NÚMERO DE REPICAGENS E DA COLORAÇÃO DAS CULTURAS NA PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE *Pyricularia grisea* EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.**



## RESUMO

Em função da dificuldade de se trabalhar com *M. grisea* devido a diversidade de fatores que podem influenciar no desenvolvimento do fungo foram realizados 3 experimentos em condições de laboratório. O Primeiro ensaio foi feito com o objetivo de verificar a idade do micélio na produção de conídios e foi instalado em DIC com 6 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos consistiram em culturas de *P. grisea* com diferentes idades. Utilizou-se culturas com 10, 14, 18, 22, 26 e 30 dias após a repicagem. No segundo ensaio foi estudado o efeito do número de repicagens na produção de conídios de *P. grisea*. O inóculo utilizado foi obtido por meio de isolamento de conídios em folhas de arroz com sintomas de brusone. Foram utilizados 5 tratamentos e 5 repetições em um DIC. Os tratamentos foram obtidos através de repicagens sucessivas em intervalos de 12 dias de idade da cultura original. No terceiro ensaio, estudou-se a influência da coloração das culturas na conidiogênese de *P. grisea*. O ensaio foi instalado em um DIC com 5 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos foram obtidos através da classificação das culturas de *P. grisea* quanto à coloração em negra; cinza escuro com estreitas bordas claras; cinza claro; centro cinza com extensas bordas brancas e branco. No primeiro ensaio, observou-se que a idade do micélio exerceu grande influência sobre a produção de conídios. As melhores épocas para esporulação foram aos 10 e 14 dias após a repicagem, havendo um aumento na produção de conídios entre estes intervalos e diminuição após estas épocas. No segundo ensaio, verificou-se que repicagens sucessivas de um isolado monospórico de *P. grisea* altera a quantidade de conídios produzidos. Existiu grande produção nas duas primeiras repicagens (1 e 2), diminuindo drasticamente nas repicagens sucessivas (3, 4 e 5). No terceiro ensaio, observou-se que a maior produção de conídios foi obtida nas culturas classificadas como sendo de coloração negra, seguida pelas culturas de centro cinza com extensas bordas brancas e cinza escuro com estreitas bordas brancas.

## ABSTRACT

Because of the difficulty of working with *M. grisea* regarding the diversity of factors that can affect the fungus development under laboratory conditions it was carried out three experiments under laboratory conditions. The first experiment aimed to verify the effect of mycelium age on conidia production. This experiment was installed in complete randomized design with six treatments and four replicates. Each treatment consisted of colonies with age varying from 10 to 30 days with intervals of four days among treatments (10, 14, 18, 22, 26 and 30 days after subculture). In the second experiment, the effect of the number of subcultures on the conidia production by *M. grisea* from the rice infected leaves was studied. The experimental design consisted of complete randomized design with five treatments and five replicates. The treatments consisted of successive subcultures (1, 2, 3, 4 and 5) in intervals of 12 days among subcultures. In the third experiment, the relation of culture colors and sporulation of *M. grisea* was studied. The experimental design consisted of complete randomized design with five treatments and five replicates. The treatments consisted of the following culture colors of *M. grisea*: black, dark gray with clearly narrow edge, clearly gray, gray with widener white edge and white. In the first experiment, the results showed that the mycelium age has more influenced in the conidia production. The best period for sporulation was on the days 10 and 14 after subculture, having the increasing on conidia production and a subsequently decreasing after these periods. In the second experiment, the results showed that the successive subcultures with a determined monosporic isolate of *M. grisea* caused alteration on the amount of produced conidia. On the first two subcultures (1 e 2) here was a big conidia production, which severely decreased on the successive subcultures (3, 4 e 5). In the third experiment, the results showed that the highest production of conidia was obtained on the cultures classified as black coloration followed by gray with widener white edge and dark gray with clearly narrow edge.

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.), planta que se adaptou aos mais variados ambientes (MACLEAN *et al.*, 2002), está atualmente entre as culturas mais plantadas e consumidas, no mundo (VAUGHAN *et al.*, 2005). O Brasil ocupa a 9ª posição no ranking mundial em uma área de 2,92 milhões de hectares e uma estimativa de produção calculada em 12,0 milhões de toneladas GCEA/IBGE (2008),

A cultura durante todo seu ciclo é afetada por doenças. Existe registros na literatura de mais de 80 doenças em diferentes países (EMBRAPA, 2005). A brusone é uma das mais importantes, pela sua ampla distribuição geográfica e capacidade de causar danos nas plantas (NUNES, *et al.*, 2007) e aos grandes prejuízos na produtividade e na qualidade dos grãos (RANGEL *et al.*, 1992).

O agente causal da brusone do arroz é o fungo *Magnaporthe grisea* (Barr) [anamorfo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.].

A brusone se desenvolve rapidamente quando existem condições adequadas. Todas as fases do ciclo da doença, desde a germinação dos conídios até o desenvolvimento de lesões, são influenciadas, em grande parte, pelos fatores climáticos. Dentre os fatores ambientais que podem afetar as relações patógeno-hospedeiro, a água e a temperatura são os mais importantes (REIS *et al.*, 1988). Estes fatores estão bem caracterizados para *M. grisea*. Para crescimento micelial em meio de cultura as temperaturas podem variar de 8 a 37°C, com ponto ótimo em torno 25 a 28°C e a exposição das culturas em luz contínua favorece a produção de conídios (PRABHU & FILIPPI, 2006).

Diversos são os fatores que podem influenciar no desenvolvimento do fungo em condições de laboratório. Algumas características tais como como idade do micélio, número de repicagens e coloração das culturas na esporulação devem ser estudados. O presente trabalho teve como objetivo estudar algumas características biológicas na produção de conídios de *P. grisea*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### **Ensaio I – Influência da idade do micélio na formação de conídios de *P. grisea*.**

O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos e 4 repetições, e conduzido por duas vezes. Os tratamentos corresponderam à idade da colônia no momento da indução da conidiogênese, os quais foram: T1 – colônias de 10 dias; T2 – colônias de 14 dias; T3 – colônias de 18 dias; T4 – colônias de 22 dias; T5 – colônias de 26 dias; T6 – colônias de 30 dias.

Foi utilizado o isolado monospórico de *P. grisea* pertencente à raça IA-1. O isolado foi repicado para placas de Petri contendo meio BDA (250g de batata, 20g dextrose, 15g Agar e 250mg de antibiótico [Ampicilina]), estas foram acondicionadas em câmara de crescimento (BOB) sob temperatura de 26°C. Aos 10, 14, 18, 22, 26 e 30 dias de crescimento das culturas, estas foram submetidas a um estresse.

Para o estresse as placas foram abertas em condições assépticas e o micélio superficial removido com auxílio de um bastão de aço estéril. Em seguida, as placas foram transferidas para câmara de crescimento com temperatura ajustada para 25°C permanecendo cobertas por pano crepe sob luz fluorescente contínua por 48 horas.

Para avaliação, cada placa foi lavada com 20ml de água destilada estéril e realizada raspagem com o auxílio de um pincel de cerdas macias para desprendimento dos conídios dos conidióforos. A suspensão foi filtrada em gaze e os conídios quantificados em câmara de Neubauer.

Para análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT (SILVA & AZEVEDO, 2006).

## **Ensaio II – Influência do número de repicagens na produção de conídios de *P. grisea*.**

O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 5 tratamentos e 5 repetições. Cada um dos tratamentos foi composto de cinco placas de Petri de 90 mm de diâmetro. O experimento foi repetido duas vezes. Foram utilizados os seguintes tratamentos: T1 – Esporulação da cultura original, obtida de conídio coletado da folha; T2 – Esporulação obtida a partir da primeira repicagem da cultura original; T3 – Esporulação obtida a partir da segunda repicagem da cultura; T4 – Esporulação obtida a partir da terceira repicagem; T5 – Esporulação obtida a partir da quarta repicagem do micélio da cultura original.

Para obtenção do primeiro tratamento (T1), uma amostra de folha coletada no Município de Formoso do Araguaia, no Projeto Rio Formoso foi retirada do refrigerador e em seguida recortada, sendo utilizados apenas fragmentos de folhas com lesões típicas de brusone. Estes fragmentos, sem assepsia, foram então colocados em uma câmara úmida e câmara de crescimento (B.O.D.), com temperatura ajustada para 25°C por 24 horas, visando possibilitar a esporulação do fungo nas lesões. Com o auxílio de uma lupa e uma agulha de ponta fina realizou-se a transferência dos conídios de *P. grisea* das lesões esporuladas para placas de Petri, contendo meio de cultura Agar-água (20g de Agar para 1,0L de água) autoclavado (foram preparadas cinco placas com meio Agar-água, sendo para cada uma transferidos conídios procedentes de uma única lesão). Após a transferência dos conídios as placas foram vedadas com plástico PVC, identificadas e colocadas em câmara de crescimento (B.O.D.) com temperatura ajustada para 25°C por 48 horas. Destes isolados obtidos, apenas um foi selecionado para ser utilizado no ensaio. Posteriormente, sobre um microscópio estereoscópico com o auxílio de um bisturi 5 conídios germinados foram repicados e transferidos para placas com meio de cultura BDA (250g batata + 20g dextrose + 20g Agar por litro de água, acrescido de 250mg do antibiótico Ampicilina). As placas foram novamente encubadas em temperatura de 25°C e a partir deste momento se obteve a cultura original (T1).

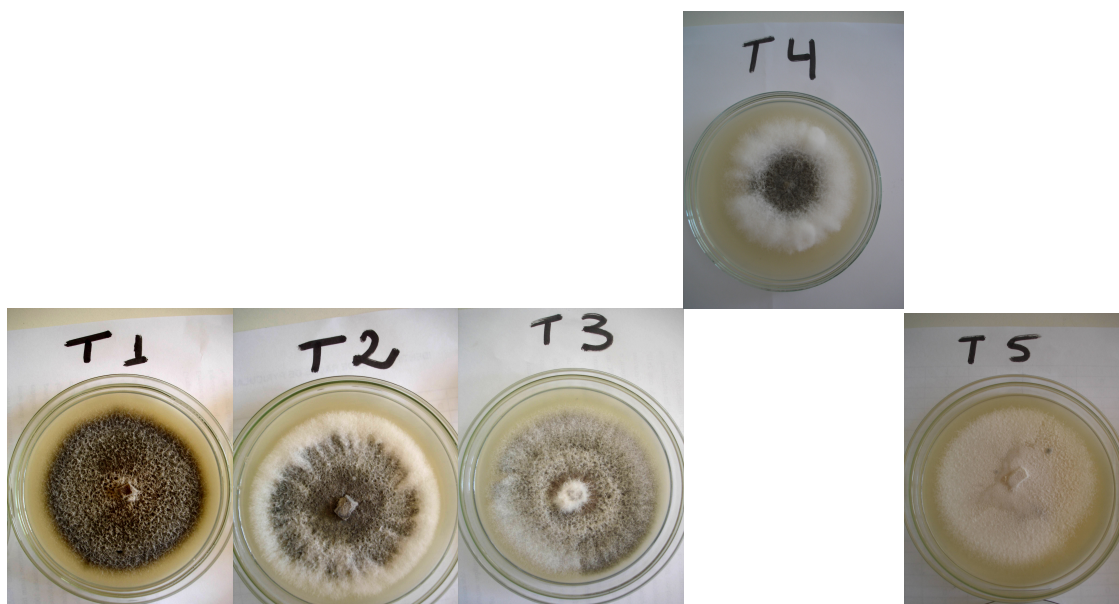
Para a indução da conidiogênese e avaliação da concentração de conídios utilizou-se a mesma metodologia descrita no ensaio I.

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico ASSISTAT (SILVA & AZEVEDO, 2006).

### **Ensaio III – Influência da coloração das culturas na produção de conídios de *P. grisea*.**

O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 5 tratamentos e 5 repetições. Foi utilizado meio BDA para o desenvolvimento das culturas.

Os tratamentos se referiam aos padrões de coloração do micélio dos isolados monospóricos. Foram utilizados vinte e cinco isolados monospóricos os quais foram agrupados em cinco categorias conforme a coloração do micélio: Negra (T1), Cinza escuro com estreitas bordas claras (T2), Cinza Claro (T3), Centro Cinza com extensas bordas Brancas (T4) e branco (T5), conforme apresentado na **Figura 1**.



**Figura 1:** Categorias de coloração do micélio de *M. grisea* em meio BDA: Negra (T1), Cinza escuro com estreitas bordas claras (T2), Cinza Claro (T3), Centro Cinza com extensas bordas Brancas (T4) e branco (T5).

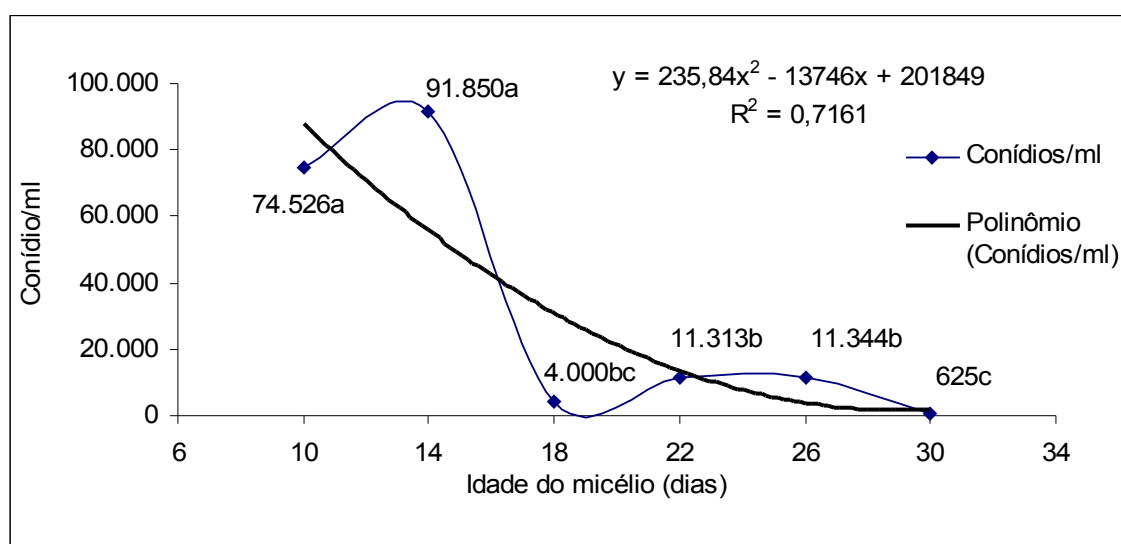
Após o agrupamento dos isolados monospóricos nas suas respectivas categorias, estes foram encubados em câmara de crescimento (B.O.D.) sob

temperatura de 25°C, no escuro por 14 dias. Para indução da esporulação, quantificação e análise estatística dos dados foram empregadas as metodologias descritas anteriormente no ensaio I.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Ensaio I – Influência da idade do micélio na formação de conídios de *P. grisea*.

Os dados obtidos mostram que a idade do micélio exerceu influência sobre a produção de conídios em culturas de *P. grisea*. As melhores épocas para esporulação ocorreram aos 10 e 14 dias após a repicagem, apresentando respectivamente 74.526 e 91.850 mil conídios/ml (Figura 2). O período ótimo para produção de conídios ocorreu aos quatorze dias após a repicagem. Cruz & Prestes (2007), avaliando a esporulação de *M. grisea* em meio BDA obtiveram quantidade similar aos 10 dias de idade do micélio. Prabhu & Filippi (2006) comentaram que a idade para esporulação das culturas ocorreu, em geral, de oito a 10 dias de idade em meio aveia.



**Figura 2:** Influência da idade do micélio na formação de conídios de *P. grisea*.

- Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV= 13,87%.

A produção de conídios caiu significativamente em culturas com idade superior a 14 dias, ocorrendo, aos 18 dias diminuição de 95% da capacidade de esporular. Este fato pode estar relacionado ao envelhecimento das culturas e conseqüentemente perda de vigor dos conidióforos influenciado pelo esgotamento nutricional do meio de cultura. Aparecido *et al.* (2007) relatou que a esporulação de fungos fitopatogênicos em meio de cultura também pode ser diminuída devido ao consumo do meio de cultura e/ou ao acúmulo de metabólitos excretados durante o desenvolvimento do microrganismo no substrato.

Houve pequeno aumento na produção de conídios no período compreendido entre 18 e 26 dias. Este fato pode estar relacionado com a formação de novos setores nas culturas. Segundo Prabhu & Filippi (2006), estes setores ou saltações ocorrem comumente e são formados durante o estabelecimento de isolados monospóricos de *M. grisea*. Os mesmos autores comentaram ainda que as formações destes setores não estão bem esclarecidos, porém, tem sido atribuída em parte a dissociação de heterocarióticos e que os setores formados de um isolado monospórico, ao serem inoculados em plantas de arroz, causam reações de resistência e de suscetibilidade diferentes da colônia principal. Castro *et al.* (2006), trabalhando com *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli*, causador de antracnose em feijoeiro comum, observaram formação de setores após 30 dias de desenvolvimento das culturas, havendo formação espontânea de ascósporos nestes locais.

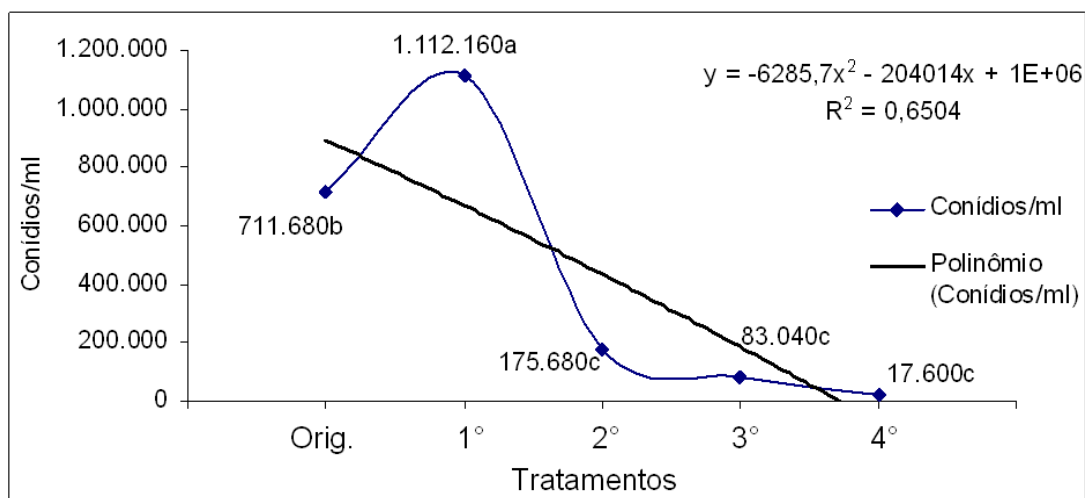
## **Ensaio II – Influência do número de repicagens na produção de conídios de *P. grisea*.**

Repicagens sucessivas em colônias de *P. grisea*, podem causar alterações na quantidade de conídios produzidos (**Figura 3**). As melhores conidiogêneses foram produzidas na cultura original e na primeira repicagem da cultura, sendo a primeira repicagem superior à cultura original em 400 mil conídios/ml, havendo diferença estatística significativa entre as duas. A grande esporulação ocorrida na primeira repicagem pode estar relacionada com a adaptação da colônia do fungo ao meio de cultura. Após a primeira repicagem,



houve uma grande redução na capacidade de esporulação *in vitro* das Culturas. Após a segunda repicagem, a esporulação do fungo foi diminuída.

Perdas da capacidade de esporulação e de infecção de alguns patógenos são relatadas por diversos autores. Camargo Junior (2004), trabalhando com *Glomerella cingulata*, causador da antracnose em feijoeiro comum, verificou que a produção exuberante de peritécios em grandes aglomerados só aconteceu nas primeiras placas isoladas, e que repicagens sucessivas do isolamento inicial foram perdendo a capacidade de formação de estruturas reprodutivas tanto para os parentais como para as culturas monospóricas. Vechiato *et al.* (2003), trabalhando com *Diaporthe* spp. e *Diaporthe phaseolorum* causador de queima da haste e da vagem e o cancro da haste da soja atribuíram a baixa virulência à perda de patogenicidade devido ao procedimento de repicagens sucessivas durante o período de manutenção do fungo em tubos contendo meio de BDA. Ignoffo *et al.* (1982) atribuiu à perda da capacidade esporulativa e infectiva de fungos entomopatogênicos a repicagens sucessivas em meio de cultura sintético.



**Figura 3:** Influência do número de repicagens na produção de conídios de *M. grisea* em meio BDA.

- Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV= 27,6%

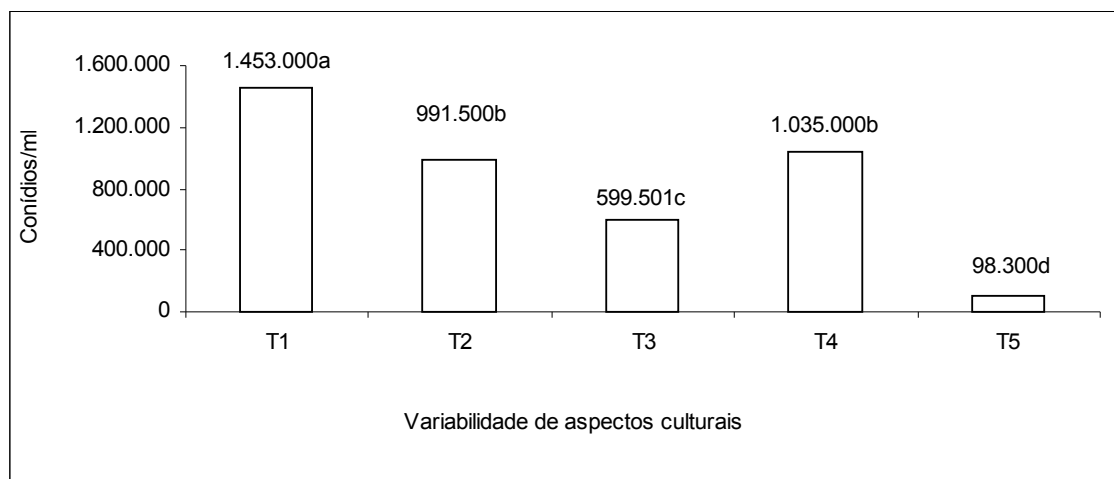
Para diversos autores as repicagens periódicas além de representar um trabalho exaustivo, também resultam em problemas tais como perda da viabilidade, mudanças fisiológicas e morfológicas (aspecto e coloração das culturas), decréscimo e/ou perda da capacidade de esporulação, declínio e, posteriormente, perda da patogenicidade (BUENO *et al.*, 2006; MEYER *et al.*,

2006; VECHIATO *et al.*, 2003; IGNOFFO *et al.*, 1982). Saltações e alterações morfológicas e/ou fisiológicas que podem ocorrer nas culturas, como resultado de repicagens periódicas. Essas alterações podem ser decorrentes da constante manipulação exigida pelo método de conservação através de repicagens sucessivas (APARECIDO *et al.* 2007). Deve-se ressaltar também que, normalmente, as amostras mantidas por repicagens periódicas são armazenadas, normalmente, à temperatura ambiente, estando expostas às alterações que possam vir a ocorrer. Tais alterações elevam a frequência de mutações e, como resultado, a cultura pode vir a ser perdida (APARECIDO & FIGUEIREDO, 1997). Para preservar as características de esporulação e patogenicidade, Figueiredo & Pimentel (1975) relataram que os microrganismos precisam ter atividade biológica diminuída, reduzindo assim, a possibilidade de ocorrerem modificações genéticas.

### **Ensaio III – Influência da coloração das culturas na produção de conídios de *P. grisea*.**

As diferentes características culturais influenciaram na esporulação de *P. grisea* (**Figura 4**). A maior produção de conídios foi obtida nas culturas classificadas como sendo de coloração negra, seguida pelas culturas de centro cinza com extensas bordas brancas e cinza escuro com estreitas bordas brancas. As culturas agrupadas em coloração cinza claro (T3) mesmo apresentando estatisticamente menos conídios que T1, T2 e T4, apresentaram esporulação satisfatória. O tratamento que apresentou menor esporulação foi o T5, agrupado (coloração branca). Estudos quanto à influência da coloração das culturas na esporulação de *M. grisea* são escassos, porém, são verificados estudos relacionados a variações morfológicas e de patogenicidade. Andrade *et al.* (2007) estudando a caracterização morfocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose no mamoeiro, agruparam as culturas em diferentes colorações e verificaram que todos os isolados foram patogênicos, independente da coloração, apresentando diferenças quanto à intensidade da virulência.

As culturas em meio de cultura foram muito variadas quanto à massa miceliana e cor do micélio, podendo-se verificar desde micélio ralo como algodonosos e culturas de cor branca a escuras dependendo do meio de cultivo e de variações ocorridas em diferentes isolados monospóricos (ELLIS, 1971).



**Figura 4:** Influência de aspectos culturais de isolados de *M. grisea* na produção de conídios em BDA. T1= Negra; T2=Cinza escuro com estreitas bordas brancas; T3=Cinza claro; T4= Centro cinza com extensas bordas brancas e T5= Branco.

- Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV = 16,39%

## CONCLUSÕES

Culturas de *P. grisea* com 14 dias, em meio BDA apresentou maior esporulação.

Para produção satisfatória de conídios de *P. grisea* podem ser realizadas até duas repicagens das culturas.

As culturas de coloração negra produziram maior número de conídios do que as demais.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, E. M.; UESUGI, C. H.; UENO, B.; FERREIRA, M.A.S.V. Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia brasileira**, Jan./Feb. 2007, vol.32, no.1, p.21-31.

APARECIDO, C.C.; HUANG,C.T.M.; PASSADOR, M.M.; FINATTI,D. ; FIGUEIREDO, M.B. Avaliação da viabilidade de culturas fúngicas preservadas pelos métodos de Castellani (água destilada) e liofilização. **Biológico**, São Paulo, v.69, n.1, p.5-8, jan./jun., 2007

APARECIDO, C.C. & FIGUEIREDO, M.B. Manutenção das características originais de diferentes fungos fitopatogênicos preservados por períodos superiores à vinte anos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.64, p. 59, 1997

BUENO, C. J., AMBROSIO, M. M. Q., SOUZA, N. L. Preservação de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Summa phytopathol.**, Jan./Mar. 2006, vol. 32, no.1, p.42-50.

CAMARGO JUNIOR, O. A. Identificação de recombinantes de *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli* por meio de marcadores RAPD. Dissertação (Mestrado), 60 p. Lavras : UFLA, 2004.

CASTRO, R. A., MENDES-COSTA, M. C., SOUZA, E. A. Dimorfismo de ascósporos em *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli*. **Fitopatologia brasileira**. vol.31, no.6, p.598-600, 2006.

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura. In: I Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale e do VII Seminário Técnico de Trigo, 2007, Londrina. I Reunião da Comissão Brasileira de pesquisa de trigo e triticale e do VII Seminário Técnico de trigo, 2007. Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do71\\_tc21-1.PDF](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do71_tc21-1.PDF)

DIAS NETO JJ, SANTOS GR, SILVA LMA, RANGEL PHN, FERREIRA ME, CUNHA ACF, CANJÃO ER, CASTRO NETO MD. **Identificação de raças**

**fisiológicas de *Pyricularia grisea* em arroz no Estado do Tocantins.** 41º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. IN: Fitopatologia – Novos Horizontes. Belo Horizonte – MG, 2008.

ELLIS, M.B. *Dematiaceous hyphomycetes*. Kew Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute/CAB, 1971. 608p.

EMBRAPA-EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil** Sistemas de Produção, 3 ISSN 1806-9207 Versão Eletrônica Nov./2005. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/sistemas/arroz/autores.htm>, Acesso em: 08/12/2006

FIGUEIREDO, M.B.; PIMENTEL, C.P.V. Métodos utilizados para conservação e fungos na micoteca da seção de micologia fitopatológica do instituto biológico. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.1, n.4, p. 299-302, 1975.

GCEA/IBGE, DPE, COAGRO - Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias – Instituto Brasileiro de geografia e Estatística - **Levantamento Sistemático da produção Agrícola**, Abril 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>. Acesso em: 06 Junho 2008.

IGNOFFO, C.M.; McINTOSH, A.H.; GARCIA, C.; KROHA, M.; JONSON, J.M. Effects of successive *in vitro* and *in vivo* passages on the virulence of the entomopathogenic fungus, *Nomurea rileyi*. **Entomophaga**, v.27, p.371-378, 1982

MACLEAN, J. L.; DAWE, D. C.; HARDY, B.; HETTER, G. P. Rice Almanac. 3ª ed. **Internacional Rice Research Institute**, Los Baños, Phillipines. 2002 p. 59-235.

MEYER, M.C., SILVA, J.C. DA, MAIA, G.L., BUENO, C.J., SOUZA, N.L. Mancha de irotécio em algodoeiro causada por *Myrothecium roridum* **Summa Phytopathologica**, v.32, n.4, p.390-393, 2006.

NUNES, C. D. M.; CARVALHO, F. I. F.; PIEROBOM, C. R. & OLIVEIRA, A. **Genética da Resistência de Cultivares de Arroz à Raça IA-1 de *Pyricularia grisea***. Fitopatol. Bras. 32(1), jan - fev 2007.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 388 p.

RANGEL, P.H.N.; ZIMMERMANN, F.J.P.; NEVES, P.C.F. El CNPAF Investiga: decrece en Brasil el rendimiento del arroz de riego. **Arroz en las Americas**, Cali, v.13, n.1, p.2-4, 1992.

REIS, E.M.; FERNANDEZ, J.M.C.; PICININI, E.C. **Estratégias para o controle de doenças do trigo**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1988. 50p. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 7).

SILVA, F. A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p.393-396.

SILVA L.M.A.; SANTOS, G.R. NETO DIAS J.J.; RANGEL, P.H.N.; FERREIRA, M.E.; CUNHA, A.C.F.; CANJÃO, E.R.; CASTRO NETO; M.D. **Identificação de raças de *Pyricularia grisea* em multilinhas e variedades compostas de arroz irrigado no Estado do Tocantins**. 41º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. IN: Fitopatologia – Novos Horizontes. Belo Horizonte – MG, 2008.

VAUGHAN DA, KADOWAKI K, KAGA A, TOMOOKA N. On the phylogeny and biogeography of the genus *Oryza*. **Breeding Science**. 55:113-122. 2005.

VECHIATO, M.H. ; MARINGONI<sup>2</sup>, A.C.; MARTINS, E.M.F.; KOHARA, E.Y. **Caracterização de isolados de *Diaporthe* spp. e *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis***. Arq. **Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.2, p.159-167, abr./jun., 2003

**CAPÍTULO III – IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS FISIOLÓGICAS DE  
*Magnaporthe grisea* NA REGIÃO TROPICAL DO BRASIL**

## RESUMO

Em função da necessidade de desenvolvimento e recomendação de cultivares de arroz resistentes a brusone, torna-se necessário o conhecimento da diversidade e prevalência das raças fisiológicas nas regiões onde as cultivares serão recomendadas. Foram realizadas coletas de plantas com sintomas típicos de brusone nas folhas e panículas em diversas regiões tropicais do Brasil. Das amostras coletadas foram produzidos e analisados 534 isolados monospóricos de *M. grisea*. A identificação das raças se deu através da avaliação das combinações de reações na série internacional de diferenciadoras após inoculação dos isolados monospóricos. Foram identificadas sessenta e uma raças nas regiões avaliadas. Estas raças estão presentes em oito dos nove grupos de patótipos. Os dez mais prevalentes foram compostas pelas raças IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 e IB-41 que representam respectivamente 20.6, 11.8, 10.86, 6.18, 5.43, 4.49, 4.31, 3.75, 3.18 e 3% do total de raças identificadas. Uma maior quantidade de raças foi verificada nos municípios de Lagoa da Confusão e em Formoso do Araguaia. Ao se analisar a prevalência das raças em cada um dos locais, pode se verificar uma mudança quanto à composição das dez raças prevalentes. De um total de 250 isolados monospóricos obtidos nas áreas experimentais de multilinhas e variedades compostas distribuídos em fazendas localizadas nos municípios de Lagoa da Confusão e Formoso do Araguaia foram identificadas 45 raças fisiológicas. Também foram identificadas 37 raças procedentes de 284 isolados monospóricos originários de cultivares comerciais plantados em áreas do Tocantins (Lagoa da Confusão, Formoso do Araguaia e Dueré), Goiás (Luiz Alves) e Pará (Paragominas). Os dados mostraram que existe alta variabilidade do fungo *M. grisea* nas regiões avaliadas, principalmente nas áreas orizícolas localizadas no Estado do Tocantins.



## ABSTRACT

Because of the need of developing and recommendation of rice resistant cultivars to blast, this study aimed to know about diversity and prevalence of physiological races in the areas where future cultivars will be recommended. Sampling of plants with symptoms of blast on the leaves and on the panicles were carried out in several areas of Central Brazil. It was produced and analyzed 534 monosporic isolates of *M. grisea* from the collected material. The races identification was assessed by evaluating the combination of the reactions of the collected isolates in the International Standard Differential (ISD) after inoculation of monosporic isolates. A total of 61 races was identified in the studied areas. These races were found in eight out of nine pathotypes groups. The most ten prevalent pathotypes consisted of the following races: IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 and IB-41, that presented 20.6, 11.8, 10.86, 6.18, 5.43, 4.49, 4.31, 3.75, 3.18 and 3%, respective, of the total of identified races. The higher number of races was found at Lagoa da Confusão and Formoso do Araguaia, respectively. When analyzed the prevalence of races on each studied areas, it was observed that from the 10 most prevalent races, each area presented a different race composition. A total of 45 physiological races were identified in a total of 250 monosporic isolates obtained in experimental areas of multilines and varieties mixture at Lagoa da Confusão and Formoso do Araguaia. In the areas planted with commercial rice cultivars, a total of 37 races were identified in 284 monosporic isolates collected at Tocantins state (Lagoa da Confusão, Formoso do Araguaia and Dueré), state of Goiás (Luiz Alves) and state of Pará (Paragominas). The overall results showed that there is a high variability of the fungus *M. grisea* in the evaluated areas, mainly in the rice farms located at the state of Tocantins.

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) está entre as culturas mais plantadas e consumidas no mundo, é a base da nutrição da maior parte da população mundial (VAUGHAN *et al.*, 2005). Segundo GCEA/IBGE (2008), atualmente no Brasil, a cultura de arroz abrange uma área de 2,92 milhões de hectares e uma estimativa de produção calculada em 12,0 milhões de toneladas.

A planta do arroz apresenta ampla adaptabilidade às diferentes condições de solo e clima, porém, durante todo seu ciclo, é afetado por doenças que reduzem a produtividade e a qualidade dos grãos (BENSKOW, 2007), bem como a qualidade fisiológica e sanitária da semente.

Dentre as doenças do arroz, a brusone causada pelo fungo *Magnaporthe grisea*, anamorfo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., é uma das mais importantes pela sua ampla distribuição geográfica e capacidade de causar danos (NUNES *et al.*, 2007). A doença tem sido um desafio para os orizicultores, constitui-se um dos fatores limitantes da produtividade do arroz irrigado (várzeas tropicais) e de sequeiro (terras altas), no mundo e em todo o território brasileiro (IGARASHI *et al.*, 1986).

A severidade da brusone depende de uma série de condições relacionadas à resistência do hospedeiro, a presença de patótipos e a ocorrência de fatores ambientais favoráveis ou não à doença (BEDENDO, 1997). Os prejuízos são variáveis causando perdas significativas no rendimento, sendo que sob condições favoráveis as perdas podem chegar até 100% (EMBRAPA, 2004). A cada 1% de severidade nas folhas e panículas, as perdas de produtividade variaram de 2,7 a 1,5%, em cultivares de ciclo precoce e tardio, respectivamente (PRABHU *et al.*, 1989). Os fungicidas utilizados no

controle do patógeno não têm apresentado eficiência, além de encarecer o processo de produção (SANTOS *et al.*, 2003).

Na cultura do arroz, os programas de melhoramento têm criado diversas cultivares com resistência vertical, porém a vida útil das mesmas tem sido de apenas dois a três anos, pois novas raças do patógeno surgem capazes de quebrar essa resistência (SANTOS *et al.*, 2005). As causas foram atribuídas à mudança no padrão de freqüência de patótipos dentro da população do patógeno (LEVY *et al.*, 1993), a não detecção de uma raça patogênica durante o processo de seleção de uma linhagem (CORREA-VICTORIA & ZEIGLER, 1993) e à evolução do patógeno em resposta a pressão seletiva exercida pelo hospedeiro, uso de fungicidas específicos, ou ainda à migração de populações do patógeno de uma região a outra (LEUNG *et al.*, 1993). Outro fator que pode causar a quebra da resistência é o aumento da freqüência de patótipos inexpressivos.

Outras implicações seriam a exposição inadequada dos materiais à diversidade populacional do patógeno durante os programas de melhoramento. Segundo Filippi *et al.* (1999) a diversidade patogênica é geralmente alta em campos experimentais e nos locais de testes de seleção para melhoramento de cultivares para resistência e também a alta variabilidade do fungo causador da doença. O fungo é composto de patótipos, ou raças fisiológicas, com características de virulência distintas (CORREA-VICTORIA & ZEIGLER, 1993).

Para o desenvolvimento e recomendação de cultivares de arroz resistentes a brusone, é importante o conhecimento da diversidade e prevalência das raças fisiológicas nas regiões onde as cultivares serão recomendadas e selecionadas. Como a população do patógeno é altamente variável e dinâmica, faz-se necessário uma amostragem e identificação das raças prevalentes para que os genes empregados nas novas cultivares sejam eficazes na conferência de resistência às principais raças do patógeno. O presente trabalho teve como objetivo identificar as raças fisiológicas de *M. grisea* prevalentes em lavouras comerciais de arroz irrigado na região tropical do Brasil.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

As atividades de pesquisa para determinação da ocorrência das raças fisiológicas de *M. grisea* prevalentes em regiões tropicais do Brasil foram desenvolvidas entre Novembro de 2006 e Julho de 2008. O trabalho foi desenvolvido por meio de uma parceria entre UFT (Universidade Federal do Tocantins), EMBRAPA Arroz e Feijão e EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia.

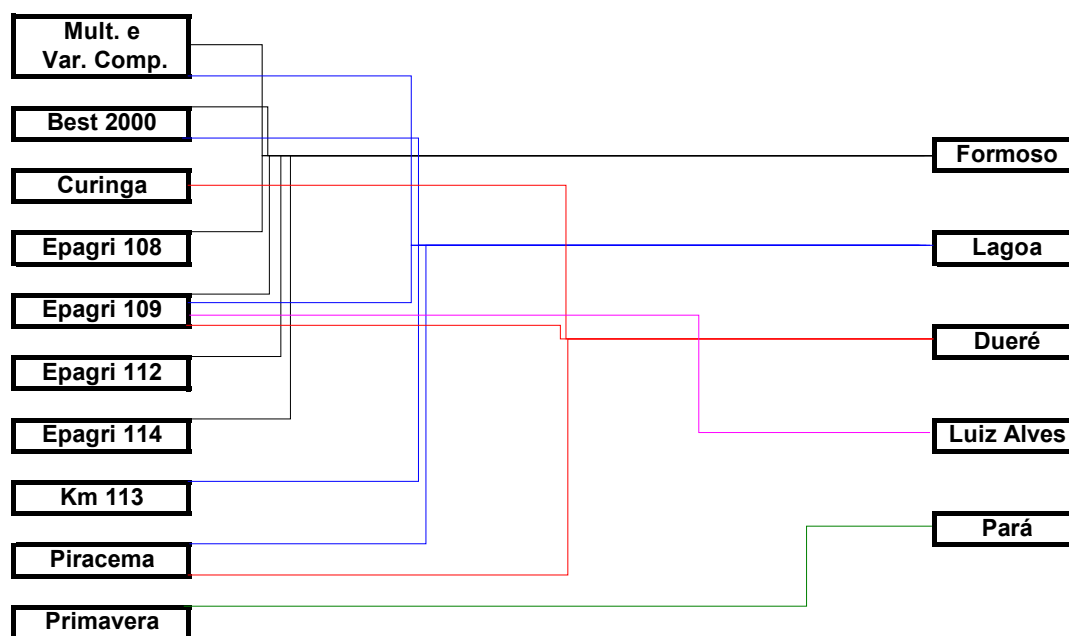
### Coleta de plantas infectadas

As coletas foram realizadas nos anos agrícolas 2006/2007 e 2007/2008 em pólos representativos de produção comercial de arroz irrigado em diversas lavouras no Estado do Tocantins, nos Municípios de Lagoa da Confusão, Dueré, Formoso do Araguaia (Projeto Rio formoso), Luiz Alves do Araguaia no Estado de Goiás (projeto “Luiz Alves”) e em Paragominas no Estado do Pará. As plantas doentes são provenientes de nove variedades comerciais: Best 2000, Curinga (terras altas), Epagri 108, Epagri 109, Epagri 112, Epagri 114, KM 113, Piracema e Primavera (terras altas). Também foram feitas coletas em ensaios de avaliação de Multilinhas e cultivares compostas de arroz irrigado (**TABELA 1**) e em duas cultivares de arroz de terras altas. A relação dos municípios onde se procedeu as coletas e das variedades coletadas em cada local são apresentados na **figura 1**.

**Tabela 1:** Ensaio com multilinhas e cultivares compostas de arroz irrigado no qual foram realizadas coletas de plantas de arroz com sintomas típicos de brusone, na safra 2007/2008.

Trat	Variedade	Composição
01	Formoso	CNA (10891, 10894, 10899, 10902, 10904)
02	Diamante	CNA (10905, 10906)
03	CNA8502	CNA (10910, 10914, 10918, 10923, 10926, 10927)
04	Formoso + Diamante	CNA (10891, 10899, 10905, 10906)
05	Formoso + CNA8502	CNA (10891, 10894, 10899, 10914, 10926, 10927)
06	Diamante + CNA8502	CNA (10905, 10906, 10910, 10914)
07	Formoso+Diamante+CNA8502	CNA (10891, 10899, 10905, 10906, 10914, 10926)
08	Formoso	Testemunha
09	Diamante	Testemunha
10	CNA8502	Testemunha
11	EPAGRI 109	Testemunha

As coletas foram realizadas em duas épocas distintas, uma na fase vegetativa, folhas infectadas, e outra na fase reprodutiva, em panículas. As coletas nas folhas foram realizadas em plantas com idade entre 20 a 50 dias, constituindo-se o período mais crítico para a brusone na fase vegetativa. Foram coletadas as folhas que apresentavam reação de susceptibilidade a brusone, com lesões esporulativas principalmente nas folhas mais novas para possibilitar o isolamento. Durante as coletas foram evitadas áreas tratadas com fungicidas, sendo realizado nestes locais após quinze dias da aplicação, quando ocorreu reincidência da doença ou passado o período residual do fungicida. Evitou-se coletar folhas mais velhas, pois estas normalmente apresentam lesões que teoricamente já esgotaram a produção de esporos, e/ou apresentam contaminações por outros organismos, tais como bactérias e fungos saprofitos dificultando o isolamento.



**Figura 1.** Diagrama esquemático da relação entre municípios e cultivares em cada região onde foram realizadas coletas de arroz com sintomas típicos de brusone, safras 2006/2007 e 2007/2008.

Todo material coletado recebeu identificação individual quanto ao município, propriedade, denominação da parcela na propriedade, cultivar plantada, data de plantio e de coleta. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em embalagens de papel e transportadas para laboratório, sendo secas à sombra em temperatura ambiente por 24 horas com a finalidade de

reduzir a umidade evitando-se contaminação e proliferação de microrganismos, além de evitar que o fungo esporulasse durante o armazenamento. Em seguida, as amostras foram armazenadas em refrigerador a 4°C até o isolamento.

Após a emissão das panículas, as parcelas onde se realizou a coleta de folhas foram localizadas com auxílio de GPS e amostras com sintomas típicos de brusone e com lesões esporulativas na panícula, ráquis e ramificações foram coletadas, sendo as mesmas identificadas, secas a sombra por 24 horas e armazenadas em refrigerador a 4°C até o isolamento.

### **Produção do inóculo (Isolados monospóricos)**

As atividades para obtenção dos isolados monospóricos foram realizadas no laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Tocantins, Campus Universitário de Gurupi. Cada uma das amostras coletadas deu origem a apenas um isolado monospórico, sendo produzidos um total 534 isolados. As amostras foram retiradas do refrigerador e em seguida recortadas, sendo utilizados apenas fragmentos de folhas e de panículas com lesões típicas de brusone. Estes fragmentos, sem assepsia, foram então colocados em placas de Petri estéreis contendo guardanapos de papel umedecido em água destilada estéril (câmara úmida). As placas foram acondicionadas em câmara de crescimento (B.O.D.), com temperatura de 25°C por 24 horas, para favorecer a esporulação do fungo nas lesões.

Com o auxílio de uma lupa ótica e utilizando uma agulha de ponta fina realizou-se a transferência dos conídios das lesões esporuladas para placas de Petri estéreis, contendo meio de cultura agar-água 2%, que foi espalhado sobre a superfície do meio com alça de platina. Após a transferência do esporo para o meio ágar-água, as placas foram vedadas com fita PVC, identificadas e colocadas em câmara incubadora tipo B.O.D. com temperatura ajustada para 25°C por 48 horas.

Posteriormente, com o auxílio de uma lupa e bisturi, os conídios germinados foram transferidos para meio de cultura BDA (250g batata + 20g dextrose + 20g agar por litro de água, acrescido de 250mg do antibiótico Ampicilina), encubados por 14 dias em temperatura de 25°C. Para preservação

dos isolados monospóricos estes foram transferidos para tubos de ensaios contendo meio de cultura BDA e encubados a temperatura de 25°C. Após o crescimento do fungo em toda a superfície do meio de cultura, os tubos foram armazenados em -18°C.

### Identificação de raças fisiológicas de *Magnaporthe grisea*

A identificação das raças fisiológicas de *M. grisea* foi realizada por meio da observação visual após a inoculação dos isolados monospóricos na Série Internacional de Diferenciadoras (SID) Quadro 1, (ATKINS *et al.*, 1967). Inicialmente, foram padronizados os métodos de inoculação, avaliação das plantas e as condições ambientais pelas quais as etapas da identificação das raças foram expostas. Segundo Prabhu & Filippi (2006), a padronização é importante, pois as reações estão sujeitas as variações quanto ao estado nutricional, idade das plantas na época de inoculação, densidade de plantio, condições microclimáticas durante o período de incubação, colonização do patógeno e posterior desenvolvimento das lesões.

A fase de identificação das raças foi composta basicamente por quatro etapas: a) Plantio das diferenciadoras, b) Multiplicação do inóculo, c) Inoculação do patógeno nas diferenciadoras e D) Avaliação das reações, sendo esta seguida da entrada dos dados na chave de identificação.

**Quadro 1.** Grupos, Série Internacional de Diferenciadoras de raças fisiológicas de *Magnaporthe grisea* e sua origem.

Grupo	Diferenciadora	Origem
A	Raminad Str-3	Filipinas
B	Zenith,	E.U.A.
C	NP-125	Índia
D	Usen,	China
E	Dular	Paquistão
F	Kanto 51	Japão
G	Sha-tiao-tsao	China
H	Caloro	E.U.A.

Fonte: Prabhu & Filippi, (2006), adaptado.

a) Plantio das diferenciadoras

As diferenciadoras foram semeadas em bandejas plásticas com dimensões de 38 x 28 x 7 cm, utilizando-se doze sementes por linha. Em cada bandeja foram semeadas as oito linhagens internacionais diferenciadoras. Foi utilizado para o plantio 3,5 litros de substrato comercial PLANTMAX, autoclavado a 120°C por 30 minutos antes do semeio. As bandejas com as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação climatizada com temperatura controlada para 25°C para crescimento das plântulas até o momento da inoculação aos 25 dias. Não foi realizada adubação de plantio, pois o substrato utilizado apresentou teores adequados de nutrientes (Tabela 2), mostrando-se suficiente para manutenção dos processos fisiológicos das plantas sem o aparecimento de sintomas de deficiência até o seu descarte. Aos quinze dias após a emergência das plântulas foi realizada adubação de cobertura com 3g de Uréia (45% N) por bandeja com a finalidade de predispor as plântulas ao ataque de *M. grisea*.

**Tabela 2.** Análise química: Ca, Mg, Al, H+Al, CTC (T), CTC efetiva (t) e SB em cmol/dm<sup>3</sup>, K e P em ppm, MO em %, pH em CaCl<sub>2</sub>.

Ca	Mg	Al	H+Al	T (pH7)	t	SB	K	P	MO	pH
Cmol/dm <sup>3</sup>						ppm		%	CaCl <sub>2</sub>	
16,4	10,1	0,24	10,1	38,4	28,5	28,3	709,5	362	10,7	5,2

#### b) Multiplicação do inóculo

A multiplicação do inóculo se deu simultaneamente ao desenvolvimento das diferenciadoras. Cada um dos isolados foi repicado sob condição asséptica com auxílio de um bisturi, para placas de Petri estéreis contendo meio BDA. No décimo segundo dia os isolados monospóricos foram submetidos ao estresse. Para isso as placas foram abertas em condições assépticas e o micélio superficial raspado com um bastão de aço estéril. Logo após, os isolados foram novamente acondicionadas em câmara de crescimento com temperatura ajustada para 25°C e as placas cobertas por um pano crepe e sob luz fluorescente contínua por 48 horas para esporulação abundante.

#### c) Inoculação do patógeno nas diferenciadoras



Após a esporulação, cada placa contendo o isolado monospórico foi lavada com 20ml de água destilada estéril e foi realizada raspagem com o auxílio de um pincel de cerdas macias para desprendimento dos micélios. Após a lavagem, a solução foi filtrada em gaze e os conídios foram quantificados em câmara de Neubauer. Para inoculação do patógeno a concentração da solução de esporos foi ajustada para  $3 \times 10^5$  conídios /ml. Foram inoculados 20ml da solução por bandeja com auxílio de um borrifador manual, sendo distribuída de maneira homogênea entre as oito diferenciadoras presentes em cada bandeja.

Imediatamente após a inoculação das diferenciadoras as bandejas foram colocadas por 24 horas sob condições de câmara úmida, com umidade relativa maior que 95% proporcionada por umidificador em ambiente fechado e escuro. Em seguida, as bandejas foram acomodadas em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e 70% de umidade relativa do ar por sete dias em fotoperíodo de 12 horas.

#### d) Avaliação das reações

A identificação das raças de *M. grisea* se deu através de análise visual das classes de reações em cada uma das oito diferenciadoras da SID. A avaliação foi realizada sete dias após a inoculação baseada na escala de notas de seis graus proposta por Leung et al. (1988) modificada, sendo adicionado a nota 4 de uma escala padronizada de 1 a 9 (STANDARD evaluation system for rice, 1976), (0, 1, 3, "4", 5, 7 e 9) conforme também sugerido por Prabhu & Filippi, (2006). A escala de sete graus utilizada permite diferenciar com clareza os tipos de infecção, sendo:

- 0 - Ausência total de lesões;
- 1 - Pequenas lesões cabeça de alfinete de cor marrom e que não se desenvolvem;
- 3 - Lesões pequenas, na sua maioria pouco alongadas com pouco ou nenhuma esporulação;
- 4 - Poucas lesões típicas e esporulativas, com centro cinza caracterizada por algumas lesões abertas;

- 5 - Muitas lesões típicas e altamente esporulativas que podem estar isoladas ou coalescentes;
- 7- Lesões coalescentes e com mais de 50% da área foliar afetada;
- 9 - Muitas lesões que coalescem, causando murcha e morte das folhas.

Foram avaliadas 12 plantas. A reação da planta foi considerada como resistente (R) quando recebeu nota de severidade menor ou igual a 3 e suscetível (S) quando a nota foi igual ou superior a 4. Durante a avaliação das reações as bandejas que apresentaram um total de plantas com infecção menor que 30% foram descartadas e o isolado inoculado novamente em outra bandeja com a SID.

Após a avaliação das reações nas diferenciadoras a identificação das raças de *M. grisea* foi baseado na chave de identificação de acordo com a tabela de raças (Anexo 1) proposta LING & OU (1969). Considerando-se que existe um total de 256 combinações possíveis de raças e que há dificuldade para leitura e caracterização, foi desenvolvido no Microsoft Office 2003 um programa para identificação de raças de *M. grisea* visando facilitar a identificação das raças obtidas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram constatadas sessenta e uma raças fisiológicas de *Magnaporthe grisea* nas regiões avaliadas. O estudo para determinação destas raças foi realizado em um total de 534 isolados monospóricos. Foram identificadas as seguintes raças: IA-1, IA-3, IA-9, IA-10, IA-13, IA-25, IA-33, IA-34, IA-35, IA-37, IA-41, IA-45, IA-57, IA-65, IA-73, IA-77, IA-81, IA-97, IA-101, IA-105, IA-109, IA-121, IB-1, IB-3, IB-5, IB-9, IB-17, IB-21, IB-26, IB-33, IB-34, IB-41, IB-49, IB-57, IB-58, IC-1, IC-2, IC-4, IC-9, IC-13, IC-17, ID-1, ID-2, ID-3, ID-4, ID-5, ID-6, ID-7, ID-9, ID-10, ID-13, ID-14, ID-15, IE-1, IE-2, IE-3, IF-1, IF-3, IF-4, IG-E e II-1. O grande número de raças encontrado na região vem confirmar a diversidade da virulência do patógeno causador da doença.

Segundo Correa-Victoria & Zeigler (1993) a população do fungo *M. grisea* é composto de patótipos ou raças fisiológicas, com características de virulência distintas. Os resultados obtidos concordam com Garrido (2001) que após analisar nove populações de *M. grisea*, verificou alta variabilidade genética em isolados coletados no Estado do Tocantins, os autores comentaram que estas populações possuem número de alelos médio em 13 locos STR que variam de 3,4 a 9,2 alelos por loco. Eles comentaram que em outras regiões do Brasil, como no Sul, esta variabilidade é muito menor como relatado por Brondani (2000).

A alta variabilidade e diversidade do patógeno, aliado ao ambiente favorável ao desenvolvimento da doença nas condições do Estado do Tocantins, fazem crer que provavelmente seja uma das razões para a quebra da resistência em um curto período de tempo. Geralmente com menos de três anos, fato este também corroborado por Santos *et al.* (2005).

Pode-se verificar (**Tabela 3**) que as raças identificadas estão distribuídas em oito dos nove grupos de raças possíveis para identificação através das diferenciadoras internacionais e conforme chave de identificação proposta por Ling & Ou, (1969).

Foram verificados os grupos IA, IB, IC, ID, IE, IF, IG e II, não sendo constatado o grupo IH em nenhum dos isolados avaliados. Trabalhos realizados em diversas regiões do país relatam a ocorrência de todos os nove grupos de raças de *M. grisea* no Brasil, tanto em cultivares de terras altas quanto em sistemas irrigados (RIBEIRO, 1980; URASHIMA, & ISOGAWA, 1990; MALAVOLTA & SOUZA, 1992; CASSETARI NETO, 1996; FILIPPI & PRABHU, 1996; MIURA *et al.*, 1998; CORNÉLIO, 2001; PRABHU & FILIPPI, 2001; PRABHU *et al.*, 2002; MACIEL *et al.*, 2004; PRABHU & FILIPPI, 2006). Porém, não há registros da ocorrência de todos os grupos de raças em uma única região.

Dentre os 534 monospóricos avaliados prevaleceram os grupos IA, IB, ID e IC que apresentaram, respectivamente, 22, 13, 12 e 06, o que corresponde a 36.1, 21.3, 19.7 e 9.8 % das sessenta e uma raças encontradas. Foram encontradas apenas 3 raças pertencentes aos grupos IE e IF, que corresponde a 4,9% do total de raças encontradas e apenas uma raça pertencente aos grupos IG e II, correspondendo a 1,6% cada um.

**Tabela 3.** Grupos da série internacional de diferenciadoras (SID), raças de *M. grisea* e número de raças por grupos identificadas na Região Central do Brasil, safras 2006/2007 e 2007/2008.

	Grupos da SID								
	IA	IB	IC	ID	IE	IF	IG	IH	II
	IA-1	IB-1	IC-1	ID-1	IE-1	IF-1	IG-1	-	II-1
	IA-3	IB-3	IC-2	ID-2	IE-2	IF-3	-	-	-
	IA-9	IB-5	IC-4	ID-3	IE-3	IF-4	-	-	-
<b>R</b>	IA-10	IB-9	IC-9	ID-4	-	-	-	-	-
<b>A</b>	IA-13	IB-17	IC-13	ID-5	-	-	-	-	-
<b>Ç</b>	IA-25	IB-21	IC-17	ID-6	-	-	-	-	-
<b>A</b>	IA-33	IB-26	-	ID-7	-	-	-	-	-
	IA-34	IB-33	-	ID-9	-	-	-	-	-
<b>F</b>	IA-35	IB-34	-	ID-10	-	-	-	-	-
<b>I</b>	IA-37	IB-41	-	ID-13	-	-	-	-	-
<b>S</b>	IA-41	IB-49	-	ID-14	-	-	-	-	-
<b>I</b>	IA-45	IB-57	-	ID-15	-	-	-	-	-
<b>O</b>	IA-57	IB-58	-	-	-	-	-	-	-
<b>L</b>	IA-65	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Ó</b>	IA-73	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>G</b>	IA-77	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>I</b>	IA-81	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>C</b>	IA-97	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>A</b>	IA-101	-	-	-	-	-	-	-	-
	IA-105	-	-	-	-	-	-	-	-
	IA-109	-	-	-	-	-	-	-	-
	IA-121	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>22 (128)</b>	<b>13 (64)</b>	<b>6 (32)</b>	<b>12 (16)</b>	<b>3 (8)</b>	<b>3 (4)</b>	<b>1 (2)</b>	<b>0 (1)</b>	<b>1 (1)</b>
	%								
	<b>36,1</b>	<b>21,3</b>	<b>9,8</b>	<b>19,7</b>	<b>4,9</b>	<b>4,9</b>	<b>1,6</b>	<b>0,0</b>	<b>1,6</b>

\*Os valores entre parênteses são os possíveis números de raças por grupo.

As raças em ordem de prevalência identificadas na Região Tropical do Brasil estão dispostas na **Tabela 4**. Pode-se verificar que as dez prevalentes são compostas pelas raças IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 e IB-41 que apresentam, respectivamente, 20.6, 11.8, 10.86, 6.18, 5.43, 4.49, 4.31, 3.75, 3.18 e 3% do total de raças identificadas. As dez raças mais prevalentes somam 73.6% do total de ocorrências na região. Os 26.4% restantes estão distribuídos em 51 raças com menor ocorrência nas regiões avaliadas. Dentre estas, oito delas ainda apresentam um número

razoável de ocorrência (13.11%) das quais as raças IB-33 representam 2.62%, IA-109 (1.87%), IA-97 e IE-1 (1.69%), IF-1 (1.5%), IA-73 e ID-13 1.31% e a IC-9 apresentando 1.12%. As demais raças apresentam ocorrência menor que 1%, totalizando as quarenta e três raças 13.29%.

**Tabela 4.** Raças fisiológicas de *M. grisea* identificadas na Região Tropical do Brasil em ordem de prevalência, nas safras 2006/2007 e 2007/2008.

PREV.	RAÇAS	%	PREV.	RAÇAS	%	PREV.	RAÇAS	%
1	IA-1	20,60	21	IB-17	0,75	43	IA-81	0,19
2	IC-1	11,80	22	IF-4	0,75	44	IA-101	0,19
3	ID-1	10,86	23	IA-77	0,56	45	IA-121	0,19
4	IA-65	6,18	24	IB-57	0,56	46	IB-3	0,19
5	ID-9	5,43	25	ID-14	0,56	47	IB-5	0,19
6	IB-1	4,49	26	IA-3	0,37	48	IB-21	0,19
7	IA-33	4,31	27	IB-9	0,37	49	IB-26	0,19
8	IA-41	3,75	28	IB-49	0,37	50	IB-34	0,19
9	IA-9	3,18	29	IC-13	0,37	51	IB-58	0,19
10	IB-41	3,00	30	IC-17	0,37	52	IC-2	0,19
	<b>Total</b>	<b>73,60</b>	31	ID-4	0,37	53	IC-4	0,19
11	IB-33	2,62	32	ID-5	0,37	54	ID-2	0,19
12	IA-109	1,87	33	ID-15	0,37	55	ID-3	0,19
13	IA-97	1,69	34	IE-2	0,37	56	ID-6	0,19
14	IE-1	1,69	35	II-1	0,37	57	ID-7	0,19
15	IF-1	1,50	36	IA-10	0,19	58	ID-10	0,19
16	IA-73	1,31	37	IA-25	0,19	59	IE-3	0,19
17	ID-13	1,31	38	IA-34	0,19	60	IF-3	0,19
18	IC-9	1,12	39	IA-35	0,19	61	IG-1	0,19
	<b>Total</b>	<b>13,11</b>	40	IA-37	0,19		<b>Total</b>	<b>13,29</b>
19	IA-13	0,75	41	IA-45	0,19			
20	IA-105	0,75	42	IA-57	0,19		<b>Total</b>	<b>100%</b>

De acordo com os dados obtidos, pode-se verificar o alto grau de variabilidade de *M. grisea* nas regiões avaliadas, bem como diferenças na prevalência de tais raças. Enquanto em dois anos de coletas (safras 2006/2007 e 2007/2008) foram encontradas 61 raças, Cornelio *et al.* (2003) relataram que em outras regiões como no Estado de São Paulo até 1979, Amaral *et al.* (1979) identificaram 16 raças de *M. grisea*, das quais foram predominantes: IE-8 e II-1. Em outro estudo realizado também em São Paulo no período de 1981-90, foram identificadas 20 raças do fungo, entre elas apenas duas raças, a IA-65 e II-1, haviam sido relatadas anteriormente (MALAVOLTA & SOUZA, 1992). Essas novas raças, somadas, totalizam 32 raças no Estado, no período de 1966-90. No Rio Grande do Sul, Ribeiro e Terres (1987) encontraram grande variabilidade, com prevalência das raças dos grupos IG e IA. Comparando-se

esses resultados com os obtidos no período de 1969-78 por Ribeiro (1980), verificou-se uma diminuição na frequência das raças do grupo IB e um aumento do grupo IA. Esses pesquisadores identificaram no período de 1979-85, 24 novas raças que, somadas às 36 já determinadas anteriormente por Ribeiro (1980), totalizaram 60 raças no período de 1969-85. Em outros Estados brasileiros, como Mato Grosso, Cassetari Neto (1996) identificou a presença das raças do grupo IB (IB-41, IB-61, IB-62). Em Santa Catarina, Miura *et al.* (1998) verificaram a prevalência de raças do grupo G e a ocorrência de raças do grupo D, C, E e I. Diversos trabalhos foram desenvolvidos no Estado de Goiás. Durante o período de 1986 a 1988 a frequência das raças nas cultivares melhoradas de arroz de terras altas foi determinada por Prabhu & Filippi (1989), constatando-se a presença de 27 raças fisiológicas. As raças do grupo IB, principalmente IB-1, IB-9, IB-13 e IB-41, foram as predominantes. Em outro trabalho, Prabhu *et al.* (1990) verificaram em 12 isolados de *M. grisea* a presença de cinco raças, sendo IB-9 a mais prevalente e as demais IB-1, IB-41, IC-10 e IA-9 ocorreram com menos frequência Filippi *et al.* (1999), estudando a compatibilidade diferencial de isolados de *M. grisea* em algumas cultivares de arroz irrigado, identificaram sete raças entre os 24 isolados testados, sendo predominante a raça IB-9, que foi detectada em oito das onze cultivares. Em estudos mais recentes Filippi & Prabhu (2001) identificaram, em arroz de terras altas, 16 raças de *M. grisea* sendo que, as predominantes foram a IB-9 e IB-41. Os autores verificaram ainda que os isolados da raça IB-9 exibiram padrão similar de virulência. Prabhu *et al.* (2001), avaliaram a diversidade de raças de 85 isolados de *M. grisea* coletados durante um período de cinco anos em 14 cultivares de arroz de terras altas e identificaram 11 patótipos, e desses, os predominantes foram IB-9, IB-1 e IB-41. Cornelio *et al.* (2003), em Minas Gerais, coletaram amostras de folhas de arroz com sintomas da brusone em 15 municípios representativos do Estado. Foram obtidos 138 isolados, destes, foram identificadas 14 raças (IA-1, IA-9, IA-10, IA-13, IA-65, IA-73, IB-1, IB-9, IB-15, IB-41, IB-64, IC-9, IC-14, IC-16). A raça predominante foi a IA-9 em 41,18% dos isolados, seguida pela IA-1 em 18,37% e IB-9 em 16,92%.

A diversidade da população de *M. grisea* também é muito variável em outros países. Segundo Prabhu & Filippi (2006), em seis Estados do Sul dos

Estados Unidos, somente 20 raças internacionais de *M. grisea* foram identificadas desde 1950. Xia *et al.* (2000) em Arkansas, de um total de 470 isolados coletados em 1992 em 18 campos comerciais de arroz em nove municípios foram selecionados 60 para identificação de raças, sendo identificadas apenas três raças (IB-49, IC-17 e IG-1). No estudo foram prevalentes as raças IB-49 e IC-17. Mekwatanakarn *et al.* (2000) trabalhando com um total de 527 isolados produzidos de materiais coletados em cinco locais nos anos 93 e 94 em lavouras da Tailândia identificaram 175 patótipos, sendo que destes apenas 21 representaram 53% da população do patógeno, sendo 160 patógenos considerados raros. Segundo os mesmos autores, a raridade de muitos patótipos indica que muitos outros podem não ter sido identificados. Os autores estimam que no local possam existir aproximadamente 473 patótipos. Noda *et al.* (1998) ao analisarem 129 isolados monospóricos de *M. grisea* no Vietnã identificou 12 grupos de raças patogênicas com base na série diferencial japonesa, apresentando duas prevalentes sendo constatadas em dez províncias da região. Dados mais antigos, datados de 1980 relatam registros de 18 raças no Japão, 27 raças em Taiwan, 31 na Índia e 250 na Filipinas (OU, 1980). Chen *et al.* (2001) avaliaram 792 isolados monospóricos de *M. grisea* coletados em 13 regiões produtoras de arroz na região central e sul da China, sendo identificados 48 patótipos para as seis linhas quase isogênicas e 82 patótipos para a série japonesa.

No presente trabalho, foram verificadas em Formoso do Araguaia, Lagoa da Confusão, Dueré, Luiz Alves e Paragominas 38, 42, 11, 11 e 4 raças fisiológicas, respectivamente. Das raças encontradas na região Central do Brasil, a maior quantidade foi verificada nos municípios de Lagoa da Confusão e em Formoso do Araguaia (**Tabela 5**). Estas regiões apresentam maior área plantada, além de se cultivar arroz irrigado a mais de 25 anos, como é o caso do Projeto Formoso que se localiza no município de Formoso do Araguaia – TO. Outro fato que pode explicar o maior número de raças nas duas regiões é o maior número de cultivares plantadas nos dois locais. Estes municípios apresentaram todas as dez raças prevalentes e também tiveram maior

freqüência de ocorrência das raças. Esses resultados poderão explicar a rápida quebra da resistência de cultivares de arroz nessas regiões.

Entre os motivos para se encontrar a grande diversidade de raças, pode ser atribuído ao fato de que os produtores trazem diversas variedades cujas sementes foram obtidas em outras regiões com prevalência de diferentes raças, aonde provavelmente o patógeno vem nas sementes. Verifica-se também nestes dois locais, maior ocorrência de raças raras (pouco freqüentes na região).

**Tabela 5.** Ocorrência de raças fisiológicas de *M. grisea* em municípios do estado do Tocantins (Formoso do Araguaia, Lagoa da Confusão e Dueré), Goiás (Luiz Alves) e Pará (Paragominas), nas safras 2006/2007 e 2007/2008.

Raça	For.	Lag.	Due.	L. A.	Par.	Raça	For.	Lag.	Due.	L. A.	Par.
IA-1	39	41	-	1	29	ID-5	1	1	-	-	-
IC-1	13	36	11	1	2	ID-15	-	2	-	-	-
ID-1	20	29	4	5	-	IE-2	-	-	2	-	-
IA-65	24	7	-	-	2	II-1	-	2	-	-	-
ID-9	5	20	3	1	-	IA-10	1	-	-	-	-
IB-1	3	14	4	3	-	IA-25	-	1	-	-	-
IA-33	12	9	1	1	-	IA-34	1	-	-	-	-
IA-41	9	9	-	1	1	IA-35	-	1	-	-	-
IA-9	12	5	-	-	-	IA-37	-	1	-	-	-
IB-41	10	2	-	4	-	IA-45	1	-	-	-	-
IB-33	10	4	-	-	-	IA-57	1	-	-	-	-
IA-109	6	4	-	-	-	IA-81	-	1	-	-	-
IA-97	7	2	-	-	-	IA-101	-	1	-	-	-
IE-1	5	3	1	-	-	IA-121	1	-	-	-	-
IF-1	-	7	1	-	-	IB-3	-	1	-	-	-
IA-73	4	3	-	-	-	IB-5	1	-	-	-	-
ID-13	1	4	-	2	-	IB-21	-	1	-	-	-
IC-9	2	4	-	-	-	IB-26	-	1	-	-	-
IA-13	2	2	-	-	-	IB-34	-	1	-	-	-
IA-105	1	3	-	-	-	IB-58	1	-	-	-	-
IB-17	3	-	-	1	-	IC-2	-	-	1	-	-
IF-4	-	4	-	-	-	IC-4	-	1	-	-	-
IA-77	3	-	-	-	-	ID-2	-	1	-	-	-
IB-57	1	2	-	-	-	ID-3	1	-	-	-	-
ID-14	1	1	1	-	-	ID-6	-	1	-	-	-
IA-3	2	-	-	-	-	ID-7	1	-	-	-	-
IB-9	2	-	-	-	-	ID-10	1	-	-	-	-
IB-49	1	-	-	1	-	IE-3	1	-	-	-	-
IC-13	-	2	-	-	-	IF-3	-	1	-	-	-
IC-17	-	2	-	-	-	IG-1	-	1	-	-	-
ID-4	-	-	2	-	-		210	238	31	21	34

Ao se analisar a prevalência das raças em cada um dos locais, pode se verificar uma mudança quanto à composição das dez raças prevalentes da região do Brasil Central compostas pelos patótipos IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9,



IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 e IB-41. Em Formoso do Araguaia foram prevalentes as raças IA-1, IA-65, ID-1, IC-1, IA-33, IA-9, IB-41, IB-33, IA-41 e IA-97, no município de Lagoa da Confusão as raças mantiveram basicamente a mesma composição, ficando a prevalência da IA-1, IC-1, ID-1, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-65, IF-1 e IA-9. Em Dueré, destacaram-se IC-1, ID-1, IB-1 e ID-9. Em Luiz Alves ocorreram: ID-1, IB-41 e IB-1. Por outro lado no estado do Pará, na região de Paragominas, foi prevalente apenas a raça IA-1. Estas diferenças podem estar relacionadas com as cultivares plantadas em cada local, bem como o manejo empregado em cada região. Também pode estar relacionado com as condições microclimáticas verificadas em cada local. Chen *et al.* (2001) verificaram grandes diferenças na estrutura populacional de patótipos de *M. grisea* entre diferentes locais coletados, mesmo em locais próximos. Segundo estes autores, existe uma distribuição desigual entre as regiões quanto a frequência das raças. Cornelio *et al.* (2003) também verificaram diferenças entre as raças de *M. grisea* em diferentes regiões no estado de Minas Gerais.

Na **Tabela 6**, estão dispostos os dados referentes as raças fisiológicas de *M. grisea* coletados em diferentes variedades plantadas nas áreas comerciais e ensaios de multilinhas e variedades compostas. De um total de 250 isolados monospóricos obtidos em plantas dos ensaios de multilinhas e variedades compostas foram identificadas 45 raças fisiológicas de *M. grisea*. Estas raças estão distribuídas em sete grupos, onde se destaca o grupo IA que apresentou 20 raças identificadas. Neste grupo, estão cinco raças prevalentes na região do Brasil central. A raça mais prevalente nas variedades compostas foi a IA-1, representando 24,8% dos 250 isolados testados. Destacaram-se também as raças IA-65, com 11,2% e IA-33, com 6,4%. Foram verificadas 11 raças do grupo IB, quatro do grupo IC, seis do ID, duas no grupo IE e apenas uma para os grupos IF e IG. Grande parte das raças identificadas nas cultivares compostas teve baixa ocorrência. Foram identificadas também 37 raças em 284 isolados monospóricos originários de cultivares comerciais plantados nas regiões analisadas. A distribuição destas raças foi mais homogênea dentro dos grupos. Foram identificadas 7 raças do grupo IA, oito raças para os grupos IB e ID, duas raças para os grupos IC e IE e uma raça

para o grupo IF. Entre cada uma das cultivares houve diferença quanto ao número de raças identificadas. Nas variedades Best, BRS Curinga; Epagri 108; Epagri 109; Epagri 112; Epagri 114; KM 113; Piracema e BRS Primavera foram identificadas 19, 8, 7, 17, 9, 9, 17, 18 e 4 raças, respectivamente, em um total de 41, 14, 10, 69, 18, 13, 41, 44 e 34 isolados de cada cultivar.

**Tabela 6.** Ocorrência de raças de *M. grisea* nas cultivares coletadas. 1 - Var. Comp.; 2- Best 2000, 3 - BRS Curinga; 4 - Epagri 108; 5 - Epagri 109; 6 - Epagri 112; 7 - Epagri 114; 8 - Km 113; 9 – Piracema e 10 – BRS Primavera.

Cultivares coletadas									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
IA-1	IA-1	IA-33	IA-65	IA-1	IA-41	IA-33	IA-1	IA-1	IA-1
IA-3	IA-9	IC-1	IA-9	IA-33	IB-1	IA-41	IA-25	IA-33	IA-41
IA-9	IA-33	ID-1	IB-1	IA-41	IB-33	IA-97	IA-33	IA-41	IA-65
IA-10	IA-41	ID-14	IC-1	IA-9	IB-41	IB-33	IA-41	IA-65	IC-1
IA-13	IA-73	ID-4	ID-1	IB-1	IB-9	IB-41	IA-81	IA-9	-
IA-33	IB-1	ID-9	ID-10	IB-17	IC-1	IB-49	IB-1	IB-1	-
IA-34	IB-33	IE-2	IE-1	IB-33	ID-1	IC-1	IB-41	IB-33	-
IA-35	IB-34	IF-1	-	IB-41	ID-13	ID-1	IC-1	IB-57	-
IA-37	IB-41	-	-	IB-49	ID-9	ID-9	IC-9	IC-1	-
IA-41	IB-57	-	-	IC-1	-	-	ID-1	IC-2	-
IA-45	IC-1	-	-	IC-17	-	-	ID-14	IC-9	-
IA-57	IC-4	-	-	IC-9	-	-	ID-5	ID-1	-
IA-65	ID-1	-	-	ID-1	-	-	ID-6	ID-13	-
IA-73	ID-13	-	-	ID-13	-	-	ID-9	ID-4	-
IA-77	ID-2	-	-	ID-14	-	-	IF-1	ID-9	-
IA-97	ID-9	-	-	ID-9	-	-	IF-4	IE-1	-
IA-101	IE-1	-	-	IF-4	-	-	II-1	IE-2	-
IA-105	IF-3	-	-	-	-	-	-	IF-1	-
IA-109	IF-4	-	-	-	-	-	-	-	-
IA-121	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-21	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-41	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-57	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IB-58	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IC-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IC-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IC-13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IC-17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ID-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ID-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ID-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ID-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ID-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ID-15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IE-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IE-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IF-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IG-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

As diferenças quanto ao número de raças em cada uma das cultivares, pode estar diretamente relacionada com a resistência e suscetibilidade de cada material. Outro fator que pode ter influenciado no número de raças encontrado é a diferença na quantidade de isolados entre os genótipos. Segundo Mekwatanakarn *et al.* (2000), através de uma maior amostragem, torna-se possível a verificação de raças mais raras em um determinado local. Para as raças IA-1 encontradas nas variedades comerciais, somente em Paragominas – PA, houve grande prevalência desta raça, ao contrário do ocorrido nos ensaios de variedades compostas. Neste local, a raça IA-1 representou 85% dos isolados analisados que foram originários da cultivar primavera. Cornelio *et al.* (2003) verificaram que no Estado de Minas gerais também na cultivar primavera houve grande incidência desta raça, representando 41,7% dos isolados encontrados, sendo observado também a presença da raça IA-65 na referida cultivar.

## CONCLUSÕES

Existe alta variabilidade de raças fisiológicas de *M. grisea* em arroz irrigado cultivado na Região Tropical do Brasil.

As dez raças mais prevalentes são IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 e IB-41.

Ocorreu diferença na frequência de aparecimento das raças nas regiões estudadas.

Existiu maior número de raças identificadas nos ensaios de multilinhas e variedades compostas do que em cultivares comerciais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, R. E. M.; SOUZA, D. M. de; MALVOLTA, V. M. A.; ISSA, E. Raças fisiológicas de *Pyricularia oryzae* cav. no Estado de São Paulo. **Biológico**, São Paulo, v. 45, n. 11/12, p. 205-208, nov./dez. 1979.

ATKINS, J. G.; ROBERT, A. L.; ADAIR, C. R.; GOTO, K.; KOZAKA, T.; ANAGITA, R.; YAMADA, M.; MATSUMOTO, S. An international set of rice varieties for differentiating races of *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 57, p. 297-301, 1967.

BEDENDO, I.P. Doenças do arroz. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.85-99.

BENSKOW, P. R. **O arroz na história. A formação da economia arrozeira do Rio Grande do Sul**. IRGA - Consumo de Arroz. Disponível em: <<http://200.96.107.174/coma-arroz/paginas/ahistoria.php>>. Acesso em: 06 fev. 2007.

BRONDANI, C. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites, construção de mapa genético de *Oryza glumelata* x *O. sativa* e análise de QTLs para caracteres de importância agrônômica**. Tese (Doutorado). Universidade de Brasília. 226p. 2000.

CASSETARI NETO, D. **Brusone (*Pyricularia grisea* Sacc) em arroz de sequeiro no estado de Mato Grosso: I – Identificação de raças fisiológicas, II – Influência do nitrogênio, fósforo e potássio na infecção do patógeno**. 1996. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1996.

CHEN, H. L., CHEN, B. T., ZHANG, D. P., XIE, Y. F., AND ZHANG, Q. Pathotypes of *Pyricularia grisea* in rice fields of central and southern China. **Plant Disease**. V.85, p.843-850. 2001.

CORNELIO, V. M. O. SOARES, A. A. BUENO FILHO, J. S. S. SOARES, P. C. Identificação de raças fisiológicas de *Pyricularia grisea* em arroz no estado de Minas Gerais. **Ciência Agrotécnica**. V.27, n.5, p.1016-1022, 2003.

CORNÉLIO, V.M. de O. **Identificação de raças de *Pyricularia grisea* Saac., no arroz de terras altas em Minas Gerais, incidência e severidade da**

**brusone e tipos de resistência.** 55 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2001.

CORREA-VICTORIA, F.J. & ZEIGLER, R. S. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast “hot spot” breeding site in eastern Colombia. *Plant Disease* V. 77, P.1029-1035. 1993.

EMBRAPA-Embrapa Arroz e Feijão Sistemas de Produção, **Cultivo do Arroz Irrigado no Estado do Tocantins.** N. 3 ISSN 1679-8869 Versão eletrônica Nov./2004. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoTocantins/index.htm>. Acesso em: 08/12/2006.

EMBRAPA-Embrapa Clima Temperado. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil** Sistemas de Produção, 3 ISSN 1806-9207 Versão Eletrônica Nov./2005. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/sistemas/arroz/autores.htm>, Acesso em: 08/12/2006

FILIPPI, M.C., PRABHU, A.S. Phenotypic virulence analysis of *Pyricularia grisea* isolates races, IB-1 and IB-9. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 4, p. 599-604, dez. 1996

FILIPPI, M. C.; PRABHU, A. S.; LEVY, M. Differential compatibility of *Pyricularia grisea* isolates with some Brazilian irrigated rice cultivars. **Fitopatologia Brasileira.** v. 24, n. 3, p. 447-450, Set. 1999.

FILIPPI, M. C.; PRABHU, A. S. Phenotypic virulence analysis of *Pyricularia grisea* isolates from Brazilian upland rice cultivars. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 27-35, Jan. 2001.

GARRIDO, L.R. **Identificação, desenvolvimento e uso de marcadores de regiões hipersensíveis do genoma de *Magnaphorte grisea* na análise da estrutura de populações do patógeno infectando populações de arroz (*Oryza sativa*).** Tese (Doutorado) Universidade de Brasília, Brasília DF, 2001.

GCEA/IBGE, DPE, COAGRO - Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias – Instituto Brasileiro de geografia e Estatística - **Levantamento Sistemático da produção Agrícola**, Abril 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>.> Acesso em: 06 Junho 2008.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Mapas interativos 2006.** Disponível em: <http://mapas.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 11/12/2006.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C.M. IGARASHI, L.C., KAZUMA, A.H. & LOPES, R.S. *Pyricularia* em trigo. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira** 11:351-352. 1986.

LEUNG, H., BORROMEO, E.S., BERNARDO, M.A. & NOTTEGHEM, J.L. Genetic analysis of virulence in the blast fungus *Magnaporthe grisea*. **Phytopathology** 78:1227-1233. 1988.

LEUNG, H., NELSON, R.J. & LEACH, J.E. Population structure of plant pathogenic fungi and bacteria. *Advances in Plant Pathology* 10:157-205. 1993.

LEVY, M., CORREA-VICTORIA, F.S., ZEIGLER, R.S., XU, S. & HAMER, J.E. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia. **Phytopathology** 83:1427-1433. 1993.

LING, K.C. & OU, S.H. Standardization of international race numbers of *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology** 59:339-342. 1969.

MACIEL, J.L.N., RODRIGUES, P.C.S., GOMES, P.A. & MORAES, M.G. Análise da variabilidade genética de duas cultivares de Raminad Str. 3 utilizadas como diferenciadoras de raças de *Pyricularia grisea*. **Fitopatologia Brasileira**, DF, v. 29, n. 6, p. 631-637. nov./dez. 2004.

MALAVOLTA, V. M. A.; SOUZA, T. M. W. Variabilidade de *Pyricularia oryzae* no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3/4, p. 287-290, jul./dez. 1992.

MEKWATANAKARN, P., KOSITRATANA, W., LEVY, M., ZEIGLER, R. S. Pathotype and avirulence gene diversity of *Pyricularia grisea* in Thailand as determined by rice lines near-isogenic for major resistance genes. *Plant Disease*, v. 84, n. 1, p.60-70. 2000.

MIURA, L.; THEODORO, G. F.; TSCHOEKE, P. H. Determinação de raças de *Pyricularia grisea* isoladas de arroz irrigado no Estado de Santa Catarina. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 24, n. 1, p. 113, jan./mar. 1998. Resumos.

NODA T. Van Du, p, Lai Van E.; Hoang D. D. Pathogenicity of *Pyricularia grisea* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains in Vietnam **Research Highlights**, 1998. Disponível em: <http://ss.jircas.affrc.go.jp/english/publication/highlights/1998/pdf/1998-09.pdf>. Acesso em: 15/09/2008

NUNES, C. D. M.; CARVALHO, F. I. F.; PIEROBOM, C. R. & OLIVEIRA, A. **Genética da Resistência de Cultivares de Arroz à Raça IA-1 de *Pyricularia grisea***. *Fitopatol. Bras.* 32(1), jan - fev 2007.

OU, S.H. Pathogen variability and host resistance in rice blast disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.18, p. 167-187, 1980.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 388 p.

PRABHU, A.S., FILIPPI, M.C., ARAUJO, L.G. & FARIA, J.C. Genetic and phenotypic characterization of isolates of *Pyricularia grisea* from the rice cultivars Epagri 108 and 109 in the state of Tocantins, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 6, p. 566-573. nov./dez. 2002.

PRABHU, A.S., FILIPPI, M.C., ARAUJO, L.G. & FARIA, J.C. Graus de resistência à brusone e produtividade de cultivares melhoradas de arroz de terras altas. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1453-1459, dez. 2001

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; CASTRO, N. Variabilidade patogênica entre isolados de *Pyricularia oryzae* provenientes de arroz, trigo e capins. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ, 4., 1990, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPACNPAF, 125 p. 1990.

PRABHU, A. S. & FILIPPI, M. C. As raças fisiológicas de *Pyricularia oryzae* virulentas nas cultivares melhoradas de arroz de sequeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 140, jul. 1989.

PRABHU, A. S.; FARIA, J. C.; ZIMMERMANN, F. J. P. Comparative yield loss estimates due to blast in some upland rice cultivars. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.14, n.3, p.227-232, 1989.

RIBEIRO, A. S.; TERRES, A. L. S. Variabilidade do fungo *Pyricularia oryzae* e sua relação com cultivares resistentes à brusone. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 4, dez. 1987.

RIBEIRO, A.S. Prevalência de raças de *Pyricularia oryzae* Cav. no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, **15**:175-182, 1980.

SANTOS, G. R. ; RANGEL, P. H. N. ; SANTIAGO, C. M. ; LEÃO, F. F. ; MARRA, B. ; ALMEIDA JUNIOR, D. . Reação a doenças e caracteres agrônômicos de genótipos de arroz de várzeas no Estado do Tocantins. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 26, n. 1, p. 51-57, 2005.

SANTOS, G. R. ; KORNDORFER, Gaspar H ; REIS FILHO, J. C. D. ; PELÚZIO, J. M. . Adubação com silício: Influência sobre as principais doenças e sobre produtividade do arroz irrigado por inundação. **Revista CERES**, v. 50, n. 287, p. 1-8, 2003.

STANDARD evaluation system for rice. 2. ed. Los Baños: International Rice Research Institute, 1976.

URASHIMA, A.S. & ISOGAWA, Y. Identification of races of *Pyricularia oryzae* causing blast disease in cultivar IAC4440 in Paraíba Valley-S.P. **Summa Phytopathologica** 16:243-247. 1990.

VAUGHAN DA, KADOWAKI K, KAGA A, TOMOOKA N. On the phylogeny and biogeography of the genus *Oryza*. **Breeding Science**. 55:113-122. 2005.

XIA, J. Q., CORRELL, J. C., LEE, F. N., ROSS, W. J., RHOADS, D. D. Regional population diversity of *Pyricularia grisea* in Arkansas and the influence of host selections. **Plant Disease**, v. 84, n. 8, p84:877-884.2000.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Chave para identificação de raças fisiológicas de *Magnaporthe grisea* em arroz, conforme metodologia de Ling & Ou, (1969).

Grupo e raça	Reaç. Diferencial ABCDEFGH	Grupo e raça	Reaç. Diferencial ABCDEFGH	Grupo e raça	Reaç. Diferencial ABCDEFGH
IA-1	SSSSSSSS	IA-92	SRSRRSRR	IB-53	RSRRSRSS
IA-2	SSSSSSSR	IA-93	SRSRRRSS	IB-54	RSRRSRSR
IA-3	SSSSSSRS	IA-94	SRSRRRSR	IB-55	RSRRSRRS
IA-4	SSSSSSRR	IA-95	SRSRRRRS	IB-56	RSRRSRRR
IA-5	SSSSSRSS	IA-96	SRSRRRRR	IB-57	RSRRRSSS
IA-6	SSSSRSR	IA-97	SRRSSSSS	IB-58	RSRRRSSR
IA-7	SSSSRRS	IA-98	SRRSSSSR	IB-59	RSRRRSRS
IA-8	SSSSRRR	IA-99	SRRSSSRS	IB-60	RSRRRSRR
IA-9	SSSSRSSS	IA-100	SRRSSSRR	IB-61	RSRRRRSS
IA-10	SSSSRSSR	IA-101	SRRSSRSS	IB-62	RSRRRRSR
IA-11	SSSSRSRS	IA-102	SRRSSRSR	IB-63	RSRRRRRS
IA-12	SSSSRSRR	IA-103	SRRSSRRS	IB-64	RSRRRRRR
IA-13	SSSSRRSS	IA-104	SRRSSRRR		
IA-14	SSSSRRSR	IA-105	SRRSRSSS		
IA-15	SSSSRRRS	IA-106	SRRSRSSR	IC-1	RRSSSSSS
IA-16	SSSSRRRR	IA-107	SRRSRRS	IC-2	RRSSSSSR
IA-17	SSSRSSSS	IA-108	SRRSRSRR	IC-3	RRSSSSRS
IA-18	SSSRSSSR	IA-109	SRRSRRSS	IC-4	RRSSSSRR
IA-19	SSSRSSRS	IA-110	SRRSRRSR	IC-5	RRSSSRSS
IA-20	SSSRSSRR	IA-111	SRRSRRRS	IC-6	RRSSSRSR
IA-21	SSSRSRSS	IA-112	SRRSRRRR	IC-7	RRSSSRRS
IA-22	SSSRSRSR	IA-113	SRRRSSSS	IC-8	RRSSSRRR
IA-23	SSSRSRRS	IA-114	SRRRSSSR	IC-9	RRSSRSSS
IA-24	SSSRSRRR	IA-115	SRRRSSRS	IC-10	RRSSRSSR
IA-25	SSSRRSSS	IA-116	SRRRSSRR	IC-11	RRSSRSRS
IA-26	SSSRRSSR	IA-117	SRRRSRSS	IC-12	RRSSRSRR
IA-27	SSSRRSRS	IA-118	SRRRSRSR	IC-13	RRSSRRSS
IA-28	SSSRRSRR	IA-119	SRRRSRRS	IC-14	RRSSRRSR
IA-29	SSSRRRSS	IA-120	SRRRSRRR	IC-15	RRSSRRRS
IA-30	SSSRRRSR	IA-121	SRRRRSSS	IC-16	RRSSRRRR
IA-31	SSSRRRRS	IA-122	SRRRRSSR	IC-17	RRSRSSSS
IA-32	SSSRRRRR	IA-123	SRRRRRS	IC-18	RRSRSSSR
IA-33	SSRSSSSS	IA-124	SRRRRSRR	IC-19	RRSRSSRS
IA-34	SSRSSSSR	IA-125	SRRRRRSS	IC-20	RRSRSSRR
IA-35	SSRSSSRS	IA-126	SRRRRRSR	IC-21	RRSRSRSS
IA-36	SSRSSSRR	IA-127	SRRRRRRS	IC-22	RRSRSRSR
IA-37	SSRSSRSS	IA-128	SRRRRRRR	IC-23	RRSRSRRS



IA-38	SSRSSRSR			IC-24	RRSRRRR
IA-39	SSRSSRRS			IC-25	RRSRSSS
IA-40	SSRSSRRR	IB-1	RSSSSSSS	IC-26	RRSRSSR
IA-41	SSRSRSSS	IB-2	RSSSSSSR	IC-27	RRSRRSR
IA-42	SSRSRSSR	IB-3	RSSSSRSR	IC-28	RRSRRSR
IA-43	SSRSRSRS	IB-4	RSSSSRRR	IC-29	RRSRSSS
IA-44	SSRSRSRR	IB-5	RSSSSRSS	IC-30	RRSRRRS
IA-45	SSRSRRSS	IB-6	RSSSSRSR	IC-31	RRSRRRS
IA-46	SSRSRRSR	IB-7	RSSSSRRS	IC-32	RRSRRRR

Continua...

**Anexo 1. Continuação...**

Grupo e raça	Reaç. Diferencial	Grupo e raça	Reaç. Diferencial	Grupo e raça	Reaç. Diferencial
	ABCDEFGH		ABCDEFGH		ABCDEFGH
IA-47	SSRSRRRS	IB-8	RSSSSRRR	ID-1	RRRSSSSS
IA-48	SSRSRRRR	IB-9	RSSSRSSS	ID-2	RRRSSSSR
IA-49	SSRRSSSS	IB-10	RSSSRSSR	ID-3	RRRSSSRS
IA-50	SSRRSSSR	IB-11	RSSRSRSR	ID-4	RRRSSSRR
IA-51	SSRRSSRS	IB-12	RSSRSRRR	ID-5	RRRSSRSS
IA-52	SSRRSSRR	IB-13	RSSRRSSS	ID-6	RRRSSRSR
IA-53	SSRRSRSS	IB-14	RSSRRRSR	ID-7	RRRSSRRS
IA-54	SSRRSRSR	IB-15	RSSRRRRS	ID-8	RRRSSRRR
IA-55	SSRRSRRS	IB-16	RSSRRRRR	ID-9	RRRSRSSS
IA-56	SSRRSRRR	IB-17	RSSRSSSS	ID-10	RRRSRSSR
IA-57	SSRRRSSS	IB-18	RSSRSSSR	ID-11	RRRSRSRS
IA-58	SSRRRSSR	IB-19	RSSRSSRS	ID-12	RRRSRSRR
IA-59	SSRRRSRS	IB-20	RSSRSRRR	ID-13	RRRSRRSS
IA-60	SSRRRRRR	IB-21	RSSRSRSS	ID-14	RRRSRRSR
IA-61	SSRRRRSS	IB-22	RSSRSRSR	ID-15	RRRSRRRS
IA-62	SSRRRRSR	IB-23	RSSRSRRS	ID-16	RRRSRRRR
IA-63	SSRRRRRS	IB-24	RSSRSRRR		
IA-64	SSRRRRRR	IB-25	RSSRRSSS		
IA-65	SRSSSSSS	IB-26	RSSRRSSR	IE-1	RRRRSSSS
IA-66	SRSSSSSR	IB-27	RSSRRSRS	IE-2	RRRRSSSR
IA-67	SRSSSSRS	IB-28	RSSRRSRR	IE-3	RRRRSSRS
IA-68	SRSSSSRR	IB-29	RSSRRRSS	IE-4	RRRRSSRR
IA-69	SRSSSRSS	IB-30	RSSRRRSR	IE-5	RRRRSRSS
IA-70	SRSSSRSR	IB-31	RSSRRRRS	IE-6	RRRRSRSR
IA-71	SRSSSRRS	IB-32	RSSRRRRR	IE-7	RRRRSRRS
IA-72	SRSSSRRR	IB-33	RSRSSSSS	IE-8	RRRRSRRR
IA-73	SRSSRSSS	IB-34	RSRSSSSR		
IA-74	SRSSRSSR	IB-35	RSRSSSRS		
IA-75	SRSSRSRS	IB-36	RSRSSSRR	IF-1	RRRRRSSS
IA-76	SRSSRSRR	IB-37	RSRSSRSS	IF-2	RRRRRSSR
IA-77	SRSSRRSS	IB-38	RSRSSRSR	IF-3	RRRRRSRS
IA-78	SRSSRRSR	IB-39	RSRSSRRS	IF-4	RRRRRSRR
IA-79	SRSSRRRS	IB-40	RSRSSRRR		
IA-80	SRSSRRRR	IB-41	RSRSRSSS		
IA-81	SRSRSSSS	IB-42	RSRSRSSR	IG-1	RRRRRRSS
IA-82	SRSRSSSR	IB-43	RSRSRSRS	IG-2	RRRRRRSR
IA-83	SRSRSSRS	IB-44	RSRSRSRR		
IA-84	SRSRSSRR	IB-45	RSRSRRSS		
IA-85	SRSRSRSS	IB-46	RSRSRRSR	IH-1	RRRRRRRS
IA-86	SRSRRSR	IB-47	RSRSRRRS		

IA-87	SRSRSRRS	IB-48	RSRSRRRR		
IA-88	SRSRSRRR	IB-49	RSRRSSSS	II-1	RRRRRRRR
IA-89	SRSRRSSS	IB-50	RSRRSSSR		
IA-90	SRSRRSSR	IB-51	RSRRSSRS		
IA-91	SRSRRSRS	IB-52	RSRRSSRR		

Fonte: Ling & Ou, 1969. A – Raminad Str-3; B – Zenith; C – NP-125; D – Usen; E – Dular; F – Kanto 51; G – Sha-tiao-tsao; H – Caloro.

# Livros Grátis

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

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

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

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

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