

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE

**“INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO, TEMPERATURA E
CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Pyricularia grisea* NA OCORRÊNCIA
DA BRUSONE EM PLÂNTULAS DE TRIGO”**

WALESKA DEL PIETRO STORANI

ARARAS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE

**“INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO, TEMPERATURA E
CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Pyricularia grisea* NA OCORRÊNCIA
DA BRUSONE EM PLÂNTULAS DE TRIGO”**

WALESKA DEL PIETRO STORANI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Agricultura e Ambiente, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Agricultura e Ambiente.

ORIENTADOR: Prof. Dr. ALFREDO SEITI URASHIMA

ARARAS
2013

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S884ip

Storani, Waleska Del Pietro.

Influência do período de molhamento, temperatura e concentração de inóculo de *Pyricularia grisea* na ocorrência da brusone em plântulas de trigo / Waleska Del Pietro Storani. -- São Carlos : UFSCar, 2013.

65 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2013.

1. Plantas - resistência a doenças e pragas. 2. *Magnaporthe grisea*. 3. Trigo. 4. Concentração de inóculo. 5. Infecção. I. Título.

CDD: 632.3 (20^a)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DE

WALESKA DEL PIETRO STORANI

APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA
E AMBIENTE, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM **26 de**
junho de 2013.

BANCA EXAMINADORA:



PROF. DR. ALFREDO SEIITI URASHIMA

ORIENTADOR

DBPVA/CCA/USFSCAR



PROF. DR. CÉSAR JUNIOR BUENO

APTA/INSTITUTO BIOLÓGICO



PROFA. DRA. MARINEIDE MENDONÇA AGUILLERA

DBPVA/CCA/USFSCAR

DEDICATÓRIA ESPECIAL

*Aos meus pais, **Rita** e **René**, por serem meu exemplo de vida,
me dando forças para seguir sempre.*

*Ao meu amado marido, **Denis**, meu melhor amigo e companheiro, com quem
divido todos os momentos da minha vida e à nossa filha **Catarina**, que nasceu
durante a realização desta dissertação nos trazendo muita alegria.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, que sempre me orienta e guia os meus caminhos, me mostrando a cada dia que tudo tem o tempo certo;

Ao Prof. Dr. **Alfredo Seiiti Urashima** pela orientação, amizade e conhecimentos transmitidos;

Aos meus pais, **Rita** e **René** por me dispensarem todo cuidado, dedicação, amor e carinho;

Ao meu marido, **Denis**, pela paciência, compreensão, carinho e companheirismo e a nossa filha **Catarina** por nos proporcionar ainda mais vontade de viver;

A toda minha família Del Pietro, em especial ao meu irmão René Filho e toda a querida família Storani pelo incentivo sempre!

Ao Laboratório de Genética Molecular (**LAGEM**) e todos os funcionários pela acolhida e apoio durante este trabalho, em especial, Adriana e Luiza;

A Prof^ª. Dr^ª. Patrícia Monquero pelo apoio durante as correções. Seu incentivo foi essencial para a conclusão desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Geraldo Dario pela amizade;

Aos Prof^ª. Eng^ª. Agr^ª. Msc. Mariana Campana (minha querida amiga Sardinha), pela amizade e carinho e aos Prof. Dr. Caetano Brugnaro e Prof. Dr. Norberto Lavorenti pelo apoio nas análises estatísticas;

Aos amigos especiais com quem dividi momentos inesquecíveis: Elasti-k, Tilápia, Garapa, Cabana, Bakalhau, Mistura, Ka-ô, 2Pi, Liliane, Prof^ª Dra. Luciana Seki Dias (Tia Lú), Débora Regina Barbosa e Sandra Brina.

A Capes pela bolsa de estudos durante o curso;

Obrigada a todos que acreditaram no meu trabalho e de alguma forma me ajudaram;

INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO, TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Pyricularia grisea* NA OCORRÊNCIA DA BRUSONE EM PLÂNTULAS DE TRIGO

RESUMO

A brusone é uma das principais doenças do trigo e está disseminada nos principais estados produtores do país, causando danos significativos e sendo fator limitante para a expansão da cultura no Brasil central, principalmente por ser uma doença altamente influenciada pelo clima. Seu controle através de cultivares resistentes pode ser influenciado pelas condições climáticas e pela concentração de inóculo na lavoura. O Capítulo 1 desta dissertação descreve a influência do período de molhamento foliar na ocorrência da brusone, em plântulas de trigo, em dois experimentos. O primeiro com o isolado do fungo *Pyricularia grisea* (PR01-23) e duas cultivares de trigo no estágio de plântula, com reação diferenciada ao isolado (Anahuac suscetível e BR18 resistente) e o segundo com o isolado do fungo (PR06-03) e duas cultivares de trigo no estágio de plântula (BR40 suscetível e BH1146 resistente). Foram empregadas dez repetições de cinco tratamentos com os diferentes períodos de molhamento foliar (6, 10, 14, 18 e 24h). Avaliou-se a incidência e a severidade da brusone em porcentagem. A análise foi feita através de um delineamento estatístico inteiramente casualizado, com um esquema fatorial dos tratamentos (cinco períodos de molhamento e duas cultivares). Os resultados mostraram que o tempo mínimo requerido para o aparecimento da doença nas plântulas foi de 10 horas, quando inoculadas com o isolado PR01-23 e de 14 horas, quando inoculadas com o isolado PR06-03. Quanto maior o período de molhamento foliar, maior a incidência e a severidade da doença, independente da resistência da cultivar. O Capítulo 2 teve como objetivo determinar a influência da temperatura e concentração de inóculo de *Pyricularia grisea* na incidência e na severidade da brusone. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com um esquema fatorial dos tratamentos: quatro concentrações de inóculo (10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 esporos/mL) e duas cultivares, dez repetições. Utilizou-se duas cultivares de trigo no estágio de plântula (BR18 resistente e Anahuac suscetível) que foram inoculadas com 50 mL de suspensão de *P. grisea* (isolado PR06-03) nas concentrações 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 esporos/mL. As plantas foram submetidas às temperaturas de 22°C e 28°C por 18 horas de molhamento foliar. Avaliou-se a incidência e a severidade da brusone em porcentagem. Os resultados obtidos mostraram que à 22°C a severidade foi maior na cultivar suscetível e igual para as cultivares a 28°C. A cultivar resistente se comportou de forma semelhante a suscetível, quando submetida à alta temperatura e altas concentrações de inóculo.

Palavras chave: *Magnaporthe grisea*, umidade, concentração de inóculo, infecção, *Triticum aestivum*

INFLUENCE OF PERIOD OF FOLIAR WETNESS, TEMPERATURE AND CONCENTRATION OF *Pyricularia grisea* ON THE OCCURRENCE OF BLAST IN WHEAT SEEDLINGS

ABSTRACT

Blast disease, caused by *Magnaporthe grisea* (anamorph *Pyricularia grisea*), is one of the main diseases of wheat and is disseminated throughout main producing states of the Country. It has been causing significant yield loss and is a limiting factor for the crop's expansion in central Brazil where the weather is highly favorable. The use of resistant cultivars can be influenced by weather conditions and concentration of inoculum. Chapter 1 of the present dissertation describes the influence of period of foliar wetness on the occurrence of blast in wheat seedlings in two experiments. The first one employed cultivars BH1146 (resistant) and BR40 (susceptible) inoculated with the *Pyricularia* isolate PR06-03. In the second assay, the cultivars were BR18 (resistant) and Anahuac (susceptible) inoculated with the fungal isolate PR01-23. Five treatments were the period of wetness (6, 10, 14, 18 and 24h) in ten replications. Analysis was performed using a completely randomized design with a factorial plan of the treatments (five foliar wetness periods and 2 cultivars). Results showed that the minimum period needed for the development of the disease was 10 hours when inoculated with the isolate PR06-03. The longer the foliar wetness period the higher the incidence and severity of the disease regardless the resistance of cultivars. Chapter 2 aimed to determine the influence of the weather and concentration of *P. grisea* on the incidence and severity of blast. The experiment used totally randomized design with a factorial plan of the treatments: four concentrations (10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 spores/ml) and two cultivars, ten repetitions. The wheat cultivars were BR18 (resistant) and Anahuac (susceptible) which were inoculated with 50ml of *P. grisea* suspension (isolate PR06-03) at the concentrations 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 spores/ml. The seedlings were submitted to temperatures of 22°C and 28°C for 18 hours of foliar wetness. The results showed that at 22°C higher disease severity occurred on susceptible cultivar whereas the disease was the same for both cultivars at 28°C. The resistant cultivar reacted like a susceptible when submitted to high temperature and high concentration of pathogen.

Keywords: *Magnaporthe grisea*, humidity, inoculums concentration, infection, *Triticum aestivum*,

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	3
2.1 Cultura do trigo	4
2.2 Brusone do trigo.....	5
2.2.1 Etiologia.....	7
2.2.2 Sintomatologia	8
2.2.3 Epidemiologia – Ambiente e doença	10
2.2.4 Ciclo da doença	13
2.2.5 Controle da Brusone	14
3. CAPÍTULO 1: INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA OCORRÊNCIA DA BRUSONE EM PLÂNTULAS DE TRIGO	17
RESUMO.....	17
3.1 INTRODUÇÃO.....	18
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.4 CONCLUSÕES.....	36
4. CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE <i>P. grisea</i> NA OCORRÊNCIA DA BRUSONE EM PLÂNTULAS DE TRIGO	37
RESUMO.....	37
4.1 INTRODUÇÃO.....	38
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.4 CONCLUSÕES.....	56
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

Alterações ambientais e climáticas podem favorecer o aparecimento de doenças em plantas cultivadas, sendo uma das principais causas de danos nas lavouras agrícolas. Com a modificação do clima, doenças menos importantes podem assumir um papel significativo. A importância do ambiente sobre o desenvolvimento de doenças de plantas tem sido observada há mais de dois mil anos e atualmente sabe-se que o ambiente pode influenciar o desenvolvimento e a suscetibilidade da planta hospedeira, a sobrevivência do patógeno e a interação entre eles (GHINI; HAMADA, 2008).

O uso da terra para fins agrícolas tem impacto importante nas mudanças do clima, pois manejos inadequados ocasionam emissões de gases do efeito estufa provocando aquecimento global (GHINI, 2005) e causando alterações climáticas que podem favorecer o desenvolvimento de doenças.

Para a ocorrência de doenças de plantas é necessário que se complete o triângulo entre o ambiente favorável, o patógeno virulento e o hospedeiro suscetível e esses vértices são interdependentes. Em uma situação de hospedeiro suscetível e patógeno agressivo, as condições climáticas que determinarão o aparecimento da doença. A atividade biológica dos fungos é altamente influenciada pela temperatura e umidade, determinando a intensidade da doença, acelerando ou retardando o seu aparecimento.

Os fitopatógenos estão entre os principais organismos a demonstrarem os efeitos das alterações do clima por apresentarem numerosas populações, facilidade de multiplicação e dispersão e curto tempo entre as gerações (GHINI, 2005) mostrando a importância de se ampliar estudos sobre as

doenças de plantas, para que sejam traçadas estratégias eficientes de controle de epidemias.

A cultura do trigo é um exemplo característico de lavoura agrícola que está sofrendo com as alterações do clima, pois a expansão de sua produção para áreas do Brasil central tem sido prejudicada pela doença brusone – causada pelo fitopatógeno *Pyricularia grisea* (teleomórfico *Magnaporthe grisea* (Hebert)) que é favorecida pela alta umidade e temperaturas ao redor de 25°C.

Condições climáticas atípicas ocorridas no ano de 2009, como maior ocorrência de chuvas e temperaturas mais altas favoreceram a propagação desse fungo, resultando em danos nas lavouras de trigo do cerrado. As perdas pela brusone variaram de 35% a quase 100% chamando a atenção de pesquisadores nacionais e internacionais (EMBRAPA, 2010).

Embora a brusone do trigo seja uma doença de maior ocorrência na espiga, quando a cultura está exposta a condições climáticas extremamente favoráveis, a doença pode se manifestar de forma severa nas folhas prejudicando o desenvolvimento da cultura e, conseqüentemente, a produção esperada. Assim, é necessário ampliar os estudos sobre brusone do trigo para que sejam traçadas estratégias eficientes de controle da doença.

1.1 OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi estudar a reação da brusone em plântulas de trigo por meio da:

- 1- Influência do período de molhamento foliar;
- 2- Influência da temperatura e concentração de inóculo de *Pyricularia grisea*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do trigo

O trigo está classificado como membro da família *Poaceae*, tribo *Triticeae*, subfilo *Triticinae*, gênero *Triticum* e espécie *Triticum aestivum* (SCHEREN, 1986). Esta é a espécie mais cultivada em todo o mundo. Outra espécie cultivada é o trigo duro (*Triticum durum*) plantado na América do Norte, Europa, Norte da África, Rússia, Índia e alguns países do Oriente Médio. As demais espécies têm pequena expressão, em termos de área de cultivo, sendo importantes como fonte de material genético em programas de melhoramento (ARENDETT, 2006).

A produção mundial de trigo é da ordem de 660 milhões de toneladas/ano e os principais países produtores são EUA, França, Rússia, China e Índia (SEAGRI, 2011). O trigo é a segunda cultura de grãos ao nível mundial em produção, ficando atrás somente do milho em aproximadamente 20%. O Brasil produz quantidade insuficiente para atender a demanda nacional e se destaca entre um dos principais importadores desse grão (FAO, 2009).

O trigo é considerado um dos principais alimentos da humanidade, principalmente por ser fonte de carboidrato e proteína, podendo ser consumido em diferentes formas como pães, massas, bolos e biscoitos. Além de ser a principal fonte de glúten da alimentação humana, tornando-o componente indispensável para muitos alimentos. Pode ser cultivado com sucesso no Brasil desde a região Sul até o Cerrado, na região do Brasil Central, onde dispõe de

duas opções de cultivo, o cultivo de sequeiro e o cultivo irrigado (ALVES; FERNANDES, 2006).

Segundo Roman (2005), o Brasil tem grande potencial para aumentar sua produção de trigo, tanto em produtividade quanto em área. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (2013), no Brasil, a área cultivada com trigo na safra 2012/2013 foi de 2,0 milhões de hectares e, observa-se que está ocorrendo uma migração nas áreas de produção de trigo, com aumento nas áreas cultivadas nos estados do Centro-Sul do país (CONAB, 2013). A produção nacional de trigo é da ordem de 5,1 milhões de toneladas, enquanto que o consumo interno é da ordem de 10,7 milhões de toneladas, ou seja, o Brasil possui uma demanda dependente da oferta externa. O clima é fator crucial para o sucesso do plantio do trigo, principalmente por favorecer a ocorrência de doenças que atuam na diminuição da produção (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2013).

2.2 Brusone do trigo

A brusone do trigo, doença causada pelo fungo *Pyricularia grisea*, foi constatada no Brasil em 1985 (IGARASHI *et al.* 1986), sendo esta a primeira observação da doença nessa cultura no mundo, em condições naturais. O patógeno que inicialmente foi identificado em alguns municípios do norte do Paraná, rapidamente se disseminou para outras regiões tritícolas do país: São Paulo (IGARASHI, 1990), Rio Grande do Sul (PICININI; FERNANDEZ, 1990), Mato Grosso do Sul (GOULART; PAIVA, 1990), Goiás (PRABHU *et al.* 1992) e cerrado do Brasil Central (ANJOS *et al.* 1996). É uma das principais doenças

que atacam a cultura do trigo e é, ainda, de ocorrência restrita ao Brasil, Paraguai e Bolívia, mas com potencial para disseminar para outras regiões tritícolas de importância ao redor do mundo, como Ásia e África, que apresentam condições climáticas semelhantes às do cerrado brasileiro (EMBRAPA, 2009).

A importância econômica da brusone procede das reduções que ela provoca no rendimento e na qualidade dos grãos de trigo. Goulart e Paiva (2000) observaram redução de 51% do rendimento de grãos e incidência de 86% em campos de trigo no estado de Mato Grosso do Sul na safra 1991 e 1992 e mais recentemente, Urashima *et al.* (2009) verificaram incidência de 76,2% e redução na produtividade de 32,2% na cultivar BRS208 na região de Itapeva/SP, na safra de 2005. A doença vem ganhando importância econômica nas lavouras do Brasil Central, devido às perdas registradas nas últimas safras (EMBRAPA, 2009).

Atualmente a brusone é considerada uma doença de difícil controle (URASHIMA; KATO, 1994), por isso é importante conhecer seu comportamento em diferentes cultivares e condições ambientais. As estratégias recomendadas para o seu controle baseiam-se no uso de fungicidas aplicados na parte aérea, época de semeadura e na diversificação de cultivares, dando preferência àquelas menos suscetíveis (GOULART *et al.* 2007).

A severidade da doença varia grandemente em função da região, das condições climáticas e da cultivar em questão e a intensidade de dano na produção é determinada, geralmente, pela época em que ocorre a infecção e pelo órgão afetado na planta (GOULART *et al.* 2007).

Devido ao surto da doença ocorrido em 2009, que levou a perdas na produção brasileira, muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas por pesquisadores nacionais e internacionais, pois os especialistas se preocupam com a disseminação da doença para outras regiões do mundo com condições climáticas semelhantes.

2.2.1 Etiologia

O fungo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. (sinonímia *Pyricularia oryzae* Cavara), teleomorfo *Magnaporthe grisea* (ROSSMAN *et al.* 1990; URASHIMA *et al.* 1993), é o agente causal da brusone do trigo.

Em sua forma assexuada ou imperfeita, pertence à classe *Deuteromycetes*, subclasse *Hyphomycetidae*, ordem *Moniliales*, família *Moniliaceae*, gênero *Pyricularia* e espécie *Pyricularia grisea* Sacc. (*P. oryzae* Cav.). A sua forma sexuada ou teleomórfica é *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. (MENEZES; OLIVEIRA, 1993).

De acordo com Purchio e Muchovej (1994), o gênero *Pyricularia* foi descrito por Saccardo para caracterizar um fungo de cor cinza-claro, o qual produz conídios em conidióforos livres e eretos. Os conídios são, inicialmente, aderidos ao conidióforo por meio de uma pequena célula e, quando maduros, a célula divide-se em dois, liberando o conídio. A espécie original, *P. grisea* Saccardo, foi isolada de *Digitaria sanguinalis* e após dez anos, Cavara (1891) descreveu uma espécie semelhante isolada de arroz, denominada *Pyricularia oryzae* Cavara. A diferença entre elas é a planta hospedeira (PUCHIO; MUCHOVEJ, 1994).

A *Pyricularia* do trigo se desenvolve rapidamente, as colônias adquirem cor acinzentada e os conídios, de cor marrom, crescem isoladas ou em grupos de dois-três conidióforos curtos, simples, hialinos e na maioria das vezes com dois septos, variando no tamanho em média com 23x17 μ m (MEHTA, 1993).

Em 1971 foi descoberto em condições de laboratório que este fungo tinha capacidade de se reproduzir sexualmente. Classificado como Ascomiceto do grupo dos *Pironomicetos*, foi identificado com o nome de *Magnaporthe grisea* (OU, 1985).

2.2.2 Sintomatologia

No início de sua ocorrência, a brusone do trigo se caracterizou por ser uma doença geralmente vista nas espigas. Porém, no segundo ano de sua ocorrência, 1986, foi constatada a manifestação da brusone em todos os órgãos aéreos da planta, como folhas, colmos, bainhas, nós, glumas e pedúnculo, e, também, a transmissão do fungo pelas sementes (IGARASHI, 1988).

Os sintomas aparecem nas folhas como pequenas lesões elípticas, com dimensões de 2 a 25 mm x 1 a 2 mm de coloração castanha, sempre acompanhando as nervuras da folha, onde existe maior concentração de umidade. Com o passar dos dias, o centro da lesão torna-se esbranquiçado e as margens das lesões apresentam coloração castanho-avermelhada. Pode ocorrer esporulação do fungo, quando as condições climáticas forem favoráveis, tanto na face superior quanto na inferior. Neste caso, o centro da lesão fica com cor acinzentada (TOLEDO; ESCOBAR, 2002). A doença se

inicia nas folhas de baixo progredindo para as folhas superiores. Plantas severamente atacadas tem sua área fotossinteticamente ativa reduzida e senescem precocemente. No colmo, os sintomas são parecidos com o das folhas (PICININI; FERNANDES, 1995; IGARASHI; BALAN, 2004).

Os principais sintomas da doença são na espiga, que se apresentam brancas em sua metade superior. Segundo Igarashi e Balan (2004), a infecção que incide nas espigas, especialmente na porção da ráquis é a que provoca maior dano econômico na cultura do trigo. Pode-se observar sobre a ráquis uma lesão preta brilhante no ponto de penetração do fungo, resultando em morte da espiga acima do ponto de penetração. A colonização num ponto da ráquis dificulta a translocação de água e nutrientes resultando no branqueamento parcial ou total das espigas, limitando assim o desenvolvimento normal dos grãos. A doença pode se manifestar desde o início do espigamento até a maturação fisiológica. As infecções tardias da espiga durante a maturação determinam danos menores, enquanto os maiores ocorrem no espigamento prejudicando a formação dos grãos e reduzindo o rendimento.

A infecção na ráquis mata a porção da espiga acima do ponto necrosado, limitando o desenvolvimento da semente. Quando a infecção ocorre através das glumas, o fungo causa deformações nas sementes em desenvolvimento, origina lesões de coloração castanho-claro e escuro. Isto não impede que as sementes infectadas no final do ciclo da cultura apresentem também formato normal, sem sintomas visíveis, o que pode ser responsável pela transmissão e disseminação do patógeno para novas áreas (URASHIMA, 1999). Goulart *et al.* (1995) relataram uma correlação direta entre incidência de

brusone em espigas de trigo no campo e a porcentagem de sementes colhidas com presença de *P. grisea*. Arruda *et al.* (2005) mostraram que as espigas sem sintoma visual da doença foram as que apresentaram as menores porcentagens de sementes infectadas, diferindo significativamente das sementes colhidas de espigas com sintomas da doença.

Quando nas sementes, o fungo provoca sua má formação tornando-se chochas. As sementes infectadas aparentam estar sadias depois do grão formado, mas o fungo fica no endosperma transmitindo então o patógeno. Nas glumas ocorrem lesões elípticas, brancas acinzentadas e bordos marrons claros (TOLEDO; ESCOBAR, 2002).

2.2.3 Epidemiologia – Ambiente e doença

O papel do ambiente sobre a ocorrência de doenças tem sido notado há mais de dois mil anos. Theophrastus (370-286 A.C.) já observava que cereais plantados em locais mais altos estavam menos sujeitos ao ataque de patógenos do que aqueles cultivados em terras baixas (BEDENDO; AMORIM, 2011). Há relatos de epidemias históricas devido às mudanças climáticas, como a requeima da batata na Irlanda em 1945; o ergotismo dos cereais no Reno em 857 e na França em 994, 1089 e 1951; e a helmintosporiose do arroz em Bengala em 1942 (BERGAMIN FILHO; KIMATI, 1995).

Atualmente outras epidemias ocorrem no mundo, principalmente as causadas por doenças policíclicas, que necessitam de diversos ciclos de infecção para gerar epidemias (KRANZ, 2002), como é o caso da brusone. As condições climáticas são reconhecidamente importantes para esse tipo de

doença, pois determinam o número de ciclos secundários que o patógeno terá no ciclo da cultura, determinando a intensidade da epidemia (AGRIOS, 2005).

O ambiente afeta o ciclo das relações patógeno-hospedeiro, sendo a umidade e a temperatura os itens mais importantes. A umidade é o fator essencial para ocorrência da doença e a temperatura, menos marcante, acelera ou retarda a infecção e a reprodução do patógeno (REIS *et al.* 1988).

O aumento da umidade da parte aérea favorece a germinação e penetração dos conídios. Períodos de molhamento longos (seis a dez horas) com presença de orvalho por dois a três dias seguidos consecutivos colaboram para a ocorrência da brusone (PICININI; FERNANDES, 1995). Diversos trabalhos realizados com a cultura do arroz mostraram que o estudo do molhamento da parte aérea é um parâmetro importante para o manejo dessa doença. Tal fato foi comprovado por Andersen *et al.* (1947), que verificaram que a partir de dez horas de molhamento constante na parte aérea, ocorre a infecção pelo patógeno causador da brusone em arroz. Já Panzer *et al.* (1976) mostraram que a infecção está relacionada com o período de molhamento da parte aérea e, também, com a temperatura em que a cultura é exposta. Bhatt e Chauhan (1985) observaram que o índice de 90% de umidade do ar durante vários dias consecutivos favorecem o aparecimento da brusone. E, Vankatarao e Muralidharan (1982) constataram que ocorre rápido desenvolvimento da brusone quando a planta é exposta a umidade relativa de 90% durante suscetíveis estádios da cultura. Corroborando com essas informações, OU (1985) observou que o período de molhamento foliar tem um efeito profundo na infecção: quanto maior o período de exposição, maior a infecção, mostrando que existe variação no período em função da resistência da cultivar de arroz.

Cardoso *et al.* (2008) estudando a cultura do trigo verificaram que a infecção foi iniciada quando o período de molhamento foliar excedeu 10 horas, porém este estudo foi realizado somente em um cultivar suscetível a brusone.

A brusone do trigo ocorre no Brasil, Paraguai e Bolívia e é frequentemente observada nas regiões tritícolas de clima quente, com precipitações pluviais moderadas, que propiciam períodos de molhamento foliar entre 16 a 24 horas durante a floração (REIS *et al.* 1988).

Em relação à temperatura, Goulart *et al.* (1992) constataram que temperaturas de 21-27°C por 10-14 horas de molhamento das espigas favorecem a ocorrência da brusone do trigo. Alves e Fernandes (2006) observaram que temperaturas ao redor de 28°C favorece a produção de conídios de *P. grisea*. Cardoso *et al.* (2008) testando diversas temperaturas observaram que a menor intensidade da doença ocorreu a 25°C com 10 horas de molhamento foliar, sendo que nas temperaturas mais baixas estudadas (10, 15 e 20°C) não se observaram sintomas da doença.

As alterações no clima, muito observadas nos tempos atuais, podem alterar rapidamente a situação de temperatura e umidade de uma região, fazendo com que áreas pouco afetadas pela doença brusone sofram ataques severos. Por isso é importante obter mais resultados sobre a epidemiologia dessa doença para que medidas de controle possam ser tomadas eficientemente.

2.2.4 Ciclo da doença

O fungo *P. grisea* é um patógeno necrotrófico e pode sobreviver em hospedeiros secundários como plantas infestantes, plantas nativas, bem como outras culturas, além de restos culturais das plantas cultivadas. Também pode sobreviver em sementes infectadas (DIAS MARTINS *et al.* 2004; REIS *et al.* 1995). Goulart (1990) afirma que o fungo pode sobreviver de um ano para o outro em sua fase saprofítica nos restos culturais de plantas cultivadas, sendo uma importante fonte de inóculo primário.

Hospedeiros secundários são as fontes mais importantes para a sobrevivência do fungo causador da brusone e o mais conhecido deles é a *Digitaria sanguinalis*. Porém já foi demonstrado que *Setaria geniculata* e *Brachiaria decumbens* são hospedeiros de *P. grisea* no Brasil (URASHIMA; KATO, 1998). As sementes podem ser consideradas a principal fonte de inóculo primário, podendo avançar para novas áreas (REIS *et al.* 1988). Considerando-se um lote de sementes não tratadas e que apresente uma incidência de *P. oryzae* de 21% e taxa de transmissão de 2,1:1, estima-se o estabelecimento de 400.000 pontos de infecção/ha (GOULART; PAIVA, 1990).

A disseminação ocorre principalmente através do vento que remove e transporta os conídios de *P. grisea* que chega a superfície de outra planta. Os conídios são liberados na fase saprofítica e transportados pelo vento, chegando a longas distâncias (URASHIMA *et al.*, 2007). Se houver água livre nesta superfície, o conídio germina produzindo tubo germinativo e apressório (AGRIOS, 2005).

A penetração para infecção do fungo ocorre através da cutícula da planta onde o fungo coloniza os tecidos através da produção de toxinas que provocam a morte das células da planta hospedeira e pelas hifas que se desenvolvem no tecido hospedeiro morto (HOWARD; VALENT, 1996). A brusone é uma doença policíclica. A infecção primária ocorre via alo-infecção e então começa o ciclo secundário de infecção e a epidemia pode ocorrer. O ciclo secundário de infecção consiste em: esporulação, liberação do esporo, dispersão, deposição, infecção, colonização, período latente e desenvolvimento da lesão (TOYODA; SUZUKI, 1952). Reis *et al.* (1988) observaram que a brusone é favorecida nas regiões tritícolas de clima quente, principalmente onde as precipitações pluviais são moderadas (duração de molhamento foliar entre 16 a 24 horas) durante a floração.

É importante o estudo do comportamento das cultivares em diferentes condições climáticas para auxiliar no controle da doença. A duração do processo de penetração varia com a temperatura podendo ser de 6, 8 e 12 horas, com temperaturas de 24°C, 28°C e 32°C, respectivamente. Os conídios necessitam de moderado período de molhamento foliar (água livre) para germinarem e penetrarem na folha de trigo. A brusone do trigo é favorecida por períodos longos de molhamento com presença de orvalho (seis a dez horas), por dois a três dias consecutivos (PICININI; FERNANDES, 1995).

2.2.5 Controle da Brusone

A brusone tem sido um dos principais problemas para o cultivo de trigo no Brasil Central e, uma das causas, é a falta de produtos químicos eficientes e

cultivares resistentes, aliada a uma ampla distribuição geográfica do patógeno. É considerada uma doença de difícil controle (URASHIMA *et al.* 2004).

Inúmeros trabalhos vêm sendo realizados com o intuito de minimizar o impacto deste patógeno na cultura do trigo, incluindo o estudo da eficiência de tratamento químico de sementes (GOULART; PAIVA, 1991), época de semeadura (GOULART *et al.*, 2001), uso de cultivares resistentes (IGARASHI, 1990; URASHIMA; KATO, 1994) e de produtos químicos mais eficientes para o seu controle (URASHIMA; KATO, 1994; GOULART *et al.*, 1996). Todos esses controles têm apresentado limitações, resultando num controle ineficiente de epidemias da doença.

A ausência de fungicidas eficientes tem sido um grande problema, pois independente do número e da época de aplicação, a eficiência dos fungicidas tem sido fraca, sendo necessário em alguns casos até quatro aplicações (EMBRAPA, 2010), podendo aumentar o custo de produção e comprometer o meio ambiente pela contaminação do lençol freático.

A recomendação para o controle da brusone através do uso de cultivares resistentes também é um dos problemas enfrentados, pois não há cultivar resistente a todos os isolados do fungo (URASHIMA; KATO, 1994; URASHIMA *et al.*, 2004). Pode-se dar preferência àquelas menos susceptíveis (ARRUDA *et al.* 2005; GOULART; PAIVA, 1992; GOULART; PAIVA, 1993; URASHIMA *et al.* 2004). É importante verificar se a resposta da cultivar é influenciada pelas condições climáticas e, também, pela concentração de inóculo na lavoura. Essa concentração de inóculo na lavoura é influenciada pela sobrevivência do patógeno em hospedeiros secundários, restos culturais, sementes e plantas voluntárias. Além disso, a disseminação dos conídios

ocorre principalmente através do vento e lavouras vizinhas ou distantes e aquelas implantadas mais cedo podem produzir uma carga considerável de esporos, sendo fontes importantes de inóculo (KIMATI *et al.* 2005; URASHIMA *et al.* 2007).

O tratamento químico de sementes é utilizado para diminuir o inóculo inicial da brusone, porém, tem sua eficiência limitada, pois o patógeno não é sistêmico, podendo ser disseminado de outras formas. Mesmo assim trata-se de uma estratégia importante, pois o fungo pode sobreviver por muito tempo dentro dela, tendo maior viabilidade que a própria semente. Há relatos de *P. grisea* que sobreviveu por 22 meses em sementes de trigo em condições de laboratório (REIS *et al.*, 1995). Já foi comprovado que sementes infectadas transmitem o patógeno para a parte aérea. Silva *et al.* (2009) mostraram que mesmo empregando sementes com incidência muito abaixo do padrão das sementes certificadas, pode haver transmissão do patógeno para a parte aérea em trigo.

O controle através da época de semeadura tem se tornado ineficiente devido às inconstâncias climáticas, com anos extremamente chuvosos e anos extremamente secos. A irrigação também é um item que deve ser controlado para não proporcionar longos períodos de molhamento, porém este controle não pode ser utilizado isoladamente (EMBRAPA, 2009).

Com todas estas limitações, para se ter sucesso no controle da brusone do trigo é necessário conhecer as condições de ocorrência da doença para se integrar as estratégias de controle. O estudo das condições ambientais sob o hospedeiro e o patógeno é importante no estudo de doenças de plantas cultivadas, pois implica em maior ou menor grau de severidade da doença.

3. CAPÍTULO 1: INFLUÊNCIA DO PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR NA OCORRÊNCIA DA BRUSONE EM PLÂNTULAS DE TRIGO

RESUMO

A brusone é uma das principais doenças do trigo e está disseminada nos principais estados produtores do país, causando danos significativos e sendo fator limitante para a expansão da cultura no Brasil central, principalmente por ser uma doença altamente influenciada pelo clima. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência do período de molhamento foliar na ocorrência da brusone em plântulas de trigo. Foram realizados dois experimentos: o primeiro com o isolado do fungo *Pyricularia grisea* (PR01-23) e duas cultivares de trigo no estágio de plântula, com reação diferenciada ao isolado (Anahuac suscetível e BR18 resistente) e o segundo com o isolado do fungo (PR06-03) e duas cultivares de trigo no estágio de plântula (BR40 suscetível e BH1146 resistente). Foram empregadas dez repetições de cinco tratamentos com os diferentes períodos de molhamento foliar (6, 10, 14, 18 e 24h). Avaliou-se a incidência e a severidade da brusone em porcentagem. A análise foi feita através de um delineamento estatístico inteiramente casualizado, com um esquema fatorial dos tratamentos (cinco períodos de molhamento e duas cultivares). Os resultados mostraram que o tempo mínimo requerido para o aparecimento da doença nas plântulas foi de 10 horas, quando inoculadas com o isolado PR01-23 e de 14 horas quando inoculadas com o isolado PR06-03. Quanto maior o período de molhamento foliar, maior a incidência e a severidade da doença, independente da resistência da cultivar.

Palavras-chave: *Magnaporthe grisea*, *Triticum aestivum*, umidade, resistência.

3.1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) tem uma importante função econômica e social, ocupando um papel de destaque dentre os cereais produzidos no Brasil.

A produção nacional é insuficiente para suprir a demanda, determinando a necessidade de importação deste cereal. Assim, a agricultura nacional vem ganhando novas áreas destinadas ao cultivo do trigo, principalmente no Brasil central. Porém, essas novas áreas de plantio vem acompanhadas do aparecimento de doenças que causam redução na produtividade, devido às condições propícias para o seu desenvolvimento. Dentre elas, destaca-se a brusone, causada pelo fungo *Pyricularia grisea* Sacc, fase assexual ou anamórfica de *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, fase sexual ou teleomórfica, relatada pela primeira vez no Brasil em 1985 (IGARASHI et al.1986) e ocorre frequentemente nos estados do Paraná, São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul (GOULART et al. 1990; LASCA et al. 2001).

Os sintomas da doença são percebidos em toda a parte aérea da planta, principalmente nas espigas, que se apresentam com branqueamento total ou parcial da parte imediatamente superior à lesão, ocasionando esterilidade ou chochamento dos grãos (GOULART, 2000). A brusone é uma doença influenciada pelas condições ambientais, e quando coincide com o estágio fenológico da planta, ocorre o estabelecimento da doença e o progresso da epidemia. O controle da doença ainda não é satisfatório, pois os fungicidas recomendados apresentam baixa eficiência e as cultivares existentes não são resistentes a todos os isolados do fungo (URASHIMA et al. 2004). A escassez de informações sobre epidemiologia da brusone do trigo, bem como a

influência dos fatores ambientais na esporulação do patógeno e estabelecimento da doença colaboram para a ineficiência do controle de epidemias dessa doença. Sabe-se que a doença é favorecida por períodos de molhamento da parte aérea de 10-14 horas e temperaturas de 21-27°C (GOULART *et al.* 1992). O aumento da umidade da parte aérea favorece a germinação e penetração dos conídios. Presença de orvalho por 2 a 3 dias seguidos consecutivos colaboram para a ocorrência da brusone (PICININI; FERNANDES, 1995). Cardoso *et al.* (2008) estudando a cultura do trigo verificaram que a infecção foi iniciada quando o período de molhamento foliar excedeu 10 horas. Este estudo utilizou somente uma cultivar, considerada suscetível.

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi estudar a influência de diferentes períodos de molhamento foliar na ocorrência da brusone em plântulas de trigo com resistência diferenciada ao fungo.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), campus Araras/SP, no Laboratório de Genética Molecular (LAGEM).

Hospedeiros

Utilizara-se de cultivares de trigo no estágio de plântula (três folhas), com reação diferenciada aos isolados conforme Arruda *et al.* (2005): BR18 e BH1146 (resistentes) e Anahuac e BR40 (susceptíveis), cedidas pela Embrapa-

Trigo, Embrapa-CPAO e Coodetec e multiplicadas no LAGEM/CCA/UFSCar. As sementes foram pré-germinadas em placas de Petri com papel de filtro e água e posteriormente transferidas para recipientes plásticos de 200 mL. Transferiram-se cinco sementes por recipiente com substrato composto por: casca de pinus, vermiculita e casca de arroz vaporizado. Esses recipientes foram mantidos em casa de vegetação com as regas necessárias até atingirem estágio de três folhas para a submissão aos diferentes tratamentos.

Isolados

Utilizou-se os isolados de *P. grisea* PR01-23 e PR06-03 que foram obtidos monosporicamente da cultivar de trigo CD-104 coletada em Cascavel/PR, em setembro de 1998. Estes isolados encontram-se conservados em sementes de cevada esterilizadas e mantidas a 5°C e baixa umidade no LAGEM/CCA/UFSCar. Eles foram escolhidos com base na reação diferencial em cultivares de trigo. Assim, PR 06-03 causou reação de suscetibilidade na cultivar de trigo BR40 e reação de resistência na cultivar BH1146, já o isolado PR 01-23 causou reação de suscetibilidade na cultivar de trigo Anahuac e reação de resistência na cultivar BR18 (ARRUDA *et al.* 2005).

Preparação de inóculo e inoculação

Os isolados para inoculação foram multiplicados a partir das sementes colonizadas de cevada em placas de Petri com Meio de Aveia (60g de aveia, 12g de ágar em um litro de água destilada) por 20 dias à temperatura constante de 25°C. Utilizou-se antibiótico (gentamicina) para evitar o crescimento de bactérias contaminantes. Após esse período, o micélio aéreo foi retirado com a

ajuda de um pincel e água destilada esterilizada e, posteriormente, colocados em câmara sob luz fluorescente constante à temperatura ambiente para indução de esporulação. Após quatro dias, os esporos foram desalojados com água destilada e filtrados em lenço de papel. O volume de suspensão para a inoculação de cada conjunto foi de 50mL com concentração de 1×10^5 esporos/mL acrescentado de Tween 20 a 0,01%, como espalhante.

A inoculação foi feita com pulverizador manual e o período de molhamento foliar após a inoculação (para ocorrer a infecção) foi obtido através da cobertura das plantas com saco plástico de cor preta em períodos variáveis em função dos tratamentos, ou seja, 6, 10, 14, 18 e 24 horas. Após cada período, retirou-se o saco plástico e as plantas permaneceram em sala climatizada a temperatura controlada de 25°C até a avaliação que foi realizada cinco dias após a inoculação.

Avaliação

Os parâmetros avaliados foram: incidência e severidade da brusone. A incidência foi determinada pelo número de plantas apresentando sintomas da doença, expressa em porcentagem. Avaliou-se a severidade da brusone na folha A2 (HAUN, 1973) de cada planta, utilizando-se uma escala com valores de severidade variando de 0 a 100% (IRRI, 1996) no aparecimento da doença, cinco dias após a inoculação.

Análise dos dados

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2, onde os tratamentos foram: cinco períodos de

molhamento foliar (6, 10, 14, 18 e 24 horas) e duas cultivares de trigo, com dez repetições.

Os resultados de incidência da doença foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Para a análise de severidade da doença, os dados foram transformados antes da realização das análises de variância e comparação múltipla. Seguiu-se o procedimento adotado por Couto (2008), a saber, transformação Box-Cox adaptada, de acordo com a seguinte expressão:

$$\begin{cases} f(x) = \frac{(x+0,5)^\lambda - 1}{\lambda}, & \text{se } \lambda \neq 0 \\ f(x) = \ln(x+0,5), & \text{se } \lambda = 0 \end{cases}$$

Onde:

- x = valor de cada observação e,
- λ é um parâmetro a ser estimado

Testou-se o intervalo $-2 \leq \lambda \leq 2$, com a estimativa feita da seguinte maneira: i) transformação dos dados para cada valor, a intervalos de 0,25 para λ ; ii) realização da análise de variância com os dados assim transformados, para cada valor de λ ; iii) identificação do valor de λ que resultou no menor quadrado médio do resíduo (QMR), valor este adotado para o prosseguimento da análise. Na análise de variância, adotou-se o teste F . Para comparação múltipla, adotou-se o teste de Tukey, a 5% de significância.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes à incidência de brusone nas cultivares BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) em função dos diferentes períodos de molhamento foliar, inoculadas com o isolado de *P. grisea* PR01-23 encontram-se na Tabela 1 a seguir.

TABELA 1. Incidência de brusone (%) nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) em diferentes períodos de molhamento foliar inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR01-23.

Cultivares	Horas de molhamento					Média
	6	10	14	18	24	
BR18	0 aC	0 bC	50 bB	100 aA	70 aB	44 b
Anahuac	0 aC	70 aB	100 aA	100 aA	50 bB	64 a
Média	0 D	35 C	75 B	100 A	60 B	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

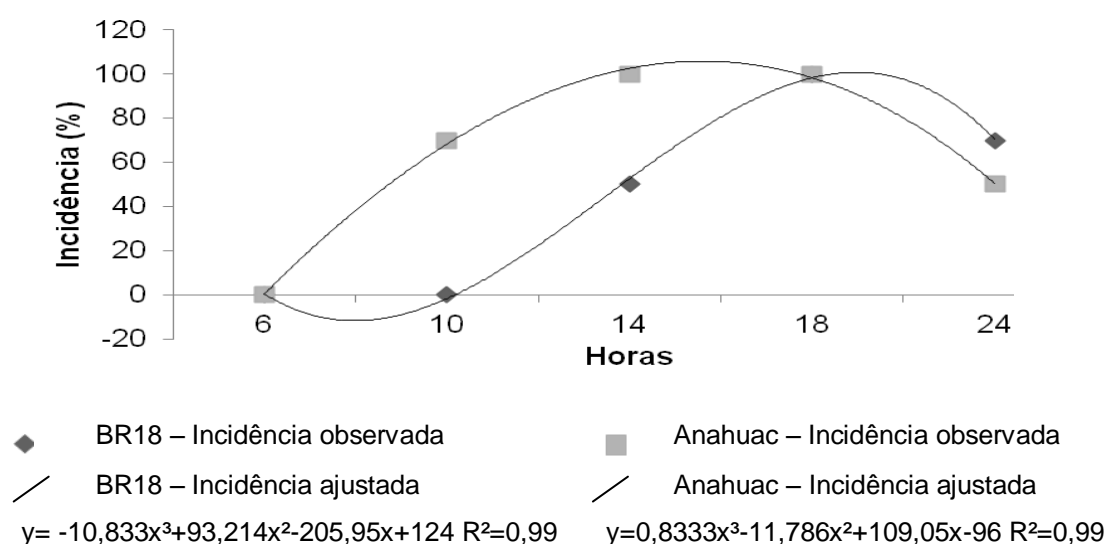


FIGURA 1. Incidência de brusone (%) nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR01-23.

Foi realizado um estudo de regressão polinomial para complementação da análise estatística. Para as duas cultivares, o melhor modelo ajustado foi o de regressão cúbica e os coeficientes de determinação (R²) ficaram acima de 99%, indicando um excelente ajuste dos modelos.

Com seis horas de molhamento nenhuma cultivar mostrou sintoma da doença. Quando o período de molhamento foi estendido para dez horas, a cultivar Anahuac (suscetível) apresentou 70% de suas folhas infectadas enquanto a cultivar BR18 (resistente) continuou sem mostrar nenhum sintoma da doença. Com 14 horas de molhamento foliar, a cultivar suscetível Anahuac já se apresentava 100% infectada e a cultivar resistente BR18 50%. As duas cultivares se igualaram quando submetidas a 18 horas de molhamento, apresentando 100% das plantas infectadas. Entretanto, quando submetidas a 24 horas de molhamento foliar, a Anahuac (suscetível) mostrou 50% de plantas infectadas e a BR18 (resistente) 70%.

A Tabela 2, a seguir, mostra os dados referentes à severidade (em porcentagem) da brusone nas cultivares BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível), em função dos diferentes períodos de molhamento foliar, inoculadas com o isolado PR01-23.

TABELA 2. Severidade de brusone (%) nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) em diferentes períodos de molhamento foliar inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR01-23.

Cultivares	Horas de molhamento					Média
	6	10	14	18	24	
BR18	0 aC	0 bC	45 bB	45 bB	85 bA	35 b
Anahuac	0 aC	65 aB	85 aA	85 aA	100 aA	67 a
Média	0 D	33 C	65 B	65 B	93 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

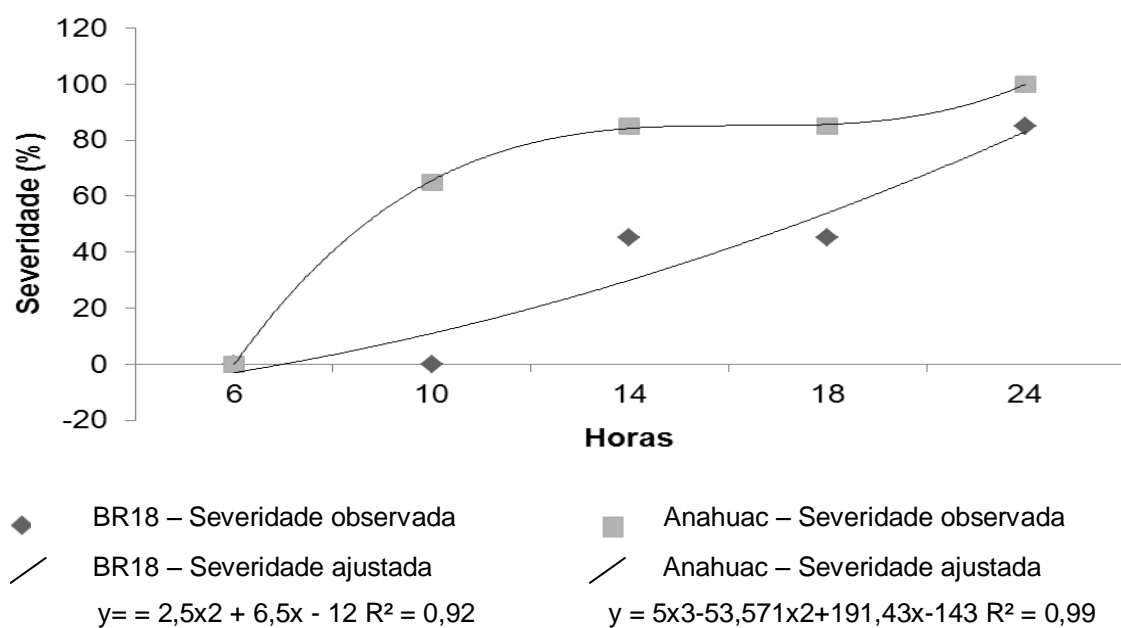


FIGURA 2. Severidade de brusone (%) nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR01-23.

Foi feito um estudo de regressão polinomial para complementação da análise estatística e para a cultivar BR18 o melhor modelo ajustado foi o de regressão quadrática, enquanto que para a Anahuac foi o modelo de regressão cúbica. Em ambas as cultivares, os coeficientes de determinação (R^2) ficaram acima de 90%, indicando um excelente ajuste dos modelos.

Severidade da doença é a porcentagem da folha lesionada pelo fungo causador da brusone e em relação a este parâmetro, na inoculação com o isolado PR01-23, as cultivares não apresentaram sintomas quando submetidas a seis horas de molhamento foliar, porém, quando este período foi estendido para dez horas, a cultivar suscetível Anahuac mostrou 65% de severidade em suas plantas, enquanto que a cultivar BR18 continuou não apresentando sintomas. Já, quando submetidas há 14 horas, a severidade da doença subiu para 85% na cultivar Anahuac (suscetível) e avançou de 0 para 45% de severidade na cultivar BR18 (resistente). Esses mesmos valores de severidade continuaram nas plantas quando submetidas a 18 horas de molhamento foliar, porém, quando esse tempo foi estendido para 24 horas, a cultivar suscetível chegou a 100% de severidade em suas plantas e a cultivar resistente BR18 chegou a 85%.

De acordo com a reação das cultivares de trigo no estágio vegetativo, representado pela incidência e severidade da doença ao isolado de *P. grisea* PR01-23, os resultados mostraram que quanto maior o período de molhamento foliar mais severa a doença para ambas as cultivares, resistente e suscetível. Esses resultados vêm ao encontro do que aconteceu nas lavouras de trigo nos anos de 2009 e 2012, que foram mais chuvosos nos meses de abril e maio, provocando danos pela doença brusone que chegaram a 40% (EMBRAPA, 2012). Fenômenos meteorológicos como o “El Niño”, que tendem a ocorrer com maior frequência devido às alterações climáticas (INPE, 2009), onde existe grande variação nas temperaturas e pluviosidades padrões, podem favorecer o desenvolvimento de doenças que antes não eram consideradas de

risco econômico para as lavouras. Em anos de *El Niño* como 2004, 2009 e 2012 essa doença causou prejuízos significativos.

Esse aumento das chuvas provocam maiores períodos de molhamento na lavoura, atingido facilmente um período de 18 horas de molhamento foliar, podendo resultar em 100% de incidência da doença nos campos de trigo, independente da resistência das cultivares, como demonstrado nos resultados desta pesquisa. Longos períodos de molhamento podem ser proporcionados também pela prática da irrigação por aspersão realizada no período da tarde, estendendo a umidade no decorrer da noite. O ideal é realizá-la no início da manhã para evitar esses longos períodos de molhamento.

Observando-se os dados, nota-se que quando as plantas foram submetidas a 18 horas de molhamento foliar elas mostraram 100% de incidência de brusone, tanto a cultivar suscetível quanto a resistente (Tabela 1), porém, ainda assim houve diferença entre elas em relação à severidade da doença (Tabela 2). A cultivar resistente BR18 apresentou 45% de severidade, enquanto que a cultivar Anahuac (suscetível) apresentou 85% de severidade, mostrando a importância de se empregar cultivares com certo nível de resistência, visto que não há cultivares resistentes a todos os isolados do fungo (URASHIMA; KATO, 1994; URASHIMA *et al.* 2004).

Deve-se avaliar se as cultivares atualmente plantadas comercialmente apresentam resistência baixa ou moderada, uma vez que todas se mostram suscetíveis a brusone. As mais suscetíveis são infectadas mais rapidamente e o desenvolvimento da doença também é mais veloz, aumentando a fonte de contaminação para outras plantas. A cultivar Anahuac é amplamente suscetível a brusone. Urashima *et al.* (2004) estudando o espectro de resistência de

cultivares de trigo, observaram que esta cultivar foi suscetível a todos os 72 isolados testados. Dado compatível com Arruda *et al.* (2005) que observaram incidência alta nesta cultivar, variando de 88,25 a 100% de infestação em espigas de trigo. Nos dias atuais, a cultivar de trigo Anahuac não é mais utilizada em plantios comerciais, porém, mesmo as cultivares hoje plantadas apresentam problemas com brusone, semelhantes aos resultados demonstrados, por isso a doença continua sendo importante e de difícil controle.

A cultivar BR18 se mostrou mais resistente, pois apresentou severidade mais baixa da doença. Essa cultivar já havia se mostrado a mais resistente nos estudos de Urashima *et al.* (2004) e hoje em dia é uma das cultivares mais difundidas no país por apresentar um maior espectro de resistência em relação às outras cultivares. Observando-se os resultados do presente trabalho verifica-se que ocorre incidência da doença nesta cultivar, porém com menor severidade, podendo afirmar que esta cultivar apresenta resistência horizontal, ou seja, a resistência raça não específica, quantitativa, poligênica (vários genes de efeito menor), que pode ser influenciada pelo ambiente, levando a planta a certo grau de resistência. Essa resistência reduz a taxa de desenvolvimento da doença, sem afetar significativamente o inóculo inicial. Visto que a brusone é uma doença de difícil controle, altamente influenciada pelas condições climáticas e seu patógeno apresenta ampla variabilidade genética, é importante procurar cultivares com resistência horizontal para se evitar grandes prejuízos nas lavouras de trigo. Urashima *et al.* (2004) demonstraram essa ampla variabilidade genética em um estudo com 72 isolados e 20 cultivares de trigo, onde nenhuma das cultivares foi resistente a todos os isolados e mais

recentemente Cruz *et al.* (2009) caracterizaram a diversidade genética de 18 isolados de *P. grisea* do trigo e não encontraram nenhum genótipo resistente a todos os isolados do fungo.

Os dados referentes à incidência de brusone nas cultivares BH1146 (resistente) e BR40 (suscetível) em função dos diferentes períodos de molhamento foliar, inoculadas com o isolado PR06-03 encontram-se na Tabela 3 a seguir.

TABELA 3. Incidência de brusone (%) nas cultivares de trigo BH1146 (resistente) e BR40 (suscetível) em diferentes períodos de molhamento foliar inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR06-03.

Cultivares	Horas de molhamento					Média
	6	10	14	18	24	
BH1146	0 aB	0 aB	100 aA	80 aA	100 aA	56 a
BR40	0 aC	0 aC	100 aA	90 aB	100 aA	58 a
Média	0 C	0 C	100 A	85 B	100 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

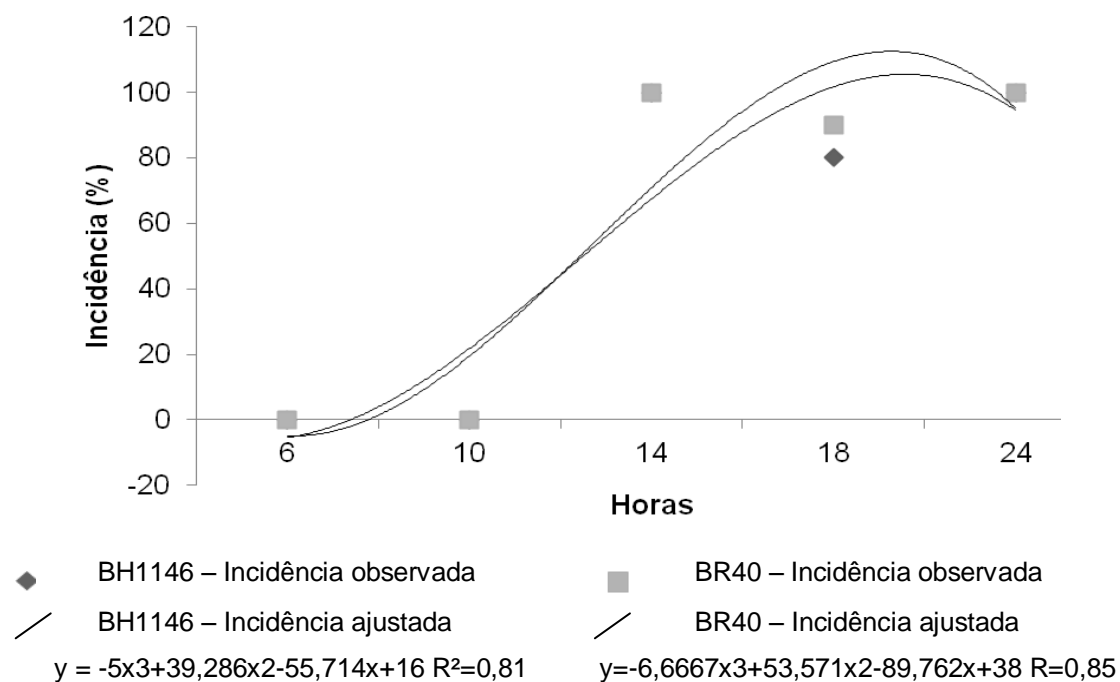


FIGURA 3. Incidência de brusone (%) nas cultivares de trigo BH1146 (resistente) e BR40 (suscetível) inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR06-03.

Foi realizado o estudo de regressão polinomial para complementação da análise estatística. Para as duas cultivares, o melhor modelo ajustado foi o de regressão cúbica e os coeficientes de determinação (R^2) ficaram acima de 80%, indicando um bom ajuste dos modelos.

Até dez horas de molhamento, nenhuma das cultivares mostrou sintomas da doença, sendo que com seis horas foi feita a primeira observação. Quando o período de molhamento foi estendido para 14 horas, as duas cultivares, BH1146 (resistente) e BR40 (suscetível), apresentaram 100% de suas folhas infectadas. Com 18 horas de molhamento foliar, a cultivar suscetível BR40 apresentou 90% de suas folhas infectadas e a cultivar resistente BH1146 80% de suas folhas. As duas cultivares se igualaram

novamente quando submetidas a 24 horas de molhamento, apresentando 100% das plantas infectadas.

A Tabela 4, a seguir, mostra os dados referentes à severidade (em porcentagem) da brusone nas cultivares BH1146 (resistente) e BR40 (suscetível) em função dos diferentes períodos de molhamento foliar, inoculadas com o isolado PR06-03.

TABELA 4. Severidade de brusone (%) nas cultivares de trigo BH1146 (resistente) e BR40 (suscetível) em diferentes períodos de molhamento foliar inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR06-03.

Cultivares	Horas de molhamento					Média
	6	10	14	18	24	
BH1146	0 aC	0 aC	85 aB	85 aB	100 aA	54 a
BR40	0 aC	0 aC	85 aB	85 aB	100 aA	54 a
Média	0 C	0 C	85 B	85 B	100 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

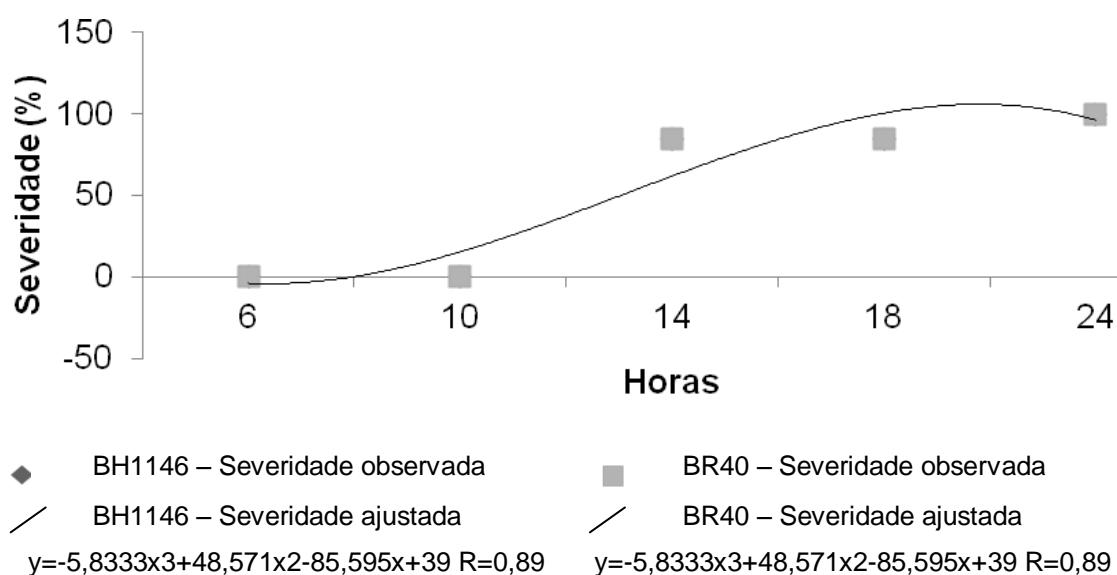


FIGURA 4. Severidade de brusone (%) nas cultivares de trigo BH1146 (resistente) e BR40 (suscetível) inoculadas com o isolado de *Pyricularia grisea* PR06-03.

Foi feito um estudo de regressão polinomial para complementação da análise estatística e para as duas cultivares o melhor modelo ajustado foi o de regressão cúbica. Em ambas as cultivares, os coeficientes de determinação (R²) ficaram acima de 85%, indicando um bom ajuste dos modelos.

Em relação à severidade da doença, as duas cultivares quando inoculadas com o isolado PR06-03, tiveram o mesmo comportamento, ou seja, não apresentaram sintomas quando submetidas a seis e dez horas de molhamento foliar, porém, quando este período foi estendido para 14 horas, as cultivares mostraram 85% de severidade em suas plantas e esse resultado se repetiu com 18 horas de molhamento foliar. Quando esse tempo foi estendido para 24 horas, a severidade das duas cultivares, resistente e suscetível, avançou para 100% das plantas. De acordo com a reação das cultivares de trigo no estágio vegetativo, representado pela incidência e severidade da doença ao isolado de *P. grisea* PR06-03, os resultados mostraram que quanto maior o período de molhamento foliar mais severa a doença para ambas as cultivares.

Resultados compatíveis foram obtidos por Alves e Fernandes (2006) que observaram que umidade relativa elevada (>90%) favorece a produção de conídios de *P. grisea*. Panzer *et al.* (1976), na cultura do arroz, demonstraram que a intensidade da brusone é altamente influenciada pelo aumento da umidade da parte aérea. Dados que concordam também com os observados em fazendas experimentais na Índia, com a cultura do arroz, por Bhatt e Chauhan (1985) e por Vankata Rao e Muralidharan (1982) que observaram que a umidade de 90% durante vários dias seguidos favoreceram o aparecimento da brusone e aceleraram seu desenvolvimento em todos os estágios da

cultura. Piotti *et al.* (2005), estudando a estrutura genética de *P. grisea* em isolados de campos de arroz italiano, afirmaram que umidade relativa entre 85-89% e a presença de orvalho favoreceram a infecção por este patógeno. É de fundamental importância a realização de um manejo diferenciado da irrigação na lavoura de trigo, controlando-se as horas (EMBRAPA, 2012).

A cultivar suscetível Anahuac necessitou de no mínimo dez horas de molhamento para iniciar o processo de infecção, enquanto que a cultivar BR18 (resistentes) necessitou de 14 horas. Dados semelhantes foram demonstrados por Cardoso *et al.* (2008), estudando uma cultivar suscetível de trigo em condições controladas, observaram que o processo de infecção se iniciou quando o período de molhamento foliar excedeu dez horas. Andersen *et al.* (1947), em um dos primeiros trabalhos realizados com a cultura do arroz, em casa de vegetação, mostraram que a partir de dez horas de molhamento da parte aérea ocorreu infecção pelo patógeno causador da brusone e que anos depois foram compatíveis com os dados obtidos por Goulart *et al.* (1992), que constataram que o período de molhamento que favorece a ocorrência da brusone de arroz é 10-14 horas, sendo que OU (1985) concluiu que esta variação é em função da resistência da cultivar.

Comparando os isolados de *P. grisea* utilizados neste experimento, nota-se uma diferença de comportamento entre eles (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Para o isolado PR01-23, a infecção se iniciou com dez horas de molhamento foliar, enquanto que para o isolado PR06-03 foram necessárias 14 horas para o início deste processo. A escolha destes isolados foi feita com base na reação diferencial em cultivares de trigo segundo Arruda *et al.* (2005). Onde, PR06-03 causou reação de suscetibilidade na cultivar de trigo BR40 e reação de

resistência na BH1146, já o isolado PR 01-23 causou reação de suscetibilidade na cultivar de trigo Anahuac e reação de resistência na BR18. Embora no trabalho citado, a cultivar BH1146 tenha se portado de forma resistente ao isolado PR06-03, neste experimento se comportou de forma suscetível. Tal fato pode ser explicado pela existência de condições climáticas extremamente favoráveis ao aparecimento da doença e, ou, segundo Levy *et al.* (1993), que explicam que uma das prováveis causas para que os genótipos se tornem suscetíveis à doença é a ocorrência de trocas genéticas no patógeno gerando formas diferentes de virulência. Em uma única lesão, Cornélio *et al.* (2003) identificaram diferentes raças fisiológicas de *P. grisea* nos isolados, demonstrando alta variabilidade do fungo. É importante caracterizar essa variabilidade no local onde se desenvolve o melhoramento genético das cultivares para entender a dinâmica da virulência do patógeno e adotar estratégias adequadas a fim de aumentar a durabilidade das cultivares resistentes (AMARAL MELLO; URASHIMA, 2003).

Essa diferença de comportamento da cultivar também pode ser explicada por Santos *et al.* (2005), que afirmaram que cultivares resistentes são estudadas e lançadas em todo o mundo todos os anos, porém apresentam vida útil média de dois anos devido ao surgimento de novas raças de patógenos que são capazes de quebrar sua resistência, daí a importância da resistência horizontal. Os mesmos autores, em um estudo sobre diversidade de *P. grisea* em arroz no Tocantins (SANTOS *et al.* 2012) explicaram ainda que a instabilidade desse fungo é devido à existência de raças fisiológicas com características de virulência distintas.

Em um estudo sobre diversidade de isolados de *P. grisea*, Urashima *et al.* (2004) encontraram 30 diferentes padrões de virulência e explicaram que, ainda não foi estabelecido um grupo de cultivares diferenciadoras de raças para este fungo e a maioria dos genótipos apresentam diferentes níveis de resistência a cada isolado, indicando que cada um dos genótipos possui pelo menos um gene de resistência ao patógeno.

Pagani (2011) estudou resistência do trigo à brusone e diversidade de *P. grisea* e concluiu que fontes de resistência ou tolerância a brusone são raras no germoplasma de trigo. Somente 3,4% dos 147 genótipos de trigo avaliados apresentaram reação de resistência e apenas 3% dos 40 isolados monospóricos de *P. grisea* de trigo e de arroz, coletados na região central do Brasil apresentaram similaridade genética, sugerindo significativo isolamento genético entre essas populações.

A dificuldade de encontrar cultivares de trigo resistentes a brusone tem colaborado com a redução da produtividade das lavouras de trigo no Brasil. Segundo McDonald e Linde (2002) para se definir estratégias a fim de aumentar a durabilidade da resistência das cultivares, é importante o conhecimento da população do patógeno, que pode variar de acordo com a influência das condições ambientais, principalmente em função do período de molhamento, seja através de irrigação, chuvas ou orvalho.

Mesmo empregando-se cultivares com certo grau de resistência, se o fungo encontrar condições favoráveis ao seu desenvolvimento, danos por brusone serão causados na lavoura. Segundo um estudo com cultivares de trigo, realizado por Igarashi (1988), quando a umidade se encontrava acima de

90%, com temperaturas entre 23-28°C não houve cultivares resistentes a brusone.

Para se obter cultivares resistentes à brusone do trigo, principalmente para as novas áreas de expansão da cultura, é necessário que os programas de melhoramento conheçam a diversidade fisiológica de *P. grisea*, encontradas nessas regiões de expansão (SANTOS *et al.* 2012) e, também, considerem como fator primordial as variáveis climáticas, em especial a exposição à umidade.

3.4 CONCLUSÕES

- O período de molhamento foliar necessário para infecção variou em função da resistência das cultivares e dos isolados do fungo, sendo dez horas o período de molhamento foliar mínimo;
- Quanto maior o período de molhamento foliar, maior a severidade da doença para as duas cultivares, tanto resistente quanto suscetível.

4. CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Pyricularia grisea* NA OCORRÊNCIA DA BRUSONE EM PLÂNTULAS DE TRIGO

RESUMO

A brusone do trigo está disseminada nos principais estados produtores do país e seu controle através de cultivares resistentes pode ser influenciado pelas condições climáticas e pela concentração de inóculo na lavoura. O objetivo do trabalho foi determinar a influência da temperatura e concentração de inóculo de *Pyricularia grisea* na incidência e severidade da brusone. Utilizou-se um isolado do fungo (PR 01-23) e duas cultivares de trigo no estágio de plântula, com reação diferenciada (Anahuac suscetível e BR18 resistente) em dez repetições de quatro tratamentos inoculados com 50 mL nas concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 esporos/mL. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial dos tratamentos (concentrações do inóculo e cultivares). As plantas foram submetidas às temperaturas de 22°C e 28°C por 18 horas de molhamento foliar. Avaliou-se a incidência e a severidade da brusone em porcentagem. Os resultados obtidos mostraram que à 22°C a severidade foi maior na cultivar suscetível e igual para as cultivares a 28°C. A cultivar resistente se comportou de forma semelhante a suscetível, quando submetida à alta temperatura e altas concentrações de inóculo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*, concentração de inóculo, infecção, diferentes temperaturas.

4.1 INTRODUÇÃO

A brusone do trigo, causada pelo fungo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. (teleomorfo: *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr.), foi diagnosticada primeiramente no Brasil em 1995 no estado do Paraná (IGARASHI et al.1986) e desde então tem causado danos nas lavouras de trigo do Brasil. Os sintomas da doença são percebidos em todos os órgãos aéreos da planta (GOULART, 2000). Atualmente a brusone tem tomado destaque entre as doenças que afetam a cultura do trigo.

A alta severidade da brusone do trigo pode ser explicada pelas condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento do fungo, encontrada nas áreas de cultivo do cereal, uma vez que a doença é favorecida por temperaturas de 21-27°C e 10-14 horas de molhamento da parte aérea (GOULART et al.1992).

O conhecimento da interação patógeno-hospedeiro-ambiente é imprescindível para um bom manejo da doença. Sabe-se que o fungo de *P. grisea* pode sobreviver de um ano para o outro em sua fase saprofítica nos restos culturais de plantas cultivadas, sendo uma importante fonte de inóculo primário (GOULART, 1990).

É importante verificar se a resposta da cultivar é influenciada pelas condições climáticas e, também, pela concentração de inóculo na lavoura. Essa concentração de inóculo na lavoura é influenciada pela sobrevivência do patógeno em hospedeiros secundários, restos culturais, sementes e plantas voluntárias. Além disso, a disseminação dos conídios ocorre principalmente através do vento e lavouras vizinhas ou distantes e aquelas implantadas mais

cedo podem produzir uma carga considerável de esporos, sendo fontes importantes de inóculo (KIMATI, 2005).

A interação de altas temperaturas com grande quantidade de inóculo presente no campo pode ser uma combinação prejudicial à produtividade da lavoura, visto que a brusone pode vir a se manifestar de forma severa. Contudo, poucos são os estudos que abordam esses temas em conjunto.

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi estudar a influência da temperatura e concentração de inóculo de *P. grisea* na ocorrência da brusone em plântulas de trigo, com reação diferenciada ao fungo.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), campus Araras/SP no Laboratório de Genética Molecular (LAGEM).

Hospedeiro

Utilizaram-se cultivares de trigo no estágio de plântula (três folhas), com reação diferenciada aos isolados: BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível), cedidas pela Embrapa-Trigo, Embrapa-CPAO e Coodetec e multiplicadas no LAGEM/CCA/UFSCar. As sementes foram pré-germinadas em placas de Petri com papel de filtro e água e posteriormente transferidas para recipientes plásticos de 200mL. Transferiram-se cinco sementes por recipiente com substrato composto por: casca de pinus, vermiculita e casca de arroz vaporizado. Esses recipientes foram mantidos em casa de vegetação com as

regas necessárias até atingirem estágio de três folhas para a submissão aos diferentes tratamentos.

Isolados

Utilizou-se o isolado de *P. grisea* PR 06-03 que foi obtido monosporicamente da cultivar de trigo CD-104 coletada em Cascavel/PR em setembro de 1998. Este isolado encontra-se conservado em sementes de cevada esterilizadas e mantidas a 5°C e baixa umidade no LAGEM/CCA/UFSCar. Ele foi escolhido com base na reação diferencial em cultivares de trigo. Assim, causou reação de suscetibilidade na cultivar de trigo Anahuac e reação de resistência na cultivar BR18 (URASHIMA *et al.* 2004).

Preparação de inóculo e inoculação

Os isolados para inoculação foram multiplicados a partir das sementes colonizadas de cevada em Placas de Petri com Meio de Aveia (60g de aveia, 12g de ágar em um litro de água destilada) por 20 dias à temperatura constante de 25°C. Utilizou-se antibiótico (gentamicina) para evitar o crescimento de bactérias contaminantes. Após esse período, o micélio aéreo foi retirado com a ajuda de um pincel e água destilada esterilizada e, posteriormente, colocados em câmara sob luz fluorescente constante à temperatura ambiente para indução de esporulação. Após quatro dias, os esporos foram desalojados com água destilada e filtrados em lenço de papel. O volume de suspensão para a inoculação de cada conjunto foi de 50 mL com as concentrações referentes aos tratamentos, ajustados para 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 e 1×10^6 esporos/mL acrescentados de Tween 20 a 0,01%, como espalhante.

A inoculação foi feita com pulverizador manual e o período de molhamento foliar após a inoculação (para ocorrer a infecção) foi obtido através da cobertura das plantas com saco plástico de cor preta por 18 horas. Após a inoculação, as plantas foram submetidas às temperaturas de 22°C e 28°C, em sala climatizada. Passadas às 18 horas, as plantas permaneceram em sala climatizada a temperatura controlada de 25°C até a avaliação que foi realizada no aparecimento da doença.

Avaliação

Os parâmetros avaliados foram: incidência e severidade da brusone. A incidência foi determinada pelo número de plantas apresentando sintomas da doença, expressa em porcentagem. Avaliou-se a severidade da brusone na folha A2 (HAUN, 1973) de cada planta, utilizando-se uma escala com valores de severidade variando de 0 a 100% (IRRI, 1996) no aparecimento da doença.

Análise dos dados

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2, onde os tratamentos foram: quatro concentrações do fungo (10^3 , 10^4 , 10^5 e 10^6 esporos/mL) e duas cultivares de trigo, com dez repetições. Os resultados de incidência da doença foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Para a análise de severidade da doença, os dados foram transformados antes da realização das análises de variância e comparação múltipla. Seguiu-

se o procedimento adotado por Couto (2008), a saber, transformação Box-Cox adaptada, de acordo com a seguinte expressão:

$$\begin{cases} f(x) = \frac{(x+0,5)^\lambda - 1}{\lambda}, & \text{se } \lambda \neq 0 \\ f(x) = \ln(x+0,5), & \text{se } \lambda = 0 \end{cases}$$

Onde:

- x = valor de cada observação e,
- λ é um parâmetro a ser estimado

Testou-se o intervalo $-2 \leq \lambda \leq 2$, com a estimativa feita da seguinte maneira: i) transformação dos dados para cada valor, a intervalos de 0,25 para λ ; ii) realização da análise de variância com os dados assim transformados, para cada valor de λ ; iii) identificação do valor de λ que resultou no menor quadrado médio do resíduo (*QMR*), valor este adotado para o prosseguimento da análise. Na análise de variância, adotou-se o teste *F*. Para comparação múltipla, adotou-se o teste de Tukey, a 5% de significância.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes à incidência de brusone nas cultivares BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas com quatro diferentes concentrações de conídios de *P. grisea* (Isolado PR06-03) e submetidas à temperatura de 22°C encontram-se na Tabela 5 a seguir.

TABELA 5. Incidência de brusone (%) a 22°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

Cultivares	Esporos/mL				Média
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
BR18	1,3 bB	7,0 bB	53,4 bA	72,0 bA	33,4 b
Anahuac	48,7 aB	80,0 aA	80,5 aA	94,8 aA	76,0 a
Média	25,0 D	43,5 C	67,0 B	83,4 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

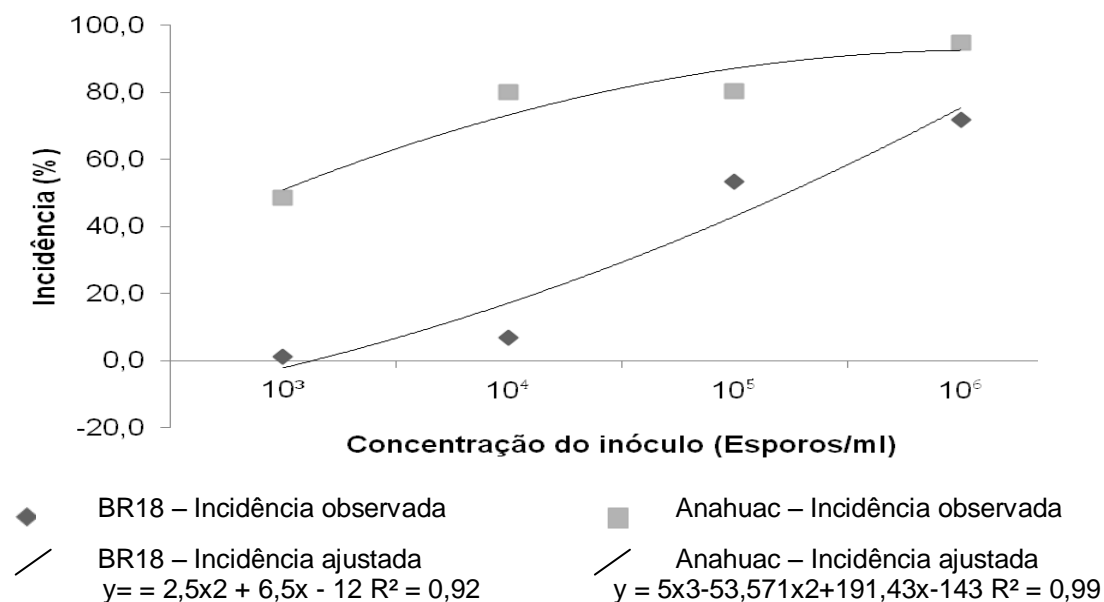


FIGURA 5. Incidência de brusone (%) a 22°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

A Figura 5 mostra um estudo de regressão polinomial realizado para a complementação da análise estatística, e para a cultivar BR18 o melhor modelo ajustado para as duas cultivares foi o de regressão quadrática. Em ambas as cultivares, os coeficientes de determinação (R^2) ficaram acima de 90%, indicando um excelente ajuste dos modelos.

A avaliação foi realizada no aparecimento da doença, portanto, o período de latência a 22°C foi de cinco dias após a inoculação.

Houve diferença na incidência da doença entre as cultivares, independente da concentração do inóculo (Tabela 5). Quando a quantidade de inóculo do fungo foi de 10^3 esporos/mL, a cultivar BR18 (resistente) apresentou 1,3% de suas plantas infectadas, enquanto que a cultivar suscetível Anahuac já mostrava infecção em 48,7% de suas plantas. Quando essa quantidade de inóculo do fungo passou para 10^4 esporos/mL, a porcentagem de plantas infectadas era de 7,0% para a cultivar BR18 (resistente) e de 80% para a Anahuac (suscetível). Com a quantidade do fungo de 10^5 esporos/mL, a cultivar Anahuac continuou apresentando 80% de suas plantas infectadas enquanto que a BR18 saltou de 7 para 53,4% de plantas infectadas, chegando ao 72% quando essa quantidade de fungo foi aumentada para 10^6 esporos/mL. Nesta quantidade de esporos/mL (10^6), a cultivar suscetível apresentou 94,8% de incidência da doença.

A Tabela 6, a seguir, mostra os dados referentes à severidade de brusone nas cultivares BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas com quatro diferentes concentrações de conídios de *P. grisea* (Isolado PR06-03) e submetidas à temperatura de 22°C.

A Figura 6 apresenta um estudo de regressão polinomial para complementação da análise estatística, onde o melhor modelo ajustado para a cultivar BR18 foi o de regressão quadrática, enquanto que para a Anahuac foi o modelo linear. Em ambas as cultivares obteve-se ótimos coeficientes de determinação (R^2), indicando um ótimo ajuste dos modelos.

TABELA 6. Severidade de brusone (%) a 22°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

Cultivares	Esporos/mL				Média
	10^3	10^4	10^5	10^6	
BR18	0,6 bB	0,4 bB	13,5 bAB	30,8 bA	11,3 b
Anahuac	15,8 aC	49,3 aB	68,8 aAB	73,5 aA	51,9 a
Média	8,2 C	24,9 B	41,1 A	52,2 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

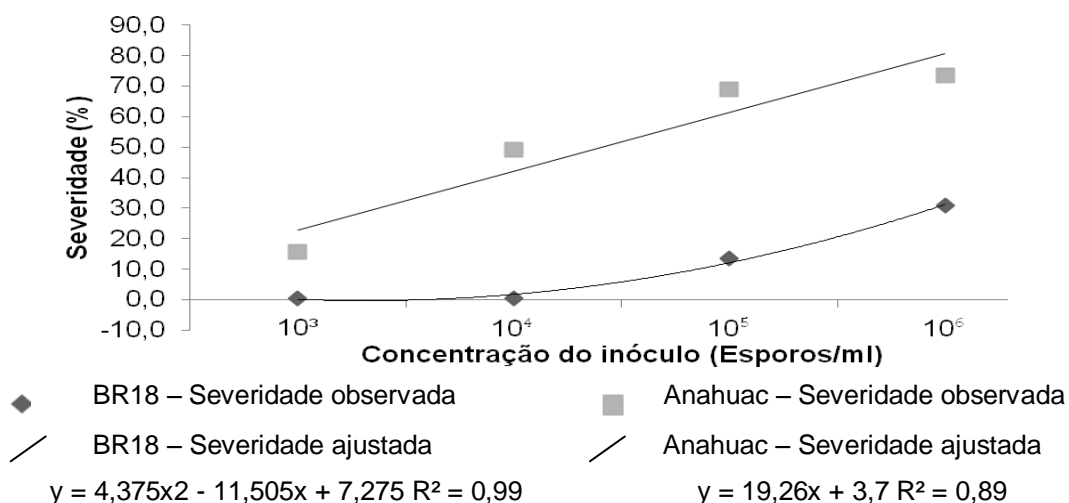


FIGURA 6. Severidade de brusone (%) a 22°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

Em relação à severidade da doença a 22°C, foi observada uma diferença de comportamento entre as cultivares, resistente e suscetível. Quando a quantidade de inóculo do patógeno foi de 10^3 esporos/mL a cultivar

BR18 (resistente) apresentou somente 0,6% de área lesionada das folhas, enquanto que a cultivar Anahuac (suscetível) apresentou 15,8%. Quando essa quantidade de esporos/mL foi aumentada para 10^4 , a cultivar BR18 continuou apresentando baixa severidade da doença (0,4%) ao passo que a cultivar Anahuac apresentou 49,3% de lesão em suas folhas. Já na concentração 10^5 esporos/mL, a cultivar BR18 mostrou 13,5% de severidade e a cultivar Anahuac 68,8%. Com a quantidade de inóculo aumentada para 10^6 esporos/mL, a severidade da brusone foi de 30,8% para a cultivar BR18 e 73,5% para a cultivar Anahuac.

Houve uma relação direta entre a quantidade de inóculo do fungo e a incidência e severidade da doença, ou seja, quanto maior a quantidade de inóculo, maior a incidência e a severidade da doença. Porém, a cultivar Anahuac (suscetível) sempre apresentou maior quantidade de doença do que a cultivar BR18 (resistente), independente da quantidade do fungo. Isso pode ser confirmado observando-se a Tabela 5, pois com a quantidade 10^4 esporos/mL a cultivar Anahuac já apresentava doença em 80% de suas folhas, enquanto que a cultivar BR18 chegou próxima a esta porcentagem com a quantidade de 10^6 esporos/mL.

Quando a quantidade do fungo encontra-se alta não existe cultivar resistente, pois todas elas se comportam como suscetíveis. Isso vale para o inverso também, pois em baixas quantidades de fungo existem cultivares que podem ter resistência a brusone, como foi o caso da cultivar BR18. Neste sentido é interessante manter baixas concentrações do fungo na lavoura e isso pode ser realizado através do preparo do solo com aração profunda para uma boa incorporação de restos vegetais, tratamento de sementes (GOULART;

PAIVA, 1991), eliminação de restos culturais, de plantas invasoras e de hospedeiros secundários. Um dos hospedeiros secundários mais conhecidos é a *Digitaria sanguinalis*, porém já foi demonstrado que *Setaria geniculata* e *Brachiaria decumbens* são hospedeiros de *P. grisea* no Brasil (URASHIMA; KATO, 1998). Gomes (2012) afirmou que ocorre a transmissão de *P. grisea* da planta para a semente e da semente para a plântula, com taxas variáveis, em função da quantidade de inóculo inicial existente no no campo e do genótipo de trigo estudado.

Por se tratar de um fungo necrotrófico, *P. grisea* sobrevive em restos culturais e o ciclo primário de desenvolvimento é iniciado quando cultivares suscetíveis são expostas ao inóculo sob condições ambientais favoráveis. Já foi comprovado que esse fungo sobrevive às estações de cultivo na forma de micélio e de conídios sobre a palha, sementes e plantas invasoras e, nos trópicos os conídios estão presentes no ar o ano todo (AGRIOS, 2005). Além disso, o fungo é facilmente disseminado pelo vento, podendo atingir campos distantes a pelo menos um quilometro do foco da doença, atentando que qualquer estratégia de controle da brusone tem que levar essa distância em consideração (URASHIMA *et al.* 2007). A existência de grande quantidade de inóculo no solo, quando em condições favoráveis para o crescimento e desenvolvimento do fungo, pode trazer danos consideráveis ao rendimento da lavoura, independente se o produtor está utilizando uma cultivar resistente. Por isso deve-se atentar para plantios em campos já atacados pela brusone e, também, de não ser o último campo a ser semeado, pois se o produtor utilizar uma cultivar com certa resistência, a doença pode atacar severamente devido ao potencial de inóculo vindo das lavouras próximas.

A Tabela 7, a seguir, mostra os dados referentes à incidência de brusone nas cultivares BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas com quatro diferentes concentrações de conídios de *P. grisea* (Isolado PR06-03) e submetidas à temperatura de 28°C. Para complementação da análise, a Figura 7 mostra o estudo de regressão polinomial. Para as duas cultivares o melhor modelo ajustado foi o de regressão quadrática.

TABELA 7. Incidência de brusone (%) a 28°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

Cultivares	Esporos/mL				Média
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
BR18	8,5 bB	20,0 bB	80,8 aA	69,5 aA	44,7 b
Anahuac	40,0 aB	82,1 aA	90,7 aA	77,3 aA	72,5 a
Média	24,3 C	51,1 B	85,8 A	73,4 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

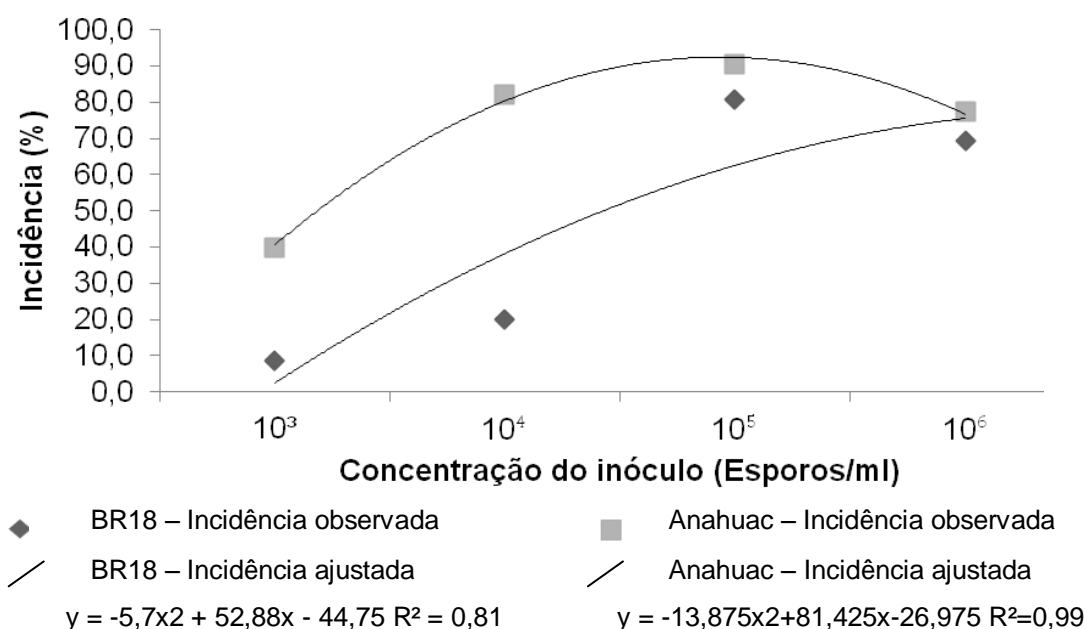


FIGURA 7. Incidência de brusone (%) a 28°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

A avaliação foi realizada no aparecimento da doença, portanto, o período de latência a 28°C foi de três dias após a inoculação.

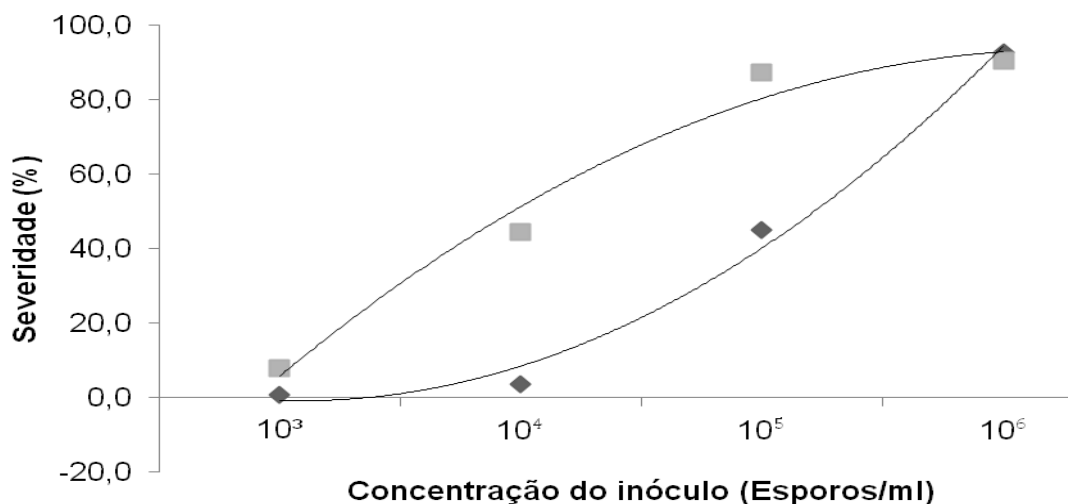
A 28°C, em diferentes concentrações de inóculo do fungo, a doença se comportou da seguinte maneira: quando a quantidade de inóculo do fungo foi de 10^3 esporos/mL a cultivar BR18 (resistente) apresentou 8,5% de suas plantas infectadas, enquanto que a cultivar Anahuac (suscetível) já mostrava infecção em 40% de suas plantas. Quando essa quantidade de inóculo passou para 10^4 esporos/mL a porcentagem de plantas infectadas era de 20% para a cultivar BR18 (resistente) e de 82% para a Anahuac (suscetível). Com a quantidade do fungo de 10^5 esporos/mL a cultivar Anahuac apresentou 90,7% de suas plantas infectadas enquanto que a BR18 saltou de 20 para 80,8% de plantas infectadas, e quando inoculadas com a quantidade de 10^6 esporos/mL apresentaram 69,5% de incidência para a BR18 e 73,4% para a Anahuac.

A Tabela 8 mostra os dados referentes à severidade de brusone nas cultivares BR18 e Anahuac em quatro diferentes concentrações de inóculo de *P. grisea* (Isolado PR06-03) à 28°C. A Figura 8 apresenta um estudo de regressão polinomial para complementação da análise estatística. O melhor modelo ajustado para BR18 foi o de regressão quadrática, enquanto que para a Anahuac foi o modelo linear. Obteve-se altos coeficientes de determinação (R^2), indicando um ótimo ajuste dos modelos.

TABELA 8. Severidade de brusone (%) a 28°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

Cultivares	Esporos/mL				Média
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
BR18	0,9 aC	3,8 bC	45,0 bB	92,9 aA	35,6 b
Anahuac	8,1 aC	44,5 aB	87,3 aA	90,6 aA	57,6 a
Média	4,5 D	24,1 C	66,1 B	91,8 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



◆ BR18 – Severidade observada ■ Anahuac – Severidade observada
 / BR18 – Severidade ajustada / Anahuac – Severidade ajustada
 $y = 11,25x^2 - 24,53x + 12,6$ $R^2 = 0,99$ $y = -8,275x^2 + 70,405x - 56,325$ $R^2 = 0,98$

FIGURA 8. Severidade de brusone (%) a 28°C nas cultivares de trigo BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) inoculadas em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03).

Em relação à severidade da doença a 28°C, observou-se que na concentração de inóculo do fungo de 10³ esporos/mL as duas cultivares BR18 (resistente) e Anahuac (suscetível) observou-se o mesmo comportamento, apresentando 0,9% e 8,1% de área lesionada das folhas respectivamente. Quando essa quantidade de esporos/mL foi aumentada para 10⁴, a cultivar BR18 continuou apresentando baixa severidade da doença (3,8%), enquanto a cultivar Anahuac apresentou 44,5% de lesão em suas folhas. Já na

concentração 10^5 esporos/mL a cultivar BR18 passou a apresentar severidade de 45% e a cultivar Anahuac 87,3%. Com a quantidade de inóculo aumentada para 10^6 esporos/mL, a severidade da brusone foi da ordem de 90% para as duas cultivares, resistente e suscetível.

Comparando-se o comportamento das duas cultivares nas duas temperaturas, observou-se que houve incidência da doença nas duas cultivares tanto a 22°C quanto a 28°C, porém a severidade da doença foi sempre maior na cultivar suscetível (Anahuac), que apresentou alta severidade da doença em ambas temperaturas.

A cultivar resistente BR18 apresentou maior severidade da doença quando submetida a temperatura de 28°C. Observando-se as Tabelas 6 e 8 nota-se que a cultivar resistente BR18 na maior quantidade de inóculo do fungo (10^6) a 22°C apresentou 30,8% de severidade ao passo que a 28°C a severidade foi de 92,9%, igualando-se a cultivar suscetível Anahuac, que por sua vez apresentou maior quantidade de doença do que a cultivar BR18, independente da quantidade do fungo.

À 22°C o período de incubação da doença foi maior e os sintomas apareceram cinco dias após a inoculação. Já à 28°C, o período de incubação foi menor e os sintomas apareceram três dias após a inoculação. Houve diferença significativa no comportamento das duas cultivares (resistente e suscetível) mostrando a importância de se saber para qual temperatura uma cultivar resistente foi desenvolvida, para que ela possa ser usada em diferentes regiões do Brasil sem perder sua eficiência. Esses dados foram compatíveis com os obtidos por Friesland e Schrodter (1988) que mostraram a influência da temperatura sobre o período de incubação de doenças de plantas. Neste

trabalho, foi observado também que o período de incubação e o período de latência coincidiram nas duas temperaturas, pois se observou a presença de esporulação quando as lesões se tornaram visíveis. Essa é uma observação importante, pois quanto maior a quantidade de inóculo, maior a intensidade da doença, sendo característica de doença policíclica, no qual a duração do período de latência determina o número de gerações do patógeno no ciclo de cultivo do hospedeiro (KRANZ, 2002).

Outro aspecto epidemiológico observado neste experimento, também característico de doença policíclica como a brusone, foi que as lesões aumentaram sua área nas plântulas com o passar do tempo. Notou-se que a severidade da doença aumentou com o aumento da concentração de inóculo do fungo para as duas cultivares nas duas temperaturas estudadas, 22°C e 28°C. Esses dados concordam com os obtidos por Dias Neto *et al.* (2010), que mostraram uma correlação positiva entre a concentração de conídios e a severidade da brusone nas folhas de arroz irrigado para cultivares consideradas resistente e suscetível.

De acordo com os dados do presente experimento, quanto maior a temperatura, menor o período de latência da brusone e, conseqüentemente, maior a intensidade da epidemia. Um período de latência maior implica em maior resistência da planta à infecção e colonização pelo patógeno e, embora as cultivares tenham apresentado comportamento estatístico diferenciado em determinadas concentrações do inóculo, a partir da concentração 10^5 esporos/mL, a cultivar resistente apresentou danos severos, pois a incidência da doença foi maior que 50% à 22°C e maior que 80% à 28°C, demonstrando a influência da temperatura na intensidade de infecção da doença. Esses dados

concordam com os de Alves e Fernandes (2006), que afirmaram que a produção de conídios de *P. grisea* foi favorecida quando a temperatura se encontrava ao redor de 28°C.

A combinação das condições climáticas com o período de latência do fungo gera dificuldades em se controlar a doença, pois quando os sintomas aparecem visíveis o fungo já se encontra instalado e o controle químico com fungicidas torna-se comprometido. As primeiras lesões são observadas dentro de quatro a cinco dias após a penetração do fungo na planta, daí a importância de se utilizar um fungicida sistêmico no controle da brusone e realizar uma rápida aplicação.

A Tabela 9 mostra o comportamento da cultivar resistente BR18 nas temperaturas avaliadas (22°C e 28°C). No estudo de regressão polinomial realizado o melhor modelo ajustado para as duas temperaturas foi o de regressão quadrática.

TABELA 9. Severidade de brusone (%) na cultivar de trigo BR18 (resistente) inoculada em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03), nas temperaturas 22°C e 28°C.

BR18	Esporos/mL				Média
	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
22°C	0,6 aB	0,4 aB	13,5 bB	30,8 bA	11,3 b
28°C	0,9 aC	3,8 aC	45,0 aB	92,9 aA	35,6 a
Média	0,8 C	2,1 C	29,3 B	61,9 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

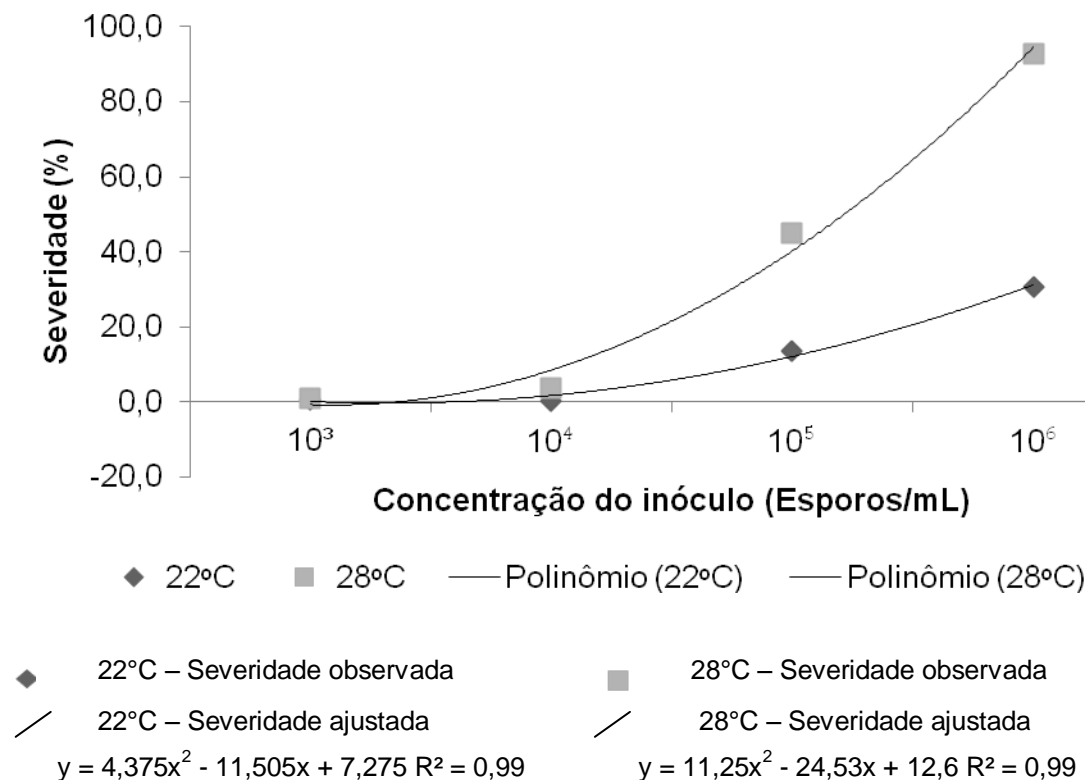


FIGURA 9. Severidade de brusone (%) na cultivar de trigo BR18 (resistente) inoculada em diferentes concentrações de inóculo de *Pyricularia grisea* (isolado PR06-03), nas temperaturas 22°C e 28°C.

De acordo com os resultados, observa-se que a severidade aumenta com o aumento da concentração de inóculo, sendo ainda maior a 28°C. Este resultado evidencia que em uma região de temperaturas relativamente elevadas, com altas concentrações do fungo pode-se ter maiores problemas com brusone do que em regiões de clima ameno. Isso é um fato preocupante visto que a cultura do trigo tem se expandido para regiões do Brasil Central, onde a ocorrência de temperaturas mais elevadas é frequente, contribuindo para uma maior ocorrência de brusone.

Para Alves e Fernandes (2006), o efeito de elevadas temperaturas juntamente com alta umidade relativa do ar resultaram em elevadas produções de conídios de *P. grisea*. Dessa forma, foi demonstrado que as condições

edafoclimáticas podem favorecer o desenvolvimento da doença e, conseqüentemente, o dano causado à lavoura.

Além disso, altas temperaturas comprometem a eficiência do controle químico, como foi mostrado por Bacalhau *et al.* (2011), que observaram que o fungicida trifloxistrobina+tebuconazol foi mais eficiente à 18°C. Da mesma forma, Guedes e Urashima (2012) observaram que o controle químico foi pouco eficiente em alta temperatura, pois não suprimiu a doença, somente aumentou o período de latência.

Na maior temperatura e concentração de esporos observou-se maior severidade da doença. Dados semelhantes foram obtidos por Arendt (2006) e Araújo e Prabhu (2002).

O plantio da cultura em condições menos favoráveis ao desenvolvimento das lesões pode ser usado como manejo ao patossistema brusone/trigo. Fatalmente ocorrerá manifestação da doença se existirem simultaneamente condições favoráveis, hospedeiro suscetível e patógeno virulento. Dessa forma, as informações desse estudo colaboram para mostrar a importância da associação entre clima e doença, auxiliando um melhor manejo da doença a fim de diminuir o risco de epidemias.

4.4 CONCLUSÕES

- Quanto maior a concentração de inóculo de *P. grisea* maior a severidade da brusone do trigo para as duas cultivares, resistente e suscetível;
- O período de latência da brusone foi menor à 28°C;
- A cultivar de trigo resistente se comportou como suscetível quando em alta temperatura e altas concentrações de inóculo de *P. grisea*;
- A severidade da brusone foi maior à 28°C do que à 22°C para a cultivar resistente BR18.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O período de molhamento foliar necessário para infecção variou em função da resistência das cultivares e dos isolados do fungo, sendo dez horas o período de molhamento foliar mínimo para o aparecimento da doença;
- Quanto maior o período de molhamento foliar, maior a severidade da doença para as duas cultivares, tanto resistente quanto suscetível;
- Quanto maior a concentração de inóculo de *P. grisea* maior a severidade da brusone do trigo para as duas cultivares, resistente e suscetível;
- A cultivar de trigo resistente se comportou como suscetível quando em alta temperatura e altas concentrações de inóculo de *P. grisea*;
- Este estudo colabora com o manejo da brusone do trigo a fim de diminuir o risco de epidemias.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. Environmental effects on the development of infectious plant disease. In: **Plant pathology**. 5th ed. London: Elsevier, 2005. Chap. v. 7. p. 249-263.
- 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**, Brasília, v. 31, n. 6, p. 579-584, 2006.
- AMARAL MELLO, A.P.; URASHIMA, A.S. Diversidade da virulência de *Pyricularia grisea* num local de melhoramento genético de arroz. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 541-543, 2003.
- ANDERSEN, A. L.; HENRY, B. W.; TULLIS, E. C. Factors affecting infectivity, spread and persistence of *Pyricularia Oryzae* Cav. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 37, p. 94-110, 1947.
- ANJOS, J.R.N. dos; SILVA, D.B. da; CHARCHAR, M.J.D.; RODRIGUES, G.C. Ocorrência de Brusone (*Pyricularia grisea*) em trigo e centeio na região dos cerrados do Brasil Central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.1, p.79-82, jan. 1996.
- ARAUJO, L. G.; PRABHU, A. S. Indução de variabilidade na cultivar de arroz Metica-1 para resistência a *Pyricularia grisea*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 12, p. 1689-1695. 2002.
- ARENDRT, P. F. **Resistência de genótipos de trigo à brusone**. 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2006.
- ARRUDA, M.A.; BUENO, C.R.N.C.; ZAMPROGNO, K.C.; LAVORENTI, N.A.; URASHIMA, A.S. Reação de trigo a *Magnaporthe grisea* nos diferentes estádios de desenvolvimento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.2, p.121-126, 2005.
- BACALHAU, F. B.; MARIANO, E. D.; URASHIMA, A. S. Avaliação “in vitro” de fungicida em diferentes concentrações no controle de *Magnaporthe grisea* em função da temperatura. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.37, p.73-73, 2011. Suplemento.

BEDENDO, I.; AMORIM, L. História da fitopatologia. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H., AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. Piracicaba: Ceres, 2011. v. 1. cap. 1. p. 2-12.

BEDENDO, I. P.; PRABHU, A. S. Doenças do arroz. In: KIMATI; H., AMORIM; L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo, Agronômica Ceres, 2005. v. 2. p.79-90.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. História da fitopatologia. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H., AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. Piracicaba: Ceres, 1995. v. 1. cap. 1. p. 2-12. 1995.

BHATT, J. C.; CHAUHAN, V. S. Epidemiological studies on neck blast of rice in U.P. Hills. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 38, n. 1, p.12-130, 1985.

CARDOSO, C. A.; REIS, E. M.; MOREIRA, E. N. Development of a warning system for wheat blast caused by *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 3, p. 21-221, 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos: safra 2009/2010: sétimo levantamento (Abril/2010). Brasília, 2009. Disponível em:
<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/6graos_09.03.10.pdf>
Acesso em: 20 fev. 2013.

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 e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1016-1022. 2003.

COUTO, M. R. M. **Transformação de dados com excesso de zero em experimentos com culturas olerícolas**. 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2008.

CRUZ, M.F.A.; MACIEL, J.L.N.; PRESTES, A.M.; BOMBONATTO, E.A.S.; PEREIRA, J.F.; CONSOLI, L. Caracterização genética e fenotípica de isolados de *Pyricularia grisea* do trigo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.34, n.6, p.393-401, 2009.

DIAS NETO, J. J.; SANTOS, G. R.; CASTRO NETO, M. D.; ANJOS, L. M.; CUNHA, A. C. F.; IGNACIO, M. Influência do meio de cultura na esporulação de *Magnaporthe Pyricularia grisea* e da concentração de conídios na

severidade da brusone do arroz. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n.2, p. 173-179. 2010.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. J. M. **Projeto de brusone do trigo é tema de encontro**. 2009. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2009/maio/1a-semana/workshop-orienta-projeto-de-brusone-do-trigo/>>. Acesso em: 28 fev. 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Aumento da Brusone prejudica safra de trigo no Cerrado**. 2009. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2009/julho/2a-semana/aumento-da-brusone-prejudica-safra-de-trigo-no-cerrado/>>. Acesso em: 28 fev. 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Incidência de brusone exige cuidados do produtor**. 2012. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2012/julho/4a-semana/trigo-incidencia-de-brusone-exige-cuidados-do-produtor/>>. Acesso em: 25 abr. 2012.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **FAOSTAT**. 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 20 fev. 2010

FRIESLAND, H.; SCHRODTER, H. The analysis of weather factors in epidemiology. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed.). **Experimental techniques in plant diseases epidemiology**. Berlim. Springer-Verlag, 1988. p. 115-133.

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

GHINI, R.; HAMADA, E. **Mudanças climáticas: impactos sobre doenças de plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008.

GOMES, D.P. **Incidência de *Pyricularia grisea* em genótipos de trigo em função da quantidade de inóculo inicial no campo: avaliação de danos e**

métodos de detecção nas sementes. 131 f. 2012. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, 2012.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Transmissão de *Pyricularia grisea* através de sementes de trigo (*Triticum aestivum*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, p. 359-362, 1990.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Controle de *Pyricularia oryzae* e *Helminthosporium sativum* pelo tratamento de sementes de trigo com fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 1983-1988, 1991.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F. A. Incidência da Brusone (*Pyricularia oryzae*) em diferentes cultivares de trigo (*Triticum aestivum*) em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p.321-325, set. 1992.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. A. Response of wheat cultivar and breeding lines to blast (*Pyricularia grisea*) under field conditions, 1991. **Annual Wheat Newsletter**, Fort Collins, v.39, p.109-112, jun. 1993.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F. de A.; ANDRADE, P.J.M. Relação entre a incidência da brusone em espigas de trigo e a presença de *Pyricularia grisea* nas sementes colhidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 184-189, 1995.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F. de A.; MELO FILHO, G.A. de; RICHETTI, A. Efeito da época e do número de aplicações dos fungicidas tebuconazole e mancozeb no controle da Brusone (*Pyricularia grisea*) do trigo: viabilidade técnica e econômica. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 381-387, 1996.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.26, p. 279-282, 2000.

GOULART, A.C.P.; NASSER, L.C.B.; AZEVEDO, J.A. de. Manejo integrado de doenças em trigo irrigado sob pivô central na região do cerrado. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado**: fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. p.137-163,.

GOULART, A. C. P.; SOUSA, P. G.; URASHIMA, A. S. Danos em trigo causados pela infecção de *Pyricularia grisea*. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 4, dez. 2007.

GUEDES, E.; URASHIMA, A. S. Efeito da temperatura na eficiência do controle químico da brusone do trigo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, p. 473-473, 2012. Suplemento.

HAUN J.R. Visual quantification of wheat development. **Agronomy Journal**, v. 65, p.116-119, 1973.

HOWARD, R.J.; VALENT, B. **Breaking and entering**: host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*. **Annual Review of microbiology**, Delaware, v.50, p.491-512, 1996.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C.M.; IGARASHI, L.C.; KAZUMA, A.H.; LOPES, R.S. *Pyricularia* em trigo. 1. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, p. 351-352, 1986.

IGARASHI, S. Análise da ocorrência de brusone do trigo no Paraná. **XV Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo**, CNTP/EMBRAPA, Passo Fundo, 1988.

IGARASHI, S. Update on wheat blast (*Pyricularia oryzae*) in Brazil. In: SAUNDERS, D.A. (Ed.) INTERNATIONAL CONFERENCE-WHEAT FOR THE NONTRADITIONAL WARM AREAS, 1990, Mexico. **Proceedings...** Mexico: CIMMYT, 1990. p.480-83.

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

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Chuvas acima da média 2009**. Disponível em: <<http://www.inpe.br/resultado.php.html>>. Acesso em: 22 fev. 2010.

INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Standard evaluation system for rice**. 4th ed. Manila: IRRI, 1996.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2.

KRANZ, J. The infection cycle or chain. In: COMPARATIVE epidemiology of plant diseases. Berlin: Springer, 2002. chap. 4. p. 49-92.

LASCA, C.C.; KRUPPA, P.C.; BARROS B.C.; SCHIMIDT, J.R.; CHIBA, S. Controle de *Pyricularia grisea* e *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo mediante tratamento com fungicidas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo. v. 68, n .1, p. 55-63, 2001.

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

MCDONALD, B. A. LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, Dordrecht, v. 124, p. 163-180, 2002.

MEHTA, Y. R. **Manejo integrado de enfermidades do trigo**. Londrina: IAPAR, 1993. p.314.

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

OU, S.H. Blast. In: _____. **Rice diseases**. 2nd. ed. Wallingford: CAB International, p. 109-201, 1985.

PAGANI, A. P. S. **Resistência do trigo à brusone, manejo químico e diversidade de Magnaporthe grisea**. 111 f. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

PANZER, J. D.; PANZER, J. B.; GREEN JR., V. E. The epiphytology of the blast disease of rice caused by *pyricularia oryzae*. **Il Riso**, Milano, v. 25, n. 3, p. 257-264, 1976.

PICININI, E.C.; FERNANDES, J.M.C. Ocorrência da Brusone (*Pyricularia oryzae*) em lavouras comerciais de trigo (*Triticum aestivum*)no Estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.1, p.83-84, mar. 1990.

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

PIOTTI, E.; RIGANO, M.M.; RODINO, D.; RODOLFI, M.; CASTIGLIONE, S.; PICCO, A.M.; SALA, F. Genetic structure of *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. isolates from Italian paddy fields. **Microbiology journal**, v.153, p.80-6, 2005.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolate of *Pyricularia oryzae* infecting rice, wheat and grasses in Brazil. **Tropical Pest Management**, London, v.38, n.4, p.367-371, 1992.

PUCHIO, A.F.; MUCHOVEJ, J.J. O gênero *Pyricularia* e seus teleomorfos. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, 1994. v. 2, p. 175-208.

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

REIS, E. M.; BLUM, M. C.;, FORCELINI, C. A. Sobrevivência de *Pyricularia oryzae*, associada as sementes de trigo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 21, p.43-44, 1995.

ROMAN, E. S. **Tecnologias de produção para a cultura do trigo/Bayer CropScience**. Passo Fundo: Plantio Direto Eventos, 2005.

ROSSMAN, A.Y.; HOWARD, R.J.; VALENT, B. *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus. **Mycologia**, Cidade de Publicação, v. 82, n. 4, p. 509-512, 1990.

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

SANTOS, G.R.; CUNHA, A. C. F.; IGNACIO, M.; CASTRO NETO, M.D. de; REIS, M.R dos; AGUIAR, R.W.S. Diversidade de *M. grisea* em arroz de terras altas no Estado do Tocantins, na safra 2008/2009. **Revista Ceres**, Viçosa, v.59, n.1, p.65-70, 2012.

SCHEREN, P. L. Informação sobre o trigo (*Triticum* sp). Passo Fundo: Embrapa – CNTP, 1986.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA, IRRIGAÇÃO, REFORMA AGRÁRIA, PESCA E AQUICULTURA. **Cultura do trigo**. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/Trigo.htm>>. Acesso em: 15 jul. 2011.

SILVA, C.P.; NOMURA, E.; FREITAS, E. G. et al. Eficiência de tratamentos alternativos no controle de *Pyricularia grisea* em sementes de trigo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 2, p.127-131, 2009.

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

TOYODA, S.; SUZUKI, N. Histochemical studies on the lesions of rice blast by *Pyricularia oryzae* Cav. I. some observations on the sporulation on lesions of different types occurring on leaves of the same variety. **Annual Review of Phytopathology**, v.17, p.1-4, 1952.

URASHIMA, A.S.; IGARASHI, S.; KATO, H. Host range, mating type, and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, p.1211-1216, 1993.

URASHIMA, A.S.; KATO, H. Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 20, p.107-12, 1994.

URASHIMA, A. S.; KATO, H. Pathogenic relationship between isolates of *Pyricularia grisea* of wheat and other host at different host developmental stages. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 30-35, 1998.

URASHIMA, A.S. Genetic analyses of pathogenicity of *Magnaporthe grisea* on wheat. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, p.567-569, 1999.

URASHIMA, A.S.; LAVORENT, N.A.; GOULART, A.C.P.; MEHTA, Y.R. Resistance spectra of wheat cultivars and virulence diversity of *Magnaporthe grisea* isolates in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.5, p.511-518, 2004.

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

URASHIMA, A. S.; GROSSO, C.R.F.; STABILI, A.; FREITAS, E.G.; SILVA, C.P.; NETTO, D.C.S.; FRANCO, I.; MÉROLA BOTTAN, J.H. Effect of *Magnaporthe grisea* on seed germination, yield and quality of wheat. In: WANG, G.L.; VALENT, B. (Ed.). **Advances in genetics, genomics and control of rice blast disease**. New York: Springer, 2009. p. 267-277.

VANKATARAO, G.; MURALIDHARAN, K. Effect of meteorological conditions on the incidence and progress of blast disease on rice. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Germany, v. 89, n. 4, p. 219-223, 1982.