

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**Aspectos epidemiológicos e manejo integrado da brusone do trigo**

Carlos Augusto Pizolotto

Passo Fundo

2019

Carlos Augusto Pizolotto

## **Aspectos epidemiológicos e manejo integrado da brusone do trigo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para a obtenção de título de Doutor em Agronomia.

Orientador:

Walter Boller

Colaboradores:

João Leodato Nunes Maciel

José Maurício Cunha Fernandes

Passo Fundo

2019

CIP – Catalogação na Publicação

---

P695a Pizolotto, Carlos Augusto  
Aspectos epidemiológicos e manejo integrado da brusone do  
trigo / Carlos Augusto Pizolotto. – 2019.  
167 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Walter Boller.

Colaborador: Prof. Dr. João Leodato Nunes Maciel.

Colaborador: prof. Dr. José Maurício Cunha Fernandes

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Passo  
Fundo, 2019.

1. Trigo - Manejo. 2. Trigo - Doenças e pragas. 3. Brusone.  
I. Boller, Walter, orientador. II. Maciel, João Leodato Nunes,  
colaborador. III. Fernandes, José Maurício Cunha, colaborador.  
IV. Título.

CDU: 633.11

## ATA DE DEFESA DA TESE



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

"Aspectos epidemiológicos e manejo integrado da brusone do trigo".

Elaborada por

Carlos Augusto Pizolotto

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
"Doutor em Agronomia – Área de Produção e Proteção de Plantas"

Aprovada em: 19/02/2019  
Pela Comissão Examinadora

**Dr. Walter Boller**  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientador

**Dr. João Leodato Nunes Maciel**  
Embrapa Trigo  
Coorientador

**Dr. José Maurício Cunha Fernandes**  
Embrapa Trigo

**Dr. Ivan Dressler da Costa**  
UFSM

**Dr. Emerson Del Ponte**  
UFV

**Dr. Edson Campanhola Bortoluzzi**  
Coordenador PPGAgro

**Dr. Eraldo Lourenso Zanella**  
Diretor da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária  
Universidade de Passo Fundo

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus maiores incentivadores, meus pais Celso Antonio Pizolotto e Cléia Dalepiane Pizolotto, dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, pela vida e por todos os dias me dar forças para não desistir, e também pela família maravilhosa que me concedeu.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo – UPF e ao quadro de professores por ter me recebido de braços abertos e por me proporcionarem dias de aprendizagem muito ricos.

A CAPES, pelo incentivo financeiro e apoio a minha participação no curso de doutorado.

A Embrapa Trigo, por ceder suas instalações para a realização dos experimentos onde foram gerados os dados para a presente Tese de Doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Walter Boller e co-orientadores, Prof. Dr. José Maurício Cunha Fernandes e Dr. João Leodato Nunes Maciel, pelos ensinamentos e amizade, e o incentivo nos momentos de dúvidas e incertezas, além de fornecerem recursos e ferramentas para evoluir um pouco mais todos os dias.

Aos membros do Laboratório de Fitopatologia e a equipe técnica da Embrapa Trigo, pelo apoio, incentivo e auxílio na realização dos experimentos.

Ao meu orientador na Kansas State University, Prof. Dr. James P. Stack pela amizade, receptividade e ensinamentos e incentivo á pesquisa.

Aos meus pais e irmão, pelo amor, compreensão, amizade e dedicação, além de serem meus maiores incentivadores. Sem vocês eu não estaria aqui no meio do caminho, pois já caminhei bastante, mas há muito chão ainda para trilhar.

Aos meus familiares e amigos pelo incentivo e apoio durante toda essa jornada.

## **EPÍGRAFE**

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

**José de Alencar**

## RESUMO

Pizolotto, Carlos Augusto. **Aspectos epidemiológicos e manejo integrado da brusone do trigo**. [156] f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2019.

A emergência do patógeno causador da brusone (*Magnaporthe oryzae*) infectando a cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.), é relativamente recente no Brasil. Os estudos publicados até o momento indicaram a ocorrência de variabilidade genética e de virulência entre as populações de *M. oryzae* infectantes do trigo no Brasil. Plântulas e espigas destacadas de 11 genótipos de trigo e um de cevada (T&C) foram utilizados em experimentos conduzidos em condições controlada, nos quais suspensões individualizadas de conídios de 89 isolados de *M. oryzae* e dois isolados de *M. grisea* foram utilizadas em procedimentos de inoculação. A presença do segmento cromossomal 2NS nos genótipos T&C foi determinada via PCR. Verificou-se que grupos de virulência de *M. oryzae* estão amplamente distribuídos no país e que, devido à alta resistência à brusone demonstrada, a cultivar de trigo Santa Fé assume um papel de destaque como fonte de resistência à doença. A avaliação de isolados quanto à virulência gerou padrões de classificação muito distintos quanto as infecções em folhas e espigas. Para monitorar a sobrevivência saprofítica de *M. oryzae* em restos de trigo e explorar a importância dos resíduos culturais como fonte de inóculo, as cultivares de trigo Anahuac 75 e BRS 229 foram inoculadas com uma suspensão de esporos de 100.000 conídios mL<sup>-1</sup>, sendo utilizado um isolado mais virulento (Py 12.1.209) e um menos virulento (Py 12.1.132). Após a manifestação dos sintomas, as lesões foram circundadas em vermelho, com a utilização de pincel atômico. Posteriormente foram destacados folhas, colmos e espigas de cada planta, sendo esses acondicionados em sacos de nylon separadamente e distribuídos no campo. A cada 14 dias, foram coletadas amostras de cada material, e em laboratório as lesões marcadas foram examinadas em microscópio óptico para verificar a presença de conidióforos e conídios de *M. oryzae*. A esporulação de *M. oryzae* foi observada nos resíduos de trigo por até cinco meses. Em relação ao manejo da doença na cultura do trigo, o controle químico ainda é a principal estratégia, mas necessita de estudos que visem a melhor cobertura da espiga. Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 4x2, com quatro pontas/bicos de pulverização e dois adjuvantes, sob três repetições. No experimento em casa-de-vegetação foram avaliados a qualidade de cobertura proporcionada por quatro diferentes pontas/bicos de pulverização em espigas artificiais de trigo envoltas por cartão hidrossensível, a severidade da doença nas espigas - SEVE e o número de pontos de infecção na ráquis - NPI. No experimento em casa-de-vegetação as menores médias de SEVE e NPI foram encontradas no tratamento T9 (mancozebe + Break-Thru + Grip - ponta: TJ60 10002 - 60°). Em condições de campo foram avaliadas a incidência - INC e a severidade da doença nas espigas - SEVE. O tratamento com mancozebe (T9) apresentou as menores médias para as duas variáveis da doença, no entanto, sem diferir de T8 para a variável INC, e não diferindo dos tratamentos onde foi adicionado o adjuvante Break-Thru® (T5, T6, T7 e T8), para a variável SEVE.

Palavras-chave: 1. *Magnaporthe oryzae*. 2. Sobrevivência saprofítica. 3. Tecnologia de aplicação.



## ABSTRACT

Pizolotto, Carlos Augusto. **Epidemiological aspects and integrated management of wheat blast.** [156] f. Thesis (Doctor in Agronomy) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2019.

The emergence of blast pathogen (*Magnaporthe oryzae*) infecting wheat (*Triticum aestivum* L.) is relatively recent in Brazil. The studies published so far have indicated the occurrence of a genetic variability and virulence variability between the *M. oryzae* populations that are infecting wheat in Brazil. Seedlings and detached heads from 11 wheat cultivars and one barley lineage (T & C) were used in experiments conducted under controlled conditions in which individualized conidial suspension of 89 *M. oryzae* isolates and two *M. grisea* isolates were used in inoculation procedures. Presence of the 2NS chromosomal segment in the T & C genotypes was determined via PCR. It was verified that *M. oryzae* virulence groups are widely distributed in the country and that, due to the high resistance to blast demonstrated, Santa Fe wheat cultivar plays a prominent role as a source of resistance to the disease. In addition, it was found that the evaluation of wheat *M. oryzae* isolates for virulence generates a very distinct classification patterns depending on whether the object of infection analysis is leaf or head. To monitor the saprotrophic development of *M. oryzae* on wheat debris and explore the importance of crop residues as a source of inoculum, wheat cultivars BRS 229 and Anahuac 75, moderately and highly susceptible to the disease, respectively, were inoculated with a spore suspension of  $10^5$  conidia mL<sup>-1</sup> using an aggressive (Py 12.1.209) and a less aggressive (Py 12.1.132) isolate. At maturity, a portion of leaves, stems and spikes were detached from plants, and a group of ten lesions were randomly selected and marked on each type of plant organ. The air-dried plant organs were placed separately inside bags and exposed outside. Each 14 days, samples were taken from the field and tested for sporulation. Sporulation of the fungus was observed on the wheat residues for up to five months. For managing blast disease in wheat, the chemical control is the main option, due to absence of resistance wheat cultivars, but it needs to improve wheat head coverage. The experiments were arranged in a randomized block design in a 4x2 factorial scheme, four spray nozzles and two adjuvants, under three replications. The fungicides were sprayed 24 hours before the wheat heads inoculation. In the greenhouse experiment were evaluated the coverage quality by four different spray nozzles in artificial wheat heads surrounded by a hydrosensitive cards, the head blast severity - SEVE and the number of infection points on the rachis - NPI. In the greenhouse experiment, the lowest values to SEVE and NPI were found in the treatment T9 (mancozeb + Break-Thru + Grip: TJ60 10002-60°). In field conditions the wheat blast incidence - INC and head blast severity - SEVE were evaluated. The treatment with mancozeb (T9) showed the lowest averages for both disease variables, however, treatment T9 did not differ statistically of treatment T8 for INC variable, for the variable SEVE, treatment T9 not differ statistically of treatments that Break-Thru® adjuvant was added in the spray solution (T5,T6,T7 e T8).

Key words: 1. *Magnaporthe oryzae*. 2. Saprotrophic survival. 3. Application technology.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	15
2.1 <i>Brusone do trigo</i>	15
2.2 <i>Etiologia da doença</i>	17
2.3 <i>Ciclo da doença</i>	18
2.4 <i>Sintomatologia</i>	22
2.5 <i>Gama de hospedeiros</i>	22
2.6 <i>Mecanismos de variabilidade genética</i>	25
2.6.1 <i>Recombinação sexual</i>	26
2.6.2 <i>Recombinação parassexual</i>	27
2.6.3 <i>Mutações</i>	27
2.7 <i>Sobrevivência saprofítica do patógeno</i>	29
2.8 <i>Fontes de resistência a à doença</i>	31
2.9 <i>Controle químico da brusone do trigo</i>	35
3. <i>Tecnologia de aplicação de fungicidas</i>	37
<b>3 CAPÍTULO I</b>	41
3.1 <i>Resumo</i>	41
3.2 <i>Introdução</i>	41
3.3 <i>Material e Métodos</i>	43
3.3.1 <i>Amostragem das plantas e isolamento de <i>Magnaporthe oryzae</i></i>	43
3.3.2 <i>Genótipos</i>	45
3.3.3 <i>Preparação do inóculo e inoculações</i>	45
3.3.4 <i>Avaliações</i>	47
3.3.5 <i>Análise estatística</i>	48
3.3.6 <i>Análise da presença da translocação cromossomal 2NS/2AS</i>	49
3.4 <i>Resultados</i>	50
3.5 <i>Discussão</i>	73
3.6 <i>Conclusões</i>	78
<b>4 CAPÍTULO II</b>	79
4.1 <i>Resumo</i>	79

<i>4.2 Introdução</i>	79
<i>4.3 Material e Métodos</i>	82
4.3.1 Cultivares de trigo	83
4.3.2 Isolados do fungo	83
4.3.3 Resíduos culturais de trigo infectados	84
4.3.4 Monitoramento dos restos culturais de trigo no campo	84
4.3.5 Dados meteorológicos	86
4.3.6 Análise estatística	86
<i>4.4 Resultados</i>	87
<i>4.5 Discussão</i>	97
<i>4.6 Conclusões</i>	100
<b>5 CAPÍTULO III</b>	101
<i>5.1 Resumo</i>	101
<i>5.2 Introdução</i>	101
<i>5.3 Material e Métodos</i>	104
5.3.1 Experimento em casa-de-vegetação	106
5.3.2 Cultivo de plantas, confecção dos alvos artificiais e aplicação dos tratamentos	106
5.3.3 Inoculação	108
5.3.4 Avaliação das espigas sintomáticas, do espectro de pulverização e análise dos dados	108
5.3.5 Experimento de campo	110
5.3.6 Semeadura, tratos culturais e aplicação dos tratamentos	110
5.3.7 Avaliação das espigas sintomáticas	112
5.3.8 Análise estatística	112
<i>5.4 Resultados e Discussão</i>	113
<i>5.5 Conclusões</i>	130
<b>6 CONCLUSÃO GERAL</b>	<b>131</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>133</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>135</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) tem importância significativa na história da humanidade, sendo um dos grãos mais consumidos no mundo e está presente na alimentação da maioria das pessoas e animais criados pelo homem (ROSSI e NEVES, 2004). No Brasil, desenvolveu-se com a vinda dos colonizadores europeus para o continente americano (ABITRIGO, 2018), no entanto, o país jamais conseguiu a autossuficiência em relação a este cereal (CUNHA e TROMBINI, 1999).

O grande desafio para a triticultura nacional é tirar o país da posição de grande importador e levá-lo à autossuficiência no abastecimento desse cereal (BACALTCHUK, 1999). Para a safra 2018/19, a produção de trigo no Brasil está estimada em 5.143,8 milhões de toneladas, estando distribuída em áreas de cultivo que se estendem pelas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, perfazendo 2.034,2 milhões de hectares, com produtividade média de 2.529 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2018). A região Sul do Brasil é responsável por aproximadamente 90% dessa produção (4.554,2 milhões de toneladas), no entanto, apresenta o menor rendimento médio de grãos por hectare, 2.481 kg ha<sup>-1</sup>. Ainda, de acordo com dados da CONAB, em 2018 o país importou 6,3 milhões de toneladas de grãos, o que representa aproximadamente 60% do seu consumo interno (11.005,1 milhões de toneladas).

A região tropical do Brasil (Cerrado) possui amplo potencial para expansão do cultivo de trigo, no entanto, há uma carência de informações sobre a interação genótipo x ambiente, especialmente relacionadas aos estresses térmico, hídrico e fitossanitário (PASINATO, 2017). O trigo, como outras culturas de interesse econômico, é acometido por diversas doenças que afetam o seu desenvolvimento, comprometendo a produtividade e a qualidade dos grãos (BARROS et al., 1989; LAU et al., 2011). A brusone do trigo causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* constitui um dos principais entraves à expansão da produção tritícola no Brasil Central (GOULART et al., 2007; MACIEL et al., 2013). Na América do Sul, a doença também é uma grande ameaça à produção do cereal, afetando mais de três milhões de hectares, e limitando seriamente o seu potencial de produção (KOHLI et al., 2011). Em fevereiro de 2016, a brusone do trigo foi identificada pela primeira vez fora do continente americano, na Ásia, com

relatos de graves epidemias da doença em campos de trigo em Bangladesh (CALLAWAY, 2016).

Poucos estudos investigaram a diversidade genética do patógeno causador da brusone do trigo no Brasil. Os poucos estudos publicados indicaram que há a ocorrência de variabilidade genética e de patótipos (URASHIMA et al., 2004; MACIEL et al., 2014). O fungo infecta várias gramíneas, como o arroz (*Oryza sativa* L.), aveia (*Avena sativa* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), centeio (*Secale cereale* L.), capim arroz (*Echinochloa* spp.), azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), braquiária (*Brachiaria* spp.), entre outras (COUCH et al., 2005).

Em experimentos conduzidos por Maciel et al. (2008) a maioria das cultivares de trigo testadas foram consideradas como altamente suscetíveis a brusone, embora BR 18 - Terena, BRS 229, e MGS 3 Brilhante foram consideradas moderadamente resistentes em condições de campo. No entanto, a tolerância dessas variedades tem se configurado em uma alternativa errática e inconsistente para controlar a doença. Genótipos de trigo aparentemente resistentes se comportam como suscetíveis em outras regiões do país, indicando interação entre genótipo e ambiente (URASHIMA et al., 1999; URASHIMA et al., 2005; MACIEL, 2011).

Agrega-se a toda variabilidade observada, em função de clima, local e ano, a diversidade genética do patógeno, distribuída aleatoriamente nas regiões tritícolas brasileiras (MACIEL et al., 2014), fato que dificulta o desenvolvimento de cultivares resistentes, gerando um grande desafio para os programas de melhoramento genético de trigo, em regiões com histórico de ocorrência da doença (URASHIMA et al., 2004; CRUZ et al., 2010; ROCHA et al., 2014). Segundo Martínez et al. (2018), a melhor estratégia para o manejo da brusone do trigo consiste na combinação entre cultivares resistentes e práticas culturais adequadas, como época de semeadura adequada, uso de fungicidas no tratamento de sementes e em pulverizações da parte aérea.

Haja vista a disponibilidade limitada de cultivares de trigo resistentes à brusone e adaptadas às distintas condições de cultivo de trigo no Brasil, o controle químico ainda é uma das principais alternativas de controle (COMISSÃO DE TRIGO E

TRITICALE, 2011). No entanto, a disponibilidade de fungicidas registrados para o controle da brusone é limitada, com o agravante de serem pouco eficazes. Assim, estima-se que a eficiência do controle químico seja de, no máximo, 50% (MACIEL, 2011).

Essa maior dificuldade no controle da brusone, não se restringe apenas a grande variabilidade genética encontrada em populações do patógeno, ou em virtude da baixa eficiência dos fungicidas (REIS et al., 2005; MACIEL et al., 2008; ROCHA et al., 2014), mas também ao fato de que o fungo pode ser encontrado sobrevivendo em hospedeiros secundários, como plantas infestantes, plantas nativas, além de restos culturais de plantas cultivadas (GOULART et al., 1990; REIS et al., 1995; DIAS MARTINS et al., 2004). Pizolotto et al. (2018) avaliaram a capacidade do patógeno em se manter viável e produzir inóculo em restos culturais de trigo, e com base nos resultados deste estudo, verificaram que o período de sobrevivência do agente causal da brusone em restos culturais de trigo é relativamente baixo, em torno de cinco meses. Em teoria, na região Sul do Brasil, o trigo pode retornar para a mesma área em intervalos de 8 meses, assim, o manejo dos restos culturais de trigo na entressafra não é um ponto-chave no controle da doença, indicando que se deve dar atenção à presença de hospedeiros alternativos da família Poaceae.

O presente estudo foi realizado com os objetivos de: a) caracterizar e comparar a virulência de isolados *M. oryzae* do trigo e de outras gramíneas invasoras e cultivadas no Brasil baseando-se na reação de um conjunto formado por 11 genótipos de trigo e um de cevada (T&C) à infecção do patógeno; b) comparar os genótipos T&C em relação à reação à infecção de *M. oryzae* em folhas de plântulas e espigas destacadas; c) relacionar a presença do segmento cromossomal 2NS de *A. ventricosa* nos genótipos T&C e resistência à brusone; d) monitorar o desenvolvimento saprofítico de *M. oryzae* em restos culturais de trigo e explorar a importância relativa destes restos culturais como fonte de inóculo; e) avaliar a qualidade de cobertura proporcionada por quatro diferentes pontas/bicos de pulverização em espigas artificiais de trigo envoltas por cartão hidrossensível, e a eficiência dos tratamentos fungicidas no controle da brusone do trigo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Brusone do trigo

Embora conhecida como uma doença de ocorrência generalizada em todas as regiões rizícolas do mundo, e sendo considerada a doença mais importante do arroz, a brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* B. Couch [anamorfo - *Pyricularia oryzae* Cav.] também acomete uma grande variedade de espécies gramináceas, incluindo outros cereais como trigo e cevada, e espécies forrageiras, como o azevém (OU, 1985; YOSHIDA et al., 2016).

No Brasil, além do arroz, a doença também ocorre na cultura do trigo, tendo sido identificada pela primeira vez em 1985 no estado brasileiro do Paraná (IGARASHI et al., 1986) e posteriormente espalhou-se para outras regiões de cultivo de trigo na América do Sul (PICININI e FERNANDES, 1990; DOS ANJOS et al. 1996; GOULART e PAIVA, 2000; MACIEL et al., 2014). Durante alguns anos após o seu surgimento, a doença ficou restrita ao Brasil. Anos mais tarde, espalhou-se para os países vizinhos, incluindo Bolívia (BAREA e TOLEDO, 1996), Paraguai (VIEDMA, 2005) e Argentina (CABRERA e GUTIERREZ, 2007) e mais recentemente, para a Ásia (MALAKER et al., 2016).

Após *Magnaporthe* ser descrita em trigo, surgiram distintas hipóteses sobre o hospedeiro responsável pela sua origem, no entanto, o arroz apresentava-se como provável hospedeiro de origem (MEHTA et al., 1992). Urashima et al. (1993) sugeriram haver duas populações diferentes de patógenos infectando trigo, uma que poderia ter sido originada do arroz e outra oriunda de uma segunda fonte não identificada.

No final da década de 1970 e início dos anos 80, a cultivar de trigo mais semeada no Brasil foi o IAC-5. Por volta de 1980, um novo cultivar (Anahuac) foi introduzido no país e recomendado aos agricultores, pois apresentava elevado potencial de rendimento, porte semi-anão e adaptava-se muito bem a solos não ácidos (CAMARGO e FILHO, 2000). Em 1985, alguns anos após a introdução da cultivar Anahuac, o surto da brusone do trigo ocorreu (URASHIMA et al., 1993). Estudos sobre

distribuições de genes de avirulência e resistência, juntamente com dados históricos sobre o trigo no Brasil, sugerem que a brusone do trigo surgiu devido à implantação generalizada da cultivar Anahuac, não portadora do gene de resistência *rwt3* (suscetível aos isolados de *Lolium*), seguida da perda de função do gene avirulência *PWT3*, indicando que o trigo *rwt3* serviu como intermediário para o ingresso do patógeno na cultura do trigo (INOUE et al., 2017).

Experimentos conduzidos por Maciel et al. (2014) compararam populações simpátricas de *M. oryzae* que infectavam o trigo e o arroz e verificaram que quase todos os isolados eram portadores do gene AVR1-CO39, o que previa a avirulência em *Oryza* spp., indicando que os isolados testados foram avirulentos em arroz, e que a população brasileira infectante de trigo foi derivada exclusivamente de uma população de *M. oryzae* que infecta uma poácea ainda desconhecida. Ceresini et al. (2011) também avaliaram populações simpátricas de *M. oryzae* adaptadas ao arroz e ao trigo, e verificaram baixíssima migração histórica entre os isolados obtidos de ambas as culturas, sugerindo que a origem da população que infecta o trigo é desconhecida, podendo ser originária de outras poáceas invasoras, distintas do arroz.

Análises filogenéticas realizadas por Castroagudín et al. (2016), agruparam isolados de *Pyricularia oryzae* em três grupos principais. O grupo 3 continha isolados obtidos de trigo, bem como de outras poáceas hospedeiras, indicando que o mesmo era distinto de *P. oryzae* e representava uma nova espécie, *Pyricularia graminis-tritici* (Pgt). De acordo com os autores, nenhuma diferença morfológica foi observada entre estas espécies, mas um espectro distinto de patogenicidade foi observado. Gladieux et al. (2018), por meio de análises filogenéticas de genes ortólogos de cópia única e SNPs de genoma total identificados em genomas de *M. oryzae* de múltiplos hospedeiros de cereais e gramíneas, evidenciaram que *M. oryzae* é subdividido em múltiplas linhagens associadas preferencialmente com um gênero de planta hospedeira, e constataram que nem a reanálise de dados anteriores e nem a análise de novos dados usando marcadores de reconhecimento de espécies filogenéticas anteriores sustentam a existência de uma espécie associada à brusone do trigo chamada *P. graminis-tritici*.



## 2.2 Etiologia da doença

Durante a década de 1980, a nomenclatura do agente causal da brusone do trigo se mostrou indefinida e confusa. No Brasil, estudos iniciais desenvolvidos por Igarashi et al. (1986) identificaram como *Magnaporthe* sp., e posteriormente os mesmos autores identificaram como *M. oryzae*, baseados em características morfológicas e culturais do fungo. Rossman et al. (1980) estudaram as duas espécies descritas por Igarashi et al. (1986), *M. grisea* e *M. oryzae*, e confirmaram suas similaridades morfológicas, e consideraram as duas espécies como sinónimas, priorizando o nome mais antigo, *M. grisea*. Atualmente é aceita a classificação taxonômica de Couch e Kohn (2002), onde o agente causal da brusone do trigo é o fungo *Magnaporthe oryzae*, que corresponde ao estágio teleomórfico de *Pyricularia oryzae*. O fungo pertencente ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Magnaporthales e família Magnaporthaceae.

O fungo apresenta conídios piriformes com ápice estreito e base abaulada, solitários, secos, terminais ou laterais, simples, hialinos ou subhialinos, lisos, septados, com presença de hilo protuberante. Os conídios são aderidos aos conidióforos por uma pequena célula, que com o amadurecimento dos conídios, se divide em duas produzindo um dentículo na base do conídio e na lateral do conidióforo (ELLIS, 1971; PURCHIO e MUCHOVEJ, 1994; TALBOT, 2003). Na extremidade da hifa germinativa, forma-se um apressório bem desenvolvido, arredondado e melanizado (HOWARD e VALENT, 1996).

Apesar de nunca ter sido encontrada na natureza, a fase teleomórfica foi obtida de isolados oriundos de *Digataria sanguinalis* L. em laboratório, descobrindo-se que o fungo apresentava capacidade de se reproduzir sexuadamente. Munk (1957) classificou-o como pertencente à família Diaporthaceae e espécie *Ceratosphaeria*, mas morfológicamente a escolha não se adequava ao táxon. Ou (1985) reclassificou-o, inserindo *M. oryzae* como parte do filo Ascomycota do grupo dos Pirenomicetos.

Na forma sexual ocorre a formação de ascomas do tipo peritécio, ostiolados, sem estroma, rostrados e periáfises esparsas e delgadas. Nos peritécios há a formação de ascos, unitunicados, com anel refrativo e não amilóide. Cada asca origina oito

ascósporos, com três septos cada, fusiformes, curvados e hialinos (PURCHIO e MUCHOVEJ, 1994; MASSOLA Jr. e KRUGNER, 2011).

### 2.3 Ciclo da doença

A brusone caracteriza-se como uma doença policíclica em folhas do trigo, apresentando vários ciclos do patógeno em relação a um ciclo do hospedeiro (FILIPPI et al., 2006; PAGANI, 2011). O ciclo de vida de *M. oryzae* (Figura 1) tem início quando os conídios produzidos nas lesões são disseminados pelo vento e respingos de chuva e caem sobre folhas e espigas de trigo.

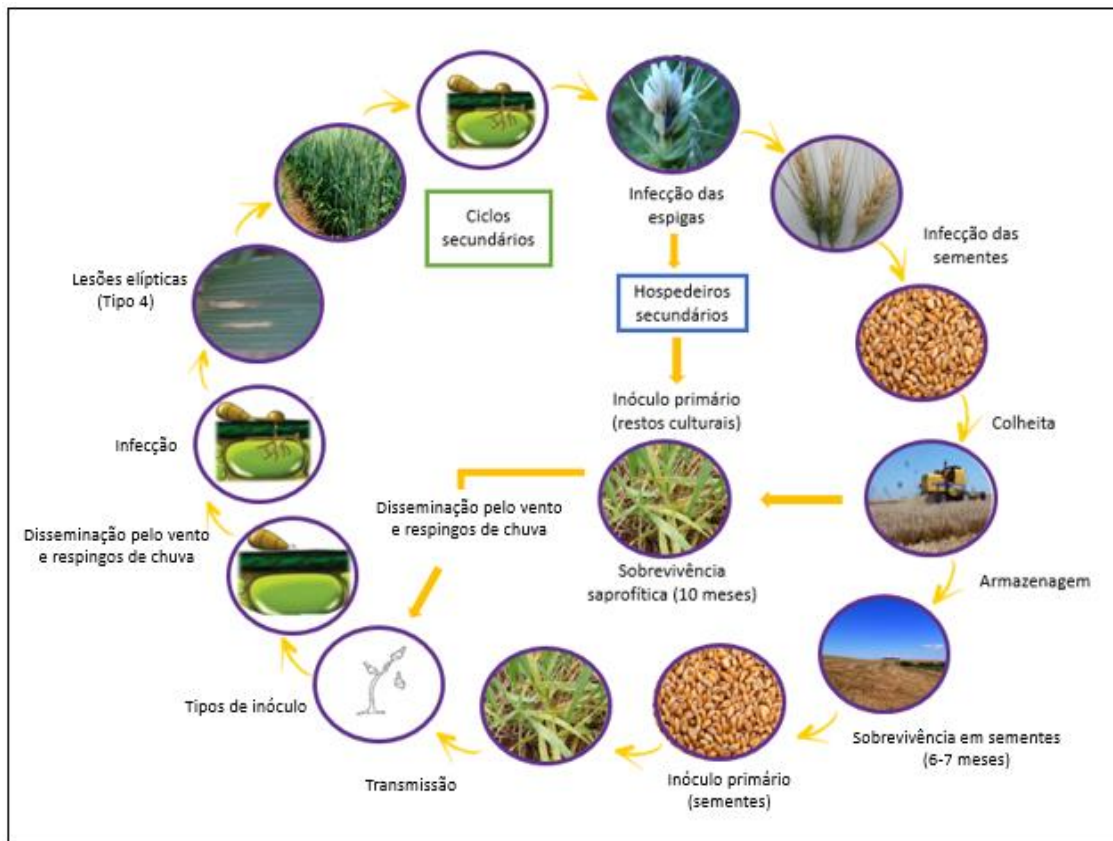


Figura 1. Etapas do ciclo de vida de *Magnaporthe oryzae*.

**a) Fonte de inóculo:** Os conídios são considerados os principais meios de disseminação e infecção da doença. As fontes primárias para a produção de esporos de *M. oryzae* incluem hospedeiros secundários, restos culturais e sementes infectadas (BRUNO e URASHIMA, 2001; MACIEL et al., 2014). Hospedeiros secundários são a fonte mais

importante de sobrevivência do patógeno causador da brusone do trigo, pois o mesmo pode sobreviver na entressafra da cultura e se tornar uma fonte de inóculo em potencial para posteriormente infectar as plantas de trigo. *Magnaporthe oryzae* pode infectar mais de uma centena de espécies da família Poaceae, incluindo arroz, trigo, cevada e centeio (KATO et al., 2000; TOSA et al., 2004; HIRATA et al., 2007; CHOI et al., 2013).

O patógeno também pode ser encontrado sobrevivendo na forma de micélio dormente no interior de sementes ou na superfície das mesmas, entretanto, a semente não se constitui na principal fonte de inóculo, devido à grande gama de hospedeiros em que *M. oryzae* pode ser encontrado (REIS et al., 1995; GOULART e PAIVA, 2000; MACIEL et al., 2014). De acordo com Reis et al. (2013) os hospedeiros secundários constituem-se na principal fonte de inóculo para *M. oryzae*, pois na entressafra o hospedeiro principal está ausente, e neste momento o patógeno faz uso dos hospedeiros secundários, nos quais serão produzidos os propágulos que irão dar início a um novo ciclo do patógeno. Estudos conduzidos por Raveloson et al. (2018) mostraram que, em Madagascar, a sobrevivência de *M. oryzae* em colmos de arroz (*Oryza sativa*) ao longo de três anos variou de 5 a 18 meses, sendo que o maior período de sobrevivência do fungo foi observado na estação fria, e o menor na estação quente e chuvosa.

**b) Produção, disseminação e deposição dos conídios:** O ciclo da doença se inicia com a disseminação dos conídios produzidos nas lesões de hospedeiros secundários. Nas lesões são produzidos conidióforos aéreos, e nas extremidades de cada um destes se formam, em arranjo simpodial (crescimento lateral), os conídios, originando o inóculo para os ciclos secundários de infecção. O vento é responsável pela disseminação e transporte do fungo a longas distâncias, isso facilitado pelas dimensões reduzidas (34,5 a 36,1  $\mu\text{m}$  x 9,8 a 10,3  $\mu\text{m}$ ) dos esporos e pela característica de serem secos (URASHIMA et al., 2007). Segundo Wilson e Talbot (2009) os respingos de chuva também auxiliam na remoção dos conídios dos conidióforos aéreos, oportunizando a esses encontrar um novo hospedeiro dando início ao ciclo secundário da doença.

No transporte em curtas distâncias, a água é um agente de transporte importante, sendo responsável por disseminar os conídios entre plantas vizinhas por gotas de orvalho e/ou de chuva (HAMER et al., 1988; TALBOT, 2003; WILSON e TALBOT,

2009). Durante a noite, com temperatura próxima aos 22 °C e umidade relativa do ar de 100% ocorre a liberação e o transporte de conídios (ESPINOZA e SHOHARA, 2003). Toledo (2004) relatou que o transporte e liberação dos conídios ocorrem preferencialmente em temperaturas entre 15 a 35 °C, entre as 18h e as 2h. Estudos realizados por Li et al. (2014) indicaram que para que a infecção ocorra com sucesso, a UR% deve ser  $\geq 92\%$  e a temperatura de 28 °C.

Os esporos produzidos nas lesões atingem a superfície do hospedeiro que, em contato com a água, libera uma substância mucilaginosa no seu ápice, que o adere à superfície do mesmo (EBBOLE, 2007; LEITE et al., 2001; PRABHU e FILIPPI, 2006). A substância mucilaginosa é composta por carboidratos e glicoproteínas, e permite a aderência na superfície da folha até mesmo na presença de água sobre a mesma (HOWARD e VALENT, 1996).

**c) Inoculação e germinação dos esporos:** Após o conídio aderir-se ao substrato, ele necessita de água livre para germinar, pois a mesma funciona como catalizador para que os processos de germinação e infecção ocorram. Nas condições de alta umidade os conídios germinam e o tubo germinativo é emitido em torno de 30 a 120 minutos após o contato com a água (PRABHU e FILIPPI, 2006). O início da germinação ocorre com a emissão do tubo germinativo, podendo ser produzido pela célula basal ou apical. Nesta fase começa a ocorrer a degradação de carboidratos, fonte de energia dos conídios (RIBOT et al., 2008).

Após a germinação, o tubo germinativo achata-se e prende-se ao hospedeiro antes do início da produção de estruturas especializadas que possibilitam a infecção, chamadas de apressórios, permitindo a adesão e infecção do tecido na planta (TUCKER e TALBOT, 2001). O apressório será responsável pela penetração do fungo nas células epidérmicas em menos de 24-30 horas após a inoculação (PRABHU e FILIPPI, 2006; RIBOT et al., 2008).

**d) Penetração e colonização:** Na penetração da cutícula, o apressório exerce uma pressão de turgor de aproximadamente 80 atm. À medida que o apressório amadurece, o conídio entra em colapso e morre em um processo programado de autólise (TALBOT,

2003; EBBOLE, 2007). Posteriormente, ocorre a melanização do apressório e o desenvolvimento substancial da pressão de turgor, que rompe a superfície externa da planta, e que ao penetrar na célula diferencia-se em uma hifa especializada dando origem a um grampo de conexão (PAGANI, 2011). O grampo de conexão move o conduto nuclear e citoplasmático do apressório para a hifa primária em desenvolvimento. A colonização ocorre através de plasmodesmas, havendo a passagem célula-célula pelas hifas infectivas (KANKANALA et al., 2007).

Posteriormente, o fungo inicia o processo de diferenciação das hifas infecciosas que irão colonizar os tecidos do hospedeiro, ainda sem danos visíveis, caracterizando a colonização inter e intracelular. Após a penetração, o fungo destrói os tecidos colonizados produzindo lesões necróticas que irão esporular. Por meio da produção de lesões esporulativas, o fungo produzirá novos conídios assexuais e que serão disseminados dando início a um novo ciclo. A formação de lesões acontece entre 72 e 96 horas após a infecção (RIBOT et al., 2008).

**e) Produção de inóculo:** A esporulação somente acontece sob condições ideais de umidade, que se encontra na faixa dos 93%. Os conídios são removidos dos conidióforos aéreos ajudados com o auxílio do vento e por respingos de chuva, podendo encontrar um novo hospedeiro dando início ao ciclo secundário da doença (WILSON e TALBOT, 2009). Alves e Fernandes (2006) observaram que quando a umidade relativa é elevada ( $\geq 90\%$ ) e a temperatura se encontra ao redor de 28 °C, a produção de conídios de *M. oryzae* é favorecida. De acordo com Li et al. (2014), o processo de infecção e a formação de conídios requerem diferentes limiares: 92% e 96% de umidade relativa do ar (UR), para a infecção e produção de conídios, respectivamente. Os esporos produzidos durante o ciclo da cultura servirão para aumentar a doença na lavoura, caracterizando a doença como policíclica (PAGANI, 2011) e as novas lesões podem produzir até 20.000 conídios (BARKSDALE e ASAI, 1961). De acordo com Cruz et al. (2015), sob condições ótimas, *M. oryzae* teve o potencial de produzir dezenas a centenas de milhares de conídios em pequenas quantidades de folhas basais de trigo.

## 2.4 Sintomatologia

Os sintomas mais característicos da brusone do trigo ocorrem nas espigas, isto, devido à infecção do patógeno na ráquis, onde se observa lesão de coloração negra brilhante com formato irregular e, posteriormente, ocorre abundante frutificação do fungo (IGARASHI, 1988). Essas lesões apresentam uma necrose no ponto de infecção e causam secamento prematuro a partir do mesmo, impedindo a translocação da água e dos nutrientes e, como consequência, o branqueamento parcial ou total da espiga imediatamente acima da lesão (IGARASHI e BALAN, 2004; ESPINOZA e SHOHARA, 2003).

A infecção da espiga é a forma mais destrutiva de ocorrência da doença. Esse estrangulamento da espiga inviabiliza o enchimento dos grãos, pois a translocação de seiva fica restrita apenas a essa região da espiga, uma vez que a ação do fungo na ráquis impede a passagem da mesma para a parte superior da espiga prejudicando o desenvolvimento de grãos nessas regiões (GOULART et al., 2007). Mesmo quando há produção de grãos nessas espigas, os mesmos tornam-se enrugados, pequenos, deformados e com baixo peso específico, o que caracteriza perdas no rendimento, tornando-os inutilizáveis tanto para comercialização, quanto para utilização humana (CRUZ et al., 2009).

Além do branqueamento causado nas espigas, quando a doença ocorre nas folhas da planta, a sintomatologia da brusone do trigo é bastante característica, apresentando lesões elípticas de centro acinzentado em folhas (LIMA, 2004). Ocasionalmente, no limbo foliar, são observadas lesões elípticas de bordos cloróticos e centros acinzentados decorrentes da infecção por *M. oryzae* (REIS et al., 2005).

## 2.5 Gama de hospedeiros

O gênero *Magnaporthe* inclui várias espécies de fungos patogênicos que são causadores de uma doença denominada brusone em mais de 50 gramíneas distintas (OU, 1985). Entre essas espécies, *M. oryzae* é o patógeno mais importante, devido à sua distribuição mundial em plantas da família Poaceae. A brusone causada por *M. oryzae* é

responsável por graves prejuízos em culturas de grande importância econômica, tais como: arroz (*Oryza sativa*), trigo (*Triticum aestivum*), aveia (*Avena sativa*), cevada (*Hordeum vulgare*), azevém (*Lolium multiflorum*), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), centeio (*Secale cereale*), sorgo (*Sorghum vulgare*) e milho (*Zea mays*) (METHA e BAIER, 1998).

O fungo também infecta espécies não cultivadas, muitas das quais são invasoras de lavouras de trigo e arroz, como: grama-bermuda (*Cynodon dactylon*), tiririca (*Cyperus rotundus*), escalracho (*Panicum repens*), milhã (*Digitaria* spp.), capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*), braquiária (*Brachiaria* spp.), capim-amoroso (*Cenchrus echinatus*), capim-rabo-de-raposa (*Setaria geniculata*), capim-arroz (*Echinochloa colona*) capim-mão-de-sapo (*Dactyloctenium aegyptium*), capim-andreiqué (*Leersia hexandra*) e capim-camalote (*Rottboellia exaltata*). Embora existam muitas espécies hospedeiras de *M. oryzae*, são raros os casos de infecção cruzada (BAILEY e EIJNATTEN, 1961; IGARASHI et al., 1986; URASHIMA et al., 1993; ANJOS et al., 1996; COUCH e KOHN, 2002; GOULART et al., 2003; COUCH et al., 2005).

A adoção da designação *Magnaporthe oryzae* é recente, tendo sido utilizada para as espécies onde a brusone foi diagnosticada recentemente. Até o início dos anos 2000, *Magnaporthe grisea* foi considerado o patógeno da brusone no arroz, braquiária, cevada e trigo (URASHIMA et al. 1993, MARCHI et al. 2005). A reclassificação filogenética molecular proposta por Couch e Kohn (2002) mostrou que *M. grisea* foi associado exclusivamente a brusone de gramíneas do gênero *Digitaria*, enquanto que *M. oryzae* foi associada com o arroz, o trigo e outras gramíneas cultivadas ou gramíneas invasoras. Com base neste estudo, uma nova classificação tornou-se necessária.

O fungo *M. oryzae* é considerado um complexo de espécies compostas de diferentes subgrupos, que diferem pelo tipo de acasalamento, características filogenéticas, pela gama de hospedeiros ou por meio dos patotipos. Os patotipos representativos de *M. oryzae* e sua respectiva gama de hospedeiros descritos até o momento são: patotipo *Oryza*, patogênico ao arroz (*Oryza sativa*), patotipo *Panicum*, patogênico ao painço comum (*Panicum miliaceum*); patotipo *Setaria*, patogênico ao milho-painço (*Setaria italica*), patotipo *Triticum*, patogênico ao trigo (*Triticum*

*aestivum*), patotipo *Avenae*, patogênico a aveia (*Avena sativa*), patotipo *Eleusine*, patogênico ao capim-pé-de-galinha (*Eleusine coracana*), e patotipo *Lolium*, patogênico ao azevém perene (*Lolium perenne*) (TOSA e CHUMA, 2014).

Entre as espécies cultivadas, Kang et al. (2001) observaram que isolados obtidos de cevada foram patogênicos ao arroz, sendo o mesmo observado quando isolados de arroz foram inoculados no trigo. No entanto, isolados provenientes de trigo não são patogênicos ao arroz (METHA e BAIER, 1998). Mackill e Bonman (1986) relataram a ocorrência de infecção cruzada entre isolados de capim-camalote, braquiária e arroz, o que permitiu a especulação de que populações do patógeno que infectam estas espécies poderiam ser uma fonte de inóculo para o arroz.

Estudos realizados por Gladieux et al. (2018) utilizando a sequência completa do genoma de 76 isolados de *M. oryzae*, amostrados de diferentes gêneros de gramíneas, revelou múltiplas linhagens divergentes de *M. oryzae*, sugerindo a sua especiação após mudança de hospedeiro. Análises de fluxo gênico demonstraram que mudanças genéticas contribuíram para a composição de múltiplas linhagens dentro de *M. oryzae* (Figura 2).



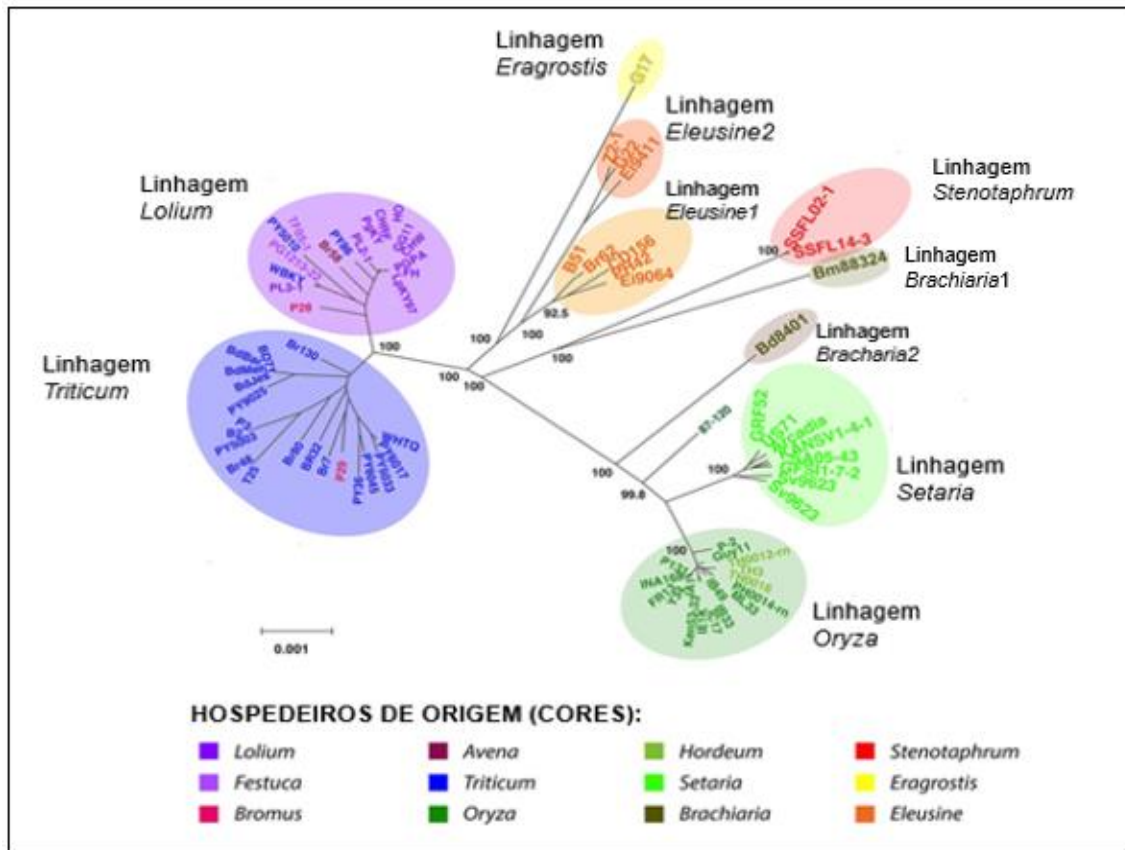


Figura 2. Árvore filogenética de *Magnaporthe oryzae*. Adaptada de: Gladieux et al. (2018).

## 2.6 Mecanismos de variabilidade genética

Dentre os mecanismos envolvidos na variabilidade de *M. oryzae* estão a recombinação sexual, parassexualidade e a ocorrência de mutações (KISTLER e MIAO, 1992), em muitos casos provocados por deleções de genes AVR e inserções de elementos de transposição (LU et al., 2006; STUKENBROCK e BATAILLON, 2012). Durante muito tempo o patógeno causador da brusone foi considerado essencialmente assexual, pois a fase sexual somente era obtida em condições de laboratório (KATO, 1977; YAEGASHI, 1977; NOTTÉGHEM e SILUÉ, 1992). O frequente rearranjo cromossômico derivado de elementos genéticos móveis de DNA pode ter causado a degeneração do comportamento sexual (CHUMA et al., 2011). A recombinação parassexual pode ser uma alternativa ao ciclo sexual, porque este ciclo ocorre raramente. O ciclo parassexual envolve a formação de anastomose, resultando em células

heterocarióticas que podem sofrer cariogamia e se tornar uma célula diplóide e, em seguida, ser capaz de realizar a recombinação mitótica (SCHEURMANN et al., 2012).

### **2.6.1 Recombinação sexual**

Da recombinação sexual resultam estruturas reprodutivas do tipo “ascoma”, denominadas peritécio, contendo em seu interior as ascas, nas quais estão os esporos sexuais, os ascósporos (PRABHU e FILIPPI, 2006). O gene que controla a compatibilidade em *M. oryzae* tem dois idiomorfos, Mat1-1 e Mat1-2 (NOTTÉGHM e SULUÉ, 1992; PEIXOTO, 2014). A detecção do equilíbrio gamético em populações do patógeno é uma maneira indireta de determinar se o modo reprodutivo do patógeno no campo é principalmente sexual ou clonal (MACIEL et al., 2014).

A recombinação sexual é controlada por A fase sexuada de *M. oryzae* normalmente não é observada na natureza (HAYASHI et al., 1997). No entanto, existem muitos estudos que sugerem que isolados patogênicos ao arroz se reproduzem sexuadamente, devido à presença de talos geneticamente compatíveis e fêmeas férteis em populações do fungo na Índia (DAYAKAR et al., 2000), em Bangladesh (SHAJAHAN, 1994), e no sudeste da Ásia (SALEH, 2012), centros de origem do arroz. Dayakar et al. (2000) relataram elevados níveis de fertilidade (24 a 52%) em isolados provenientes de arroz, em diferentes regiões da Índia.

A possibilidade da alta variabilidade ser ocasionada pela recombinação sexual é ainda maior para *M. oryzae* do trigo, uma vez que estudos realizados por Urashima et al. (1993) demonstraram que os isolados provenientes do trigo produziram peritécios em mais de 93% dos casos, sendo que em mais de 68% ocorreu a formação completa dos órgãos sexuais, enquanto que para os isolados obtidos de plantas de arroz, somente 24% formaram peritécios, sendo que em nenhum desses ocorreu formação completa dos órgãos sexuais.

Quanto à fertilidade sexual dos isolados da brusone do trigo, Bruno e Urashima (2001) observaram a incidência de isolados altamente férteis, com produção abundante de peritécio. Esta alta fertilidade foi observada em praticamente todos os isolados

oriundos do Mato Grosso do Sul. Isolados do patógeno coletados no Paraná apresentaram diferentes graus de fertilidade, confirmando que ocorre variabilidade entre isolados de *M. grisea* dentro de uma mesma região geográfica.

### **2.6.2 Recombinação parassexual**

A recombinação parassexual no gênero *Magnaporthe* foi sugerida pela primeira vez por Yamasaki e Niizeki (1965) que observaram a formação de anastomose das hifas e obtiveram isolados auxotróficos, ou seja, que apresentavam incapacidade de sintetizar um composto orgânico necessário ao seu próprio crescimento. A parassexualidade é uma fonte geradora de variabilidade para fungos imperfeitos, em que a fase teleomorfa ocorre raramente em condições de campo (NAMAI e YAMANAKA, 1982).

A ocorrência desse evento é precedida pela formação de tufo miceliais na região de encontro entre as colônias de dois isolados do fungo geneticamente distintos (ZEIGLER et al., 1997). A recombinação parassexual ocorre por meio da anastomose de hifas (fusão de hifas haploides) em forma de “H” ou adjacentes, que permite a troca ou passagem do núcleo com fusão dos mesmos, e a obtenção de células heterocarióticas que podem ser submetidas a cariogamia e tornar-se uma célula diplóide e, em seguida, ser capaz de realizar recombinação mitótica (AZEVEDO, 2008; NOGUCHI, 2011).

De acordo com Zeigler et al. (1997), a recombinação parassexual pode contribuir para a variação genética, mesmo em supostas populações clonais. Além de ser uma fonte de variabilidade genética, a recombinação parassexual também pode ser um mecanismo para restaurar o genoma, impedindo que a acumulação de mutações ponha em perigo a aptidão do patógeno (SCHEUERMANN et al., 2012). Características relativas à estabilidade e aptidão de recombinantes parassexuais são importantes para a sobrevivência do patógeno em condições de campo (NOGUCHI et al., 2006).

### **2.6.3 Mutações**

Outra fonte de variabilidade genética encontrada em *M. oryzae* são as mutações (KISTLER e MIAO, 1992), oriundas das deleções de genes AVR e inserções de

elementos de transposição. Um traço comum observado entre isolados de *M. oryzae* é a elevada instabilidade genética de caracteres relacionados com a morfologia, a fertilidade e a patogenicidade quando esses isolados são mantidos em laboratório (VALENT e CHUMLEY, 1991).

A rápida evolução de novas raças é atribuída à rápida perda de função de genes efetores de avirulência que correspondem aos genes de resistência de uma maneira gene-gene, (FLOR, 1956). A perda de função dos genes de avirulência pode ser devido a mutações pontuais, incluindo mutações induzidas pelas inserções e repetições de elementos, ou deleções de genes inteiros (DE WIT et al., 2009; FUDAL et al., 2009). De acordo com Jia et al. (2000), mutações em genes AVR podem ser decisivas para o relacionamento planta-patógeno. Diversas mutações do gene de avirulência AVR-Pita ocorreram em várias cepas de *M. oryzae* em laboratório, confirmando que a eliminação de AVR-Pita é um mecanismo de superação da resistência no campo, embora mutações e inserções de elementos transponíveis também levam a virulência (ORBACH et al., 2000; KANG et al., 2001; ZHOU et al., 2007).

Os genes AVR residem em localizações subteloméricas e tendem a ser geneticamente instáveis, o que leva ao aparecimento de mutantes que são capazes de infectar o hospedeiro (CHUMA et al., 2011; CHADHA e SHARMA, 2014), como é o caso de AVR-Pita (ORBACH et al., 2000), AVRMedNoi-1 e AVRKu86-1 (DIOH et al., 2000), AVR-Piz (LUO et al., 2002), AVR-Pii (YASUDA et al., 2006), AVR-Pi15 (MA et al., 2006), e AVR-Pit e AVR-Pia (CHEN et al., 2007).

A inserção de transposons em genes AVR, também foi observada para o gene AVR1-CO39, por meio de genes que controlam traços morfológicos, como Acr1, o qual está envolvido no controle da morfologia do conídio (NISHIMURA et al., 2000). A inserção do transposon de Pot-3 no promotor de AVR-Pita causou o ganho de virulência em cultivares de arroz contendo Pi-ta, que demonstrou a capacidade do Pot-3 de se mover dentro do genoma de *M. grisea*. O aparecimento de Pot-3 em *M. grisea* parece anteceder a diversificação de vários hospedeiros específicos do fungo (KANG et al., 2001). Recentemente foi demonstrado que os transposons podem se movimentar através do genoma e podem também carregar genes AVR localizados próximos a eles. Chuma

et al. (2011) verificaram que o gene AVR-Pita pode estar localizado em diferentes locais no mesmo cromossomo e em diferentes cromossomos, abrangendo assim, um grande número de cromossomos.

## 2.7 Sobrevivência saprofítica do patógeno

A sobrevivência do patógeno pode ocorrer na forma de conídios e micélios em sementes, plantas voluntárias de trigo, restos culturais, estruturas em repouso (microescleródio), ervas daninhas e espécies cultivadas, como cevada (*Hordeum vulgare*), aveia (*Avena sativa*), braquiária (*Urochloa brizantha*), entre outras gramíneas (OU, 1985; CASTROAGUDÍN et al., 2016; FERNANDES et al., 2017).

A adoção generalizada de práticas de plantio direto em regiões produtoras de trigo no Brasil pode contribuir para prolongar o período de sobrevivência do patógeno. A cobertura vegetal do solo, pode proporcionar efeitos negativos que estão relacionados a doenças de cereais, que se multiplicam em tecidos mortos deixados na superfície do solo (SANTOS e REIS, 1991). Raveloson et al. (2018) avaliaram a sobrevivência do fungo *M. oryzae* em restos culturais de arroz e a sua influência no início de epidemias de brusone, e verificaram que o patógeno pode sobreviver por até 18 meses sob condições de campo, e que a presença de resíduos culturais de arroz infectados poderia desencadear uma nova epidemia da doença.

De acordo com Nunes et al. (2014), o conhecimento das raças de *M. oryzae* permite direcionar o melhoramento genético, visando o desenvolvimento de cultivares resistentes, direcionando, também, a recomendação de cultivares para determinadas regiões, conforme a reação a estes isolados. O uso de cultivares que possuam genes de resistência (R) podem ser manejadas de forma a exercer uma menor pressão de seleção sobre o patógeno, mantendo-se deste modo estáveis os níveis de resistência à brusone no campo (CRILL et al., 1981).

A transmissão de *M. oryzae* via sementes foi relatada pela primeira vez no Japão (KURIBAYASHI, 1928). A semente é um dos meios mais eficientes de dispersão, sobrevivência e transmissão para vários fitopatógenos (SIQUEIRA et al., 2016; ETEBU

e NWAUZOMA, 2017), desempenhando importante papel no ciclo da doença (LEE e DEAN, 1994). O efeito da presença de *M. oryzae* na germinação de sementes de trigo também é pouco conhecido apesar dos relatos sobre a presença do patógeno nas sementes (LOPES e BUENO, 1990), sua transmissão para plântulas (GOULART e PAIVA, 1991), e sua sobrevivência em restos culturais (REIS et al. 1995). As sementes podem ser consideradas a principal fonte de inóculo primário, podendo avançar para novas áreas (REIS et al., 1988). No patossistema brusone do trigo as sementes são consideradas um dos principais meios de sobrevivência para o patógeno na entressafra, pois as mesmas tornam-se fonte de inóculo primário para o início das epidemias (REIS et al., 1995; ALI e BHAT, 2003).

A taxa de transmissão de fitopatógenos é fortemente influenciada pelo meio ambiente e pelas características inerentes do patógeno e do hospedeiro (SIQUEIRA et al., 2016). A esporulação de *M. oryzae* atinge o seu auge ao amanhecer (LI et al., 2013). A presença de orvalho é fundamental para a infecção, porque o efeito da lavagem pode resultar no acúmulo de esporos na ráquis, quando a duração do orvalho é prolongada. No azevém, o limiar de umidade relativa do ar para infecção bem sucedida por *M. oryzae* foi  $\geq 92\%$  a 28 °C (LI et al., 2014). Alves e Fernandes (2006) avaliaram a produção de conídios sob condições naturais de ambiente e verificaram que quando a umidade relativa do ar foi  $\geq 90\%$  e a temperatura de 28°C a produção de conídios de *M. oryzae* foi favorecida. Em contraste, as populações do patógeno são drasticamente reduzidas em regiões temperadas (HARMON e LATIN, 2005).

O patógeno também pode sobreviver em hospedeiros secundários como plantas infestantes, plantas nativas, bem como outras culturas (DIAS MARTINS et al., 2004), tendo sido verificado em mais de 80 gêneros de plantas, que estão presentes na paisagem e assim fornecem um reservatório para *M. oryzae* (MARANGONI et al., 2013; CASTROAGUDÍN et al., 2016). Essas plantas são pertencentes a família Poaceae, dentre eles estão incluídas espécies de interesse agrônomo, como: arroz (*Oryza sativa*), cevada (*Hordeum vulgare*), milheto (*Pennisetum americanum*), milho (*Zea mays*), triticale (*X Triticosecale* Wittmack), centeio (*Secale cereale*) e azevém (*Lolium multiflorum*) (URASHIMA e KATO, 1998; COUCH e KOHN, 2002; COUCH et al., 2005).

## 2.8 Fontes de resistência à doença

O uso de fontes de resistência se constitui em uma alternativa importante em função da baixa eficiência dos fungicidas atualmente utilizados (CRUZ et al., 2016). No entanto, desde a emergência do patógeno da brusone em trigo na última década de 80, o uso de cultivares de trigo resistentes à doença tem se configurado em uma alternativa errática e inconsistente para controlar a doença, devido à ampla variabilidade genética do patógeno (URASHIMA et al., 2004; CRUZ et al., 2010). A incidência e a severidade da brusone numa região dependem do variante do fungo prevalente em tal ambiente, caracterizando a forte influência do fator variabilidade genético-fenotípica no patossistema em questão (MACIEL et al., 2014; DANELLI, 2015).

Até o momento há uma escassez de cultivares de trigo com níveis eficazes de resistência genética para a brusone do trigo (GOULART e PAIVA, 1993; PAGANI, 2011). Maciel et al. (2008) avaliaram diferentes genótipos de trigo em relação a suscetibilidade da doença na espiga e verificaram que poucos cultivares apresentaram algum grau de resistência à doença. Os autores sugeriram que para maior validação da reação de resistência a doença, os cultivares deveriam ser testados em condições de campo, pois a reação de cada genótipo de trigo pode variar de acordo com a região geográfica em que é cultivado. Dessa forma, o pleno êxito do processo de geração de cultivares de trigo, com adequados níveis de resistência à brusone, passa pela identificação e monitoramento dos fatores relacionados à reação das plantas à infecção do patógeno (CRUZ et al., 2010; MACIEL et al., 2014).

De acordo com Urashima e Kato (1994) a dificuldade em se obter cultivares de trigo com elevado nível de resistência à brusone está relacionado a homogeneidade do germoplasma de trigo cultivado no mundo aliado a variabilidade genética existente nas populações de *M. oryzae*. Para Urashima et al. (2004) a disponibilidade de genótipos de trigo que possam servir como fontes de resistência é extremamente restrita, e a busca por genótipos com essas características tem sido intensa no Brasil. Dessa maneira, para a identificação de genótipos de trigo resistentes, é necessário verificar o grau de resistência à doença por meio de inoculações com isolados representativos de diferentes populações do patógeno (MACIEL et al., 2004).

A identificação de genes de resistência é um passo importante no desenvolvimento de uma estratégia de manejo de doenças, no entanto, poucos genes de resistência que são eficazes contra o fungo causador da brusone do trigo foram identificados (URASHIMA et al., 2004; CRUZ et al., 2012). A fim de efetivamente produzir novas cultivares de trigo com resistência à brusone são necessárias maiores informações sobre a estrutura e a estabilidade dos genes de avirulência e seus correspondentes genes de resistência (CHUMA et al., 2011).

Em grande parte, os programas de melhoramento genético de trigo têm adotado o uso da resistência parcial ou quantitativa, que é poligênica e efetivamente uniformemente contra um grande número ou todas as raças do patógeno, e por ser geneticamente mais simples. A resistência parcial é conferida por um loci de características quantitativas (QTLs) e é presumivelmente raça não específica e durável (ROUMEN, 1994), sendo caracterizada pela prevenção da reprodução do fungo em interações incompatíveis entre hospedeiro e patógeno (PARLEVLIET e VAN OMMEREN, 1975; ZENBAYASHI et al., 2002; AGRIOS, 2005). Na resistência parcial observa-se uma distribuição contínua de graus de resistência entre as progênes, classificando-as de altamente resistentes até altamente suscetíveis (CAMARGO, 2011). A densidade das lesões e a área de tecido vegetal doente são consideradas os principais indicadores da resistência parcial, pois a densidade das lesões reflete o sucesso da penetração do patógeno, e a área doente está condicionada a capacidade do patógeno em progredir dentro dos tecidos da planta (TALUKDER et al., 2005).

Inoue et al. (2017) clonaram os genes de avirulência PWT3 e PWT4, cujos produtos gênicos provocaram a defesa contra o patógeno em cultivares de trigo contendo os correspondentes genes de resistência Rwt3 e Rwt4. Os autores também identificaram o gene de resistência em trigo que reconhece o PWT4 e o denominaram Rmg1 (Resistência a *Magnaporthe grisea* 1). Vy et al. (2014) identificaram um gene (denominado A1) desempenhando importante função na avirulência do isolado TP2 de *Lolium* em trigo, bem como o seu correspondente de resistência, o gene Rmg6. Testes de alelismo revelaram que o PWT3 está localizado no mesmo locus de A1, e é reconhecido por Rmg6. Estes dados sugerem que o mesmo par de genes, PWT3 e Rmg6, está envolvido na incompatibilidade dos isolados de *Lolium* e *Avena* em trigo.



Um único gene para resistência, denominado Rmg7, foi identificado em um ancestral de trigo tetraplóide (*Triticum dicoccum*), denominado St24, quando inoculado com o isolado de *Magnaporthe oryzae* Triticum Br48. Dois outros ancestrais de trigo, denominados St17 e St25, também foram inoculados com o mesmo isolado, e demonstraram ser resistentes a essa raça do patógeno. Os três ancestrais foram colocados em blocos de cruzamento, e as progênes (F2) não foram suscetíveis ao isolado Br48, pois carregavam o mesmo gene de resistência dos parentais. Além disso, um único gene de avirulência correspondente a Rmg7 foi encontrado, sendo que, o mesmo foi reconhecido não somente por St24, mas também por St17 e St25, demonstrando que a fonte de resistência dos três ancestrais tetraploides de trigo utilizados é o gene Rmg7. Esse gene é diferente de Rmg1, Rmg4, Rmg5 e Rmg6, porque esses quatro genes não são eficazes contra o isolado Br48 (TAKABAYASHI et al., 2002; VY et al., 2014). Além disso, Rmg7 é diferente de Rmg2 e Rmg3 pois seu correspondente de avirulência (AVR-Rmg7) é diferente dos correspondentes de resistência de Rmg2 e Rmg3.

Nga et al. (2009) identificaram dois genes de resistência denominados Rmg4 e Rmg5 nas cultivares de trigo Norin 4 e Red Egyptian, respectivamente. Eles foram eficazes contra isolados de *Digitaria* pertencentes a uma outra espécie, *M. grisea*. Rmg6, outro gene encontrado em "Norin 4" também foi eficaz contra um isolado do patógeno oriundo de *Lolium* (VY et al., 2014). Anh et al. (2015) identificaram outro novo gene, Rmg8, na cultivar de trigo S-615, sendo resistente a brusone tanto no estágio de plântula quanto no estágio de planta adulta (espiga). Os autores também identificaram o seu correspondente de avirulência, o gene AVR-Rmg8, e por meio da análise de segregação sugeriram que ambos os genes de avirulência, AVR-Rmg8 e AVR-Rmg7, são o mesmo, sendo um único gene de avirulência reconhecido por dois genes de resistência, Rmg7 em trigo tetraplóide e Rmg8 em trigo hexaplóide.

O desenvolvimento de trigos sintéticos visa a transferência de genes de importância agrônômica de espécies selvagens afins para o trigo cultivado. Esses genótipos de trigo sintético podem conter novos genes capazes de conferir resistência às doenças que atingem a cultura do trigo (MORAES-FERNANDES et al., 2000; ALMEIDA et al., 2007).

Cruz et al. (2016) descobriram que um segmento da translocação cromossômica de *Aegilops ventricosa* (2NS) conferia resistência ao fungo causador da brusone. Essa translocação transporta um segmento distal de 25 a 38 cM do braço 2 do cromossomo de *A. ventricosa* para a região distal do braço cromossômico 2AS em trigo (HELGUERA et al., 2003). Cruz et al. (2016) avaliaram 418 cultivares de trigo que foram inoculadas em câmara de crescimento, e verificaram que dentre elas, aquelas que possuíam 2NS apresentaram uma redução de 50,4 a 72,3% na severidade da doença nas espigas quando comparado com aquelas sem 2NS. Quando inoculadas com isolados recém coletados, as cultivares que possuíam 2NS apresentaram uma redução de 64 a 80,5% na severidade da doença nas espigas quando comparado com aquelas sem 2NS. Contudo, quando linhas isogênicas com ou sem 2NS foram plantadas no campo, houve forte evidência de que o 2NS conferiu resistência à brusone.

Na década de 1990, uma fonte potencial de genes de resistência foi identificada em *Aegilops tauschii* (URASHIMA e KATO, 1994), uma das gramíneas ancestrais que contribuíram para o genoma hexaplóide do trigo moderno (PETERSEN et al., 2006). De acordo com Hanzalová et al. (2007) a cultivar de trigo Renan que foi derivada de cruzamento com *A. tauschii* foi considerada uma fonte promissora de resistência à brusone do trigo. No entanto, Castroagudín et al. (2015) demonstraram que a resistência ao 2NS (na cultivar Renan) pode ser superada por três dos nove grupos de virulência do patógeno da brusone do trigo já identificados no Brasil. Pizolotto et al. (2017) avaliaram um conjunto de 21 genótipos de trigo, todos portadores da translocação 2NS, e observaram ampla variabilidade de reação à doença. Esses dados indicaram que o simples fato da presença do segmento cromossomal 2NS no genoma não necessariamente significa resistência de espiga ao patógeno. Segundo Wulff e Moscou (2012) genes de resistência de pelo menos 52 espécies, e de 13 gêneros já foram introgrididos no genoma do trigo, incluindo o 2NS, mas algumas das raças do fungo oriundas da América do Sul já são capazes de superar a resistência conferida por esse gene (CRUZ et al., 2016; CRUZ e VALENT, 2017).

## 2.9 Controle químico da brusone no trigo

O uso de cultivares resistentes é o melhor método de controle de doenças, tanto no âmbito econômico, quanto ambiental. No entanto, tem se configurado em uma alternativa errática e inconsistente para controlar a brusone do trigo, devido à ampla variabilidade genética do patógeno, o reduzido número de fontes de resistência encontradas em trigo comum e as condições climáticas no Brasil (ANJOS et al., 1996; URASHIMA et al., 2004; CRUZ et al., 2010; DANELLI, 2015). Embora algumas fontes de resistência à brusone do trigo tenham sido relatadas em cultivares de trigo, não há registro de resistência durável (MACIEL et al., 2014). Combinado a isso, a escolha de cultivares menos suscetíveis, o escalonamento da semeadura ou a diversificação de cultivares para evitar a ocorrência do espigamento na mesma época (GOULART et al., 2007), não tem sido medidas de controle eficazes para a redução dos níveis da doença em condições de campo (KOHLI et al., 2011).

Os fungicidas minimizam os danos causados pela doença, sendo uma medida emergencial, rápida e eficiente, quando comparado a resistência genética e ao escalonamento da semeadura (URASHIMA et al., 2004; CRUZ et al., 2011). Dessa forma, o controle químico ainda é a principal alternativa adotada pelos produtores rurais para o controle da doença, mesmo sua eficácia média de controle sendo considerada baixa (GOULART, 2005). De acordo com Maciel et al. (2014), os fungicidas disponíveis atualmente são ineficazes sob alta pressão de doença, e são parcialmente eficazes sob infecção moderada a baixa dos isolados de trigo no Brasil. Essa baixa eficácia está associada as dificuldades na cobertura do alvo, da efetividade do princípio ativo utilizado (PANISSON et al., 2004), das condições de ambiente no momento da aplicação, do grau de suscetibilidade das cultivares (CRUZ et al., 2011) e ao desenvolvimento da resistência a fungicidas pelo patógeno (CASTROAGUDÍN et al., 2015; MOTTALEB et al., 2018).

Aliado a isso, há um reduzido número de trabalhos relativos ao controle químico da brusone do trigo, e a disponibilidade de produtos químicos registrados para o controle da doença na cultura também é pequena. Segundo as indicações técnicas da Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (2014), três fungicidas

são indicados para o controle da brusone do trigo na parte aérea da cultura. São eles: tebuconazol (250 g i.a. ha<sup>-1</sup>), metconazol (81 g i.a. ha<sup>-1</sup>) e piraclostrobina + epoxiconazol (133 + 50 g i.a. ha<sup>-1</sup>). De acordo com resultados de pesquisa mostrados na Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (2012), a mistura de estrobilurina + triazol apresentou maior efetividade no controle da doença comparativamente aos triazóis isolados.

Em 2005, a Comissão Centro-Sul de Pesquisa de Trigo sugeriu que o controle fitossanitário fosse realizado com fungicidas que apresentassem eficácia aceitável para a doença e que a aplicação fosse realizada no início da floração plena. Nesse período, a eficácia do controle químico da brusone em cultivares suscetíveis era na ordem de 30 a 50%. Diferentemente, de acordo com a Reunião Técnica de Trigo e Triticale (2011), a primeira aplicação, de forma preventiva, deve ser realizada na fase final do emborrachamento, e a segunda na fase intermediária da antese, estádios 45 e 65 da escala de Zadoks et al. (1974), respectivamente, correspondendo a um intervalo de 14 dias entre as aplicações (ROCHA et al., 2014).

De acordo com Goulart (2005) o controle obtido com a aplicação de fungicidas em condições de campo pode variar de 30% a 50% dependendo do grau de resistência da cultivar, do manejo da cultura e, principalmente, das condições climáticas, que podem ser extremamente favoráveis à ocorrência da brusone, ou seja, alta umidade e longo período de molhamento foliar e da espiga associados à temperatura em torno de 25 °C. Em experimentos realizados por Goulart e Paiva (1993), alguns fungicidas se destacaram no controle da doença. O fungicida triciclazol apresentou eficácia de controle de 38%, sem, no entanto, diferir estatisticamente do tebuconazol com 31% de controle, o qual foi semelhante ao tiofanato metílico + mancozebe (22%). O mancozebe e o procloraz controlaram a brusone em índices de 18%.

Em experimentos conduzidos por Santana et al. (2015), os autores avaliaram a eficácia de fungicidas do grupo químico triazol, isoladamente ou em mistura com fungicidas do grupo das estrobilurinas e constataram que, apesar da redução da incidência da doença nas espigas, o nível de controle não foi suficiente para manter rendimentos compatíveis com a média de rendimento da cultura no Brasil.

Cruz et al. (2015) avaliaram os fungicidas picoxistrobina + ciproconazol, trifloxistrobina + tebuconazol, e azoxistrobina + ciproconazol, para o controle da brusone em parte aérea do trigo, e observaram reduções de 62 a 77% na severidade da doença nas espigas, quando comparado a testemunha sem aplicação de fungicida.

Agrega-se a toda variabilidade observada, em função de clima, local e ano, o fato do patógeno possuir uma diversidade genética distribuída aleatoriamente nas regiões tritícolas brasileiras, a redução na ocorrência de brusone pelo uso de fungicidas e a consequente proteção ao rendimento variaram em função do ano, local e manejo da cultura (MACIEL et al., 2014). Até o momento não é conhecido o quanto essa diversidade genética influencia no controle químico da doença. Resultados preliminares sugerem que pode haver resposta diferencial ao princípio ativo do fungicida, dependendo do patotipo de *M. oryzae* (CASTROAGUDÍN et al., 2015).

### **3. Tecnologia de aplicação de fungicidas**

A pulverização é um processo mecânico de geração de um grande número de gotas, a partir de uma calda preparada para um tratamento fitossanitário. Já, aplicação é o processo de colocar um produto fitossanitário no alvo biológico, depositando-o no local exato onde a sua ação é necessária (CHRISTOFOLETTI 1999; MATUO, 2001). A eficiência da aplicação é a relação entre a dose teoricamente requerida para o controle e a dose efetivamente empregada, geralmente expressa em porcentagem. A eficiência de um produto fitossanitário aplicado ao alvo dependerá estritamente da quantidade de ingrediente ativo que atinge o alvo (MATUO, 1998).

De acordo com os preceitos da tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas, uma boa aplicação é aquela que é realizada no momento correto e proporciona uma cobertura suficiente do alvo, depositando a quantidade de defensivo necessária para eliminar ou abrandar, com segurança, um determinado problema, a fim de evitar a ocorrência de perdas econômicas (MATUO, 1998). Assim, todo o processo que envolve a aplicação de um defensivo agrícola necessita de cuidados especiais em relação à forma e o momento da aplicação, além da escolha de equipamentos adequados de modo a garantir que o produto alcance o alvo de forma eficiente, minimizando-se as perdas e a

contaminação ambiental (CUNHA et al., 2005). Essas perdas também estão diretamente relacionadas as condições meteorológicas no momento da aplicação, por isso não se recomenda a realização de aplicações em períodos de temperatura superiores a 30°C, com velocidade dos ventos superior a 10 km h<sup>-1</sup> e umidade relativa do ar abaixo de 50% (WODAGENEH e MATTHEWS, 1981; FERREIRA, 2006).

A aplicação de agrotóxicos se dá por meio da fragmentação do líquido em gotas de pulverização. O processo da conversão de líquido em gotas de pulverização, assim como o destino após a formação das gotas são dependentes das propriedades físicas do produto a ser aplicado, do volume de calda, do tipo de ponta, da pressão e das condições ambientais no momento de aplicação (PROKOP e VEVERKA, 2006). Entre as diferentes técnicas de aplicação de produtos fitossanitários, as que se baseiam na pulverização hidráulica são as mais difundidas, graças à flexibilidade que oferecem em diferentes situações (TEIXEIRA, 1997).

As principais dificuldades relacionadas com o controle químico de doenças de espiga na cultura do trigo, são: a) esporadicidade de sua ocorrência (REIS, 1988), b) dificuldade de aplicar os fungicidas no momento correto (REIS, 1988; MESTERHAZY e BARTOK, 1996) e c) dificuldade de atingir os sítios de infecção com os fungicidas (REIS et al., 1996). Em relação a brusone do trigo, a baixa eficácia dos fungicidas está associada às dificuldades no alcance do alvo, em decorrência das características inerentes ao sítio de infecção (ráquis das espigas) (KOHLI et al., 2011), da elevada diversidade de isolados quanto aos padrões de virulência (URASHIMA et al., 2004), às condições de alta favorabilidade do ambiente, ao alto grau de suscetibilidade das cultivares (CRUZ et al., 2011), e a própria ineficácia do princípio ativo do fungicida utilizado contra o patógeno (MACIEL, 2011; PAGANI et al., 2014).

Uma das formas de se obter uma boa deposição da pulverização em alvos biológicos é a correta seleção das pontas de pulverização (SCUDELER et al., 2004), pois são elas que determinam as características da pulverização produzida (CUNHA e TEIXEIRA, 2003). Atualmente, existem vários modelos de pontas disponíveis no mercado, sendo que cada uma delas produz um espectro de tamanho de gotas diferente,

bem como larguras e padrões diferentes de deposição para diferentes condições operacionais (ANDEF, 2004; SOUZA et al., 2011).

No caso específico da brusone do trigo, o desafio a ser vencido é o redirecionamento do jato de pulverização de modo a atingir o alvo de interesse, que nesse caso é o ráquis, onde ocorre a penetração e a colonização por parte do patógeno. De acordo com Reis et al. (2016) essa alteração na direção do jato da calda pulverizada pode ser obtida por meio do uso de pontas de pulverização de leque vertical e/ou duplo leque (30° para frente e 70° para trás). Butrinowski (2015), avaliaram diferentes arranjos dos bicos na barra de pulverização para aplicação de fungicida, visando o controle de giberela em trigo, e verificaram que a utilização de uma barra modificada, com pontas gêmeas com ângulo ajustável (30° para a frente e 70° para trás), que dirigia os jatos para as laterais das espigas, contribuiu para a melhora na deposição dos fungicidas, resultando em melhor controle da doença. Para Ozeki e Kunz (1996), uma densidade entre 30 e 50 gotas  $\text{cm}^{-2}$  é suficiente para que os fungicidas sistêmicos apresentem a eficácia desejada. Na grande maioria das culturas e nos cereais de inverno, a parte inferior do dossel da planta mantém por mais tempo o molhamento foliar, favorecendo, dessa forma, o início da infecção da maioria dos patógenos.

Boaretto et al. (2017) avaliaram diferentes pontas de pulverização e volumes de calda, e concluíram que para o controle de brusone em espigas de trigo recomenda-se a utilização de volumes de calda entre 150 e 200  $\text{L ha}^{-1}$ . Teixeira et al. (2008) também encontraram resultados semelhantes em relação a maior cobertura das espigas e conseqüentemente maior controle da doença, quando o volume de calda passou de 100 para 200  $\text{L ha}^{-1}$ , no entanto não diferindo de 300  $\text{L ha}^{-1}$ . Logo, a estratégia adotada por produtores em reduzir o volume de calda com a intenção da redução de custos e aumento da eficiência da pulverização deve ser utilizada com cautela para as doenças em parte aérea do trigo.

Outra possível forma de melhorar a eficiência das aplicações, além da seleção correta das pontas e volumes de aplicação, pode ser através da adição de adjuvantes à calda de pulverização (IOST, 2008). Hazen (2000) define os adjuvantes como materiais adicionados ao tanque de mistura que auxiliam ou modificam a ação do agrotóxico, ou a

característica física da mistura. Além disso, a melhoria do efeito biológico dos fungicidas também é atribuída a interações físicas proporcionadas pelo uso de adjuvantes na calda de pulverização, como: adesividade, umedecimento, penetração, retenção, espalhamento e duração da ação do ingrediente ativo (SPANOGHE et al., 2007; TAYLOR, 2011). Ryckaert et al. (2007) avaliaram a deposição e o espalhamento do fungicida propiconazol com ou sem adição de adjuvante na calda de pulverização, para o controle de giberela em triticales, e observaram reduções na severidade da doença e no custo da aplicação por hectare. Souza et al. (2014) demonstraram que a adição de adjuvantes à calda de pulverização interferiu positivamente no desempenho dos fungicidas aplicados para o controle de doenças em parte aérea do trigo, reduzindo a severidade de doenças, aumentando o número de grãos por espigas e conseqüentemente gerando um incremento na produtividade final da cultura.



### 3 CAPÍTULO I

Virulência de *Magnaporthe oryzae* do trigo e de outras gramíneas invasoras e cultivadas e resistência à brusone

#### 3.1 Resumo

Trabalhos realizados especialmente no Brasil indicam que *Magnaporthe oryzae* do trigo possui extrema complexidade nas suas características de virulência, inclusive sendo capaz de promover reações qualitativas em determinados genótipos de trigo. Também existe uma demanda bastante intensa por fontes de resistência à brusone do trigo e pela elucidação e compreensão de muitos aspectos relacionados à resistência à infecção de *M. oryzae* em plantas de trigo. Em 2016, o relato sobre a relação da presença do segmento cromossomal 2NS de *Aegilops ventricosa* em genótipos de trigo e resistência à brusone estabeleceu uma nova perspectiva sobre o alcance do controle genético da brusone do trigo. Os objetivos do trabalho foram: a) caracterizar e comparar a virulência de isolados *M. oryzae* do trigo e de outras gramíneas invasoras e cultivadas no Brasil baseando-se na reação de um conjunto formado por 11 genótipos de trigo e um de cevada (T&C) à infecção do patógeno; b) comparar os genótipos T&C em relação à reação à infecção de *M. oryzae* em folhas de plântulas e espigas destacadas; e c) relacionar a presença do segmento cromossomal 2NS de *A. ventricosa* nos genótipos T&C e resistência à brusone. Plântulas e espigas destacadas dos genótipos T&C foram utilizados em experimentos conduzidos em condições controlada, nos quais suspensões individualizadas de conídios de 91 isolados de *M. oryzae* do trigo e de outras gramíneas invasoras e cultivadas foram utilizadas em procedimentos de inoculação. A presença do segmento cromossomal 2NS nos genótipos T&C foi determinada via PCR. Verificou-se que grupos de virulência de *M. oryzae* estão amplamente distribuídos no país e que, devido à alta resistência à brusone demonstrada, a cultivar de trigo Santa Fé assume um papel de destaque como fonte de resistência à doença. Além disso, determinou-se que a avaliação de isolados de *M. oryzae* do trigo quanto à virulência gera padrões de classificação muito distintos dependendo se o objeto de análise das infecções é a folha ou a espiga.

Palavras-chave: 1. Brusone do trigo. 2. Grupos de virulência. 3. Espiga destacada.

#### 3.2 Introdução

O gênero *Magnaporthe* inclui várias espécies de fungos patogênicos que são causadores de uma doença denominada de “brusone” em mais de 50 gramíneas distintas (OU, 1985). Entre essas espécies fúngicas, *M. oryzae* é o patógeno mais importante, devido à sua distribuição mundial em plantas da família Poaceae (MEHTA e BAIER, 1998). No final do século XX, *M. oryzae* emergiu como importante patógeno adaptado

ao trigo no Sul do Brasil, tendo sido identificado pela primeira vez em 1985 (IGARASHI et al., 1986). Atualmente é aceita a classificação taxonômica de Couch e Kohn (2002), em que isolados do patógeno, oriundos de arroz, trigo e outras poáceas invasoras são denominados de *Magnaporthe oryzae*, e isolados associados a hospedeiros do gênero *Digitaria* são classificados como *Magnaporthe grisea*.

De acordo com Levy et al. (1993), as prováveis causas para a emergência de surtos epidêmicos de brusone em culturas agrícolas cuja ocorrência desse tipo de evento não havia sido reportada até determinado momento, como é o caso da cultura do trigo, são derivadas de trocas genéticas no patógeno, que acaba gerando novos variantes do mesmo em relação à virulência. Nesse sentido, Danelli (2015) avaliou uma população de isolados de *M. oryzae* oriundos de diferentes regiões brasileiras produtoras de trigo, e o espectro de virulência indicou um grau elevado de variabilidade nessa população. A similaridade entre isolados de trigo e aqueles de poáceas invasoras, foi um indicativo da importância que outros hospedeiros exercem sobre o ciclo biológico do patógeno da brusone do trigo no Brasil. Maciel et al. (2014) também encontraram evidências de diversidade na virulência e em resposta diferencial de cultivares de trigo ao patógeno. Assim, avaliações realizadas em relação ao patossistema *M. oryzae*-trigo indicam que o pleno êxito na geração de cultivares de trigo, com adequada resistência à brusone, passa pela identificação e monitoramento dos fatores relacionados à reação das plantas à infecção do patógeno. Entre tais fatores, o mais relevante é a complexidade genética da população de *M. oryzae* ocorrente nas lavouras de trigo do Brasil (CRUZ et al., 2010; MACIEL et al., 2014).

A busca por resistência ao patógeno tem sido uma constante das pesquisas desenvolvidas nas principais regiões tritícolas do Brasil (GOULART, 2004). Apesar de um esforço contínuo dos programas de melhoramento genético, a maioria das cultivares de trigo avaliadas tem demonstrado suscetibilidade à doença (CRUZ et al., 2010). Apesar dessa condição, cultivares como BR18 Terena, BRS 229 e MGS 3 Brilhante apresentam relativa resistência à brusone sob condições de campo (CRUZ et al., 2010; MACIEL et al., 2014; FERREIRA et al., 2018). Mais recentemente, tem sido observado que cultivares como BRS 404, TBIO Sintonia, TBIO Mestre e CD 116, também têm demonstrado um nível significativo de resistência à doença (REUNIÃO, 2017).

Em 2016, Cruz et al. (2016) relatou a associação entre a presença da translocação cromossômica 2NS/AS de *Aegilops ventricosa* e resistência à brusone do trigo. No referido trabalho, foram avaliados 418 genótipos de trigo quanto a resistência à brusone em avaliações sob condições controladas e/ou sob condições de campo em experimentos conduzidos na Bolívia. Em ambas as situações, observaram-se menores incidências de brusone nas cultivares portadoras da translocação 2NS/2AS. A resistência de *A. ventricosa* a doenças do trigo, incluindo a ferrugem, foi mencionada pela primeira vez na década de 1960 (MAIA, 1967).

Os objetivos do trabalho foram: a) caracterizar e comparar a virulência de isolados *M. oryzae* do trigo e de outras gramíneas invasoras e cultivadas no Brasil baseando-se na reação de um conjunto formado por 11 genótipos de trigo e um de cevada (T&C) à infecção do patógeno; b) comparar os genótipos T&C em relação à reação à infecção de *M. oryzae* em folhas de plântulas e espigas destacadas; e c) relacionar a presença do segmento cromossomal 2NS de *A. ventricosa* nos genótipos T&C e resistência à brusone.

### **3.3 Material e Métodos**

Todas as atividades realizadas neste experimento foram conduzidas nas instalações da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. No Laboratório de Fitopatologia, foram feitas as repicagens das colônias do fungo, meios de cultura, preparo do inóculo e avaliações da reação dos genótipos quanto à brusone. Em casa-de-vegetação, foi realizada a condução das plantas utilizadas no experimento. Em câmara com ambiente controlado, as plantas foram inoculadas e mantidas por sete dias até serem avaliadas.

#### **3.3.1 Amostragem das plantas e isolamento de *Magnaporthe oryzae***

Entre 2013 e 2017, espigas de trigo (*Triticum aestivum*) e triticale (*X triticosecale*) e folhas de azevém (*Lolium multiflorum*), aveia preta (*Avena strigosa*), aveia branca (*Avena sativa*), cevada (*Hordeum vulgare*) e capim sudão (*Sorghum sudanense*), espécies hospedeiras de *M. oryzae*, além de folhas de milhã (*Digitaria sanguinalis*), foram coletadas em lavouras de trigo localizadas nos estados do Rio

Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e no Distrito Federal. Cada local de coleta foi georreferenciado com o auxílio de um GPS manual. Todas as amostras, as quais apresentavam sintomas de brusone em espigas ou folhas, foram colocadas em sacos de papel, secas naturalmente ao ar livre e mantidas à -20 °C até o momento do isolamento (MACIEL et al., 2014).

Realizou-se a assepsia dos segmentos sintomáticos das plantas que foram coletadas. A seguir, esse material foi colocado em ambiente de câmara-úmida, em placas de Petri, por 24 h. Confirmada a esporulação com o auxílio de um microscópio-estereoscópico, segmentos com os corpos frutíferos do patógeno foram transferidos com auxílio de uma agulha histológica para um tubo contendo 5 mL de água esterilizada, formando uma suspensão de conídios do fungo. Essa suspensão foi vertida em uma placa de Petry com o meio ágar-água (ágar, 16 g/L) (preparado de acordo com FERNANDEZ, 1993), tomando o cuidado para que toda superfície da placa ficasse preenchida pela suspensão de esporos. As placas de Petry foram mantidas por aproximadamente 4 h em câmara de crescimento a  $25 \pm 2$  °C para que ocorresse a germinação dos conídios sobre o meio ágar-água que foi verificada com auxílio de microscópio-estereoscópico. Os esporos germinados foram transferidos, individualmente, para placas de Petri com meio BDA contendo estreptomicina (0,2 g/L) e com a seguinte composição para 1000 mL de água destilada: batata, 200 g; dextrose, 15 g; e ágar, 16 g. A seguir, estas placas foram incubadas à 24 °C (RIBEIRO e TERRES, 1987). De cada amostra infectada, foi obtido um isolado monospórico.

Após a formação de cada colônia monospórica, foi realizada a repicagem de segmentos miceliais para a superfície de pedaços de papel filtro (1x1 cm) dispostos sobre a superfície de três placas de Petri contendo meio aveia-ágar (farinha de aveia, 60 g/L; ágar, 16 g/L). Posteriormente, as placas foram colocadas por 10 dias em câmara de crescimento à  $25 \pm 2$  °C e sob fotoperíodo de 12 h. Após a colonização dos papéis-filtro, os mesmos foram removidos das placas com auxílio de uma pinça, e secos em câmara de fluxo de ar por dois dias. Os papéis filtro foram transferidos para microtubos de 2 mL. Os microtubos foram identificados da seguinte forma, Py 13. 0. XXX e Py 13. 1. XXX. Onde, “Py” significa *Pyricularia*; “13” o ano em que o isolado foi coletado; “0” o número atribuído para isolados provenientes de gramíneas invasoras e “1” para isolados

provenientes de trigo; “XXX” é a identificação individual na coleção de isolados pertencentes a Embrapa Trigo, como: 001, 002, ... 83. Por exemplo: *Py* 13.1.001: isolado coletado em 2013, proveniente de trigo, na posição de número 1 na coleção de isolados de trigo; *Py* 15.0.001: isolado coletado em 2015, proveniente de gramínea invasora, na posição de número um na coleção de isolados de gramíneas invasoras e outras gramíneas cultivadas.

### **3.3.2 Genótipos**

Os isolados de *M. oryzae* utilizados no experimento foram avaliados quanto à virulência baseando-se na reação à infecção de um conjunto formado por 11 cultivares de trigo e uma linhagem de cevada (c). Os referidos genótipos são os seguintes: a linhagem de cevada PFC 2010123 e as cultivares de trigo Anahuac 75, BRS 229, BRS Buriti, BRS 234, Renan, Jagger, Jackpot, Fuller, Santa Fé, Pampeano e TBIO Mestre. Dois critérios foram utilizados para seleção destes genótipos e inclusão dos mesmos nos experimentos para avaliação da virulência dos isolados de *M. oryzae*: resultados de trabalhos já publicados (CRUZ et al., 2009; CRUZ et al., 2010; DANELLI, 2015, MACIEL et al., 2014) e avaliações realizadas por fitopatologistas e melhoristas envolvidos na condução do programa de melhoramento genético de trigo da Embrapa Trigo. Além de permitir comparar os isolados de *M. oryzae* quanto à virulência, os dados obtidos no experimento foram usados para classificar os genótipos T&C quanto à reação à brusone. Os genótipos T&C também foram avaliados quanto à presença do segmento cromossomal 2NS.

### **3.3.3 Preparação do inóculo e inoculações**

Os genótipos T&C foram submetidos à inoculação com isolados de *M. oryzae* em dois estádios de desenvolvimento: de plântula (quatro folhas expandidas) e de planta adulta (início da antese), nos estádios 14 e 63 da escala de Zadoks et al. (1974), respectivamente. Antes de serem semeadas nos vasos, as sementes das cultivares Jagger, JackPot, Fuller, Santa Fé e Renan foram vernalizadas à 4 °C por 45 dias.

Plântulas utilizadas nos experimentos foram desenvolvidas em vasos de 0,1 L contendo substrato, os quais foram acondicionados em bandejas de alumínio (40x20x10cm). Foram mantidas 10 plântulas por vaso.

Plantas destinadas à produção de espigas para serem submetidas à inoculação com suspensões de conídios dos isolados de *M. oryzae* foram desenvolvidas em baldes de 8 L contendo solo adubado e corrigido de acordo com a análise química do solo. Foram mantidas 5 plantas por balde após a emergência, sendo essas, conduzidas em casa-de-vegetação até o estágio 63 da escala de Zadoks et al. (1974). As espigas destas plantas foram destacadas com o auxílio de uma tesoura e fixadas em blocos de espuma fenólica, os quais estavam previamente saturados com água e envolvidos por filme plástico. Os blocos de espiga fenólica com as espigas fixada foram colocados em bandejas e a inoculação foi realizada conforme descrito por Maciel et al. (2014) e Danelli (2015).

As bandejas com os dois tipos de materiais, vasos de plântulas e blocos de espuma fenólica com as espigas fixadas, foram envoltas em sacos plásticos após a inoculação, mantidas 24 h no escuro e sob UR maior do que 90%. Depois de 24 h, o fotoperíodo foi ajustado para 12 horas e a UR para 60-70%.

Oitenta e três isolados monospóricos, obtidos de coletas realizadas entre 2013 e 2017, foram utilizados nos procedimentos de inoculações realizadas no experimento. Além destes, outros oito isolados de *M. oryzae* foram incluídos no experimento, os quais se caracterizam por terem sido obtidos a partir de coletas realizadas em 2012 e com suas respectivas virulências avaliadas por Danelli (2015) considerando a reação à infecção de isolados de *M. oryzae* de um conjunto de genótipos distinto do que foi utilizado no presente trabalho. Cada par destes oitos isolados foram classificados em um dos quatro grupos de virulência estabelecidos por Danelli (2015) baseando-se na severidade em espigas destacadas. Os quatro grupos são os seguintes: A' (*Py* 12.1.100 e *Py* 12.1.150), B' (*Py* 12.1.111 e *Py* 12.1.124), C' (*Py* 12.1.077 e *Py* 12.1.195) e D' (*Py* 12.1.058 e *Py* 12.1.187).

Nos procedimentos de inoculação, os 91 isolados monospóricos de *M. oryzae*, que são preservados em papel-filtro no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo, foram transferidos de forma individual para placas de Petri com o meio de cultura aveia-ágar e incubados por 12 a 15 dias, sob lâmpadas fluorescente, fotoperíodo de 12 h à 25°C (ATKINS et al., 1967, RIBEIRO e TERRES, 1987). Para a preparação do inóculo, as colônias de *M. oryzae* foram inundadas com água destilada acrescida de espalhante adesivo Tween 80® (0,01%) e raspadas com o auxílio de um pincel para desalojar os conídios dos conidióforos. Em seguida, a solução foi filtrada em uma peneira contendo um pedaço de gaze, e foi realizada a contagem dos conídios em câmara de Neubauer no microscópio óptico, sendo que a concentração foi ajustada para 10<sup>5</sup> conídios/mL. As inoculações foram realizadas com o auxílio de um atomizador plástico de 0,5 L.

### 3.3.4 Avaliações

As avaliações foram realizadas sete dias após a inoculação. Para cada uma das 10 plântulas de cada vaso, foi selecionada a folha que apresentava o maior número de lesões da doença. Foram avaliadas duas repetições, num total de 20 folhas por genótipo, considerando-se apenas as lesões do tipo 4, com base na escala diagramática descrita por Torres et al. (2015). Com base no número de lesões esporulativas, os genótipos foram classificados em: resistente – R (número de lesões esporulativas  $\leq 1$ ), moderadamente resistente – MR (duas a três lesões esporulativas), moderadamente suscetível - MS (quatro a cinco lesões esporulativas) e suscetível – S (mais de cinco lesões esporulativas). Para cada uma das 20 folhas avaliadas, também se determinou o grau de severidade da doença por meio de observação visual, onde foram atribuídas notas de 0 a 100% para cada folha avaliada. Com base nas notas de severidade estimadas visualmente, os genótipos T&C foram classificados da seguinte forma: R, resistente - severidade  $\leq 10\%$ ; MR, moderadamente resistente - severidade entre 11 e 30%); MS, moderadamente suscetível - severidade entre 31 e 50%; e S, suscetível - severidade  $> 50\%$ .

Nas espigas, as avaliações foram realizadas por meio da observação visual do grau de severidade que a doença atingiu, sendo estimadas notas visuais de 0-100%. Esse experimento foi realizado duas vezes, cada um deles contando com a avaliação de 6

espigas por genótipo, com base na escala diagramática desenvolvida por Maciel et al. (2014). Baseando-se nas médias de severidade verificadas para cada genótipo, os mesmos foram classificados usando o mesmo critério adotado para a severidade observada nas folhas das plântulas.

### 3.3.5 Análise estatística

O delineamento experimental para ambos os experimentos foi inteiramente casualizado. Para plântula, cada vaso foi considerado uma repetição, tendo sido semeados dois vasos para cada um dos genótipos de trigo e cevada. Em planta adulta, cada um dos três blocos de espuma fenólica em que as espigas foram fixadas, foi considerado uma repetição, tendo sido mantidos três blocos de espuma fenólica de forma aleatória em cada bandeja. Ambos os experimentos foram repetidos uma vez. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os dados originais obtidos nas avaliações em plântulas e planta adulta por meio do pacote estatístico do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2017).

A resistência dos genótipos de trigo e cevada foi baseada nas reações diferenciais aos 91 isolados de *M. oryzae* inoculados, obtidas nas avaliações das seguintes variáveis: severidade nas espigas destacadas, severidade de lesões esporulativas em folhas de plântulas e número de lesões esporulativas em folhas de plântulas. Os dados foram submetidos a análise exploratória e de visualização dos dados utilizando o pacote ggplot2 (WICKHAM, 2016; ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag. New York). A comparação da virulência dos isolados foi determinada por meio de análise de similaridade baseada na Distância Euclidiana para os dados originais obtidos na avaliação das três variáveis aferidas: a) severidade nas espigas destacadas, b) severidade de lesões esporulativas em folhas de plântulas e c) número de lesões esporulativas em folhas de plântulas. Para cada uma destas variáveis, foi estabelecido um dendrograma circular com a formação arbitrária de 10 grupos (G01 à G10), para que isolados com grau de virulência semelhantes pertencessem ao mesmo grupo e isolados com grau de virulência distintos pertencessem a grupos diferentes. Desse modo, a composição dos grupos teve característica de homogeneidade dentro dos grupos e heterogeneidade entre os grupos. Para a construção dos dendrogramas foi



utilizado o pacote *ggdendro* (DE VRIES e RIPLEY, 2013; *ggdendro*: Create Dendrograms and Tree Diagrams Using ‘*ggplot2*’ R package version 0.1-20).

### 3.3.6 Análise da presença da translocação cromossomal 2NS/2AS

A determinação da presença da translocação cromossomal 2NS/AS nos genótipos utilizados no experimento foi realizada por meio de técnicas moleculares. O DNA genômico foi extraído do tecido foliar dos genótipos C&T pelo método CTAB (ROMANO e BRASILEIRO, 1999). A qualidade e quantidade do DNA de cada amostra foi avaliada em gel de agarose 0,8% corado com brometo de etídio. Para a identificação da translocação, foram utilizados os *primers* VENTRIUP (5’AGGGGCTACTGACCAAGGCT3’) e LN2 (5’TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAA3’), cujo produto é um fragmento de 262 pares de bases (HELGUERA et al., 2003). As reações de polimerase em cadeia (PCR) foram realizadas com 100 ng de DNA genômico e concentrações finais de tampão 1X, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,35 mM de cada dNTP, 0,2 uM de cada primer, 0,5 U de *Taq* polymerase (RBC Bioscience, #RT011C).

O volume final das reações foi de 10 uL. Os produtos de amplificação foram analisados em gel de agarose 2%. O marcador de peso molecular de 50 pb (50 bp DNA Ladder, Invitrogen, Cat. 10416-014) foi utilizado para a estimativa do comprimento dos fragmentos amplificados.

### 3.4 Resultados

Das plantas sintomáticas amostradas, foram obtidos 83 isolados monospóricos de *M. oryzae*, 70 deles oriundos de plantas de trigo, quatro de triticales (*X tritico-secale*), um de azevém (*Lolium multiflorum*), um de aveia preta (*Avena strigosa*), dois de aveia branca (*Avena sativa*), um de cevada (*Hordeum vulgare*) e dois de capim sudão (*Sorghum sudanense*) (Tabela 1). Também foram obtidos dois isolados de *M. grisea* de milhã (*Digitaria sanguinalis*).

Tabela 1. Características dos isolados de *Magnaporthe oryzae* utilizados nos experimentos. Passo Fundo-RS, 2019.

Isolado	Origem	Coordenadas geográficas	Hospedeiro	Genótipo
Py 13.0.001	Cascavel-PR	S24°56'15,6"- WO53°30'57,6"	<i>X triticosecale</i> Wittmack	Guarani
Py 13.0.002	Cascavel-PR	S24°56'15,6"- WO53°30'57,6"	<i>X triticosecale</i> Wittmack	Guarani
Py 13.0.003	Cascavel-PR	S24°56'15,6"- WO53°30'57,7"	<i>X triticosecale</i> Wittmack	Guarani
Py 13.0.004	Cascavel-PR	S24°56'15,6"- WO53°30'57,7"	<i>X triticosecale</i> Wittmack	Guarani
Py 12.1.058	Rio Verde-GO	S17°50'25,8"- WO51°11'00,1"	<i>Triticum aestivum</i>	BR 18-Terena
Py 12.1.077	Perdizes-MG	S19°18'29,8"- WO47°26'15,9"	<i>Triticum aestivum</i>	BR 18-Terena
Py 12.1.100	Perdizes-MG	S19°18'29,6"- WO47°26'14,6"	<i>Triticum aestivum</i>	BR 18-Terena
Py 12.1.111	Rio Verde-GO	S17°47'31,1"- WO51°06'30,7"	<i>Triticum aestivum</i>	BR 18-Terena
Py 12.1.124	Amambaí-MS	S23°02'06,5"- WO55°16'59,3"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS Guamirim
Py 12.1.150	São Luiz Gonzaga-RS	S28°24'47,4"- WO54°45'48,3"	<i>Triticum aestivum</i>	PF 080680
Py 12.1.187	São Luiz Gonzaga-RS	S28°24'46,8"- WO54°45'48,9"	<i>Triticum aestivum</i>	PF 090625
Py 12.1.195	Brasília-DF	S16°01'24,6"- WO47°37'50,5"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 13.1.001	Cascavel-PR	S24°52'53,4"- WO53°27'47,3"	<i>Triticum aestivum</i>	Gralha Azul
Py 13.1.002	Cascavel-PR	S24°52'53,4"- WO53°27'47,3"	<i>Triticum aestivum</i>	Gralha Azul

Py 13.1.003	Cascavel-PR	S24°49'30,5" - W053°27'56,3"	<i>Triticum aestivum</i>	CD 150
Py 13.1.004	Cascavel-PR	S24°49'30,5" - W053°27'56,3"	<i>Triticum aestivum</i>	CD 150
Py 13.1.005	Cascavel-PR	S24°59'28,9" - W053°22'19,0"	<i>Triticum aestivum</i>	Gralha Azul
Py 13.1.006	Toledo-PR	S24°43'13,2" - W053°46'41,0"	<i>Triticum aestivum</i>	CD 150
Py 13.1.007	Toledo-PR	S24°43'13,2" - W053°46'41,0"	<i>Triticum aestivum</i>	CD 150
Py 13.1.008	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'42,5" - W053°36'49,4"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.009	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'42,5" - W053°36'49,4"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.010	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'42,5" - W053°36'49,4"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.011	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'44,5" - W053°36'50,0"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.012	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'44,4" - W053°36'50,0"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.013	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'43,3" - W053°36'49,8"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.014	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'44,3" - W053°36'49,7"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.015	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'44,3" - W053°36'49,7"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.016	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'44,3" - W053°36'49,6"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.017	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'44,0" - W053°36'49,5"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.018	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'43,4" - W053°36'49,3"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada

Py 13.1.019	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'43,2"- WO53°36'49,3"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.020	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'42,8"- WO53°36'49,2"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.021	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'42,6"- WO53°36'49,2"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.022	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'42,5"- WO53°36'49,1"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.023	Assis Chateaubriand-PR	S24°35'42,4"- WO53°36'49,0"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 13.1.024	Campo Mourão-PR	S24°05'28,5"- WO52°20'28,2"	<i>Triticum aestivum</i>	CD 104
Py 13.1.025	Campo Mourão-PR	S24°05'36,5"- WO52°20'40,4"	<i>Triticum aestivum</i>	CD 104
Py 15.0.001	Três de Maio-RS	S24°47'43,4"- WO54°12'53,6"	<i>Lolium multiflorum</i>	Ponteio
Py 15.0.002	Três de Maio-RS	S24°47'43,5"- WO54°12'53,6"	<i>Avena strigosa</i>	Embrapa 139
Py 15.0.003	Três de Maio-RS	S24°47'43,4"- WO54°12'53,6"	<i>Avena sativa</i>	Corona
Py 15.0.005	Londrina-PR	S23°21'11,2"- WO51°10'4,12"	<i>Avena sativa</i>	Não determinada
Py 15.1.001	Montividiu-GO	S17°14'42"- WO51°14'25"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 15.1.002	Santa Juliana-MG	S19°18'12,8"- WO47°27'98,8"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.003	Patrocínio-MG	S18°59'46,6"- WO47°05'03,9"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.004	Uberaba-MG	S19°28'53"- WO47°50'64"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.005	Patrocínio-MG	S18°59'46,6"- WO47°05'03,9"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264

Py 15.1.006	Santa Juliana-MG	S19°18'12,8" - WO47°27'98,8"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.007	Patrocínio-MG	S18°59'44,9" - WO47°05'05,9"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.008	Uberaba-MG	S19°29'96,9" - WO47°45'94,4"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.009	Uberaba-MG	S19°36'64,9" - WO47°44'76,5"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.010	Uberaba-MG	S19°39'59,0" - WO47°39'05,8"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.011	Pedrinópolis-MG	S19°11'74,4" - WO47°33'52,2"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.012	Tapira-MG	S19°48'74,7" - WO46°45'55,5"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.013	Patrocínio-MG	S18°59'44,9" - WO47°05'05,9"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.014	Romaria-MG	S18°58'60,8" - WO47°32'42,6"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.015	Romaria-MG	S18°56'25,1" - WO47°29'67,7"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.016	Vgem. Grande do Sul-SP	S21°50'49,4" - WO46°57'55,9"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.017	Serra Branca-SP	S21°54'44,5" - WO47°08'80,2"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.018	Serra do Salitre-MG	S19°08'96,9" - WO46°42'75,5"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.019	Monte Carmelo-MG	S18°56'65" - WO47°23'43,2"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.020	Tapira-MG	S19°52'14,8" - WO46°42'75,5"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 15.1.021	Patrocínio-MG	S18°54'74,9" - WO47°02'95,5"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264

Py 15.1.022	Araguari-MG	S18°36'04" - WO48°13'54,8"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 394
Py 15.1.023	Casa Branca-SP	S21°49'04,7" - WO47°10'79,6"	<i>Triticum aestivum</i>	Casa Branca
Py 15.1.024	Aguaí-SP	S22°01'56,5" - WO47°02'01,1"	<i>Triticum aestivum</i>	Gralha Azul
Py 15.1.025	Santa Juliana-MG	S19°27'79,9" - WO47°25'73,6"	<i>Triticum aestivum</i>	IAC 24
Py 15.1.026	Perdizes-MG	S19°33'90,5" - WO47°24'39,5"	<i>Triticum aestivum</i>	IAC 26
Py 15.1.027	Argenita-MG	S19°39'30" - WO46°42'43"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 15.1.028	Argenita-MG	S19°39'30" - WO46°42'43"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada
Py 15.1.029	Londrina-PR	S23°11'03,8" - WO51°10'05,8"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS Tangará
Py 15.1.030	Cascavel-PR	S24°56'01,2" - WO53°30'05,7"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS Sabiá
Py 15.1.031	Itaberá-SP	S23°49'0,07" - WO49°05'0,03"	<i>Triticum aestivum</i>	Gralha Azul
Py 16.0.001	Passo Fundo-RS	S28°14'11,4" - WO52°24'24,8"	<i>Hordeum vulgare</i>	Não determinada
Py 17.0.003	Passo Fundo-RS	S28°13'59,0" - WO52°24'24,0"	<i>Digitaria sanguinalis</i>	Não determinada
Py 17.0.004	Passo Fundo-RS	S28°23'59,0" - WO52°24'24,0"	<i>Digitaria sanguinalis</i>	Não determinada
Py 17.0.005	Passo Fundo-RS	S28°13'39,0" - WO52°24'11,0"	<i>Sorghum sudanense</i>	Não determinada
Py 17.0.007	Passo Fundo-RS	S28°13'39,0" - WO52°24'11,0"	<i>Sorghum sudanense</i>	Não determinada
Py 17.1.001	Passo Fundo-RS	S28°13'26" - WO52°23'6,6"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS Guamirim

Py 17.1.002	Uberaba-MG	S19°43'26" - WO47°57'40,5"	<i>Triticum aestivum</i>	CD 116
Py 17.1.003	Uberaba-MG	S19°43'25,8" - WO47°57'41,5"	<i>Triticum aestivum</i>	Lagoa Vermelha
Py 17.1.004	Uberaba-MG	S19°43'25,8" - WO47°57'41,5"	<i>Triticum aestivum</i>	TBIO Mestre
Py 17.1.005	Uberaba-MG	S19°43'25,8" - WO47°57'41,8"	<i>Triticum aestivum</i>	TBIO Sintonia
Py 17.1.006	Uberaba-MG	S19°43'25,9" - WO47°57'41,0"	<i>Triticum aestivum</i>	IPR 144
Py 17.1.007	Nova Ponte-MG	S19°28'08" - WO47°43'10,5"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 17.1.008	Sacramento-MG	S19°35'21,4" - WO47°35'21,1"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 404
Py 17.1.009	Uberaba-MG	S19°43'26,3" - WO47°57'39,8"	<i>Triticum aestivum</i>	BR 18- Terena
Py 17.1.010	Nova Ponte-MG	S19°28'15,5" - WO47°43'12,2"	<i>Triticum aestivum</i>	PF 100368
Py 17.1.011	Nova Ponte-MG	S19°28'15,5" - WO47°43'12,2"	<i>Triticum aestivum</i>	MGS1 Aliança
Py 17.1.012	Sacramento-MG	S19°35'49,1" - WO47°36'02,3"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 229
Py 17.1.013	Perdizes-MG	S19°23'23,2" - WO47°20'15,6"	<i>Triticum aestivum</i>	BRS 264
Py 17.1.014	Brasília-DF	S15°36'02" - WO47°42'42"	<i>Triticum aestivum</i>	Não determinada



Todos os isolados utilizados no experimento demonstraram ser patogênicos, e promoveram a ocorrência de lesões do tipo 4 (lesões esporulativas) nas folhas das plântulas das cultivares Anahuac 75, BRS Buriti, BRS 234, Jagger, JackPot, Fuller e Santa Fé. Na Figura 1, é possível verificar um padrão de reação em folhas de plântulas observado no experimento para um isolado de *M. oryzae*. A presença de lesões esporulativas pode ser visualizada em todos os genótipos T&C, com as exceções da linhagem de cevada PFC 2010123 (6) e da cultivar TBIO Mestre (12). A avaliação da severidade das espigas considerou a estimativa da área percentual da espiga com coloração mais clara ou esbranquiçada. Todas as espigas de todas as cultivares tiveram algum tipo de clareamento, mesmo nas espigas da cultivares com maior nível de resistência.

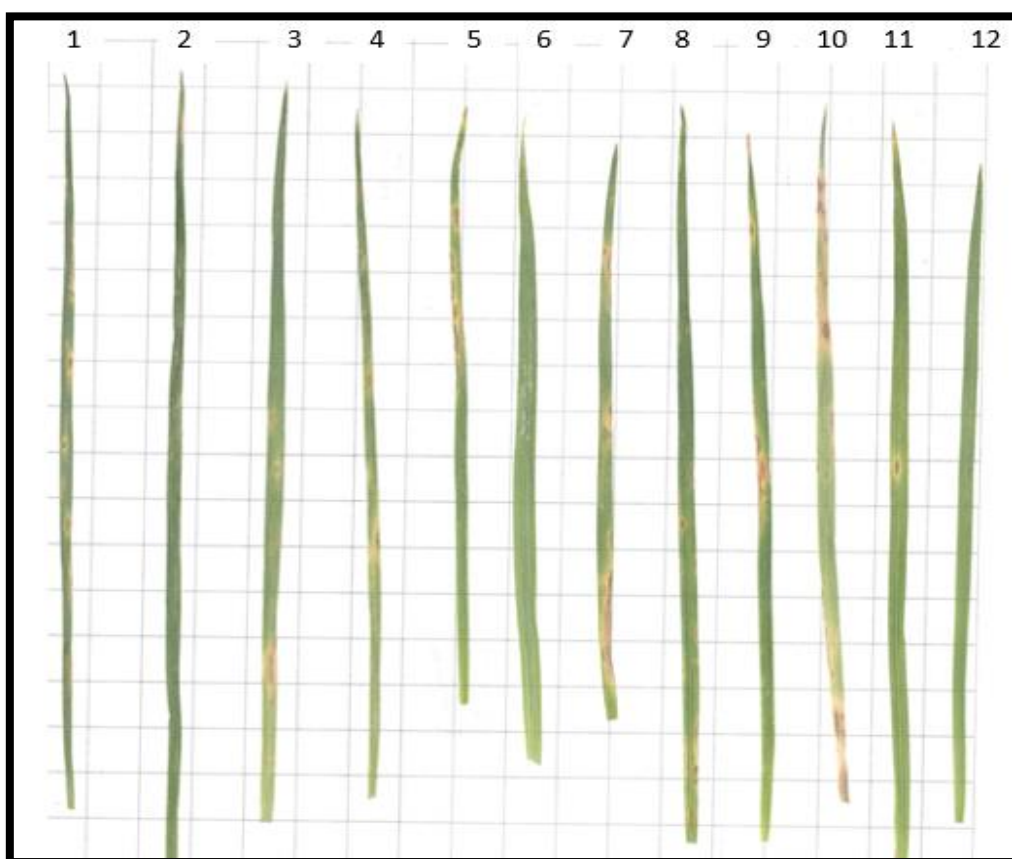


Figura 1. Espectro de virulência e lesões típicas de brusone em plântulas de trigo e cevada, em um conjunto de genótipos composto por 11 cultivares de trigo: 1) Anahuac 75; 2) BRS 229; 3) BRS Buriti; 4) Renan 10; 5) BRS 234; 7) Jagger; 8) JackPot; 9) Fuller; 10) Santa Fé; 11) Pampeano; 12) TBIO Mestre; e uma linhagem de cevada: 6) PFC 2010123. Passo Fundo-RS, 2019.

Na Figura 2, onde é possível verificar a reação em espigas de todos os genótipos T&C à infecção de um isolado de *M. oryzae*, percebe-se que a cultivar Santa Fé (10) é a que apresenta a menor proporção de área afetada pela doença.



Figura 2. Espectro de virulência e lesões típicas de brusone em espigas de trigo e cevada, em um conjunto de genótipos composto por 11 cultivares de trigo: 1) Anahuac 75; 2) BRS 229; 3) BRS Buriti; 4) Renan 10; 5) BRS 234; 7) Jagger; 8) JackPot; 9) Fuller; 10) Santa Fé; 11) Pampeano; 12) TBIO Mestre; e uma linhagem de cevada: 6) PFC 2010123. Passo Fundo-RS, 2019.

O pré-estabelecimento de um número fixo de grupos determinou a formação de grupos com alta similaridade entre si, condição que minimiza a eficiência de uma análise comparativa apropriada dos isolados utilizados no experimento. Esta situação foi contornada pela formação dos chamados grupos maiores (GM), identificados por letras maiúsculas (A-K) nos dendrogramas. Os GMs compreendem grupos (ou isolados) que ficaram com até a metade da menor similaridade determinada em cada análise (metade do raio do dendrograma), considerando-se que o menor grau de similaridade é a que divide grupos no centro do dendrograma.

Na Figura 3, relativa à severidade nas espigas destacadas, os isolados foram divididos em 5 GMs, caracterizados como A, B, C, D e E, nos quais estão inseridos os

grupos G01, G02 e G03; G04; G05 e G06; G07 e G08; e G09 e G010, respectivamente. Na mesma figura é possível verificar uma legenda em que aparecem os valores médios de severidade de cada um dos 10 grupos, considerando as reações para todos os genótipos T&C. Os grupos de maior virulência pertencem aos GMs C, D e E. Em especial, destaca-se o GM E, em que a severidade média de brusone em ambos os grupos foi superior a 50%. Os três isolados agrupados em G09 produziram a maior média de severidade da doença no conjunto de genótipos avaliados (56,3%). Os isolados agrupados nesse grupo são oriundos de trigo, sendo eles: *Py* 15.1.011, *Py* 15.1.018 e *Py* 12.1.195. Os dois primeiros foram coletados em 2015 em Minas Gerais, e o último no Distrito Federal, coletado em 2012. Em G10 a severidade média da doença foi de 52,4%, e este grupo também foi composto por três isolados de trigo, sendo eles: *Py* 12.1.124, *Py* 15.1.010 e *Py* 15.1.017, oriundos de Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, e São Paulo, respectivamente. O primeiro foi coletado em 2012, e os dois últimos em 2015.

Grupo maior	Grupo	Severidade média (%)
A	G01	23,7
A	G02	20,7
A	G03	28,9
B	G04	13,9
C	G05	42,4
C	G06	47,3
D	G07	38,0
D	G08	34,2
E	G09	56,3
E	G10	52,4

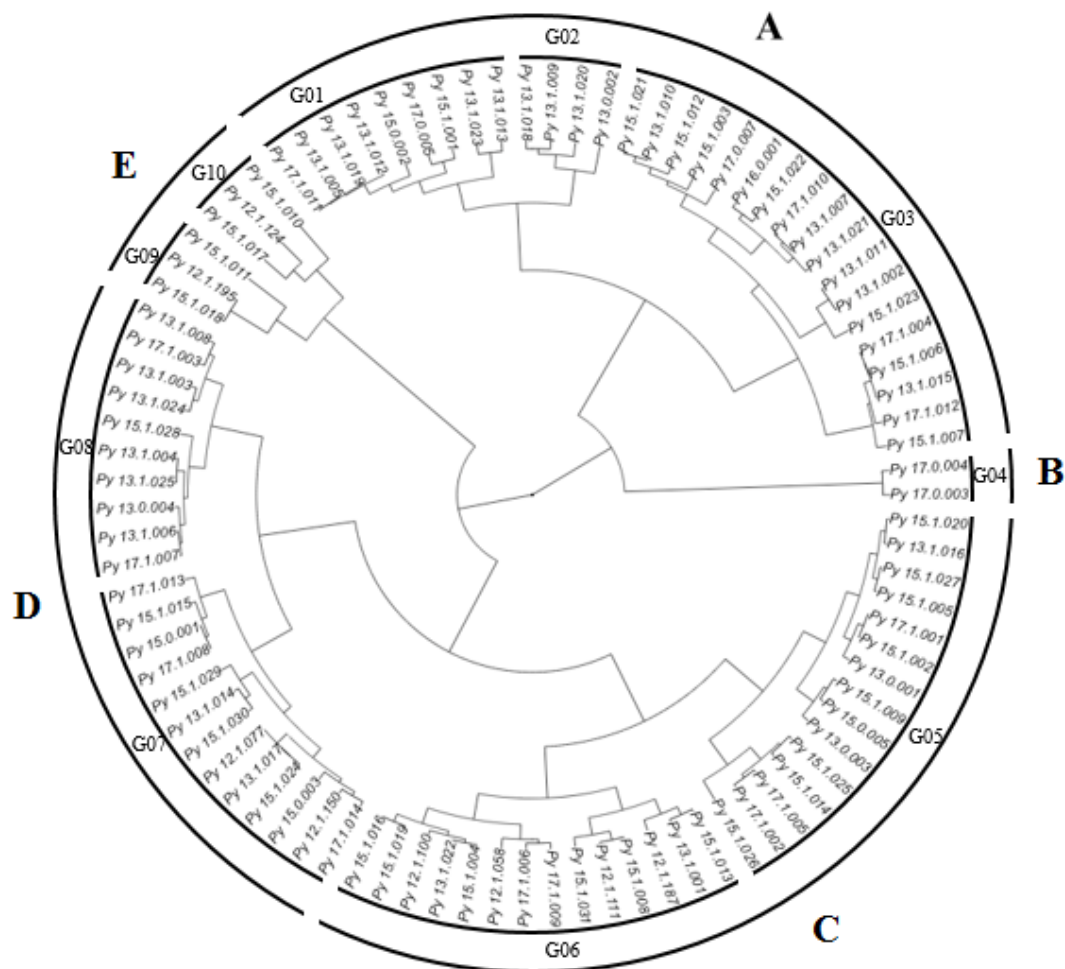


Figura 3. Dendrograma de agrupamento de 91 isolados de *Magnaporthe oryzae* baseado na severidade de brusone em espigas destacadas de genótipos de trigo e cevada. Passo Fundo-RS, 2019.

A severidade média ainda foi relativamente alta no GM C, com média de 47,3% e 42,4%, nos G06 e G05, respectivamente. No GM D, os grupos G07 e G08 tiveram a severidade de 38,0% e 34,2%, respectivamente. Nos grupos G05, G06 e G07 a maioria dos isolados foi obtida em 2015, especialmente de Minas Gerais, mas também de São Paulo, embora em menor proporção. Os isolados *Py* 13.0.001 e *Py* 13.0.003, ambos obtidos de triticale, além do isolado *Py* 15.0.005, obtido de aveia, foram classificados no grupo G05. Os isolados (*Py* 15.0.001 e *Py* 15.0.003), obtidos de azevém e aveia, também foram classificados no grupo G07. No G08, cuja severidade média foi 34,2%, houve o predomínio de isolados coletados em 2013 no Paraná.

Todos os isolados de 2012, que foram avaliados por Danelli (2015) e representavam a variabilidade de virulência das regiões brasileiras produtoras de trigo do ano de 2012, ficaram distribuídos em três GMs: C (G06; quatro isolados – *Py* 12.1.058, *Py* 12.1.100, *Py* 12.1.111 e *Py* 12.1.187), D (G07; dois isolados – *Py* 12.1.077 e *Py* 12.1.150) e E (G10; um isolado – *Py* 12.1.124; G09; um isolado – *Py* 12.1.195).

Para os isolados menos virulentos, foram formados dois GMs, A e B. No GM A, foram formados os grupos G01, G02 e G03. Em G01 foram agrupados nove isolados, e a severidade média da doença foi de 23,7%. Dentre todos os isolados, sete foram obtidos em 2013, de plantas de trigo, sendo cinco oriundos do Paraná (*Py* 13.1.005, *Py* 13.1.012, *Py* 13.1.013, *Py* 13.1.019, *Py* 13.1.023), um proveniente de Goiás (*Py* 15.1.001) obtido em 2015 e outro coletado em 2017 no estado de Minas Gerais (*Py* 17.1.011). Dois isolados agrupados em G01 foram coletados em 2015 e eram provenientes do Rio Grande do Sul, *Py* 15.0.002 e *Py* 17.0.005, obtidos de plantas de aveia preta e capim sudão, respectivamente. G02 apresentou média de severidade da doença igual a 20,7%. Dos quatro isolados agrupados em G02 todos foram em 2013 no Paraná, sendo três oriundos de trigo (*Py* 13.1.009, *Py* 13.1.018 e *Py* 13.1.020) e outro de triticale (*Py* 13.0.002). O G03 foi formado majoritariamente por isolados de trigo, oriundos dos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais, e foram coletados nos anos de 2013, 2015 e 2017. Além disso, os isolados *Py* 16.0.001 e *Py* 17.0.007, obtidos de cevada e capim sudão, foram classificados no grupo G03. O G04 foi formado por

apenas dois isolados, sendo estes oriundos de milhã (*Py* 17.0.003 e *Py* 17.0.004) e coletados no Rio Grande do Sul em 2017.

A Tabela 2 também se refere à análise dos dados de severidade de brusone nas espigas causadas pela infecção dos 91 isolados, não se trata de uma análise de agrupamento baseada em comparação de similaridade entre os isolados. Refere-se à classificação dos isolados de *M. oryzae* de acordo com um padrão binário de interpretação das reações nas espigas dos genótipos T&C, Resistência (R) ou Suscetibilidade (S). Quando a severidade foi de até 10%, a reação foi considerada R. Se foi maior que 10%, a reação foi S. Dessa forma, foram identificados 11 grupos de virulência, sendo que o prevalente foi o A', em que todas as reações dos genótipos T&C foram de S e no qual foram classificados 30,7% dos isolados (28 isolados).

Tabela 2. Grupos de virulência formados por 91 isolados de *Magnaporthe oryzae*, baseados nas repostas de inoculação (resistente R e suscetível S) em espigas destacadas para um conjunto de genótipos de trigo e cevada. Passo Fundo-RS, 2019.

Grupos	Genótipos <sup>1</sup>												Isolados	
	Trigo											Cevada	Nº	Freq. (%)
	Anahuac 75	BRS 229	BRS Buriti	Renan	BRS 234	Jagger	Jack Pot	Fuller	Santa Fé	Pampe- ano	TBIO Mestre	PFC 2010123		
A'	S <sup>2</sup>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	26	28,5
B'	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	15	16,5
C'	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	12	13,2
D'	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	3	3,30
E'	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	7	7,70
F'	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	4	4,40
G'	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	13	14,3
H'	S	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	4	4,40
I'	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	3	3,30
J'	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	2	2,20
K'	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	2	2,20
<b>Total</b>													91	100

<sup>1</sup>Os genótipos de trigo são cultivares e a de cevada, uma linhagem.

<sup>2</sup> R, severidade de até 10%; S, severidade maior do 10%.

A Figura 4 apresenta os 91 isolados separados em três GMs: F, G e H. A variável avaliada nesse caso foi “severidade em folhas de plântulas”. O GM G contém os isolados mais virulentos, onde estão os grupos G04, G05 e G06, com médias de severidade de 22,8; 20,4 e 26,3, respectivamente. O GM H, com os isolados de menor severidade, foi composto pelos grupos G07, G08, G09 e G10, com médias de severidade 1,9; 3,8; 6,3 e 9,6, respectivamente. Já o GM F, foi formado pelos grupos G01, G02 e G03 com médias de severidade de 15,9; 18,1 e 13,1, respectivamente.

Os três isolados agrupados em G06 foram: *Py* 15.1.031, *Py* 17.1.001 e *Py* 17.1.005, oriundos de São Paulo, Rio Grande do Sul e Minas Gerais, respectivamente. O primeiro foi coletado em 2015 e os dois últimos em 2017. Os outros dois grupos G05 e G04, com médias de severidade da doença de 20,4 e 22,8%, respectivamente, foram formados apenas por isolados oriundos de trigo, G05 (*Py* 13.1.019 e *Py* 15.1.023), oriundos de São Paulo e Paraná, coletados em 2013 e 2015, e G04 (*Py* 15.1.005 e *Py* 15.1.026), ambos oriundos de Minas Gerais, coletados em 2015.

No GM H, onde predominaram os isolados menos virulentos, estão quatro grupos: G07, G08, G09 e G10. Os grupos G08 e G07, que apresentam severidade média da doença inferior a 5%, sendo que, G07 apresentou a menor média de severidade da doença entre os dez grupos avaliados, 1,9%. Em G07 foram agrupados quatro isolados, dentre eles, três foram coletados em 2017 no Rio Grande do Sul, de gramíneas invasoras, *Py* 17.0.003, *Py* 17.0.004, *Py* 17.0.005, sendo os dois primeiros de milhã e o último de capim sudão. O isolado de trigo, *Py* 15.1.029, foi coletado no Paraná em 2015. Dos cinco isolados agrupados em G08, três eram de trigo, *Py* 13.1.025, *Py* 13.1.026 e *Py* 17.1.008, sendo os dois primeiros coletados em 2013 no Paraná e o último coletado em 2017 no estado de Minas Gerais. Os outros dois isolados, *Py* 13.0.001 e *Py* 15.0.002 foram obtidos de plantas de triticales e aveia preta, respectivamente. O isolado de 2013 é oriundo do Paraná e o isolado obtido em 2015 é proveniente do Rio Grande do Sul.



Grupo maior	Grupo	Severidade média (%)
F	G01	15,9
F	G02	18,1
F	G03	13,1
G	G04	22,8
G	G05	20,4
G	G06	26,3
H	G07	1,9
H	G08	3,8
H	G09	6,3
H	G10	9,6

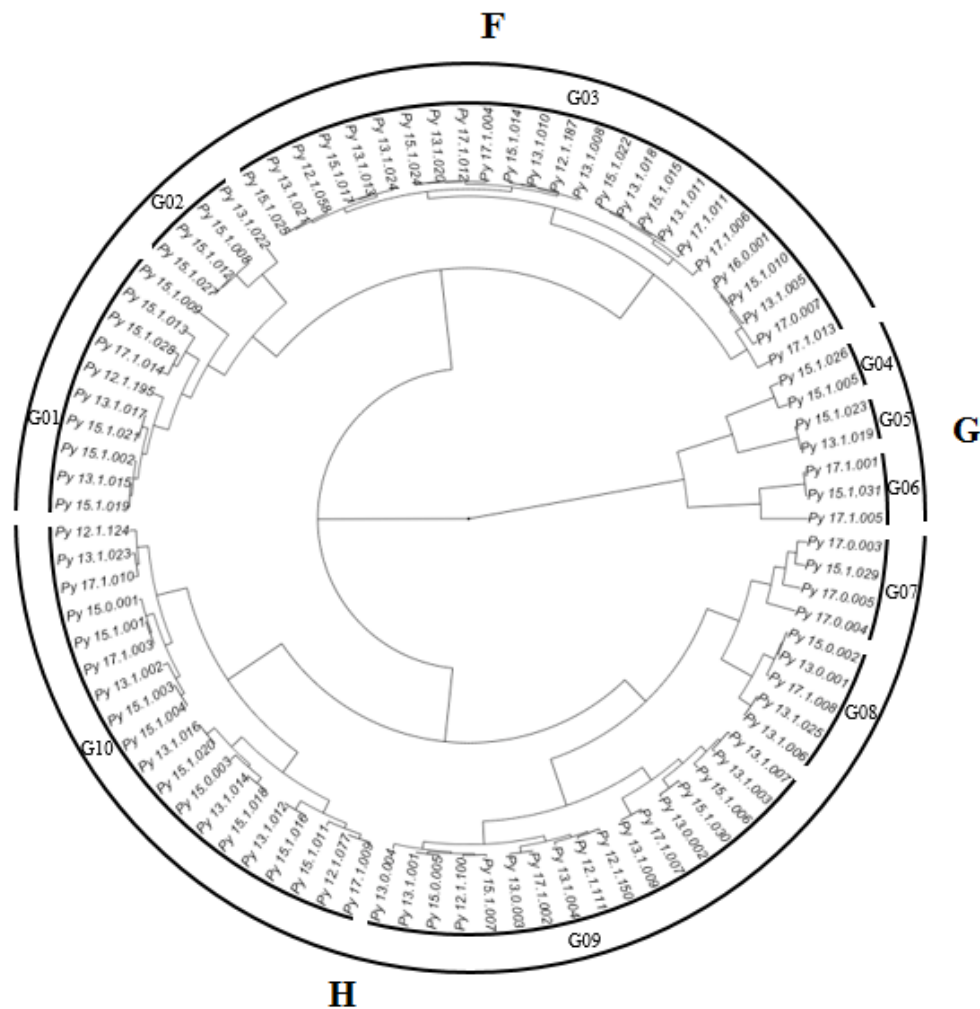


Figura 4. Dendrograma de agrupamento de 91 isolados de *Magnaporthe oryzae* baseado na severidade de lesões esporulativas em folhas de plântulas de genótipos de trigo e cevada. Passo Fundo-RS, 2019.

O GM F foi formado pelos grupos G01, G02 e G03, composto somente por isolados de trigo, e que foram coletados em 2013, 2015 e 2017, nos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais. Os grupos G03 e G09, embora pertencentes a GMs distintos (GM F e GM H, respectivamente), agruparam predominantemente isolados com características comuns, de coleta realizadas em 2013 no Paraná. No G02, houve bastante diversidade, com isolados coletados no Paraná, São Paulo e Minas Gerais, nos anos de 2013, 2015 e 2017. Oito isolados não obtidos de plantas de ficaram distribuídos nos grupos G01 (*Py* 16.0.001 e *Py* 17.0.007), G02 (*Py* 15.0.001 e *Py* 15.0.003) e majoritariamente em G03 (*Py* 13.0.002, *Py* 13.0.003, *Py* 13.0.004 e *Py* 15.0.005).

Os isolados coletados em 2012, que representavam a variabilidade de virulência das regiões brasileiras produtoras de trigo neste período, ficaram distribuídos somente nos GMs de menor virulência, F e H, isto é, nos seguintes grupos: G03 (dois isolados – *Py* 12.1.058 e *Py* 12.1.187), G10 (dois isolados - *Py* 12.1.077 e *Py* 12.1.124), G09 (três isolados – *Py* 12.1.100, *Py* 12.1.111 e *Py* 12.1.150) e G01 (um isolado – *Py* 12.1.195).

O dendrograma apresentado na Figura 5 mostra os 91 isolados utilizados no experimento classificados de acordo com o número de lesões esporulativas que os mesmos promoveram em folhas de plântulas dos genótipos T&C. São três GMs; I, J e K. No GM J estão os isolados que produziram mais lesões e, portanto, os mais virulentos. Estão inseridos os G05, G06 e G07, com médias de número de lesões de 11,1; 10,5; e 8,5, respectivamente. No GM K, estão os grupos G08, G09 e G10, com médias de número de lesões de 3,8; 4,6; e 6,1, respectivamente. Já no GM I, o GM com os isolados de menor virulência, encontram-se classificados os grupos G01, G02, G03 e G04, com médias de número de lesões de 2,2; 3,0; 1,2; e 0,5, respectivamente.

No GM J, o grupo G05 foi composto por apenas pelo isolado *Py* 15.1.031, oriundo de trigo e coletado em 2015 no estado de São Paulo. No G06, também foi composto por apenas um isolado de trigo, *Py* 15.1.026, coletado em 2015, em Minas Gerais. O grupo G07 foi composto somente por isolados oriundos de trigo, coletados no Paraná, São Paulo e Minas Gerais, nos anos de 2013, 2015 e 2017.

No GM I, destaca-se o grupo G04 que apresentou o menor número de lesões esporulativas entre os 10 grupos estabelecidos, com média igual a 0,5. Neste grupo, foram alocados três isolados, dos quais, dois (*Py* 17.0.003 e *Py* 17.0.004) foram coletados de plantas de milhã, em 2017, no Rio Grande do Sul. O isolado de trigo, *Py* 15.1.029, foi coletado no Paraná em 2015. Dos onze isolados agrupados em G04, sete eram de trigo, *Py* 13.1.003, *Py* 13.1.006, *Py* 13.1.007, *Py* 13.1.024, *Py* 13.1.025, *Py* 15.1.002 e *Py* 17.1.008, sendo que, os cinco primeiros foram coletados em 2013 no Paraná, e os dois últimos eram provenientes de Minas Gerais e foram coletados em 2015 e 2017, respectivamente. Os cinco isolados restantes que compuseram o G03 foram obtidos de outras gramíneas cultivadas e invasoras. Os isolados *Py* 13.0.001, *Py* 13.0.002 e *Py* 13.0.004 foram obtidos de espigas de triticales coletadas no Paraná em 2013. Já os isolados *Py* 15.0.002 e *Py* 17.0.005, são de aveia preta e capim sudão, coletadas em 2015 e 2017, respectivamente, no Rio Grande do Sul.

Grupo maior	Grupo	Média de lesões esporulativas
I	G01	2,2
i	G02	3,0
I	G03	1,2
I	G04	0,5
J	G05	11,1
J	G06	10,3
K	G07	8,5
K	G08	3,8
K	G09	4,6
K	G10	6,1

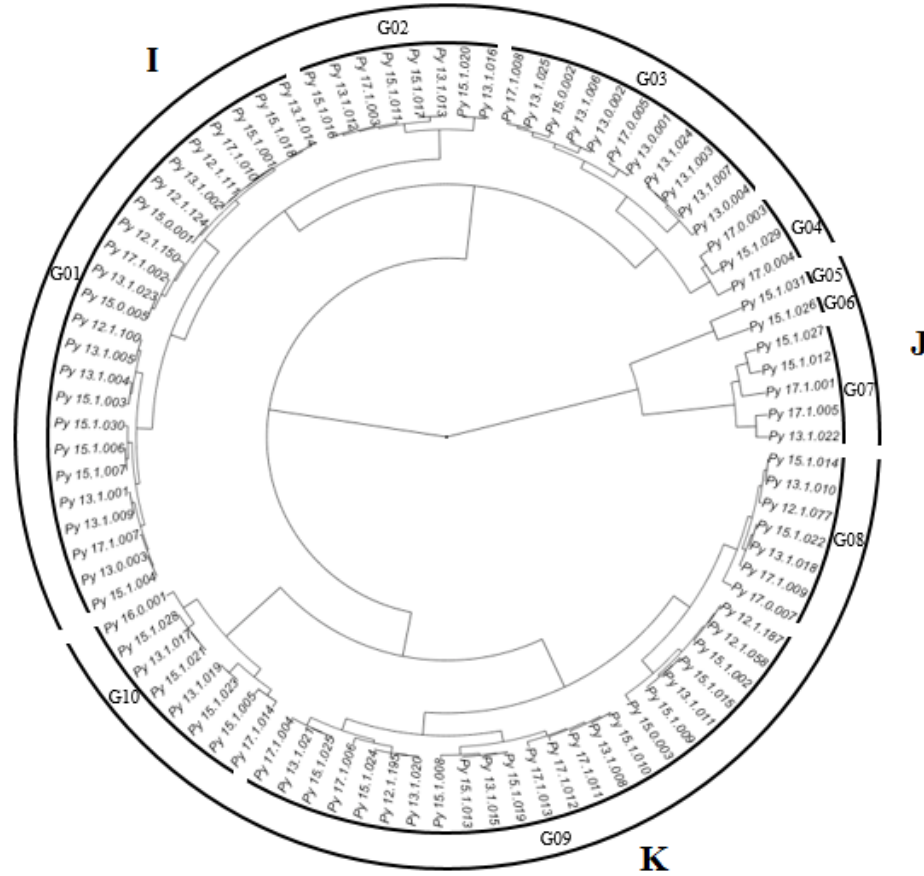


Figura 5. Dendrograma de agrupamento de 91 isolados de *Magnaporthe oryzae* baseado no número de lesões esporulativas em folhas de plântulas de genótipos de trigo e cevada. Passo Fundo-RS, 2019.

Considerando-se a reação à brusone nas espigas destacadas dos genótipos T&C, observou-se que a cultivar de trigo Santa Fé apresentou severidade média da doença igual a 8%, valor esse, inferior a 10%, sendo considerada resistente à brusone (Figura 6). Ainda de acordo com a Figura 6, as cultivares BRS 229, Renan, Jagger, Jack Pot, Fuller, TBIO Mestre e BRS 234 apresentaram severidade média da doença inferior a 30%, sendo classificadas como moderadamente resistentes à brusone. As cultivares BRS Buriti e Pampeano apresentaram severidade média da doença para os isolados testados, entre 31 e 50%, sendo classificadas como moderadamente suscetíveis à brusone. A cultivar Anahuac 75 e a linhagem de cevada PFC 2010123 apresentaram os maiores valores de severidade de brusone, 85 e 70%, respectivamente, sendo caracterizadas como suscetíveis a doença.

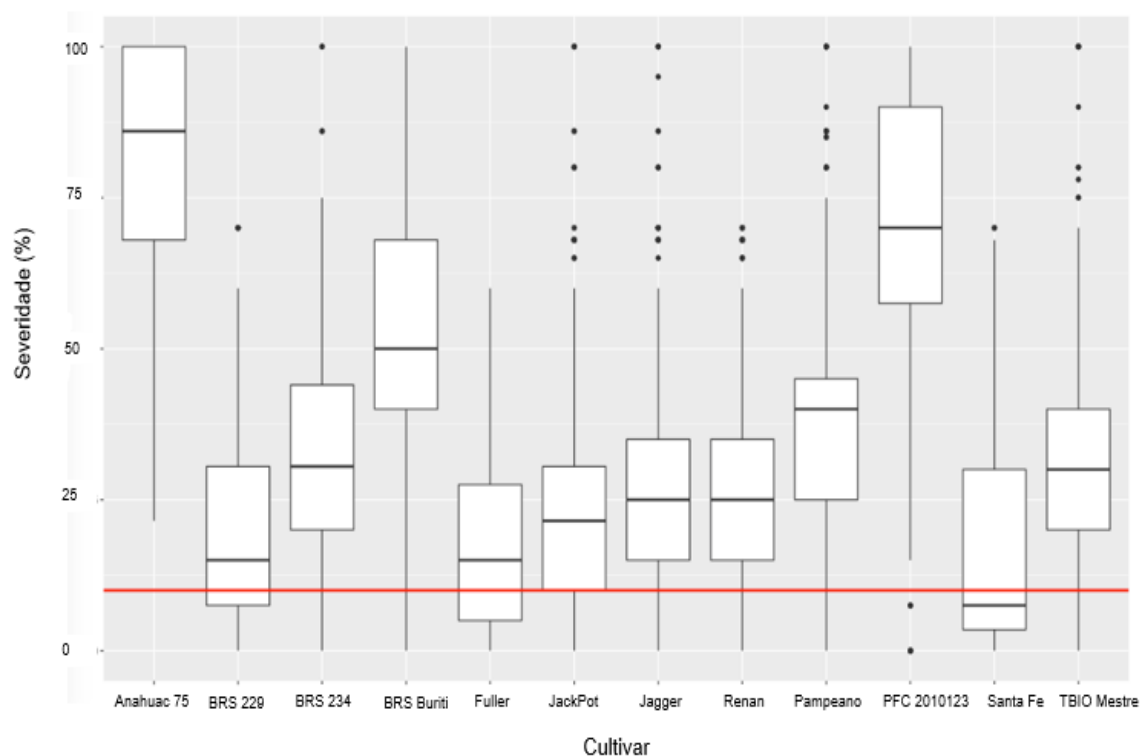


Figura 6. Severidade de brusone em espigas destacadas de trigo e cevada submetidas à inoculação com isolados de *Magnaporthe oryzae*. Os genótipos que apresentaram média de severidade inferior a 10% (linha vermelha) foram considerados resistentes. Passo Fundo-RS, 2019.

Nas avaliações realizadas em plântulas, a cultivar Anahuac 75 apresentou a maior média de severidade da doença (25%), sendo considerada suscetível à brusone (Figura 7). As cultivares Santa Fé e Jagger também foram caracterizadas como sendo suscetíveis a doença, pois apresentaram valores de severidade de 20 e 15%, respectivamente. Os outros nove genótipos testados foram caracterizados como resistentes à brusone no estágio de plântula. Entre esses, Fuller e JackPot foram os que apresentaram a maior severidade média da doença, igual a 10%. Para BRS Buriti e BRS 234 foram encontradas médias de severidade da doença igual a 2 e 3%, respectivamente. As cultivares Renan e TBIO Mestre apresentaram média de severidade de brusone igual a 1%. A linhagem de cevada PFC 2010123, e as cultivares Pampeano e BRS 229 apresentaram as menores médias de severidade da doença entre os genótipos caracterizados como resistentes, sendo respectivamente de 0,4, 0,7 e 0,9%.

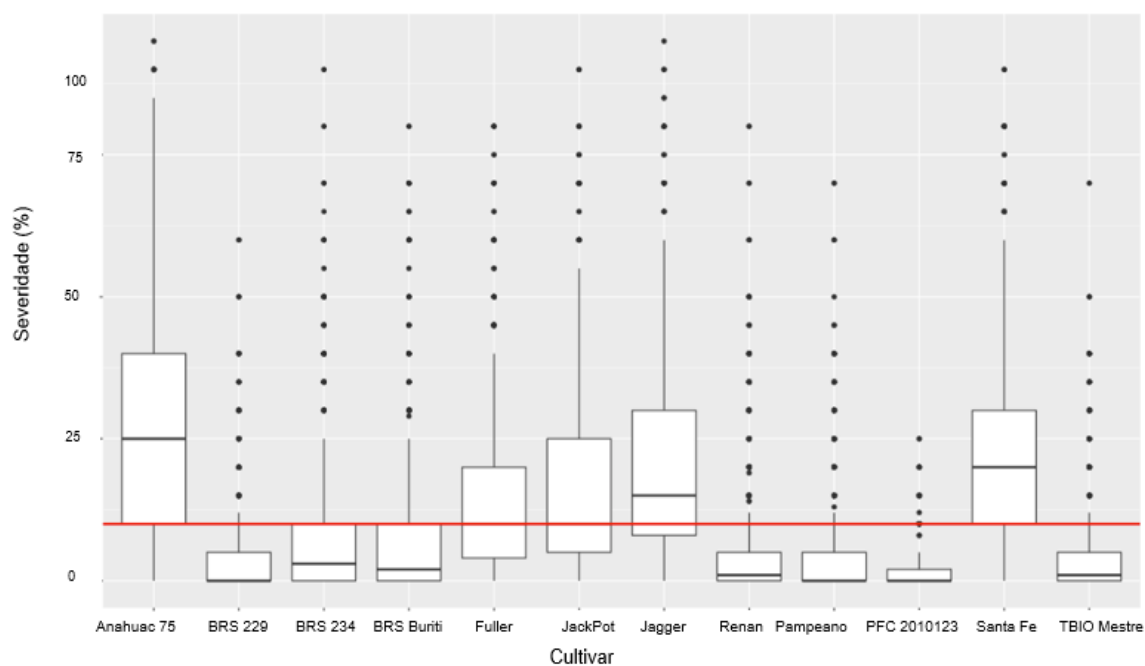


Figura 7. Severidade da brusone em folhas de em plântulas de trigo e cevada submetidas à inoculação com isolados de *Magnaporthe oryzae*. Os genótipos que apresentaram média de severidade inferior a 10% (linha vermelha) foram considerados resistentes. Passo Fundo-RS, 2019.

Na Figura 8, observa-se o número de lesões esporulativas no conjunto de genótipos avaliados com base na virulência dos isolados de *M. oryzae* testados. Os genótipos que apresentaram um número médio de lesões esporulativas inferior a um (1) foram considerados resistentes. A cultivar Anahuac 75 apresentou o maior número de lesões esporulativas, com média de sete lesões, sendo considerada suscetível a doença. As cultivares Santa Fé e Jagger apresentaram um número médio de lesões igual a 5,5, sendo igualmente consideradas como suscetíveis à brusone neste estágio. As cultivares Fuller e JackPot apresentaram média de 4,0 e 4,5 lesões esporulativas respectivamente, o que as caracterizou como moderadamente suscetíveis à brusone. As cultivares BRS Buriiti, Renan e TBIO Mestre foram consideradas moderadamente resistentes à brusone pois apresentaram um número médio de (2) duas lesões esporulativas. As cultivares de trigo BRS 229 e Pampeano e a linhagem de cevada PFC 2010123 foram caracterizadas como resistentes a doença por apresentarem um número médio de lesões inferior a um (1). Dentre os genótipos testados, apenas a linhagem de cevada PFC2010123 apresentou lesões de hipersensibilidade a doença (tipo 1 e tipo 2), para todos os isolados do patógeno testados.

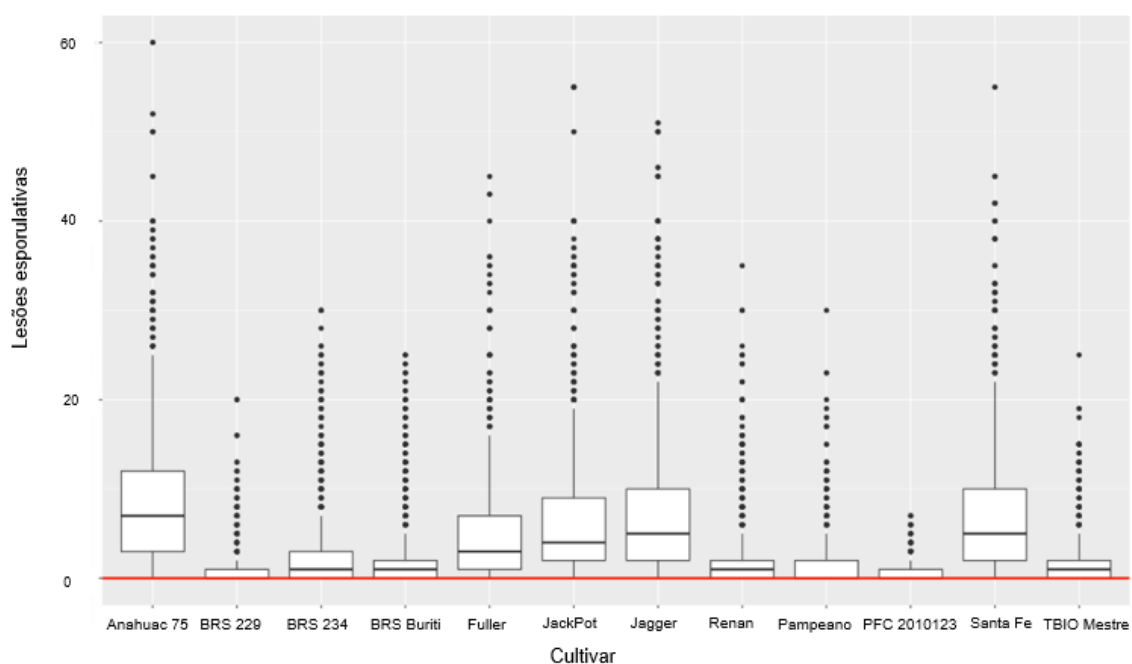


Figura 8. Número de lesões esporulativas em folhas de plântulas de trigo e cevada submetidas à inoculação com isolados de *Magnaporthe oryzae*. Os genótipos que apresentaram um número médio de lesões da doença inferior a 1 (linha vermelha) foram considerados resistentes. Passo Fundo-RS, 2019.

Na Tabela 3, é apresentada a classificação dos genótipos T&C de acordo com à reação à brusone considerando as três variáveis avaliadas no experimento e considerado os critérios descritos no item “2.4. Avaliações”. Esta classificação representa a média de todos os isolados, independente da eventual reação diferenciada para cada isolado. É um tipo de avaliação basicamente de caráter quantitativo.

Tabela 3. Classificação quanto à reação brusone de genótipos de trigo e cevada submetidos à inoculação individualizada de suspensões de conídios de *Magnaporthe oryzae*. Passo Fundo-RS, 2019.

Genótipo	Variável da doença		
	Severidade em espiga destacada	Severidade de lesões esporulativas em folhas de plântulas	Número de lesões esporulativas em folhas de plântulas
1-Anahuac 75	S*	S	S
2-BRS 229	MR	R	R
3-BRS Buriti	MS	R	MR
4-Renan	MR	R	MR
5-BRS 234	MR	R	MR
6-PFC 2010123	S	R	R
7- Jagger	MR	S	S
8-JackPot	MR	R	MS
9-Fuller	MR	R	MS
10-Santa Fé	R	S	S
11-Pampeano	MS	R	R
12-TBIO Mestre	MR	R	MR

\*Reação dos genótipos: R, resistente; MR, moderadamente resistente; MS, moderadamente suscetível; e S, suscetível.

Os resultados da reação de PCR observados no gel de agarose (Figura 9) mostram que, dos 12 genótipos avaliados, apenas seis eram portadores da translocação 2NS/AS, quais sejam, as quatro cultivares norte-americanas, Jagger, JackPot, Fuller e



Santa Fé, a cultivar europeia Renan, e a cultivar brasileira TBIO Mestre. As cultivares BRS 229 e BRS 234 que também apresentaram um alto grau de resistência nos estádios de plântula e planta adulta não eram portadoras da translocação 2NS/AS.

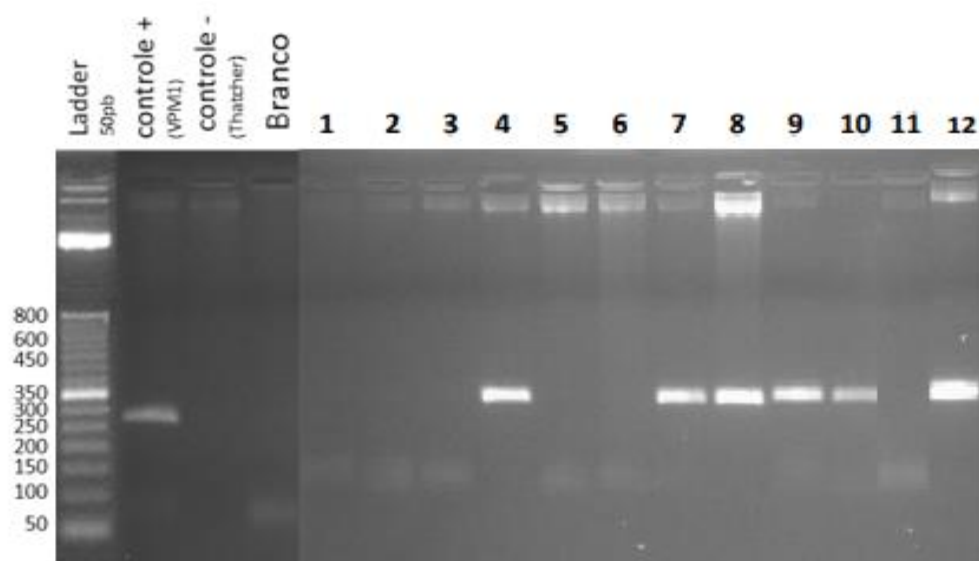


Figura 9. Produto de amplificação do marcador para a translocação cromossomal 2NS/AS de *Aegilops ventricosa* visualizado em gel de agarose a 2%. (Marcador de peso molecular; 50 bp DNA Ladder, Invitrogen, Cat. 10416-014). Os números correspondem aos seguintes genótipos: 1- Anahuac 75; 2 – BRS 229; 3 – BRS Buriti; 4 – Renan; 5 – BRS 234; 6 – PFC 2010123 (linhagem de cevada); 7 – Jagger; 8 – JackPot; 9 – Fuller; 10 – Santa Fé; 11 – Pampeano; 12 – TBIO Mestre. Passo Fundo-RS, 2019. Imagem de Jéssica Rosset Ferreira.

### 3.5 Discussão

O fato da brusone da espiga ser caracterizada como o principal problema causado pelo fungo *M. oryzae* nas lavouras de trigo do Brasil (MACIEL, 2011; 2018) determinou que a variável “virulência em espiga destacada” tivesse sido tratada com maior detalhamento no presente trabalho. Assim, este tema recebeu mais espaço e atenção, tendo preferência inclusive no seu posicionamento na ordem dos itens apresentados. Esta também é a razão pela qual a análise comparativa entre isolados de *M. oryzae*, de acordo com a severidade das espigas dos genótipos T&C, foi realizada contemplando duas abordagens de interpretação das reações de cada genótipo à infecção

de cada isolado: (a) avaliação quantitativa à infecção estimada por valores de severidade que variaram de 0 a 100% (Figura 3) e (b) avaliação qualitativa baseada em resposta binária, sendo categorizada por R ou S (Tabela 2).

A determinação de cinco GMs estabelecida pela análise de agrupamento (Figura 3) dos 91 isolados avaliados é um indicativo de considerável variabilidade para o fenótipo virulência em espigas destacadas. Além disso, a separação entre os GMs A e B em relação aos GMs C, D e E evidencia uma intensa diferença entre esses dois segmentos de isolados quanto ao grau de severidade nas espigas. Esta diferença é bastante significativa em termos quantitativos, cujas médias dos grupos classificados nos GMs A e B não ultrapassaram 30%, enquanto que, por exemplo, no GM E, as médias foram superiores a 50%.

Na análise de agrupamento apresentada na Figura 3, não se percebe a existência de uma clara congregação de isolados que identifique algum tipo de característica comum envolvendo os fatores ano, estado e, muito menos, hospedeiro (cultivar de trigo ou espécie), seja nos próprios grupos GM ou, até mesmo, nos grupos 01 a 10. O agrupamento que diverge da afirmação anterior é para os dois isolados de *M. grisea*, Py 17.0.003 e Py 17.0.004, os quais estão classificados no GM B (G04) e com a menor média de severidade. Nesse sentido, Danelli (2015) já determinou que isolados de *M. grisea* foram menos virulentos em infecções de espigas destacadas de trigo do isolados de *M. oryzae* obtidos do trigo.

Baseando-se na análise de agrupamento da variável “virulência em espigas destacadas”, deve-se considerar a situação em que isolados de *M. oryzae* de outras espécies de gramíneas cultivadas e, até de gramíneas invasoras, foram classificados em em grupos de alta similaridade com isolados de *M. oryzae* do trigo. Nesse sentido, destaca-se a condição dos isolados Py 13.0.001, Py 13.0.003 e Py 13.0.04, obtidos de triticale; Py 15.0.001, obtido de azevém; e Py 15.0.003 e Py 15.0.005, obtidos de aveia branca. Estes seis isolados foram classificados em grupos dos GMs C ou D que apresentaram níveis elevados de severidade. Essas circunstâncias apoiam a proposição de que estas espécies hospedeiras possuem um destacado papel no desenvolvimento da brusone como fonte de inóculo para a doença ou de sobrevivência para *M. oryzae*. Esta

afirmativa encontra suporte na perspectiva de que, por exemplo, *M. oryzae* que consegue sobreviver em uma planta de azevém pode infectar trigo com um grau de virulência igual ou superior ao *M. oryzae* naturalmente infectante do trigo.

Identificou-se que o número de grupos de virulência estabelecidos pelo padrão de resposta binária determinados no presente trabalho foi de 11 grupos de virulência (A' à K'; Tabela 2), número superior ao que foi encontrado por Danelli (2015), que identificou quatro grupos. A razão que pode ser apontada para isso é que os genótipos C&T utilizados no presente trabalho são muito mais informativos e discriminatórios, com maior grau de resistência à brusone do que os usados por Danelli (2015). Como consequência disso, tem-se a situação de que, dos 144 isolados avaliados por Danelli (2015), 80,5% deles foram classificados em um grupo em que todas as respostas eram de Suscetibilidade (S). No presente trabalho, essa proporção foi muito menor sendo que, dos 91 isolados, 28,5% deles produziram esse tipo de resposta. Os dados apontam que os genótipos C&T, por apresentarem maior resistência que os genótipos utilizados por Danelli (2015), por promoverem maior proporção de reações de Resistência (R), possibilitaram a formação de um maior número de grupos de virulência, significando maior capacidade para distinguir a variabilidade de *M. oryzae*.

A infecção de *M. oryzae* em folhas é objeto de análise dos dendrogramas relativos às variáveis “severidade de lesões esporulativas em folhas de plântulas” e “número de lesões esporulativas em folhas de plântulas” (Figuras 4 e 5). Esta circunstância traz à discussão um dos pontos que menos esclarecidos sobre a brusone do trigo, que é a determinação da real importância que a infecção em folhas representam para o desenvolvimento da doença no campo (MACIEL, 2018). Cruz et al. (2015) já determinaram o quanto a produção de conídios do fungo em folhas de trigo no campo é significativa e, obviamente, tais esporos devem contribuir para o desenvolvimento de epidemias de brusone no campo. O que não se sabe, entretanto, é se a disponibilidade de conídios existentes no ar, produzidos no imenso conjunto de espécies hospedeiras que o patógeno possui, já não seria suficiente para assegurar a ocorrência das grandes epidemias da doença que frequentemente ocorrem no Brasil.

Observa-se que a classificação ou distribuição dos isolados quanto à virulência nas folhas das plântulas se mostrou bastante similar na comparação feita para as variáveis “severidade de lesões esporulativas em folhas de plântulas” (Figura 4) e “número de lesões esporulativas em folhas de plântulas” (Figura 5). No entanto, a classificação dos isolados baseada nessas duas variáveis é bastante diversa daquela determinada na avaliação das espigas destacadas. Tal afirmativa se exemplifica se compararmos os isolados integrantes dos grupos denominados “mais virulentos”. No caso da análise do agrupamento relativo à variável “virulência em espigas destacadas” (Figura 3), os isolados mais virulentos foram classificados nos grupos G09 e G10 do GM E. Os isolados mais virulentos nas variáveis “severidade de lesões esporulativas em folhas de plântulas” e “número de lesões esporulativas em folhas de plântulas” estão congregados nos grupos G04, G05 e G06 do GM G; e G05, G06 e G07 do GM J, respectivamente. O que se verifica é que não há nenhum isolado comum nos grupos formados a partir das avaliações feitas em “espigas” e em “folhas”. Esta situação confirma que a avaliação de isolados de *M. oryzae* do trigo quanto à virulência gera padrões de classificação distintos, dependendo se o objeto de análise das infecções é a folha ou a espiga, mesmo que os genótipos usados nos dois procedimentos sejam os mesmos. A opção por usar um ou outro padrão depende do interesse e do objetivo da análise a ser executada.

A identificação da cultivar Santa Fé como uma importante fonte de resistência à brusone na espiga é de grande relevância. O fato dessa resistência ser demonstrada em espigas já é um aspecto a ser exaltado, já que o principal problema associado à ocorrência de brusone no campo está diretamente associado à infecção de *M. oryzae* justamente nesse órgão da planta. Soma-se a esta questão, a superioridade que esta cultivar demonstrou em termos de resistência, destacando-se dos demais genótipos C&T de forma considerável, o que a transforma em cultivar de grande interesse para programas genéticos de melhoramento de trigo e demais estudos relativos à brusone do trigo. Por outro lado, a linhagem de cevada PFC 2010123 e a cultivar Santa Fé (considerando suas reações apresentadas na Tabela 3) são exemplos claros de que não existe relação entre a resposta obtida em folhas de plântulas e em espiga destacada, concordando com os relatos de Cruz et al. (2016) e Martínez et al. (2018) que não observaram relação entre a resposta obtida nos estádios de plântula e planta adulta.

Os resultados obtidos permitiram identificar genótipos com grande potencial para servirem como fontes de resistência à brusone em programas de melhoramento genético do trigo, contribuindo na busca de combinações genéticas que visem o controle da doença através da construção de cultivares resistentes. No entanto, considerando que o fungo está em constante mudança, se faz necessária a caracterização contínua da variabilidade do patógeno por meio do uso de isolados, os mais recentes possível, para auxiliar no entendimento da dinâmica da virulência de *M. oryzae*. Além disso, a circunstância de ter sido verificado a prevalência de isolados que promoveram reações de suscetibilidade a todos os genótipos C&T avaliados, na interpretação das reações em espiga de forma binária, R ou S, sugerimos que a busca por genótipos com genes ou fatores de resistência que possam conferir resistência a esse grupo de isolados que se mostraram predominante no conjunto de isolados avaliados deve continuar.

A observação dos dados apresentados na Tabela 3 indica que houve maior interação entre os fatores detecção molecular do segmento cromossomal 2NS e a variável “severidade nas espigas destacadas”. As diferenças observadas nas reações dos genótipos C&T com constatação molecular do segmento 2NS, especialmente demonstrada no grau de severidade de brusone nas espigas destacadas, concorda com os resultados obtidos por Cruz et al. (2016) e Pizolotto et al. (2017), os quais, observaram que nem todos os genótipos de trigo portadores do segmento 2NS apresentaram uma redução significativa na severidade da doença na espiga, indicando que os efeitos que o mesmo provoca em termos de resistência sofre a interferência de outros fatores, possivelmente de natureza genética e/ou o ambiental, podendo influenciar na expressão da resistência conferida por essa translocação. O fato das cultivares BRS 229 e BRS 234 não possuírem o segmento cromossomal 2NS as qualifica como objetos importantes de estudo em relação à questão da brusone do trigo pois, mesmo não tendo o referido segmento, estas cultivares demonstraram um grau importante de resistência. De acordo com Ferreira et al. (2018) a cultivar BRS 229 foi caracterizada como fonte de resistência durável à doença no Brasil, abrindo novas perspectivas de exploração de fontes de resistência a *M. oryzae*, além da translocação 2NS/2AS.

### 3.6 Conclusões

a) Os grupos de virulência de *Magnaporthe oryzae* do trigo identificados estão amplamente distribuídos no país;

b) A avaliação de isolados de *M. oryzae* do trigo quanto à virulência gera padrões de classificação muito distintos, dependendo se o objeto de análise das infecções pelo patógeno é a folha ou a espiga, mesmo que os genótipos utilizados nos dois tipos de procedimentos sejam os mesmos;

c) Devido à capacidade de hospedar variantes de *M. oryzae* com características de virulência similares aos que infectam plantas de trigo, gramíneas cultivadas e invasoras, tais como, triticales, aveias, azevém, cevada e capim sudão têm potencial para desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento da brusone do trigo no campo, seja como fonte de inóculo para a doença ou de sobrevivência para o patógeno;

d) A cultivar de trigo Santa Fé, por demonstrar um grau de resistência à brusone diferenciado, assume um papel de grande importância em ações relativas à identificação de fatores genéticos associados à resistência à doença e no processo de geração de cultivares no Brasil;

e) A resistência à brusone do trigo, demonstrada por genótipos que não possuem o segmento cromossomal 2NS em seu genoma, qualifica tais genótipos como detentores de fatores genéticos associados à resistência à doença que precisariam ser mais pesquisados e avaliados.

## 4 CAPÍTULO II

Sobrevivência saprofítica de *Magnaporthe oryzae* em restos culturais de trigo

### 4.1 Resumo

A brusone do trigo causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* é uma doença relativamente nova que tem causado severos danos na produção de trigo em países da América do Sul, como Brasil, Bolívia e Paraguai e, mais recentemente, também na Ásia, em Bangladesh. Em regiões temperadas a sobrevivência do inóculo é limitada pelas baixas temperaturas. No entanto, em regiões onde os efeitos das baixas temperaturas não são limitantes ainda se faz necessário conhecer a sobrevivência de *M. oryzae* em restos culturais. O objetivo deste estudo foi monitorar o desenvolvimento saprofítico de *M. oryzae* em restos culturais de trigo e explorar a importância dos restos culturais como fonte de inóculo. As cultivares de trigo BRS 229 e Anahuac 75, moderadamente e altamente suscetíveis à doença, respectivamente, foram inoculadas com uma suspensão de esporos de  $10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>, utilizando um isolado agressivo (Py 12.1.209) e um menos agressivo (Py 12.1. 132). No início da antese, uma porção de folhas, caules e espigas foram destacadas das plantas, e um grupo de dez lesões foram selecionadas aleatoriamente e marcadas em cada tipo de órgão vegetal. Os órgãos vegetais foram secos ao ar e colocados separadamente dentro de sacos de nylon e colocados no campo, em resteva de azevém. O experimento foi realizado três vezes em diferentes períodos. A cada 14 dias, amostras foram retiradas do campo e testadas quanto à esporulação. A sobrevivência do fungo diminuiu rapidamente na ráquis quando comparada com caules e folhas. A esporulação do fungo foi observada nos restos culturais de trigo por até cinco meses. Com base nos resultados deste estudo, a possibilidade de que o agente causal da brusone sobreviva em condições subtropicais de uma safra para outra em restos culturais de trigo é muito baixa. O manejo dos restos culturais não é um ponto chave para controlar o desenvolvimento da brusone. Uma forte ênfase deve ser dada à presença de outros hospedeiros como fonte do inóculo primário, por exemplo, ervas daninhas da família Poaceae.

Palavras-chave: 1. Brusone do trigo. 2. Restos culturais. 3. Inóculo primário.

### 4.2 Introdução

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma importante cultura no Brasil, responsável por aproximadamente metade das necessidades domésticas. As regiões produtoras de trigo estão divididas em três zonas principais: Centro, Centro-Sul e Sul. Esta última, constitui cerca de 90% da área de cultivo, mas o rendimento e a qualidade são frequentemente reduzidos pelo excesso de chuvas e doenças fúngicas (MUNARO et al., 2014). Como resultado, a produção de trigo foi se movendo gradualmente para a região

Central conhecida como Cerrado sob condições de irrigação ou sequeiro (GALINDO et al., 2017). Na região Central, os surtos de brusone ocorrem a cada 4 a 5 anos. Fernandes et al. (2017) relataram que o aumento da umidade e temperaturas quentes foram associados a surtos de brusone. É importante ressaltar que a brusone do trigo representa um impedimento considerável à produção de trigo na região do Cerrado, o que representa um potencial de 5 milhões de hectares para expansão (BORNHOFEN et al., 2018; CERESINI et al., 2018).

A brusone do trigo é causada pelo fungo ascomiceto *Magnaporthe oryzae* (Catt.) B.C. Couch 2002 (anamorfo *Pyricularia oryzae* Cavara 1892) (COUCH e KOHN 2002; ZHANG et al., 2016). O surgimento do patógeno causador da brusone no trigo é relativamente recente e remonta a 1985, quando o patógeno foi relatado pela primeira vez no estado do Paraná, no Sul do Brasil (IGARASHI et al., 1986). O fungo *M. oryzae* é subdividido em múltiplas linhagens com uma gama limitada de hospedeiros, ou seja, *Oryzae*, *Triticum*, *Lolium*, *Setaria*, entre outros (GLADIEUX et al., 2018). Cruz e Valent (2017) forneceram uma revisão extensa e atualizada da importância, emergência e disseminação da brusone na América do Sul e, mais recentemente, em Bangladesh, na Ásia. A importância econômica dessa doença decorre do fato de que o fungo pode reduzir a produção e a qualidade do trigo (GOULART, 2005). As maiores perdas de rendimento ocorrem quando as infecções na espiga começam durante a floração ou a formação inicial de grãos (GOULART et al., 2007).

A doença pode atacar todas as partes da planta acima do solo, mas pode-se observar uma severa infecção da espiga com uma infecção mínima nas folhas ou nos colmos. Perdas de rendimento de até 100% foram relatadas em cultivares suscetíveis (KOHLI et al., 2011). Os fungicidas são ineficazes sob alta pressão de doença e parcialmente eficazes sob pressão moderada a baixa. Foi relatado que um segmento de translocação de 2NS de *Aegilops ventricosa* confere resistência moderada à brusone do trigo em alguns genótipos (CRUZ et al., 2016). No entanto, na Bolívia, durante a epidemia de 2015, a melhor resistência disponível foi insuficiente para controlar a explosão (VALES et al., 2018). As razões para a errática ocorrência de epidemias de brusone são desconhecidas, mas uma possível explicação é que os surtos são



consequência de condições climáticas específicas que favorecem o acúmulo de inóculo antes do estágio reprodutivo do trigo (FERNANDES et al., 2017).

Nas regiões Centro e Centro-Sul do Brasil, o trigo é cultivado em sequência com culturas de verão, como soja e milho. Normalmente, as cultivares de trigo têm ciclos curtos de 110 a 120 dias e o rendimento é de cerca de 2 a 3 toneladas/ha. Em teoria, uma cultura do trigo pode retornar para a mesma área em intervalos de 9 meses. Na paisagem, áreas com gramíneas nativas ou cultivadas com potenciais hospedeiros de *M. oryzae* são comuns e podem contribuir para a fonte de inóculo do trigo (MARANGONI et al., 2013; CHÁVEZ e KOHLI 2015; CASTROAGUDÍN et al., 2016).

A prevalência de chuvas e temperaturas quentes garante a sobrevivência do patógeno durante os meses de verão e outono em diferentes materiais vegetais. O acúmulo de inóculo envolve potencialmente a dispersão de múltiplas estruturas fúngicas, como conídios e micélios, oriundos de plantas hospedeiras da doença, para os locais das plantações. O fungo *M. oryzae* é um patógeno hemibiotrófico que possui uma fase biotrófica inicial seguida por uma fase necrotrófica (HORBACH et al., 2011). *Magnaporthe oryzae* pode sobreviver em tecidos vivos e mortos de muitas espécies de Poaceae (MACIEL et al., 2014), além de sobreviver em sementes infectadas (REIS et al., 1995; DIAS MARTINS, 2004). A adoção generalizada de práticas de plantio direto em regiões produtoras de trigo no Brasil pode contribuir para prolongar o período de sobrevivência. Portanto, os detritos das culturas na superfície do solo podem fornecer um substrato adequado para a sobrevivência e multiplicação do inóculo.

A importância dos resíduos culturais como fontes potenciais de inóculo pode depender de vários fatores. Estes incluem a intensidade da doença na cultura anterior, sequência de culturas, taxa de decomposição dos resíduos, competitividade do patógeno e potencial de esporulação e condições climáticas (FERNANDEZ et al., 1993; LI et al., 2014). Harmon e Latin (2005), no estado de Indiana, EUA, mostraram que *M. oryzae* poderia sobreviver em resíduos de culturas de azevém previamente infectados (*Lolium multiflorum* Lam.). No entanto, com um clima temperado, a magnitude da sobrevivência do patógeno pode ser insuficiente para que essas populações sirvam como fonte de

inóculo primário para resultar em um surto de brusone durante o verão. Em contraste, em Madagascar, África, a esporulação do fungo foi observada em restos culturais de arroz deixados na superfície do solo por até 18 meses, indicando que sob condições de campo, a presença de resíduos culturais de arroz infectados poderia desencadear uma epidemia de brusone (RAVELOSON et al., 2018).

É amplamente aceito que o inóculo do patógeno presente na palhada na superfície do solo aumenta o risco de epidemias de brusone em condições favoráveis para o desenvolvimento da doença, mas o conhecimento sobre a capacidade de sobrevivência do patógeno na palha é limitado. No Brasil, com clima subtropical, a importância relativa dos resíduos de trigo como reservatório de inóculo primário de *M. oryzae* para a próxima safra de trigo é desconhecida. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar a persistência de *M. oryzae* na palhada de trigo em decomposição sob diferentes condições. A avaliação da sobrevivência de *M. oryzae* em resíduos culturais de trigo em decomposição deve fornecer uma melhor compreensão do papel dos resíduos como fonte de inóculo.

### **4.3 Material e Métodos**

O trabalho foi realizado em duas partes, a primeira em casa-de-vegetação e a segunda no campo, ambas na estação experimental da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, Brasil (28° 15 'S, 52° 24' W). O clima local é do tipo Cfa (clima temperado chuvoso) de acordo com a classificação de Köppen, e o solo é um Latossolo Vermelho distrófico típico (STRECK et al., 2008).

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com três fatores: órgãos da planta (espiga, colmo e folha), cultivares de trigo (Anahuac 75 e BRS 229) e isolados de *M. oryzae* (Py 12.1.132 e Py 12.1.209). O experimento foi realizado três vezes em diferentes períodos: Agosto de 2015 a fevereiro de 2016 (experimento A); Junho de 2016 a novembro de 2016 (experimento B); Dezembro de 2016 a março de 2017 (experimento C).

### 4.3.1 Cultivares de trigo

A escolha das cultivares de trigo utilizadas neste estudo baseou-se em estudos anteriores indicando que Anahuac 75 foi mais suscetível à brusone do que BRS 229 (dados não mostrados). Anahuac 75 é um cultivar desenvolvido pelo CIMMYT (Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo), lançado para cultivo comercial no México em 1975 (CIMMYT, 1977) e introduzido no Brasil no final da década de 1970. BRS 229 é uma cultivar desenvolvida pela Embrapa e comercialmente lançada em 2004 (BRUNETTA et al., 2006). Cinco sementes de cada cultivar foram plantadas em dez vasos plásticos com 22 cm de diâmetro contendo oito litros de solo. Um total de 20 vasos foram colocados em casa-de-vegetação com regime de temperatura de 24 °C dia / 19,5 °C noite. Durante o período em que as plantas permaneceram na casa-de-vegetação, o regime típico de luz / duração do dia para esta região foi de aproximadamente 13 h.

A composição química dos tecidos vegetais foi analisada em ambas as cultivares de trigo por meio de Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR). O princípio da análise NIR consiste na aplicação de diferentes comprimentos de onda, com base nas diferentes características de absorção e dispersão da luz, avaliando quantitativa e qualitativamente os componentes moleculares dos tecidos biológicos. As amostras foram secas a uma temperatura de 60 °C sob circulação de ar durante 48 h. Após a secagem, as amostras foram moídas (1 mm) em moinho do tipo Wiley e submetidas ao NIR. Posteriormente, as amostras foram analisadas pelo método físico-químico para as seguintes variáveis: MS = matéria seca; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta; DMS = digestibilidade da matéria seca; FDN = fibra em detergente neutro; NDT = nutrientes digestíveis totais.

### 4.3.2 Isolados do fungo

Os isolados de *M. oryzae* utilizados neste estudo foram selecionados a partir da coleta de isolados arquivados na Embrapa Trigo. Esta coleção reunida em 2012 contém isolados de diferentes regiões do Brasil. Intencionalmente, foi selecionado um isolado agressivo (*Py* 12.1.209) e um menos agressivo (*Py* 12.1.132). A agressividade de cada

isolado foi baseada na reação susceptibilidade das cultivares de trigo nos estádios de plântula e planta adulta (DANELLI, 2015). Ambos os isolados foram obtidos de plantas de trigo sintomáticas; *Py* 12.1.132 de plantas coletadas no município de Amambai, MS (19° 02 'S, 55° 16' W), e o isolado *Py* 12.1.209, de plantas coletadas no município de São Borja, RS (28° 41 'S, 55° 16' W). Os isolados foram cultivados em placas contendo meio ágar-aveia (aveia, 60 g / L). Para o preparo do inóculo, as placas foram inundadas com água destilada acrescida de Tween 80® (0,01%) e um pincel foi utilizado para desalojar os conídios. A suspensão de conídios foi ajustada para 10<sup>5</sup> esporos mL<sup>-1</sup>.

#### **4.3.3 Resíduos culturais de trigo infectados**

Ambas as cultivares de trigo foram inoculadas no estágio de crescimento 61 da escala de Zadoks et al. (1974), por meio de um atomizador de plástico portátil. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara de crescimento por 24 horas com ausência de fotoperíodo, temperatura de 24 °C e UR > 90% (Figura 1A). Após 24 h, o fotoperíodo foi ajustado para 12 h e a UR para aproximadamente 60 a 70%. As plantas permaneceram nessas condições por 10 dias, coincidindo com a observação dos sintomas da brusone. Na maturidade, espigas, colmos e folhas foram removidos das plantas com sintomas da doença de ambas as cultivares de trigo e para cada isolado. Nas hastes e folhas, lesões da doença foram marcadas com o auxílio de pincel atômico vermelho não tóxico (Figura 1B). Colmos, folhas e espigas foram colocados separadamente em sacos de nylon (0,5 × 0,5 m). A combinação do isolado, cultivar e tipo de resíduo resultou em um total de 12 sacolas. Esses sacos foram etiquetados e distribuídos no campo em uma área de campo coberta com gramíneas, incluindo o azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) (Figura 1C).

#### **4.3.4 Monitoramento dos restos culturais de trigo no campo**

Amostras de cada saco de nylon foram coletadas e levadas ao laboratório em intervalos de 14 dias. Cinco subamostras selecionadas aleatoriamente com duas lesões marcadas foram removidas de cada bolsa com hastes e folhas. Essas partes foram cortadas em segmentos de 5 cm de comprimento (Figura 1D) e lavadas em água

corrente. Em seguida, os segmentos foram embebidos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 1 min e depois enxaguados em água corrente por 1 min.

Um grupo de cinco espigas foi selecionado aleatoriamente a partir de sacos de nylon contendo espigas. Foram removidas as espiguetas, mantendo-se apenas a ráquis com os pontos de infecção. Finalmente, as ráquis e os segmentos de 5 cm de hastes e folhas foram colocados sobre papel absorvente previamente umedecido dentro de caixas plásticas transparentes (35 mm de altura x 110 mm de largura x 110 mm de comprimento). Um grupo de 10 lesões foi selecionado aleatoriamente em cada órgão da planta (Figura 1E). As caixas plásticas foram transferidas para uma câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  por 3 dias para promover a esporulação de *M. oryzae*. Após 3 dias, as lesões marcadas foram examinadas sob um microscópio de dissecação para a presença / ausência de conidióforos contendo conídios de *M. oryzae* (Figura 1F). Uma variável binária (0 = ausência de esporulação e 1 = presença de esporulação) foi atribuída a cada amostra.



Figura 1. Sequência cronológica utilizada nos experimentos A, B e C. Plantas na câmara de crescimento após inoculação (1A); Lesões da doença em resíduos de trigo circundadas com tinta vermelha por meio de um pincel atômico (1B); Sacos de nylon com os resíduos de trigo inoculados distribuídos no campo em área com azevém (1C); Amostras dos resíduos de trigo com tamanho médio de 5 cm, com as lesões previamente circundadas em vermelho (1D); Cinco espécimes de cada órgão vegetativo com um grupo de dez lesões que foram selecionados aleatoriamente e colocados em caixas

plásticas transparentes (1E); As lesões marcadas em vermelho foram examinadas sob um microscópio de dissecação para identificação de conidióforos portadores de conídios de *P. oryzae* (1F).

#### **4.3.5 Dados meteorológicos**

Os dados meteorológicos foram obtidos da rede automatizada de estações meteorológicas do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). A estação meteorológica automatizada estava localizada a aproximadamente 700 m do local onde foram realizados os experimentos. As leituras diárias de temperatura (°C), umidade relativa (%) e precipitação (mm/h) foram disponibilizadas.

#### **4.3.6 Análise estatística**

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2017). Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva para determinar as frequências absolutas e relativas e comparar as cultivares, isolados, órgãos vegetais e períodos de exposição dos resíduos de trigo no campo. Os dados associados à sobrevivência de *M. oryzae* durante os períodos experimentais foram submetidos à análise de sobrevivência utilizando o pacote Survival (THERNEAU e GRAMBSCH, 2000; Modeling Survival Data: Extending the Cox Model. Springer, Nova York, ISBN 0-387-98.784 -3). Realizou-se a análise de sobrevivência de Kaplan-Meier, com uma probabilidade cumulativa de sobrevivência baseada na esporulação dos dias estimados, de acordo com cada variável de interesse e período de exposição dos resíduos de trigo ao ambiente. Por convenção, as plotagens de Kaplan-Meier são representadas com etapas para indicar o tempo em que o evento terminal (a esporulação cessa) ocorre e o sinal (+) para indicar observações censuradas (GOEL, et al., 2010). A significância estatística foi avaliada pelo Logrank test, que avaliou a hipótese nula de que não houve diferença entre as curvas de sobrevida de cada tratamento, ou seja, a probabilidade de uma lesão cessar a esporulação em qualquer momento foi a mesma em todas as cultivares, órgãos, isolados ou períodos de exposição dos resíduos de trigo no campo.

Um modelo de regressão de Cox ou de riscos proporcionais foi usado para calcular a razão de risco ou risco (HR) na análise de sobrevivência, com um intervalo de confiança (IC) de 95%. A análise univariada foi seguida por análise multivariada. As associações foram consideradas estatisticamente significantes com nível de significância inferior a 5%.

#### **4.4 Resultados**

Houve diferenças estatísticas ( $p < 0,0001$ ) entre os três experimentos (Figura 2). Comparando as curvas de sobrevivência entre os experimentos, foi observada uma diferença significativa na taxa de sobrevivência. A duração do período de sobrevivência para *M. oryzae* nos restos culturais de trigo foi de aproximadamente 140, 160, 80 dias nos experimentos A, B e C, respectivamente (Figura 2). No experimento C, o período de esporulação do patógeno foi menor (Figura 2), embora durante esse experimento a menor temperatura nunca tenha sido negativa, diferentemente dos experimentos A e B, onde foi observada uma redução na taxa de esporulação do patógeno na ocorrência de temperaturas negativas. Adicionalmente, a precipitação acumulada foi de 537,6 mm no experimento C, enquanto que nos experimentos A e B a precipitação acumulada foi de 1218,8 e 886,4 mm, respectivamente. Em suma, o número de lesões esporulativas foi drasticamente reduzido em cada observação no experimento C, enquanto nos experimentos A e B, a redução ocorreu gradativamente.

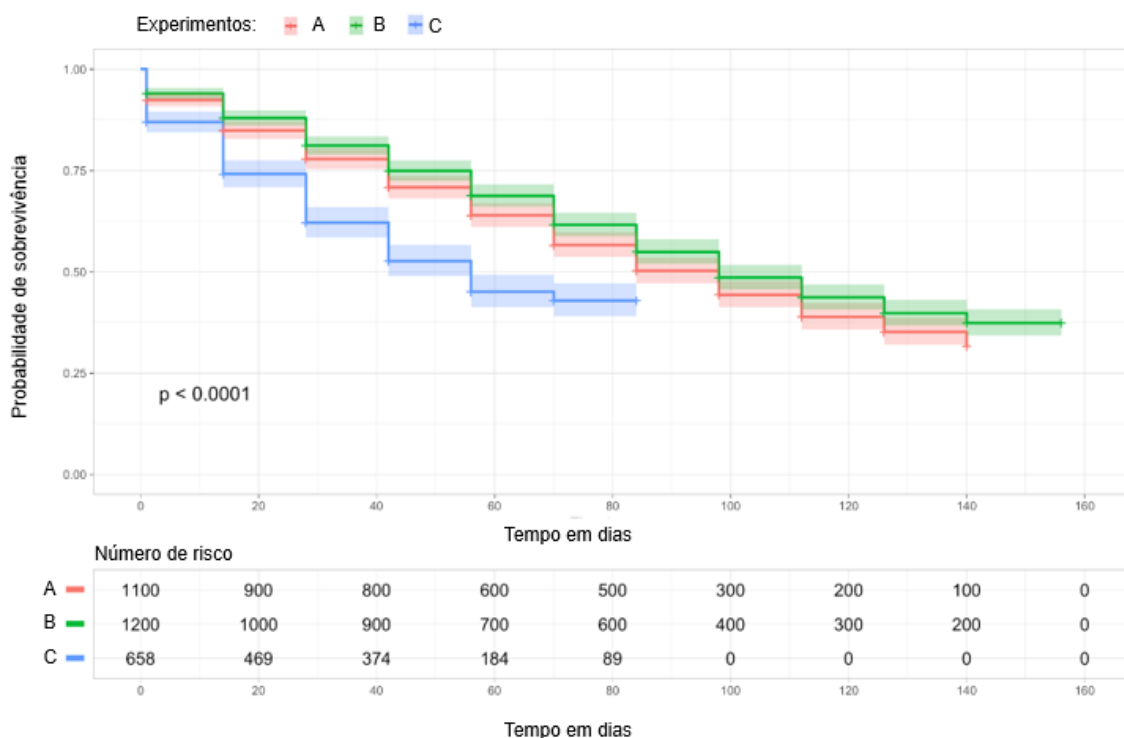


Figura 2. Curvas de Kaplan-Meier calculadas para cada experimento sobre as cultivares Anahuac 75 e BRS 229 e ambos os isolados de *M. oryzae* (Py 12.1.132 e Py 12.1.209) (N=360). Linhas verticais curtas representam dados censurados e as cores sombreadas representam intervalos de confiança de 95%. Passo Fundo – RS, 2019.

Os resultados da análise univariada de Cox são apresentados na Tabela 1. Entre os experimentos A, B e C, a taxa de esporulação nos resíduos culturais de trigo no experimento C foi menor, reduzindo o tempo de sobrevivência de *M. oryzae* (HR = 1,6,  $S_x = 0,069$ ). Na comparação dos dois isolados, a taxa de sobrevivência do isolado Py 12.1.209 foi maior (HR = 1,1,  $S_x = 0,050$ ); no entanto, não foi significativamente diferente da taxa de sobrevivência de Py 12.1.132. O maior período de sobrevivência de ambos os isolados do fungo foi observado na cultivar BRS 229 (HR = 0,9,  $S_x = 0,050$ ); embora quando comparado com a cultivar Anahuac 75, a diferença não foi significativa. Para os três órgãos, a menor probabilidade de sobrevivência de *M. oryzae* ao longo do tempo foi na ráquis (HR = 1,8,  $S_x = 0,063$ ).



Tabela 1. Análise univariada de Cox para variáveis preditivas do número de lesões de *M. oryzae*. Passo Fundo – RS, 2019.

Características de Sobrevivência		N = 360		p-valor
		HR	S <sub>x</sub>	
Experimento	A	-	-	-
	B	0.9	0.057	0.009
	C	1.6	0.069	<0.006
Isolado	Py 12.1.132	-	-	-
	Py 12.1.209	1.1	0.050	0.160
Cultivar	Anahuac 75	-	-	-
	BRS 229	0.9	0.050	0.04
Órgão	Folha	-	-	-
	Colmo	1.1	0.059	0.320
	Ráquis	1.8	0.063	<0.002

HR, hazard ratio; S<sub>x</sub>, erro padrão.

O modelo de regressão multivariada de Cox é apresentado na Tabela 2. As diferenças e semelhanças entre as características de sobrevivência determinadas na análise univariada de Cox foram as mesmas que as determinadas na análise multivariada de Cox. As variáveis preditivas para a redução no tempo de sobrevivência de *M. oryzae* em restos culturais de trigo foram: experimento C (HR = 1,6; IC 1,42-1,86); a cultivar BRS 229 (HR = 0,9; IC 0,80–0,97); Py 12.1.209 (HR = 1,1, IC 0,99-1,21) e ráquis (HR = 1,8, IC 1,59-2,04).

Tabela 2. Análise multivariada de Cox para variáveis preditivas do número de lesões de *M. oryzae*. Passo Fundo – RS, 2019.

Características de sobrevivência		Número total de lesões	Número de lesões esporulativas	HR	IC 95%	p-valor
Experimento	A	1.200	1.100	-	-	-
	B	1.320	1.200	0.9	0.78-0.97	0.010
	C	840	658	1.6	1.42-1.86	<0.001
Isolado	<i>Py</i> 12.1.132	1.680	1.497	-	-	-
	<i>Py</i> 12.1.209	1.680	1.461	1.1	0.99-1.21	0.071
Cultivar	Anahuac 75	1.680	1.460	-	-	-
	BRS 229	1.680	1.498	0.9	0.80-0.97	0.012
Órgão	Folha	1.200	1.194	-	-	-
	Colmo	1.320	1.200	1.1	0.94-1.19	0.330
	Ráquis	840	564	1.8	1.59-2.04	<0.002

HR, hazard ratio; IC, intervalo de confiança.

Durante os três experimentos ocorreram variações no gradiente de temperatura, o que indicou que o fungo *M. oryzae* poderia sobreviver nos resíduos culturais de trigo mesmo com grandes oscilações térmicas. A amplitude térmica no experimento A foi de 33,1 °C, no experimento B de 34,0 °C e na experimento C de 20,7 °C. No entanto, uma redução na taxa de esporulação do patógeno foi observada quando exposta a temperaturas negativas nos experimentos A e B. No experimento B, a taxa de esporulação nos restos culturais de trigo foi menor que nos experimentos A e C, demonstrando uma forte influência da temperatura na decomposição dos restos culturais de trigo.

No experimento A, realizado de agosto de 2015 a fevereiro de 2016, houve ocorrência de precipitação em 73 dias, e a temperatura média nos dias em que a precipitação foi registrada foi de 19,7 °C. A duração do período de sobrevivência de *M. oryzae* nos restos culturais de trigo foi de aproximadamente 140 dias (Figura 2) e a precipitação acumulada durante todo o período foi de 1218,8 mm (Figura 3), que em média representou 8,75 mm de chuva / dia de experimento. O número de dias que choveu pelo menos 1 mm foi 63. Em média, isto significa que choveu pelo menos 1 mm a cada 2,22 dias. A temperatura mínima de -0,3 °C foi observada em 12 de setembro e a máxima de 32,8 °C foi observada em 24 de janeiro. A temperatura média durante todo o experimento foi de 25,5 °C (Figura 3).

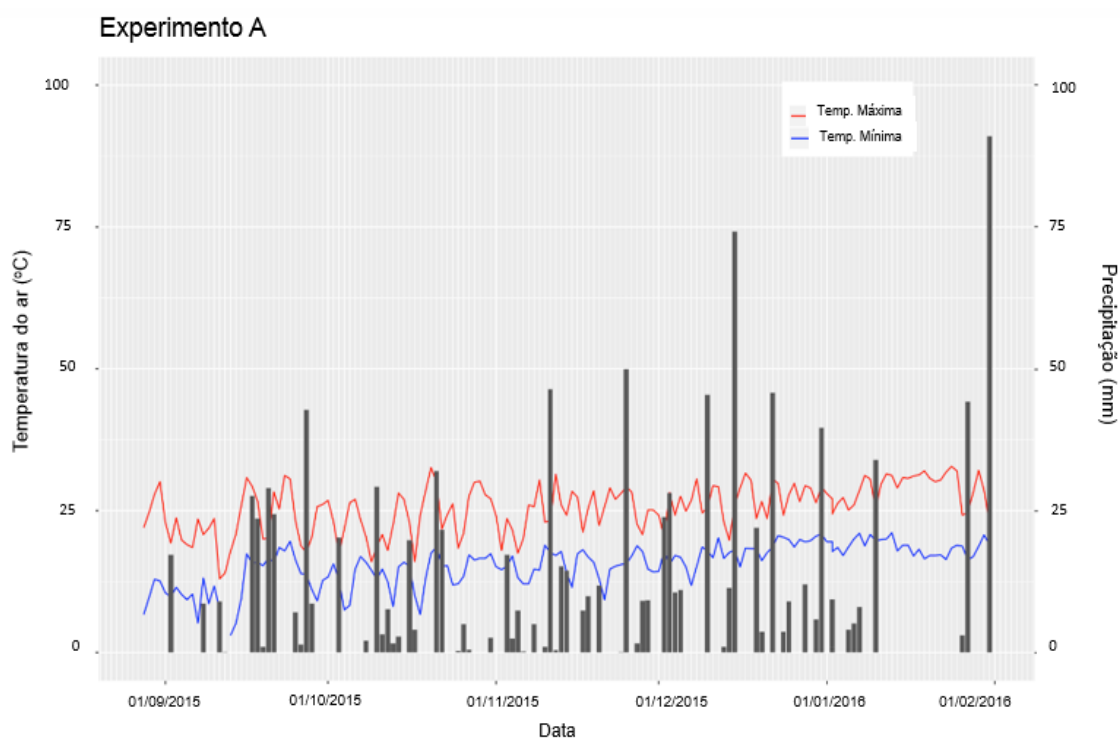


Figura 3. Caracterização das condições climáticas em Passo Fundo, RS, durante o experimento A.

No experimento B, realizado de junho de 2016 a novembro de 2016, a precipitação foi registrada em 62 dias, e a temperatura média em dias chuvosos foi de 14,5 °C. A duração do período de sobrevivência de *M. oryzae* em restos culturais de trigo foi de aproximadamente 160 dias (Figura 2) e a precipitação acumulada durante todo o período foi de 886,4 mm (Figura 4), que, em média, representa 5,54 mm de

chuva / dia de experimento. O número de dias que choveu pelo menos 1 mm foi 44. Em média, isto significa que choveu pelo menos 1 mm a cada 3,64 dias. A temperatura mínima de -2,6 °C foi observada em 12 de junho e a temperatura máxima de 31,4 °C foi observada em 7 de novembro. A temperatura média durante todo o experimento foi de 14,8 °C (Figura 4).

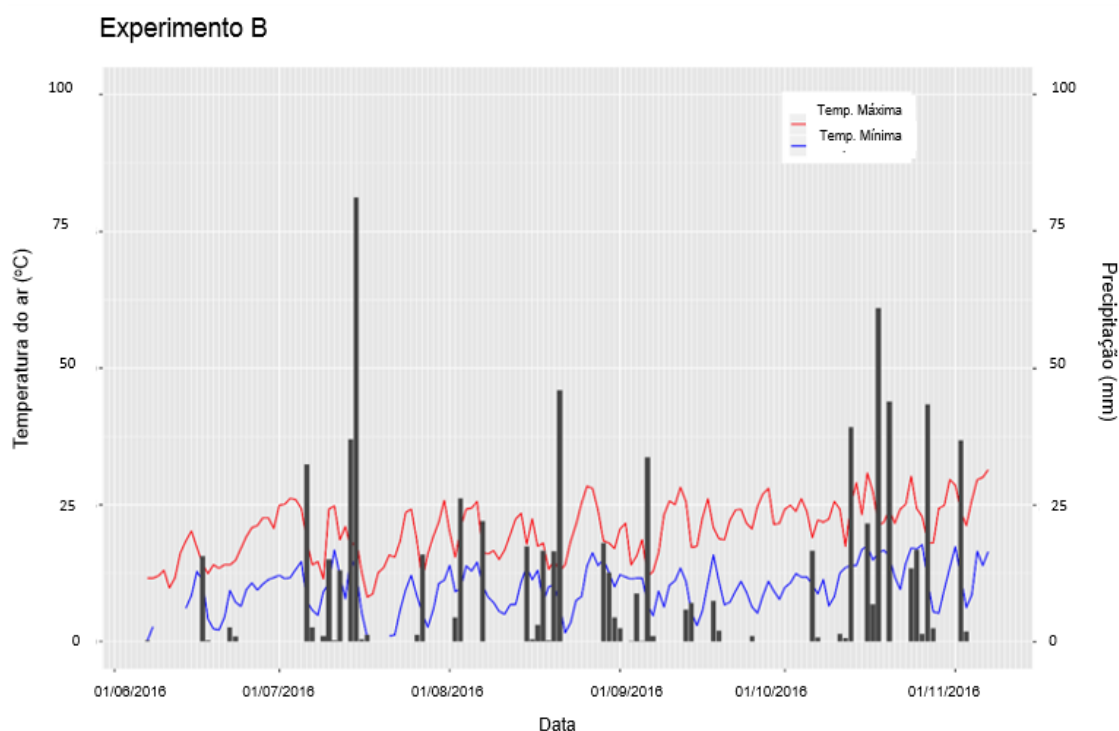


Figura 4. Caracterização das condições climáticas em Passo Fundo, RS, durante o experimentos B.

No experimento C, realizado de dezembro de 2016 a março de 2017, a chuva foi registrada em 52 dias e a temperatura média nos dias chuvosos foi de 22,8 °C. A temperatura mais baixa, 11,9 °C, foi observada em 7 de fevereiro e a mais alta, 32,6 °C, em 26 de dezembro. O período de sobrevivência de *M. oryzae* nos restos culturais de trigo foi de aproximadamente 80 dias (Figura 2), e a precipitação acumulada durante todo o período do experimento foi de 537,6 mm (Figura 5), que, em média, representa 6,72 mm de chuva / dia de experimento. O número de dias que choveu pelo menos 1 mm foi 40. Em média, isso significa que choveu pelo menos 1 mm a cada 2 dias. A temperatura média ao longo do experimento foi de 23 °C (Figura 5).

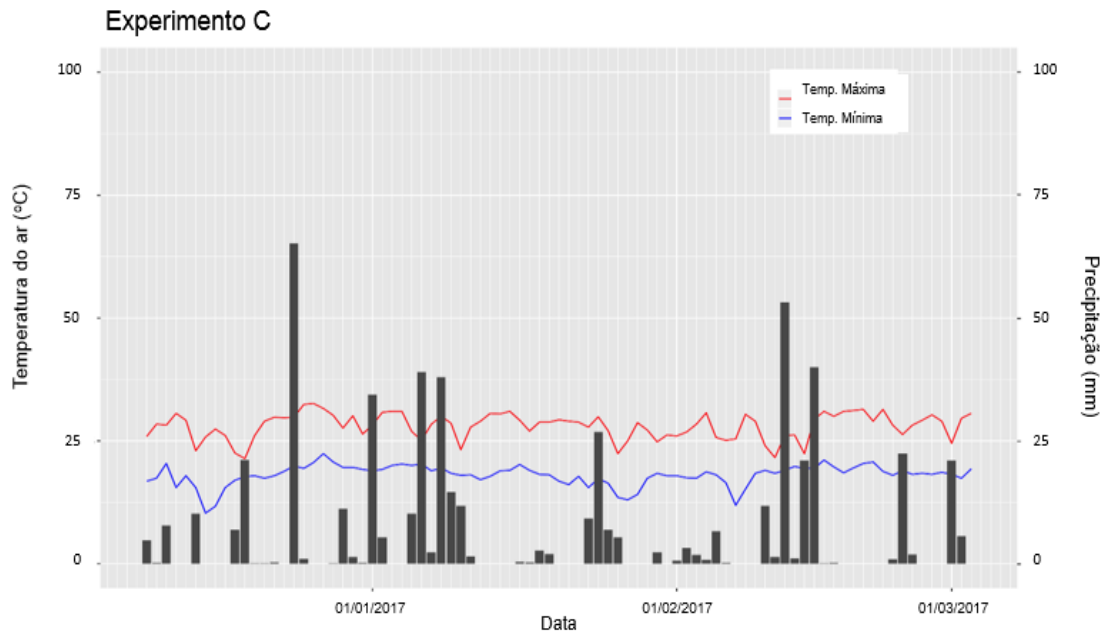


Figura 5. Caracterização das condições climáticas em Passo Fundo, RS, durante o experimentos C.

Durante os cinco meses do experimento A, a temperatura média durante os dias chuvosos foi próxima a 20 °C, e o volume acumulado de chuvas foi de aproximadamente dois terços do total previsto para o ano inteiro. Com o maior volume de chuva acumulado no experimento A entre os três experimentos, a taxa de esporulação nos restos culturais de trigo em A foi maior do que no experimento B; no entanto, a taxa foi menor do que no experimento C, porque a temperatura nos dias com a precipitação foi maior no experimento C.

A análise de sobrevivência não revelou diferenças significativas ( $p < 0,16$ ) nas curvas de sobrevivência entre os isolados *Py* 12.1.132 e *Py* 12.1.209 ao longo do tempo nos três experimentos (Figura 6). O número total de lesões esporulativas de *M. oryzae* nos restos culturais de trigo nos três experimentos variou de acordo com o período de sobrevivência do patógeno. No tempo zero, a soma das lesões esporulativas encontradas em ráquis, folhas e colmos foi de 1497 para o isolado *Py* 12.1.132. Já para o isolado *Py* 12.1.209 o total de lesões esporulativas foi de 1461 (Figura 6), no entanto, ambos os isolados eram iguais estatisticamente. Do tempo zero ao tempo 140, o número de lesões esporulativas de ambos os isolados diminuiu gradualmente. No tempo 140, o número de lesões esporuladas foi muito semelhante para ambos os isolados, com 152 lesões para o

isolado *Py* 12.1.132 e 148 lesões para o isolado *Py* 12.1.209. No tempo 154, não foram observadas lesões esporulativas nos restos culturais de trigo para ambos os isolados.

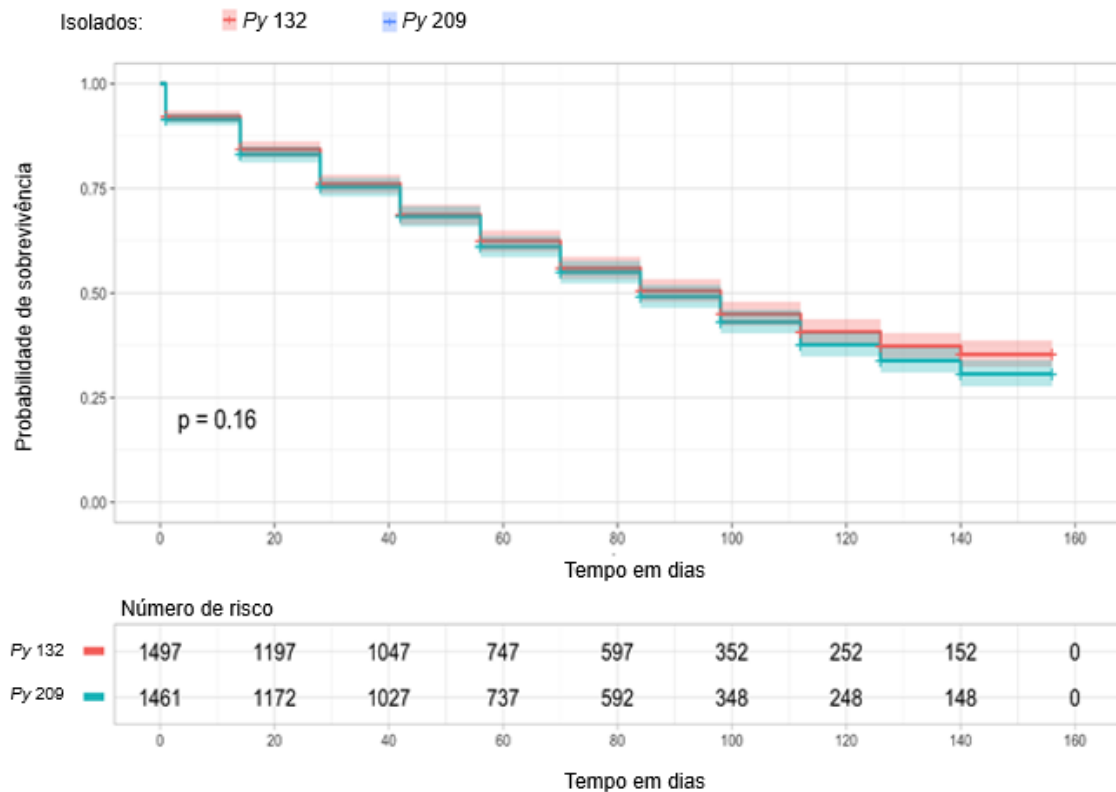


Figura 6. Curvas de Kaplan-Meier calculadas para os isolados *Py* 12.1.132 e *Py* 12.1.209 de *M. oryzae* colonizando Anahuac 75 e BRS 229 durante os três experimentos (N = 120). Linhas verticais curtas representam dados censurados e as cores sombreadas representam intervalos de confiança de 95%. Passo Fundo – RS, 2019.

A sobrevivência dos dois isolados de *M. oryzae* nos restos culturais de trigo de ambas as cultivares ao longo dos três experimentos foi significativamente diferente (Figura 7). Comparando o número total de lesões nos três experimentos, o número de lesões esporulativas foi maior na cultivar BRS 229 do que em Anahuac 75. Entretanto, a diferença foi observada apenas do tempo zero ao tempo 84, após o qual, o número de lesões esporulativas em ambas as cultivares foi o mesmo.

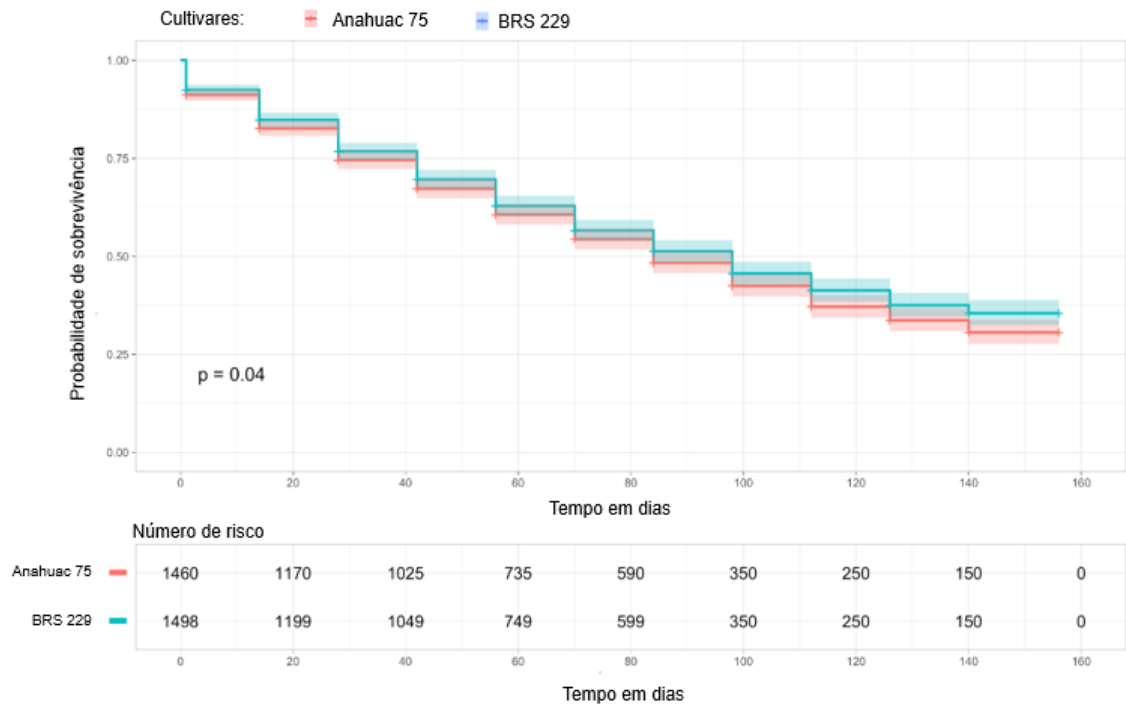


Figura 7. Curvas de Kaplan-Meier calculadas para as cultivares Anahuac 75 e BRS 229 para os dois isolados de *M. oryzae* (*Py* 12.1.132 e *Py* 12.1.209) e para os três experimentos (N = 120). Linhas verticais curtas representam dados censurados e as cores sombreadas representam intervalos de confiança de 95%. Passo Fundo –RS, 2019.

Apesar dessa diferença observada entre as duas cultivares na fase inicial de avaliação da capacidade de esporulação, o método NIR (Tabela 3) mostrou uma grande similaridade entre os dois genótipos de trigo avaliados em relação à sua composição química.

Tabela 3. Composição química<sup>1</sup> das cultivares de trigo Anahuac 75 e BRS 229 com base na Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR). Passo Fundo –RS, 2019.

Composição bromatológica	Cultivar	
	Anahuac 75	BRS 229
MS (%)	16.01	15.25
Composição da MS (%)		
FDA	23.56	22.17
PB	18.04	20.00
DMS	70.54	71.63
FDN	54.72	51.56
NDT	71.34	72.32

<sup>1</sup>MS = matéria seca; FDA = fibra em detergente ácido; PB = proteína bruta; DMS = digestibilidade da matéria seca; NDF = fibra em detergente neutro; NDT = nutrientes digestíveis totais.

Os resultados mostraram que o número de lesões esporulativas nas folhas, ráquis e colmos diminuiu com o tempo (Figura 8). A esporulação não foi observada após 154 dias de exposição dos restos culturais de trigo no campo.



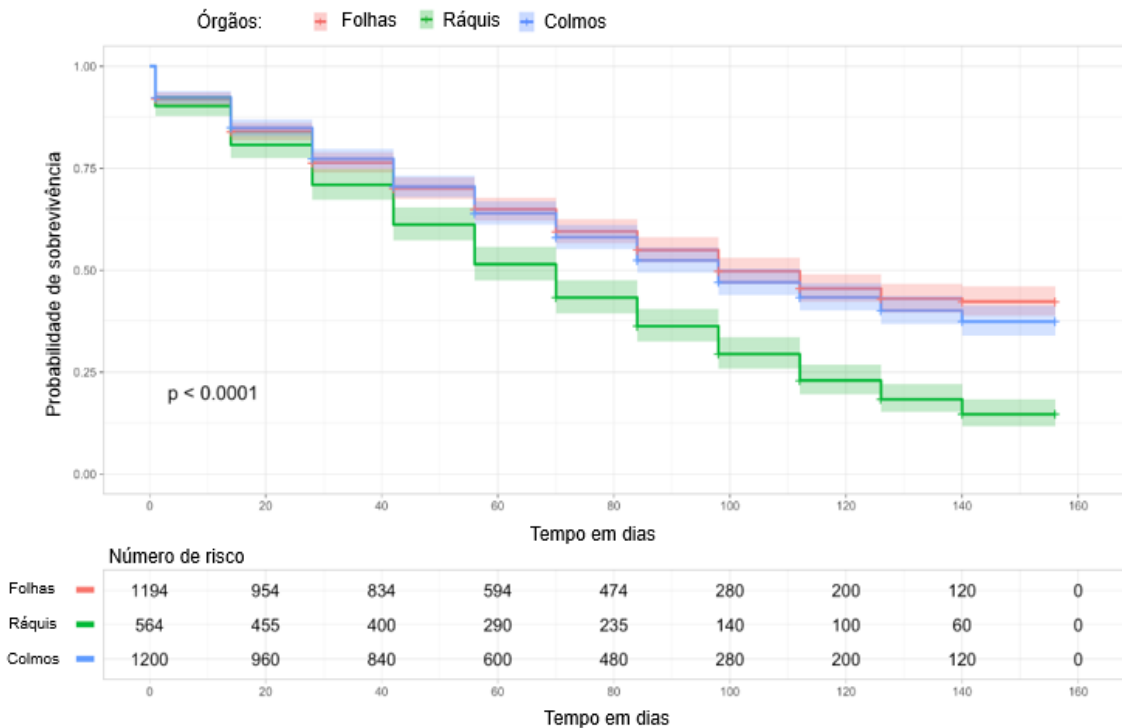


Figura 8. Curvas de Kaplan-Meier calculadas para os órgãos de Anahuac 75 e BRS 229 sobre ambos os isolados de *M. oryzae* (Py 12.1.132 e Py 12.1.209) nos três experimentos (N = 360). Linhas verticais curtas representam dados censurados e as cores sombreadas representam intervalos de confiança de 95%. Passo Fundo –RS, 2019.

Uma curva de sobrevivência mais curta foi observada na ráquis quando comparado a folhas e colmos. As curvas de sobrevivência para os isolados foram semelhantes. Nos experimentos A, B e C, o menor período de sobrevivência do agente patogênico nos restos culturais de trigo ocorreu na ráquis, e o número de lesões esporulativas reduziu gradativamente desde o início das avaliações.

#### 4.5 Discussão

Este estudo mostrou que as variáveis climáticas interferiram diretamente no tempo de decomposição dos resíduos vegetais e, provavelmente, na taxa e período de esporulação do patógeno. Neste contexto, o resultado mais notável deste estudo foi a duração do período de esporulação de *M. oryzae* em restos culturais de trigo, que variou de 140 e 160 dias em agosto de 2015 a fevereiro de 2016 e junho de 2016 a novembro de 2016, respectivamente, e para 80 dias em dezembro de 2016 a março de 2017. Entre

os fatores ambientais que afetaram os restos culturais de trigo no campo, concluímos que a temperatura teve o efeito mais importante na esporulação de *M. oryzae*.

Notavelmente, as temperaturas médias mais baixas observadas durante agosto de 2015 a fevereiro de 2016 e junho de 2016 a novembro de 2016 foram críticas para que *M. oryzae* continuasse esporulando por um período maior do que em dezembro de 2016 a março de 2017. É plausível especular que a interação entre fatores como a quantidade e a frequência das chuvas e as temperaturas que ocorreram ao longo dos experimentos pode ter alguma influência nas diferenças observadas entre os três experimentos. No entanto, nada parece ter sido mais determinante e importante do que as temperaturas médias mais baixas durante agosto de 2015 a fevereiro de 2016 e junho de 2016 a novembro de 2016.

Além disso, ficou evidente que o declínio na proporção de lesões esporulativas foi muito distinto em dezembro de 2016 a março de 2017 do que em agosto de 2015 a fevereiro de 2016 e junho de 2016 a novembro de 2016. Por exemplo, nos primeiros 20 dias após a primeira avaliação essa grande diferença entre os experimentos era evidente. Naquele período, houve reduções de 18,18%, 16,67 e 28,72% no percentual de lesões esporulativas em agosto de 2015 a fevereiro de 2016, junho de 2016 a novembro de 2016 e dezembro de 2016 a março de 2017, ou seja, o número de lesões esporulativas variou de 1100 a 900, de 1200 a 1000 e de 658 a 469, respectivamente.

Embora o número total de dias com atividade de esporulação em agosto de 2015 a fevereiro de 2016 e de junho de 2016 a novembro de 2016 (140 e 160 dias, respectivamente) fosse relativamente semelhante, eles eram estatisticamente diferentes. Essa diferença foi maior ou menor em cada uma das 11 avaliações realizadas em ambos os experimentos. É possível listar alguns fatores que podem ter favorecido a variação entre os dois experimentos. A temperatura nos dias com precipitação foi maior em agosto de 2015 a fevereiro de 2016 (19,7 °C) do que em junho de 2016 a novembro de 2016 (14,5 °C), o volume total de precipitação foi maior em agosto de 2015 a fevereiro de 2016 (1218,8 mm) que em junho de 2016 a novembro de 2016 (886,4 mm), ou o intervalo de tempo com ausência de chuvas foi menor em agosto de 2015 a fevereiro de 2016 (2,2 dias) do que em junho de 2016 a novembro de 2016 (3,64 dias). No entanto, o

que parece ser o mais provável é que a combinação desses fatores forneceu uma condição mais favorável para que o período de esporulação fosse maior em junho de 2016 a novembro de 2016 do que em agosto de 2015 a fevereiro de 2016.

Ambos os isolados de *M. oryzae* utilizados nesse trabalho foram obtidos em locais muito distantes um do outro, separados por mais de 700 km de distância ao norte e 10 graus de latitude; Py 12.1.132 (19° 02 'S, 55 °16' W) e Py 12.1.209 (28° 41 'S, 55° 57' W). Outro ponto importante na diferença entre os dois locais, é o seguinte: Py 12.1.132 é de uma região onde a ocorrência da brusone do trigo é bastante comum e é também uma das razões pelas quais os produtores da região estão abandonando o cultivo de trigo (CALLAWAY, 2016). Em contraste, Py 12.1.209, foi obtido a partir de um local onde a brusone de trigo não tem importância econômica e as condições climáticas não são as mais favoráveis para ele. Apesar das diferenças climáticas entre os locais para os quais os isolados foram obtidos, nenhuma diferença foi observada na sobrevivência entre eles. Os resultados também apontaram que as diferenças de virulência apresentadas pelos dois isolados (dados não mostrados), que foi o critério adotado para sua escolha nesse estudo, não influenciaram na sua capacidade de sobrevivência.

Nosso estudo sugere que é possível especular que o principal fator responsável pela diferença observada entre Anahuac 75 e BRS 229 em relação à capacidade de sobrevivência de *M. oryzae* pode estar relacionado aos diferentes níveis de resistência genética à brusone presentes em cada uma das cultivares. Essa condição já foi demonstrada em vários estudos que mostraram que a cultivar BRS 229 é mais resistente à brusone do que Anahuac 75 (MACIEL et al., 2014). Além disso, devido a sua grande susceptibilidade à brusone, a cultivar Anahuac 75 tem sido utilizada como controle em experimentos conduzidos no campo e sob condições controladas (REGES et al., 2016). Segundo Inoue et al. (2017), a cultivar Anahuac 75 não possui o gene de avirulência Pwt3, cujos produtos provocam respostas de defesa em cultivares de trigo contendo o correspondente gene de resistência Rwt3; portanto, a maior taxa de decomposição pode estar associada à maior agressividade do patógeno na cultivar Anahuac 75 do que na cultivar BRS 229.

Diferenças nos componentes químicos dos restos culturais de trigo, como celulose, hemicelulose e lignina, podem estar associados à menor taxa de sobrevivência de *M. oryzae* na ráquis em cada um dos três experimentos. Os resultados obtidos em avaliações semelhantes no patossistema *Triticum aestivum* - *Gibberella zae* também mostraram resultados semelhantes. Nesse sentido, Khonga e Sutton (1988) determinaram que a sobrevivência saprofítica de *Gibberella zae* em resíduos de trigo é dependente do órgão vegetal. Segundo esses autores, caules, folhas e ráquis diferem na composição bioquímica e, portanto, na sobrevivência e produção do inóculo do fungo em sua fase saprofítica.

Com base nos resultados deste estudo, a possibilidade de que o agente causal da brusone do trigo sobreviva de um ano para outro nos restos culturais de trigo nas condições de clima do Sul do Brasil é muito baixa. A sobrevivência máxima observada foi de cinco meses, tornando improvável que resíduos de trigo infectados com *M. oryzae* sirvam como fonte de inóculo para a brusone na próxima safra de trigo. Raveloson et al. (2018) mostraram que em Madagascar, África, a sobrevivência de *M. oryzae* em restos culturais de arroz (*Oryza sativa*) ao longo de três anos variou de 5 a 18 meses, sendo o maior período de sobrevivência do fungo observado na estação fria e a menor sobrevivência na estação chuvosa.

#### **4.6 Conclusões**

a) A possibilidade de que o agente causal da brusone sobreviva em condições subtropicais de uma safra para outra em restos culturais de trigo é muito baixa, o que explica a menor frequência de epidemias de brusone no Sul do Brasil;

b) A importância dos restos culturais como fonte de inóculo na entressafra é limitada pelas condições climáticas do local, demonstrando a importância de outros hospedeiros como fonte do inóculo primário, por exemplo, plantas daninhas da família Poaceae.

## 5 CAPÍTULO III

Deposição da pulverização em espigas artificiais por quatro pontas de pulverização em aplicação de fungicida para o controle da brusone do trigo

### 5.1 Resumo

A brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*, foi relatada pela primeira vez em trigo no Brasil, em 1985, no estado do Paraná. A doença pode reduzir a qualidade dos grãos colhidos, e os danos à produção podem chegar a 100 %, dependendo da resistência genética da cultivar. As populações do fungo no Brasil possuem uma grande diversidade genética, o que dificulta o desenvolvimento de cultivares resistentes. Haja vista a disponibilidade limitada de cultivares de trigo resistentes à brusone, o controle químico ainda é a principal estratégia de manejo, mas necessita de estudos que visem uma melhor cobertura das espigas para obter sucesso no controle. O presente estudo foi conduzido em casa-de-vegetação e em condições de campo. Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados em esquema fatorial 4x2, com quatro pontas/bicos de pulverização e dois adjuvantes, sob três repetições, e mais uma testemunha sem aplicação de fungicida. A pulverização ocorreu 24h antes da inoculação das espigas. No experimento em casa-de-vegetação foram avaliados a qualidade de cobertura proporcionada por quatro diferentes pontas/bicos de pulverização em espigas artificiais de trigo envoltas por cartão hidrossensível, a severidade da doença nas espigas - SEVE e o número de pontos de infecção na ráquis - NPI. No experimento em casa-de-vegetação as menores médias de SEVE e NPI foram encontradas no tratamento T9 (mancozebe + Break-Thru + Grip - ponta: TJ60 10002 - 60°). Em condições de campo foram avaliadas a incidência - INC e a severidade da doença nas espigas - SEVE. O tratamento com mancozebe (T9) apresentou as menores médias para as duas variáveis da doença, no entanto, sem diferir de T8 para a variável INC, e não diferindo dos tratamentos onde foi adicionado o adjuvante Break-Thru® (T5, T6, T7 e T8), para a variável SEVE. O fungicida mancozebe apresentou desempenho superior a mistura prothioconazol + trifloxistrobina no controle da doença para as três variáveis avaliadas, SEVE, INC e NPI.

Palavras-chave: 1. *Magnaporthe oryzae*. 2. Tecnologia de aplicação de fungicidas. 3. Cartão hidrossensível.

### 5.2 Introdução

O trigo é uma cultura de grande importância econômica e nutricional para a alimentação humana em todo o mundo (STEFFEN et al., 2015). De acordo com a CONAB (2018), a produção brasileira de trigo não atende à demanda interna, assim, o país necessita importar essa commodity para suprir suas necessidades internas. Além disso, a produção de trigo está sujeita a perdas, principalmente devido à ocorrência de

doenças que ocasionam reduções consideráveis no rendimento de grãos, como é o caso da brusone do trigo, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* Triticum (anamorfo *Pyricularia oryzae* Triticum), e que tem sido considerada uma grave ameaça à produção de trigo em vários países da América do Sul (GOULART et al., 2007; KOHLI et al., 2011).

A brusone é uma doença relativamente nova na cultura do trigo, e que foi identificada pela primeira vez no Brasil em 1985 (IGARASHI et al., 1986), e posteriormente se espalhou para outros países vizinhos, como, Bolívia (BAREA e TOLEDO, 1996), Paraguai (VIEDMA, 2005), e Argentina (CABRERA e GUTIÉRREZ, 2007). Em 2016 a brusone do trigo foi relatada pela primeira vez fora da América do Sul, em Bangladesh (SHARMA, 2017; SADAT e CHOI, 2017; MONSUR et al., 2016). A importância econômica desta doença deriva do fato de que o fungo pode reduzir o rendimento e a qualidade dos grãos (GOULART et al., 2007). A doença pode atacar todas as partes da planta acima do solo, mas pode-se observar uma severa infecção da espiga com uma infecção mínima nas folhas ou nos colmos. Perdas de rendimento de até 100% foram relatadas em cultivares suscetíveis (KOHLI et al. 2011).

A busca por resistência à brusone tem sido intensa desde o primeiro relato da doença no final da década de 80, no entanto, têm-se observado que a incidência e a severidade da doença dependem do variante do fungo prevalente no local, caracterizando uma forte influência do fator variabilidade genético-fenotípica no patossistema em questão (MACIEL et al., 2014; DANELLI, 2015). O uso de cultivares de trigo resistentes à doença tem se configurado em uma alternativa errática e inconsistente para controlar a doença, possibilitando ao patógeno alcançar ampla distribuição e espalhar-se rapidamente pela maioria das regiões produtoras de trigo no Brasil (CRUZ et al., 2011; ANJOS et al., 1996). Um segmento da translocação 2NS/AS de *Aegilops ventricosa* foi relatado por conferir resistência moderada a alguns genótipos (CRUZ et al., 2016). No entanto, na Bolívia, durante uma severa epidemia de brusone em 2015, a melhor resistência disponível foi insuficiente para controlar a doença (VALES et al., 2018).

Haja vista a disponibilidade limitada de cultivares de trigo resistentes a doença, a brusone é considerada uma doença de difícil controle, e as estratégias recomendadas para o seu controle baseiam-se na aplicação de fungicidas na parte aérea da cultura (URASHIMA e KATO, 1994; GOULART et al., 2007). Embora haja evidências de que os fungicidas podem fornecer algum nível de controle para a brusone do trigo, outros resultados sugerem que sua eficácia pode ser limitada e insuficiente (CRUZ e VALENT, 2017). De acordo com Maciel (2011), estima-se que a eficiência do controle químico, seja de no máximo 50%, e este nível de eficiência é ainda menor em condições climáticas muito favoráveis à doença.

Sob o ponto de vista de manejo químico da brusone do trigo, a ineficácia dos fungicidas está estritamente relacionada às dificuldades de proteção da espiga (GOULART et al., 1995; URASHIMA et al., 2004; KOHLI et al., 2011), e à deficiência de deposição dos fungicidas na ráquis, onde a atuação do fungo é direta (GOULART e PAIVA, 1993). A tecnologia de aplicação empregada no controle químico irá refletir diretamente na eficácia dos fungicidas, pois irá influenciar no nível de controle da doença. Assim, uma das formas de se obter maior deposição do ingrediente ativo no alvo biológico, passa pela correta seleção das pontas de pulverização, que irão determinar o tamanho de gotas, além da determinação do volume de aplicação e dos adjuvantes utilizados na calda de pulverização (NUYTTENS et al., 2007; CUNHA et al., 2008; CHECHETTO e ANTUNIASSI, 2012).

Apesar da baixa eficiência do controle químico, aliada ao seu alto custo, estudos comparando a eficácia de fungicidas com princípios ativos distintos, e a sua interação com diferentes genótipos são de suma importância para recomendação aos produtores (ROCHA et al., 2014). Assim, objetivou-se avaliar a qualidade de cobertura proporcionada por quatro diferentes pontas/bicos de pulverização em espigas artificiais de trigo envoltas por cartão hidrossensível, e a eficiência dos tratamentos fungicidas no controle da brusone do trigo.

### 5.3 Material e Métodos

O trabalho foi realizado em casa-de-vegetação, na estação experimental da Embrapa Trigo, e no campo experimental da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, ambos localizados no município de Passo Fundo, RS. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial (4x2) com quatro pontas/bicos de pulverização e dois adjuvantes, em três repetições. As quatro pontas/bicos de pulverização foram utilizadas em aplicações do fungicida prothioconazol+trifloxistrobina combinado ao adjuvante Aureo® ou aos adjuvantes Aureo® + Break-Thru®, totalizando oito tratamentos (T1 a T8). Com base nos resultados de ensaios cooperativos realizados pela Embrapa Trigo, conduzidos por Santana et al. (2013), os tratamentos com o fungicida mancozebe proporcionaram o maior controle da brusone, quando comparados as misturas de triazóis + estrobilurinas. Dessa maneira, adotou-se um tratamento com mancozebe (T9). Também foi adicionada uma testemunha sem aplicação de fungicida (T10).

Considerando-se os oito tratamentos (T1 a T8), onde foi utilizado o fungicida prothioconazol + trifloxistrobina (produto comercial Fox® - 0,4 L ha<sup>-1</sup>), em quatro deles (T1 a T4) foi adicionado à calda de pulverização o adjuvante à base de óleo vegetal Aureo® (250 mL por 100 L de água). Para os tratamentos T5, T6, T7 e T8 foram adicionados à calda de pulverização o adjuvante Aureo® + o espalhante adesivo não-iônico a base de silicone Break-Thru® (100 mL por 100 L de água). Do tratamento 1 ao 8, foram testadas quatro diferentes pontas/bicos de pulverização com taxa de aplicação (L ha<sup>-1</sup>) e pressão (kPa), fixas, sendo respectivamente de 200 L ha<sup>-1</sup> e 200 kPa. O tratamento nove (T9) constou da pulverização do fungicida mancozebe (produto comercial Unizeb Gold® - 2,5 kg ha<sup>-1</sup>) combinado ao espalhante adesivo não-iônico a base de silicone Break-Thru® (100 mL por 100 L de água) e ao adesivante a base de látex sintético (produto comercial Grip® - 1,0 L ha<sup>-1</sup>) por meio da ponta de pulverização TJ 60 11002 com taxa de aplicação de 200 L ha<sup>-1</sup> e pressão de 200 kPa (Tabela1).



Tabela 1. Tratamentos fungicidas, características das pontas de pulverização e variáveis da pulverização. Passo Fundo - RS, 2019.

Tratamento	Bico / Ponta	Forma do jato	Ângulo entre jatos	Categoria da gota ASABE*
T1. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo	Teejet Duo + duas pontas XR 11001 45° p/frente e 45° p/trás	plano de uso estendido	90°	Fina
T2. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo	Teejet Duo + TT 11001 (F) + XR 11001 (T)	plano defletor	105°	Média
T3. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo	TJ60 11002	plano duplo	60°	Fina
T4. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo	XR 11002	Plano	---	Fina
T5. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break Thru	Teejet Duo + duas pontas XR 11001 45° p/frente e 45° p/trás	plano de uso estendido	90°	Fina
T6. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break Thru	Teejet Duo + TT 11001 (F) + XR 11001 (T)	plano defletor	105°	Média
T7. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break Thru	TJ60 11002	plano duplo	60°	Fina
T8. protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break Thru	XR 11002	Plano	---	Fina
T9. mancozebe + Break Thru + Grip	TJ60 11002	plano duplo	60°	Fina

\*Segundo informações do fabricante, com base na Norma ASABE S572.1 (ASABE, 2009)

(F) jato plano direcionado para frente formando ângulo de 60° com a vertical

(T) jato plano direcionado para trás formando ângulo de 45° com a vertical

### **5.3.1 Experimento em casa-de-vegetação**

Todas as atividades realizadas nesse experimento foram conduzidas nas instalações da Embrapa Trigo. No Laboratório de Fitopatologia foram feitas as repicagens das colônias do fungo, meios de cultura, preparo do inóculo e avaliações da reação dos genótipos quanto à brusone. Em casa-de-vegetação foram realizadas, a semeadura e os tratos culturais. Em câmara com ambiente controlado as plantas foram inoculadas e mantidas por sete dias até as avaliações.

### **5.3.2 Cultivo das plantas, confecção dos alvos artificiais e aplicação dos tratamentos**

Para a realização do experimento foi escolhida a cultivar de trigo BRS 220, pois quando submetida à infecção de diferentes isolados de *M. oryzae* do trigo no estágio de planta adulta (espiga) apresentou-se altamente suscetível á brusone (CRUZ et al., 2009).

Foram semeados 100 baldes com capacidade de 8,0 L e diâmetro de 0,22 m, contendo solo peneirado e corrigido quimicamente. Após a emergência, foi realizado o raleio, onde foram mantidas cinco plantas por balde. Foi utilizada uma solução nutritiva para o fornecimento dos macronutrientes essenciais à cultura, N, P, K, diluindo-se 100 g de ureia (45,5% N) e 500 g da formulação N-P-K (00-25-20) em 20 L de água, sendo aplicada em três estádios distintos do desenvolvimento da cultura, na emissão da terceira, quinta, e sétima folha expandida. As plantas foram conduzidas em casa-de-vegetação até o espigamento.

Cada um dos tratamentos avaliados e a testemunha, constaram de 10 baldes com cinco plantas cada, sendo que, cada balde foi considerado uma repetição. As aplicações de fungicidas foram efetuadas com pulverizador costal, pressurizado com gás CO<sub>2</sub>. A barra de pulverização portava três pontas funcionais com espaçamento de 0,5 m e foi conduzida à altura de 0,5 m acima do alvo. O volume de calda, pressão e velocidade de deslocamento foram mantidos constantes em, 200 L ha<sup>-1</sup>, 200 kPa e 4,0 km h<sup>-1</sup>. No momento da aplicação dos tratamentos, a velocidade do vento variou de 0 a 6 km h<sup>-1</sup>, a temperatura do ar de 24 a 26 °C e a umidade relativa do ar de 70 a 78%.

Para avaliar a cobertura do alvo foram simuladas espigas de trigo utilizando cilindros feitos com tubos de PVC (poli cloreto de vinila) com borracha nitrílica e posicionadas dentro de cada balde na mesma altura das espigas reais. Os tubos com 1,6 cm de diâmetro foram cortados em segmentos de 8,0 cm de comprimento e posicionados na vertical nas extremidades apicais de estacas de aço (arames) com diâmetro de 1,5 mm (Figura 1A). Cada cilindro foi envolvido com dois cartões sensíveis a água (76 mm x 26 mm) (Figura 1B), totalizando 90 espigas artificiais, dez para cada tratamento, pois a testemunha não recebeu fungicida. Após a aplicação dos tratamentos (Figura 1C), as plantas foram colocadas novamente em casa-de-vegetação, e as espigas artificiais (Figura 1D) foram retiradas e abrigadas em caixas de acrílico (11cm x 11cm x 2,5cm de altura) evitando o seu umedecimento.

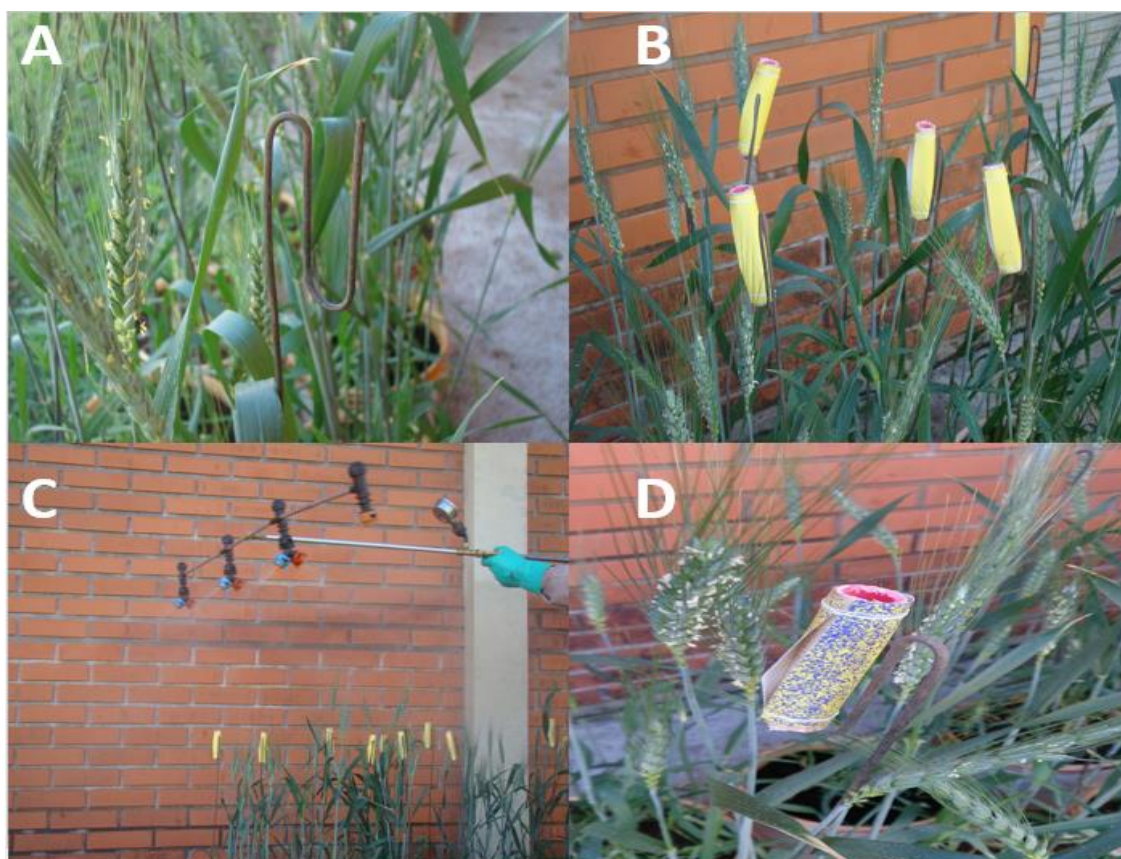


Figura 1. Extremidades apicais de estacas de aço (arames) com diâmetro de 1,5 mm (Figura 1A); Espigas artificiais cobertas por dois cartões hidrossensíveis (Figura 1B); Deposição da calda fungicida por diferentes pontas/bicos de pulverização (Figura 1C); Espigas artificiais após a aplicação dos tratamentos (Figura 1D). Passo Fundo – RS, 2019.

### 5.3.3 Inoculação

O isolado de *M. oryzae* utilizado neste trabalho foi selecionado da coleção de isolados depositados na coleção da Embrapa Trigo. Esta coleção reunida em 2012 contém isolados de diferentes regiões do Brasil. Intencionalmente, foi selecionado o isolado mais agressivo, *Py* 12.1.209. A agressividade deste isolado foi baseada na reação de susceptibilidade de cultivares de trigo à doença nos estádios de plântula e planta adulta (DANELLI, 2015). Esse isolado foi obtido de plantas de trigo sintomáticas, coletadas no município de São Borja, RS (28 41 'S, 55° 16 'W). O isolado foi cultivado em placas contendo meio aveia-ágar (farinha de aveia, 60 g L<sup>-1</sup>). Para a preparação do inóculo, as placas foram inundadas com água destilada acrescida de surfactante Tween 80® (0,01%), e um pincel foi usado para desalojar os conídios. A suspensão de conídios foi ajustada para 10<sup>5</sup> esporos mL<sup>-1</sup>.

A inoculação foi realizada no início da antese, estágio 61 da escala de Zadoks et al. (1974), com o auxílio de um atomizador manual, 24 h após a aplicação do fungicida. Após a inoculação as plantas foram mantidas por 24 horas no escuro e UR%>90. Decorridas as 24 horas, o fotoperíodo foi ajustado para 12 horas e a UR para aproximadamente 60-70%.

### 5.3.4 Avaliação das espigas sintomáticas, do espectro de pulverização e análise dos dados

O exame da reação do trigo foi feito através de duas variáveis: a severidade da doença nas espigas e o número de pontos de infecção na ráquis, avaliados 14 dias após a inoculação. Para a avaliação da severidade da doença foram considerados nove tratamentos com aplicação de fungicida e a testemunha, totalizando 30 espigas por tratamento e para a testemunha, num total de 300 espigas avaliadas. A severidade da doença – SEVE (Figura 2A) foi avaliada através da escala desenvolvida por Maciel et al. (2013), na qual foi estimada a intensidade da doença em cada espiga, através de notas visuais, que variaram de 0 a 100%. O número de pontos de infecção na ráquis – NPI (Figura 2B) foi obtido pela contagem do número de lesões identificadas após a debulha manual das espigas.

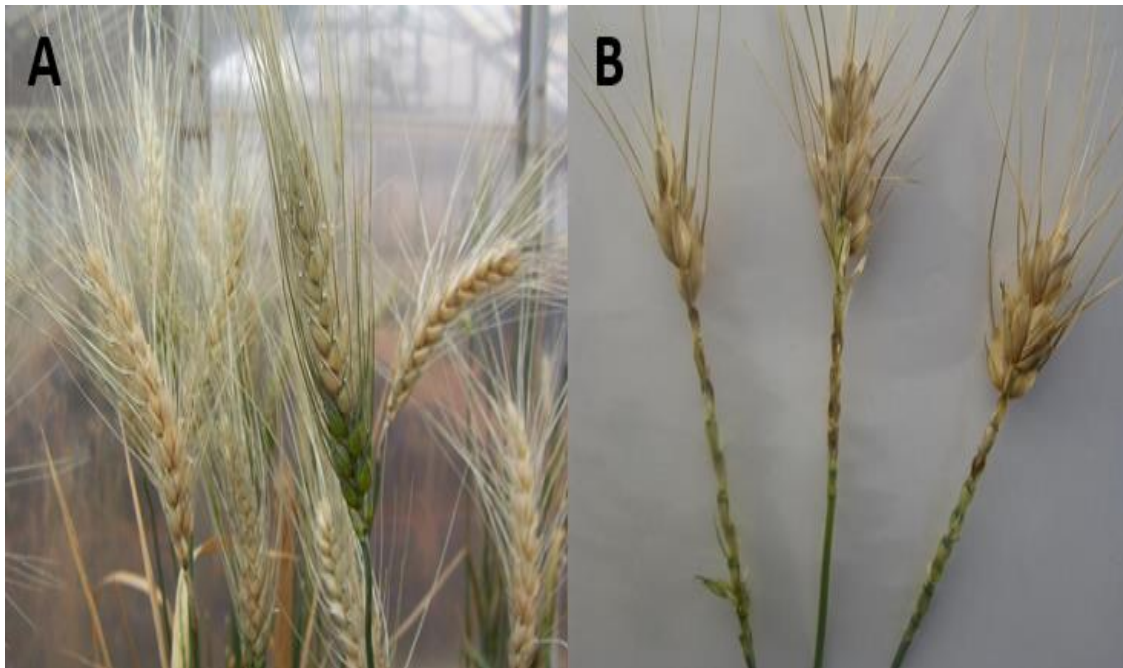


Figura 2. Espigas apresentando diferentes graus de severidade de brusone (2A); Pontos de infecção na ráquis após debulha manual das espigas (2B). Passo Fundo – RS, 2019.

A qualidade da pulverização foi medida através da digitalização de cada cartão hidrossensível em um scanner de mesa, com 1200 dpi de resolução, sendo as imagens processadas com auxílio do software CIR 1.5® (3A). Foram digitalizados 20 cartões hidrossensíveis para cada um tratamentos, pois cada uma das dez espigas artificiais utilizadas em cada tratamento foi envolta por dois cartões hidrossensíveis, num total de 180. As seguintes variáveis foram avaliadas:  $DV_{01}$  – diâmetro de gota tal que 10% do volume do líquido pulverizado é constituído de gotas de tamanho menor que esse valor;  $DV_{05}$  – diâmetro de gota tal que 50% do volume do líquido pulverizado é constituído de gotas de tamanho menor que esse valor, também conhecido como diâmetro mediano volumétrico (DMV);  $DV_{09}$  – diâmetro de gota tal que 90% do volume do líquido pulverizado é constituído de gotas de tamanho menor que esse valor; DMN - o diâmetro da mediana numérica; NICM2 - número de impactos por centímetro quadrado; ACPERC- área total do cartão coberta com a pulverização (3B).

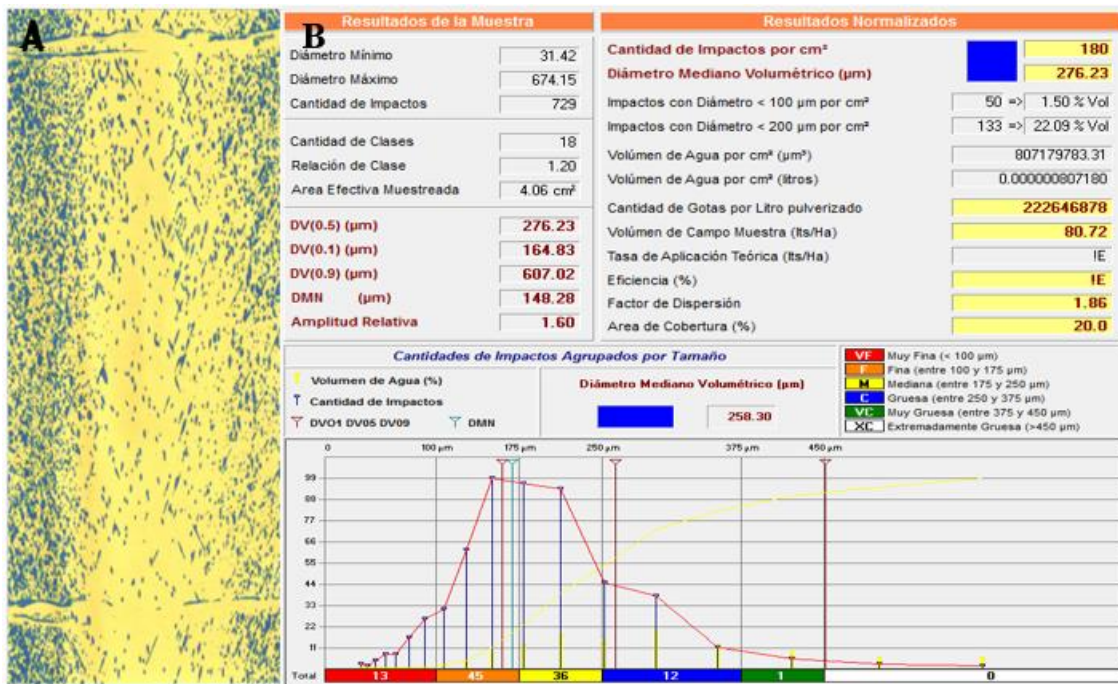


Figura 3. Cartão hidrossensível digitalizado com uma resolução de 1.200 dpi pelo uso de um escâner de mesa (3A); Informações sobre a qualidade de pulverização geradas pelo software CIR 1.5® (3B). Passo Fundo – RS, 2019.

### 5.3.5 Experimento de campo

O experimento foi realizado na área experimental pertencente à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (28° 15' 46" S - 52° 24' 25" W), altitude de 687 m, num Latossolo Vermelho distrófico húmico (STRECK et al., 2008). O clima da região, segundo a classificação de Köppen é subtropical úmido, tendo como características a ocorrência de chuvas durante todos os meses do ano, com média anual de precipitação de 1.787 mm ano<sup>-1</sup>, com tendência de maiores precipitações nas estações do outono e inverno (EMBRAPA, 2006).

### 5.3.6 Semeadura, tratos culturais e aplicação dos tratamentos

A exemplo do experimento em casa-de-vegetação, foi utilizado o genótipo BRS 220. A semeadura foi realizada em 08/02/2017, e a emergência de plantas ocorreu em 15/02/2017. A tomada de decisão para realização da semeadura fora do período recomendado pelo Zoneamento Agrícola (2017) para a região Norte do Rio Grande do

Sul foi baseada no possível risco de ocorrência de brusone no espigamento do trigo, conforme o modelo de predição da doença gerado pelo software SISALERT (Figura 4). O início do espigamento ocorreu em 05/05/2017.

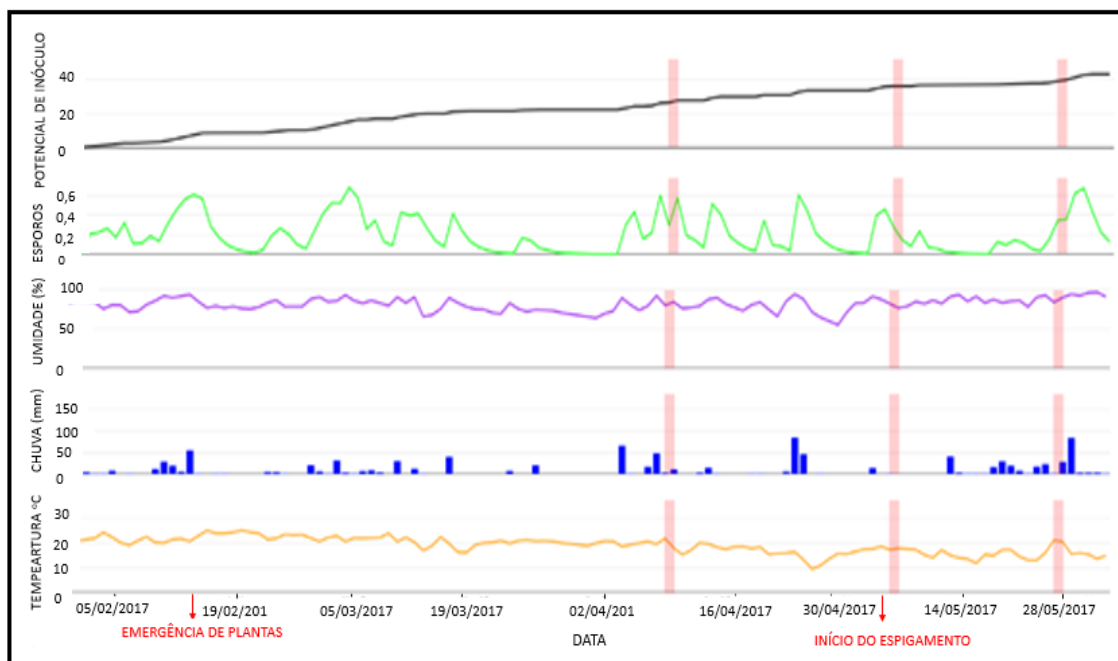


Figura 4. Ferramenta de avaliação de risco de ocorrência de epidemias de brusone. Adaptada de: SISALERT, 2017 <http://dev.sisalert.com.br/shiny/wheatblast/>

Para a semeadura utilizou-se uma semeadora-adubadora com abridores de sulcos por discos duplos desencontrados, apoiados por um par de rodas calibradoras de profundidade para a deposição dos fertilizantes e para a deposição das sementes. Estas foram ajustadas para operar a 0,03m de profundidade e seu espaçamento entrelinhas foi de 0,17 m, distribuindo-se 350 sementes viáveis por metro quadrado. Cada parcela media 5,0m de comprimento x 1,5m de largura, totalizando 7,5m<sup>2</sup>.

A adubação de base, na semeadura, foi realizada com 300 kg ha<sup>-1</sup> da formulação 10-20-20 (N-P-K). A adubação de cobertura foi aplicada 35 dias após a emergência (DAE), na dose de 200 kg ha<sup>-1</sup> de ureia (45,5 % N), conforme a análise de solo e a recomendação para a cultura nesta fase. O controle de plantas daninhas foi realizado aos quinze dias que antecederam a semeadura, utilizando-se o herbicida glifosato (720 g e. a. ha<sup>-1</sup>) e, em pós-emergência, com o herbicida metsulfurom metílico (4,0 g i. a. ha<sup>-1</sup>).

Lagartas e pulgões foram controlados com inseticida imidacloprida + beta-ciflutrina (40 + 5 g i. a. ha<sup>-1</sup>).

As aplicações foram efetuadas no início da antese, estágio 61 da escala de Zadoks et al. (1974), com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado com gás CO<sub>2</sub>. A barra de pulverização portava três pontas funcionais com espaçamento de 0,5 m e foi conduzida à altura de 0,5 m acima do alvo. O volume de calda, pressão e velocidade de deslocamento foram mantidos constantes em, 200 L ha<sup>-1</sup>, 200 kPa, 4,0 km h<sup>-1</sup>. Durante as aplicações monitorou-se as condições ambientais com um termo-higroanemômetro (Kestrel 3000®). Os valores médios obtidos para velocidade do vento, temperatura, e umidade relativa do ar (UR), foram respectivamente de: 3,6 km h<sup>-1</sup>, 22,1 °C, e 77%.

### **5.3.7 Avaliação das espigas sintomáticas**

Aos 14 dias após a aplicação dos tratamentos fungicidas foram avaliadas a incidência e a severidade da doença. Foram considerados nove tratamentos e a testemunha, num total de 600 espigas avaliadas. Foram avaliadas 60 espigas por tratamento e para a testemunha, coletadas aleatoriamente em 1,0 m<sup>2</sup> de cada parcela. A incidência – INC foi determinada pelo número de espigas apresentando sintomas da doença, expressa em porcentagem. A severidade da doença – SEVE foi avaliada através da escala desenvolvida por Maciel et al. (2013), na qual foi estimada a intensidade da doença em cada espiga, através de notas visuais, que variaram de 0 a 100%.

### **5.3.8 Análise estatística**

Os experimentos foram analisados em esquema fatorial 4x2, sendo as pontas/bicos de pulverização o fator 1 e os adjuvantes o fator 2. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, sendo também realizada a análise de correlação de Pearson para cada par de variáveis estudadas.



## 5.4 Resultados e Discussão

A qualidade da pulverização no experimento realizado em casa-de-vegetação é observada na Figura 5, onde cada cartão hidrossensível representa um dos tratamentos avaliados. Com base na análise dos cartões, obteve-se as informações de cada tratamento para as seguintes variáveis: DV<sub>01</sub>, DV<sub>05</sub>, DV<sub>09</sub>, DMN, NICM2 e ACPERC. Dentre as variáveis avaliadas, somente DV<sub>01</sub>, DMN e NICM2 apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. As avaliações referentes as variáveis biológicas, SEVE e NPI, não fizeram parte do grupo variáveis avaliadas quanto a qualidade da pulverização, mas ambas foram estatisticamente significativas.

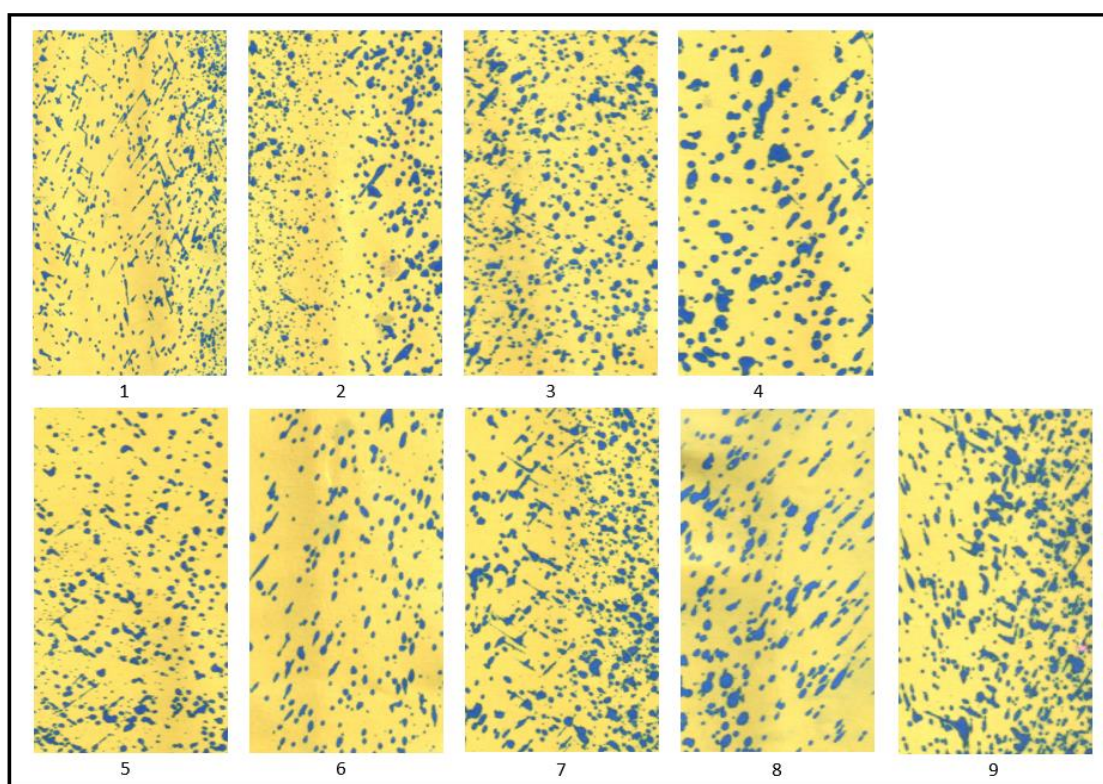


Figura 5. Imagens de cartões sensíveis à água posicionados verticalmente em espigas artificiais no dossel da cultura do trigo, ilustrando a qualidade de pulverização obtida com a utilização de diferentes pontas/bicos de pulverização. Passo Fundo – RS, 2019.

1: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; 2: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + TT 11001 + XR 11001 (T) – 105°; 3: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – ponta: TJ60 11002 – 60°; 4: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – ponta: XR11002 – 110°; 5: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo+ Break-Thru – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; 6: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – bico: Teejet Duo + TT 11001 (F) + XR 11001 (T) -105°; 7: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: TJ60 11002 – 60°; 8: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: XR11002 – 110°; 9: mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 11002 - 60°.

A análise da ANOVA fatorial para o experimento conduzido em casa-de-vegetação demonstrou haver respostas significativas aos adjuvantes utilizados apenas para as variáveis DV<sub>01</sub>, DMN e NICM2. Também indicou não haver existência de interações significativas entre as pontas/bicos de pulverização e o uso de adjuvantes. Isso quer dizer que a ação dos adjuvantes foi independente das pontas/bicos de pulverização utilizados, indicando que estes não foram influenciados diferentemente pelo tipo de pontas/bicos de pulverização utilizados nesse trabalho. Da mesma forma, não houve diferenças significativas entre os blocos e os tratamentos indicando ausência de efeito destes sobre os caracteres avaliados (Tabela 2).

A adição dos adjuvantes Aureo® e Break-Thru® na calda de pulverização inteferiu significativamente nas variáveis DV<sub>01</sub>, DMN e NICM2, concordando com os relatos de Baio et al. (2015), que os adjuvantes com função de espalhante reduzem a tensão superficial fazendo com que ocorra a diminuição do tamanho das gotas. O adjuvante Break-Thru® proporcionou a redução significativa da tensão superficial, gerando maior espalhamento da calda sobre a superfície foliar. Segundo Nascimento et al. (2012) o adjuvante Aureo® proporcionou os menores valores de DMN, DMV, volume recuperado e área coberta.

Tabela 2. Resumo da ANOVA fatorial, quadrados médios, para diâmetro volumétrico de 10% (DV01), diâmetro volumétrico de 50% (DV05), diâmetro volumétrico de 90% (DV09), número de impactos por cm<sup>2</sup> (NICM2) e área total do cartão coberta com a pulverização (ACPERC). Passo Fundo – RS, 2019.

Fontes de Variação	GL	DV <sub>01</sub> (µm)	DV <sub>05</sub> (µm)	DV <sub>09</sub> (µm)	DMN (µm)	NICM2	ACPERC (%)
Bloco	2	9,4 <sup>NS</sup>	888,8 <sup>NS</sup>	4838,1 <sup>NS</sup>	49,5 <sup>NS</sup>	121,7 <sup>NS</sup>	6,1 <sup>NS</sup>
Tratamento	7	581,1 <sup>NS</sup>	6487,6 <sup>NS</sup>	15879,1 <sup>NS</sup>	648,0 <sup>NS</sup>	3078,3 <sup>NS</sup>	6,6 <sup>NS</sup>
Ponta/Bico	3	704,7 <sup>NS</sup>	7070,2 <sup>NS</sup>	20817,5 <sup>NS</sup>	548,3 <sup>NS</sup>	2149,4 <sup>NS</sup>	0,2 <sup>NS</sup>
Adjuvante	1	468,2*	6125,0 <sup>NS</sup>	5008,4 <sup>NS</sup>	1025,7*	4285,3*	2,0 <sup>NS</sup>
Pont/Bic. x Adjv.	3	495,2 <sup>NS</sup>	6026,5 <sup>NS</sup>	14564,4 <sup>NS</sup>	621,8 <sup>NS</sup>	3604,8 <sup>NS</sup>	13,5 <sup>NS</sup>
Resíduo	14	59,3	2686,8	2539,1	37,1	201,4	2,3
Total	23	--	--	--	--	--	--
CV (%)		4,6	15,2	8,6	4,5	9,3	9,3

<sup>NS</sup>Efeito não significativo pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

\*Efeitos significativos pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

A análise de variância (ANOVA) revelou diferença significativa entre os tratamentos para todas as variáveis de pulverização avaliadas no experimento em casa-de-vegetação. Por outro lado, não houve diferenças significativas entre os blocos indicando ausência de efeito deste sobre os caracteres avaliados (Tabela 3).

Tabela 3. Resumo da análise da variância (ANOVA), quadrados médios, para diâmetro volumétrico de 10% (DV01), diâmetro volumétrico de 50% (DV05), diâmetro volumétrico de 90% (DV09), número de impactos por cm<sup>2</sup> (NICM2) e área total do cartão coberta com a pulverização (ACPERC). Passo Fundo – RS, 2019.

Fontes de Variação	GL	DV <sub>01</sub> (µm)	DV <sub>05</sub> (µm)	DV <sub>09</sub> (µm)	DMN (µm)	NICM2	ACPERC (%)
Bloco	2	2,7 <sup>NS</sup>	871,4 <sup>NS</sup>	5059,0 <sup>NS</sup>	12,21 <sup>NS</sup>	0,3 <sup>NS</sup>	2,9 <sup>NS</sup>
Tratamento	8	896,4*	7969,5*	21228,9*	633,3*	2896,2*	9,8*
Resíduo	16	68,8	2355,6	2239,7	77,6	299,4	1,7
Total	26	--	--	--	--	--	--
CV (%)		5,2	14,6	8,3	6,6	11,2	8,1

<sup>NS</sup>Efeito não significativo pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

\*Efeitos significativos pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

Verifica-se, pelos dados médios encontrados na Tabela 4, que os tratamentos T6, T1, T2 e T4 apresentaram as maiores médias para a variável DV<sub>01</sub> sem diferir estatisticamente entre si. Os valores de DV<sub>01</sub> para esses tratamentos foram respectivamente de 188,0, 181,0, 180,4 e 176,0µm. Os tratamentos T3, T7 e T8 diferiram estatisticamente dos tratamentos supracitados, no entanto, os tratamentos T9 e T5 foram os que apresentaram as menores médias de DV<sub>01</sub> (135,0 e 148,1µm), não diferindo estatisticamente entre si, mas dos demais tratamentos avaliados. No tratamento T5 (protioconazol+trifloxistrobina + Aureo+ Break-Thru – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás), a adição à calda de pulverização do espalhante adesivo não-iônico a base de silicone Break Thru<sup>®</sup> reduziu o tamanho de gotas, efeito semelhante aquele produzido pelo tratamento T9 (mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 11002 - 60°), onde além do espalhante adesivo foi adicionado o adesivante Grip<sup>®</sup>, fazendo com que as gotas de menor tamanho fossem perdidas em função da deriva. De acordo com Cunha et al. (2007) aplicações com gotas

de tamanho próximo ou menores que 100 micrometros apresentam elevado potencial de deriva, sendo quase totalmente perdidas em aplicações com condições climáticas inadequadas. Resultados de experimentos conduzidos por Bueno et al. (2013) demonstraram que a adição de adjuvante à calda de pulverização reduz o diâmetro da mediana volumétrica das gotas pulverizadas.

A exemplo da variável DV<sub>01</sub>, observa-se, pelos dados médios encontrados na Tabela 4, que para a variável DV<sub>05</sub> os tratamentos T9 e T5 também apresentaram as menores médias de diâmetro de gotas, 258,2 e 277,1µm, respectivamente, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Os tratamentos T4, T6, T3 e T8 apresentaram as maiores médias de diâmetro de gotas, sendo respectivamente de 415,1, 384,0, 364,0 e 349,4µm, e não diferiram estatisticamente entre si. Os resultados desse experimento concordam com aqueles encontrados por Martini et al. (2015) que observaram que a aplicação com Break-Thru<sup>®</sup> não diferiu estatisticamente da aplicação sem adjuvante, porém reduziu a densidade de gotas coletadas. Resultado semelhante foi obtido por Cunha et al. (2003), que avaliaram a densidade de gotas coletadas em papéis hidrossensíveis, para diferentes pontas de pulverização, com a utilização de óleo vegetal, e concluíram que houve redução significativa na densidade de gotas, em comparação à utilização da mesma ponta sem adição de adjuvante.

Para a variável DV<sub>09</sub>, a exemplo das variáveis DV<sub>01</sub> e DV<sub>05</sub>, os tratamentos T9 e T5 também apresentaram as menores médias de diâmetro de gotas, 435,5 e 471,0µm, respectivamente, não diferindo do tratamento T7 (514,2µm). Os tratamentos T5, T7 e T9 diferiram estatisticamente de todos os demais tratamentos avaliados. Ainda, para a variável DV<sub>09</sub>, o tratamento T6 (protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – bico: Teejet Duo + TT 11001 (F) + XR 11001 (T) -105°) apresentou a maior média de diâmetro de gotas (471,0µm) diferindo de todos os tratamentos avaliados (Tabela 4). Os resultados obtidos nesse experimento corroboram com aqueles encontrados por Bonfada (2018) que avaliou diferentes pontas de pulverização, entre estas jatos planos duplos e triplos, e verificou um maior DMV quando utilizada a ponta de pulverização Teejet Duo + TT 11001 p/ frente + XR 11001 p/ trás.

Os tratamentos T1 (protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás) e T2 (protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + TT 11001 + XR 11001 (T) -105°) apresentaram as menores médias de diâmetro de gotas para a variável DMN, 115,0 e 120,0µm, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si, mas dos demais tratamentos avaliados (Tabela 4). Os menores valores para DMN encontrados em ambos os tratamentos pode ser explicado pela adição do adjuvante Aureo® à calda de pulverização, o que corrobora com os resultados encontrados por Nascimento et al. (2012), que avaliaram seis diferentes adjuvantes adicionados a calda de pulverização, e encontraram o menor valor de DMN no tratamento com o óleo vegetal Aureo®, que não diferiu da testemunha.

Na Tabela 4, as médias dos tratamentos para a variável NICM2 mostram haver diferença significativa para os tratamentos T5, T8 e T9 quando comparado aos demais tratamentos avaliados. Os três tratamentos não diferiram entre si e apresentaram as maiores médias, sendo respectivamente de 191,1, 186,6 e 174,3µm. Em T5, T8 e T9 foi adicionado a calda de pulverização o adjuvante Break-Thru® o que acarretou na redução do diâmetro das gotas produzidas, e conseqüentemente num maior número de impactos por cm<sup>2</sup>, concordando com os relatos de Cross et al. (2001), que com a obtenção de gotas de diâmetro pequeno, tem-se como consequência uma maior densidade de gotas depositada sobre o alvo, para um mesmo volume de aplicação. Considerando-se que nesse experimento foram utilizadas as pontas de pulverização XR 11002 no T8 e TJ60 11002 no T9, os resultados obtidos se assemelham aqueles encontrados por Gulart et al. (2013) que ao avaliarem a densidade de gotas no terço médio das plantas de trigo, verificaram que as maiores densidades de gotas depositadas foram obtidas com a utilização das pontas XR 11002 e TJ60 11002.

Para a variável ACPERC não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados (Tabela 4). O tratamento T6 apresentou a maior porcentagem de área coberta do cartão com a pulverização (17,9%) entre todos os tratamentos avaliados, ao passo que, o tratamento T9 apresentou a menor média de cobertura (16,3%). A ausência de diferença significativa entre os tratamentos avaliados pode ser explicada pela dificuldade de cobertura da espiga, pois trata-se de um alvo tridimensional, concordando com os relatos de Reis et al. (2013), que o jato da calda não atinge as laterais da espiga.

Tabela 4. Resultado da análise de imagens de cartões sensíveis à água posicionados verticalmente em espigas artificiais no dossel da cultura do trigo, quanto a qualidade de pulverização obtida com a utilização quatro diferentes pontas/bicos de pulverização e dois adjuvantes. Passo Fundo – RS, 2019.

Tratamento**	DV <sub>01</sub> ( $\mu$ m)	DV <sub>05</sub> ( $\mu$ m)	DV <sub>09</sub> ( $\mu$ m)	DMN( $\mu$ m)	NICM2	ACPERC(%)
T1.P+T + Aureo	181,0a	328,0b	584,1b	115,0c	123,0b	16,6a
T2.P+T + Aureo	180,4a	322,0b	601,3b	120,0c	106,3b	16,4a
T3. P+T + Aureo	157,1b	364,0a	579,4b	133,2b	137,0b	17,6a
T4. P+T + Aureo	176,0a	415,1a	628,4b	150,2a	149,0b	16,7a
T5. P+T + Aureo + Break Thru	148,1c	277,1b	471,0c	131,4b	191,1a	16,6a
T6. P+T + Aureo + Break Thru	188,0a	384,0a	715,0a	157,7a	143,4b	18,7a
T7. P+T + Aureo + Break Thru	160,3b	290,2b	514,2c	134,0b	144,1b	16,5a
T8. P+T + Aureo + Break Thru	163,0b	349,4a	578,0b	137,0b	186,6a	17,9a
T9. mancozebe+ BreakThru + Grip	135,0c	258,2b	435,5c	135,6b	174,3a	16,3a
CV(%)	5,0	14,6	8,3	6,6	11,1	8,1

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.

\*\*T1:protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; T2: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + TT 11001 + XR 11001 (T) – 105°; T3: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – ponta: TJ60 11002 – 60°; T4: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – ponta: XR11002 – 110°; T5: 5: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo+ Break-Thru – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; T6: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – bico: Teejet Duo + TT 11001 (F) + XR 11001 (T) -105°; T7: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: TJ60 11002 – 60°;T 8: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: XR11002 – 110°; T9: mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 11002 - 60°.



Para as variáveis referentes a doença, SEVE e NPI, a análise de variância (ANOVA) revelou diferenças significativas entre os tratamentos para ambas as variáveis estudadas no experimento em casa-de-vegetação. Por outro lado, não houve diferenças significativas entre os blocos indicando ausência de efeito deste sobre as variáveis avaliadas (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise da variância (ANOVA), quadrados médios, para severidade da doença (SEVE) e número de pontos de infecção (NPI). Passo Fundo – RS, 2019.

Fontes de variação	GL	SEVE(%)	NPI
Bloco	2	57,3 <sup>NS</sup>	0,1 <sup>NS</sup>
Tratamento	9	1285,0*	15,4*
Resíduo	18	55,8	0,8
Total	29	--	--
CV (%)	--	18,3	20,7

<sup>NS</sup>Efeito não significativo pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

\*Efeitos significativos pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

Observa-se, pelos dados médios encontrados na Tabela 6, que o tratamento T9 (mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 11002- 60°) diferiu estatisticamente de todos os tratamentos avaliados e da testemunha. A severidade média para o T9 e a testemunha foram respectivamente de 4,8 e 82,8%. A maior eficiência do tratamento T9 pode ser atribuída ao uso do fungicida mancozebe e do adjuvante a base de látex Grip®. Santana et al. (2014) testaram diferentes misturas fungicida para o controle da brusone do trigo e verificaram que a adição do fungicida mancozebe a calda de pulverização promoveu um controle superior. De acordo com Pizolotto et al. (2018) o Grip® tem a função de auxiliar na fixação do produto aplicado, evitando o seu escorrimento, aumentando a eficácia do fungicida aplicado. Brustolin et al. (2005) avaliam diferentes pontas de pulverização em aplicações de fungicida em trigo e verificaram que a aplicação com a ponta TJ60 11002, mostrou-se a mais eficaz na cobertura da superfície das espigas.

A exemplo do que foi observado para a variável SEVE, o tratamento T9 diferiu estatisticamente dos demais tratamentos avaliados e da testemunha para a variável NPI.

As médias de número pontos de infecção na ráquis para o T9 e testemunha foram respectivamente de 1,0 e 9,1 (Tabela 6). A menor média para NPI encontrada em T9, muito provavelmente se deve a utilização do fungicida mancozebe combinado ao adjuvante a base de látex Grip<sup>®</sup>. De acordo Ruden et al. (2007) a cobertura deficiente da ráquis pode ser uma das principais causas da eficácia geralmente baixa verificada em muitos ensaios com fungicidas. Considerando-se que a entrada do patógeno ocorre na ráquis, a utilização do Grip<sup>®</sup> pode ter ajudado na aderência do fungicida à raquis, evitando seu escorrimento, fazendo com que houvesse uma maior ação protetiva, reduzindo o número de pontos de infecção da doença.

Tabela 6. Médias de severidade da brusone (SEVE) e número de pontos de infecção na ráquis (NPI) em resposta ao controle químico por meio de quatro diferentes pontas/bicos de pulverização e dois adjuvantes. Passo Fundo – RS, 2019.

Tratamento**	SEVE (%)	NPI
T1. P+T + Aureo	55,0b	5,9b
T2. P+T + Aureo	52,0b	5,5b
T3. P+T + Aureo	46,3b	5,1b
T4. P+T + Aureo	44,0b	3,7c
T5. P+T + Aureo + Break Thru	34,5c	3,9c
T6. P+T + Aureo + Break Thru	33,6c	4,9b
T7. P+T+ Aureo + Break Thru	28,5c	2,8c
T8. P+T + Aureo + Break Thru	27,0c	2,3d
T9. Mancozebe+ BreakThru + Grip	4,8d	1,0e
T10. Testemunha	82,8a	9,1a
CV(%)	18,3	20,7

\*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.

\*\*T1: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; T2: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + TT 11001 + XR 11001 (T) – 105°; T3: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – ponta: TJ60 11002 – 60°; T4: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – ponta: XR11002 – 110°; T5: 5: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo+ Break-Thru – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; T6: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – bico: Teejet Duo + TT 11001 (F) + XR 11001 (T) - 105°; T7: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: TJ60 11002 – 60°; T 8: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: XR11002 – 110°; T9: mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 11002 - 60°.

Com base na análise da Figura 6, referente ao experimento em casa-de-vegetação, onde se estabeleceu a correlação entre as variáveis relativas a qualidade da pulverização e aquelas variáveis avaliadas quanto a doença, para todos os tratamentos, exceto a testemunha, verificou-se que para a variável  $DV_{01}$  houve forte correlação com as variáveis  $DV_{05}$  ( $r=0,835$ ),  $DV_{09}$  ( $r=0,733$ ) e  $DMN$  ( $r=0,741$ ), mostrando uma forte associação entre  $DMV$  e  $DMN$ , caracterizando a uniformidade do conjunto de gotas pulverizadas. A correlação entre  $DV_{01}$  e a variável  $ACPERC$  foi considerada moderada ( $r=0,604$ ), indicando haver associação entre o tamanho das gotas, pelo qual 10% do volume pulverizado é constituído por gotas com diâmetro menor ou igual a seu valor com a área total do cartão coberta com a pulverização. Em contrapartida, foi observada correlação negativa moderada ( $r= -0,694$ ) entre  $DV_{01}$  e a variável  $NICM2$ , indicando não haver associação entre o tamanho médio de gotas encontrados em  $DV_{01}$  e o número de impactos por  $cm^2$ . A correlação entre  $DV_{01}$  e as variáveis biológicas  $SEVE$  e  $NPI$  foi considerada desprezível, muito provavelmente porque médias de  $DMV$  inferiores a 250  $\mu m$  indicam risco de deriva, que ocorre principalmente em virtude das gotas menores que 100  $\mu m$  (CUNHA et al., 2004).

Entre as variáveis  $DV_{05}$  e  $DV_{09}$  foi observada uma correlação muito forte ( $r=0,948$ ), o que demonstra uma grande uniformidade no conjunto de gotas pulverizadas (Figura 6). A correlação entre  $DV_{05}$  com  $ACPERC$  foi considerada moderada ( $r=0,749$ ), indicando haver associação entre o tamanho das gotas, pelo qual 50% do volume pulverizado é constituído por gotas com diâmetro menor ou igual a seu valor com a área total do cartão coberta com a pulverização. A correlação entre  $DV_{05}$  com as demais variáveis relativas a qualidade da pulverização e com as variáveis biológicas  $SEVE$  e  $NPI$  foram consideradas desprezíveis (Figura 6). Para Mota (2011) o diâmetro de gotas tem grande relação com a cobertura dos alvos, quanto menor o tamanho das gotas pulverizadas, maior é a quantidade de gotas por centímetro quadrado, e consequentemente há um aumento da área coberta.

A variável  $DV_{09}$  apresentou moderada correlação ( $r=0,649$ ) com  $ACPERC$ , resultado semelhante ao observado para  $DV_{01}$  e  $DV_{05}$ , demonstrando que o  $DMV$  tem

associação direta com a área total do cartão coberta com a pulverização (Figura 6). A correlação de DV<sub>09</sub> com as variáveis da doença, SEVE e NPI, foi considerada fraca,  $r=0,315$  e  $r=0,381$ , respectivamente, mostrando uma pequena associação entre o tamanho das gotas, pelo qual 90% do volume pulverizado é constituído por gotas com diâmetro menor ou igual a seu valor com a severidade da doença nas espigas e o número de pontos de infecção na ráquis (Figura 6). De acordo com Matuo (1990) uma aplicação eficiente requer cobertura adequada da superfície-alvo, com gotas de tamanho e número apropriados, sendo que, o número de gotas está diretamente relacionado à penetração do produto, à uniformidade de distribuição e à efetividade de deposição.

A correlação entre DV<sub>09</sub> e as variáveis DMN e NICM2 foi considerada desprezível. Correlações negativas foram observadas entre DMN e NICM2 ( $r= -0,907$ ), e entre DMN e NPI ( $r= -0,425$ ) indicando não haver associação entre o diâmetro médio numérico com as variáveis número de impactos por cm<sup>2</sup> e número de pontos de infecção na ráquis (Figura 6). Segundo Antuniassi e Baio (2008) o DMV é influenciado por gotas maiores e o DMN é influenciado por gotas menores. A seleção de pontas de pulverização e adjuvantes adequados pode ser uma medida eficiente para reduzir à deriva, pela produção de gotas de maior diâmetro, menos sujeitas à deriva, aumentando o número de gotas por centímetro quadrado (COSTA et al., 2007; QUEIROZ et al., 2008).

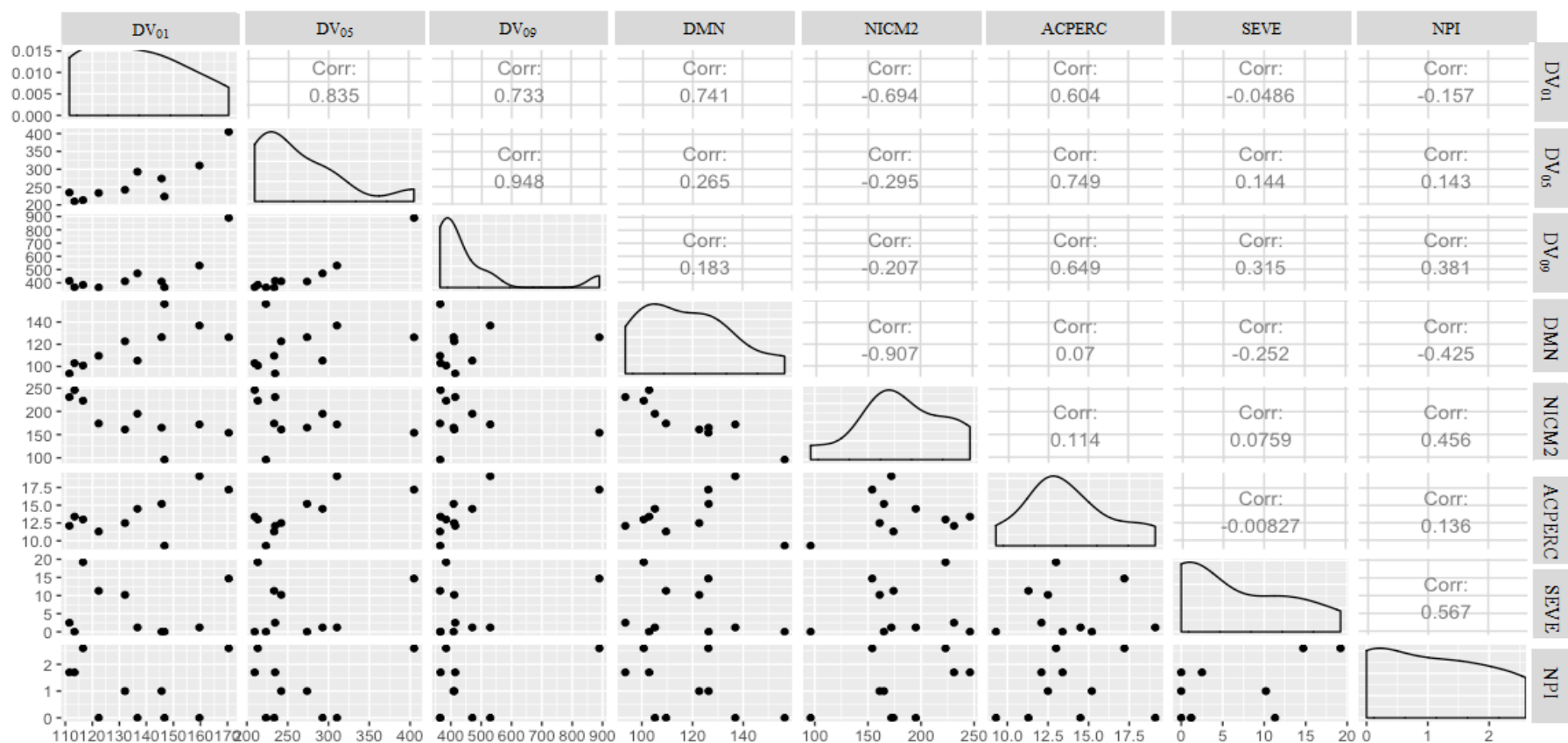


Figura 6. Matriz de correlação de Pearson que mostra o diagrama para cada par de variáveis avaliada no experimento em casa-de-vegetação. Cada diagrama mostra a relação existente entre o par de variáveis. A distribuição de cada variável é demonstrada na diagonal. Passo Fundo-RS, 2019. DV<sub>01</sub>= diâmetro de gota tal que 10% do volume do líquido pulverizado é constituído de gotas de tamanho menor que esse valor; DV<sub>05</sub>= diâmetro de gota tal que 50% do volume do líquido pulverizado é constituído de gotas de tamanho menor que esse valor; DV<sub>09</sub>= diâmetro de gota tal que 90% do volume do líquido pulverizado é constituído de gotas de tamanho menor que esse valor; DMN= diâmetro da mediana numérica; NICM2= número de impactos por cm<sup>2</sup>; ACPERC= a área total do cartão coberta com a pulverização; SEVE=severidade da doença; NPI= número de pontos de infecção da doença na ráquis.

Ainda, de acordo com a Figura 6 observa-se uma fraca correlação entre as variáveis NICM2 e NPI, evidenciando uma pequena associação entre o número de impactos por cm<sup>2</sup> e o número de pontos de infecção na ráquis, provavelmente pela dificuldade de proteção da ráquis, que é onde ocorre a penetração do patógeno. A correlação entre NICM2 com as variáveis ACPERC e SEVE foi considerada desprezível. A correlação entre ACPERC e as variáveis relacionadas a doença, SEVE e NPI, foi considerada desprezível,  $r = -0,00827$  e  $r = 0,136$ . Foi observada correlação positiva ( $r = 0,567$ ) entre as variáveis NPI e SEVE mostrando que o número de pontos de infecção na ráquis influencia na severidade da doença na espiga (Figura 6). A magnitude de proteção do fungicida varia de acordo com a cobertura e a penetração de gotas no dossel das plantas. O espectro de gotas fino proporciona boa deposição de gotas, controle da doença e produtividade (DEBORTOLI et al., 2012).

No estudo referente ao experimento de campo, para as variáveis INC e SEVE, a análise de variância (ANOVA) revelou diferença significativa entre os tratamentos para ambas as variáveis estudadas. Por outro lado, não houve diferenças significativas entre os blocos indicando ausência de efeito deste sobre as variáveis avaliadas (Tabela 7).

Tabela 7. Resumo da análise da variância (ANOVA), quadrados médios, para incidência (INC) e severidade da doença (SEVE) em condições de campo. Passo Fundo – RS, 2019.

Fontes de variação	GL	INC(%)	SEV(%)
Bloco	2	24,74 <sup>NS</sup>	77,5 <sup>NS</sup>
Tratamento	9	1014,9*	417,4*
Resíduo	18	58,6	56,9
Total	29	--	--
CV (%)	--	18,0	32,7

<sup>NS</sup>Efeito não significativo pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

\*Efeitos significativos pelo F-Teste a 5% de probabilidade de erro.

Em condições de campo, o tratamento com mancozebe (T9) apresentou a menor média (6,0%) para SEVE entre todos os tratamentos avaliados, no entanto, sem diferir dos tratamentos T5 (19,5%) T6 (18,2%), T7 (14,0%) e T8 (13,2%). A severidade média da testemunha foi igual a 48,3% (Tabela 8). A adição do fungicida mancozebe a calda de pulverização conferiu maior proteção contra a brusone, e conseqüentemente a severidade média da doença foi de duas a três vezes menor quando comparada a severidade média da doença nos tratamentos T5, T6, T7 e T8. A adição do adesivante Grip® à calda de pulverização pode ter influenciado a qualidade de cobertura da ráquis, evitando o escorrimento do produto, resultando em maior proteção contra a penetração do patógeno. Goulart et al. (1996) avaliaram a eficiência de dois fungicidas (mancozebe e tebuconazole) no controle da brusone do trigo e verificaram menor severidade da doença onde foi aplicado o fungicida mancozebe, diferindo significativamente de tebuconazole e da testemunha sem aplicação de fungicida.

Nos quatro tratamentos que não diferiram do tratamento com mancozebe (T9) foi adicionado à calda de pulverização o adjuvante Break-Thru®, que reduziu o diâmetro das gotas pulverizadas fazendo com que houvesse uma melhor cobertura das espigas e conseqüentemente da ráquis, reduzindo a severidade da doença. Baio et al. (2015) avaliaram diferentes adjuvantes e verificaram que Break-Thru® proporcionou maior redução na tensão superficial da calda e conseqüentemente maior espalhamento do produto sobre o alvo.

Tabela 8. Médias de incidência (INC) e severidade (SEVE) da brusone em condições de campo em resposta ao controle químico por meio de quatro diferentes pontas/bicos de pulverização e dois adjuvantes. Passo Fundo – RS, 2019.

Tratamento**	INC(%)	SEVE(%)
T1. P+T + Aureo	56,7b	31,0b
T2. P+T + Aureo	63,3b	27,4b
T3. P+T + Aureo	53,3b	27,7b
T4. P+T + Aureo	53,4b	25,0b
T5. P+T + Aureo + Break Thru	33,3c	19,5c
T6. P+T + Aureo + Break Thru	36,6c	18,2c
T7. P+T+ Aureo + Break Thru	26,7c	14,0c
T8. P+T + Aureo + Break Thru	20,1d	13,2c
T9. mancozebe+ BreakThru + Grip	16,7d	6,0c
T10. Testemunha	74,6a	48,3a
CV(%)	20,3	32,7

\* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5%.

\*\*T1: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; T2: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – bico: Teejet Duo + TT 11001 + XR 11001 (T) - 105°; T3: protioconazol + trifloxistrobina + Aureo – ponta: TJ60 11002 – 60°; T4: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo – ponta: XR11002 – 110°; T5: 5: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo+ Break-Thru – bico: Teejet Duo + duas pontas XR 11001 - 45° p/frente e 45° p/trás; T6: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – bico: Teejet Duo + TT 11001 (F) + XR 11001 (T) -105°; T7: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: TJ60 11002 – 60°;T 8: protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: XR11002 – 110°; T9: mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 11002 - 60°.

Para a variável INC, o tratamento T8 (protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: XR11002 – 110°) não diferiu significativamente do tratamento com mancozebe (T9). Ambos os tratamentos diferiram dos demais tratamentos avaliados e da testemunha, sendo que as médias de INC para T8 e T9 foram respectivamente de 20,1 e 16,7% (Tabela 8). A testemunha apresentou a maior média de incidência da doença (74,6%) e não diferiu dos tratamentos T1 (56,7%), T2 (63,3%) e T3 (53,3%).

Os resultados desse experimento são semelhantes aqueles encontrados por Venancio et al. (2015), que avaliaram a eficiência dos fungicidas azoxistrobina +



tebuconazol, trifloxistrobina + tebuconazol, trifloxistrobina + protioconazol, e mancozebe no controle da brusone do trigo, e verificaram que a incidência da doença foi menor no tratamento com mancozebe. Mesterházy et al. (2011) verificaram que a utilização de pontas pulverização de jato plano foram mais eficientes na redução da incidência e da severidade de giberela em trigo (*Gibberella zae*), corroborando com os resultados obtidos nesse experimento, onde o tratamento T8 (ponta de jato plano XR11002) reduziu a incidência da brusone quando comparado aos demais tratamentos e a testemunha, exceto quando comparado ao tratamento T9.

Corroborando com os resultados obtidos em casa-de-vegetação, foi encontrada correlação entre as variáveis biológicas, SEVE e INC, no experimento conduzido a campo. A forte correlação ( $r=0,804$ ) encontrada entre ambas as variáveis indica que a incidência influencia na severidade da doença nas espigas (Figura 7).

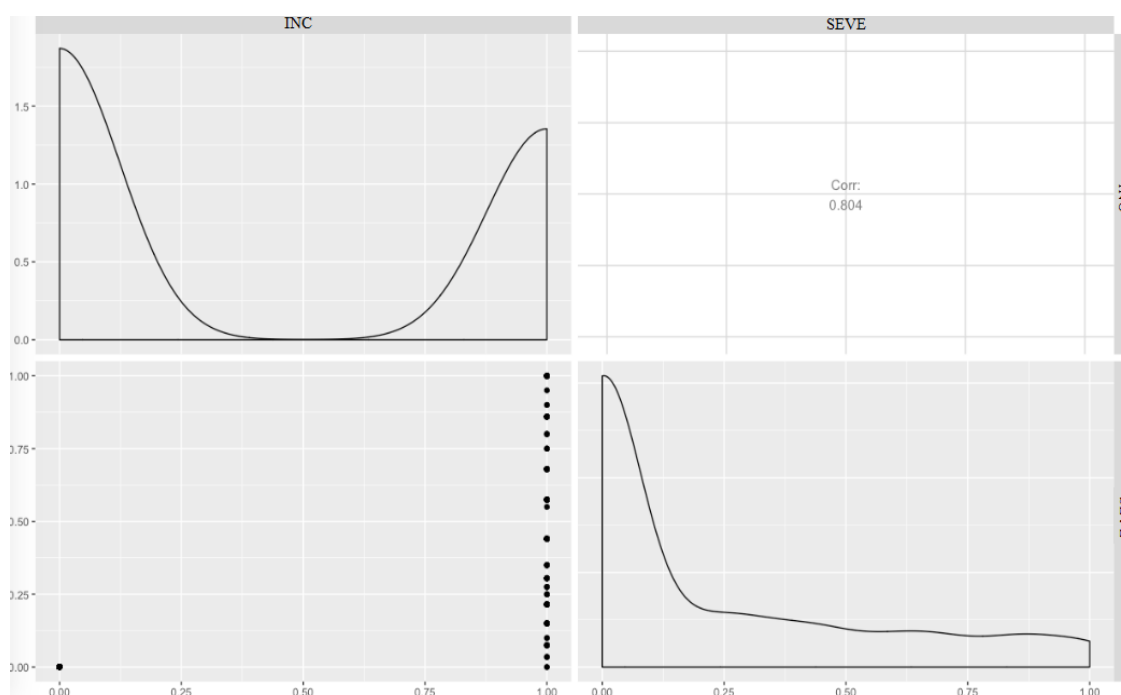


Figura 7. Matriz de correlação de Pearson que mostra o diagrama para o par de variáveis, incidência e severidade da brusone em condições de campo. Cada diagrama mostra a relação existente entre o par de variáveis. Passo Fundo-RS, 2019. INC= incidência da brusone em condições de campo; SEVE= severidade da doença em condições de campo.

Cunha e Bonaldo (2008) avaliaram a eficiência dos fungicidas epoxiconazol+piraclostrobina, tebuconazol+trifloxistrobina, e tebuconazol, na incidência e na severidade da brusone no trigo e verificaram redução na incidência e severidade da doença para os três tratamentos fungicidas quando comparado com a testemunha sem aplicação de fungicida. Goulart et al. (2007) avaliaram diferentes cultivares de trigo quanto a incidência e a severidade da brusone no trigo e verificaram relação direta entre as duas variáveis para todas as cultivares testadas.

#### **4.5 Conclusões**

a) No experimento em casa-de-vegetação a avaliação dos cartões hidrossensíveis não demonstrou haver diferença entre a qualidade de cobertura proporcionada pelas quatro diferentes pontas/bicos de pulverização, indicando que as mesmas não têm relação direta na redução da SEVE e NPI;

b) No experimento em casa-de-vegetação o tratamento T9 (mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 10002 – 60°) foi o mais eficiente na redução da SEVE e NPI;

c) Em condições de campo o tratamento com mancozebe (T9) e o tratamento T8 (protioconazol+trifloxistrobina + Aureo + Break-Thru – ponta: XR11002 – 110°) foram os mais eficientes na redução da INC;

d) Em condições de campo o tratamento com mancozebe (T9) e aqueles tratamentos com protioconazol + trifloxistrobina + Aureo<sup>®</sup> + Break-Thru<sup>®</sup> (T5, T6, T7 e T8) foram os mais eficientes na redução da SEVE.

## 6 CONCLUSÃO GERAL

Os grupos de virulência de *Magnaporthe oryzae* do trigo identificados estão amplamente distribuídos nas diferentes regiões tritícolas brasileiras. Gramíneas cultivadas e invasoras desempenham papel fundamental no desenvolvimento da brusone do trigo no campo, seja como fonte de inóculo para a doença ou sobrevivência para o patógeno, devido a sua capacidade de hospedar variantes de *M. oryzae* com características de virulência similares aos que infectam as plantas de trigo.

A avaliação de isolados de *M. oryzae* do trigo quanto à virulência gera padrões de classificação muito distintos, indicando que não há relação entre a resistência a infecções pelo patógeno em folha e espiga, mesmo que os genótipos utilizados nos dois tipos de procedimentos sejam os mesmos.

A cultivar de trigo Santa Fé apresenta um grau de resistência à brusone superior quando comparada às demais cultivares, assumindo um importante papel em relação à identificação de fatores genéticos associados à resistência à doença e no processo de geração de cultivares no Brasil. No entanto, a avaliação dos demais genótipos portadores da translocação indicou que o simples fato da presença do segmento cromossomal 2NS no genoma não necessariamente significa resistência de espiga ao patógeno. A resistência à brusone do trigo, demonstrada por genótipos que não possuem o segmento cromossomal 2NS em seu genoma, indica a necessidade de novas pesquisas relacionadas aos fatores genéticos associados a essas fontes resistência à doença.

A importância dos restos culturais como fonte de inóculo na entressafra é limitada pelas condições climáticas do local, demonstrando a importância de outros hospedeiros como fonte do inóculo primário, por exemplo, plantas daninhas da família Poaceae. Considerando-se o sistema de rotação de culturas adotado no Sul do Brasil, o trigo pode retornar a mesma área em até oito meses, demonstrando que a possibilidade de que o agente causal da brusone sobreviva em condições subtropicais de uma safra para outra em restos culturais de trigo é muito baixa. A sobrevivência máxima

observada é de cinco meses, tornando improvável que resíduos de trigo infectados com *M. oryzae* sirvam como fonte de inóculo para a brusone na próxima safra de trigo.

A avaliação dos cartões hidrossensíveis não demonstra haver diferença entre a qualidade de cobertura proporcionada pelas quatro diferentes pontas/bicos de pulverização, indicando que as mesmas não têm relação direta na redução das variáveis, severidade da brusone - SEVE e número de pontos de infecção - NPI. Em casa-de-vegetação o tratamento T9 (mancozebe + Break-Thru + Grip – ponta: TJ60 10002 – 60°) foi o mais eficiente na redução das variáveis SEVE e NPI. Em condições de campo o tratamento com mancozebe (T9) e os tratamentos com protioconazol + trifloxistrobina + Aureo<sup>®</sup> + Break-Thru<sup>®</sup> (T5, T6, T7 e T8) são os mais eficientes na redução das variáveis, incidência da brusone – INC e severidade da brusone – SEVE.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fato do patógeno possuir uma diversidade genética distribuída aleatoriamente nas regiões tritícolas brasileiras, requer avaliações contínuas do patossistema *M. oryzae*-trigo, pois o pleno êxito na geração de cultivares de trigo resistentes à brusone, passa pela identificação e monitoramento dos fatores relacionados à reação das plantas à infecção do patógeno.

A presença do segmento cromossomal 2NS no genoma não necessariamente significa resistência à brusone, indicando que os efeitos que o mesmo provoca em termos de resistência sofre a interferência de outros fatores, possivelmente de natureza genética e/ou o ambiental, demonstrando a necessidade de novas pesquisas para compreender a influência desses fatores na expressão da resistência conferida por essa translocação.

As cultivares BRS 229 e BRS 234 não são portadoras da translocação cromossomal 2NS, o que as qualifica como importantes fontes de resistência à brusone do trigo, abrindo novas perspectivas de exploração de fontes de resistência a *M. oryzae*, além da translocação 2NS/2AS.

Com base nos resultados do capítulo II, a possibilidade de que o agente causal da brusone do trigo sobreviva de um ano para outro nos restos culturais de trigo nas condições de clima do Sul do Brasil é muito baixa, tornando improvável que resíduos de trigo infectados com *M. oryzae* sirvam como fonte de inóculo para a brusone na próxima safra de trigo. No entanto, a sobrevivência do patógeno em restos culturais de trigo em outras regiões tritícolas do Brasil, como exemplo, Centro-Oeste e Sudeste, precisariam ser mais pesquisados e avaliados.

A tecnologia de aplicação empregada no controle químico da brusone no trigo requer maiores pesquisas envolvendo diferentes pontas de pulverização, volumes de calda e uso de adjuvantes visando melhorar a deposição de fungicida na ráquis, onde ocorre a penetração do patógeno. A utilização do fungicida mancozebe e do espalhante adesivo a base de silicone Break-Thru<sup>®</sup> pode proporcionar maiores taxas de controle da brusone.

## REFERÊNCIAS

- ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria do Trigo. **O trigo na história**. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br>>. Acesso em: 10 de nov. 2018.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Elsevier Academic Press, San Diego, 2004. 922 p.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. Elsevier Academic Press, New York, 2005. 922 p.
- ALBRECHT, J. C.; SILVA, M. S. e; ANDRADE, J.M.V. de; SCHEEREN, P.L. et al. **Trigo BRS 264: cultivar precoce com alto rendimento de grãos indicada para o Cerrado do Brasil Central**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006a. 18p.
- ALI, A.; BHAT, M. S. **National seminar on recent advances in plant science research**. (2003) : 12-14Oct. University of Kashmir.
- ALMEIDA, A. B.; CHAVES, M. S.; BRAMMER, S. P.; BAGGIO, M. I. Identificação de Fontes de Resistência à Ferrugem da Folha do Trigo em Acessos de *Aegilops tauschii*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 349-352, 2007.
- ALVES, K. J. P.; FERNANDES, J. M. C. Influência da temperatura e da umidade relativa do ar na esporulação de *Magnaporthe grisea* em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 579-584, 2006.
- ANDEF – Associação Nacional e Defesa Vegetal. **Manual de tecnologia de aplicação** – Campinas, São Paulo: Linea Criativa, 2004.
- ANH, V. L.; ANH, N. T.; TAGLE, A. G.; VY, T. T. P. et al. Rmg8, a new gene for resistance to *Triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* in hexaploid wheat. **Phytopathology**, v. 105, n. 12, p. 1568-1572, 2015.
- ANJOS, J. R. N. D. et al. Ocorrência de brusone (*Pyricularia grisea*) em trigo e centeio na região dos cerrados do Brasil Central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, p. 79-82, 1996.
- ANTUNIASSI, U. R. Tecnologia de aplicação: Conceitos básicos, inovações e tendências. In: TOMQUELSKI, G. V. et al. (Eds.). **Publicações Fundação Chapadão:**

**Soja e Milho 2011/2012**. 5 ed. Chapadão do Sul: Fundação Chapadão. 2012. cap. 16, p. 113-139, 2012.

ANTUNIASSI, U. R.; BAILO, F. H. R. Tecnologia de aplicação de defensivos. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Passo Fundo, Embrapa Trigo, p. 174-175, 2018.

ASABE. **Spray nozzle classification by droplet spectra**. ANSI/ASABE standard S572.1. St. Joseph, Michigan, Mar 2009.

ATKINS, J. C., ROBERT, A. L.; ADAIR, C. R. An international set of rice varieties for differentiating races of *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology**, v. 57, p. 297-301. 1967.

AZEVEDO, L. J. **Genética de microrganismos**. 2. Ed. Goiânia: Editora UFG, 2008. 536p.

BACALTCHUK, B. Desafios enfrentados pela Embrapa Trigo. In: CUNHA, G. R.; TROMBINI, M. F. **Trigo no Mercosul**: coletânea de artigos. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. p. 163-171.

BAILEY, A. G.; EIJNATTEN, C. V. Corn gray spot caused by *Pyricularia grisea*. **Phytopathology**, v. 51, n. 2, p. 197-198, 1961.

BAILO, F. H. R.; GABRIEL, R. R. F.; CAMOLESE, H. da S.; Alteração das propriedades físico-químicas na aplicação contendo adjuvantes. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v. 9, n. 2, p. 151-161, 2015.

BAREA, G.; TOLEDO, J. Identificación y zonificación de piricularia o bruzone (*Pyricularia oryzae*) en el cultivo del trigo en el dpto. de Santa Cruz. CIAT. **Informe Técnico**. Proyecto de Investigación Trigo, Santa Cruz, pp 76–86, 1996.

BARKSDALE, T. H.; ASAI, G. N. Diurnal spore release of *Pyricularia oryzae* from rice leaves. **Phytopathology**, v. 51, p. 313-317, 1961.

BARROS, B. C.; FELÍCIO, J. C.; CAMARGO, C. E. O.; FERREIRA FILHO, A. W. P. Reação de variedades de trigo à brusone em condições de campo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, p. 1-21, 1989.



BEDENDO, I. P.; PRABHU, A. S. **Doenças do arroz**. In: KIMATI, H.; A MORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). 2005. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Ceres, v. 2, cap. 12, p. 79-90, 2005.

BOARETTO, C.; BOLLER, W.; MACIEL, J. L. N.; DANELLI, A. L. D.; MACHADO, J. D. U. F.; FORCELINI, C. A. Deposição de calda em espigas artificiais por três pontas de pulverização em aplicação de fungicida para o controle da brusone do trigo. **Revista de Estudos Vale do Iguaçu**, v. 1, n. 30, p. 19-36, 2017.

BONFADA, E. B. **Giberela em trigo: controle químico e tecnologia de aplicação de fungicidas**. 2018. 102p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

BORNHOFEN, E.; TODESCHINI, M. H.; STOCO, M. G.; MADUREIRA, A. et al. Wheat yield improvements in Brazil: Roles of genetics and environment. **Crop Science**, v. 57, p. 1–12, 2018.

BRUNETTA, D.; DOTTO, S. R.; BASSOI, M. C.; MIRANDA, L. C. Características e desempenho agrônômico da cultivar de trigo BRS 229 no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 889–892, 2006.

BRUNO, A. C.; URASHIMA, A. S. Inter-relação sexual de *Magnaporthe grisea* do trigo com a brusone de outros hospedeiros. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 21-26, 2001.

BRUSTOLIN, R.; REIS, E. M.; BOLLER, W.; ZANATTA, T. et al. Técnicas de aplicação de fungicidas, associados a diferentes adjuvantes, visando a cobertura de anteras presas para o controle da giberela em trigo. **XV Mostra de Iniciação Científica da Universidade de Passo Fundo**, Passo Fundo/RS, 2005.

BUENO, M. R.; CUNHA, J. P. A.; ALVES, G. S. Deposição de calda na aplicação aérea e terrestre de fitossanitário na cultura da batata. **Engenharia Agrícola**, v. 33, n. 6, p. 1210-1222, 2013.

BUTRINOWSKI, R. T. **Novas tecnologias para o controle da giberela do trigo na safra 2014 no sudoeste do Paraná.** 2015. 49p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Tecnológica do Paraná, Pato Branco, 2015.

BVINDI, C. N. **'Host status and genetic analysis of blast (*Magnaporthe oryzae*) resistance in barley'**. Masters Thesis, Wageningen University, the Netherlands, 2010.

CABRERA, M. G.; GUTIÉRREZ, S. Primer registro de *Pyricularia grisea* en cultivos de trigo del NE de Argentina. **Jornada de Actualización en Enfermedades de Trigo.** IFSC Press, Lavallol, Buenos Aires, 2007.

CALLAWAY, E. Devastating wheat fungus appears in Asia for first time. **Nature**, v. 532, p. 421-422, 2016.

CAMARGO, C. E. O.; FERREIRA FILHO, A. W. P. São Paulo State, Brazil Wheat Pool. In: BONJEAN, A.P.; ANGUS, W.J.(Ed.). **The world wheat book: a history of wheat breeding.** Paris: Lavoisier, 2000. Cap. 21, p. 549-577.

CAMARGO, L. E. A. Controle Genético. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos.** 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011.v. 1, p. 325 – 340.

CASTROAGUDÍN, V. L. et al. Resistance to QoI fungicides is widespread in Brazilian populations of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 104, p. 284–294, 2015.

CASTROAGUDÍN, V. L.; MOREIRA, S. I.; PEREIRA, D. A. S.; MOREIRA, S. S. et al. Wheat blast disease caused by *Pyricularia graminis-tritici* sp. nov. **Persoonia**, v. 37, p. 199–206, 2016.

CERESINI, P. C., et al. Wheat blast: from its origins in South America to its emergence as a global threat. **Molecular Plant Pathology**, 2018. <https://doi.org/10.1111/mpp.12747>

CERESINI, P. C.; MACIEL, J. L. N.; KONH, L. ; LEVY, M. ; MCDONALD, B. A. A de novo origin for the wheat-adapted populations of *Pyricularia oryzae* in Southern Brazil and levels of gene flow 20 years after the first epidemics In: IPPC

INTERNATIONAL PLANT PROTECTION JOINT MEETING, 101., 2011. Honolulu - USA. **Annals of the IPPC International Plant Protection Joint Meeting**, 2011. St. Paul: American Phytopathological Society, p. 221, 2011.

CHADHA, S.; SHARMA, Transposable elements as stress adaptive capacitors induce genomic instability in fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. **PLoS One**. 2014 Apr 7;9(4):e94415. doi: 10.1371/journal.pone.0094415.

CHÁVEZ, A.; KOHLI, M. Alternative hosts of *Magnaporthe grisea* of wheat in Paraguay (in Spanish). **Investigación Agraria**, v. 17, p. 54–59, 2015.

CHECHETTO, R. G.; ANTUNIASSI, U. R. Espectro de gotas gerado por diferentes adjuvantes e pontas de pulverização. **Revista Energia na Agricultura**, v. 27, n. 3, p. 130-142, 2012.

CHEN, Q. H.; WANG, Y.C.; LI, A. N.; ZHANG, Z. G.; ZHENG, X. B. Molecular mapping of two cultivar-specific avirulence genes in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 277, n. 2, p. 139–148, 2007.

CHOI, J.; CHEONG, K.; JUNG, K.; JEAON, J.; LEE, G. W.; KANG, S.; KIM, S.; LEE, Y. W.; LEE, Y. H. CFGP 2.0: a versatile web-based platform for supporting comparative and evolutionary genomics of fungi and Oomycetes. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p.714-719, 2013.

CHRISTOFOLETTI, J. C. **Considerações sobre tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas**. São Paulo: Teejet South America, 1999. 14 p. (Boletim técnico, 5).

CHUMA, I. et al. Cytological characteristics of microconidia of *Magnaporthe oryzae*. **Journal of General Plant Pathology**, v. 75, p. 353–358, 2009.

CHUMA, I.; ISOBE, C.; HOTTA, Y. et al. Multiple translocation of the AVR-*Pita* effector gene among chromosomes of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* and related species. **PLoS Pathogens**, 7, p. e1002147, 2011.

COMISSÃO BRASILEIRA DE TRIGO E TRITICALE. **Informações técnicas para trigo e triticale-safra 2012**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 218p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2017/2018. Disponível em: [www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br). Acesso em: 26 de out. 2018.

COSTA, A. G. F. et al. Efeito da intensidade do vento, da pressão e de pontas de pulverização na deriva de aplicações de herbicidas em pré-emergência. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 203-210, 2007.

COUCH, B. C.; FUDAL, I.; LEBRUN, M. H.; THARREAU, D.; VALENT, B.; VAN KIM, P.; NOTTÉGHM, J. L.; KOHN, L. M. Origins of host-specific populations of the blast pathogen *Pyricularia oryzae* in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice. **Genetics**, v. 170, n. 2, p. 613-630, 2005.

COUCH, B. C.; KOHN, L. M. multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. **Mycologia**, v. 94, p. 683–693, 2002.

CRILL, P.; HAM, Y. S.; BEACHELL, H. M. The rice blast disease in Korea and its control with rice production and gene rotation. Korean. **Journal of Breeding**, v. 13, p. 106-114, 1981.

CROSS, J. V.; WALKLATE, P. J.; MURRAY, R. A.; RICHARDSON, G. M. Spray deposits and losses in different sized apple trees from an axial fan orchard sprayer: 2. Effects of spray quality. **Crop Protection**, v. 20, p. 333-343, 2001.

CRUZ, C. D.; BOCKUS, W. W.; STACK, J. P. et al. Preliminary assessment of resistance among U.S. wheat cultivars to the *Triticum* pathotype of *Magnaporthe oryzae*. **Plant Disease**, v. 96, p. 1501–1505, 2012.

CRUZ, C. D.; KIYUNA, J.; BOCKUS, W. W.; TODD, T. C.; STACK, J. P.; VALENT, B. *Magnaporthe oryzae* conidia on basal wheat leaves as a potential source of wheat blast inoculum. **Plant Pathology**, v. 64, p. 1491-1498, 2015.

CRUZ, C. D.; MAGAREY, R. D.; CHRISTIE, D. N.; FOWLER, G. A.; FERNANDES, J. M.; BOCKUS, W. W., VALENT, B.; STACK, J. P. Climate suitability for *Magnaporthe oryzae* *Triticum* pathotype in the United States. **Plant Disease**, v. 100, p. 1979–1987, 2016.

CRUZ, C. D.; PETERSON, G. L.; BOCKUS, W. W.; KANKANALA, P.; DUBCOVSKY, J.; JORDAN, K. W.; VALENT, B. The 2NS translocation from *Aegilops ventricosa* confers resistance to the Triticum pathotype of *Magnaporthe oryzae*. **Crop Science**, v. 56, n. 3, p. 990-1000, 2016.

CRUZ, C. D.; VALENT, B. Wheat blast disease: danger on the move. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, p. 201–222, 2017.

CRUZ, M. F. A. et al. Aplicação foliar de produtos na redução da severidade da brusone do trigo. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 6, p. 424-428, 2011.

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N.; SCHEEREN, P. L. Resistência parcial à brusone de genótipos de trigo comum e sintético nos estádios de planta jovem e de planta adulta. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 1, p. 24-3135, 2010.

CRUZ, M. F.; 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**, v. 34, n. 6, p. 393-401, 2009.

CUNHA, G. R.; TROMBINI, M. F. (Org.). **Trigo no MERCOSUL**: coletânea de artigos. Brasília: EMBRAPA, 1999. Embrapa Trigo Sistema de Produção – <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Trigo/CultivodeTrigo>. Acesso em: 12 de nov. 2018.

CUNHA, J. P. R.; TEIXEIRA, M. M. Escolha de bico para pulverização. **Cultivar Máquinas**, n. 18, p. 15- 19, 2003.

CUNHA, J. P. A. R.; TEIXEIRA, M. M.; COURY, J. R.; FERREIRA, L. R. Avaliação de estratégias para redução da deriva de agrotóxicos em pulverizações hidráulicas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 325-32, 2003.

CUNHA, J. P. A. R.; TEIXEIRA, M. M.; VIEIRA, R. F. Avaliação de pontas de pulverização hidráulicas na aplicação de fungicida em feijoeiro. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1.069- 1.074, 2005.

CUNHA, J. P. A. R.; TEIXEIRA, M. M.; FERNANDES, H. C. Avaliação do espectro de gotas de pontas de pulverização hidráulicas utilizando a técnica da difração do raio laser. **Engenharia Agrícola**, v. 27, n. 1, p. 10-15, 2007.

CUNHA, J. P. A. R. et al. Efeito de pontas de pulverização no controle químico da ferrugem da soja. **Engenharia Agrícola**, v. 28, n. 2, p. 283-291, 2008.

CUNHA, O. A. C.; BONALDO, S. M. Eficiência de fungicidas no controle de ferrugem da folha na cultura do trigo. **Campo Digital**, v. 1, n. 2, p. 72-78, 2008.

DANELLI, A. L. D. **Virulência, processo infeccioso e sensibilidade a fungicidas de *Magnaporthe oryzae* associado à cultura do trigo**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2015.

DAYAKAR, B.; NARAYANA, N. N.; GNANAMANICK, S. S. Cross compatibility and distribution of mating type alleles of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* in India. **Plant Disease**, v. 84, p. 700- 704, 2000.

DE VRIES, A.; RIPLEY, B. **Ggdendro: tools for extracting dendrogram and tree diagram plot data for use with ggplot**. R package version 0.1-12, 2013. Available from: <http://cran.R-project.org/package=ggdendro>.

DE WIT, P. J. G. M.; MEHRABI, R.; VAN DEN BURG, H. A.; STERGIOPOULOS, I. Fungal effector proteins: past, present and future. **Molecular Plant Pathology**, v. 10, p. 735–747, 2009.

DEAN, R.; VAN KAN, J. A.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J. et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, p. 414-430, 2012.

DEBORTOLI, M. P.; TORMEN, N. R.; BALARDIN, R. S.; DALLA FAVERA, D.; STEFANELLO, M. T.; PINTO, F. F.; UEBEL, J. D. Espectro de gotas de pulverização e controle da ferrugem-asiática-da-soja em cultivares com diferentes arquiteturas de planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 7, p. 920-927, 2012.

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

EBBOLE, D. J. *Magnaporthe* as a model for understanding host-pathogen interactions. **Annual Review of Phytopathology**, v. 45, p. 437–456, 2007.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 608 p.

ESPINOZA, I. G.; SHOHARA, K. **Investigación relativa a la ocurrencia de Piricularia en trigo**. v. 2, Santa Cruz: CentroTecnológico Agropecuario en Bolívia, p.4-11, 2003.

ETEBU, E.; NWAUZOMA, A. B. A mini-review on the development and emerging perspectives of seed pathology. **Microbiology Research International**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2017.

FARMAN, M. L.; ETO, Y.; NAKAO, T.; TOSA, Y.; NAKAYASHIKI, H.; MAYAMA, S.; LEONG, S. A. Analysis of the structure of the AVR1-CO39 avirulence locus in virulent rice-infecting isolates of *Magnaporthe grisea*. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 15, p. 6–16, 2002.

FERNANDES, J. M. F.; NICOLAU, M.; PAVAN, W. M.; AMARAL, C., KARREI, M., et al. A weather-based model for predicting early season inoculum build-up and spike infection by the wheat blast pathogen. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, p. 230–237, 2017.

FERNANDEZ, M. R.; FERNANDES, J. M.; SUTTON, J. C. Effects of fallow and of summer and winter crops on survival of wheat pathogens in crop residues. **Plant Disease**, v. 77, p. 698–703, 1993.

FERREIRA, J. R.; VANCINI, C.; DEUNER, C. C.; TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; SEIXAS, C. D. S.; DIANESE, A. C.; GOULART, A. C. P.; GONZÁLES, H. H. S. Absence of 2NS/2AS in wheat resistance sources to *Magnaporthe oryzae* in Brazil. Passo Fundo : Embrapa Trigo, 2018. 21 p. – (**Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Trigo**, ISSN 1677- 8901 ; 91), 2018.

FERREIRA, M. C. Tecnologia de Aplicação de Produtos Fitossanitários em cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. et al. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: v. 1, p. 293-303, 2006.

FLOR, H. H. The complementary genic systems in flax and flax rust. **Advances in Genetics**, New York, v. 8, p. 29-54, 1956.

FRITZ, B. K.; HOFFMAN, W. C.; MARTIN, D. E.; THOMSON, S. J. Aerial application methods for increasing spray deposition on wheat heads. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 23, n. 6, p. 709- 715, 2007.

FUDAL, I.; ROSS, S.; BRUN, H.; BESNARD, A. L.; ERMEL, M.; KUHN, M. L. et al. Repeat-induced point mutation (RIP) as an alternative mechanism of evolution toward virulence in **Leptosphaeria maculans**. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 22, p. 932–941, 2009. doi: 10.1094/MPMI-22-8-0932.

GALINDO, F. S.; FILHO, M. C. M. T.; BUZATTI, S.; SANTINI, J. M. K.; ALVES, C. J. et al. Wheat yield in the Cerrado as affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasiliense*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p. 794–805, 2017.

GLADIEUX, P.; CONDON, B.; RAVEL, S.; SOANES, D.; MACIEL, J. L. N.; NHANI, A. Jr.; CHEN, L.; TERAUCHI, R.; LEBRUN, M. H.; THARREAU, D. et al. Gene flow between divergent cereal- and grass-specific lineages of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **MBio**, 9, 2018.

GOEL, M. K.; KHANNA, P.; KISHORE, J. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. **International Journal of Ayurveda Research**, v. 1, n. 4, p. 274–278, 2010.

GOULART, A. C. P. Brusone do trigo reduz o rendimento de grãos. **A Lavoura**, n. 650, p. 18-21, 2004.

GOULART, A. C. P. Perdas em trigo causadas pela brusone. In: WORKSHOP DE EPIDEMIOLOGIA DE DOENÇAS DE PLANTAS, 1., Viçosa, MG. Quantificação de perdas no manejo de doenças de plantas: **Anais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 123-130, 2005.



GOULART, A. C. P.; AMABILI, R. F.; NASSER, L. C. B.; FREITAS, M. A. Detecção de *Pyricularia grisea* em sementes de cevada produzidas em sistema irrigado por pivô central no Cerrado Brasileiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 565-565, 2003.

GOULART, A. C. P.; MESQUITA, A. N.; PAIVA, F. A. Eficiência do tratamento químico de sementes de trigo no controle de *Pyricularia oryzae* e *Cochliobolus sativus* (*Helminthosporium sativum*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, p. 302-05, 1990.

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**, v. 26, n. 3, p. 279-282, 2000.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. A.; MELO FILHO, G. M.; 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**, v. 21, p. 381-87, 1996.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. de A. Avaliação de fungicidas no controle da brusone "*Pyricularia oryzae*" do trigo (*Triticum aestivum*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 167-173, 1993.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. de A.; COLMAN, O. P. Reação de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) à brusone (*Pyricularia oryzae* Cav) em condições de campo. In: REUNIÃO DA COMISSÃO CENTRO-SUL BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO, 7., 1991, Curitiba. **Anais...** Dourados: Embrapa-Uepae Dourados, 1991. p. 118-120.

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, p. 358-363, 2007.

GULART, C. A. et al. Espectro de gotas de pulverização e controle de doenças em duas cultivares de trigo. **Ciência Rural**, v. 43, n. 10, p. 1747-1753, 2013.

HALLEY, S.; VAN, E. E.; HOFMAN, V.; PANIGRAHI, S.; GU, H. Fungicide deposition measurements by spray volume, drop size, and prayer system in cereal grains. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 24, n. 1, p. 15-21, 2008.

- HAMER, J. E.; HOWARD, R. J.; CHUMLEY, F. G.; VALENT, B. A mechanism for surface attachment in spores of a plant pathogenic fungus. **Science**, v. 239, p. 288-290, 1988.
- HANZALOVÁ, A.; DUMALASOVÁ, V.; SUMÍKOVÁ, T.; BARTOSB, P. Rust resistance of the French wheat cultivar Renan. **Czech Journal of Genetics Plant Breeding**, v. 43, p. 53–60, 2007.
- HARMON, P. F.; LATIN, R. Winter survival of the perennial ryegrass pathogen *Magnaporthe oryzae* in north Central Indiana. **Plant Disease**, v. 89, p. 412–418, 2005.
- HAYASHI, N.; LI, Y. C.; LI, J. L.; NAITO, H. In vitro production on rice plants of perithecia of *Magnaporthe grisea* from Yunnan, China. **Mycological Research**, Cambridge, v.101, n.11, p.1308-1310, 1997.
- HAZEN, J. L. Adjuvants: Terminology, Classification, and Chemistry. **Weed Technology**, v. 14, p. 773-784, 2000.
- HELGUERA, M.; KHAN, I.A.; KOLMER, J.; LIJAVETZKY, D.; ZHONG-QI, L.; DUBCOVSKY, J. PCR assays for the Lr37-Yr17-Sr38 cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. **Crop Science**, v. 43, n. 5, p. 1839-1847, 2003.
- HIRATA, K.; KUSABA, M.; CHUMA, I.; OSUE, J.; NAKAYASHIKI, H.; MAYAMA, S. H.; TOSA, Y. Speciation in *Pyricularia* inferred from multilocus phylogenetic analysis. **Mycological Research**, v. 111, p. 799–808, 2007.
- HORBACH, R.; KNOGGE, W.; QUEZADA, A. N.; DEISING, H. B. When and how to kill a plant cell: Infection strategies of plant pathogenic fungi. **Journal of Plant Physiology**, v.168, p. 51–62, 2011.
- HOWARD, R. J.; VALENT, B. Breaking and entering: host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*. **Annual Review in Microbiology**, v. 50, p. 491-512, 1996.
- IGARASHI, S. et al. *Pyricularia* em trigo. Ocorrência de *Pyricularia sp.* no estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 351-352, 1986.

IGARASHI, S. **Uma análise da ocorrência de “brusone” do trigo no Paraná.** In: Seminário sobre Melhoramento para a Resistência a Enfermidades, 1988, Passo Fundo. 19p.

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

INOUE, Y.; VY, T. T. P.; KENTARO, Y.; HOKUTO, A.; MITSUOKA, C. et al. Evolution of the wheat blast fungus through functional losses in a host specificity determinant. **Science**, v. 357, p. 80–83, 2017.

International Maize and Wheat Improvement Center - CIMMYT. **Report on Wheat Improvement.** El Batan, 1977 Mexico. 245p. <https://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/10883/3883>.

IOST, C. A. R. **Efeito de adjuvantes nas propriedades físico-químicas da água e na redução de deriva em pulverizações sobre diferentes espécies de plantas daninhas.** 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

JIA, Y.; McADAMS, S. A.; BRYAN, G. T.; HERSHEY, H. P.; VALENT, B. Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. **The EMBO Journal**, v. 19, p. 4004-4014, 2000.

KANG, S.; LEBRUN, M. H.; LEBRUN, L.; FARRALL, B. Gain of virulence caused by insertion of a Pot3 transposon in a *Magnaporthe grisea* avirulence gene. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 14, p. 671-674, 2001.

KANKANALA, P.; CZYMMEK, K.; VALENT, B. Roles for rice membrane dynamics and plasmodesmata during biotrophic invasion by the blast fungus. **Plant Cell**, v. 19, p. 706-724, 2007.

KATO, H. The perfect state of *Pyricularia* species. **Plant Protection**, v. 10, p. 20-28, 1977.

KATO, H.; YAMAMOTO, M.; YAMAGUCHI-OZAKI, T.; KADOUCHI, H.; IWAMOTO, Y.; NAKAYASHIKI, H.; TOSA, Y.; MAYAMA, S.; MORI, N.

Pathogenicity, mating ability and DNA restriction fragment length polymorphisms of *Pyricularia* populations isolated from *Gramineae*, *Bambusideae* and *Zingiberaceae* plants. **Journal of General Plant Pathology**, v. 66, p. 30–47, 2000.

KHAN, M. A. I., ALI, M. A.; MONSUR, M. A.; KAWASAKI-TANAKA, A.; HAYASHI, N.; YANAGIHARA, S.; OBARA, M.; MIA, M. A. T; LATIF, M. A.; FUKUTA, Y. Diversity and distribution of rice blast (*Pyricularia oryzae* Cavara) races in Bangladesh. **Plant Disease**, v. 100, p. 2025–2033, 2016.

KHONGA, E. B.; SUTTON, J. C. Inoculum production and survival of *Gibberella zeae* in maize and wheat residues. **Plant Pathology**, v. 10, p. 232–239, 1988.

KISTLER, H. C.; MIAO, V. P. W. New modes of genetic change in filamentous fungi. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, p.131-152, 1992. Supplement.

KOHLI, M. M.; MEHTA, Y. R.; GUZMAN, E.; DE VIEDMA, L.; CUBILLA, L. E. *Pyricularia* blast- a threat to wheat cultivation. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 47, p. 130–134, 2011.

KURIBAYASHI, K. Studies on overwintering, primary infection and control of rice blast fungus, *Piricularia oryzae*. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, v. 2, p. 99–117, 1928.

LAU, D.; SANTANA, F. M.; MACIEL, J. L. N.; FERNANDES, J. M. C; COSTAMILAN, L. M.; CHAVES, M. S.; LIMA, M. I .P. M. **Doenças de trigo no Brasil**. In: PIRES, J.L.F.; VARGAS, L.; CUNHA, G.R. (Eds.). Trigo no Brasil: Bases para produção competitiva e sustentável. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 283-324, 2011.

LEE, Y. H.; DEAN, R. A. Hydrophobicity of the contact surface induces appressorium formation in *Magnaporthe grisea*. **FEMS Microbiol Letters**, v. 115, p. 71–76, 1994.

LEITE, B. et al. Mecanismos de adesão de bactérias e fungo às plantas hospedeiras. **Revisão anual de patologia de plantas**, v. 9, p. 119-157, 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**, v. 83, p. 1427-1433, 1993.

LI, Y.; UDDIN, W.; KAMINSKI, J. E. Effects of relative humidity on infection, colonization and conidiation of *Magnaporthe oryzae* on perennial ryegrass. **Plant Pathology**, v. 63, p. 590–597, 2014.

LI, Y.; UDDIN, W.; KAMINSKI, J. E.; DUFAULT, N. S. Seasonal and daily patterns of *Magnaporthe oryzae* conidia availability in gray leaf spot-perennial ryegrass pathosystem. In: American Phytopathological society meeting, **Abstracts...** Austin, TX, USA.

LI, Y.; YUE, X.; QUE, Y.; YAN, X.; MA, Z.; TALBOT, N. J.; WANG, Z. Characterisation of four LIM protein-encoding genes involved in infection-related development and pathogenicity by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **PLoS ONE** 9: e88246, 2014.

LIMA, M. I. P. M. **Giberela ou Brusone? Orientações para a identificação correta dessas enfermidades em trigo e em cevada** (2004). Disponível em:< <http://www.cnpt.embrapa.br>>. Acesso em: 30 nov. 2018.

LOPES, M. E. B. M.; BUENO, J. T. Estudos preliminares sobre detecção de *Pyricularia* sp em sementes de trigo (*Triticum aestivum*) e eficiência do tratamento de sementes com fungicidas em condições de laboratório. **Summa Phytopathologica**, v. 16, p. 166-171, 1990.

LU, C.; KULKARNI, K.; SOURET, F. F.; MUTHUVALLIPPAN, R.; TEJ, S. S.; POETHIG, R. S.; HENDERSON, I. R.; JACOBSEN, S. E.; WANG, W.; GREEN, P. J. et al. Micro RNAs and other small RNAs enriched in the Arabidopsis RNA-dependent RNA polymerase-2 mutant. **Genome Research**, v. 16, p. 1276–1288, 2006.

LUO, C. X.; HANAMURA, H.; SEZAKI, H.; KUSABA, M.; YAEGASHI, H. Relationship between avirulence genes of the same family in rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. **Journal of General Plant Pathology**, v. 68, n. 4, p. 300– 306, 2002.

MA, J. H.; WANG, L.; FENG, S. J.; LIN, F.; XIAO, Y.; PAN, Q. H. Identification and fine mapping of AvrPi15, a novel avirulence gene of *Magnaporthe grisea*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 113, n. 5, p. 875-883, 2006.

MACIEL, J. L. N. *Pyricularia oryzae*, the blast pathogen: current status and options for its control. **Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 6, n. 50, p. 1-8, 2011.

MACIEL, J. L. N. **Diseases affecting wheat: wheat blast**. In: OLIVER, R.. (Org.). Integrated disease management of wheat and barley. 1ed. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing, v. 1, p. 155-169, 2018.

MACIEL, J. L. N.; CERESINI, P. C.; CASTROAGUDIN, V. L.; ZALA, M.; KEMA, G. H. J.; McDONALD, B. Population structure and pathotype diversity of the wheat blast pathogen *Pyricularia oryzae* 25 years after its emergence in Brazil. **Phytopathology**, v. 104, n. 1, p. 95-107, 2014.

MACIEL, J. L. N.; DANELLI, A. L. D.; BORETTO, C.; FORCELINI, C. A. Escala diagramática para avaliação de brusone na espiga de trigo. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p. 162- 166, 2013.

MACIEL, J. L. N.; PALUDO, E. A.; SILVA, M. S. P. L. S; CAIERÃO, E. **Reação à brusone de genótipos de trigo do programa de melhoramento da Embrapa Trigo no estágio de planta adulta**. (2008) Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 2 dez. 2018.

MACIEL, J. L. N.; RODRIGUES, P. C. S.; AVOZAANI A, O.; MORAES, M. G. Padrão molecular e de virulência de isolados de *Pyricularia grisea* do estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 504-510, 2004.

MAIA, N. Obtention des bles tendres resistants au pietin-verse par croisements interspecificques bles x Aegilops. **Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France**, v. 53, p. 149–154, 1967.

MALAKER, P. K.; BARMA, N. C. D.; TIWARI, T. P.; COLLIS, W. J.; DUVEILLER, E.; SINGH, P. K.; JOSHI, A. K.; SINGH, R. P.; BRAUN, H. J.; PETERSON, G. L.;

PEDLEY, K. F.; FARMAN, M. L.; VALENT, B. First report of wheat blast caused by *Magnaporthe oryzae* pathotype triticum in Bangladesh. **Plant Disease**, v. 100, p. 2330–2330, 2016.

MARANGONI, M. S.; NUNES, M. P.; FONSECA JR., N.; MEHTA, Y. R. Pyricularia blast on white oats: A new threat to wheat cultivation. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, p. 198–202, 2013.

MARCHI, C. E.; FERNANDES, C. D.; JERBA, V. de F.; BORGES, M. de F.; LORENZETTI, E. R. *Brachiaria brizantha*: novo hospedeiro de *Magnaporthe grisea*. **Pasturas tropicales**, v. 27, n 2, p. 52-54, 2005.

MARTÍNEZ, S. I.; SANABRIA, A.; FLEITAS, M. C. et al. Wheat blast: Aggressiveness of isolates of *Pyricularia oryzae* and effect on grain quality. **Journal of King Saud University – Science**, v. 31, p. 150–157, 2018.

MARTINI, A. T.; AVILA, L. A.; CAMARGO, E. R.; MOURA, D. S.; MARCHEZAN, M. G.; PIVETTA, A. P. Influência de adjuvantes e pontas de pulverização na deriva de aplicação do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 33, n. 2, p. 375- 386, 2015.

MASSOLA Jr, N. S.; KRUGNER, T. L. Fungos fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; KIMATI, H.; REZENDE, J. A.; CAMARGO, L. E. A. (Orgs.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011.p.149-206.

MATUO, T. et al. **Tecnologia de aplicação e equipamentos**. In: ABEAS - Curso de proteção de plantas. Módulo 2. Brasília, DF: ABEAS; Viçosa, MG: UFV, 2001. 85 p.

MATUO, T. Fundamentos da tecnologia de aplicação de agrotóxicos. In: TECNOLOGIA E SEGURANÇA NA APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS: NOVAS TECNOLOGIAS, 2., 1998, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Departamento de Defesa Fitossanitária; Sociedade de Agronomia de Santa Maria, p.95-101, 1998.

MEHTA, Y. R. **Manejo integrado de enfermidades de trigo**. Santa Cruz de la Sierra Bolivia. Imprenta Landivar, 1993.

MEHTA, Y. R.; BAIER, A. Variação patogênica entre isolados de *Magnaporthe grisea* atacando triticale e trigo no estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**, v. 24, p. 119-125. 1998.

MESTERHAZY, A.; BARTOK, T. Control of Fusarium head blight of wheat by fungicides and its effect on the toxin contamination of the grains. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, v. 49, p. 191-198, 1996.

MESTERHÁZY, A.; TÓTH, B.; VARGA, M.; BARTÓK, T.; SZABÓ-HEVÉR, A.; FARÁDY, L.; LEHOCZKI-KRSJAK, S. Role of Fungicides, Application of Nozzle Types, and the Resistance Level of Wheat Varieties in the Control of Fusarium Head Blight and Deoxynivalenol. **Toxins**, v. 3, n. 11, p. 1453-1483, 2011.

MONSUR, M. A.; AHMED, M.; HAQUE, A.; JAHAN, Q. S. A.; ANSARI, T. H.; LATIF, M. A.; BORMA, N. C. D.; ALI, M. A.; KABIR, M. S.; BANIK, B. R. Cross Infection between Rice and Wheat Blast Pathogen *Pyricularia oryzae*. **Bangladesh Rice Journal**, v. 20, n. 2, p. 21-29, 2016.

MORAES-FERNANDES, M .I. B., ZANATTA, A. C. A., PRESTES, A. M., CAETANO, V. R., BARCELLOS, A. L., ANGRA, D. C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 1051- 1062. 2000.

MOREIRA, S. I.; CERESINI, P. C.; ALVES, E. Reprodução Sexuada em *Pyricularia oryzae*. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 175-182, 2015.

MOTTALEB, K. A.; SINGH, P. K.; SONDER, K.; KRUSEMAN, G.; TIWARI, T. P.; BARMA, N. C. D. et al. Threat of wheat blast to South Asia's food security: An *ex-ante* analysis. **PLoS ONE** 13(5): e0197555, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197555>.

MUNARO, L.; BENIN, G.; MARCHIORO, V. S.; de ASSIS FRANCO, F.; SILVA, R. R. et al. Brazilian spring wheat homogeneous adaptation regions can be dissected in major megaenvironments. **Crop Science**, v. 54, p. 1374–1383, 2014.

MUNK, A. **Danish Pyrenomycetes**. Dan. Bot. Ark. 17, 1, 1957.

NAMAI, T.; YAMANAKA, S. Studies on Variation in Virulence of Rice Blast Fungus, *Pyricularia oryzae* Cavara I. Variant Formation by the Pairing, Cultivation and



Inoculation of Two Different Pathogenic Isolates. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, v. 48, p. 466-470, 1982.

NASCIMENTO, A. B. et al. Deposição de glifosato e utilização de adjuvante para diferentes pontas de pulverização e horário de aplicação. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 5, n. 2, p. 105-116, 2012.

NGA, N. T. T.; HAU, V. T. B.; TOSA, Y. Identification of genes for resistance to a Digitaria isolate of *Magnaporthe grisea* in common wheat cultivars. **Genome**, v. 52, n. 9, p. 801-809, 2009.

NISHIMURA, M.; HAYASHI, N.; JWA, N. S.; LAU, G. W.; HAMER, J. E.; HASEBE, A. Insertion of the LINE retrotransposon MGL causes a conidiophore pattern mutation in *Magnaporthe grisea*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 13, p. 892-894, 2000.

NOGUCHI, M. T. Parasexual recombination in *Magnaporthe oryzae*. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 45, n. 1, p. 39-45, 2011.

NOGUCHI, M. T.; YASUDA, N.; FUJITA, Y. Evidence of genetic exchange by parasexual recombination and genetic analysis of pathogenicity and mating type of parasexual recombinants in rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 96, p. 746-750, 2006.

NOTTÉGHEM, J. L.; SILUE, D. Distribution of the mating type alleles in *Magnaporthe grisea* populations pathogenic on rice. **Phytopathology**, v. 82, n. 4, p. 421-424, 1992.

NUNES, C. D. M.; MOTA, M. S.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C. Variabilidade de *Pyricularia oryzae* Cav. em genótipos de arroz. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 263-270, 2014.

NUYTTENS, D.; BAETENS, K.; DE SCHAMPHELEIRE, M.; SONCK, B. Effect of nozzle type, size and pressure on spray droplet characteristics. **Biosystems Engineering**, v. 97, n. 3, p. 333-345, 2007.

ORBACH, M.; FARRALL, L.; SWEIGARD, J. A.; CHUMLEY, F. G.; VALENT, B. A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene Pi-ta. **The Plant Cell**, v. 12, n. 11, p. 2019-2032, 2000.

OU, S. H. **Rice Diseases**. Wallingford, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1985.

OU, S.H. Pathogen variability and host resistance of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cav. **Annual Review of Phytopathology**, v. 18, p. 167-187. 1980.

OZEKI, Y.; KUNZ, R. P. Tecnologia de aplicação aérea: aspectos práticos. In: CURSO E ATUALIZAÇÃO: TECNOLOGIA E SEGURANÇA NA APLICAÇÃO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS, 1996, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: UFSM / Sociedade de Agronomia de Santa Maria, 1996. p.65-78.

PAGANI, A. P. S. et al. Management of wheat blast with synthetic fungicides, partial resistance and silicate and phosphite minerals. **Phytoparasitica**, v. 42, p. 609–617, 2014.

PAGANI, A. P. S. **Resistência do trigo à brusone, manejo químico e diversidade de Magnaporthe grisea**. 2011.110 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, 2011.

PARLEVLIET, J. E.; OMMEREN, V. A. Partial resistance of barley to leaf rust *Puccinia hordei*. II. Relationship between field trials, microplot tests and latent period. **Euphytica**, v. 24, p. 223-303, 1975.

PASINATO, A. **Potencialidades e limitações para a expansão do cultivo de trigo no bioma Cerrado do Brasil**. 2017. 141 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

PEIXOTO, L. F. **Identificação da compatibilidade, sexualidade, fertilidade e AVR1-CO39 em populações de Magnaporthe oryzae, coletadas em lavouras de arroz, no Brasil**. 2014. 75f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitossanidade) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

PETERSEN, G.; SEBERG, O.; Y., M.; BERTHELSON, K. Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 39, p. 70-82, 2006.

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**, v. 15, p. 83-84, 1990.

PIZOLOTTO, C. A.; BOLLER, W.; LÂNGARO, N. C.; TOMM, G. O. Manejos para redução de perdas em pré-colheita de canola sob elevada pluviosidade. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 17, n. 2, p. 219-225, 2018.

PIZOLOTTO, C. A.; MACIEL, J. L. N.; FERNANDES, J. M. C.; BOLLER, W. Saprotrophic survival of *Magnaporthe oryzae* in wheat residues. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, p. 327-339, 2019.

PIZOLOTTO, C. A.; MACIEL, J. L. N.; FERNANDES, J. M. C.; FERREIRA, J. R.; TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; BOLLER, W. Reação à brusone de genótipos de trigo portadores da translocação 2NS/AS de *Aegilops ventricosa*. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 11.; FÓRUM NACIONAL DE TRIGO, 2017, Cascavel. **Resumos expandidos...** Cascavel: Coodetec, p. 151-155, 2017.

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

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. 1 ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006.

PRABHU, A.S.; SILVA, G.B da. Época de adubação de cobertura de nitrogênio e potássio em arroz de terras altas, no controle de brusone nas panículas. **Circular Técnica**, n. 71, 2005.

PRESTES, A. M.; ARENDT, P. F.; FERNANDES, J. M. C.; SCHEEREN, P. L. Resistance to *Magnaporthe grisea* among Brazilian wheat genotypes. In: BUCK, H. T.; NISI, J. E.; SALOMÓN, N. (Ed.). **Wheat production in stressed environments**. Dordrecht: Springer, p. 119-123, 2007.

PROKOP, M.; VEVERKA, K. Influence of Droplet Spectra on the Efficiency of Contact Fungicides and Mixtures of Contact and Systemic Fungicides. **Plant Protection Science**, v. 42, n. 1, p. 26–33, 2006.

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

QUEIROZ, A. A. et al. Adjuvantes e qualidade da água na aplicação de agrotóxicos. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 4, p. 8-19, 2008.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2017. URL <https://www.R-project.org/>.

RADY, H. Face recognition using principle component analysis with different distance classifiers. In: **JCSNS International Journal of Computer Science and Network Security**. [S.l.: s.n.], 2011.

RAVELOSON, H.; RAMONTA, I. R.; THARREAU, D.; SESTER, M. Infected rice residues allowing long term survival of blast pathogen serve as major source of primary inoculum in high altitude upland ecology. **Plant Pathology**, v. 67, p. 610–618, 2018.

REGES, J. T. A.; NEGRISOLI, M. M.; DORIGAN, A. F.; CASTROAGUDÍN, V. L.; MACIEL, J. L. N.; CERESINI, P. C. *Pyricularia pennisetigena* and *P. zingibericola* from invasive grasses infect signal grass, barley and wheat. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 2, p. 206-214, 2016.

REGES, J. T. A.; SANTOS, I. J.; RODRIGUES, W. J.; SOUZA, M. H.; SILVA, S. D. R.; JESUS, M. N. Caracterização fenotípica de isolados de *Pyricularia oryzae* de trigo e plantas invasoras. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 61, 2018.

REIS, E. M. et al. Avanços na tecnologia de aplicação de fungicidas visando ao controle da giberela em trigo. **Revista Plantio Direto**, v. 22, p. 28-35, 2013.

REIS, E. M. et al. **Controle de doenças do trigo e triticales – safra 2016**. Passo Fundo: OR Melhoria de Sementes Ltda, 2016. 32 p. Disponível em: <http://www.orsementes.com.br/sistema/anexos/artigos/65/Controle%20de%20Doencas%20do%20Trigo%20e%20Triticales%20-%20Erlei%20Melo%20Reis.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2016.

REIS, E. M. et al. Controle químico de *Gibberella zeae* em trigo, um problema de deposição de fungicidas em anteras. **Summa Phytopathologica**, v. 22, p. 39-42, 1996.

REIS, E. M. et al. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4ª Ed. São Paulo, **Agronômica Ceres**, p. 725-735, 2005.

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

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle**. 2.ed. Lages: Graphel, 2007. 176 p.

REIS, E. M.; CASA, R. T. Manejo sustentado de doenças. **Revista Plantio Direto**, edição 106, julho/agosto de 2008, Passo Fundo. Disponível em: <[http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont\\_int&id=874](http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont_int&id=874)>. Acesso em: 09 nov. 2018.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; FORCELINI, C. A. **Doenças do trigo**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. & CAMARGO, L. E. A. 2005. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4ª Ed. São Paulo, Agronômica Ceres. p. 725-735, 2005.

REIS, E.M. **Doenças do trigo III: giberela**. 2.ed. São Paulo : E.M.REIS, 1988. 13p.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. Informações técnicas para trigo e triticales - safra 2012: In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. 5., 2011. **Anais...** Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, 2011. p. 204.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. Informações técnicas para trigo e triticales – safra 2013. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. 6., 2012. **Anais...** Instituto Agrônomo do Paraná (Iapar), Londrina, 2012. p. 220.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. Informações técnicas para trigo e triticales - safra 2016: In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. 9., 2015. **Anais...** Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2015. p. 229.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. Informações técnicas para trigo e triticales – safra 2018. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. 11., 2017. **Anais...** Cascavel: Coodetec, 2017. p. 213.

REUNIÃO DA COMISSÃO CENTRO-SUL BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 20., 2005, Londrina. **Atas e resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2005. 315p.

RIBEIRO, A. S.; TERRES, A. L. S. Variabilidade do fungo *Pyricularia oryzae* e sua relação com cultivares resistentes à brusone. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 12, n. 4, p. 316-21, 1987.

RIBOT, C.; HIRSCH, J.; BALZERGUE, S.; THARREAU, D.; NOTTÉGHM, J. -L.; LEBRUN, M. -H.; MOREL, J. B. Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. **Journal Plant of Physiology**, v. 165, n. 1, p.114–124, 2008.

ROCHA, J. R. A. S. C.; PIMENTEL, A. J. B.; RIBEIRO, G.; SOUZA, M. A. Eficiência de fungicidas no controle da brusone em trigo. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 4, p. 347-352, 2014.

ROMANO, E.; BRASILEIRO, A. C. M. Extração de DNA de plantas. **Biotecnologia**, v.2, n.9, p.40-43, 1999.

ROSSI, R. M.; NEVES, M. F. **Estratégias para o trigo no Brasil**. PENSA/UNIEMP, São Paulo. Editora Atlas, 2004. 224 p.

ROSSMAN, A. Y.; HOWARD, R. J.; VALENT, B. *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus. **Mycologia**, v. 82, p. 509–512, 1980.

ROUMEN, E. C. Rice Blast Disease, RS Zeigler, SA Leong, Teng PS (Eds.), A strategy for accumulating genes for partial resistance to blast disease in rice within a conventional breeding program. **CAB International**, p. 245-265, 1994.

RUDEN, B. E.; DRAPER, M. A.; RODEN, R.; WITTMEIER, D. S.; THOMPSON, S. M. Fungicide coverage of the wheat rachis, related fungicide movement and effective control of Fusarium head blight. **Phytopathology**, v. 97, p. 164–S164, 2007.

RYCKAERT, B., SPANOGHE, P.; HAESAERT, G.; HEREMANS, B.; ISEBAERT, S.; STEURBAUT, W. Quantitative determination of the influence of adjuvants on foliar fungicide residues. **Crop Protection**, v. 26, n. 10, p. 1589-1594, 2007.

SADAT, A. M.; CHOI, J. Wheat Blast: A new fungal inhabitant to Bangladesh threatening World. **Plant Pathology Journal**, v. 33, n. 2, p. 103–108, 2017.

SALEH, D.; XU, P. S. Y.; LI, C.; ADREIT, H.; MILAZZO, J.; RAVIGNÉ, V.; BAZIN, E.; NOTTÉGHÉ, J.; FOURNIER, E.; THARREAU, D. Sex at the origin: an Asian population of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* reproduces sexually. **Molecular Ecology**, v.21, p.1330-1344, 2012.

SANTANA, F. M. et al. Eficiência de fungicidas para controle de brusone em trigo: resultados dos ensaios cooperativos - safra 2013. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 8.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 9., 2014, Canela; REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 9., 2015. **Anais...** Passo Fundo: Biotrigo Genética: Embrapa Trigo, 2015.

SANTANA, F. M.; MACIEL, J. L. N.; LAU, D.; CARGNIN, A.; SEIXAS, C. D. S.; BASSOI, C. M.; GOULART, A. C. P.; SUSSEL, A. A. B.; SCHIPANSKI, C. A.; MONTECELLI, T. D. N.; CHAGAS, J. H.; GUIZELINE, J. **Eficiência de fungicidas para o controle da brusone do trigo: resultados dos ensaios cooperativos – safra 2011**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2013. 12 p. (Embrapa Trigo. Comunicado técnico online, 328), 2013.

SANTANA, F. M.; MACIEL, J. L. N.; LAU, D.; CARGNIN, A.; SEIXAS, C. D. S.; GOULART, A. C. P.; SUSSEL, A. A. B.; SCHIPANSKI, C. A.; MONTECELLI, T. D. N.; CUSTÓDIO, A. A. P.; UTIAMADA, C. M. **Eficiência de fungicidas para o controle da brusone do trigo: resultados dos ensaios cooperativos – safra 2012.** Embrapa. Comunicado Técnico online, 2014.

SANTOS, H. P. dos; REIS, E. M. Efeitos de culturas de inverno sobre o rendimento de grãos e sobre a estatura de plantas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 5, p. 729-735, 1991.

SCHEUERMANN, K. K.; RAIMONDI, J. V.; MARSCHALEK, R.; ANDRADE, A.; WICKERT, E. *Magnaporthe oryzae* genetic diversity and its outcomes on the search for durable resistance. In: Caliskan M. (ed): **The Molecular Basis of Plant Genetic Diversity**, Chapter 15. Rijeka, InTech, 2012.

SCUDELER, F. et al. Influência do tipo de ponta de pulverização e do volume de aplicação na deposição do traçador cobre na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.). In: III Sintag – Simpósio Internacional de tecnologia de aplicação de agrotóxicos. **Resumos...BOTUCATU**, 2004, p. 179-182.

SHAJAHAN, A. K. M. Practical approaches to rice blast management in tropical monsoon ecosystems, with special reference to Bangladesh. In: Zeigler, R.S.; Leong, S.A.; Teng, P.S. Rice blast disease. Wallingford: **CAB International**, 1994. p. 465-488, 1994.

SHARMA, N.; SHARMA, K. P.; GAUR, R. K.; GUPTA, V. K. Role of chitinase in plant defense. **Asian Journal of Biochemistry**, v. 6, p. 29-37, 2011.

SHARMA, R. Wheat blast research: Status and imperatives. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 6, p. 377-381, 2017.

SIQUEIRA, C. S. et al. Effects of *Stenocarpella maydis* in seeds and in the initial development of corn. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 1, p. 79- 86, 2014.

SOUZA, B. J. R. et al. Adjuvantes em pulverizações de fungicidas na cultura do trigo. **Ciência Rural**, 44, n. 8, p. 1398–1403, 2014.



SOUZA, L. A.; CUNHA, J. P. A. R.; PAVANIN, L. A. Eficácia e perda do herbicida 2,4-D amina aplicado com diferentes volumes de calda e pontas de pulverização. **Planta Daninha**, v. 29, p. 1149-1156, 2011.

SPANOGHE, P. et al. Influence of agricultural adjuvants on droplet spectra. **Pest Management Science**, v. 63, n. 1, p. 4-16, 2007.

STEFFEN, W.; RICHARDSON, K.; ROCKSTRÖM, J.; CORNELL, S. E.; FETZER, I.; BENNETT, E. M.; BIGGS, R.; CARPENTER, S. R.; DE VRIES, W.; DE WIT, C. A.; FOLKE, C.; GERTEN, D.; HEINKE, J.; MACE, G. M.; PERSSON, L. M.; RAMANATHAN, V.; REYERS, B.; SÖRLIN, S., 2015. Planetary boundaries: guiding human development on a changing planet. **Science** (80-) 347 doi:<http://dx.doi.org/10.1126/science.1259855> 1259855.

STRECK, E. V.; DALMOLIN, R. S. D.; KÄMPF, N.; PINTO, L. S. F. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2nd ed. Porto Alegre, EMATER/RS-ASCAR, 2008.

STUKENBROCK, E. H.; BATAILLON, T. A population genomics perspective on the emergence and adaptation of new plant pathogens in agro-ecosystems. **PLoS Pathology**. 8, 2012. e1002893.10.1371/journal.ppat.1002893.

TAKABAYASHI, N.; TOSA, Y.; OH, H. S.; MAYAMA, S. A gene-for-gene relationship underlying the species-specific parasitism of *Avena*/ *Triticum* isolates of *Magnaporthe grisea* on wheat cultivars. **Phytopathology**, v. 92, p. 1182–1188, 2002.

TALBOT, N. J. On the trail of a cereal killer: Exploring the biology of *Magnaporthe grisea*. **Annual Review of Microbiology**, v. 57, p. 177-202, 2003.

TALUDKER, Z. I.; McDONALD, A. J. S.; PRICE, A. H. Loci controlling partial resistance to rice blast do not show marked QTL x environment interaction when plant nitrogen status alters disease severity. **New Phytologist**, v. 168, n. 2, p. 455–464, 2005.

TAYLOR, P. Thewetting of leafsurfaces. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.16, p. 326–334, 2011.

TEIXEIRA, M. M. **Influencia del volumen de caldo y de la uniformidad de distribución transversal sobre la eficacia de la pulverización hidráulica.** Madrid: UPM-ETSIA, 1997. 310p. Tesis Doctoral.

TEIXEIRA, M. M. et al. Controle da qualidade de aplicação de fitossanitários nas propriedades agrícolas. **Engenharia na Agricultura.** Boletim Técnico, n. 11, p. 29, 2008.

THERNEAU, T. M.; GRAMBSCH, P. M. **Modeling survival data: Extending the cox model.** New York: Springer, 2000.

TOLEDO, J. **Enfermedades.** In: DÍAZ, O.; GUZMÁN, E.; TOLEDO, J.; FRANCO, P.; TERRAZAS, D.; ANTEZANA, A. **Guía de recomendaciones técnicas del cultivo de trigo.** Santa Cruz- Bolívia. 2004. 73p.

TOSA, Y.; CHUMA, I. Classification and parasitic specialization of blast fungi. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, p. 202–209, 2014.

TOSA, Y.; HIRATA, K.; TAMBA, H.; NAKAGAWA, S.; CHUMA, I.; ISOBE, C.; OSUE, J.; URASHIMA, A. S.; DON, L. D.; KUSABA, M.; NAKAYASHIKI, H.; TANAKA, A.; TANI, T.; MORI, N.; MAYAMA, S. Genetic constitution and pathogenicity of *Lolium* isolates of *Magnaporthe oryzae* in comparison with host species-specific pathotypes of the blast fungus. **Phytopathology**, v. 94, p. 454-462, 2004.

TUCKER, S. L.; TALBOT, N. J. Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 385–417, 2001.

URASHIMA, A. S. et al. Host range, mating type, and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil. **Plant Disease**, v. 77, n. 12, p. 1211-1216, 1993.

URASHIMA, A. S. et al. Resistance spectra of wheat cultivars and virulence diversity of *Magnaporthe grisea* isolates in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 511-518, 2004.

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

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

URASHIMA, A. S.; LAVORENTI, 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**, v. 29, p. 511-518, 2004.

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

URASHIMA, A.; KATO, H. Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. **Summa Phytopathologica**, v. 20, p. 107-112, 1994.

VALENT, B.; CHUMLEY, F.G. Molecular genetic analysis of the rice blast fungus *Magnaporthea grisea*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 443-467, 1991.

VALES, M.; ANZOÁTEGUI, T.; HUALLPA, B.; CAZON, M. I. Review on resistance to wheat blast disease (*Magnaporthe oryzae* Triticum) from the breeder point-of-view: Use of the experience on resistance to rice blast disease. **Euphytica**, 214(1), 2018.

VENANCIO, J. F.; SEIXAS, C.; GOULART, A. C. P.; SANTANA, F. M. Eficiência de fungicidas no controle da brusone do trigo. REUNIÃO DA COMISSÃO CENTRO-SUL BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO, 9., 2015, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa-Trigo, 2015.

VIEDMA, L. Q. Wheat blast occurrence in Paraguay. **Phytopathology**, v. 95, p. 152, 2005.

VIEIRA, E. A. **Genética da interação: Puccinia coronata f. sp. avenae x aveia branca (Avena sativa)**. 2005. 96p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

VY, T. T. P.; HYON, G.; NGA, N. T. T; INOUE, Y.; CHUMA, I.; TOSA, Y. Genetic analysis of host-pathogen incompatibility between *Lolium* isolates of *Pyricularia oryzae* and wheat. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, p. 59-65, 2014.

WICKHAM, H. **Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**, 2nd ed., Springer, 2016. On line documentation: <http://docs.ggplot2.org/>.

WILSON, R. A.; TALBOT, N. J. Under pressure: investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p. 185–95, 2009.

WODAGENEH, A.; MATTHEWS, G. A. The addition of oils to pesticide sprays effect on droplet size. **Tropical Pest Management**, v. 27, p. 121-124, 1981.

WULFF, B. H. H.; MOSCOU, M. J. Strategies for transferring resistance into wheat: from wide crosses to GM cassettes. **Frontiers in Plant Science** 5:692, 2014. [doi:10.3389/fpls.2014.00664](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00664)

YAEGASHI, H. On the sexuality of blast fungi, *Pyricularia* spp. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**, v. 43, p. 431-439. 1977.

YAMASAKI, Y.; NIIZEKI, H. Studies on variation of the rice blast fungus *Pyricularia oryzae* Cav. I. Karyological and genetical studies on variation. **Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences**, v. 13, p. 231-273, 1965.

YASUDA, N.; TSUJIMOTO-NOGUCHI, M.; FUJITA, Y. Partial mapping of avirulence genes AVR-Pii and AVR-Pia in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 28, n. 4, p. 494–498, 2006.

YOSHIDA, K.; SAUNDERS, D. G.; MITSUOKA, C.; NATSUME, S.; KOSUGUI, S.; SAITOH, H.; INOUE, Y.; CHUMA, I.; TOSA, Y.; CANO, L. M. et al. Host specialization of the blast fungus *Magnaporthe oryzae* is associated with dynamic gain and loss of genes linked to transposable elements. **BMC Genomics**, v. 17, p. 370, 2016.

ZADOKS, J.C.; CHANG, T.T.; KONZAK, C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v.14, n. 6, p. 415-421, 1974.

ZAW, M.; AYE, S. S.; MATSUMOTO, M. Genetic characteristics of *Pyricularia grisea* and their pathotypes in Myanmar. **Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture**, v. 39, p. 103-111, 2016.

ZEIGLER, R. S.; SCOTT, R. P.; LEUNG, H.; BORDEOS, A. A.; KUMAR, J. Evidence of parasexual exchange of DNA in rice blast fungus challenges its clonality. **Phytopatology**, v. 87, p. 248-287, 1997.

ZENBAYASHI, K.; ASHIZAWA, T.; TANI, T.; KOIZUMI, S. Mapping of the QTL (quantitative trait locus) conferring partial resistance to leaf blast in rice cultivar Chubu 32. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, p. 547–552, 2002.

ZHANG, C.; ZONG, H.; ZHUGE, B.; LU, X.; FANG, H.; ZHU, J.; ZHUGE, J. Protoplast preparation and polyethylene glycol (PEG)-mediated transformation of *Candida glycerinogenes*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 21, p. 95–102, 2016.

ZHANG, H.; WU, Z.; WANG, C.; LI, Y.; XU, J. Germination and infectivity of microconidia in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **Nature Communications**, 1; 5: 4518, 2014.

ZHOU, E.; JIA, Y.; SINGH, P.; CORRELL, J. C.; LEE, F. N. Instability of the *Magnaporthe oryzae* avirulence gene AVR-Pita alters virulence. **Fungal Genetics and Biology**, v. 44, p. 1024–1034, 2007.

ZONEAMENTO AGRÍCOLA. **Zoneamento agrícola para cultivo de trigo para o estado do Rio Grande do Sul (safra 2016/2017)**. 2017. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br>. Acesso em: 20 out. 2017.