

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

***Pyricularia oryzae*: VIRULÊNCIA DE ISOLADOS,
DENSIDADE DE CONÍDIOS NO AR E EFEITO DO
NITROGÊNIO NA SUSCETIBILIDADE DO TRIGO**

ANDERSON LUIZ DURANTE DANELLI

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, abril de 2015

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

***Pyricularia oryzae*: VIRULÊNCIA DE ISOLADOS,
DENSIDADE DE CONÍDIOS NO AR E EFEITO DO
NITROGÊNIO NA SUSCETIBILIDADE DO TRIGO**

ANDERSON LUIZ DURANTE DANELLI

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Forcelini

Coorientador: Pesquisador, Dr. João Leodato Nunes Maciel

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, abril de 2015

ATA DE APROVAÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

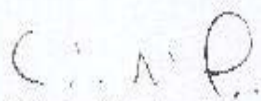
"*Pyricularia oryzae*: Virulência de isolados, densidade de conídios no ar e efeito do nitrogênio na suscetibilidade do trigo."

Elaborada por

ANDERSON LUIZ DURANTE DANELLI

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
"Doutor em Agronomia – Área de Fitopatologia"

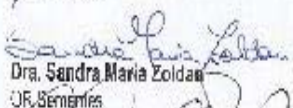
Aprovada em: 10/04/2015
Pela Comissão Examinadora



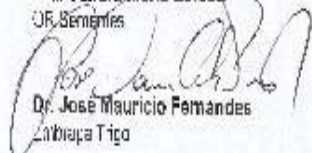
Dr. Carlos Alberto Forcellini
Presidente da Comissão Examinadora
Orientador



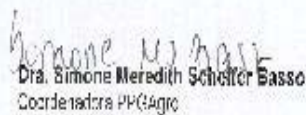
Dr. João Leodato Nunes Maciel
Embrapa Trigo



Dra. Sandra Maria Zoldan
UR-Semântica



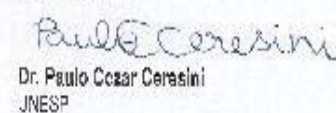
Dr. José Mauricio Fernandes
Embrapa Trigo



Dra. Simone Meredith Scheller Basso
Coordenadora PPC/Agro



Dr. Hédio Carlos Rocha
Diretor FAMV



Dr. Paulo Cezar Ceresini
JNESP

CIP – Catalogação na Publicação

D179p Danelli, Anderson Luiz Durante
Pyricularia oryzae: virulência de isolados,
densidade de conídios no ar e efeito do nitrogênio na
susceptibilidade do trigo/Anderson Luiz Durante
Danelli. – 2015.
177 f. : il. ; 25 cm.

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de
Passo Fundo, 2015.

Orientação: Prof. Dr. Carlos Alberto Forcelini.

Coorientação: Dr. João Leodato Nunes Maciel.

1. Trigo – Melhoramento genético. 2.
Fitopatologia. 3. Milho – Sementes. I. Forcelini,
Carlos Alberto, orientador. II. Maciel, João
Leodato Nunes, coorientador. III. Título.

CDU: 633.1

BIOGRAFIA DO AUTOR

Anderson Luiz Durante Danelli nasceu em 12 de abril de 1985 na cidade de Iporá, Goiás. Possui graduação em Agronomia pela Universidade do Estado de Santa Catarina (2009). Em 2010 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia Área de concentração em Fitopatologia, na Universidade de Passo Fundo, RS. Em 2012 iniciou no programa de Doutorado em Agronomia, Área de concentração em Fitopatologia, pela mesma universidade. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Fitopatologia, atuando em diversas espécies: *Triticum aestivum*, *Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Glycine max* e *Avena sativa*. Os trabalhos de pesquisa concentram-se em patologia de sementes, quantificação de danos, controle de doenças por práticas culturais, controle químico, doenças de cereais de inverno, variabilidade de fungos e resistência genética a doenças de plantas.

*Dedico à minha noiva,
Cristina, por mil razões.*

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Luiz e Cenira, à minha irmã Andréia, meu irmão Aguinaldo, a todos os meus sobrinhos, à minha noiva Cristina, à minha sogra, Maria Tereza e aos meus cunhados, Rafael e Patrícia, bem como a todos os meus familiares, obrigado.

Ao professor Dr. Carlos Alberto Forcelini, pela orientação, pelos conselhos, dedicação e comprometimento com a nossa profissão, obrigado.

Ao meu coorientador, Dr. João Leodato Nunes Maciel, pelo incentivo, compreensão, entusiasmo, dedicação e pela excelente orientação. Será sempre um exemplo de profissional, obrigado.

À CAPES, à UPF e ao PPGAgro, pela concessão da bolsa de estudos e pela oportunidade de realizar este curso, obrigado.

Aos professores do PPGAgro, pelos ensinamentos, obrigado.

À Embrapa Trigo, pela infraestrutura e por possibilitar realizar o projeto.

Ao Dr. Sirio Wietholter, pelo auxílio no desenvolvimento do capítulo do nitrogênio.

Aos funcionários e estagiários da Embrapa trigo, Ana Maria Bilibio, Ervino José Megier, Juliano Gonçalves Garcez, Claudia Cristina Clebsch, Marcos Kovaleski e Vagner Perondi, pela equipe formada durante o desenvolvimento do trabalho, obrigado.

À banca, Dra. Sandra Zoldan, Prof. Dr. Paulo Cezar Ceresini e Prof. José Maurício Cunha Fernandes, do comitê de

orientação, pelo auxílio fundamental nas análises estatísticas, na realização da tese e nas sugestões durante a defesa, obrigado.

Aos funcionários da UPF, obrigado.

Aos colegas, Camila Ranzi, Juliane Camera e Leandro O. Costa, pela amizade, incentivo, convivência e ensinamentos compartilhados durante o doutorado, obrigado.

SUMÁRIO

	Página
SUMÁRIO	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE QUADROS	xvii
RESUMO	01
ABSTRACT	02
1 INTRODUÇÃO	04
2 REVISÃO DE LITERATURA	07
2.1 Triticultura.....	07
2.2 Etiologia.....	08
2.3 Ocorrência.....	10
2.4 Ciclo da doença.....	11
2.5 Hospedeiros.....	16
2.6 Origem da brusone do trigo.....	17
2.7 Mecanismos de variabilidade de <i>Pyricularia</i> <i>oryzae</i>	19
2.8 Especialização fisiológica de <i>Pyricularia</i> <i>oryzae</i>	25
2.9 Nitrogênio (N) e sua relação com a severidade da brusone.....	28
2.10 Resistência genética.....	30
2.11 Genótipos de trigo promissores na busca de genes de resistência à brusone.....	33
2.12 Uso de marcadores moleculares para estudo da variabilidade de <i>Pyricularia oryzae</i>	37
CAPÍTULO I	40
RESUMO	40
ABSTRACT	41
1 INTRODUÇÃO	43
2 MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1 Amostragem.....	47
2.2 Obtenção de isolados monospóricos de <i>Magnaporthe</i> <i>oryzae</i>	48
2.3 Cultivo e acondicionamento de plantas.....	50
2.4 Inoculação.....	52
2.5 Avaliações.....	54
2.6 Estatística.....	54

	Página
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4 CONCLUSÕES	77
CAPÍTULO II	78
RESUMO	78
ABSTRACT	79
1 INTRODUÇÃO	81
2 MATERIAL E MÉTODOS	84
2.1 Local de estudo.....	84
2.2 Captura de conídios.....	84
2.2.1 Avaliações.....	84
2.3 Genótipos e épocas de semeadura.....	85
2.3.1 Avaliações.....	85
2.4 Estatística.....	86
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
4 CONCLUSÕES	102
CAPÍTULO III	103
RESUMO	103
ABSTRACT	104
1 INTRODUÇÃO	106
2 MATERIAL E MÉTODOS	109
2.1 Solo utilizado para o experimento.....	109
2.2 Cultivares e acondicionamento de plantas.....	110
2.3 Inoculação.....	111
2.4 Avaliação.....	112
2.5 Estatística.....	113
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	114
4 CONCLUSÕES	134
REFERÊNCIAS	135

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - Virulência de *Pyricularia oryzae* associado à cultura do trigo e plantas invasoras

Tabela		Página
1	Resultado da análise química, realizada em uma amostra retirada do substrato usado para os experimentos. Passo Fundo-RS, 2015.....	51
2	Espécies invasoras, nome científico, ano da coleta e número de isolados de <i>Pyricularia oryzae</i> obtidos. Passo Fundo-RS, 2015.....	56
3	Caracterização de genótipos de trigo e cevada quanto à distribuição de tipos de lesões foliares de brusone causadas por isolados de <i>Pyricularia oryzae</i> do trigo. Passo Fundo-RS, 2015.....	57
4	Caracterização de genótipos de trigo e cevada quanto à distribuição de tipos de lesões foliares de brusone causadas por isolados de <i>Pyricularia oryzae</i> de invasoras. Passo Fundo-RS, 2015.....	59
5	Grupos de virulência formados por isolados de <i>Pyricularia oryzae</i> do trigo, baseados nas respostas de inoculação (resistente R e suscetível S) em série diferenciadora de raças. Passo Fundo-RS, 2015.....	63
6	Grupos de virulência formados por isolados de <i>Pyricularia oryzae</i> de invasoras, baseados nas respostas de inoculação (resistente R e suscetível S) em série diferenciadora de raças. Passo Fundo-RS, 2015.....	67

CAPÍTULO III - Relação entre adubação nitrogenada na base e severidade de brusone em espigas de trigo

Tabela		Página
1	Resultado da análise química, realizada em uma amostra retirada do solo usado para os experimentos. Passo Fundo-RS, 2015.....	109
2	Correlação de Pearson (r) entre as variáveis, nitrogênio aplicado na base (N base), severidade da brusone do trigo em espigas (Severidade), nitrogênio quantificado no solo nos estádios 12-Z (N 12), 45-Z (N 45) e 71-Z (N 71), e nitrogênio quantificado em folhas antes da inoculação (N folha), nos genótipos BRS 229 e BRS 220. Passo Fundo-RS, 2015.....	132

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIOGRÁFICA

Figura		Página
1	Condióforos e conídios de <i>Pyricularia oryzae</i> (A). Peritécio, ascas e ascosporos de <i>Magnaporthe oryzae</i> (B).....	10
2	Ciclo da brusone do trigo causada por <i>Pyricularia oryzae</i>	12

CAPÍTULO I - Virulência de *Pyricularia oryzae* associado à cultura do trigo e plantas invasoras

Figura		Página
1	Distribuição dos grupos de virulência de <i>Pyricularia oryzae</i> , inoculados em plântulas de trigo e cevada no Paraná (19 isolados), Mato Grosso do Sul (34 isolados), Rio Grande do Sul (15 isolados), Minas Gerais (25 isolados), Goiás (28 isolados), São Paulo (6 isolados) e Distrito Federal (17 isolados). As letras maiúsculas no eixo-y, representam os diferentes grupos de virulência e as barras escuras do eixo-x representam a proporção de cada grupo de virulência em cada estado. Passo Fundo-RS, 2015.....	71
2	Distribuição dos grupos de virulência de <i>Pyricularia oryzae</i> , inoculados em espigas destacadas de trigo e cevada no Paraná (19 isolados), Mato Grosso do Sul (34 isolados), Rio Grande do Sul (15 isolados), Minas Gerais (25 isolados), Goiás (28 isolados), São Paulo (6 isolados) e Distrito Federal (17 isolados). As letras maiúsculas no eixo-y, representam os diferentes grupos de virulência e as barras escuras do eixo-x representam a proporção de cada grupo de virulência em cada estado. Passo Fundo-RS, 2015.....	75

CAPÍTULO II - Monitoramento de conídios de *Pyricularia oryzae* do trigo e incidência da brusone em Passo Fundo, Rio Grande do Sul

Figura	Página	
1	Registros diários da dispersão de conídios de <i>Pyricularia oryzae</i> em relação à temperatura média (A), precipitação pluvial total (B), umidade relativa do ar (C) e mês do ano (D) durante o período de 2 de fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, Passo Fundo-RS, 2015.....	90
2	Árvore de classificação para prevalência de número de conídios. Passo Fundo-RS, 2015.....	92
3	Precipitação pluvial e frequência de conídios de <i>Pyricularia oryzae</i> capturados por dia, entre 2 fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, Passo Fundo-RS, 2015.....	94
4	Modelo binomial negativo inflado de zero, montado com contagens diárias de conídios de <i>Pyricularia oryzae</i> , capturados entre 2 de fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, em Passo Fundo, RS, Brasil. Os preditores à base de tempo foram precipitação total por dia e o número de horas em que a temperatura estava entre 15 e 35 °C e umidade relativa do ar > 93 %. Passo Fundo-RS, 2015.....	96
5	Curva ROC para o modelo de regressão logística. A área sob a curva foi de 73% (IC= 62,7-81,4%), Passo Fundo-RS, 2015.....	98
6	Incidência de brusone do trigo em espigas, causada por <i>Pyricularia oryzae</i> , nos genótipos BRS 179 e BRS 296 em diferentes épocas de cultivo, em Passo Fundo-RS, 2015.....	100

CAPÍTULO III - Relação entre adubação nitrogenada na base e severidade de brusone em espigas de trigo

Figura	Página
<p>1 Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base, nos teores de nitrogênio no solo, nos estádios 12-Z [duas folhas (A)], 45-Z [emborrachamento (B)] e 71-Z [grão aquoso (C)], genótipo BRS 220, primeiro experimento. Passo Fundo-RS, 2015.....</p>	115
<p>2 Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base, sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, genótipo de trigo BRS 220, primeiro experimento. Passo Fundo-RS, 2015.....</p>	116
<p>3 Efeito do nitrogênio quantificado no solo, sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, determinado nos estádios 12-Z [duas folhas (A)], 45-Z [emborrachamento (B)] e 71-Z [grão aquoso (C)], genótipo BRS 220, primeiro experimento. Passo Fundo-RS, 2015..</p>	118
<p>4 Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base, nos teores de nitrogênio no solo, nos estádios 12-Z [duas folhas (A e D)], 45-Z [emborrachamento (B e E)] e 71-Z [grão aquoso (C e F)], em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015...</p>	120
<p>5 Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.....</p>	122
<p>6 Efeito da dose de nitrogênio, sobre a quantidade de N em folhas, em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.....</p>	125

7	Efeito do nitrogênio quantificado no solo, sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, determinado nos estádios 12-Z [duas folhas (A e D)], 45-Z [emborrachamento (B e E)] e 71-Z [grão aquoso (C e F)], em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.....	127
8	Efeito do nitrogênio em folhas sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, nos genótipos BRS 229 e BRS 220, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.....	130

LISTA DE QUADROS**CAPÍTULO I - Virulência de *Pyricularia oryzae* associado à cultura do trigo e plantas invasoras**

Quadro		Página
1	Representação do método transecto, utilizado para as coletas das espigas sintomáticas de trigo. Passo Fundo-RS, 2015.....	48

***Pyricularia oryzae*: VIRULÊNCIA DE ISOLADOS, DENSIDADE DE CONÍDIOS NO AR E EFEITO DO NITROGÊNIO NA SUSCETIBILIDADE DO TRIGO**

ANDERSON LUIZ DURANTE DANELLI¹

RESUMO - A brusone do trigo, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae*, é uma doença limitante para a cultura do trigo no Brasil. Para verificar a variabilidade patotípica em uma população de isolados de *P. oryzae* do trigo e de poáceas invasoras, foi desenvolvido um programa semanal de inoculações em uma série diferenciadora de raças. Os isolados foram caracterizados em relação à resposta em plântula e planta adulta (espiga destacada). O espectro de virulência, apresentado pelos isolados amostrados, caracterizou esta população com um grau elevado de variabilidade e com a presença de isolados de poáceas invasoras com características de virulência similares aos isolados de trigo. Para verificar a relação entre propágulos de *P. oryzae* dispersos pelo ar e as variáveis meteorológicas e a ocorrência de brusone em Passo Fundo, Rio Grande do Sul, foi monitorado a presença ou ausência de conídios de *P. oryzae* entre 2 de fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, com o auxílio de armadilha coletora de esporos e lâminas de vidro untadas com vaselina. Foi verificada a presença de um fluxo de conídios de *P. oryzae* em Passo Fundo. Os preditores climáticos mais fortes foram umidade relativa do ar média, temperatura média diária, precipitação menor que 5 mm dia⁻¹ e

¹ Eng. Agr., doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

números de horas em que a temperatura estava entre 15 e 35 °C e umidade relativa do ar > 93%. A influência do aumento de doses de nitrogênio aplicadas na base sobre a severidade da brusone em espigas de trigo foi avaliada com experimentos desenvolvidos com dois genótipos de trigo. A aplicação de doses crescentes de N na base, até 200 kg ha⁻¹, sob a forma de ureia aumentou a severidade da brusone nas espigas. Cultivares de trigo com graus diferentes de resistência à brusone, não diferiram quanto à reação à doença quando submetidas à aplicação de doses crescentes de N na base.

Palavras-chave: resistência genética, variabilidade, esporo, severidade da doença.

***Pyricularia oryzae*: VIRULENCE OF ISOLATES, CONIDIA DENSITY IN THE AIR AND NITROGEN EFFECTS ON WHEAT SUSCEPTIBILITY**

ABSTRACT - The wheat blast, caused by the fungus *Pyricularia oryzae*, is a limiting disease for the wheat crop in Brazil. To check the pathotype variability in a population of isolates of *P. oryzae* from wheat and other Poaceae specie, we developed a weekly inoculation schedule on a series of differential varieties. The isolates were characterized in relation to the response on seedlings and on adult plants (detached head). The virulence spectrum indicated a population with a high degree of variation and the occurrence of the isolates from invasive from invasive grasses similar virulence to wheat isolates. To determine the relationship of *P. oryzae* airborne propagules and

weather variables and the occurrence of blast in Passo Fundo, Rio Grande do Sul, we monitored the presence or absence of conidia of *P. oryzae* between February 2nd 2013 and June 7th, 2014, with the help of a collecting spore trap and glass slides smeared with vaseline. The presence of conidia flow *P. oryzae* in Passo Fundo, was detected. The important predictors of spores release were average relative humidity, mean daily temperature, less than 5 mm day⁻¹, precipitation numbers of hours in which the temperature was between 15 and 35 °C and relative humidity > 93%. The influence of the increase of nitrogen applied at the base of the plants, on the severity of the blast on wheat heads, was evaluated on wheat genotypes. The application of increasing doses of N in the base, up to 200 kg ha⁻¹ of urea, increased the severity of head blast. Wheat cultivars with different degrees of blast resistance did not differ in their reaction to the disease when submitted to the application of increasing doses of N in the base.

Key words: genetic resistance, variability, spore, disease severity.

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) se destaca como o principal cereal produzido no Brasil devido às questões sociais e econômicas que envolvem esta cultura. Entretanto, seu cultivo apresenta muitas limitações, principalmente, o aparecimento de doenças durante o ciclo da cultura, ocasionando a redução de produtividade e qualidade de grãos (ARRUDA et al., 2005).

A brusone do trigo, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* (Cavara), ocorre, com maior frequência, no Norte do Paraná, Sul de São Paulo, Mato Grosso do Sul e demais regiões do cerrado brasileiro onde o cereal é cultivado (SANTANA et al., 2013). Esporadicamente, ocorre no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, dependendo das condições climáticas, podendo seus sintomas serem visualizados principalmente na cultura do trigo (*Triticum aestivum*) e cevada (*Hordeum vulgare*) (EMBRAPA, 2014).

A necessidade de condições ambientais específicas no estágio de espigamento da planta caracteriza essa doença como de ocorrência esporádica em muitas regiões (ALVES & FERNANDES, 2006). As condições ambientais requeridas à infecção são temperaturas entre 15 a 30 °C e 15 a 40 horas de molhamento (CARDOSO et al., 2008). Umidade relativa do ar $\geq 90\%$ e temperatura em torno de 28 °C favorecem a produção de conídios (ALVES & FERNANDES, 2006).

Os conídios caracterizam-se como secos e leves e podem ser removidos das lesões esporulativas pelo vento, sendo transportados a longas distâncias. A liberação e o transporte ocorrem

durante a noite, atingem o máximo entre meia-noite e 6 h, com umidade relativa do ar alta (100%) e temperaturas em torno de 22 °C (WEBSTER & GUNELL, 1992; ESPINOZA & SHOHARA, 2003).

Os danos estão relacionados com a região de cultivo, com as condições climáticas e o genótipo utilizado, podendo chegar até 51% (GOULART & PAIVA, 2000; GOULART et al., 2007).

No Brasil, durante ano, é possível encontrar o patógeno sobrevivendo em hospedeiros alternativos pertencentes à família Poaceae. O gênero *Pyricularia* apresenta ampla gama de hospedeiros, podendo ser encontrado em mais de oitenta hospedeiros de diferentes espécies botânicas (PURCHIO & MUCHOVEJ, 1994).

O grande número de hospedeiros no qual o patógeno pode ser encontrado pode ser indicativo da alta variabilidade desse fungo. Embora existam poucas informações sobre a existência de raças patogênicas de *P. oryzae* do trigo, há evidências que a variabilidade genética do patógeno seja importante para a virulência do fungo (CRUZ, 2010). Além disso, não se tem conhecimento sobre a importância e/ou influência dos isolados oriundos de espécies invasoras para a composição da variabilidade.

O espectro de virulência de isolados de *P. oryzae* do trigo indicou diferentes padrões em duas populações divididas geograficamente (URASHIMA et al., 2004). Maciel et al. (2014), estudando a estrutura genética e a especialização fisiológica de populações de *P. oryzae* do trigo, com ferramentas moleculares e uma série diferenciadora de raças, descreveram que populações geográficas do fungo não são subdivididas, apresentando um elevado fluxo gênico a

longa distância, e a presença de grupos de virulência formando a estrutura populacional de *P. oryzae* na região Centro-Sul do Brasil.

Outro fator não estudado em relação à brusone do trigo é o efeito de adubações nitrogenadas no aumento da intensidade da doença. Em arroz (*Oryza sativa*), a quantidade, o modo de aplicação, a forma disponível e a época de aplicação de N podem ser responsáveis pelo aumento da intensidade da brusone (PRABHU & FILIPPI, 2006). Silva-Lobo et al. (2012) ao avaliarem a influencia de diferentes níveis de adubação nitrogenada na severidade da brusone do arroz e no teor de clorofila, encontraram correlação positiva, tanto para severidade da doença, como para o teor de clorofila nas folhas bandeiras.

O presente estudo foi realizado com os objetivos de: a) identificar a espécie ou gênero da família Poaceae com maior influência potencial como fonte de inóculo para brusone do trigo e na variabilidade do agente causal; b) comparar isolados de *P. oryzae* do trigo e poáceas invasoras de acordo com as respostas que esses isolados promovem em genótipos com reações diferenciais à brusone do trigo em termos qualitativos e quantitativos nos estádios de plântula e planta adulta, respectivamente; c) verificar a ocorrência de grupos raciais formando a estrutura populacional de *P. oryzae* no Brasil; d) verificar a distribuição populacional de *P. oryzae* do trigo e a intensidade da doença em Passo Fundo, Rio Grande do Sul; e e) verificar a influência da adubação com nitrogênio na severidade da brusone do trigo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Triticultura

No mundo, o trigo é o segundo cereal mais produzido, representa cerca de 30% da produção mundial de grãos. Destacam-se como principais produtores, a China, União Européia, Estados Unidos, Índia, Rússia, Canadá e Argentina (BRASIL, 2014).

As primeiras sementes desse cereal foram trazidas para o Brasil em 1534, por Martim Afonso de Souza, através da Capitania de São Vicente. No primeiro momento, uma das dificuldades de adaptação da cultura foi em relação ao clima, que apresentava temperaturas elevadas. A partir do século XVIII, a cultura começou a ser explorada economicamente no Rio Grande do Sul, entretanto no começo do século XIX, uma epidemia de ferrugem impossibilitou o cultivo deste cereal, que só foi retomado nos anos 20 do século passado (ABITRIGO, 2014).

Nesse período, várias estratégias para desenvolver o trigo no Brasil foram arquitetadas, dentre estas, importações de sementes não adaptadas, criação de estações experimentais para o trigo, e com isso, o êxito alcançado com o lançamento do trigo Frontana na década de 1940. Entretanto, as fraudes do trigo-papel e um acordo de compra do trigo americano levaram a triticultura brasileira a ficar em segundo plano (BACALTCHUK et al., 2008).

No Brasil, o trigo é explorado economicamente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, tendo sua produção destinada ao processo industrial (94,5 %), alimentação animal (3,0 %) e reserva de

sementes (2,5 %) (DE MORI & IGNACZAK, 2011). Neste contexto, a produção de trigo é inferior à demanda, impossibilitando a exportação de grãos e a autossuficiência da cultura (BRASIL, 2014). Este descompasso, entre a produção e o consumo de trigo no Brasil, é causado principalmente por algumas limitações resultantes da interação de agentes bióticos, com agentes abióticos, como excesso de precipitação hídrica em determinados estádios de desenvolvimento da cultura. No estado do Paraná, maior produtor de trigo brasileiro, na safra 2012/2013 a produtividade média foi em torno de 2.730 kg ha⁻¹, ou seja, 21,5 % menor, comparando-a a safra anterior, isso causado por geadas e o excesso de chuvas em junho, que favoreceu o desenvolvimento de doenças causadas por fungos, especialmente a brusone (CONAB, 2014).

2.2 Etiologia

A brusone do trigo tem como característica, causar redução econômica, devido ao seu ataque, levando o declínio da cultura pela redução no rendimento, na qualidade dos grãos e no peso de grãos por espiga (GOULART & PAIVA, 2000; GOULART et al., 2007).

O agente causal desta doença encontra-se na natureza na forma anamórfica (*Pyricularia oryzae*) e a forma teleomórfica (*Magnaporthe oryzae*) relatada somente em laboratório (OU, 1985; NOTTEGHEM & SILUE, 1992). No entanto, em arrozais na Índia, a ocorrência da fase sexuada na natureza foi relatada por Kumar et al. (1999).

Em sua forma sexuada pertence à classe Ascomicetes, e na forma assexuada à classe Deuteromicetes. Primeiramente o fitopatógeno foi descrito como *P. grisea* Sacc., isolado de *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. Entretanto, Cavara observou uma espécie muito semelhante isolada de arroz, descrevendo como *P. oryzae*. Hamer et al. (1989) demonstraram que isolados de *Pyricularia* têm sequências genéticas repetitivas, que variam de acordo com o hospedeiro. Pelas diferenças filogenéticas entre os isolados foi possível diferenciá-los em espécies. Neste sentido, isolados oriundos de arroz, trigo e de outras poáceas foram denominados de *P. oryzae*, isolados associados à hospedeiros do gênero *Digitaria* foram classificados como *P. grisea* (COUCH & KOHN, 2002).

O fungo, em sua forma assexual, apresenta frutificação de coloração cinza clara, com conidióforos simples ou em grupos, sem ramificações, de formas retas ou sinuosas, geniculados no ápice e podendo variar sua coloração de parda a clara. Os conídios solitários, terminais ou laterais, hialinos, lisos, septados e com presença de hilo 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 (PURCHIO & MUCHOVEJ, 1994).

Na forma sexual ocorre a formação de ascomas do tipo peritécio, ostiolados, sem estroma, rostrados e perifises esparsas e delgadas. Dentro dos peritécios ocorre a formação de ascos, unitunicados, com anel refrativo e não amilóide. Cada asca da origem a oito ascósporos, com três septos, fusiformes, curvados e hialinos

(PURCHIO & MUCHOVEJ, 1994; MASSOLA Jr. & KRUGNER, 2011).

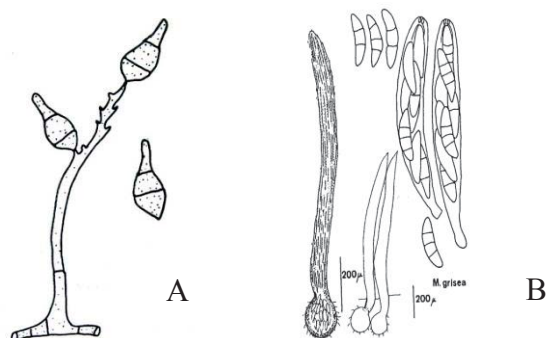


Figura 1- Condióforos e conídios de *Pyricularia oryzae* (Fonte: Adaptado de BARNETT & HUNTER, 1972) (A). Peritécio, ascas e ascosporos de *Magnaporthe oryzae* (Fonte: Adaptado de PURCHIO & MUCHOVEJ, 1994) (B).

2.3 Ocorrência

A brusone do trigo ocorre com mais frequência no Brasil, Paraguai e Bolívia, entretanto, no norte da Argentina esta doença já foi relatada (CABRERA & GUTIÉRREZ, 2007). Em 2011, nos Estados Unidos, foram encontrados espigas de trigo infectadas por *P. oryzae*. Posteriormente foi verificado que não se tratava de *P. oryzae* do trigo e, sim, um patótipo de *P. oryzae* do azevém. Esse relato indica a presença de patótipos nativos com capacidade de infectar

espigas de trigo nos Estados Unidos (BOCKUS et al., 2013). Porém, não existem relatos de *P. oryzae* do trigo fora do Continente Sul Americano (REIS et al., 2013 MACIEL et al., 2014).

2.4 Ciclo da doença

O ciclo da brusone inicia com a disseminação dos conídios produzidos nas lesões de hospedeiros secundários, e/ou em restos culturais, que posteriormente são depositados na superfície das plantas de trigo (Figura 2).

a) Fonte de inóculo: O patógeno pode ser encontrado sobrevivendo principalmente em sementes, restos culturais e hospedeiros secundários. Na semente, o fungo pode ser encontrado na forma de micélio dormente no interior da semente ou na superfície, entretanto, diferente de outros patossistemas, a semente não se constitui na principal fonte de inóculo, devido à grande gama de hospedeiros onde *P. oryzae* pode ser encontrada. O patógeno pode permanecer viável em sementes por até 22 meses (REIS et al., 1995), neste caso o patógeno permanece viável durante o armazenamento da semente que geralmente é de 6-7 meses. A semente infectada servirá de fonte de inóculo primária para a próxima safra. A presença do patógeno em sementes pode corresponder a uma eficiência de transmissão de 32 a 64% (TOLEDO, 2004). Nos restos culturais do arroz, *P. oryzae* pode ser encontrado na forma de micélio dormente ou conídios, localizados em resíduos de plantas no interior dos seus tecidos (OU, 1985). Os hospedeiros secundários constituem a principal fonte de inóculo para *P. oryzae*. A entressafra é o intervalo de tempo em que o hospedeiro

está ausente, neste momento o patógeno faz uso dos hospedeiros secundários, nos quais serão produzidos propágulos que irão contaminar a nova plantação (REIS et al., 2013).

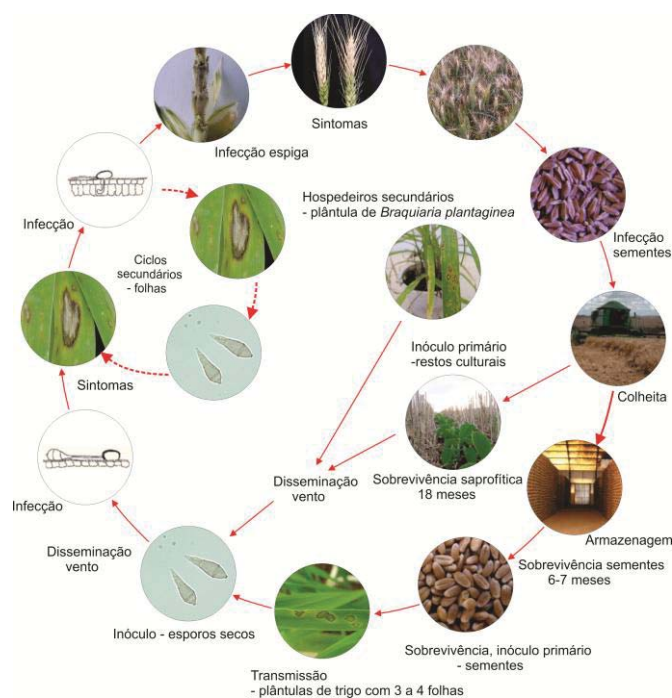


Figura 2- Ciclo da brusone do trigo causada por *Pyricularia oryzae*.

b) Esporulação e disseminação: Em condições ambientais favoráveis, os conídios são produzidos em qualquer tecido vegetal infectado, podendo ser tanto em trigo, como em hospedeiros secundários. 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, tendo sido encontrados clones de *P. oryzae* até 1.000 m de distância de lavouras originalmente infectadas (URASHIMA, et al.,

2007). A água é outro agente de transporte importante para os conídios de *P. oryzae* a curtas distâncias. Geralmente, esse tipo de transporte é responsável por disseminar os conídios entre plantas vizinhas por gotas de orvalho e/ou de chuva (HAMER et al., 1988; BOURETT & HOWARD, 1990; TALBOT, 2003). 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 & SHOHARA, 2003). Outro estudo relatou que o transporte e liberação dos conídios ocorrem com temperaturas entre 15 a 35 °C, entre as 18h e as 2h (TOLEDO, 2004). Com a deposição do inóculo junto ao hospedeiro, ocorre a inoculação.

c) Deposição, inoculação, germinação, penetração e colonização:

Ao entrar em contato com o hospedeiro através da deposição ou impacto, o conídio necessita de água livre para germinar. Nesse caso, além da água servir como catalizador para que os processos de germinação e infecção ocorram, também serve como estímulo para que o conídio libere uma mucilagem presente no espaço periplásmico, armazenada no ápice do conídio, que vai ter função de auxiliar na aderência do conídio na superfície do hospedeiro (LEITE et al., 2001; PRABHU & FILIPPI, 2006; EBBOLE, 2007). Posteriormente começa a ocorrer as primeiras transformações no conídio, tendo início o processo de germinação pela emissão do tubo germinativo, na célula basal ou apical do conídio. Todo esse processo é sustentado pela degradação de carboidratos, servindo como fonte de energia para a diferenciação do tubo germinativo em célula gancho e depois em apressório (LENGELER et al., 2000; PRABHU & FILIPPI, 2006; RIBOT et al., 2008). O aumento de volume no ápice do tubo

germinativo caracteriza a célula-gancho, e nesta região ocorre a formação do apressório 2 a 4 horas após a disseminação do conídio (HOWARD & VALENT, 1996). Nesse momento começa a ocorrer a biossíntese de melanina, que age aumentando a espessura da parede externa do apressório de 100 nm para 120 nm. Na base do apressório esta localizado o poro apressorial, por onde ocorre a passagem de um tubo de penetração que vai penetrar na cutícula do hospedeiro (HOWARD & VALENT 1996). A camada de cutícula é rompida, com o apressório exercendo uma pressão de turgor de aproximadamente 80 atm (HOWARD et al., 1991). O tubo de penetração, após entrar na célula do hospedeiro diferencia-se em uma hifa especializada a qual origina um grampo de conexão. Nessa fase, todo o conteúdo do núcleo e do citoplasma do apressório é transferido para a hifa primária (HOWARD & FERRARI 1989; HOWARD & VALENT 1996; EBBOLE, 2007). No interior do hospedeiro, a colonização ocorre através de plasmodesmas, havendo a passagem célula-célula pelas hifas infectivas (KANKANALA et al., 2007). Após cinco dias da penetração, a produção de toxinas pelo patógeno é intensa, no hospedeiro começa ocorrer a destruição dos tecidos e a exteriorização dos sintomas (RIBOT et al., 2008).

d) Produção de inóculo: a esporulação tem como catalizador a temperatura, podendo o período latente variar de 13 a 18 dias nas temperaturas de 9 -11 °C, e 4 a 6 dias nas temperaturas de 26 – 28 °C (TENG et al., 1991). 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 & ASAI, 1961).

e) **Sintomatologia:** devido a sua virulência, *P. oryzae*, pode levar a planta a exteriorizar sintomas em toda a parte aérea, entretanto os sintomas mais comuns desta doença são observados em espigas, podendo ainda serem encontrados em folhas, colmos, bainhas, nós, pedúnculo, glumas, aristas e sementes (IGARASHI, 1988).

Os sintomas podem variar em tamanho, forma e coloração dependendo do estágio de desenvolvimento da planta e do grau de resistência do genótipo. Nas folhas, ocorre a formação de lesões de formato elíptico, podendo, em alguns casos, serem estriadas entre as nervuras do limbo foliar. No início, o centro das lesões apresentam coloração castanho claro variando a castanho escuro, com margem de coloração castanha-avermelhada ou marrom-claro. Em genótipos de trigo suscetíveis as lesões podem aumentar de tamanho, ocorrendo à frutificação do patógeno, tornando as lesões com aspecto acizentado (PICININI & FERNANDES, 1995; TOLEDO & ESCOBAR, 2002; TOLEDO, 2004, LIMA, 2004).

Os sintomas no colmo, bainha e glumas apresentam-se semelhantes com lesões elípticas a ovaladas, com centro claro e bordas de coloração castanha, medindo 2 a 22 mm de comprimento por 1 a 3 mm de largura. No nó, as lesões apresentam uma coloração escura, com formato circular, podendo causar o estrangulamento do colmo (TOLEDO & ESCOBAR, 2002; IGARASHI & BALAN, 2004; ALVES, 2005; LAU et al., 2011).

Nas espigas pode ocorrer o branqueamento total ou parcial da mesma em consequência da lesão formada no ráquis da espiga. A lesão no ráquis, apresenta coloração escura-brilhante, ficando restrita às proximidades do ponto de infecção. O branqueamento da parte

superior da espiga ocorre pela interrupção da translocação de água e nutrientes, causada pela infecção do patógeno no ráquis, impedindo o pleno enchimento de grãos, causando o sintoma de grãos chochos (LAU et al., 2011; LIMA, 2004; TOLEDO, 2004). Os danos são dependentes do momento que ocorre a infecção, sendo menores em infecções tardias, ou seja, no estágio de maturação (IGARASHI & BALAN, 2004).

As plântulas podem apresentar necrose em coleóptilos, estrangulamento, amarelecimento e, 15 a 21 dias após a semeadura, morte de plântulas (TOLEDO, 2004).

2.5 Hospedeiros

O gênero *Pyricularia* apresenta ampla gama de hospedeiros, podendo ser encontrado em mais de oitenta hospedeiros, de diferentes espécies botânicas. Entre esses hospedeiros estão incluídas espécies das famílias Poaceae, Cyperaceae, Zingiberaceae, Cannaceae, Commolinaceae, Musaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Polygonaceae, Lauraceae, Juncaceae e Sterculiaceae (PURCHIO & MUCHOVEJ, 1994).

O papel de isolados de *P. oryzae* oriundos de poáceas, na variabilidade de isolados de arroz, é governado pela capacidade de coexistir migração ou difusão de genes entre estas populações, sendo este processo denominado de fluxo gênico. Em arroz esse mecanismo não é conhecido, sendo que os resultados apresentados, quanto ao papel das poáceas na perpetuação de *P. oryzae* do arroz, indicam que a maioria dos isolados presentes nas plantas daninhas não infectam o

arroz (PRABHU & FILIPPI, 2006). Kato & Yamaguchi (1980), no Japão, demonstraram que nenhum isolado de poáceas, encontrado no entorno de lavouras de arroz, foi patogênico a esse cereal.

Neste sentido, a estrutura populacional de isolados de *P. oryzae* do arroz, pode explicar esta baixa troca de alelos, por serem constituídos na grande maioria de fêmea estéril e somente podem trocar genes através de cruzamentos com isolados hermafroditas provenientes de outros hospedeiros (TRINDADE et al., 2006).

Invasoras, como *Setaria geniculata* (Lam.) Beauv. e *Urochloa plantaginea* (Link.) Webster., são hospedeiras de *P. oryzae* que podem estar influenciando a alta variabilidade deste fungo (URASHIMA & KATO, 1998).

O grande número de hospedeiros onde o fungo pode ser encontrado, pode ser um indicativo do alto grau de variabilidade do patógeno.

2.6 Origem da brusone do trigo

No Brasil, a brusone do trigo foi constatada em 1985, no Paraná (IGARASHI et al., 1986). Este o primeiro relato causando danos significativos em trigo em infecção natural. Em sequência, foi descrita nos estados do Mato Grosso Sul (GOULART et al., 1989), Rio Grande do Sul (PICININI & FERNANDES, 1990) e Goiás (PRABHU et al., 1992).

O gênero *Pyricularia* também ocasiona danos em arroz e nessa cultura em especial, já foram documentados os mecanismos de variabilidade que geram raças diferentes oriundas de uma mesma

lesão (OU & AYAD, 1968), e que conferem uma maior adaptação a hospedeiros distintos (CRUZ et al., 2010).

Após *Pyricularia* ser descrita em trigo, causando danos significativos, várias hipóteses foram levantadas sobre o hospedeiro responsável pela origem da mesma, a mais concreta, indicava o arroz como possível hospedeiro da brusone do trigo (MEHTA et al., 1992), entretanto, estudos moleculares e de patogenicidade, indicaram a presença de diferenças filogenéticas e de grupos de variabilidade entre isolados de arroz e trigo (COUCH & KOHN et al., 2002, MACIEL et al., 2014). Nesse contexto, surgiram novas hipóteses levando em consideração a especiação das populações do fungo, ou seja, o processo evolutivo no qual se formam as espécies de seres vivos. Entre os processos de especiação pode-se destacar a alopátrica, e a simpátrica.

A especiação alopátrica é descrita como a mais comum, caracteriza-se por ocorrer devido à formação de uma barreira geográfica ou física entre uma população, subdividindo-a em duas subpopulações, interrompendo o fluxo gênico. As mudanças que ocorrem nas subpopulações devido a mutações, recombinações e seleção podem se acumular diferentemente levando ao isolamento reprodutivo e a especiação (BROWN & LOMOLINO, 2006). A especiação simpátrica, ocorre quando dois grupos de indivíduos de uma mesma população divergem dentro da mesma área geográfica, formando duas populações de espécies diferentes (HUBER et al., 2007).

Evidências demonstram que populações simpátricas de *P. oryzae* adaptadas ao arroz e trigo apresentam baixíssima migração

histórica entre os isolados obtidos das duas culturas, sugerindo que a população que infecta o trigo tem origem de uma população desconhecida infestante de outras poáceas, distinta do arroz (CERESINI et al., 2011). Assim, foi descrita uma nova hipótese da origem da brusone do trigo, e que parece ser a mais plausível. Através de propagação clonal de uma linhagem epidêmica de *P. oryzae* de populações de outras gramíneas hospedeiras, associada a um efeito “gargalo de garrafa” na população original de *P. oryzae*, sendo este processo influenciado pela intensificação e a propagação do trigo no sul do Brasil, permitiu a propagação e dispersão destes clones adaptados ao trigo (CERESINI et al., 2011; MACIEL et al., 2014).

Neste sentido, *P. oryzae* do trigo apresenta um sistema reprodutivo misto, no qual a reprodução sexual é seguida pela dispersão de clones (MACIEL et al., 2014), e que poáceas, influenciam no desenvolvimento da brusone nas lavouras de trigo do Brasil.

2.7 Mecanismos de variabilidade de *Pyricularia oryzae*

Em arroz destacam-se como mecanismos que podem estar associados com a variabilidade genética de *P. oryzae*: a recombinação sexual, a parassexual e a ocorrência de mutações.

A recombinação sexual contribui com a diversidade genética através da meiose onde ocorre uma divisão reducional com a formação de um talo haploide, havendo a fusão de núcleos, surgem combinações de material genético e a consequente apresentação de genótipos e fenótipos diversos (GALBIERI & URASHIMA, 2008).

Assim, em organismos que apresentam somente o ciclo assexuado, os esporos são produzidos por mitose (clones) e, portanto, com baixíssima variabilidade genética (MASSOLA Jr & KRUGNER, 2011).

Os esporos sexuais são as estruturas reprodutivas que resultam de um processo de plasmogamia, seguido de cariogamia e de meiose. Os ascomicetos têm como característica a produção de um corpo de frutificação do tipo ascoma, chamado de peritécio, contendo em seu interior as ascas, nas quais estão os esporos sexuais, os ascósporos (ALEXOPOULOS et al., 1996).

O fungo *P. oryzae* é heterotálico (heteros= dissemelhante), com um sistema de acasalamento controlado por dois alelos diferentes, MAT1-1 e MAT1-2 em um único locus, com genes adicionais controlando a sua fertilidade (ciclo sexual) (KANG et al., 1994; TEBEEST et al., 2007, MACIEL, 2011; MACIEL et al., 2014). A recombinação sexual só vai ocorrer entre isolados parentais, e se estes indivíduos forem férteis e compatíveis (PRABHU & FILIPPI, 2006). Algumas hipóteses sugerem a existência de um desequilíbrio na natureza entre as porcentagens de MAT1-1 em relação a MAT1-2, inexistindo assim tipos compatíveis na maioria das regiões produtoras de arroz e trigo, dificultando a ocorrência da reprodução sexuada, predominando assim populações clonais do patógeno (MEKWATANAKARN et al., 1999).

Em trigo, trabalhos com isolados monospóricos do Paraná, mostraram predomínio de MAT1-1, e isolados do Mato Grosso do Sul, os dois alelos, 1 e 2 (BRUNO & URASHIMA, 2001). Este fato também foi descrito para a brusone do arroz, onde prevaleceu a

ocorrência do tipo compatível MAT1-1 (KATO & YAMAGUCHI, 1982; YAEGASHI & YAMADA, 1986; NOTTEGHEM & SILUÉ, 1992). Além disso, populações de *P. oryzae* infectantes de *Eleusine coracana*, originadas do leste da África revelaram um contínuo padrão de variação genética, não apresentando linhagens clonais, com a presença de uma vasta gama de haplotipos. Neste mesmo trabalho, a distribuição dos tipos de acasalamento MAT1-1 e MAT1-2 apresentaram distribuição que variou de 47,0 a 53,0 %, com fertilidade variando de 84,0 a 89,0 % e a predominância de 64,0 % dos isolados hermafroditas, sugerindo assim alto risco de ocorrência da reprodução sexual (TAKAN et al., 2012).

Assim, uma das hipóteses é que na natureza as populações do fungo estão em desequilíbrio entre MAT1-1 e MAT1-2, comprometendo a existência da forma sexual. Em populações do patógeno em campo de trigo, de quatro analisadas, três apresentaram em algum dos isolados monospóricos obtidos, uma característica sexual, bem como o predomínio de MAT1-1 (MACIEL et al., 2014).

Na Tailândia e na Índia, próximo ao centro de origem do arroz, isolados de *P. oryzae* sexualmente férteis, foram encontrados na natureza (KUMAR et al., 1999; MEKWATANAKARN et al., 1999). O primeiro relato brasileiro de isolados compatíveis foi com a coleta de *U. plantaginea* e *S. geniculata*, infestantes de campos de trigo comercial do Mato Grosso do Sul. Os isolados de ambas as invasoras foram cruzados com isolados de trigo, em laboratório, havendo a formação de peritécios. Isto mostrou que a ocorrência sexual na natureza depende de condições ambientais específicas, e possui efeito direto na variabilidade do patógeno (BRUNO & URASHIMA, 2001).

O ciclo sexual ocorre, muitas vezes, após sucessivos ciclos assexuais, quando as condições ambientais tornam-se desfavoráveis para o patógeno, no qual deverá sobreviver às custas dos seus ascomas e ascósporos (MASSOLA Jr & KRUGNER, 2011).

A recombinação parassexual, juntamente com mutações é apontada como a principal causa da variabilidade na patogenicidade de *P. oryzae* em arroz (NOGUCHI, 2011). O ciclo parassexual, foi descrito primeiramente em *Aspergillus nidulans* (PONTECORVO, 1956), neste ciclo, o ponto inicial é a anastomose de hifas, seguida de uma heterocariose. Este ciclo é caracterizado pela ausência de estágio sexual, ou seja, todo o processo de recombinação genética ocorre em micélio vegetativo (PONTECORVO, 1956; PRABHU & FILIPPI, 2006). A heterocariose pode ocorrer através de uma mutação em clone e/ou pela anastomose de hifas entre células vegetativas distintas (AZEVEDO, 2008). Ocorrendo a compatibilidade dos núcleos, os mesmos sofrem fusão, e cariogamia, assim os núcleos diploides podem aumentar em número através de mitoses (ZEIGLER, 1998). Durante mitose, alguns dos núcleos diploides podem sofrer recombinação por crossing-over gerando variabilidade. Outros núcleos diploides, agora esporos, germinam e produzem micélio homocariótico diploide que torna-se haploide e difere em constituição genética do micélio heterocariótico original, porque sofreu recombinação mitótica (MENEZES & OLIVEIRA, 1993; AZEVEDO, 2008). Mesmo que em relação a *P. oryzae* do trigo não se tenha informações da ocorrência de recombinação parassexual em *P. oryzae* do arroz, alguns autores citam o surgimento de haplotipos com padrões moleculares distintos em cultivos de isolados em placas e

detecção na natureza de isolados oriundos de recombinação parassexual (XIA et al., 1993; ZEIGLER et al., 1997).

Este ciclo é muito importante para a evolução dos fitopatógenos que só apresentam reprodução assexual, pois permite que o organismo combine vantagens específicas de nível somático. Núcleos diploides podem acumular mutações recessivas que podem ser recombinadas e testadas em núcleos haploides. Deste modo, o organismo vegetativo pode ser submetido à adaptação genética (SCHOUSTRAS et al., 2007).

As mutações são definidas como modificações no material genético de um microrganismo, que podem ser transmitidas aos seus descendentes. O patógeno *P. oryzae* do arroz, possui um comprimento de cromossomo variável, e em número de seis (PRABHU & FILIPPI, 2006). Há a presença de microssomos (polimórficos e não estáveis), os quais são perdidos, durante a mitose, estes são classificados como cromossomos do tipo B, sem função definida e que não são encontrados em todos os isolados (ROW et al., 1985).

A caracterização de genes funcionais, selecionados aleatoriamente, demonstra que os mesmos desempenham diversos papéis, alguns dos quais afetam a virulência, a conidiogênese e o crescimento vegetativo (XUE et al., 2012).

A partir da clonagem do gene *AVR-Pita* e os locos correspondentes nos mutantes *AVR* foram descritos mutações pontuais, deleções de genes de avirulência e inserções de elementos de transposição, estes foram apontados como causas das mutações em *P. oryzae* do arroz (ORBACH et al., 2000). Estas variações tiveram a função de desativar o gene de avirulência, evitando o reconhecimento

pelo gene de resistência *Pi-ta* da planta arroz (PRABHU & FILIPPI et al., 2006). Variações estas, que originam novas mutações podem também ser causadas por erros na duplicação cromossômica (KISTLER & MIAO, 1992).

Com o desenvolvimento das técnicas de sequenciamento, alguns elementos moveis foram identificados presentes no genoma de isolados de *P. oryzae* do arroz, tais segmentos de DNA, foram encontrados de um ponto ao outro do mesmo cromossomo. Além disso, alguns transposons contêm elementos promotores que podem ativar genes adjacentes previamente inativos ou alterar seu padrão de expressão (REGNER & LORETO, 2003).

O fungo *P. oryzae* apresenta alta instabilidade genômica, e a presença de transposons em seu genoma é apontada como uma das causas dessas variações. Seu genoma é composto por 9,7 % de DNA repetitivo, em grande parte derivado de elementos transponíveis (CHADHA & SHARMA, 2014). A perda da função do gene *Avr* em *P. oryzae* do arroz, teve como causa uma mutação espontânea gerada pela inserção de um transposon da família *Pot-3* (KANG et al., 2001).

Devido à dificuldade de observação na natureza da reprodução sexual, é possível que as translocações de sequências repetitivas de DNA possam ser a principal fonte de variação do genoma, e com isso beneficiar o patógeno com uma rápida adaptação a diferentes condições ambientais (XUE et al., 2012).

2.8 Especialização fisiológica de *Pyricularia oryzae*

Em arroz é comum a descrição de grupos raciais formando a estrutura populacional de *P. oryzae* em determinadas regiões (FILIPPI & PRABHU, 2001; URASHIMA, 2002). Um indicativo da variabilidade de *P. oryzae* é a instabilidade de resistência das cultivares novas de arroz que são lançadas, sua vida útil tem sido, em média de dois anos, pois surgem novas raças do patógeno, capazes de superar sua resistência (SANTOS et al., 2005; SANTOS et al., 2012). Esta instabilidade pode ser explicada pela exposição inadequada do material a populações do patógeno durante os programas melhoramento. Os testes de seleção de material melhorado deve levar em consideração a alta variabilidade do patógeno, que possui raças fisiológicas com características de virulência distintas (ZEIGLER et al., 1995; VALENT, 1990; FILIPPI et al., 1999).

O estudo de diferentes raças em populações de *P. oryzae* do arroz foi inicialmente estabelecido com os trabalhos de Sasaki, em 1922, citado por Ou (1985), quando diferenciaram duas cepas ou isolados do fungo através de reações diferenciais. Em 1967, Atkins e colaboradores, utilizaram oito cultivares de arroz, em uma série diferenciadora para identificação de raças, através da reação diferencial dessas 8 cultivares, foram identificadas 256 raças fisiológicas de *P. oryzae* com letras seguidas de números, sendo desenvolvida uma chave de identificação descrita por Ling & Ou (1969). Após esses trabalhos, pioneiros, que estudaram a estrutura populacional de *P. oryzae*, no Japão, Yamada (1979) propôs o uso de um conjunto de 9 cultivares de arroz para identificação de raças.

Urashima et al. (1993) utilizaram 20 cultivares de arroz, incluindo as nove cultivares descritas por Yamada, no Japão, para verificar a patogenicidade de isolados de trigo, sendo que nenhum dos 11 isolados foram virulentos as cultivares de arroz.

A série diferenciadora internacional de raças do patógeno em arroz permitia comparar a composição de raças em diferentes países, entretanto as cultivares que compõem estas diferenciadoras não representavam adequadamente a estrutura de raças em muitas regiões. Neste contexto, desenvolveram-se em diversos países, com programas de melhoramento específicos para resistência, séries diferenciais distintas (OU, 1972).

O estudo da diversidade de *P. oryzae* em arroz de terras altas na região sul do Estado do Tocantins, constatou a presença de 21 raças fisiológicas, distribuídas em seis grupos de raças da série internacional diferenciadora, sendo IA e ID os grupos de maior prevalência, que apresentaram 52,4 e 14,3 % dos isolados, respectivamente. As quatro raças prevalentes foram IA-1, IA-33, IC-1 e ID-9, sendo a IA-1 considerada muito agressiva (SANTOS et al., 2012). Em Gana foram coletados 71 isolados de *P. oryzae*, sendo identificadas 25 raças, em sete regiões produtoras de arroz, sendo que a raça IB-1 foi encontrada em seis regiões (NUTSUGAH et al., 2008).

Além do uso das diferenciadoras para estudar a estrutura populacional de *P. oryzae* do arroz, o desenvolvimento de linhas isogênicas tem se configurado em uma alternativa em países tropicais. Mackill & Bonman (1992) desenvolveram cinco linhas isogênicas a partir da cultivar CO 39, as quais possuem as mesmas características agrônômicas, entretanto, diferem somente por um gene dominante de

resistência à brusone. Silva et al. (2007), estudando a virulência de 681 isolados de *P. oryzae* em cultivares diferenciadoras japonesas e linhas quase isogênicas das cultivares IAC-25 e de CO 39 de arroz, descreveram que a maioria das subpopulações de *P. oryzae* provenientes de folhas e panícula, foram avirulentos à linhagem quase-isogênica CNA-8212.

Características de variabilidade patogênica são encontradas, também em culturas monospóricas, em conídios formados de uma única lesão e em extremidades de hifas de uma única célula de conídio, demonstrando que variações de patogenicidade não são encontradas somente em diferentes isolados (SANTOS et al., 2012). Ou & Ayad (1968), estudando a variabilidade de *P. oryzae* do arroz, diferenciaram raças do fungo originadas de uma mesma lesão. Corroborando com isso, Quamaruzzaman & Ou (1970) descreveram mudanças de raças patogênicas em um viveiro de brusone durante o período de um mês. Percebeu-se, que em várias partes do mundo, avaliações de populações do patógeno, têm identificado características de variabilidade extremamente complexas e dinâmicas (CORREA-VICTORIA et al., 1993; ADREIT et al., 2007).

O conhecimento da estrutura populacional que forma uma lavoura ou um de uma região pode auxiliar os programas de melhoramento que tem como objetivo à resistência, além do que, indicaria quais cultivares poderiam ser usadas nestes locais, devido a se conhecer a resistência das cultivares às respectivas raças fisiológicas do patógeno (CORNÉLIO et al., 2003; ANJOS et al., 2009, NUNES et al., 2014).

O fungo tem sido classificado em numerosos patotipos ou variantes moleculares (MACIEL et al., 2013). Em relação a *P. oryzae* do trigo, existem evidências de que a variabilidade deste patógeno também possui uma natureza similar àquela apresentada por *P. oryzae* do arroz, apresentando um padrão racial (CRUZ et al., 2009; MACIEL et al., 2014).

Diferentes padrões de virulência foram descritos por Urashima et al. (2004), quando trabalharam com isolados de trigo oriundos de dois Estados, Maciel et al. (2014) estudando a estrutura genética de populações de *P. oryzae* do trigo, utilizando 11 marcadores do tipo microssatélites, e 184 isolados oriundos de campos de trigo da região Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, descobriram que populações geográficas do fungo não são subdivididas, apresentando um elevado fluxo gênico a longa distância, além disso, utilizando uma série diferenciadora de raças de cultivares comerciais de trigo, cevada e arroz, para estudar a especialização fisiológica de *P. oryzae* do trigo, indicaram a presença de 14 grupos raciais na região Centro-Sul do Brasil.

2.9 Nitrogênio e sua relação com a severidade da brusone

O uso de nitrogênio (N) em arroz é limitado, devido à influência que o mesmo tem na severidade da brusone. No Rio Grande do Sul, a recomendação para arroz irrigado para os sistemas de semeadura em solo seco, indica no momento da semeadura, entre 10 e 20 kg N ha⁻¹, levando em consideração a dose a ser aplicada, a expectativa de rendimento e do tipo de resíduo da cultura anterior, e o

restante, em cobertura. Para o sistema pré-germinado, não é recomendada a adubação com N na semeadura. Nesse caso é realizada somente a aplicação de N em cobertura, de acordo com o ciclo do genótipo (REUNIÃO, 2014).

A quantidade, o modo de aplicação, a forma disponível e a época de aplicação de N podem ser responsáveis pelo aumento da intensidade da brusone no arroz (PRABHU & FILIPPI, 2006).

Na planta, o N têm importantes funções estruturais por ser constituinte das proteínas e de vários compostos orgânicos, tendo importante papel no metabolismo vegetal. É fundamental para o funcionamento das células, para as reações enzimáticas, e para a produção de clorofila, é componente das vitaminas biotina, tiamina, niacina, riboflavina, além de atuar na produção e uso de carboidratos. A deficiência de N causa na planta redução do crescimento, coloração amarela nas folhas velhas e níveis baixos de proteínas nas sementes e nas partes vegetativas (AGROLINK, 2014).

Por outro lado, o excesso deste elemento pode aumentar o processo vegetativo, predispondo a planta ao desenvolvimento de patógenos foliares, devido a maior quantidade de tecidos tenros e suculentos (HUBER & THOMPSON, 2005; FREITAS et al., 2010).

Em arroz, a incidência de *P. oryzae* nas sementes e a intensidade da doença nas panículas foram maiores em tratamentos que receberam N em cobertura (FREITAS et al., 2010). Segundo Faria et al. (1982), a brusone nas folhas e no pescoço da panícula aumentam linearmente com o aumento dos níveis de adubação nitrogenada. Neste contexto, Silva-Lobo et al. (2012) ao avaliarem a influencia de diferentes níveis de adubação nitrogenada na severidade da brusone

do arroz e no teor de clorofila, encontraram correlação positiva, tanto para severidade da doença, como para o teor de clorofila nas folhas bandeiras.

2.10 Resistência genética

A resistência genética de plantas a fitopatógenos pode ser classificada com base no número de genes envolvidos. Algumas características podem ser controladas por vários genes, estas são chamadas de poligênicas, outras podem ser controladas por um gene e são denominadas de monogênicas ou oligogênicas.

Na resistência governada por um ou poucos genes (monogênica ou oligogênica), a expressão ocorre através de genes maiores, apresentando reações de resistência a raças específicas e normalmente revelando pouca estabilidade, devido a estas características pode ser denominada de raça-específica. Neste tipo de resistência há interação diferencial entre genótipos do hospedeiro e do patógeno (VAN DER PLANK, 1963). As reações são discretas, ou seja, não nota-se plantas com graus intermediários de resistência, podendo não ocorrer sintomas, ou as reações apresentam-se como lesões necróticas pequenas, ou sintomas completos, devido a estas características é denominada de resistência qualitativa (CAMARGO, 2011). Esta resistência é responsável por evitar o estabelecimento da infecção.

A resistência qualitativa começou a ser definida, através dos trabalhos de FLOR em 1942, quando desenvolveu a teoria gene-a-gene. Para descrever sua teoria Flor estudou a interação entre o linho

(*Linum usitatissimum* L.) e a ferrugem do linho [*Melampsora lini* (Ehrenb.) Lev.]. Esses trabalhos ajudaram-no a propor a existência de uma relação entre patógeno e hospedeiro, ou seja, que para cada gene que condiciona uma reação de resistência no hospedeiro, existe um gene complementar no patógeno, que condiciona a avirulência.

Os trabalhos de Flor levaram em consideração a proporção de plantas resistentes para suscetíveis na geração F₂, quando inoculadas com uma ou mais raças do patógeno. Também levou em consideração a proporção de raças virulentas e avirulentas na geração F₂, do cruzamento entre uma raça virulenta e uma avirulenta (FLOR, 1946;1947).

A interação entre hospedeiro e patógeno é considerada um sistema, onde o gene *R* funciona como um receptor específico que vai reconhecer a molécula elicitora, produzida e/ou codificada pelo alelo de avirulência dominante. Este reconhecimento inicia com uma transdução de sinais, que terão função de ativar os genes responsáveis pelas respostas de hipersensibilidade, isso quando o patógeno possuir o gene de avirulência. Entretanto, na ausência do mesmo não irá ocorrer o reconhecimento pelo hospedeiro, resultando em interação compatível (susceptibilidade). As reações de resistência só ocorrem na existência do gene de resistência (*R*) do hospedeiro, e na presença do gene correspondente de avirulência (*AVR*) do patógeno. Em qualquer outra combinação, o resultado a reação será de susceptibilidade (BESPALHOK et al., 2015).

Tais genes de avirulência têm como função codificar proteínas e enzimas envolvidas na síntese de moléculas ligantes que podem ser reconhecidas pelo produto do gene *R* correspondente. Estas

duas funções correspondem à incompatibilidade, ou seja, não vai ocorrer a infecção, inexistindo assim a doença (ORBACH et al., 2000). A incompatibilidade não é caracterizada somente pelo reconhecimento, mas também pelo uso de mecanismos de defesa pré-existentes, compostos por reação de hipersensibilidade, fortificação da parede celular, acúmulo de fitoalexinas e a indução de proteínas relacionadas à patogênese.

Algumas literaturas indicam que o patossistema arroz - *P. oryzae* representa um típico sistema gene-a-gene (VALENT & CHUMLEY, 1994; LEUNG et al., 1988). Ao tentar elucidar a genética de avirulência em *P. oryzae*, cruzou-se isolados de arroz, estéreis com hermafroditas, que apresentavam-se patogênicos somente em capim-chorão (*Eragostis curvula*). Este cruzamento, originou uma progênie que mostrou-se patogênica em arroz, que foi retrocruzada seis vezes com o isolado de capim-chorão. Dessa série de retrocruzamentos, originou-se um isolado que foi inoculado em cultivares utilizadas como diferenciadoras em arroz, com genes de resistência conhecidos. Assim, foram identificados vários genes de avirulência, como AVR-CO39, AVR-M201, AVR-YAM, herdados de pais patogênicos em capim-chorão, devido ao patógeno do arroz utilizado como pai, não foi patogênico nas três cultivares, CO39, M201 e Yachiro-Mochi (VALENT & CHUMLEY, 1991).

A identificação do gene AVR-CO39, possibilitou o entendimento sobre as reações de avirulência de isolados de *P. oryzae* provenientes de trigo e da maioria das poáceas, ao arroz. As plantas de arroz possuem o locus de resistência *PI-CO39(t)*, que é responsável por conferir reações de resistência a isolados de *P. oryzae* de outras

espécies, que possuem o locus de avirulência *AVRI-CO39*. Assim entende-se, que isolados de *P. oryzae* que possuem o locus *AVRI-CO39* são avirulentos em arroz (PEIXOTO, 2014; MACIEL et al., 2014).

Na resistência governada por vários genes (poligênica), a expressão ocorre através de genes menores. Caracteriza-se como raça não-específica, devido a ser efetiva para um amplo espectro de raças patogênicas, e normalmente durável (VAN DER PLANK, 1975). Esta resistência é marcante devido à presença de uma variação contínua de graus de resistência, desde extrema suscetibilidade até extrema resistência. Devido à esta característica métrica, ela é também conhecida como uma resistência quantitativa (CAMARGO, 2011). Esta resistência está associada à redução no progresso da doença.

2.11 Genótipos de trigo promissores na busca de genes de resistência à brusone

Pesquisas mapeamento genes ou locos que controlam características quantitativas (QTLs) em trigo são inexpressivas. Em arroz, são descritos mais de 90 genes de resistência (R) (FUKUOKA et al., 2014), dentre estes, 21 já foram clonados (ARAUJO, 2008; LIU et al., 2013). Além disso, são conhecidos aproximadamente 350 QTLs, que indicam regiões que conferem resistência parcial ou completa à brusone (BALLINI et al., 2008). Em azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) é conhecido o gene *LmPil*, responsável por governar o processo de resistência à brusone (YUICHI et al., 2005), entretanto, esta cultura apresenta alta suscetibilidade à doença.

Trabalhos com o genótipo de trigo Thatcher indicaram a presença dos genes *Rmg2* e *Rmg3*, localizados nos cromossomos 7A e 6B que conferiram resistência à *P. oryzae* do trigo (ZHAN et al., 2008). NGA et al. (2009) identificaram os genes *Rmg4* e *Rmg5*, nos cromossomos 4A e 6D, respectivamente. Estes genes foram descritos através de inoculações de um isolado de *P. grisea* originado de *D. sanguinalis* em genótipos de trigo. Hau et al. (2007), identificaram o gene *Rmg1(Pwt4)* no genótipo de trigo Norin 4, este gerou resistência a isolados de *P. oryzae* oriundos de aveia. Estudos através de ferramentas genéticas e fenóticas com um isolado de *P. oryzae* do trigo, avirulento em arroz, e um isolado de arroz, avirulento em trigo, utilizando o genótipo de trigo Norin 4, relataram a existência de três loci envolvidos nas reações de avirulência do isolado de arroz no genótipo de trigo. O locus *Pwt2* condicionou a formação de papilas, o *Pwt1* condicionou a reação de hipersensibilidade e o outro local que também levou a reação de hipersensibilidade foi descrito com *Pwt5* (TOSA et al., 2006)

No Brasil, o desenvolvimento de genótipos de trigo resistentes à brusone, tem se tornado prioridade em programas de melhoramento (CRUZ et al., 2010). Estudos, avaliando a reação de cultivares à *P. oryzae* do trigo, indicaram alguns materiais com características de resistência, tanto em plântula, como em planta adulta. Arruda et al. (2005) descreveram que a cultivar BH 1146 foi a única que apresentou correlação positiva de resistência. As plântulas resistentes refletiram numa menor incidência de espigas doentes, e com menor severidade da doença. Ensaio em condição de campo

apresentaram incidência em espigas que variou de 4,5% a 4,7% (GOULART et al., 1991; GOULART et al., 1992; SOUSA, 2002).

A cultivar BR 18-Terena é muito utilizada em programas de melhoramento que tem como objetivo resistência durável à brusone do trigo, entre muitas características, apresenta tipo agrônômico apreciado pela maioria dos moinhos (classe comercial predominante: trigo-pão), e resistência moderada a brusone, ensaios em condições de campo apresentaram incidência variando de 8,2% a 24% (GOULART et al., 1991; GOULART et al., 1992; SOUSA, 2002). Outra cultivar de trigo que pode ser portadora de algum gene de resistência à brusone do trigo é a BRS 229, este genótipo têm apresentado em inúmeros trabalhos, reduzidos índices de doença, sendo classificada como moderadamente resistente. Ensaio de campo, instalados em Londrina no Paraná, para avaliar a severidade da doença, apresentaram nota média 2, em uma escala de 0 à 9, sendo 0 a menor intensidade e 9 a maior intensidade da doença (BRUNETTA et al., 2006).

Dentre as cultivares de trigo que surgem como promissoras na busca de genes de resistência à brusone do trigo, a cultivar de inverno Renan tem sido relatada com baixos índices de doença (TUFAN et al., 2009). Este genótipo foi desenvolvido na França pelo cruzamento entre Mironovskaya 808/Maris Huntsman//VPM/Moisson/3/Courtot (MARTYNOV et al., 2006) e é portadora dos genes de resistência Lr37, Yr17, Sr38 para ferrugem da folha (*Puccinia triticina* Eriks.), ferrugem amarela (*P. striiformis* Westend.) e ferrugem do colmo (*P. graminis* f.sp. *tritici* Pers.), respectivamente (ROBERT et al., 1999).

Estudos avaliando as reações de defesa da planta, e alterações de transcrição, a partir de inoculações de três isolados (BR29, BR32 e BR37) de *P. oryzae* nas cultivares de trigo Renan e Thésée e na invasora milhã (*Digitaria sanguinalis* L.), mostraram que o cultivar Renan apresenta imunidade ao isolado BR29, e resistência parcial à brusone do trigo para os isolados BR32 e BR37, com presença de lesões necróticas de coloração marrom (TUFAN et al., 2009).

Na avaliação das respostas celulares no cultivar Renan, observou-se a formação de estruturas semelhantes a papilas nos sítios de infecção, e a análise da transcrição de sinais de resposta mostrou a partir das 24 horas após inoculação, número significativo de transcrições associados à defesa celular (TUFAN et al., 2009).

Entretanto, uma das dificuldades de desenvolvimento de genótipos de trigo resistentes à brusone é à baixa variabilidade genética dentro de trigo. Assim, espécies geneticamente afins ao trigo cultivado demonstram ser promissoras como fonte genes de resistência à brusone (CRUZ et al., 2010). Espécies como *T. tauschii* (sinonímia *Aegilops squarrosa*, *A. tauschii*) apresentaram reação de resistência a isolados de *P. oryzae* (URASHIMA & KATO, 1994). CRUZ et al. (2010), estudando o grau de resistência parcial de genótipos de trigo comum e sintético à brusone nos estádios de planta jovem e planta adulta, relataram que o cruzamento entre *T. durum* e *T. tauschii* apresentou a menor área afetada pela doença, tanto na reação em folha quanto em espiga.

Buscando resistência à brusone em trigo foi desenvolvido um trabalho de piramidação de genes, através do método de retrocruzamento, utilizando como parental recorrente a cultivar comercial BR 18-Terena, e como parental doador a linhagem PF 020458 e à cultivar Frontana. Na geração RC1, as plantas foram avaliadas quanto à reação à brusone, os genótipos foram estratificados em cinco classes quanto à severidade da doença, variando de 0 a 100%. A frequência observada de espigas resistentes à brusone (0% de severidade) na geração RC1 do cruzamento BR 18*2/PF 020458, foi de 55%. Por outro lado, na geração RC1 do cruzamento BR 18*2/Frontana esta frequência foi de apenas 12%, demonstrando que os parentais doadores possuem níveis diferenciados de resistência a brusone. Apesar de ambos apresentarem reação de resistência, a linhagem PF 020458, pode possuir genes de efeito maior e/ou maior número de genes efetivos (KOVALESKI et al., 2012).

2.12 Uso de marcadores moleculares para estudo da variabilidade de *Pyricularia oryzae*

Com os avanços obtidos em biologia molecular, inúmeras técnicas foram desenvolvidas através do uso de marcadores moleculares. Neste sentido, o uso de marcadores em Fitopatologia, com o objetivo de estudar a variabilidade de *P. oryzae*, tem se configurado em uma alternativa rápida e eficiente (RÖDER et al., 1998; MACIEL et al., 2011).

No final da década de 1989, foi descrita sequência de DNA repetitivo, o qual foi denominado de MGR, presente no genoma

de isolados de *P. oryzae* do arroz, com 40-50 cópias distribuídas no genoma haploide (HAMER et al., 1989).

Utilizando o polimorfismo baseado no tamanho de fragmentos de restrição (RFLP), com o intuito de demonstrar diferenças entre nucleotídeos ao longo da fita de DNA, de indivíduos geneticamente diferentes, e com o uso da descoberta da repetição MGR 586, a qual foi utilizada como sonda, observaram-se em diversos locais diferenças entre populações do fungo (XIA et al., 2000).

Entretanto, em 1994, foi descrito o transposon *Pot-2*, com 1.857 pb, apresentando-se como o fragmento repetitivo com maior abundância no genoma de *P. oryzae* do arroz, surgindo uma alternativa para a técnica RFLP, através da amplificação da sequência repetitiva de *Pot-2* (KACHROO et al., 1994).

Mesmo com os avanços obtidos com a utilização da técnica de RFLP, e depois o uso da sonda MGR-586 e *Pot-2*, a caracterização de isolados de outros hospedeiros de *P. oryzae* não era eficiente (GEORGE et al., 1988; URASHIMA et al., 1999; PRABHU et al., 2002) como alternativa foram desenvolvidos marcadores moleculares do tipo microssatélite ou sequências simples repetitivas (SSR) (BRONDANI et al., 2000, KAYE et al., 2003; WANG et al., 2005).

Os marcadores do tipo SSR são sequências de 1 a 6 nucleotídeos que apresentam-se repetidos lado a lado na fita de DNA (TAUTZ, 1989). Apresentam-se abundantes no genoma de *P. oryzae*, e com capacidade de apresentar alta diversidade de alelos por locus (CREGAN et al., 1994). Nesse sentido, esta nova ferramenta da

biologia molecular tem sido eficiente para estimar a diversidade de *P. oryzae* (BRONDANI et al., 2000; GARRIDO et al., 2001).

Andreit et al. (2007), com um conjunto de 18 marcadores microssatélites, conseguiram detectar polimorfismo em populações de *P. oryzae* de países distintos. Com o objetivo de estudar a variabilidade de isolados de *P. oryzae* foram desenvolvidos 38 marcadores microssatélites, na Embrapa Trigo, os quais foram úteis para estudos de análise genética de *P. oryzae* (PEREIRA et al., 2014).

CAPÍTULO I

VIRULÊNCIA DE *Pyricularia oryzae* ASSOCIADO À CULTURA DO TRIGO E PLANTAS INVASORAS

ANDERSON LUIZ DURANTE DANELLI¹

RESUMO – A brusone do trigo, causada pelo o fungo *Pyricularia oryzae* foi relatada pela primeira vez no Brasil, em meados da década de 1980. Os objetivos do trabalho foram identificar a espécie invasora com maior potencial como fonte de inóculo para brusone do trigo e na variabilidade do agente causal; comparar isolados de *P. oryzae* do trigo e de poáceas invasoras de acordo com as respostas fenotípicas que esses isolados promovem, verificar a ocorrência de patótipos formando a estrutura populacional de *P. oryzae* do trigo no Brasil, determinar a eficiência de um conjunto de dez cultivares de trigo e uma linhagem de cevada como diferenciadores de raças do patógeno. Desenvolveu-se um programa semanal de inoculações do fungo *P. oryzae* em genótipos de trigo e na linhagem de cevada, para caracterizar a virulência de isolados de *P. oryzae* do trigo e de Poáceas invasoras. Estes patógenos, obtidos em diferentes regiões brasileiras produtoras de trigo, foram classificados de acordo com a reação produzida em plântulas e espigas destacadas. O espectro de virulência indicou um grau elevado de variabilidade na população do patógeno.

¹ Eng. Agr., doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração Fitopatologia.

A similaridade entre isolados de trigo e de espécies invasoras, em termos de virulência, foi um indicativo da importância que outros hospedeiros exercem sobre o ciclo biológico do patógeno da brusone do trigo no Brasil. O fator local exerceu influência na virulência dos isolados obtidos de espigas de trigo. As cultivares de trigo e linhagem de cevada foram eficientes como diferenciadores de patótipos do patógeno.

Palavras-chave: brusone, população, resistência, poáceas.

VIRULENCE OF *Pyricularia oryzae* ASSOCIATED TO WHEAT CULTURE AND INVASIVE PLANTS

ABSTRACT - The wheat blast, caused by the fungus *Pyricularia oryzae*, was first reported in Brazil in the mid-1980. The aims of this study were to identify the invasive Poaceae species with the greater potential as the source of inoculum source for wheat blast and the variability of the pathogen; to compare isolates of *P. oryzae* from wheat and invasive grasses according their phenotypic response; to verify the occurrence of racial groups forming the populational structure wheat *P. oryzae* in Brazil and to determine the effectiveness of a set of ten cultivars of wheat and barley lineages as differentials for screening of races/pathotypes and barley genotypes was developed to characterize the virulence of *P. oryzae* isolates of Poaceae weeds in wheat. These pathogens, obtained in different producing wheat regions of Brazil, were classified according to the reaction promoted in seedlings and detached heads. The virulence spectrum characterized

a population with a high degree of pathotypes variability. The similarities between pathotypes were detected between wheat and invasive species virulence was an indicative of the influence that alternative hosts have on the development of the wheat blast in Brazil. Different distribution pathotypes were detected among distinct geographical regions/states. The wheat cultivars and barley strain were efficient as differential of for discriminating the pathotypes of the pathogen.

Key words: blast, population, resistance, grasses.

1 INTRODUÇÃO

Em meados da década de 1980, em plena expansão do trigo no Sul do Brasil, foi relatada pela primeira vez, no Norte do estado do Paraná, a brusone do trigo, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* (Cavara) (IGARASHI et al., 1986). Além do trigo, este patógeno foi descrito em inúmeras espécies, principalmente as pertencentes à família Poaceae, tanto cultivadas, como invasoras, podendo causar danos de até 100% dependendo do local de cultivo e época de espigamento do trigo (KOHLI et al., 2011). Em arroz a brusone é considerada a principal doença (ANJOS et al., 2009), neste sentido, avaliações de populações de *P. oryzae* de diferentes regiões do mundo têm identificado características de variabilidade extremamente complexas (CORREA-VICTORIA et al., 1993; ADREIT et al., 2007). Assim, o fungo tem sido classificado, dependendo do critério utilizado, em numerosos patotipos ou variantes moleculares. No caso de *P. oryzae* do trigo, os poucos trabalhos sobre o assunto fornecem evidências de que a variabilidade deste patógeno também possui natureza similar àquela apresentada por *P. oryzae* do arroz (URASHIMA et al., 2005; CRUZ et al., 2009).

Em relação ao controle químico, misturas de estrobirulinas e triazóis apresentam resultados satisfatórios em ambiente controlado (ROCHA et al., 2014). Entretanto, em campo, apresentam baixa eficiência de controle (KOHLI et al., 2011, MACIEL et al., 2011; MACIEL et al., 2014). Uma das causas pode ser a distribuição generalizada de populações de *P. oryzae* do trigo e poáceas invasoras resistentes às estrobirulinas, gerado por mutação G143A no gene do

citrocomo b. No Brasil, a frequência desta mutação nas populações de *P. oryzae* que infectam o trigo aumentou 54% no período de 2005 a 2012 (CASTROAGUDIN et al., 2015).

Por outro lado, a partir da constatação da brusone em trigo no Brasil, a busca por genótipos de trigo com resistência a esta doença tem sido intensa (GOULART & PAIVA, 1992; GOULART et al., 1995; URASHIMA et al., 2004; MACIEL et al., 2008). O uso de cultivares de trigo resistentes é considerado o método mais viável economicamente para o controle de doenças, entretanto, para a brusone do trigo, materiais com esta característica de resistência são restritos e, muitas vezes, genótipos de trigo, aparentemente resistentes, se comportam como suscetíveis em outras regiões e até mesmo em condições controladas de inoculação, indicando a existência de uma interação entre genótipo e ambiente (URASHIMA et al., 2004; MACIEL et al., 2008). Assim a geração de cultivares de trigo resistentes à brusone necessita da identificação e monitoramento da variação patotípica do fungo presente nas diferentes regiões de cultivo do trigo, para isso deve-se levar em consideração à reação das plantas à infecção do patógeno (CRUZ et al., 2009).

Em arroz, o monitoramento e a identificação dos variantes fenotípicos do patógeno, são realizados pelo uso de séries diferenciadas de genótipos que apresentam reações distintas a isolados do fungo, permitindo a identificação de raças fisiológicas ou grupos de virulência do patógeno (PRABHU & FILIPPI, 2006, ANJOS et al., 2009). Com o auxílio de marcadores moleculares pode-se agrupar diferentes raças do patógeno em uma mesma linhagem, dependendo do grau de similaridade genética dos isolados testados (mais de 85%

de similaridade constitui uma linhagem) (PRABHU & FILIPPI, 2001).

O estudo da estrutura populacional de *P. oryzae*, que forma uma lavoura, município e estado, pode auxiliar os programas de melhoramento que tem como objetivo a resistência, além do que, indicaria quais genótipos poderiam ser usados nestes locais (CORNÉLIO et al., 2003; ANJOS et al., 2009, NUNES et al., 2014). Grupos de virulência em trigo, já foram descritos formando a estrutura populacional de *P. oryzae* no Brasil (URASHIMA et al., 2004; URASHIMA et al., 2005; CRUZ et al., 2009; MACIEL et al., 2014), entretanto, a abrangência regional de tais estudos é limitada em comparação com magnitude da amostragem populacional de nosso presente estudo. Além disso, amostramos no presente trabalho, isolados de populações simpátricas *P. oryzae* obtidas de outras poáceas invasoras de áreas de trigo no Brasil.

É desconhecido o papel de outros hospedeiros no ciclo biológico do patógeno da brusone do trigo e na consequente estruturação das epidemias dessa doença no Brasil. Estudos indicam que existe uma similaridade relativamente baixa entre populações de *P. oryzae* do trigo e do arroz (MACIEL, 2011). Esta descoberta sugere que a população brasileira de *P. oryzae* adaptada ao trigo tenha sido derivada de uma população desconhecida de *P. oryzae* infectando outras poáceas, e não de uma população do patógeno infectando arroz (CERESINI et al., 2011; MACIEL et al., 2014). Nesse sentido, braquiária (*Urochloa plantaginea*) e capim rabo de raposa (*Setaria geniculata*) foram descritas como espécies que podem estar influenciando a variabilidade de *P. oryzae* no Brasil, através da

recombinação sexual obtida com isolados oriundos destas espécies e com isolados do trigo (BRUNO & URASHIMA, 2001).

Os objetivos deste trabalho foram: a) identificar a espécie ou gênero taxonômico da família Poaceae com maior influência como fonte de inóculo para brusone do trigo e na variabilidade do agente causal; b) comparar isolados de *P. oryzae* do trigo e poáceas invasoras de acordo com as respostas que esses isolados promovem em genótipos com reações diferenciais à brusone do trigo em termos qualitativos e quantitativos nos estádios de plântula e planta adulta, respectivamente; c) verificar a ocorrência de grupos de virulência ou patotipos formando a estrutura populacional de *P. oryzae* do trigo no Brasil; e d) determinar a eficiência de um conjunto de dez cultivares de trigo e uma linhagem de cevada como genótipos diferenciadores de raças do patógeno.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nas instalações da Embrapa Trigo. A condução de plantas, inoculações e avaliação da reação das plantas foram realizadas em casa-de-vegetação e câmaras de crescimento (marca Menoncin) com luz, temperatura e umidade controladas. O crescimento do fungo e preparação do inóculo foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo.

2.1 Amostragem

A amostragem foi realizada em Brasília; Rio Verde (GO); Amambá, Aral Moreira e Dourados (MS); Patrocínio e Perdizes (MG) Londrina e Rolândia (PR); Passo Fundo, Três de Maio, São Luiz Gonzaga e São Borja (RS) e Itaí (SP).

Fez-se o uso da metodologia de amostragem por transecto (BUNCKLAND et al., 2001), tendo como alvo a coleta de espigas de trigo sintomáticas e partes aéreas de poáceas invasoras, o que incluiu hastes, folhas e inflorescências. As lavouras onde se realizou às coletas foram georeferenciadas com o auxílio de um sistema de posicionamento global (SPG) (marca Garmin Etrex Vista HCX Color). A distância entre os pontos de coleta de espigas sintomáticas, a partir dos pontos georeferenciados, foi medida pelo número de passos do coletor ($\pm 0,7$ m) (Quadro 1).

As plantas invasoras da família Poaceae foram coletadas em seis lavouras: uma em Amambai (MS), duas em Aral Moreira (MS), uma em Rolândia (PR) e três em Londrina (PR), sendo alvo das

coletas plantas que apresentavam lesões similares às lesões típicas causadas por *P. oryzae* em folhas de arroz e trigo. As coletas das plantas invasoras foram feitas em torno das lavouras de trigo onde as espigas sintomáticas foram coletadas, obedecendo ao limite máximo 100 m de distância das mesmas.

Quadro 1- Representação do método transecto, utilizado para as coletas das espigas com sintomas de brusone. Passo Fundo-RS, 2015

Coletas	Coordenadas geográficas	Pontos de coleta
A ^x	S 16°01'22.7" W 47°37'51.1"	A1: ^y --- A2: -- A3: -- A4: --- A5: ---- A6
B	S 16°01'23.1" W 47°37'51.0"	B1: -- B2: --- B3: -- B4: --- B5: ---- B6
C	S 16°01'23.4" W 47°37'50.9"	C1: -- C2: --- C3: -- C4: --- C5: ---- C6
D	S 16°01'23.7" W 47°37'50.9"	D1: ---- D2: -- D3: --- D4: --- D5: --- D6
E	S 16°01'24.0" W 47°37'50.7"	E1: --- E2: ---- E3: -- E4: --- E5: ---- E6
F	S 16°01'24.6" W 47°37'50.5"	F1: --- F2: -- F3: ---- F4: --- F5: --- F6

^x Distância entre os pontos, 10 metros. ^y Cada traço representa ±0,7 m.

2.2 Obtenção de isolados monospóricos de *Pyricularia oryzae*

As amostras coletadas, sejam de espiga ou de segmentos de plantas invasoras, foram colocadas em sacos de papel, os quais foram armazenados a -20 °C. Para o isolamento do fungo das espigas, as espiguetas foram destacadas, utilizando-se somente os ráquis que apresentavam o ponto de infecção visível. Estas ráquis foram cortadas com o auxílio de uma tesoura em segmentos menores. As amostras de plantas invasoras também foram recortadas em segmentos menores

nas regiões das lesões, caracterizadas como semelhantes às lesões típicas de *P. oryzae*. Com o auxílio de um Becker foi realizada a assepsia do material vegetal com água + hipoclorito de sódio na proporção de 1:1 (água + hipoclorito), durante um minuto, com uma peneira e água esterilizada para retirar o excesso de hipoclorito de sódio. Os segmentos de tecido vegetal foram transferidos para placas de Petry contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Para o preparo do meio de cultura, o protocolo utilizado foi conforme descrito por Fernandez (1993).

Para cada amostra de espiga de trigo foram utilizadas duas placas de Petry contendo seis segmentos de ráquis cada uma e, para amostras de invasoras, uma placa contendo seis segmentos. As placas foram incubadas a 25 ± 2 °C em câmara climatizada com fotoperíodo de 12 horas, proporcionado por três lâmpadas fluorescentes de 40 W, posicionadas a 50 cm acima das placas, durante 4 dias, para estimular a esporulação do patógeno sobre o tecido vegetal sintomático.

Após a esporulação, as estruturas reprodutivas do fungo foram observadas em microscópio-estereoscópico para correta identificação do patógeno, sendo então realizado uma suspensão de esporos em 5 mL de água esterilizada, vertida em uma placa de Petry com o meio ágar-água (FERNANDEZ, 1993), tomando o cuidado para que toda superfície da placa ficasse preenchida pela suspensão de esporos. Para a ocorrência da germinação do esporo sobre o meio ágar-água, a placa foi mantida por aproximadamente 4 h em câmara de crescimento a 25 ± 2 °C.

A observação da germinação dos esporos foi verificada com auxílio de microscópio-estereoscópico, dando sequência com a

cultura de isolados monospóricos em placas de Petry contendo meio aveia-ágar. Estas placas foram submetidas a um fotoperíodo de 12 h por sete dias para o crescimento da colônia, em temperatura de 25 ± 2 °C. Após a formação de colônia pura, foi realizada a repicagem em duas placas contendo meio aveia-ágar e papel filtro cortado, e colocadas em câmara de crescimento sobre o mesmo regime de luz e temperatura, mencionado anteriormente, por 15 dias, para o crescimento do fungo sobre toda a superfície do papel.

Após a colonização, de papel filtro pelo fungo foi removido da placa com auxílio de uma pinça, e seco em câmara de fluxo de ar por dois dias. Após, os fragmentos de papel filtro colonizados com o fungo foram transferidos para tubos do tipo criotubo com a identificação Py 12. 0. XXX e Py 12. 1. XXX. Onde “Py” significou isolado de *Pyricularia* sp.; “0” é o número atribuído para isolados provenientes de invasoras e “1” para provenientes de trigo; “XXX” é a identificação individual de cada isolado, como 001, 002, ... 477. Por exemplo: Py 12.1.008: Isolado número oito, de *Pyricularia* sp., encontrada em espiga de trigo; Py 12.0.008: isolado número oito, de *Pyricularia* sp., encontrada em invasora.

2.3 Cultivo e acondicionamento de plantas

Os isolados de *P. oryzae* utilizados no presente trabalho foram utilizados em procedimentos de inoculação de folhas e espigas de uma linhagem de cevada, caracterizada como PFC 2010123, além de um conjunto de dez cultivares de trigo, Anahuac 75, BR 18, BR 24, BRS 220, BRS 229, BRS 234, MGS 3 Brilhante, BRS Buriti, CNT 8 e

Renan. Esses genótipos foram escolhidos por meio de respostas encontradas em estudos anteriores (CRUZ et al., 2009; CRUZ et al., 2010; MACIEL et al., 2014). Também foi proposta do trabalho verificar a eficiência desses genótipos como diferenciadores de raças ou patótipos do patógeno. Por essa razão, a partir daqui, esse conjunto de genótipos passa a ser denominado de série diferenciadora de raças.

Para obtenção das plântulas, os genótipos foram semeados individualmente em copos plásticos de 100 mL contendo substrato, e mantidos por aproximadamente 15 dias em bandejas de alumínio de 40x20x10 cm. Tais plantas, desenvolvidas durante este período, apresentavam três a quatro folhas verdadeiras no momento da inoculação. Em cada copo plástico foram mantidas 10 plântulas. O substrato utilizado em todos os experimentos foi amostrado e enviado para o laboratório de solos da Universidade de Passo Fundo, onde foi realizada análise química (Tabela 1).

Tabela 1- Resultado da análise química, realizada em uma amostra retirada do substrato usado para os experimentos. Passo Fundo-RS, 2015

Arg.	pH H ₂ O	Ind. SMP	P	K	M.O	Al	Ca	Mg	H+ Al	C TC	Saturação ^x			
%			mg/dm ³	%	cmol/dm ³						B	Al	K	
												%		
29,1	5,9	5,8	>52	694	>6,7	0	13	4,8	5,5	25	78	0	7	
Micronutrientes + enxofre														
Enxofre		Boro		Manganês		Zinco		Cobre						
mg/dm ³														
43,0		0,8		8,6		9,60		2,55						

^x B= bases

Nas inoculações em planta adulta, a metodologia utilizada foi a da “espiga destacada”, fixada em blocos de espuma fenólica. A produção das plantas que forneceram as espigas indenes foi feita em baldes plásticos de 5 kg. Para cada cultivar, foram mantidas três plantas, que originaram as espigas que foram destacadas e utilizadas nos experimentos. Tanto as plântulas, bem como, as plantas adultas que originaram as espigas, foram conduzidas em casa-de-vegetação.

2.4 Inoculação

Isolados monospóricos provenientes de plantas invasoras da família Poaceae e de trigo, mantidos em papel-filtro, foram transferidos para placas de Petry com meio ágar-aveia, e em câmara de crescimento à temperatura de 25 ± 2 °C por 15 dias e fotoperíodo de 12 h. Para preparação do inóculo, as placas de Petry foram inundadas com água destilada acrescida de espalhante adesivo Tween 80 (1 gota L⁻¹). Com o auxílio de um pincel, foi feita uma raspagem e em seguida uma filtragem dos conídios com uma peneira contendo um pedaço de gaze. A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer (Loptik Labor 0,0025 mm²) e microscópio ótico (Nikon Eclipse E 200), sendo que a concentração foi ajustada de 100.000 esporos mL⁻¹.

As inoculações em plântulas foram realizadas 15 dias após a semeadura, quando as plantas apresentavam 3 a 4 folhas verdadeiras (estádio 14 da escala de Zadoks et al. (1974)). Para a inoculação em planta adulta, as espigas foram destacadas, com o auxílio de uma tesoura quando esses genótipos estavam entre os estádios de

florescimento e início de enchimento de grãos (estádios 63 a 71 da escala de Zadoks et al. (1974)). A seguir, as espigas destacadas foram fixadas em blocos de espuma fenólica, os quais estavam previamente saturados com água e envolvidos por filme plástico.

As inoculações foram realizadas com atomizador de plástico manual de 500 mL e após, os blocos de espuma fenólica contendo as espigas destacadas, foram transferidas para caixas de plástico tampadas. As bandejas, contendo os copos com as plântulas, foram envolvidas por sacos plásticos, os quais tiveram sua abertura fechada. As plântulas e as espigas, após a inoculação, foram mantidas em câmaras de crescimento (marca Menoncin) com luz, temperatura (variando de 25 a 27 °C) e umidade controladas e com ausência de luz por 24 h. Vinte quatro horas após a inoculação, as bandejas contendo os copos plásticos com as plântulas foram retiradas de dentro dos sacos plásticos e as caixas de plástico, com os blocos de espuma fenólica com as espigas fixadas, foram destampadas. Após o período de 24 h, o fotoperíodo passou para 12h e o regime de nebulização hídrica de 60 s ligada e 1800 s desligada.

As plântulas permaneceram por cinco dias nessa condição, até serem avaliadas e, as espigas, sete. Cada genótipo foi semeado em dois copos, totalizando 20 plântulas, e cada caixa de plástico acondicionou três blocos de espuma com uma espiga de cada genótipo por bloco.

2.5 Avaliações

As avaliações em plântulas foram realizadas cinco dias após a inoculação, levando em consideração o tipo de lesão formada, de acordo com a escala diagramática descrita por Urashima & Kato (1994). Foram considerados quatro tipos de infecção, que variaram de 0 a 4. Zero significou ausência de infecção; 1, lesões escuras, do tipo cabeça de alfinete; 2, pequenas lesões, com coloração marrom a preta, sem o centro distinguível; 3, lesões arredondadas do tipo mancha ocular, com o centro cinza; e 4, lesões típicas de suscetibilidade, elípticas e com centro cinza. As reações 0, 1 e 2 foram classificadas como resistentes (R), por não serem esporulativas, e as tipo 3 e 4, como suscetíveis (S).

A avaliação das espigas destacadas foi realizada pela observação visual do grau de severidade que a doença atingiu nas espigas, sendo dadas notas visuais de 0-100%. Foi considerado resistente (R) o material que apresentou <10% de severidade de acordo com Maciel et al. (2014).

2.6 Estatística

O delineamento experimental envolvendo as plântulas foi o inteiramente casualizado, com duas repetições. Cada copo de plástico foi considerado uma repetição. O delineamento experimental envolvendo as espigas destacadas foi o de blocos inteiramente casualizado, com três repetições, considerando-se uma repetição cada um dos três blocos de espuma fenólica em que as espigas foram

fixadas. Todos os experimentos foram replicados. As raças foram representadas por letras e números, de acordo com Maciel et al. (2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Amostragem resultou em 478 isolados oriundos de plantas de trigo, 94 de poáceas invasoras e ainda um isolado oriundo de uma planta da família Cyperaceae (Tabela 2), totalizando 573 isolados. Destes foram utilizados para as inoculações 144 isolados de trigo e os 95 obtidos de plantas invasoras.

Tabela 2- Espécies invasoras, nome científico, ano da coleta e número de isolados de *Pyricularia oryzae* obtidos. Passo Fundo-RS, 2015

Invasoras	Nome científico	Ano da coleta	Nº
Aveia	<i>Avena sativa</i>	2012	14
Azevém	<i>Lolium multiflorum</i>	2012	1
Braquiária	<i>Urochloa plantaginea</i>	2012	17
Capim-amargoso	<i>Elionurus candidus</i>	2012	2
Capim-arroz	<i>Echinochloa</i> spp.	2012	5
Capim-anoni	<i>Eragrostis plana</i>	2012	2
Capim-carrapicho	<i>Cenchrus echinatus</i>	2012	14
Capim-colonião	<i>Panicum maximum</i>	2012	7
Capim-favorito	<i>Rhynchelytrum repens</i>	2012	4
Capim-sudão	<i>Sorghum sudanense</i>	2012	1
Capim de rhodes	<i>Chloris</i> spp.	2012	10
Milhã	<i>Digitaria sanguinalis</i>	2012	12
Pé-de-galinha	<i>Eleusine indica</i>	2012	3
Tifton	<i>Cynodon</i> spp.	2012	1
Tiriricão	<i>Cyperus rotundus</i>	2012	1
ND ^x	-	2012	1
Total			95

^xND=Não determinada a espécie onde foi encontrado o isolado.

A reação dos genótipos de trigo e da linhagem de cevada, no estágio de plântula, quando submetidos à inoculação com os

diferentes isolados de *P. oryzae*, demonstrou a existência de resistência completa.

Os genótipos de trigo Anahuac 75, BR 24, MGS 3 Brilhante, BR 18 Terena, BRS 220 e CNT 8 apresentaram somente infecções do tipo 4, o que caracteriza reações de suscetibilidade ou de compatibilidade. A linhagem de cevada PFC 2010123 apresentou os quatro tipos de infecções, entretanto, com o maior número de infecções caracterizadas do tipo 4. Já os genótipos de trigo BRS 229, BRS Buriti, Renan e BRS 234 apresentaram, em maior número, reações do tipo 0, caracterizando reações de resistência ou de ausência de infecção, mesmo que ainda tenha ocorrido infecções do tipo 1 e do tipo 4 (Tabela 3).

Tabela 3 – Caracterização de genótipos de trigo e cevada quanto à distribuição de tipos de lesões foliares de brusone causadas por isolados de *Pyricularia oryzae* do trigo. Passo Fundo-RS, 2015

Genótipos/ Linhagem	Tipo de infecção				
	0 ^x	1	2	3	4
Anahuac 75	0	0	0	0	144
BR 24	0	0	0	0	144
MGS 3 Brilhante	0	0	0	0	144
BR 18 Terena	0	0	0	0	144
BRS 220	0	0	0	0	144
CNT 8	0	0	0	0	144
BRS 229	78	0	0	1	65
BRS Buriti	101	1	0	0	42
Renan	100	1	0	0	43
BRS 234	97	1	0	0	46
PFC 2010123	4	1	9	1	129

^x0= significou ausência de infecção; 1= lesões escuras, do tipo cabeça de alfinete; 2= pequenas lesões, com coloração marrom a preta, sem o centro distinguível; 3= lesões arredondadas do tipo mancha ocular, com o centro cinza; e 4= lesões típicas de suscetibilidade, elípticas e com centro cinza.

Em relação aos isolados de invasoras a reação dos genótipos de trigo e de linhagem de cevada, representados pelo tipo de infecção na fase de plântula, mostraram também a existência de reação diferencial, entretanto, com um maior número de reações do tipo 0 em todos os materiais utilizados na série diferenciadora de raças (Tabela 4). Os genótipos de trigo Anahuac 75, BR 24, MGS 3 Brillhante, BR 18 Terena, BRS 220 e CNT 8 apresentaram o maior número de infecções do tipo 4, caracterizadas como suscetíveis, entretanto com a presença de reações do tipo 0 e do tipo 1, principalmente nos genótipo BR 24 e CNT 8. A linhagem de cevada PFC 2010123, apresentou um maior número de infecções do tipo 4, mas com a presença de reações do tipo 0, 2 e 3. Os genótipos de trigo BRS 229, BRS Buriti, Renan e BRS 234 apresentaram um maior número de reações do tipo 0 caracterizando estes genótipos com alto nível de resistência (Tabela 4).

O presente estudo identificou genótipos de trigo promissores na busca de genes de resistência para a brusone do trigo, destacaram-se os genótipos BRS 229, BRS Buriti, Renan e BRS 234 e a linhagem de cevada PFC 2010123, tanto para os isolados de trigo, como de invasoras. Estes genótipos, caracterizados por reações incompatíveis, podem apresentar vários genes de efeito maior, que podem, no futuro, ser utilizados em programas de melhoramento (VALENT et al., 1991; URASHIMA et al., 2004).

Tabela 4 - Caracterização de genótipos de trigo e cevada quanto à distribuição de tipos de lesões foliares de brusone causadas por isolados de *Pyricularia oryzae* de invasoras. Passo Fundo-RS, 2015

Genótipos/ Linhagem	Tipo de infecção				
	0	1	2	3	4
Anahuac 75	2	0	0	0	56
BR 24	19	2	0	0	35
MGS 3 Brillhante	22	0	0	0	36
BR 18 Terena	21	0	0	0	37
BRS 220	9	0	0	0	49
CNT 8	16	1	0	0	41
BRS 229	49	0	0	0	9
BRS Buriti	52	0	0	0	6
Renan	52	0	0	0	6
BRS 234	52	0	0	0	6
PFC 2010123	3	0	9	1	55

^x0= significou ausência de infecção; 1= lesões escuras, do tipo cabeça de alfinete; 2= pequenas lesões, com coloração marrom a preta, sem o centro distinguível; 3= lesões arredondadas do tipo mancha ocular, com o centro cinza; e 4= lesões típicas de suscetibilidade, elípticas e com centro cinza.

A diversidade de virulência que populações do fungo da brusone do trigo apresenta é um dos indicativos do alto grau de variabilidade genética (URASHIMA et al., 1999). O teste do espectro de virulência, dos isolados de trigo e de poáceas invasoras, identificou um padrão racial dentre as populações amostradas, possibilitando o agrupamento conforme suas reações nos genótipos que compõem a série diferenciadora de raças. O agrupamento das raças foi realizado de acordo com a metodologia desenvolvida por Maciel et al. (2014). Vale salientar, que os critérios de classificação de raças, desenvolvidos por estes autores são arbitrários e bastante rígidos, além de não serem totalmente representativos das reações que ocorrem sob condições de campo. Por exemplo, um critério bastante rígido foi aquele que estabeleceu a reação de resistência de um genótipo no

estádio de planta adulta, baseado na avaliação das espigas destacadas, deveria ser somente para reações com severidade $< 10\%$.

Os isolados de trigo, inoculados em plântulas, possibilitaram identificar 17 grupos de virulência ou raciais, representados de A até Q. As reações de resistência (R) concentraram-se nos genótipos de trigo BRS 229, BRS Buriti, Renan, BRS 234 e a linhagem de cevada PFC 2010123, e as reações suscetíveis (S) nos genótipos de trigo Anahuac 75, BR 24, MGS 3 Brillhante, BR 18 Terena, BRS 220 e CNT 8. A raça L representou o maior grupo, com frequência de ocorrência de 45,8%, já a raça A representou o grupo mais agressivo, pois os isolados foram virulentos em todos os genótipos da série diferenciadora de raças, caracterizando reações suscetíveis (S). Esta raça apresentou 19,4% de frequência de ocorrência (Tabela 5).

Nas inoculações em planta adulta ou espigas destacadas, foi possível identificar quatro grupos de virulência, representados de A' até D'. As reações de resistência ficaram restritas aos genótipos de trigo Renan e à linhagem de cevada PFC 2010123. A raça A' foi a mais frequente com ocorrência de 80,5%, seguida da raça B' que apresentou 16,6% de frequência (Tabela 5). Nas inoculações feitas em plântulas, é relevante mencionar a alta suscetibilidade do genótipo Anahuac 75, podendo ser caracterizada, entre as cultivares testadas, como a melhor indicadora de patogenicidade de *P. oryzae* em plântulas de trigo e cevada (Tabela 5).

O nível de complexidade fenotípica, representado pela reação dos isolados na série diferenciadora de raças, é um indicativo da diversidade de *P. oryzae* prevalente no entorno e nas próprias

lavouras de trigo das regiões produtoras no Brasil. Estas diferenças entre populações de *P. oryzae* do trigo foram relatadas em estudos anteriores. Urashima et al. (2005), usando características sexuais (formação de peritécios, ascas e ascósporos) e *fingerprinting* de DNA do patógeno identificaram a existência de duas populações formando a estrutura de *P. oryzae* em trigo no Brasil. Cruz et al. (2009) baseando-se na resposta de 18 isolados em inoculações em plântulas de trigo, descreveram 13 patotipos, o que representou um alto grau de variabilidade, para esta população. Maciel et al. (2014) estudando a estrutura genética de populações de *P. oryzae* do trigo, utilizando 11 marcadores do tipo microssatélites, e 184 isolados oriundos de campos de trigo da região Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, descobriram que populações geográficas do fungo são bastante diversas apesar da fração clonal detectada, 68%. Além disso, utilizando uma série diferenciadora de raças de cultivares comerciais de trigo, cevada e arroz, para estudar a especialização fisiológica de *P. oryzae* do trigo, indicaram a presença de 14 grupos raciais na região Centro-Sul do Brasil. Cruz et al. (2012), testando a reação de 85 genótipos de trigo à brusone nos Estados Unidos, não encontraram evidências da presença de raças fisiológicas entre os isolados testados, provavelmente devido ao baixo número de isolados utilizados no trabalho. Entretanto, nenhum estudo incluiu amostras de espécies invasoras.

Em arroz, o estudo da especialização fisiológica de *P. oryzae*, indicou a presença de um elevado nível de variabilidade genética, nas populações que atacam o arroz em todo o mundo, através da identificação de raças e linhagens (NUNES et al., 2014; PRABHU & FILIPPI, 2001). O estudo da estrutura genética de

populações de *P. oryzae*, coletadas em regiões produtoras de arroz no Uruguai e Irã, utilizando marcadores gerados pela análise de polimorfismos de comprimento de fragmento amplificado, identificou quatro linhagens, entre 87 isolados e a presença de fluxo gênico entre as populações amostradas destes dois países (TAHERI & IRANNEJAD, 2013). Maciel et al. (2014) também detectou que populações de *P. oryzae* do trigo do Brasil tem componente sexual (sistema reprodutivo misto). Dias Neto et al. (2010) testando 250 isolados de *P. oryzae*, em um conjunto internacional de cultivares de arroz, detectaram a presença de 45 raças, semelhante ao estudo desenvolvido por Anjos et al. (2009), que inocularam 250 isolados em uma série internacional de diferenciadoras de arroz e encontraram 45 raças. Nunes et al. (2014) avaliando a virulência de 36 isolados de *P. oryzae*, coletados em 18 cultivares de arroz irrigado, em quatro municípios do Rio Grande do Sul, identificaram a presença de 21 raças. Neste mesmo trabalho, o gene *Pi-2*, presente na linhagem C101-A51, conferiu resistência a todos os isolados de brusone analisados.

Tabela 5- Grupos de virulência formados por isolados de *Pyricularia oryzae* do trigo, baseados nas respostas de inoculação (resistente R e suscetível S) em série diferenciadora de raças. Passo Fundo-RS, 2015

Grupo de virulência	Reação em plântulas														Número	Freq. (%)
	Trigo							Cevada								
	Anahuac 75	BR 24	MGS 3 Brilhante	BR 18 Terena	BRS 220	CNT 8	BRS 229	BRS Buriti	Renan	BRS 234	PFC 2010123	2010123				
A	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	28	19,4	
B	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	4	2,78	
C	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	2	1,39	
D	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	1	0,69	
E	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	6	4,17	
F	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	5	3,47	
G	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	2	1,39	
H	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	3	2,08	
I	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	1	0,69	
J	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	11	7,64	
K	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	2	1,39	
L	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	66	45,8	
M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	8	5,56	
N	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	1	0,69	
O	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	1	0,69	
P	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	2	1,39	
Q	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	1	0,69	
Total															144	100

Cont...

Reação em espigas															
A'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	116	80,5
B'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	24	16,6
C'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	2	1,39
D'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	2	1,39
Total														144	100

Os isolados de invasoras inoculados em plântulas de trigo e cevada apresentaram maior diversidade fenotípica, quando comparados com os isolados de trigo. Nesta população, foram identificados 19 grupos de virulência ou raciais, representados de A1 até S1. A raça que ocorreu em maior frequência foi a L1, com 36,2%, este grupo foi representado por reações de resistência nos genótipos BRS 229, BRS Buriti, Renan e BRS 234 (Tabela 6). A raça A1 foi a única que apresentou virulência a todos os genótipos da série diferenciadora de raças. Este grupo foi composto por três isolados de braquiária (*Urochloa plantaginea* (Link.) Webster.) e um de capim-sudão (*Sorghum sudanense* (Piper.) Stapf.) ocorrendo com frequência de 6,9%. Estes resultados confirmaram que braquiária, juntamente com capim-sudão, podem ser espécies importantes no ciclo biológico do fungo em lavouras de trigo no sul do Brasil, podendo ser fonte de variabilidade. A influencia de isolados de hospedeiros alternativos, na variabilidade de *P. oryzae* do trigo, foi mencionada em trabalhos anteriores, espécies como, braquiária e capim rabo de raposa (*Setaria geniculata*(Lam.) Beauv.), demonstraram capacidade de recombinação sexual e/ou formação de órgãos sexuais férteis, quando cruzados com isolados oriundos de plantas de trigo (BRUNO & URASHIMA, 2001). Além das raças A e A1 que apresentaram as mesmas reações, ou seja, foram virulentas em toda a série diferenciadora de raças, sendo caracterizadas como as mais agressivas, as raças I e I1, J e J1, K e K1, L e L1, M e M1 e também as raças Q e Q1 foram correspondentes em suas reações. Tanto para os isolados de trigo como para os de invasoras, as raças L e L1 apresentaram maior frequência, para este critério de classificação. Estes resultados

indicaram a existência de uma similaridade entre raças de *P. oryzae* do trigo e espécies invasoras.

Em relação às inoculações em espigas destacadas, o teste de espectro de virulência, agrupou os isolados de invasoras em 14 raças, representadas de A1' até N1'. O grupo A1' apresentou a maior frequência 74,2%, este grupo representou reações suscetíveis em toda a série diferenciadora de raças, seguido do grupo F1' com 4,8% (Tabela 6). Entre os isolados de invasoras utilizados nestes ensaios, algumas espécies como: (braquiária (1)), capim pé-de-galinha (*Eleusine indica* (L.) Gaertn. (1)), capim amargoso (*Elionurus candidus* (Trin.) Hack. (1)), capim carrapicho (*Cenchrus echinatus* L. (7)), capim de rodes (*Chloris* spp. (1)) e milhã (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., (7)) não apresentaram esporulação suficiente, o que impossibilitou sua utilização nas inoculações. Além disso, verificou-se a presença de isolados não patogênicos, tanto em plântulas como em espigas destacadas, entre estes estão isolados das espécies capim amargoso (1), milhã (1), ND (1), aveia (*Avena sativa* L. (2)), braquiária (3), capim arroz (*Echinochloa* spp. (1)), capim colônia (*Panicum maximum* L. (2)) e capim carrapicho (2). As respostas dos isolados de invasoras, tanto nas reações em plântulas como em espigas destacadas, indica que os mesmos não apresentam um padrão de patogenicidade, em função dos hospedeiros de onde foram isolados. Isso devido à diferença de patogenicidade entre os isolados de cada espécie invasora, como por exemplo, os de braquiária, que dentre todos os isolados obtidos desta espécie, três não foram patogênicos a nenhum componente da série diferenciadora de raças. Corroborando com estes resultados, estudos realizados anteriormente relatam estas

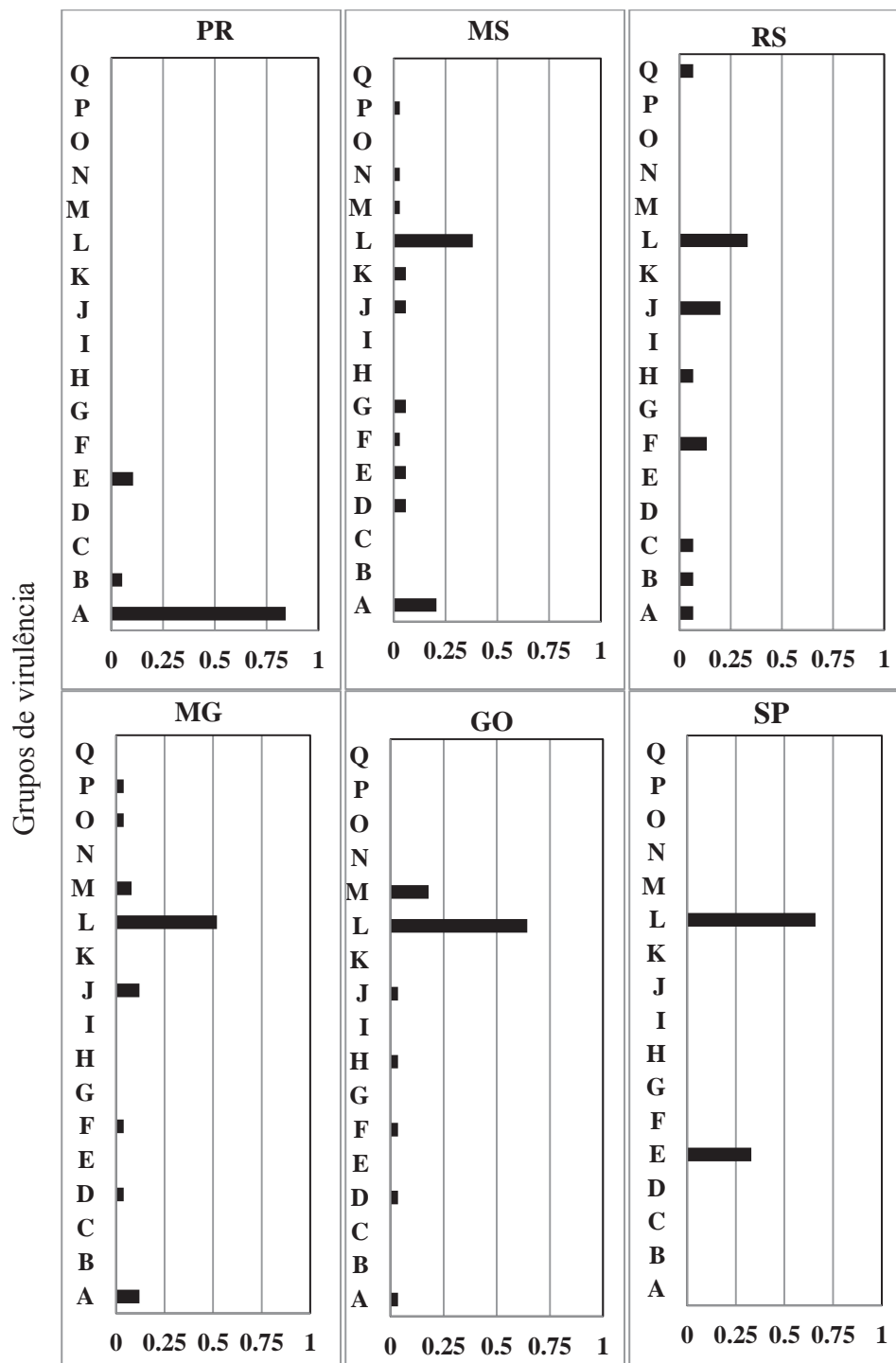
Tabela 6- Grupos de virulência formados por isolados de *Pyricularia oryzae* de invasoras, baseados nas respostas de inoculação (resistente R e suscetível S) em série diferenciadora de raças. Passo Fundo-RS, 2015

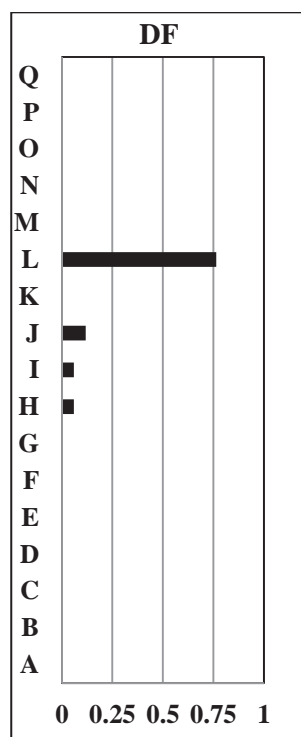
Grupo de virulência	Reação em plântulas														Número	Freq. (%)
	Trigo							Cevada								
	Anahuac 75	BR 24	MGS 3 Brilhante	BR 18 Terena	BRS 220	CNT 8	BRS 229	BRS Buriti	Renan	BRS 234	PFC 2010123					
AI	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	4	6,90
BI	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	6	10,3
CI	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,72
DI	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
EI	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5	8,62
FI	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,72
GI	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	4	6,90
HI	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
II	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
JI	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	4	6,90
KI	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
LI	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	21	36,2
MI	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
NI	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
OI	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
PI	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
QI	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,72
RI	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	2	3,45
SI	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,72
Total															58	100

	Reação em espigas												46	74,2
	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		
AI'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	2	3,23
BI'	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,61
CI'	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,61
DI'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,61
EI'	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,61
FI'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3	4,84
GI'	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,61
HI'	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,61
II'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,61
JI'	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,61
KI'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,61
LI'	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,61
MI'	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	1,61
NI'	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	1	1,61
Total													62	100

diferenças em testes de virulência para isolados oriundos da mesma espécie hospedeira, enquanto Zellerhoff et al. (2006) utilizando linhagens de cevada relataram que quase todas foram altamente resistentes a inoculações com isolados em *P. grisea* (*Digitaria* spp.) Hyon et al. (2012) encontraram respostas diferenciais, quando utilizaram dois isolados oriundos de milhã inoculados em genótipos de cevada.

A distribuição dos grupos de virulência de espigas destacadas indicou no Paraná (19 isolados testados) a presença da raça A (em maior proporção), B e E; no Mato Grosso do Sul (34 isolados) as raças A, D, E, F, G, J, K, L (em maior proporção), M, N e P; no Rio Grande do Sul (15 isolados) as raças A, B, C, F, H, J, L (em maior proporção) e Q; em Minas Gerais (25 isolados) as raças A, D, F, J, L (em maior proporção), M, O e P; em Goiás (28 isolados) as raças A, D, F, H, J, L (em maior proporção), M; em São Paulo (6 isolados) as raças L (em maior proporção) e E; e no Distrito Federal (17 isolados) as raças H, I, J e L (em maior proporção) (Figura 1). Em São Paulo e Distrito Federal não houve a presença da raça A, que foi virulenta em todos os genótipos da série diferenciadora de raça. Em Mato Grosso do Sul houve maior diversidade de raças. Observou-se, na distribuição das raças, onde ocorre os maiores problemas com a brusone em trigo, houve a presença da raça A que causou reações suscetíveis em toda a série diferenciadora de raças. Urashima et al. (2004) estudando a virulência de isolados de *P. oryzae* do trigo, na fase de plântula, em populações oriundas dos estados do Paraná (35 isolados) e Mato Grosso do Sul (37 isolados), descreveram a existência de padrões distintos de virulência. No Paraná foram descritos 25 patótipos e no





Proporção

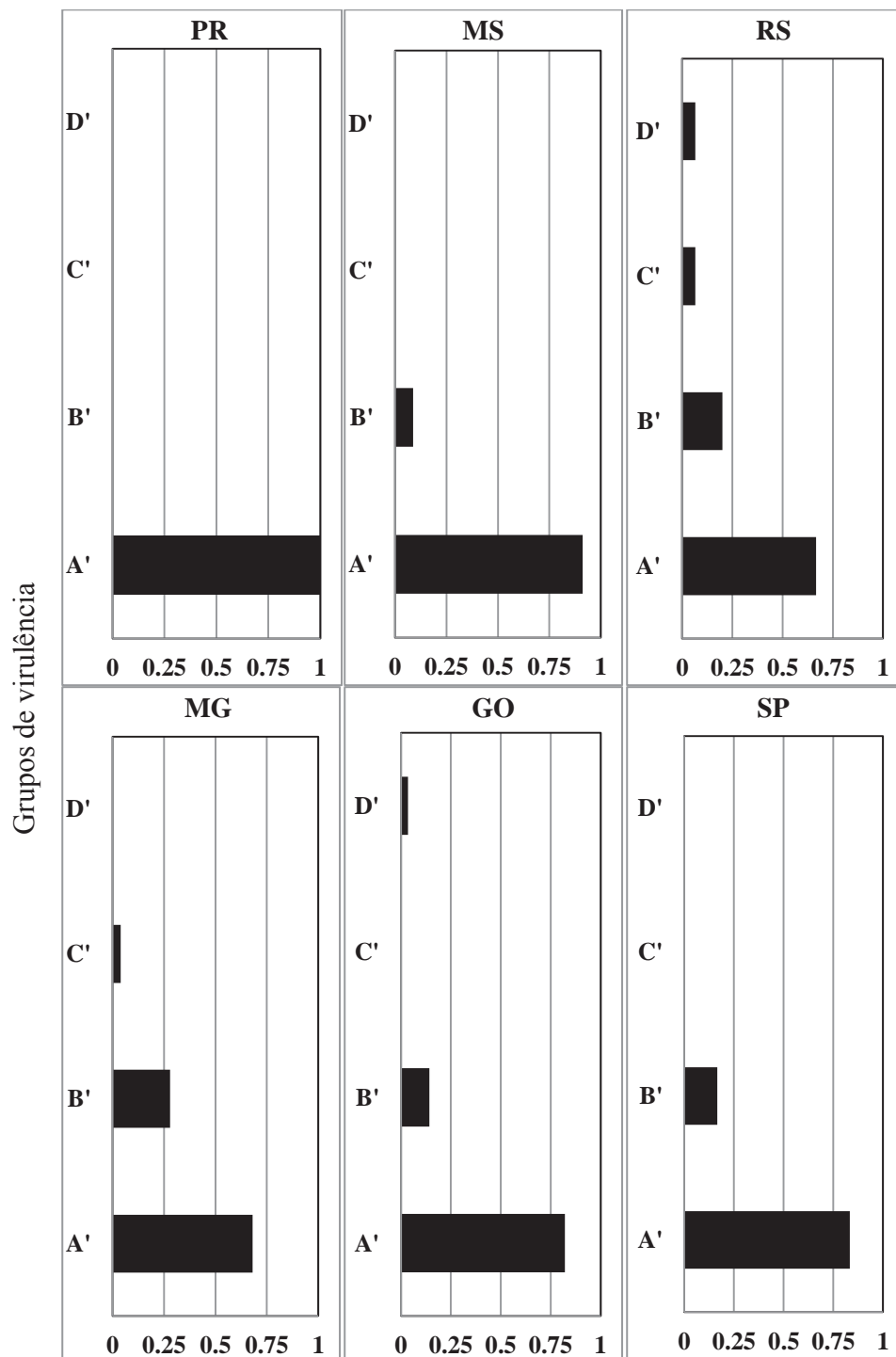
Figura 1- Distribuição dos grupos de virulência de *Pyricularia oryzae*, inoculados em plântulas de trigo e cevada no Paraná (19 isolados), Mato Grosso do Sul (34 isolados), Rio Grande do Sul (15 isolados), Minas Gerais (25 isolados), Goiás (28 isolados), São Paulo (6 isolados) e Distrito Federal (17 isolados). As letras maiúsculas no eixo-y, representam os diferentes grupos de virulência e as barras escuras do eixo-x representam a proporção de cada grupo de virulência em cada estado. Passo Fundo-RS, 2015.

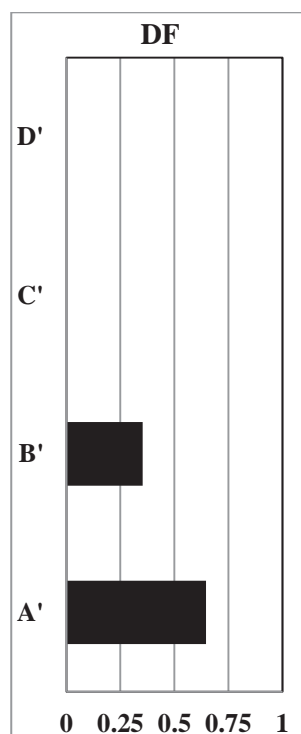
Mato Grosso do Sul foram descritos 30. Neste mesmo trabalho, os resultados indicaram a presença de isolados com capacidade para causar doença em todos os genótipos de trigo, assemelhando-se com os encontrados no presente trabalho. Estas diferenças (genéticas ou

fenotípicas) entre as populações de *P. oryzae*, podem ocorrer tanto geograficamente como temporalmente (CHEN et al., 1995).

A distribuição dos grupos de virulência identificados pelas inoculações em espigas destacas, indicou a presença da raça A' como predominante no estado Paraná, no estado do Mato Grosso do Sul as raças A' e B', no Rio Grande do Sul as raças A', B', C' e D', em Minas Gerais as raças A', B' e C', em Goiás as raças A', B' e D', em São Paulo as raças A' e B' e no Distrito Federal as raças A' e B' (Figura 2). A presença de diversidade entre a população amostrada foi observada em quase todos os estados, por exemplo, SP de onde foi testado seis isolados apresentou diversidade igual à apresentada no DF, do qual foi testado 17 isolados. Estes resultados indicaram que a raça A', caracterizada como a mais agressiva nos experimentos, pois foi virulenta em toda a série diferenciadora de raças, esteve presente em todos os estados produtores de trigo no Brasil. No Paraná, predominaram as raças mais agressivas, sem controle de possíveis genes R presentes na série diferenciadora de raças. Nesse estado, o cultivo de trigo é intenso, contínuo e tradicional, e foi onde ocorreu o primeiro relato da brusone em trigo no Brasil, município de Londrina, em meados da década de 1980. A partir dessa data, a ocorrência da doença tornou-se comum neste estado. Em relação ao Rio Grande do Sul, a ocorrência da brusone em trigo é esporádica e os resultados mostraram que predominaram raças menos agressivas que conseguem dominar as áreas em relação às raças mais agressivas. O estudo da estrutura genética das populações do agente causal da brusone parece ser necessário para definir estratégias eficientes de controle da doença. Em arroz, a eficiência do controle da brusone com o uso de genótipos

resistentes, muitas vezes apresenta-se limitado devido à superação da resistência de novos genótipos, quando utilizados em condições de cultivo comercial (SILVA et al., 2007). Estas falhas no controle genético em arroz foram atribuídas ao desenvolvimento de novas raças na natureza, a multiplicação expressiva de isolados virulentos, expansão da área plantada, ocorrência em alto grau de mutações em isolados avirulentos, e falha nos programas de melhoramento pela exposição inadequada dos genótipos ao patógeno (BONMAN et al., 1992; CORREA-VICTORIA & ZEIGLER, 1993; KIYOSAWA, 1982; SILVA et al., 2007). Neste sentido, o conhecimento das raças que formam a estrutura populacional de *P. oryzae* em uma região é de extrema importância, e pode auxiliar no desenvolvimento de genótipos de trigo resistentes à brusone, e possibilita também, indicar para os programas de melhoramento regiões que possam representar significativamente toda a estrutura populacional deste patógeno, possibilitando a exposição correta destes genótipos durante as fases de seleção a diversas raças.





Proporção

Figura 2- Distribuição dos grupos de virulência de *Pyricularia oryzae*, inoculados em espigas destacadas de trigo e cevada no Paraná (19 isolados), Mato Grosso do Sul (34 isolados), Rio Grande do Sul (15 isolados), Minas Gerais (25 isolados), Goiás (28 isolados), São Paulo (6 isolados) e Distrito Federal (17 isolados). As letras maiúsculas no eixo-y, representam os diferentes grupos de virulência e as barras escuras do eixo-x representam a proporção de cada grupo de virulência em cada estado. Passo Fundo-RS, 2015.

O presente trabalho possibilitou conhecer a variabilidade de isolados de *P. oryzae* do trigo e a relação destes com isolados que infectam diferentes espécies de hospedeiros, estes representados principalmente por plantas invasoras da família Poaceae. Neste caso, o desenvolvimento de estratégias de manejo eficientes para o controle

da brusone na cultura do trigo e que agridam o mínimo possível o meio ambiente, deverá levar em consideração a similaridade (representada pelo espectro de virulência), entre isolados de *P. oryzae* do trigo e espécies invasoras, que conseguem infectar e produzir sintomas em plantas de diversos genótipos de trigo. Devido à alta variabilidade apresentada pelos isolados de *P. oryzae* no presente trabalho, faz-se necessário um monitoramento constante das populações que infectam trigo e poáceas invasoras.

4 CONCLUSÕES

- a) O espectro de virulência apresentado pelos isolados amostrados caracteriza a população com um grau elevado de variabilidade.
- b) A similaridade entre isolados de braquiária e capim sudão com isolados do trigo, em termos de virulência, é indicativo relevante da influência que hospedeiros alternativos exercem sobre o desenvolvimento da brusone do trigo no Brasil.
- c) O fator local exerce influência na virulência dos isolados obtidos de espigas de trigo.
- d) A linhagem de cevada PFC 2010123, e os cultivares de trigo, Anahuac 75, BR 18, BR 24, BRS 220, BRS 229, BRS 234, MGS 3 Brilhante, BRS Buriti, CNT 8 e Renan são eficientes como diferenciadores de raças do patógeno.

CAPÍTULO II

MONITORAMENTO DE CONÍDIOS DE *Pyricularia oryzae* DO TRIGO E INCIDÊNCIA DA BRUSONE EM PASSO FUNDO, RIO GRANDE DO SUL

ANDERSON LUIZ DURANTE DANELLI¹

RESUMO - O fungo *Pyricularia oryzae* agente causal da brusone do trigo, produz conídios hialinos, secos e leves que podem ser removidos das lesões esporulativas pelo vento, e transportados a longas distâncias. Foram conduzidos experimentos com o objetivo de determinar a relação de propágulos de *P. oryzae* disseminados pelo ar e variáveis meteorológicas, e ainda verificar a ocorrência da brusone do trigo em Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. No período entre 2 de fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, foi monitorado o número de conídios de *P. oryzae* no ar, com o auxílio de armadilha coletora de esporos e lâminas de vidro untadas com vaselina. Neste período, foram registradas de hora em hora algumas variáveis climáticas, presentes durante a captura dos esporos. Os dados foram explorados através do uso de árvores de classificação, e relações entre preditores à base de variáveis climáticas e número de conídios capturados dia⁻¹. Para verificar a ocorrência da doença, foram semeados no campo dois genótipos de trigo, BRS 179 e BRS 296, e quantificada a incidência em espigas. Foi verificada a presença de um fluxo de conídios de *P.*

¹ Eng. Agr., doutorando do Programa de Pós Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

oryzae em Passo Fundo, Rio Grande do Sul. Os preditores mais fortes foram umidade relativa do ar média, temperatura média diária, precipitação menor que 5 mm dia⁻¹ e números de horas em que a temperatura estava entre 15 e 35 °C e umidade relativa do ar > 93%. Entre os meses de janeiro e março foi verificada a ocorrência por infecção natural da brusone do trigo em Passo Fundo, RS.

Palavras-chaves: *Triticum aestivum*, fatores climáticos, modelos preditivos.

MONITORING *Pyricularia oryzae* CONIDIA OF WHEAT AND INCIDENCE OF BLAST IN PASSO FUNDO, RIO GRANDE DO SUL

ABSTRACT - The fungus *Pyricularia oryzae* causal agent of wheat blast, produces light, dry hyaline conidia that can be removed, by the wind, from sporulating lesions and transported over long distances. Experiments were performed in order to determine the rate of airborne *P. oryzae* propagules and meteorological variables, and also to verify the occurrence of wheat blast in Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil. Between February 2nd, 2013 and June 7th, 2014, it was monitored the number of *P. oryzae* conidia in the air, using collecting spore trap and glass slides smeared with vaseline. During this period, some climate variables were hourly recorded during the capture of the spores. The data was explored by using classification trees, and relationship between climate variables based predictors and the

number of conidia captured per day. To check the occurrence of the disease, it two wheat genotypes, were sown in the field BRS 179 and BRS 296, and the incidence in the heads quantified. It was verified the presence of a conidia flow *P. oryzae* in Passo Fundo, Rio Grande do Sul. The strongest predictors were average relative humidity, daily mean temperature, precipitation inferior to 5 mm day⁻¹ and numbers of hours in which the temperature was between 15 and 35 °C and relative humidity >93%. Between the months of January and March, by natural infection of wheat blast in Passo Fundo, RS, was reported to occur.

Key words: *Triticum aestivum*, climatic factors, predictive models.

1 INTRODUÇÃO

O fungo *Pyricularia oryzae* (Cavara) é o agente causal da brusone em trigo (COUCH et al., 2005). Este patógeno apresenta uma ampla gama de hospedeiros, podendo ser encontrado em inúmeras plantas, principalmente espécies da família Poaceae, como cevada (*Hordeum vulgare* L.) (ANJOS & CHARCHAR, 2000), azévem perene (*Lolium perenne* L.) (LANDSCHOOT & HOYLAND, 1992), capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.) e milheto (*P. glaucum* (L.) R. Br.) (VERZIGNASSI, 2013), entre outros.

As infecções do patógeno podem ocorrer em todos os órgãos da parte aérea da planta de trigo, entretanto, esta doença tornou-se importante ao trigo, devido aos danos causados pelas infecções nas espigas. O desenvolvimento de sementes chochas decorre do impedimento do enchimento dos grãos pelo estrangulamento na ráquis (BOCKUS et al., 2013). Os sintomas nas folhas variam de lesões verde-cinza com bordas delimitadas de coloração verde-escura, a castanho-amarelado que se tornam necróticas dependendo da idade da lesão (DEBONA et al., 2012). Os conídios podem ser produzidos em toda a parte aérea da planta (IGARASHI, 1988). Uma lesão de *P. oryzae* do arroz em inoculação em laboratório pode produzir de 2.000 a 6.000 conídios por dia mantendo-se viável por aproximadamente duas semanas (OU, 1985).

O patógeno produz conídios hialinos, com dois a três septos, estes são aderidos ao conidióforo por meio de uma célula e, quando maduros, a célula se divide em duas, liberando o conídio (PURCHIO & MUCHOVEJ, 1994). O formato é piriforme, com

comprimento variando de 12,5-30,0 µm e largura variando de 5,0-12,5 µm (VERZIGNASSI, 2013). As condições ambientais requeridas à infecção são temperaturas entre 15 a 30 °C e 15 a 40 horas de molhamento (CARDOSO et al., 2008). Segundo Castejón-Muñoz (2008) em arroz, o acréscimo de 1 °C durante desenvolvimento da cultura proporcionou o aumento da intensidade da doença. A produção de conídios é favorecida com umidade relativa do ar $\geq 90\%$ e temperatura em torno de 28 °C (ALVES & FERNANDES, 2006). Os conídios são secos, leves e podem ser removidos das lesões esporulativas pelo vento, sendo transportados a longas distâncias. A liberação e o transporte ocorrem durante a noite, atinge o máximo entre 24 h e 6 h, com umidade relativa do ar alta (100%) e temperaturas em torno de 22 °C (WEBSTER & GUNELL, 1992; ESPINOZA & SHOHARA, 2003). A disseminação aérea é considerada o meio mais importante de transporte, sendo que a distância de transporte de *P. oryzae* pode ser de até 1.000 metros a partir de um campo infectado (URASHIMA et al., 2007).

Nesse sentido, trabalhos desenvolvidos em arroz demonstraram que a concentração de conídios aerotransportados, está relacionada com condições climáticas, indicando um fator de risco para infecções e desenvolvimento de epidemias (PICCO & RODOLFI, 2002; PICCO et al., 2004). Assim, o desenvolvimento de estratégias de manejo, para a brusone do trigo deve levar em consideração a dinâmica aéreo populacional do patógeno.

Para a cultura do arroz existe volume considerado de informações sobre a epidemiologia e dispersão de propágulos de *P. oryzae*, e os fatores que governam esses processos (SILVA &

PRABHU, 2005; CASTEJÓN-MUÑOZ, 2008), entretanto, para a cultura do trigo este tipo de estudo é quase que inexistente (ALVES & FERNADES, 2006; URASHIMA et al., 2007).

Os objetivos do trabalho foram determinar a relação de propágulos de *P. oryzae* disseminados pelo ar e variáveis meteorológicas e verificar a sua ocorrência da brusone do trigo em Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo

As atividades relativas aos experimentos relacionados foram realizadas nas instalações da Embrapa Trigo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul (28°13'37.22" S, 52°24'23.09" W, altitude 684 m).

2.2 Captura de conídios

O monitoramento de conídios de *P. oryzae*, foi realizado entre 2 de fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014. Para a captura e quantificação dos conídios de *P. oryzae* no ar, foi utilizado a um coletor de esporos tipo cata-vento (REIS & SANTOS, 1985), posicionado 1,50 m acima do nível do solo. Foi utilizado como superfície coletora uma lâmina de microscópio (7,5 x 2,5 cm), untada com solução de vaselina sólida (Rioquímica). As lâminas foram posicionadas contra o vento em ângulo de 45°, sendo substituídas a cada 24 horas a partir das 9.

2.2.1 Avaliações

Durante o monitoramento dos conídios, as variáveis climáticas, como temperatura, umidade relativa do ar, vento, radiação solar, temperatura do ponto de orvalho e precipitação foram registradas a cada hora com o auxílio de uma mini-estação meteorológica (Watch-Dog model 450). A identificação e

quantificação dos conídios de *P. oryzae*, foram realizadas por contagem de varredura nas lâminas de microscópio 7,5 x 2,5 cm, com duas lamínulas de 18 x 18 mm, em um microscópio ótico (Nikon Eclipse E 200) em objetiva de 40x.

2.3 Genótipos e épocas de semeadura

Para a avaliação da intensidade da doença em Passo Fundo, RS, foram realizados experimentos de campo durante os anos de 2012, 2013 e 2014. Para verificar a ocorrência de brusone foram utilizados dois genótipos de trigo, BRS 179 e BRS 296, semeados em seis épocas de semeadura. No primeiro experimento, a semeadura ocorreu em 10/11/2012, 20/11/2012, 30/11/2012, 10/12/2012, 15/01/2013 e 03/01/2013. No segundo experimento, a semeadura ocorreu 13/11/2013, 21/11/2013, 30/11/2013, 14/12/2013, 10/01/2014 e 20/01/2014. Foram semeadas 65 sementes/m, com três linhas por parcela de um metro de comprimento e espaçamento de 0,20 m entre linhas. Na bordadura, foi utilizado o genótipo BRS 208. O ensaio recebeu irrigação durante a noite, foram utilizados seis ciclos de fornecimento de água às parcelas dos experimentos, com duração de cinco minutos cada um, totalizando uma precipitação de 2 mm de água em cada ciclo.

2.3.1 Avaliações

Para quantificação da intensidade da doença foi utilizado o método de incidência em espigas. Incidência foi considerada a

proporção de indivíduos ou de órgãos (espigas) atacados pela doença manifestando sintomas e ou sinais (NUTTER Jr. et al., 1993). Para avaliar a incidência da doença em espigas, foram retiradas 100 espigas ao acaso por linha, quantificando o número total de espigas (NTE), separando-se aquelas que apresentavam sintomas visíveis (NTD), e então calculada a incidência em espigas $IE = ((NTD/NTE) \times 100)$. A coleta das espigas para avaliação foi realizada no momento de maior contraste, entre espigas sadias e doentes.

2.4 Estatística

Os conjuntos de dados meteorológicos de hora em hora e a contagem diária de conídios semelhantes a *P. oryzae* foram usadas para explorar a relação entre o número diário de conídios e as variáveis climáticas. A exploração dos dados baseou-se em preditores à base do tempo, wpre.5, wpre.4, wpre.3, wpre.2 e wpre.1, desenvolvidos em estudos anteriores (SHAH et al., 2014; SHAH et al., 2013). Alguns preditores foram resumos simples, como a precipitação total por dia, outros levaram em consideração duas condições-alvo a serem cumpridas simultaneamente, como o número de horas com temperaturas entre 15 °C e 35 °C e com umidade relativa do ar >93%, o que representa temperaturas relativamente quentes combinadas com alta umidade relativa do ar. Para selecionar os preditores mais importantes à base de condições climáticas, foi utilizado o método da árvore de classificação. Para modelar o número de conídios foi utilizado uma regressão binomial negativa inflada de zeros e para verificar a presença ou ausência de conídios *P. oryzae*, em um

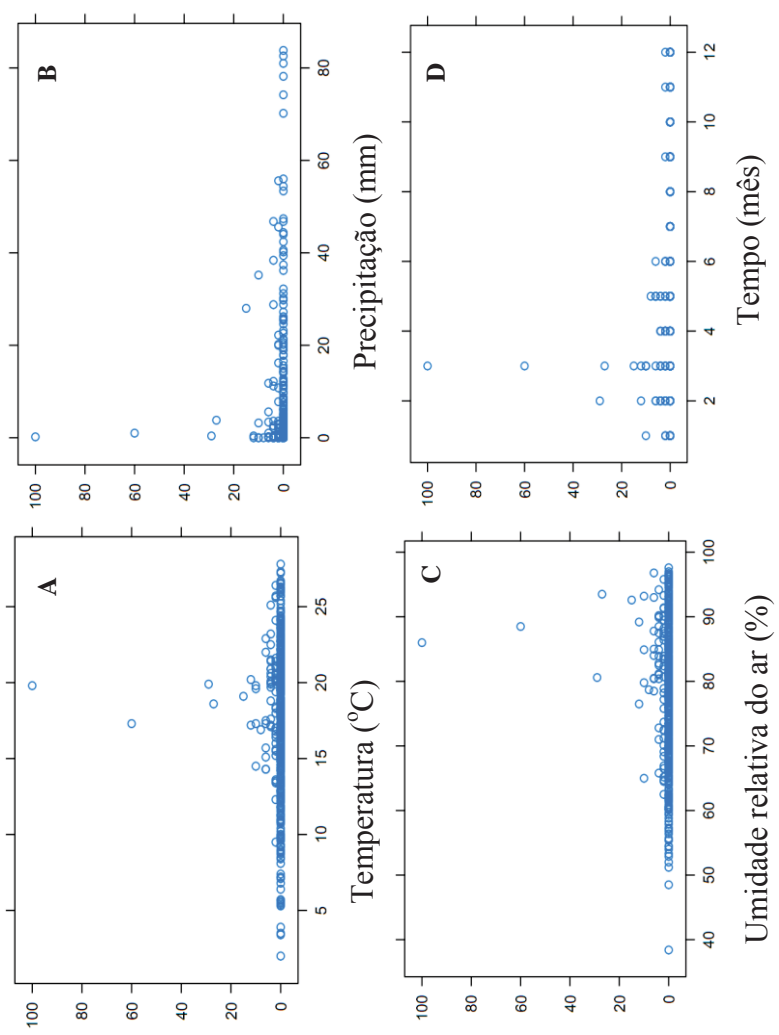
determinado dia, foi utilizado um modelo de regressão logística. Os dados de incidência foram representados em gráficos de forma simples. Toda a análise exploratória dos dados foi realizada utilizando uma linguagem R.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de monitoramento dos conídios de *P. oryzae*, foram quantificados 240 conídios característicos de *P. oryzae*, sendo que a concentração média durante os 492 dias de coleta foi 0,49 conídio dia⁻¹. O maior número de propágulos de *P. oryzae*, 48 conídios, foi quantificado no dia 10/03/2013. O monitoramento das condições meteorológicas, durante o desenvolvimento dos experimentos, possibilitou visualizar de forma simples os conídios quantificados, conforme cada variável climática (Figura 1). A plotagem dos conídios de *P. oryzae* com a temperatura, monitorada durante o período de coleta indicou uma concentração maior de propágulos entre as temperaturas de 15 a 25 °C, com um pico de conídios capturados em temperaturas próximas a 20 °C (Figura 1A). Na precipitação pluvial acumulada (mm) por dia como variável independente, a dispersão de conídios ocorreu entre 0 e 80 mm, mas com um acúmulo maior de propágulos quando as precipitações foram menores que 5 mm (Figura 1B). A umidade relativa do ar durante a captura dos conídios variou de 40 a 100%, abaixo disso, não foi verificado a presença de propágulos nas lâminas avaliadas, sendo que o pico ocorreu entre 80 e 90% de UR (Figura 1C). A maior concentração de propágulos ocorreu durante os primeiros meses do ano (Figura 1D). Segundo Reis (2004), a UR e a temperatura são consideradas fatores climáticos essenciais para o desenvolvimento das relações patógeno-hospedeiro. Neste caso, a UR é considerada um fator climático essencial ao desenvolvimento das epidemias, e a temperatura funciona como um catalizador biológico, atuando nos

processos de infecção e reprodução do patógeno. Além dos fatores meteorológicos, a dispersão dos propágulos de algumas espécies de fungos é influenciada pela estação do ano, situação geográfica, distância das fontes de inóculo e tipo de vegetação predominante na região de estudo (URASHIMA et al., 2007; STEPALSKA & WOLEK, 2009; KUDO et al., 2011).

Em arroz, o estudo da concentração de conídios de *P. oryzae* no ar e os fatores meteorológicos que influenciam sua dispersão, são considerados bons indicadores do risco de infecção (PICCO & RODOLFI, 2002; PICCO et al., 2004; BILONI et al., 2006). Modelos desenvolvidos com o uso destes tipos de variáveis são denominados de sistemas “preditivos” ou “previsores” de doenças. Neste sentido, o estudo dos fatores responsáveis por influenciar a aerobiologia de conídios pode ser de grande importância, para entender os processos e os mecanismos que favorecem a disseminação dos propágulos deste patógeno (DEL PONTE et al., 2004).



Número de conídios

Figura 1- Registros diários da dispersão de conídios de *Pyricularia oryzae* em relação à temperatura média (A), precipitação pluviométrica total (B), umidade relativa do ar (C) e mês do ano (D) durante o período de 2 de fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, Passo Fundo-RS, 2015.

Com os dados obtidos foi introduzida uma nova variável, neste caso, o número acumulado de horas com temperaturas entre 15 e 35 °C e com UR>93%, esta variável foi expressa pela sigla CB 1. Para seleccionar os preditores à base de condições climáticas, foi utilizado o método da árvore de classificação, para o número de conídios (Figura 2). Este método de classificação permitiu verificar e descrever associações entre variáveis dependentes, neste caso, a quantificação de conídios e independentes ou explicativas, implicitamente considerando possíveis interações. Nesse tipo de teste, variáveis numéricas ou categóricas, podem ser analisadas simultaneamente e o próprio algoritmo de indução se encarrega de seleccionar as de maior importância (MEIRA et al., 2008). No presente estudo, a associação mais forte ocorreu entre a contagem de conídios e a variável CB1, indicando que o número de horas em que a temperatura ficou na faixa entre 15 – 35 °C com UR>93% favoreceu a liberação e dispersão de conídios de *P. oryzae* (Figura 2). Associações menos importantes foram encontradas com as variáveis, precipitação $\geq 1,2$ mm e UR<85%, quando relacionadas isoladamente com o número de conídios capturados (Figura 2). Segundo Castejón-Muñoz (2008), em experimentos para verificar a influencia das condições climáticas, na concentração de conídios de *P. oryzae* no ar, e o desenvolvimento da doença em arroz na Espanha, com UR em torno de 95% e temperatura média entre 26 e 27 °C, a liberação dos conídios e a infecção foram favorecidas. A precipitação pluvial, temperaturas entre 24 e 28 °C, UR acima de 90% e longos períodos de orvalho, no mínimo 15 horas, são apontadas como condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da brusone em trigo (LIMA, 2004). A água da chuva em grande

quantidade (acima de 3,5 mm/dia), tem a capacidade de reduzir o número de conídios presentes nas lesões das plantas. Este processo natural é ocasionado pela força das precipitações sobre os conidióforos que acabam liberando os conídios e reduzindo a quantidade de inóculo, e com isso afetando a disseminação (KIM, 1994).

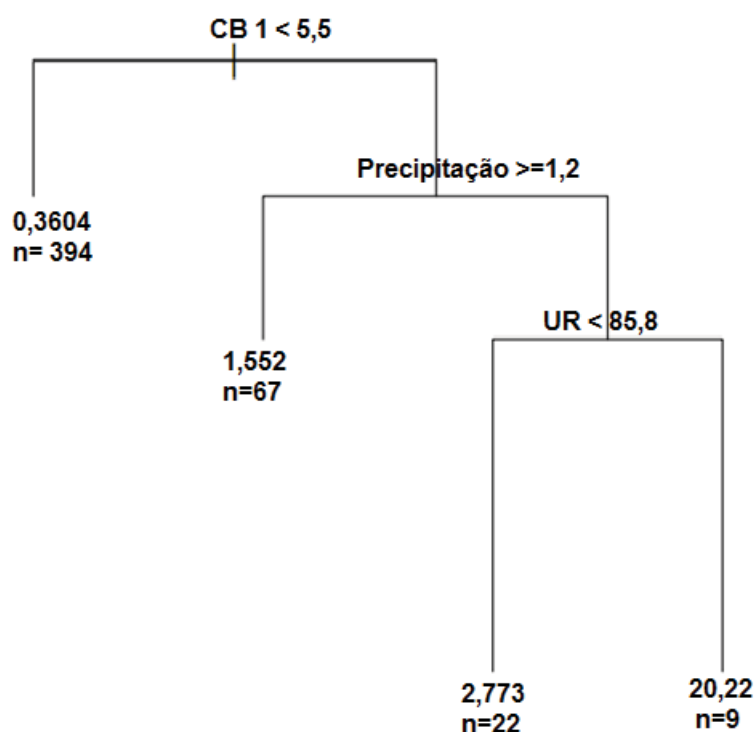


Figura 2 - Árvore de classificação para prevalência de número de conídios. Passo Fundo-RS, 2015.

Em relação ao número de conídios capturados por dia, se observou um excesso de dias com contagem de zeros (Figura 3), ou

seja, nestes dias não foi observado a presença de conídios nas lâminas avaliadas. Este fato possibilitou o uso do teste de regressão binomial negativa inflada de zeros, para modelar o número de conídios. Esta metodologia estatística é indicada no caso de variáveis de contagem, com números excessivos de zeros e de dados em que a variância não é superior à média. Nesse caso, a metodologia sugere que o excesso de zeros é gerado por um processo separado a partir dos valores de contagem e podem ser modelado de forma independente. Neste caso, supõe-se que o excesso de zeros, pode ter sido ocasionado pelos períodos do ano sem a presença de nenhum outro hospedeiro ou com baixa densidade de hospedeiros e ausência de condições climáticas ideais.

O modelo utilizado possibilitou estimar o número esperado de conídios capturados por diferentes combinações dos preditores à base de condições ambientais (Figura 4). Neste caso, o modelo estimou um maior número de conídios capturados com precipitações abaixo de 5 mm e com uma menor exigência de número de horas de favorabilidade dia⁻¹, ou seja, o número de horas em que a temperatura estava entre 15 e 35 °C e UR>93%. Com precipitações maiores que 5 mm, o número de horas de favorabilidade dia⁻¹ foi maior, e por consequência a estimativa do número de conídios capturados foi menor. A disseminação de conídios de *P. oryzae*, é considerada um fenômeno comum e importante fator de dispersão da doença (URASHIMA et al., 2007). O conhecimento das condições ambientais que favorecem este processo são extremamente importantes para definir estratégias de manejo eficientes, neste sentido, Silva & Prabhu (2005) verificaram a existência de relação

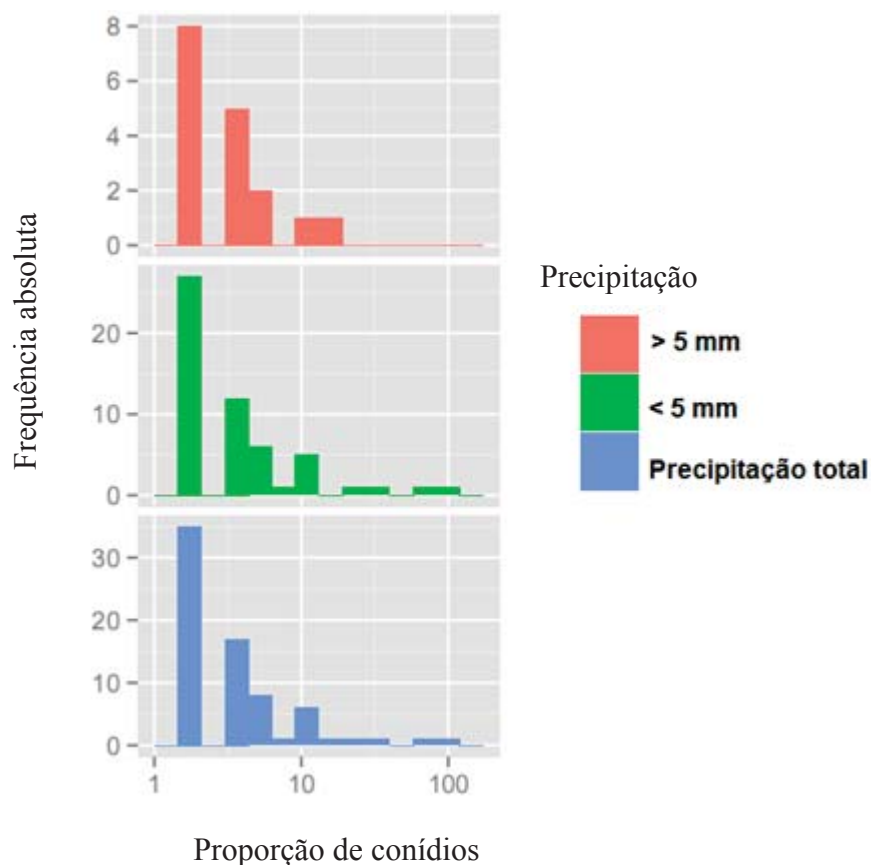


Figura 3 - Precipitação pluvial e frequência de conídios de *Pyricularia oryzae* capturados por dia, entre 2 fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, Passo Fundo-RS, 2015.

inversa entre a precipitação pluvial e a captura de conídios, Alves & Fernandes (2006), verificando e comparando o efeito de fatores ambientais na produção de conídios de *P. oryzae* do trigo, em condições controladas e ao ar livre, observaram que em ambas as situações no momento em que a temperatura se manteve próxima a 28 °C e a UR entre 95 e 100% ocorreu uma a maximização da produção de esporos. Na Espanha, o monitoramento de conídios de *P. oryzae*,

durante duas safras, em diferentes regiões, indicou a presença de picos de propágulos deste patógeno, quando a UR foi em torno de 95% e as temperaturas médias foram acima de 26 °C (CASTEJÓN-MUÑOZ, 2008). Segundo Goulart et al. (2007), a incidência e a severidade da doença variam em função das condições climáticas durante o desenvolvimento da cultura. Nesse mesmo trabalho, os autores avaliando os danos da infecção natural da brusone em diferentes genótipos e linhagem de trigo, em Dourados-MS, descreveram que o maior número de períodos críticos (tempo em horas da duração do período de molhamento contínuo (hm) da superfície da planta a uma dada temperatura média ($PC = hm \times T$) que resulte no estabelecimento de uma relação parasitária estável), favoreceu o desenvolvimento da doença nas espigas. Cardoso et al. (2008), buscando interações entre a infecção de *P. oryzae* em trigo e diferentes condições climáticas, descreveram que a intensidade da doença foi favorecida com temperatura de 25 °C e com um período de molhamento das espigas de 40 horas. Nesse trabalho, os autores desenvolveram um modelo climático em função da temperatura e da duração do molhamento das espigas que auxiliou na estimativa de períodos críticos para prever a infecção da brusone em espigas de trigo.

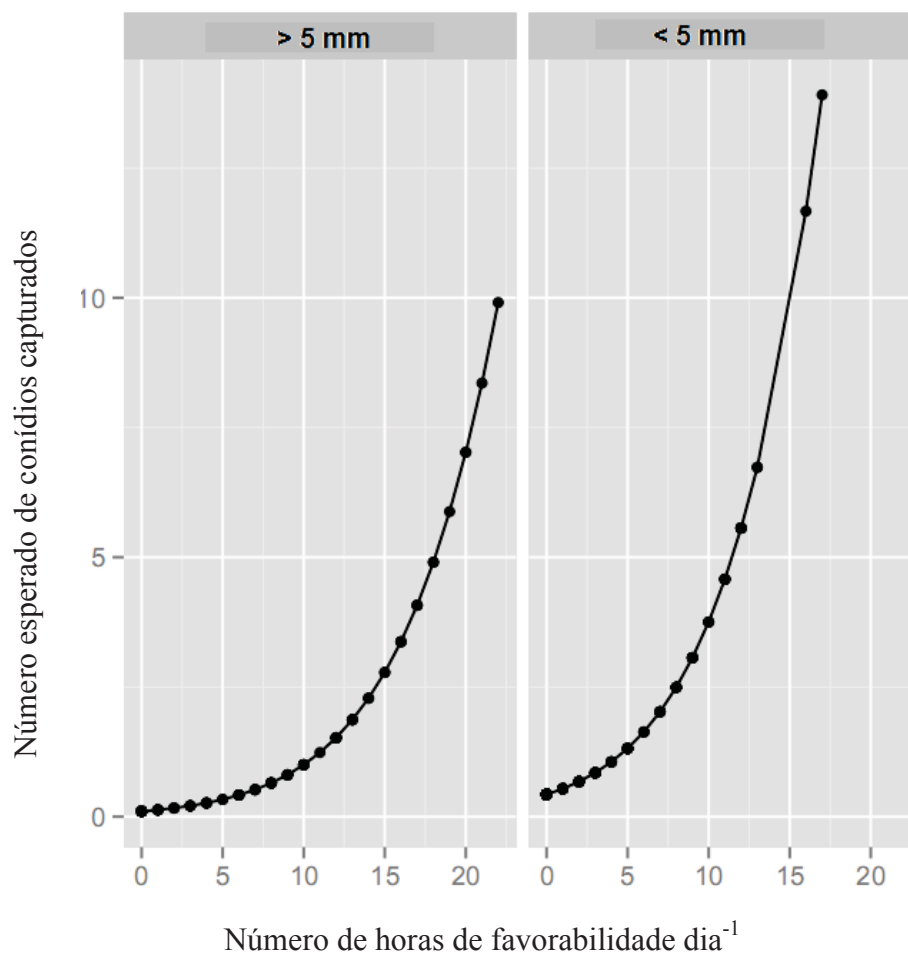


Figura 4- Modelo binomial negativo inflado de zero, montado com contagens diárias de conídios de *Pyricularia oryzae*, capturados entre 2 de fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014, em Passo Fundo, RS, Brasil. Os preditores à base de tempo foram precipitação total por dia e o número de horas em que a temperatura estava entre 15 e 35 °C e umidade relativa do ar > 93%. Passo Fundo-RS, 2015.

Para verificar a presença ou ausência de conídios *P. oryzae*, por dia, foi utilizado um modelo de regressão logística, com os dados coletados durante 2 fevereiro de 2013 e 7 de junho de 2014. Os

preditores à base de condições climáticas foram precipitação total por dia e o número de horas em que a temperatura estava na gama entre 15 a 35 °C e UR>93%. A transformação binária foi definida como 1 quando o número de conídios foi superior a 3 e zero caso contrário. A área sob a curva (ASC), que reflete o índice de precisão do modelo, foi de 73%, com intervalo de confiança de 62,7-81,4% (Figura 5). Nesse caso, quanto maior for a área sob a curva melhor será a força de predição que o modelo apresentou, neste caso, o ASC indicou uma boa capacidade de precisão. Shah et al. (2013), com o objetivo de identificar janelas de variáveis climáticas na pré e pós-antese para prever epidemias de giberela nos Estados Unidos, desenvolveram 15 preditores baseados em condições climáticas, destes, 14 apresentaram associação com UR e somente um com precipitação. Através do uso de árvores regressão para modelar epidemias de giberela nos Estados Unidos, foram encontradas preditores com associações fortes com UR, temperatura e o número de horas em que a temperatura estava entre 9 e 30 °C e com UR≥90%, sendo que as ASC nos modelos desenvolvidos variaram de 82% a 91% (SHAH et al., 2014). Quando a UR ultrapassava 70%, aumentava o risco previsto de epidemia.

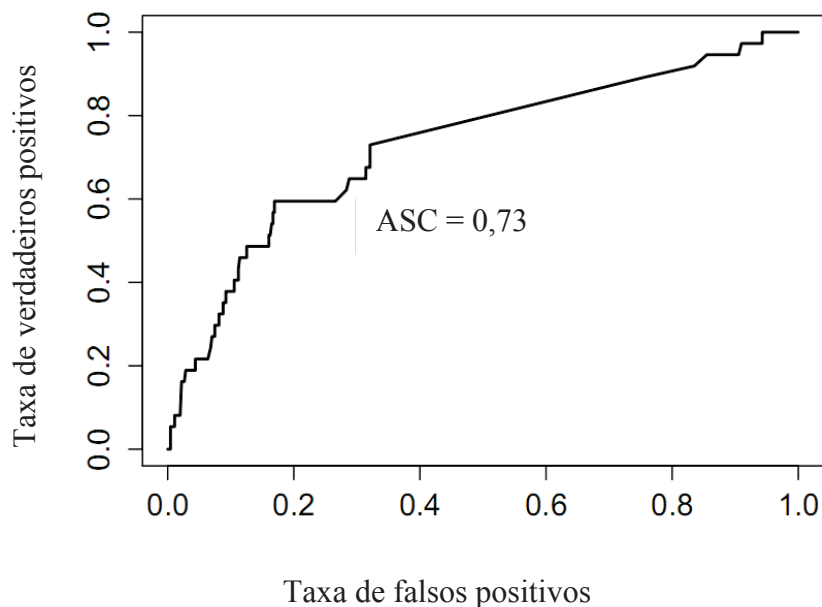


Figura 5- Curva ROC para o modelo de regressão logística. A área sob a curva foi de 73% (IC= 62,7-81,4%), Passo Fundo-RS, 2015.

Confirmou-se a existência de um fluxo de liberação de esporos *P. oryzae*, principalmente, entre o período de dezembro a abril, com densidade capaz de infectar genótipos de trigo na região de Passo Fundo, RS. Esse fato foi comprovado pela incidência da brusone, encontrada em espigas de trigo nos períodos de cultivo de 2012/2013 e 2013/2014. Entretanto, estes experimentos foram prejudicados nos dois anos de avaliação, isso devido a ocorrência de giberela [*Gibberella zae* (Schw.) Petch.] durante o período de desenvolvimento dos ensaios, o que impossibilitou a identificação do agente causal em algumas épocas. Na estação de cultivo 2012/2013, na primeira época os genótipos BRS 179 e BRS 296, apresentaram 19

e 36,7% de incidência, respectivamente (Figura 6). Na segunda época o genótipo BRS 179 apresentou 33,3% de incidência e o genótipo BRS 296 apresentou 55%. Em ambas as épocas, o genótipo BRS 296 apresentou a maiores incidências (Figura 6). Na estação de cultivo 2013/2014 foram avaliadas três épocas de semeadura, os valores de incidência foram menores quando comparados com o ano anterior, na primeira época o genótipo BRS 179 apresentou 8,7% de incidência e o genótipo BRS 296 apresentou 10,1%, na segunda época o genótipo BRS 179 apresentou 9,3% e no genótipo BRS 296 foi verificado uma incidência de 9,9%. Somente na terceira época, os valores de incidência se inverteram, ou seja, o genótipo BRS 179 apresentou maior incidência em 11,3%, ao contrário do genótipo BRS 296, no qual, foi verificado 7,8% (Figura 6). As maiores incidência em espigas, encontradas no período de 2012/2013, podem ser explicadas pela concentração de conídios durante o desenvolvimento das plantas, principalmente na fase de espigamento. Entre os meses de fevereiro a maio de 2013 o número de conídios capturados foi de 161, vale salientar que nesse período, também houve o maior pico de esporos registrado durante todo o experimento. Entretanto, no ano seguinte, em 2014 o número total de conídios capturados durante este mesmo período foi de apenas 43, bem abaixo do que foi encontrado no ano anterior. O maior fluxo de conídios durante o primeiro ensaio se refletiu em uma maior incidência nas espigas dos genótipos avaliados. A brusone do trigo foi detectada pela primeira vez no RS, em condições naturais, no final da década de 80 (PICININI & FERNANDES, 1990), desde então, sua ocorrência tornou-se esporádica no estado.

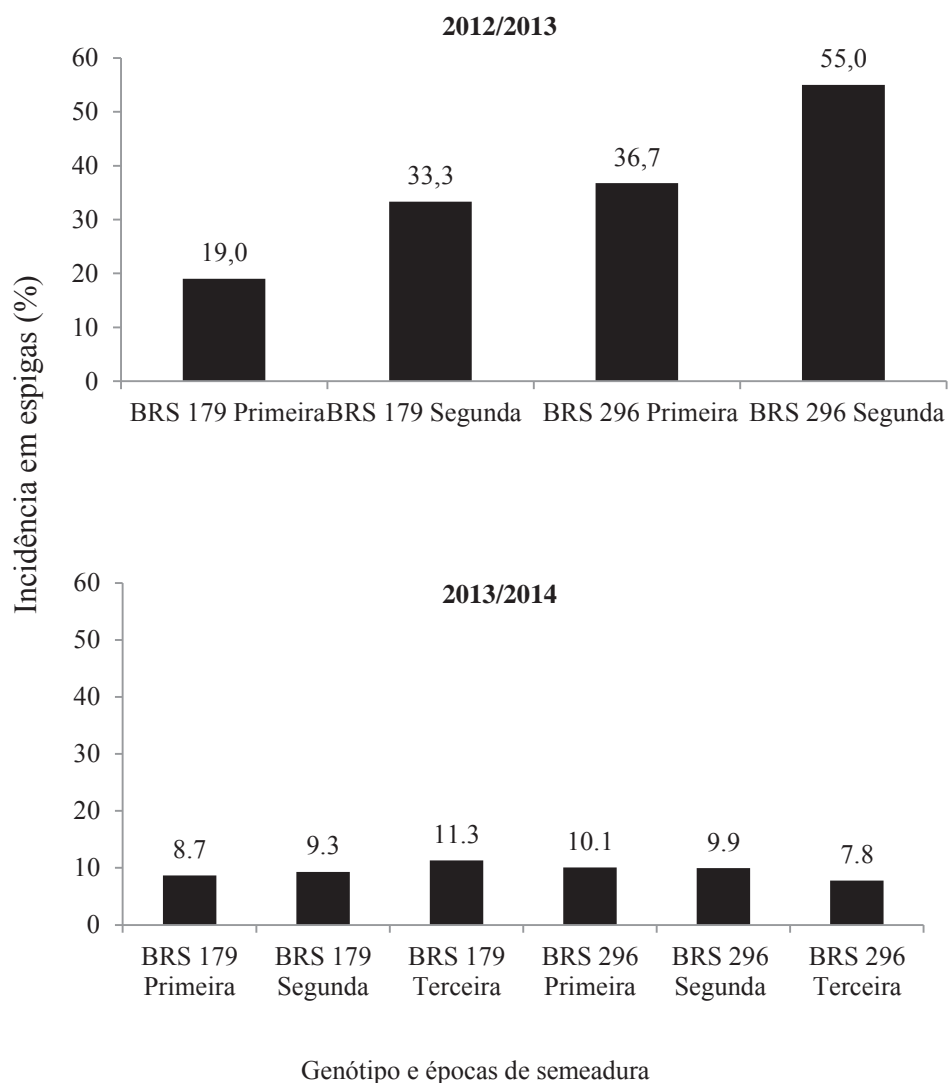


Figura 6- Incidência de brusone do trigo em espigas, causada por *Pyricularia oryzae*, nos genótipos BRS 179 e BRS 296 em diferentes épocas de cultivo, em Passo Fundo-RS, 2015.

Os resultados encontrados no presente trabalho são importantes para definir estratégias de manejo adequadas para a brusone do trigo no Brasil, mesmo que o trabalho tenha sido realizado

em Passo Fundo, município do RS, onde a ocorrência desta doença é esporádica. Os dados levantados podem auxiliar no desenvolvimento de modelos de previsão da doença para outros estados, onde os danos são mais significativos e as condições ambientais sejam favoráveis para ao desenvolvimento epidemias. Entretanto, para que isso ocorra é necessário monitorar o fluxo de conídios de *P. oryzae* no ar em diferentes locais e os fatores climáticos relacionados à sua disseminação.

4 CONCLUSÕES

- a) O fluxo aéreo de propágulos de *Pyricularia oryzae*, em Passo Fundo, Rio Grande do Sul, está associado a variáveis climáticas.
- b) Preditores à base de variáveis climáticas, podem ser utilizados para prever epidemias de *Pyricularia oryzae*.
- c) A brusone do trigo ocorre naturalmente em Passo Fundo, Rio Grande do Sul, principalmente, entre os meses de janeiro e abril.

CAPÍTULO III

RELAÇÃO ENTRE DOSES DE NITROGÊNIO E SEVERIDADE DE BRUSONE EM ESPIGAS DE TRIGO

ANDERSON LUIZ DURANTE DANELLI¹

RESUMO – O fungo *Pyricularia oryzae* (Cavara), é o agente causal da brusone em trigo. Na cultura do arroz elevadas doses de nitrogênio aumentam a severidade da brusone, entretanto, em trigo, não se têm informações sobre esta relação. Os objetivos do trabalho foram verificar a influência de diferentes doses de nitrogênio na base sobre a severidade da brusone em espigas de trigo. Os experimentos foram realizados em ambiente controlado, utilizando cinco doses de nitrogênio 0, 50, 100, 150 e 200 kg ha⁻¹ e dois genótipos de trigo BRS 229 e BRS 220. As inoculações foram realizadas com 100.000 esporos mL⁻¹. A quantificação do nitrogênio foi realizada durante o desenvolvimento das plantas de trigo, no solo e no tecido foliar das plantas. A intensidade da doença foi avaliada através da mensuração da área afetada pela doença nas espigas através de notas visuais de 0-100%. A aplicação de doses crescentes de N na base, até 200 kg ha⁻¹, sob a forma de ureia aumentou o potencial da brusone do trigo atingir um maior grau de severidade nas espigas. Cultivares de trigo com graus diferentes de resistência à brusone, não se diferiram quanto à

¹ Eng. Agr., doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

reação à doença quando submetidas à aplicação de doses crescentes de N na base, sob a forma de ureia.

Palavras chaves: *Triticum aestivum*, *Pyricularia oryzae*, intensidade da doença, nitrogênio.

RELATIONSHIP BETWEEN NITROGEN RATE THE SEVERITY OF BLAST IN WHEAT HEADS

ABSTRACT- The fungus *Pyricularia oryzae* (Cavara) is the causal agent of blast in wheat. In rice, high nitrogen levels increase the severity of the blast, however, there is no information of this relationship in wheat. The aims of this paper were to verify the influence of different nitrogen levels on the base on the severity of the blast in wheat heads. The experiments were conducted in a controlled environment, using five nitrogen levels 0, 50, 100, 150 and 200 kg ha⁻¹ and two wheat genotypes BRS 229 and BRS 220. Inoculations were performed with 100,000 spores mL⁻¹. Quantification of nitrogen was carried out during the development of wheat plants, in the soil and in the leaf tissue of plants. Disease intensity was evaluated by measuring the area affected by the disease in the head through visual notes from 0-100%. The application of increasing doses of N in the base, up to 200 kg ha⁻¹ under the form of urea increased the potential of wheat blast to reach a higher severity. Wheat cultivars with different degrees of resistance to blast did not differ in reaction to the disease when submitted to the application of increasing doses of N at the base, in the form of urea.

Key words: *Triticum aestivum*, *Pyricularia oryzae*, disease intensity, nitrogen.

1 INTRODUÇÃO

A brusone do trigo causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* (Cavara), é uma ameaça à triticultura brasileira (CRUZ et al., 2009). Esse patógeno foi diagnosticado pela primeira vez no Brasil, infectando naturalmente plantas de trigo, em meados da década de 1980 (IGARASHI et al., 1986). A partir do surgimento dessa doença em trigo, inúmeras estratégias de manejo foram desenvolvidas, entretanto, devido à dificuldade de desenvolver genótipos resistentes e a baixa eficiência de controle dos fungicidas, esta doença tornou-se cada vez mais importante para cultura do trigo no Brasil (MACIEL et al., 2014, ROCHA et al., 2014).

Para a cultura do trigo, não existem informações consistentes sobre o efeito da adubação nitrogenada na severidade da brusone. O uso de adubação com nitrogênio na cultura do trigo, é considerado um manejo essencial para a obtenção de altas produtividades (TEIXEIRA FILHO et al., 2010). Nas plantas o nitrogênio (N) se caracteriza como um nutriente com função estrutural, sendo constituinte de proteínas e de diversos compostos orgânicos. Sua deficiência pode influenciar o desenvolvimento das plantas, resultando em redução da produtividade e qualidade de grãos (FREITAS et al., 2010).

Em relação aos fitopatógenos, o uso excessivo de N pode intensificar sua multiplicação, tornando as plantas mais suscetíveis às doenças (HUBER & THOMPSON, 2007; HUMPER & THOMPSON, 2005; BOUQUET & JOHNSON, 1987; ROTH et al., 1987). Em arroz quando utilizado N em excesso ocorre o aumento da intensidade da

brusone. Interpretações sobre este processo foram levantadas, sendo que o N pode estimular os processos envolvidos na germinação e infecção do fungo (KAWAMURA & ONO, 1948), pode ocorrer a diminuição dos níveis de sílica na parede celular (MARSCHNER, 1986), interferência na síntese de substâncias envolvidas em diversos mecanismos de resistência (HUBER, 1978) e a redução dos níveis de substâncias tóxicas ao patógeno (SRIDHAR & OU, 1974).

É prática usual na cultura do arroz o uso limitado de N para evitar o aumento da severidade e/ou intensidade da brusone. Neste sentido, algumas estratégias de controle para esta doença, em arroz de terras altas e irrigado, levam em consideração a quantidade N a ser aplicada (PRABHU & SILVA, 2005; SILVA-LOBO et al., 2012). Além da dose, o modo de aplicação, fonte de N e época de aplicação também podem influenciar a severidade da doença em arroz (PRABHU & FILIPPI, 2006).

Aplicações de N em excesso foram relatadas aumentando a incidência de *P. oryzae* em sementes, folhas, pescoço e panículas em arroz (FREITAS et al., 2010; FARIA et al., 1982). Além disso, Silva-Lobo et al. (2012), estudando a influência de diferentes níveis de adubação nitrogenada na severidade da brusone do arroz e no teor de clorofila, encontraram correlação positiva, tanto para severidade da doença, como para o teor de clorofila na folhas bandeira.

No Rio Grande do Sul e Santa Catarina a quantidade de N utilizada em trigo varia em função do nível de matéria orgânica do solo, da cultura antecedente e da expectativa de rendimento de grãos, sendo fracionada em aplicações na semeadura e em cobertura (início do afilhamento e alongamento do colmo). Em algumas situações têm-

se realizado aplicações após o estágio de emborrachamento, visando o aumento do teor de proteína no grão. Na região central do Brasil, no sistema irrigado, o trigo apresenta maior potencial de produção e as aplicações de N em cobertura são em doses mais elevadas (REUNIÃO, 2014).

Diante da escassez de informações sobre os fatores que favorecem a incidência de brusone em trigo, o presente estudo objetivou verificar a influência de diferentes níveis de N aplicados na base, sob a forma de ureia, sobre a severidade da brusone em espigas de duas cultivares de trigo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos relacionados ao presente capítulo foram realizados nas instalações da Embrapa Trigo. A condução de plantas, coletas de amostras de solo, inoculações e avaliação da reação das plantas foram realizadas em casa-de-vegetação e câmara-de-crescimento com luz, temperatura e umidade controladas. A preparação do inóculo foi realizada no Laboratório de Fitopatologia.

2.1 Solo utilizado para o experimento

O solo utilizado nos experimentos foi coletado em área localizado na Área Experimental I da Embrapa Trigo e apresentava baixo teor de matéria orgânica, deficiência de nitrogênio e com pH ácido, os quais foram indicados através de uma análise química realizada no laboratório de solos da Embrapa Trigo descrita na Tabela 1.

Tabela 1- Resultado da análise química realizada em uma amostra retirada do solo usado para os experimentos. Passo Fundo-RS, 2015

Arg.	pH H ₂ O	SMP	P	K	M.O.	Al	Ca	Mg	H+Al	CTC	Saturação			
%		mg/dm ³			%	cmol/dm ³					Base	Al	K	
												%		
63,2	5,2	5,5	7,3	89	1,5	2,0	2,1	1,4	7,7	11,4	32	35	2,0	
Micronutrientes + enxofre														
Enxofre		Boro		Manganês		Zinco			Cobre					
mg/dm ³														
27,0		0,2		9,5		0,69			1,75					

Para implantação do experimento foram utilizados 600 kg de solo, armazenados em ambiente protegido. A correção da acidez foi realizada com calcário (PRNT de 100%), sendo que o solo foi misturado em betoneira e deixado em repouso por 15 dias.

Foram utilizados cinco tratamentos: 0, 50, 100, 150, 200 kg ha⁻¹ de nitrogênio na forma de ureia. Para o cálculo da dose de N considerou-se uma área de 10.000 m² de superfície ha⁻¹. As doses de P₂O₅ e K₂O foram iguais em todos os tratamentos, conforme indicações da análise de solo, sendo adicionadas ao solo um dia antes da semeadura. Os tratamentos foram distribuídos em vasos com capacidade para 8 kg, sendo que em cada um foi colocado 7,2 kg de solo.

2.2 Cultivares e acondicionamento de plantas

Foram colocadas cinco sementes em cada vaso, dos genótipos de trigo, BRS 229 e BRS 220, dez dias após a emergência, foram retiradas duas plantas de cada vaso, permanecendo três, até o desenvolvimento de espigas. Estes genótipos foram escolhidos devido a apresentarem ciclos semelhantes. Cada planta produziu no mínimo três espigas. Para cada tratamento foram utilizados quatro baldes, totalizando vinte baldes por genótipo. No momento da semeadura foram adicionados 1000 mL de água em cada balde. A cada 15 dias, os baldes foram pesados, para que todos permanecessem com peso igual. Os vasos que apresentavam discrepâncias de peso em relação aos outros tinham seu peso corrigido por meio do acréscimo de água.

2.3 Inoculação

Para o procedimento de inoculação foi utilizado o isolado Py 12.1.194, o qual foi obtido de ráquis de espiga de trigo coletada em uma lavoura localizada em São Borja (RS) (28°38'35.2" S; 55°50'34.4" WO). O isolado monospórico, mantido em papel-filtro, foi transferido para placa de Petry contendo meio de cultura ágar-aveia e colocando em câmara de crescimento à temperatura de $25,0 \pm 2,0$ °C por 15 dias e fotoperíodo de 12 h. Após o crescimento do fungo foi feita a preparação do inóculo, inundando-se as placas de Petry com água destilada acrescida de espalhante adesivo Tween 80 (1 gota L⁻¹). Com o auxílio de um pincel foi feita uma raspagem no micélio e em seguida uma filtragem dos conídios com uma peneira contendo um pedaço de gaze. A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer e microscópio ótico, sendo que a concentração da suspensão foi de 100.000 esporos mL⁻¹.

A inoculação das espigas foi realizada entre os estádios de florescimento e início de enchimento de grãos (estádios 63 a 71 da escala de Zadoks et al. (1974)).

As espigas foram submetidas à inoculação com uma suspensão de esporos do fungo por meio de um atomizador de plástico manual de 500 mL, sendo então incubadas em câmara de crescimento com ambiente controlado, com temperatura variando de 24 a 26 °C por 24 h, com ausência de luz e sob nebulização de 60 segundos ligada e 600 segundos desligada. Vinte quatro horas após a inoculação o fotoperíodo passou para 12h e o regime de nebulização hídrica de 60 segundos ligada e 1800 segundos desligada.

2.4 Avaliação

Durante a condução do experimento, o solo de cada vaso foi coletado três vezes. O solo coletado foi submetido a análises químicas para verificar os teores de nitrogênio na forma de N-NH_4^+ e N-NO_3^- , sendo utilizada para exploração dos dados a soma das duas formas químicas de N. As coletas foram realizadas no estágio 12 da escala de Zadoks et al. (1974) (duas folhas verdadeiras; 12-Z), no estágio 45 da escala de Zadoks (emborrachamento; 45-Z) e no estágio 71 da escala de Zadoks (grão aquoso; 71-Z), sendo que a última coleta foi realizada após a inoculação das espigas com o patógeno.

Para a análise do solo foram retirados aproximadamente 150 g de solo de cada balde. Dessas, 15 g foram utilizadas para verificar o teor de umidade do solo, 15 g para quantificar o N e o restante foi utilizado para a análise dos demais nutrientes. Essa análise mais completa foi realizada nos estágios 12-Z e 71-Z, isso devido a necessitar de uma quantidade maior de solo, e por ser um método de amostragem mais dispendioso.

Nas folhas foi determinado o teor de N no momento da inoculação, sendo coletadas cinco folhas de cada balde, dando preferência para as folhas abaixo da folha bandeira (-1 e -2). As cinco folhas de cada balde compuseram uma amostra. A análise de nitrogênio do tecido foliar foi realizada no Laboratório de Solos da Embrapa Trigo. Esta quantificação do N nas folhas foi realizada somente no segundo experimento.

A severidade da doença 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%, 12 dias após a inoculação. Para cada balde foram avaliadas, no mínimo, nove espigas, variando de acordo com o tratamento.

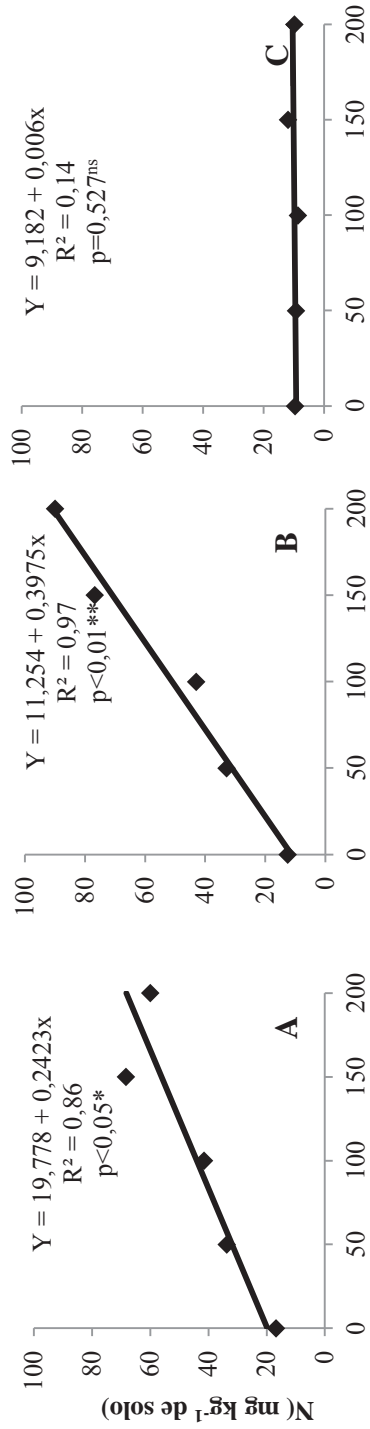
2.5 Estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão, tendo sido testado o modelo linear e quadrático. Para verificar a significância dos coeficientes de regressão estimados, utilizou-se o teste t. Também foram realizadas análises de correlação de Pearson entre as variáveis dependentes e independentes utilizando o pacote computacional GENES (CRUZ, 2013). Cada experimento foi repetido duas vezes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento, os dados do genótipo BRS 229 foram dados como perdidos, isso devido ao mesmo produzir poucas espigas o que poderia interferir nos resultados. Assim, foram apresentados resultados do genótipo BRS 220 com repetição no tempo e BRS 229 somente com resultados do segundo experimento.

Para o genótipo BRS 220, no primeiro experimento, o nitrogênio aplicado na base influenciou significativamente, os níveis de N presentes no solo durante o desenvolvimento da cultura no estágio 12-Z (Figura 1A) e 45-Z (Figura 1B), entretanto, não foi significativo no estágio 71-Z, após a inoculação (Figura 1C). Este efeito foi representado pelo modelo linear, o qual se ajustou aos dados, proporcionando representar com exatidão a dependência positiva do N presente no solo ao N utilizado na base, para os dois estádios. Este resultado não significativo no pós-inoculação, pode ter sido influenciado pelo momento de coleta, pois foi feito no final do ciclo das plantas, após absorção do N do solo. Os coeficientes de determinação (R^2) foram de 0,86; 0,97 e 0,14 nos estádios 12-Z, 45-Z e 71-Z, respectivamente. Os valores de inclinação da reta, estimados pelas análises de regressões lineares, entre as variáveis N na base e nos três momentos de quantificação no solo durante o desenvolvimento das plantas, revelaram uma inclinação da reta (coeficiente de regressão linear), igual a 0,2423 para o estágio 12-Z, para o estágio 45-Z, igual a 0,3975 e para a pós-inoculação igual a 0,006 (Figura 1). Estes valores indicam que o N aplicado na base tem



Dose de N (kg ha⁻¹)

Figura 1- Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base, nos teores de nitrogênio no solo, nos estádios 12-Z [duas folhas (A)], 45-Z [emborrachamento (B)] e 71-Z [grão aquoso (C)], genótipo BRS 220, primeiro experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

influencia maior nos dois primeiros momentos de quantificação do N, com superioridade no estágio 45-Z.

O N aplicado na base e a severidade da brusone do trigo em espigas apresentaram relação significativa no genótipo BRS 220, no primeiro experimento (Figura 2). O modelo linear ajustou-se aos dados, proporcionando a melhor representatividade do efeito positivo do N sobre a severidade da brusone em espigas, com coeficiente de determinação de 0,80. As análises de regressões lineares, entre as variáveis N na base e severidade em espigas, revelaram uma inclinação da reta, igual a 0,1164 (Figura 2).

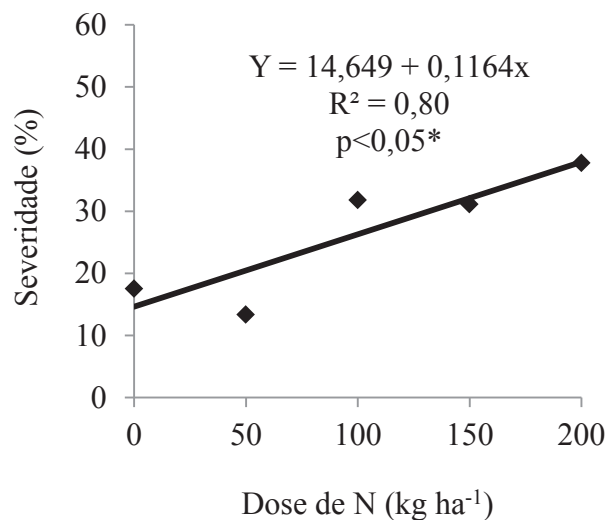


Figura 2- Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base, sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, genótipo de trigo BRS 220, primeiro experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

No primeiro experimento, os níveis de nitrogênio quantificados no solo durante o desenvolvimento das plantas do genótipo BRS 220, quando foram relacionados com a severidade da brusone em espigas, apresentaram relação significativa somente no estágio 45-Z (Figura 3). Esta relação foi representada pelo modelo linear, o qual se ajustou aos dados, proporcionando a melhor representatividade do efeito positivo do N sobre a severidade da brusone em espigas. Os coeficientes de determinação para estas relações foram, de 0,60; 0,70 e 0,05 para os estádios 12-Z e 45-Z e 71-Z, respectivamente. As inclinações das retas, estimadas pelas relações entre as variáveis N e severidade em espigas, foram iguais a 0,3870 para o estágio 12-Z (Figura 3A), 0,2711 para o estágio 45-Z (Figura 3B) e 1,9045 para o estágio 71-Z (Figura 3C).

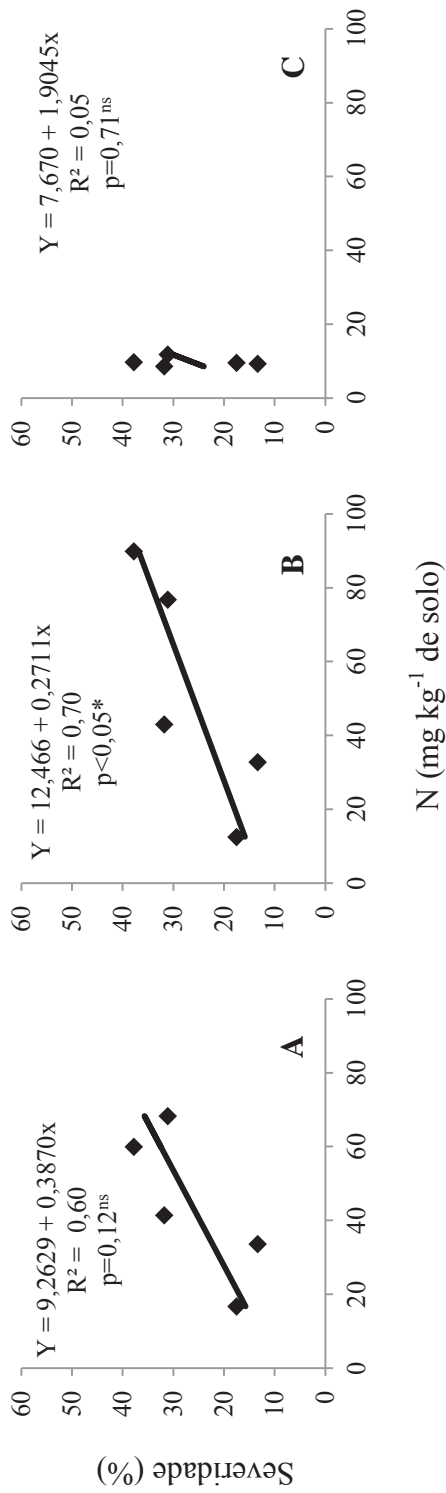


Figura 3- Efeito do nitrogênio quantificado no solo, sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, determinado nos estádios 12-Z [duas folhas (A)], 45-Z [emborrachamento (B)] e 71-Z [grão aquoso (C)], genótipo BRS 220, primeiro experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

No presente trabalho, o nitrogênio aplicado na base influenciou significativamente o nível do N encontrado no solo em cada balde, nos estádios 12-Z, 45-Z e 71-Z, ou seja, na quantidade de N no solo após a inoculação, para ambos os genótipos (Figura 4). Para os dois genótipos o modelo de regressão linear representou o efeito positivo do N aplicado na base, sobre o N encontrado nos diferentes momentos de avaliação. Os coeficientes de determinação foram altos, variam de 0,90 a 0,98 para o genótipo BRS 229 (Figura 4A, 4B e 4C) e de 0,86 a 0,95 para o genótipo BRS 220 (Figura 4D, 4E e 4F). Os coeficientes de regressão linear apresentaram valores semelhantes, na comparação entre genótipos. No estádio 12-Z, os valores foram 0,4510 (Figura 4A) e 0,4398 (Figura 4D), para os genótipos BRS 229 e BRS 220, respectivamente. No estádio 45-Z, os valores foram 0,1815 (Figura 4B) e 0,2797 (Figura 4E) para os genótipos BRS 229 e BRS 220, respectivamente e no estádio 71-Z, na quantificação do N após a inoculação a inclinação da reta foi de 0,0828 (Figura 4C) para o genótipo BRS 229 e 0,0757 (Figura 4F) para o genótipo BRS 220. Percebeu-se, que o N aplicado na base, teve um efeito semelhante entre os genótipos.

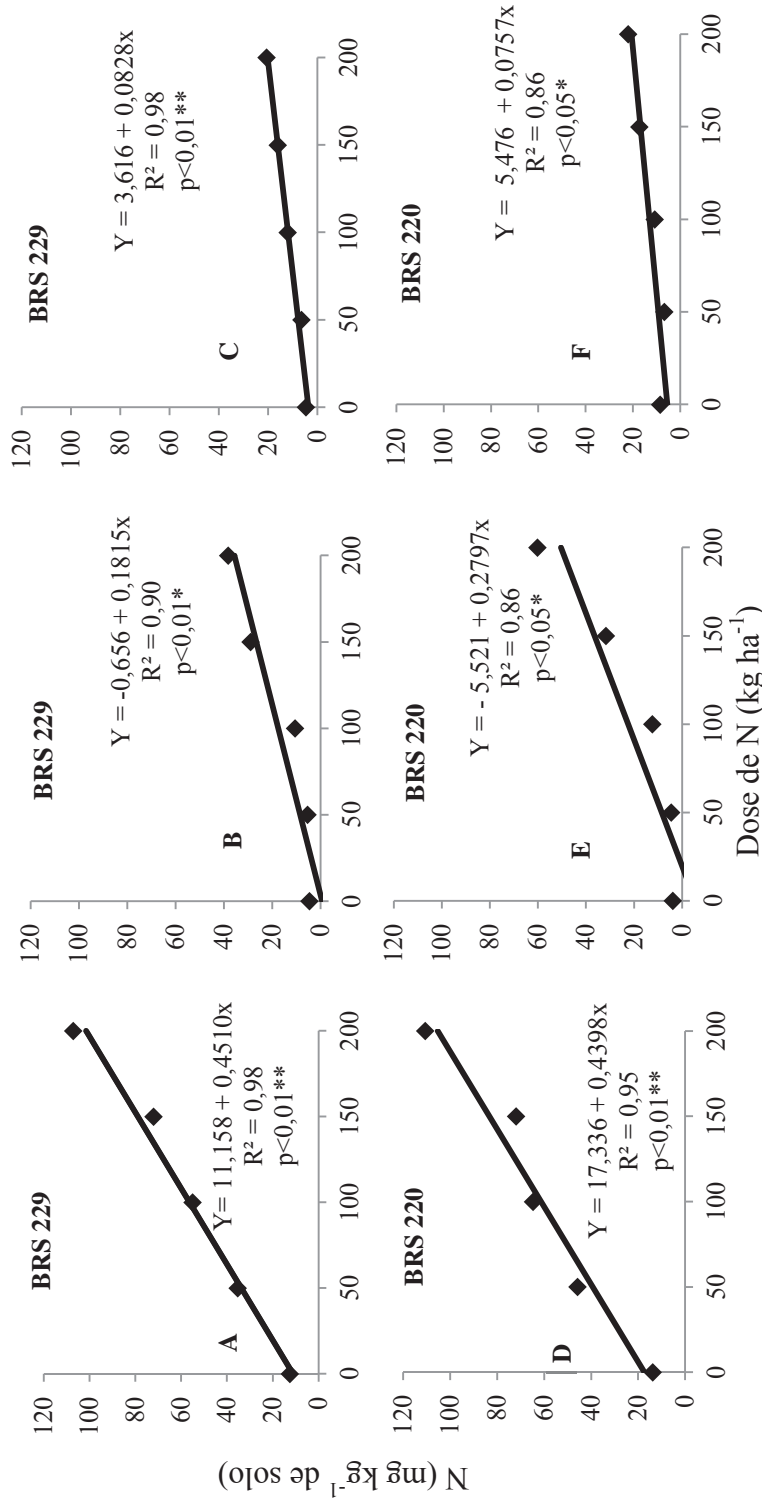


Figura 4- Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base, nos teores de nitrogênio no solo, nos estádios 12-Z [duas folhas (A e D)], 45-Z [emborrachamento (B e E)] e 71-Z [grão aquoso (C e F)], em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

O N aplicado na base apresentou relação significativa para a severidade da brusone do trigo em espigas, para ambos os genótipos (Figura 5). O modelo linear positivo se ajustou aos dados, proporcionando a melhor representatividade do efeito do N sobre a severidade da brusone em espigas, com coeficiente de determinação de 0,98 para o genótipo BRS 229 e 0,62 para o BRS 220. As análises de regressões lineares, entre as variáveis N na base e severidade em espigas, revelaram uma inclinação da reta semelhante entre os genótipos, igual a 0,1135 para o BRS 229 e 0,1196 para o BRS 220 (Figura 5). A severidade média apresentada nos ensaios variou de 27,8% a 49,7% para o genótipo BRS 229 e 30,0% a 58,7% para o genótipo BRS 220 (Figura 5), não apresentando diferença significativa entre as cultivares. Os genótipos de trigo utilizados neste trabalho apresentaram em estudos anteriores reações diferenciais em relação à brusone. O genótipo BRS 229 foi caracterizado por apresentar resistência à brusone do trigo, entretanto, este tipo de reação variou de acordo com o local de origem do isolado, ou a região onde o genótipo foi testado. O genótipo BRS 220 é caracterizado como suscetível independente da origem do isolado ou região onde este material foi testado (MACIEL et al., 2014). Entretanto no presente trabalho, ficou comprovado que os genótipos de trigo, BRS 229 e BRS 220, não diferiram quanto à reação à doença. Ao contrário do que foi encontrado por Prabhu et al. (1996) em arroz, sobre o controle da brusone em folhas, o qual foi maior nos tratamentos que receberam menores doses de N, e nas cultivares com maior grau de resistência à brusone do que nos genótipos suscetíveis.

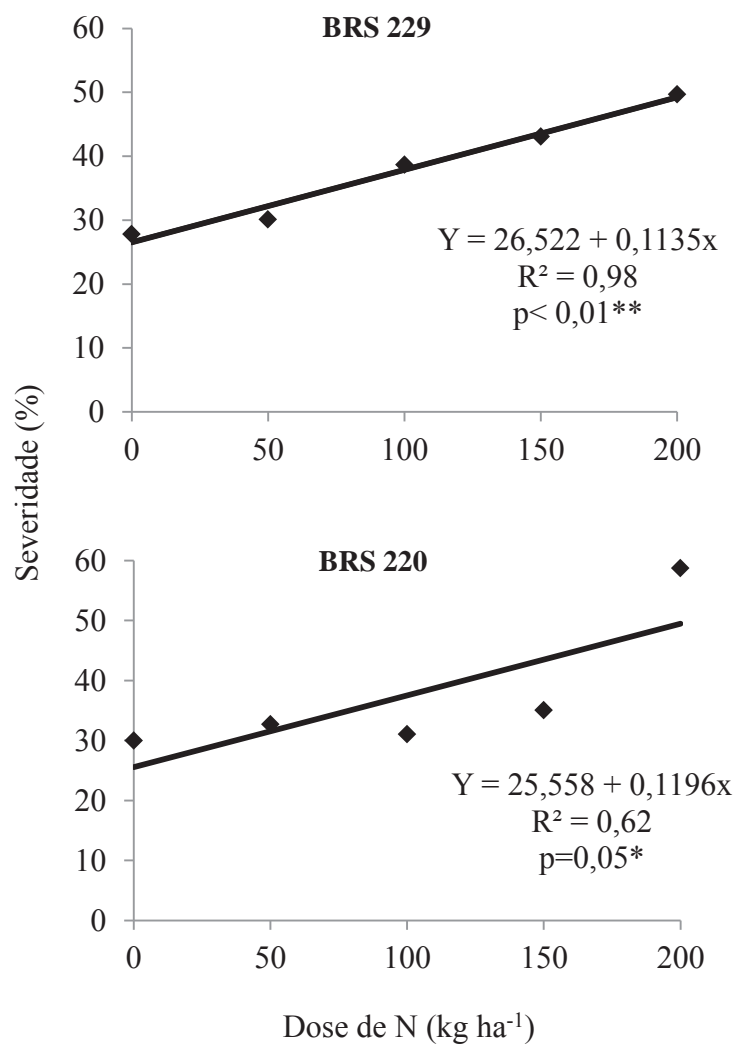


Figura 5- Efeito da dose de nitrogênio aplicado na base sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

A intensidade das doenças pode ser influenciada por diferentes fatores, dentre estes, o estado nutricional da planta (TANAKA et al., 2008; SILVA-LOBO et al., 2012). Em relação a patógenos, o N pode causar alterações na fisiologia da planta, alterando seu desenvolvimento e, com isso, podendo interferir na virulência do patógeno, através de alterações de natureza biótica e abiótica (HUBER & THOMPSON, 2007). Em casos de estresse hídrico em arroz de terras altas, é comum o acúmulo de nutrientes nas ramificações das panículas, fato que explica parcialmente a maior severidade da brusone (PRABHU & SILVA, 2005).

Em relação ao N aplicado na base, o mesmo influenciou significativamente, os níveis de N presentes nas folhas coletadas antes da inoculação do patógeno (Figura 6), em ambos os genótipos, no segundo experimento. Este efeito foi representado pelo modelo linear, o qual se ajustou aos dados, proporcionando representar com exatidão a dependência crescente existente entre o teor N presente nas folhas e o N aplicado no solo. Os coeficientes de determinação (R^2) foram de 0,90 para o genótipo BRS 229 e 0,96 para BRS 220. As análises de regressões lineares, entre as variáveis N na base e na folha, revelaram uma inclinação da reta (coeficiente de regressão linear), igual a 0,0087 para o BRS 229 e 0,0100 para o BRS 220 (Figura 6), indicando que cada kg de N aplicado no solo contribuiu com 0,0087% e 0,01% de N no tecido foliar. Estes valores são muito próximos, tendo havido uma leve superioridade para o genótipo BRS 220, representando maior influencia do N aplicado na base sobre os níveis de N presentes nas folhas, para este genótipo. O N é o principal elemento responsável pelo aumento da área foliar, influenciando a eficiência de

interceptação da radiação solar, a fotossíntese e a taxa metabólica (FAGERIA et al., 2003). Na cultura do trigo, o uso do N durante o ciclo da cultura tem como objetivo principal interferir positivamente na produtividade, através do aumento no número de afilhos emitidos pela planta e, por consequência, no número de espigas por planta e por área (SALA et al., 2005). É o elemento responsável pelo crescimento vegetativo da planta, aumentando o índice de área foliar, o número de gemas vegetativas e o teor de proteína dos grãos (MALAVOLTA, 2006; MENEGHIN et al., 2008).

As regressões que levaram em consideração a relação entre o N quantificado no solo, durante o desenvolvimento das plantas, e a severidade nas espigas de trigo foram significativas, para ambos os genótipos (Figura 7). O modelo que melhor ajustou-se aos dados foi o linear, o qual representou o efeito positivo do N sobre a severidade da brusone para ambos os genótipos. Para o genótipo BRS 229, os coeficientes de determinação para os estádios 12-Z (Figura 7A), 45-Z (Figura 7B) e 71-Z (Figura 7C) foram 0,97; 0,90 e 0,99 respectivamente, já para o genótipo BRS 220 os coeficientes foram 0,70 (Figura 7D), 0,87 (Figura 7E) e 0,71 (Figura 7F). As equações geradas entre as variáveis N quantificado durante o desenvolvimento das plantas e a severidade em espigas, apresentaram valores de inclinação da reta que variaram de acordo com o momento de avaliação e o genótipo. O N determinado no estádio 12-Z e no 71-Z, apresentou maior valor de inclinação da reta na severidade em espigas no genótipo BRS 220, entretanto, no genótipo BRS 229 isso ocorreu somente no estádio 45-Z (Figura 7). Os resultados encontrados

indicaram à existência de uma relação entre severidade e o aumento dos níveis de N no solo.

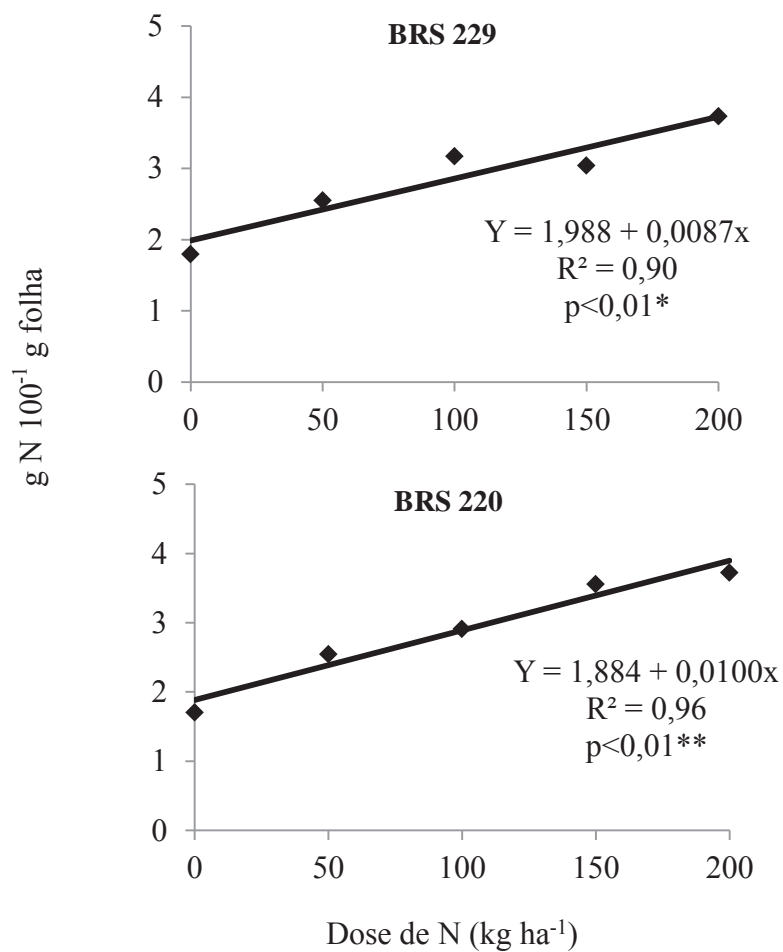


Figura 6- Efeito da dose de nitrogênio, sobre a quantidade de N em folhas, em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

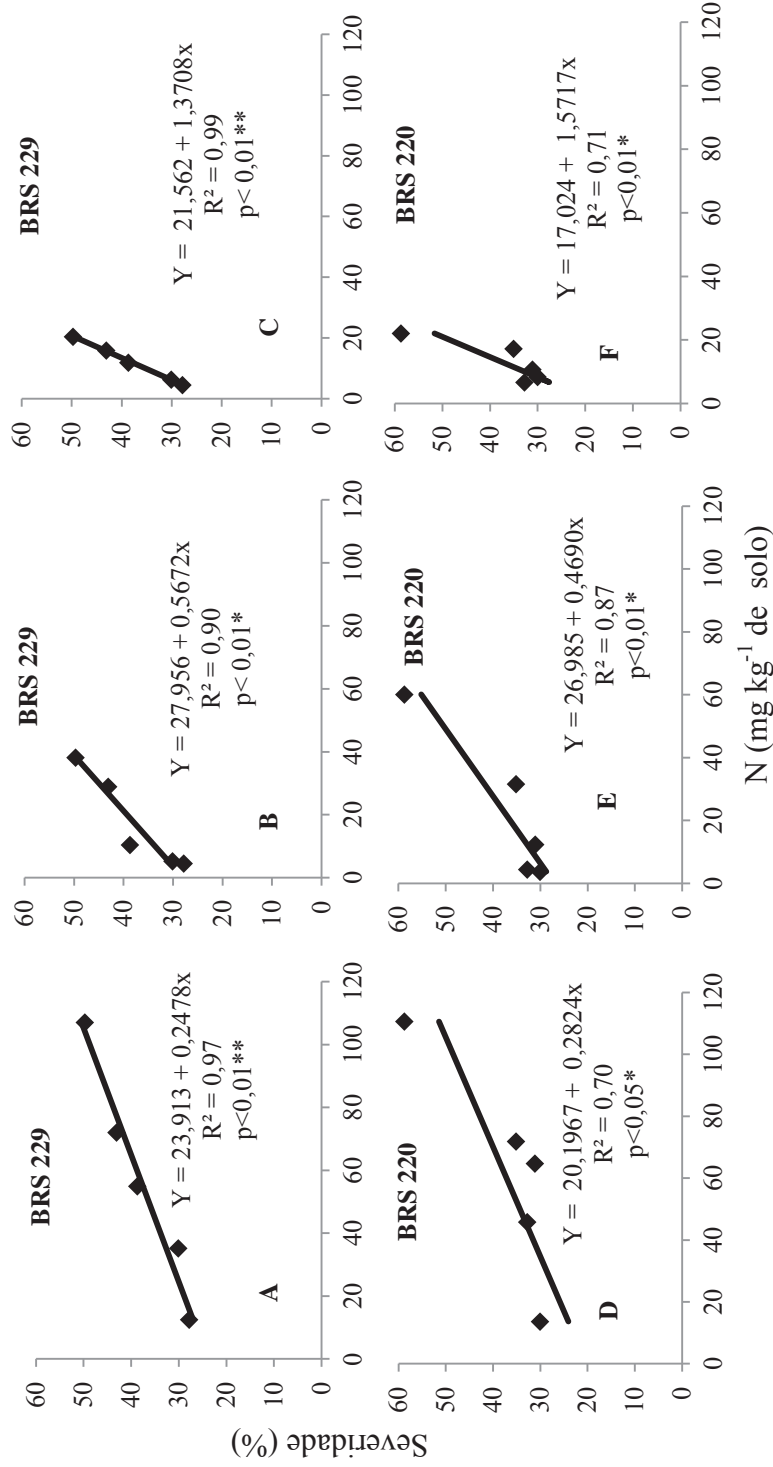


Figura 7- Efeito do nitrogênio quantificado no solo, sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, determinado nos estádios 12-Z [duas folhas (A e D)], 45-Z [emborrachamento (B e E)] e 71-Z [grão aquoso (C e F)], em dois genótipos de trigo, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

Em arroz, Freitas et al. (2010) relataram que o aumento das doses de N causou maior severidade de brusone nas panículas e incidência do patógeno nas sementes em condições de campo. Em outro estudo, o conteúdo de N foi avaliado pelo teor de clorofila presente em folhas superiores. Estes resultados foram relacionados com a severidade da brusone nas panículas, apresentando relação linear positiva (SILVA-LOBO et al., 2012).

Os efeitos no nitrogênio em excesso em arroz podem ser reduzidos através da suplementação com silício. Plantas suplementadas com silicato de cálcio e magnésio, associado ao nitrogênio em adubação de cobertura, apresentaram redução da severidade da brusone nas folhas e, por consequência, maior produtividade de grãos quando comparadas com as plantas não suplementadas com o silício (SANTOS et al., 2014).

Na cultura do trigo, o aumento da intensidade de doenças, pelo uso de doses elevadas de N foi relatado em estudos anteriores (SIMON et al., 2002; OLESEN et al., 2003). Entretanto, trabalhos relacionando diferentes níveis de N com a severidade da brusone são inexistentes nesta cultura. Tanaka et al. (2008), relataram efeito polinomial de doses de N para a severidade da mancha marrom, nas folhas e efeito linear para a incidência de diferentes patógenos em sementes, destacando-se o patógeno *Bipolaris sorokiniana* (Sacc) Schoem, agente causal da mancha marrom em ambos os genótipos utilizados no trabalho. Estes resultados indicaram que níveis de N em excesso podem favorecer o ataque de patógenos em plantas de trigo. Entretanto, na cultura do arroz, estudos relatam que fatores como o excesso ou falta de água, baixa fertilidade do solo e o uso de

nitrogênio em excesso ou em níveis baixos aumentam a suscetibilidade da planta ao patógeno *Bipolaris oryzae* (Breda) Shoem (NETO, 2009).

Em relação à severidade da brusone do trigo relacionada com a quantidade de nitrogênio nas folhas, as equações de regressão geradas foram significativas. Neste caso, a severidade foi dependente do N presente nas folhas, no genótipo BRS 229. Já, o genótipo BRS 220 não apresentou esta dependência (Figura 8). O genótipo BRS 220 apresentou um desenvolvimento mais acelerado, em relação ao BRS 229, o que pode ter influenciado na quantidade de N nas folhas presente no momento das avaliações. Os coeficientes de determinação para os genótipos BRS 229 e BRS 220 foram de 0,87 e 0,46, respectivamente. O ângulo de inclinação da reta para o genótipo BRS 229 foi de 11,665 e para o genótipo BRS 220 foi de 9,949 (Figura 8). Esta diferença entre os genótipos, pode ter ocorrido devido aos dados de severidade não diferiram entre si nos tratamentos 50, 100 e 150 kg ha⁻¹ no BRS 220, o que influenciou na regressão entre a severidade e a dose de N da folha.

Freitas et al. (2010) relataram que os genótipos de arroz são diferentemente responsivos à adubação nitrogenada quanto à suscetibilidade a brusone. Já Gargantini (1974) descreveu que genótipos de trigo podem apresentar diferentes níveis de N nos seus órgãos, atribuindo isso a diferenças genéticas existentes dentre os genótipos.

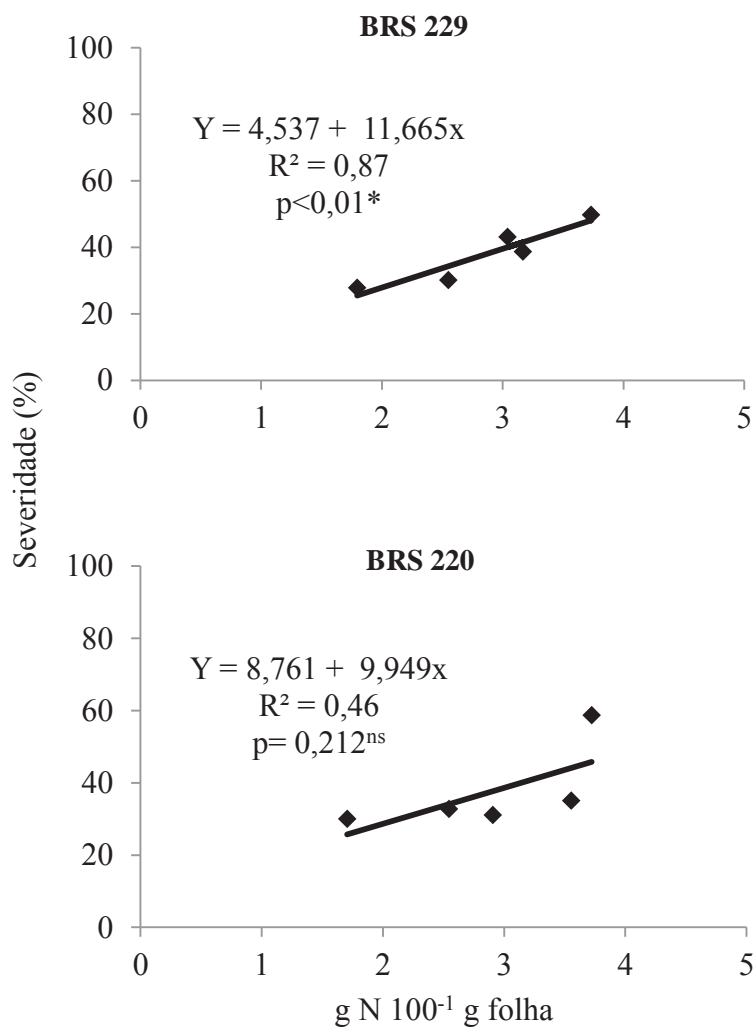


Figura 8- Efeito do nitrogênio em folhas sobre a severidade da brusone do trigo em espigas, nos genótipos BRS 229 e BRS 220, segundo experimento. Passo Fundo-RS, 2015.

Na análise de correlação de Pearson o nitrogênio quantificado no estádio 71-Z (N 71) não apresentou associação significativa com o nitrogênio utilizado na base (N base) e a severidade em espigas, no primeiro experimento com o genótipo BRS 220 (Tabela 2). Entretanto, no segundo experimento para todas as variáveis, as correlações foram significativas, para ambos os genótipos. Estes resultados demonstraram que todas as variáveis estudadas estavam associadas. Para o genótipo BRS 229 os coeficientes de correlação variaram de 0,93 a 0,99, e para o genótipo BRS 220 os coeficientes variaram de 0,22 a 0,98. No segundo experimento com o genótipo BRS 220, o menor valor correspondeu à associação entre o N quantificado após inoculação e a severidade da brusone nas espigas, refletindo a relação não significativa destas duas variáveis apontada na equação de regressão (Figura 8). Correlações positivas entre níveis de nitrogênio e severidade da brusone em panículas de arroz foram encontradas por Silva-Lobo et al. (2012), demonstrando que o aumento da severidade estava associado ao N aplicado em doses mais elevadas.

Em relação ao momento escolhido para coletar as amostras, quase todas as análises e coletas foram sensíveis para captar as diferenças de N nos baldes com diferentes doses. O sistema de amostragem, só não foi adequado para verificar a diferença entre os níveis de nitrogênio medidos no estádio 71-Z após a inoculação, isso levando em consideração os coeficientes de correlação de Pearson.

Tabela 2- Correlação de Pearson (r) entre as variáveis nitrogênio aplicado na base (N base), severidade da brusone do trigo em espigas (Severidade), nitrogênio quantificado no solo nos estádios 12-Z (N 12), 45-Z (N 45) e 71-Z (N 71), e nitrogênio quantificado em folhas antes da inoculação (N folha), nos genótipos BRS 229 e BRS 220. Passo Fundo-RS, 2015

Experimento	Genótipo	Variáveis	r
Primeiro	BRS 220	N base x Severidade	0,89**
		N base x N 12	0,93**
		N base x N 45	0,99**
		N base x N 71	0,38 ^{ns}
		N 12 x Severidade	0,77**
		N 45 x Severidade	0,83**
		N 71 x Severidade	0,22 ^{ns}
Segundo	BRS 229	N base x Severidade	0,99**
		N base x N 12	0,99**
		N base x N 45	0,95**
		N base x N 71	0,99**
		N base x N folha	0,95**
		N 12 x Severidade	0,98**
		N 45 x Severidade	0,95**
	BRS 220	N 71 x Severidade	0,99**
		N folha x Severidade	0,93**
		N base x Severidade	0,79**
		N base x N 12	0,98**
		N base x N 45	0,93**
		N base x N 71	0,93**
		N base x N folha	0,98**
N 12 x Severidade	0,84**		
N 45 x Severidade	0,93**		
N 71 x Severidade	0,84**		
N folha x Severidade	0,67*		

ns= não significativo; * p<0,05; **p<0,01.

O presente trabalho demonstrou o efeito que doses elevadas de N aplicadas na base, podem causar sobre a severidade da

brusone do trigo em espigas. O estudo é pioneiro neste aspecto e, por isso, necessita de novos experimentos, incluindo um número maior de genótipos, diferentes épocas de suplementação de nitrogênio e outros métodos de quantificação do nitrogênio que sejam menos dispendiosos. Ainda, é necessário realizar trabalhos a campo, objetivando verificar se esta relação ocorre em ambientes não controlados, pois os resultados encontrados são um bom indicativo de que o uso de elevadas doses de N podem favorecer o desenvolvimento de epidemias da brusone do trigo.

4 CONCLUSÕES

- a) A aplicação de doses crescentes de N na base em vasos, equivalente 200 kg ha^{-1} sob a forma de ureia, aumenta o potencial da brusone do trigo atingir maior grau de severidade nas espigas.
- b) Cultivares de trigo com graus diferentes de resistência à brusone não diferem quanto à reação à doença nas espigas quando submetidas à aplicação de doses crescentes de N na base, sob a forma de ureia.
- c) As análises químicas de amostras de solo e de folhas demonstram ser eficientes para diferenciar os tratamentos com distintas doses de ureia incorporadas ao solo.

REFERÊNCIAS

ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria do Trigo. *O trigo na história*. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br>>. Acessado em: 02 de out. 2014.

ADREIT, H.; SANTOS, O.; ANDRIANTSIMIALONA, D.; UTAMI, D.W.; NOTTÉGHEM, J. L.; LEBRUN, M.H.; THARREAU, D. Microsatellite markers for population studies of the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Molecular Ecology Notes*, Oxford, v. 7, n. 4, p. 667-670, 2007.

AGROLINK. *Nitrogênio*. Disponível em: <<http://www.agrolink>> Acesso em: 8 dez. 2014.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. *Introductory mycology*. 4th ed. New York: Wiley & Sons, 1996. 869p.

ALVES, K. J. P. *Influência da temperatura e umidade na esporulação de Magnaporthe grisea*. 2005. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2005.

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

ANJOS, J. R. N.; CHARCHAR, M. J. A. Natural infection of barley by *Pyricularia grisea* in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, n. 2, p. 205-208, 2000.

ANJOS, L. M.; SANTOS, G. R.; DIAS NETO, J. J.; OLIVEIRA, W. F.; NETO, M. D. C. Identificação de raças fisiológicas de *Magnaporthe grisea* em áreas de arroz irrigado no Estado do Tocantins. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 34, n. 3, p. 182-185, 2009.

ARAUJO, B. J. O. R. *Mapeamento genético de locos de resistência a Magnaporthe grisea em linhagens puras recombinantes de arroz (Oryza sativa L.)*. 2008. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2008.

ARRUDA, M. A.; BUENO, C. R. N. C.; ZAMPROGNO, K. C.; LAVORENTI, N. A.; URASHIMA, A. S. Reação do trigo à *Magnaporthe grisea* nos diferentes estádios de desenvolvimento. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 2, p. 121-126, 2005.

ATKINS, J. G.; ROBERT, A. L.; ADAIR, C. R.; GOTO, K.; KOZAKA, T.; YANAGIDA, R.; YAMADA, M.; MATSUMOTO, S. An international set of rice varieties for differentiating races of *Piricularia oryzae*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 57, n. 2, p. 297-301, 1967.

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

BACALTCHUK, B.; CUNHA, G. R.; PIRES, J. L. F.; JACOBSEN, L. A.; SILVA, M. S.; ALBRECHT, J. C. Trigo no Brasil: os desafios de um país tropical. In: ALBUQUERQUE, A. C. S.; SILVA, A. G. (Orgs.). *Agricultura tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. P. 163-181.

BALLINI, E.; MOREL, J. B.; DROC, G. T.; PRICE, A.; COURTOIS, B.; NOTTEGHEM, J. L.; THARREAU, D. A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, St. Paul, v. 21, n. 7, p. 859-868, 2008.

BARKSDALE, T.; ASAI, G. N. Diurnal spore release of *Piricularia oryzae* from rice leaves. *Phytopathology*, St. Paul, v. 51, n. 1, p. 313-317, 1961.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 1 ed. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1972. 241p.

BESPALHOK, J. C.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. *Melhoramento para resistência a doenças*. Disponível em: <<http://www.bespa.agrarias.ufpr.br>>. Acesso em 06 ago. 2014.

BILONI, M.; RODOLFI, M.; PICCO, A. M.; SIRBINT, A. New simulation model to forecast rice blast disease. *Italian Journal of Agrometeorology*, Bologna, nn-nn, n. 3, p. 58-62, 2006.

BOCKUS, W.; CRUZ, C.; STACK, J.; VALENT, B.; FARMAN, M.; HERSHMAN, D.; PAUL, P.; PETERSON G.; PEDLEY, K. ; MAGAREY, R. Wheat blast or brusone do trigo (caused by *Pyricularia oryzae* *Triticum* pathotype). Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov>>. Acesso em: 14 mar. 2014.

BONMAN, J. M.; KHUSH, G. S.; NELSON, R. J. Breeding rice for resistance to pests. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 30, n. 4, p. 507-528, 1992.

BOUQUET, D. J.; JOHNSON, C. Fertilizer effects on yield, grain composition, and foliar disease of double crop soft red winter wheat. *Agronomy Journal*, Madison, v. 79, n. 1, p. 135-141, 1987.

BOURETT, T. M.; HOWARD, R. J. In vitro development of penetration structures in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Canadian Journal of Botany*, Manitoba, v. 68, n. 2, p. 329-42, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em:< <http://www.agricultura.gov.br> > Acessado em: 02 de out. 2014.

BRONDANI, R. P.; BRONDANI, R. P. V. GARRIDO, L. C.; FERREIRA, M. E. Development of microsatellite markers for the genetic analysis of *Magnaporthe grisea*. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 753-762, 2000.

BROWN, J. H.; LOMOLINO, M. V. *Biogeografia*. 2. ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2006. 691p.

BRUNETTA, D.; BASSOI, M.C.; DOTTO, S. R.; SCHEEREN, P. L.; MIRANDA, M. Z. D.; TAVARES, L. C. V.; MIRANDA, L. C. Novas cultivares: Características e desempenho agrônômico da cultivar de trigo BRS 229 no Paraná. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, n. 5, 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*, Brasília, v. 26, n. 1, p. 21-26, 2001.

BUCKLAND, S. T.; ANDERSON, D. R.; BURNHAM, K. P.; LAAKE, J. L.; BORCHERS, D. L.; THOMAS, L. *Introduction to distance sampling: estimating abundance of biological populations*. Oxford University Press, New York. 2001. 446p.

CABRERA, M. G.; GUTIÉRREZ, S. A. Primer registro de *Pyricularia grisea* em cultivos de trigo del norte de Argentina. In: JORNADA DE ACTUALIZACIÓN EM ENFERMIDADES DE TRIGO, 1., 2007, Buenos Aires: Lavallol, *Resúmenes*, 2007...1 CD-ROM.

CAMARGO, E. A. L. Genética da interação patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Orgs.) *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 119-132.

CARDOSO, C. A. de A.; REIS, E. M.; MOREIRA, E. N. Development of a warning system for wheat blast caused by *Pyricularia grisea*. *Summa Phytopathologica*. Botucatu, v. 34, n. 3, p. 216-221, 2008.

CASTEJÓN-MUÑOZ, M. The effect of temperature and relative humidity on the airborne concentration of *Pyricularia oryzae* spores and the development of rice blast in southern Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research*, Madrid, v. 6, n. 1, p. 61-69, 2008.

CASTROAGUDÍN, V. L.; CERESINI, P. C.; DE OLIVEIRA, S. C.; REGES, J. T. A.; MACIEL, J. L. N.; BONATO, A. L. V.; DORIGAN, A. F.; MCDONALD, B. A. Resistance to QoI fungicides is widespread in Brazilian populations of the wheat blast pathogen *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 105, n. 3, p. 284-294, 2015.

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, 2011. s221.

CHADHA, S.; SHARMA, M. Transposable elements as stress adaptive capacitors induce genomic instability in fungal pathogen *Pyricularia oryzae*. *Plos One*, San Francisco, v. 9, n. 4, p. 1-14, 2014.

CHEN, D. H.; ZEIGLER, R. S.; LEUNG, H.; NELSON, R. J. Population structure of *Pyricularia oryzae* at two screening sites in the Philippines. *Phytopathology*, St. Paul, v. 85, n. 9, p. 1011-1020, 1995.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. *Acompanhamento da safra brasileira-grãos 2013/14*. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acessado em: 25 fev. 2014.

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

CORREA-VICTORIA, F. J.; ZEIGLER, R. S. Pathogenic variability analysis of *Pyricularia grisea* at rice blast “hot-spot” breeding site in Eastern Colombia. *Plant Disease*, St. Paul, v. 77, n. 10, p. 1029-1035, 1993.

COUCH, B. C.; FUDAL, I.; LEBRUN, M. H.; THARREAU, D.; VALENT, B.; VAN KIM, P.; NOTTEGHEM, 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*, Baltimore, v. 170, n. 2, p. 613-630, 2005.

COUCH, B. C.; KOHN, L. M. A multi-locus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Pyricularia oryzae*, from *M. grisea*. *Mycologia*, Toronto, v. 94, n. 4, p. 683-693, 2002.

CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

CRUZ, C. D.; BOCKUS, W. W.; STACK, J. P.; TANG, X.; VALENT, B.; PEDLEY, K. F.; PETERSON, G. L.. Preliminary assessment of resistance among U.S. wheat cultivars to the *Triticum* pathotype of *Pyricularia oryzae*. *Plant Disease*, St. Paul, v. 96, n. 10, p. 1501-1505, 2012.

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*, Brasília, 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*, Brasília, v. 34, n. 6, p. 393-401, 2009.

DE MORI, C.; IGNACZAK, J. C. Aspectos econômicos do complexo agroindustrial do trigo. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. (Orgs.). *Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. p.41-76.

DEBONA, D.; RODRIGUES F. A.; RIOS J. A.; NASCIMENTO, K. J. T. Biochemical changes in the leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 102, n. 12, p. 1121-1129, 2012.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do trigo – aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, n. 6, p. 587-605, 2004.

DIAS NETO, J. J.; SANTOS, G. R.; ANJOS, L. M.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. Hot spots for diversity of *Pyricularia oryzae* physiological races in irrigated rice fields in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 45, n. 3, p. 252-260, 2010.

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

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Brusone do trigo é identificada em lavouras no Noroeste do RS*. Disponível em: <www.embrapa.br/busca-de-noticias/noticia/2103461/brusone-do-trigo-e-identificada-em-lavouras-no-noroeste-do-rs>. Acesso em: 10 mai. 2014.

ESPINOZA, I. G.; SHOHARA, K. *Investigación relativa a la ocurrencia de Piricularia en trigo*. Santa Cruz: Centro Tecnológico Agropecuario en Bolivia, 2003. (Boletim Técnico, 2)

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

FARIA, J. C.; PRABHU, A. S.; ZIMMERMANN, F. J. P. Efeito da fertilização com fungicida sobre a brusone e produtividade do arroz de sequeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 17, n. 6, p. 847-852, 1982.

FERNANDEZ, M. R. *Manual para laboratório de fitopatologia*. 1. ed. Passo Fundo: Embrapa, 1993.128p.

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

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

FLOR, H. H. Genetics of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Journal of Agricultural Research*, Washington, v. 73, p. 335-357, 1946. (Supplement)

_____. Inheritance of reaction to rust in flax. *Journal of Agricultural Research*, Washington, v. 74, p. 241-262, 1947. (Supplement)

FREITAS, J. G.; MALAVOLTA, V. M. A.; SALOMON, M. V.; CANTARELLA, H.; CASTRO, L. H. S. M.; AZZINI, L. E. Adubação nitrogenada e incidência de brusone em arroz de sequeiro. *Bragantia*, Campinas, v. 69, n. 1, p. 173-179, 2010.

FUKUOKA, S.; YAMAMOTO, S.; MIZOBUCHI, R.; YAMANOUCI, U.; ONO, K.; KITAZAWA, N.; YASUDA, N.; FUJITA, Y.; NGUYEN, T. T. T.; KOIZUMI, S.; SUGIMOTO, K.; MATSUMOTO, T.; YANO, M. Multiple functional polymorphisms in a single disease resistance gene in rice enhance durable resistance to blast. *Scientific Reports*, London, v. 4, n. 4550, p. 1-7, 2014.

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

GARGANTINI, H.; BLANCO, H. G.; HAAG, P.; MALAVOLTA, E. Absorção de nutrientes pelo trigo. *Bragantia*, Campinas, v. 32, n.16, p. 285-307, 1974.

GARRIDO, L. R. *Desenvolvimento e uso de marcadores de regiões hipervariáveis do genoma de Magnaporthe grisea na análise da estrutura de populações do patógeno infectando plantações de arroz*. 2001. Tese (Doutorado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2001.

GEORGE, M. L. C.; NELSON, R. J.; ZEIGLER, R. S.; LEUNG, H. Rapid population analysis of *Magnaporthe grisea* by using rep-PCR and endogenous repetitive DNA sequences. *Phytopathology*, St. Paul., v. 88, n. 3 p. 223-229. 1988.

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

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. A. Perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. *Summa Phytopathologica*. Botucatu, v. 26, n. 3, p. 279-282, 2000.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. A.; MESQUITA, A. N. Ocorrência de brusone do trigo (*Pyricularia oryzae* Cav.) no Estado do Mato Grosso do Sul. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 15, n.1, p. 9, 1989.

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.

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.

_____; STAUT, L.A. 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, 8., 1992, Londrina. *Anais...* Dourados: Embrapa-Uepae Dourados, 1992. 169-171.

GREGAN, P. B.; AKKAYA, M. S.; BHAGWAT, A. A.; LAVI, U.; RONGWEN, J. Length polymorphisms of simple sequence repeat (SSR) DNA as molecular markers in plants. In: GRESSHOFF, P.M. (Org.). *Plant Genome Analysis*. Boca Raton: CRC Press, 1994, p. 43-49.

HAMER, J. E.; HOWARD, R. J.; CHUMLEY, F. G.; VALENT, B. A mechanism for surface attachment in spores of a plant pathogenic fungus. *Science*, Washington, v. 239, n. 4837, p. 288-290, 1988.

_____; FARRAL, L.; ORBACH, M. J.; VALENT, B.; CHUMLEY, F. G. Host species-specific conservation of family of repeat DNA sequences in the genome of a fungal plant pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 86, n. 24, p. 9981-9985, 1989.

HAU, V. T. B.; HIRATA, K.; MURAKAMI, J.; NAKAYASHIKI, H.; MAYAMA, S.; TOSA, Y. Rwt4, a wheat gene for resistance to Avena isolates of *Pyricularia oryzae*, functions as a gene for resistance to *Panicum* isolates in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, Tokyo, v. 73, n. 1, p. 22-28, 2007.

HOWARD, R. J.; FERRARI, M. A.; ROACH, D. H.; MONEY, N. P. Penetration of hard substrates by a fungus employing enormous turgor pressures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 88, n. 24, p. 11281-11284, 1991.

HOWARD, R. J.; FERRARI, M. A. Role of melanin in appressorium function. *Experimental Mycology*, Orlando, v. 13, n. 4, p. 403 - 418, 1989.

_____; VALENT, B. Breaking and entering: host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Microbiology*, Palo Alto, v. 50, n. 1, p. 491-512, 1996.

HUBER, D. M. Disturbed mineral nutrition. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. G. (Orgs.) *An advanced treatise*. New York: Academic Press, 1978. p. 163-181.

HUBER, D. M., THOMPSON, I. A. Nitrogen and plant disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Orgs.). *Mineral nutrition and plant disease*. Saint Paul: APS Press, 2007. p. 31-44.

HUBER, D. M.; THOMPSON, I. A. Nitrogen and plant disease. In: SIMPÓSIO SOBRE RELAÇÕES ENTRE NUTRIÇÃO MINERAL E INCIDÊNCIA DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2005, Piracicaba. *Resumos...* Piracicaba: Potafôs, 2005.

HUBER, S. K.; DE LEÓN, L. F.; HENDRY, A. P.; BERMINGHAM, E. E.; PODOS, J. Reproductive isolation of sympatric morphs in a population of Darwin's finches. *Proceedings of Royal Society B: Biological Sciences*, London, v. 274, n. 1619, p. 1709-1714, 2007.

HYON, G. S.; NGA, N. T. T.; CHUMA, I.; INOUE, Y.; ASANO, H.; MURATA N.; KUSABA, M.; TOSA, Y. Characterization of interactions between barley and various host-specific subgroups of *Pyricularia oryzae* and *M. grisea*. *Journal of General Plant Pathology*, Tokyo, v. 78, n. 4, p. 237-246, 2012.

IGARASHI, S. Uma análise da ocorrência de “brusone” do trigo no Paraná. In: SEMINÁRIO SOBRE MELHORAMENTO PARA A RESISTÊNCIA A ENFERMIDADES, 19., 1988, Passo Fundo, *Resumos...* Passo Fundo, 1988.

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

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C. M.; IGARASHI, L. C.; KAZUMA, A. H.; LOPES, R. S. *Pyricularia* em trigo. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 11, n. 2, p. 351-352, 1986.

KACHROO, P.; LEONG, A. S.; CHATHOO, B. B. *Pot2*, an inverted repeat transposon from the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Molecular General Genetics*, Berlin, v. 245, n. 3, p. 39-48, p. 339-348, 1994.

KANG, S.; CHUMLEY, F. C.; VALENT, B. Isolation of mating type genes of the phytopathogenic fungus *Magnaporthe grisea* using genomic subtraction. *Genetics*, Pittsburg, v. 138, n. 2, p. 289-296, 1994.

____ ; LEBRUN, M. H.; FARRALL, L.; VALENT, B. Gain of virulence caused by insertion of a *Pot3* transposon in a *Magnaporthe grisea* avirulence gene. *Molecular Plant- Microbe Interaction*, St. Paul, v. 14, n. 5, p. 671-674, 2001.

KANKANALA, P.; CZYMMEK, K.; VALENTA, B. Roles for rice membrane dynamics and plasmodesmata during biotrophic invasion by the blast fungus. *The Plant Cell*, Rockville, v. 19, n. 2, p. 706-724, 2007.

KATO, H.; YAMAGUCHI, T. The perfect stage of *Pyricularia oryzae* from rice plants in culture. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, Tokyo, v. 98, n. 2, p. 607-612, 1982.

KAWAMURA, E.; ONO, K. Studies on the relation between the preinfection behavior of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, and water droplets on rice plant leaves. *Bulletin of the National Agriculture Experiment Station*, v. 4, p. 1-12, 1948. Supplement.

KAYE, C.; MILAZZO, J.; ROZENFELDB, S.; LEBRUNC, M. H.; THARREAU D. The development of simple sequence repeat markers for *Magnaporthe grisea* and their integration into an established genetic linkage map. *Fungal Genetics and Biology*, Madison, v. 40, n. 3, p. 207-214, 2003.

KIM, C. K. Blast management in high input, high potential temperature rice ecosystem. In: ZEIGLER, R. S.; LEONG, S. A.; TENG, P. S. (Orgs.) *Rice blast disease*. Wallingford: CAB International. 1994. p.451-464.

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

KIYOSAWA, S. Genetics and epidemiological modeling of breakdown of plant disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, St. Paul, v. 20, n. 5, p. 93-117, 1982.

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*, Slezská, v. 47, S130–S134, 2011.

KOVALESKI, M.; CARGNIN, A.; SANTANA F.M. Piramidação de genes de resistência a brusone do trigo via retrocruzamento. In: MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA.16., 1997, Passo Fundo. *Resumos...* Passo Fundo: UPF, 2012. 1 CD-ROM.

KUDO, Â. S.; BLUM, L. E. B.; LIMA, M. A. Aerobiology of *Cercospora kikuchii*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1682-1688, 2011.

KUMAR, J.; NELSON, R. J.; ZEIGLER, R. S. Populacion structure and dynamics of *Magnaporthe grisea* in the Indian Himalayas. *Genetics*, Pittsburg, v. 152, n. 3, p. 971-984, 1999.

LANDSCHOOT, P. J.; HOYLAND, B. F. Gray leaf spot of perennial ryegrass turf in Pennsylvania. *Plant Disease*, St. Paul, v. 76, n. p. 1280-1282, 1992.

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

LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F.; KITAJIMA, E. W.; ISCHIDA, M. L. Mecanismos de adesão de bactérias e fungo às plantas hospedeiras. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v. 9. 2001. p. 119-157.

LENGELER, K. B.; DAVIDSON, R. C.; D' SOUZA, C.; HARASHIMA, T.; SHEN, W. C.; ANG, X.; AUGH, M. Signal transduction cascades regulating fungal development and virulence. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, New York, v. 64, n. 4, p. 746-785, 2000.

LEUNG, H.; BERNARDO, E.S.; NOTTEGHEM, J.L. Genetic analysis of virulence in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Phytopathology*, St. Paul, v. 78, n. 9, p. 1227-1233, 1988.

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: 1 mar. 2015.

LING, K. C.; OU, S. H. Standardization of the international race numbers of *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology*, St. Paul, n. 1, v. 59, p. 339-342, 1969.

LIU, W.; LIU, J.; NING, T.; DING, B.; WANG, X.; WANG, Z.; WANG, G. –L. Recent progress in understanding PAMP- and effector-triggered immunity against the Rice Blast Fungus *Pyricularia oryzae*. *Molecular Plant*, Oxford, v. 6, n. 3, p. 605-620, 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: 10 dez. 2014.

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*, Oxfordshire, v. 6, n. 50, p. 1-8, 2011.

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*, St. Paul, v. 104, n. 1, p. 95-107, 2014.

MACKILL, D. J.; BONMAN, J. M. Inheritance of blast resistance in near isogenic lines of rice. *Phytopathology*, St. Paul, v. 82, n. 7, p. 746-749, 1992.

MALAVOLTA, E. *Manual de nutrição mineral de plantas*. São Paulo: Editora Ceres, 2006. 638 p.

MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. London: Academic Press, 1986. 674 p.

MARTYNOV, P.; DOBROTVORSKAYA, T.V.; HON, I.; FABEROVÁ, I. (2006): *Wheat pedigree and identified alleles of genes on line*. *Crop Research Institute, Prague*. Disponível em: <<http://genbank.vurv.cz/wheat/pedigree/pedigree.asp>> Acessado em: 27 de mai. 2014.

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.

MEHTA, Y. R.; RIEDE, C. R.; CAMPOS, L. A. C; KHOLI, M. M. Integrated management of major wheat diseases in Brazil: an example of Southern Cone region of Latin America. *Crop Protection*, Guildford, v. 11, n. 6, p. 517-524, 1992.

MEIRA, C. A. A.; RODRIGUES, L. H. A.; MORAES, S. A. Análise da epidemia da ferrugem do cafeeiro com árvore de decisão. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 33, n. 2, p. 114- 124, 2008.

MEKWATANAKARN, P.; KOSITRATANA, W.; PHROMRAKSA, T.; ZEIGLER, R. S. Sexually fertile *Magnaporthe grisea* rice pathogens in Thailand. *Plant Disease*, St. Paul, v. 83, n. 10, p. 939-943, 1999.

MENEGHIN, M. F. S.; RAMOS, M. L. G.; OLIVEIRA, S. A.; RIBEIRO JÚNIOR, W. Q.; AMABILE, R. F. Avaliação da disponibilidade de nitrogênio no solo para o trigo em latossolo vermelho do Distrito Federal. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 32, p. 1941-1948, 2008.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S. M. A. *Fungos fitopatogênicos*. Recife: UFRPE- Imprensa Universitária, 1993. 277 p.

NETO, M. D. de C. *Resistência genética de uma coleção nuclear e adubação com silício associado ao nitrogênio no manejo de doenças do arroz no sul do estado Tocantins*. 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2009.

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

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

NOTTEGHEM, J. L.; SILUE, D. Distribution of the mating type alleles in *Magnaporthe grisea* populations pathogenic on rice. *Phytopathology*, St. Paul, 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.

NUTSUGAH, S. K.; TWUMASI, J.; CHIPILI, Y. SERÉ.; SREENIVASAPRASAD, S. Diversity of the Rice blast pathogen populations in Ghana and strategies for resistance management. *Plant Pathology Journal*, London, v. 7, n. 1, p. 109-113, 2008.

NUTTER Jr., F. W.; GLEASON, M. L.; JENCO, J. H.; CHRISTIANS, N. C. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. *Phytopathology*. St. Paul, v. 83, n. 8, p. 806-812, 1993.

OLESEN, J. E.; JORGENSEN, L. N.; PETERSEN, J.; MORTENSEN, J. V. Effects of rate and timing of nitrogen fertilizer on disease control by fungicides in winter wheat. 1. Grain yield and foliar disease control. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v. 140, n. 1, p.1-13, 2003.

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*, Rockville, v. 12, n. 11, p. 2019-2032, 2000.

OU, H. S.; AYAD, M. R. Pathogenic races of *Pyricularia oryzae* originating from single lesions and monoconidial cultures. *Phytopathology*, St. Paul, v. 58, n. 1, p. 179-182, 1968.

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

OU, S. H. *Rice diseases*. 1. ed., London: Eastern Press, 1972. 368 p.

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, Brasília, 2011.

PEIXOTO, L. F. *Identificação da compatibilidade, sexualidade, fertilidade e AVR1-CO39 em populações de Pyricularia oryzae, coletadas em lavouras de arroz, no Brasil*. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2014.

PEREIRA, J. F.; CONSOLI, L.; SOUZA B.; ESTEVON, A.; BONATO, A. L. V.; MACIEL, J. L. N. Development of genomic SSR markers and molecular characterization of *Pyricularia oryzae* isolates from wheat in Brazil. *Biochemical Genetics*, New York, v. 52, n. 1-2, p. 52-70, 2013.

PICCO, A. M.; RODOLFI, M. *Pyricularia grisea* and *Bipolaris oryzae*: a preliminary study on the occurrence of airborne spores in a rice field. *Aerobiologia*, Bologna, v. 18, n. 2, p. 163-167, 2002.

PICCO, A. M.; LORENZI, E.; RODINO, D.; RODOLFI, M.; TABACCHI, M.; BILONI, M., Airspores detection of *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. and *Bipolaris* spp.: a three years monitoring in different rice fields in Northern Italy. In: CONFERENCE CHALLENGES AND OPPORTUNITIES FOR SUSTAINABLE RICE-BASED PRODUCTION SYSTEMS. 15., 2004, Torino. *PROCEEDINGS...* Roma: International Rice Research Institute, 2004. p. 161- 167.

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

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

PONTECORVO, C. The parasexual cycle in fungi. *Annual Review of Microbiology*, Palo Alto, v. 10, n. 1, p. 393-400, 1956.

PRABHU, A. S., FILIPPI, M. C., ARAUJO, L. G.; FARIA, J. C. Genetic and phenotypic characterization of isolates of *Pyricularia grisea* from the rice cultivars Epagri 108 and 109 in the State of Tocantins. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 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.; FILIPPI, M. C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolates of *Pyricularia oryzae* infecting rice, wheat, and grasses in Brazil. *Tropical Pest Management*, London, v. 38, n. 4 p. 367-371, 1992.

PRABHU, A. S.; SOUSA, N. S.; FILIPPI, M. C.; BARROS, L.G. AZEVEDO, D. P. M. Performace of upland rice cultivars under two nitrogen levels in relation to leaf blast. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 2, p. 281-284, 1996.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. Graus de resistência a brusone e produtividade de cultivares melhoradas de arroz de terras altas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1453-1459, 2001.

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* (2005). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 12 nov. 2014.

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.

QUAMARUZZAMAN, M.; OU, H. S. Monthly changes of pathogenic races of *Pyricularia oryzae* in a blast nursery. *Phytopathology*, St. Paul, v. 60, n. 3, p. 1266-1269, 1970.

REGNER, L.; LORETO, E. L. S. Transposons. In: ZAHA, A. (Org.). *Biologia Molecular Básica*. 3. ed. Porto Alegre: Mercado Aberto. 2003. p. 202-227.

REIS, E. M.; BLUM, M. M. C.; FORCELINI, C. A. Sobrevivência de *Pyricularia oryzae* associada a sementes de trigo. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.21, n. 3, p. 43-44, 1995.

REIS, E. M.; DANELLI, A. L. D.; ZOLDAN, S. Brusone do trigo-ciclo da doença. Disponível em: <<http://www.orsementes.com.br>>. Acesso em: 3 dez. 2014.

REIS, E. M.; SANTOS, H. P. dos. População de *Helminthosporium sativum* no ar através de uma armadilha tipo cata-vento. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 10, n. 3, p. 515-519, 1985.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. Informações técnicas para trigo e triticale – safra 2014. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. 7., 2014. *Anais...* Londrina: Fundação Meridional, 2014. p. 235.

REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. In: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO. 30. 2014, Bento Gonçalves: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. *Anais...* Santa Maria: UFSM, 2014. p. 192.

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*, Jena, v. 165, n. 1, p.114–124, 2008.

ROBERT, O.; ABELARD, C.; DEDRYVER, F. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene Yr17 in wheat. *Molecular Breeding*, Utah, v. 5, n. 2, p. 167-175, 1999.

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*, Botucatu, v. 40, n. 4, p. 347-352, 2014.

RÖDER, M. S.; KORZUN, V.; WENDEHAKE, K.; PLASCHKE, J.; TIXIER, M. H.; LEROY, P.; GANAL, M. W. A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics*, Pittsburg, v. 149, n. 4, p. 2007-2023, 1998.

ROTH, G. W.; MARSHALL, H. G.; HATLEY, O. E.; HILL, J. R. R. R. Effect of management practices on grain yield, test weight, and lodging of soft red winter wheat. *Agronomy Journal*, Madison, v. 76, n. 3, p. 379-383, 1987.

ROW, K. V. S. R. K.; AIST, J. R.; CRILL, J. P. Mitosis in the rice blast fungus and its possible implications for pathogenic variation. *Canadian Journal of Botany*, Manitoba, v. 63, n. 6, p. 1129-1134, 1985.

SALA, V. M. R.; FREITAS, S. S.; DONZELI, V. P.; FREITAS, J. G.; GALLO, P. B.; SILVEIRA, A. P. D. Ocorrência e efeito de bactérias diazotróficas em genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 29, n. 3, p. 345-352, 2005.

SANTANA, F. M.; MACIEL, J. L. N.; LAU, D'; CARGNIN, A.; SEIXAS, C. D. S.; BASSOI, M. C.; 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*. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br>. Acesso em: 8 set. 2014.

SANTOS, G. R.; CUNHA, A. C. F.; IGNÁCIO, M.; CASTRO NETO, M. D. D.; DOS REIS, M. R.; AGUIAR, R. W. D. S. Diversidade de *Magnaporthe grisea* em arroz de terras altas no sul do Estado do Tocantins, na safra 2008/09. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 59, n. 1, p. 65-70, 2012.

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

SANTOS, G.R.; NETO, M. D. C.; RODRIGUES, A. C.; BONIFACIO, A.; KORNDORFER, G. H. Fertilização silicatada e nitrogenada no controle da brusone do arroz em sistema irrigado. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 27, n. 4, p. 103 – 108, 2014.

SASAKI, R. Existence of strains in rice blast fungus. I. *Journal Plant Protection*, Tokyo, v.9, n. 1, p. 631-644, 1922.

SCHOUSTRA, S. E.; DEBETS, A. J. M.; SLAKHORST, M.; HOEKSTRA, R. F. Mitotic recombination accelerates adaptation in the fungus *Aspergillus nidulans*. *Plos Genetics*, San Francisco, v.3 , n. 4, p. 648 -653, 2007.

SHAH, D. A.; DE WOLF, E. D.; PAUL, P. A.; MADDEN, L. V. Predicting *Fusarium* head blight epidemics with boosted regression trees. *Phytopathology*, St. Paul, v. 104, n. 7, p. 702-714, 2014.

SHAH, D. A.; MOLINEROS, J. E.; PAUL, P. A.; WILLYERD, K. T.; MADDEN, L. V.; DE WOLF, E. D. Predicting *Fusarium* head blight epidemics with weather-driven pre- and post-anthesis logistic regression models. *Phytopathology*, St. Paul, v. 103, n. 9, p. 906-919, 2013.

SRIDHAR, R.; OU, S. H. Biochemical changes associated with the development of resistant and susceptible type of rice blast lesions. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 79, n. 3, p. 222-230, 1974.

SILVA, G. B.; PRABHU, A. S. Quantificação de conídios de *Pyricularia grisea* no plantio direto e convencional de arroz de terras altas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 6, p. 569-573, 2005.

SILVA, G. B.; PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; ARAÚJO, L. G.; ZAMBOLIM, L. Caracterização da virulência de *Magnaporthe grisea* nas cultivares diferenciadoras japonesas, linhas quase-isogênicas de IAC-25 e CO-39 de arroz. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 33, n. 4, p. 372-377, 2007.

SILVA-LOBO, V. L.; FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B.; VENANCIO, W. L.; PRABHU, A. S. Relação entre o teor de clorofila nas folhas e a severidade de brusone nas panículas em arroz de terras altas. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 37, n. 1, p. 83-87, 2012.

SIMON, M. R.; PERELLO, A. E.; CORDO, C. A.; STRUIK P. C. Influence of *Septoria tritici* on yield, yield components, and test weight of wheat under two nitrogen fertilization conditions. *Crop Science*, Madison, v. 42, n. 6, p. 1974-1981, 2002.

SOUSA, P. G. Novas cultivares: BR 18-Terena: cultivar de trigo para o Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.37, n.7, p. 1039-1043, 2002.

STĘPALSKA, D.; WOŁEK, J. Intradiurnal periodicity of fungal spore concentrations (*Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Didymella*, *Ganoderma*) in Cracow, Poland. *Aerobiologia*, Bologna, v. 25, n. 4, p. 333-340, 2009.

TAHERI, P.; IRANNEJAD, A. Genetic structure of various *Pyricularia oryzae* populations in Iran and Uruguay. *Australasian Plant Pathology*, Clayton, v. 43, n. 3, p. 287-297, 2013.

TAKAN, J. P.; CHIPILI, J.; MUTHUMEENAKSHI, S.; TALBOT, N. J.; MANYASA, E. O.; BANDYOPADHYAY, R.; SERE, Y.; NUTSUGAH, S. K. TALHINHAS, P.; HOSSAIN, M.; BROWN, A. E.; SREENIVASAPRASA, S. *Pyricularia oryzae* populations adapted to finger millet and rice exhibit distinctive patterns of genetic diversity, sexuality and host interaction. *Molecular Biotechnology*, Totowa, v. 50, n. 2, p. 145-158, 2012.

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

TANAKA, M. A. S; FREITAS, J. G.; MEDINA, P. F. Incidência de doenças fúngicas e sanidade de sementes de trigo sob diferentes doses de nitrogênio e aplicação de fungicida. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 313-317, 2008.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Reserch*, London, v. 17, n. 16, p. 6463-6471, 1989.

TEBEEST, D. O.; GUERBER, C.; DITMORE, M. *Brusone*. 2007. Disponível em <<http://www.apsnet.org>> Acesso em: 18 mai. 2014.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; ARF, O.; BENETT, C. G. S. Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em trigo irrigado em plantio direto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 45, n. 8, p. 797-804, 2010.

TENG, P. S.; KLEIN-GEGBINCK, H.; PINNSCHMIDT, H; Ananalysis of the blast pathosystem to guide modeling and forecasting. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. *Rice blast modeling and forecasting*. Los Banos, The Philippines, 1991. p.30-1.

TOLEDO, J. Enfermedades. In: DÍAZ, O.; GUZMÁN, E.; TOLEDO, J.; FRANCO, P.; TERRAZAS, D.; ANTEZANA, A. (Orgs.). *Guía de recomendaciones técnicas del cultivo de trigo*. Santa Cruz: CIAT, 2004. p. 50- 55.

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

TOSA, Y.; TAMBA, H.; TANAKA, K.; MAYAMA, S. Genetic analysis of host species specificity of *Pyricularia oryzae* isolates from rice and wheat. *Phytopathology*, St. Paul, v. 96, n. 5, p. 480-484, 2006.

TRINDADE, M. da G.; PRABHU, A. S.; SÓ E SILVA, M. *Resistência parcial de genótipos de trigo a brusone nas folhas*. Passo Fundo: Embrapa Trigo (2006). Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br>>. Acesso em: 15 mai. 2014.

TUFAN, H.A.; MCGRANN, G.R.D.; MAGUSIN, A.; MOREL, J-B.; MICHE, L.; BOYD, L.A. Wheat blast: histopathology and transcriptome reprogramming in response to adapted and nonadapted *Magnaporthe* isolates. *New Phytologist*, Boston, v. 184, n. 2, p. 473-484, 2009.

URASHIMA, A. S.; HASHIMOTO, Y.; DON, L. D.; KUSABA, M.; TOSA, Y.; NAKAYASHIKI, H.; MAYAMA, S. Molecular analysis of the wheat blast population in Brazil with a homologue of retrotransposon MGR583. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, Tokyo, v. 65, n. 4, p. 429-436. 1999.

____; IGARASHI, S.; KATO, H. Host range, mating type and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil. *Plant Disease*, St. Paul, v. 77, n.12, p. 1211-1216, 1993.

____; 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*, Brasília, v. 29, n. 5, p. 511-518, 2004.

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

____; STABILI, A.; GALBIERI, R. DNA fingerprinting and sexual characterization revealed two distinct populations of *Magnaporthe*

grisea in wheat blast from Brazil. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, Slezská, v. 41, p. 238-245, 2005. Supplement.

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

____. Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 20, n. 2, p. 107-12, 1994.

____. Variation in virulence in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* in São Paulo State. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 1, p. 109-115, 2002.

VALENT, B. Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology*, St. Paul, v. 80, n. 1, p.33-36, 1990.

____; CHUMLEY, F. G. Avirulence genes and mechanisms of genetic instability in the rice blast fungus. In. ZEIGLER, R.S.; LEONG, S.A.; TENG, P.S. (Orgs.) *Rice Blast Disease*. Manila: Cab International, 1994. p. 111-134.

____; CHUMLEY, F. G. Molecular genetic analysis of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*. *Annual Review of Phytopathology*, St. Paul, v. 29, p. 443-467, 1991.

____; FARRAL, L.; CHUMLEY, F. G. *Magnaporthe grisea* genes for pathogenicity and virulence identified through a series of backcrosses. *Genetics*, Pittsburg, v. 127, n. 1, p. 87-101, 1991.

VAN DER PLANK, J. E. *Plant disease: Epidemics and control*. New York: Academic, 1963. 349 p.

____. *Principles of plant infection*. New York: Academic, 1975. 216 p.

VERZIGNASSI, C. D. F.; LÉDO, F. J. S.; BATISTA, M. V.; QUEIROZ, C. A.; CORADO, H. S.; POLTRONIERI, L. S.; MONTEIRO, L. C.; SILVA, J. I.; BENTEO, G. L.; MACHADO, J. C. *Pyricularia grisea* causando manchas foliares na cultivar BRS capileto de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.) X milho (*Pennisetum glaucum* (L.)R. Br.). *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 39, n. 2, p. 140-141, 2013.

WANG, Y.; KAYE, C.; BORDAT, A.; ADREIT, H.; MILAZZO, J.; ZHENG, X.; SHEN, Y.; THARREAU, D. Construction of genetic linkage map and location of avirulence genes from cross CH63 and TH16 of *Magnaporthe grisea*. *Chinese Journal of Rice Science*, Beijing, v. 19, n. 2, p. 160-166, 2005.

WEBSTER, R. K.; GUNELL, P. S. *Compendium of rice diseases*. Minnesota: APS Press. 1992.

XIA, J. Q.; CORREL, J. C.; LEE, F. N.; MARCHETTI, M. A.; RHOADS, D. D. DNA fingerprint to examine microgeographic variation in the *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia grisea*) population in Arkansas. *Phytopathology*, St. Paul, v. 83, n. 10, p. 1029-1035, 1993.

XIA, J. Q.; CORRELL, J.C.; LEE, F.N.; ROSS, W.J. Regional population diversity of *Pyricularia grisea* in Arkansas and the influence of host selection. *Plant Disease*, St. Paul, v. 84, n. 8, p. 877-884, 2000.

XUE, M.; YANG, J.; LI, Z.; HU, S.; YAO, N.; RALPH, A.; ZHAO, W.; SHEN, M.; ZHANG, H.; LI, C.; LIU, L.; CAO, L.; XU, X.; XING, Y.; HSIANG, T.; ZHANG, Z.; XU, J.-R.; PENG, Y.-L. Comparative analysis of the genomes of two field isolates of the rice blast fungus *Pyricularia oryzae*. *Plos Genetics*, San Francisco, v. 8, n. 8, p. 1-12, 2012.

YAEGASHI, H.; YAMADA, M. Pathogenic race and mating type of *Pyricularia grisea* from Soviet Union, China, Nepal, Thailand, Indonésia and Colombia. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, Tokyo, v. 52, n. 5, p. 225-234, 1986.

YAMADA, M. Distribution and population change in races of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, in Japan. *Review of Plant Protection Research*, Tokyo, v. 12, n. 4, p. 64-79, 1979.

YUICHI, M.; CHENGLONG, D.; RIE, O.; MARIKO, H.; MASAHIRO, F.; WATARU, T.; HONGWEI, C.; KAZUHIKO, K. Development of EST-derived CAPS and AFLP markers linked to a gene for resistance to rygrass blast (*Pyricularia* sp.) in Italian rygrass (*Lolium multiflorum* Lam.). *Theoretical and Applied Genetics*, Stuttgart, v. 111, n. 5, p. 811-818, 2005.

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

ZEIGLER, R. S. Recombination in *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Phytopathology*, St. Paul, v. 36, p. 249-276, 1998. (Supplement)

_____; CUC, L. X.; SCOTT, R. P.; BERNARDO, M. A.; CHEN, D. H.; VALENT, B.; NELSON, R. The relationship between lineage and virulence in *Pyricularia grisea* in the Philippines. *Phytopathology*, St. Paul, v. 85, n. 4, p. 443-451, 1995.

_____; SCOTT, R. P.; LEUNG, H.; BORDEOS, A. A.; KUMAR, J.; NELSON, R. J. Evidence of parasexual exchange of DNA in the rice blast fungus challenges its exclusive clonality. *Phytopathology*, St. Paul, v. 87, n. 3, p. 284-294, 1997.

ZELLERHOFF, N.; JAROSCH, B.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W.; SCHAFFRATH, U. Nonhost resistance of barley is successfully manifested against *Magnaporthe grisea* and a closely related Pennisetum- infecting lineage but is overcome by *Pyricularia oryzae*. *Molecular Plant Microbe Interact*, St. Paul, v. 19, n. 9 p. 1014-1022, 2006.

ZHAN, S. W.; MAYAMA, S.; TOSA, Y. Identification of two genes for resistance to *Triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* in wheat. *Genome*, Rockvill Pike, v. 51, n. 3, p. 216-21, 2008.