

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS DO MAL-DO-PÉ
(*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var.
graminis) EM ARROZ (*Oryza sativa* L.) DE TERRAS ALTAS,
NO ESTADO DE GOIÁS**

CECÍLIA DO NASCIMENTO PEIXOTO

Orientador:
Dr. Anne Sitarama Prabhu

Março - 2006
CECÍLIA DO NASCIMENTO PEIXOTO

**ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS DO MAL-DO-PÉ
(*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var.
graminis) EM ARROZ (*Oryza sativa* L.) DE TERRAS ALTAS,
NO ESTADO DE GOIÁS**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia, área de concentração: Produção Vegetal.

Orientador:

Dr. Anne Sitarama Prabhu

Co-Orientador:

Profa. Dra. Giselle Ottoni

Goiânia, GO - Brasil
2006

CECÍLIA DO NASCIMENTO PEIXOTO

**ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS DO MAL-DO-PÉ
(*Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var.
graminis) EM ARROZ (*Oryza sativa* L.) DE TERRAS ALTAS,
NO ESTADO DE GOIÁS**

Tese DEFENDIDA e APROVADA em 22 de março de 2006, pela Banca Examinadora constituída pelos membros:

Profª. Dra. Mara Rúbia da Rocha
Membro - UFG

Profª. Dra. Giselle Ottoni
Membro - UFG

Dr. Josias Correia de Faria
Membro - Embrapa Arroz e Feijão
Feijão

Dra. Marta Cristina de Filippi
Membro - Embrapa Arroz e

Dr. Anne Sitarama Prabhu
Orientador - Embrapa Arroz e Feijão

Goiânia, Goiás
Brasil

À meu pai Antônio, *in memoriam*, e
minha mãe Vitória Luiza, que
com simplicidade e amor
sempre me incentivaram na
busca pelo conhecimento.

AGRADECIMENTOS

À minha família, meu esposo José Reginaldo Peixoto e minhas filhas Mariana e Ana Carolina, pelo auxílio no trabalho e pela compreensão, apoio, carinho e incentivo constantes.

Aos meus irmãos Quintino, Salvelina, João da Cruz, Edmundo e Edmar, cunhadas Elzita, Eliane, Heloísa e Luciene, cunhado Júnior, e sobrinhos Júlia, Thaís, Felipe, Leila, Stephane e Natália, pelo apoio e carinho.

À Universidade Federal de Goiás, em especial à Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Dr. Anne Sitarama Prabhu pela preciosa orientação, dedicação, apoio, auxílio e exemplo, no decorrer de todo trabalho.

Ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, na pessoa do superintendente Dr. Helvécio Magalhães Ribeiro, pelo apoio na realização deste curso, e aos colegas Aderivaldo Alves Vilela, Valdevino Bernardes de Melo, Maurício Rodrigues Porto, Regina Melo Sartori C. Morello, Fernando Eberhardt, José Gabriel Alves Amoril, Maria Cândida Afonso, Sônia Terezinha Silvério, Elizabeth Hirata, Divina José da Costa Sousa e Rosilene Ferreira Souto, pelo apoio e incentivo.

À Embrapa Arroz e Feijão pelo apoio e facilidades na realização dos trabalhos.

Aos pesquisadores Gisele Barata da Silva, Leila Garcês Araújo, Silvando Carlos da Silva, Maria da Glória Trindade, José Alexandre F. Barrigossi, Marta Cristina de Filippi, Murillo Lobo Júnior, José Benedito Trovo, Raimundo Ricardo Rabelo e Valéria de Oliveira Faleiro Machado, pelo auxílio e contribuições durante a realização do trabalho.

Ao colega, Prof. Dr. José Carlos Seraphin pela paciência, auxílio e valiosos ensinamentos de estatística.

Ao secretário do Programa de Pós-graduação em Agronomia, Wellington Barbosa Mota, pela amizade, presteza e atenção no decorrer do curso.

Às bibliotecárias Ana Lúcia Delalibera de Faria e Elise Schlag, pela amizade, presteza no atendimento e revisão da bibliografia.

Aos funcionários da Embrapa Arroz e Feijão pelo apoio na realização deste trabalho e pelo convívio fraterno, especialmente a Pedro Maurício Luís Machado, Romilda A. Melo, José Gomes de Moraes, Juraci de Oliveira, Reginaldo Aparecido de Bastos, Anaíres Almeida Guida, Luiz Lopes da Silva, Jânio Pereira da Silva, Divino Amador Dutra, Geresa Vaz de Souza e Edmar Ribeiro de Souza.

À professora Dra. Giselle Ottoni, pela revisão final do trabalho.

À banca examinadora, pelas valiosas contribuições ao trabalho final.

Às secretárias da Embrapa Arroz e Feijão, Celina Alves Avelino de Moura, Carmelita Almeida dos Santos e Lúcia Helena Cardoso Pelegrini, pelo auxílio, atenção e presteza.

À estudante de agronomia Janaína Lísia Duarte pelo auxílio nos trabalhos de campo e casa-de-vegetação.

Às colegas Adriane Cruvinel, Eliane Divina e Valéria Rabelo pela amizade e contribuições no trabalho.

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, a minha gratidão e meu reconhecimento.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	19
REVISÃO DE LITERATURA.....	22

CAPÍTULO I

ASPECTOS DA BIOLOGIA E PATOGENICIDADE DE <i>G. graminis</i>	
	var. <i>graminis</i> 28
	RESUMO..... 28
	ABSTRACT..... 30
1	INTRODUÇÃO..... 31
2	MATERIAL E MÉTODOS..... 34
2.1	ORIGEM E OBTENÇÃO DE ISOLADOS..... 34
2.2	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E CULTURAIS DE <i>G. graminis</i>
	var. <i>graminis</i> 36
2.3	TESTES DE VIRULÊNCIA EM CASA-DE-VEGETAÇÃO..... 37
2.3.1	Virulência em plântulas de arroz, de isolados de <i>G. graminis</i> var.
	<i>graminis</i> inoculados em solo e areia..... 37
2.3.2	Virulência de isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em plantas adultas de
	duas cultivares de arroz..... 39
2.3.3	Efeito de níveis de inóculo de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> e idade de
	plantas de arroz sobre a severidade de mal-do-pé..... 40
2.3.4	Agressividade de isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , provenientes de
	arroz e capins, em plantas de arroz..... 41
2.3.5	Patogenicidade de ascósporos de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em plantas
	adultas de arroz..... 42
2.3.6	Infecção de plantas de arroz com ascósporos de <i>G. graminis</i> var.
	<i>graminis</i> liberados de peritécios em casa-de-vegetação..... 43
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 44
3.1	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E CULTURAIS DE <i>G. graminis</i>
	var. <i>graminis</i> 44
3.1.1	Crescimento e características do micélio..... 44
3.1.2	Formação de hifopódios..... 45
3.1.3	Formação de peritécios e ascósporos..... 47
3.1.4	Germinação de ascósporos..... 50
3.1.5	Características culturais..... 52

3.1.5.1	Produção de peritécios em meio de cultura.....	53
3.1.6	Ocorrência da fase imperfeita de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i>	55
3.2	TESTES DE VIRULÊNCIA EM CASA-DE-VEGETAÇÃO.....	57
3.2.1	Virulência em plântulas de arroz, de isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> inoculados em solo e areia.....	57
3.2.2	Virulência de isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em plantas adultas de duas cultivares de arroz.....	58
3.2.3	Efeito de níveis de inóculo de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> e idade de plantas de arroz sobre a severidade de mal-do-pé.....	58
3.2.4	Agressividade de isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , provenientes de arroz capins, em plantas de arroz.....	62
3.2.5	Patogenicidade de ascósporos de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em plantas adultas de arroz, em condições controladas de casa-de-vegetação.....	64
3.2.6	Infecção de plantas de arroz com ascósporos de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> liberados de peritécios em casa-de-vegetação.....	65
4	CONCLUSÕES.....	67
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68

CAPÍTULO II

	MAL-DO-PÉ DO ARROZ: HOSPEDEIROS E RESISTÊNCIA A <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i>	71
	RESUMO	71
	ABSTRACT	72
1	INTRODUÇÃO	73
2	MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1	IDENTIFICAÇÃO DE HOSPEDEIROS COLATERAIS DE <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> EM LAVOURAS DE ARROZ AFETADAS COM MAL-DO-PÉ.....	75
2.2	INOCULAÇÃO DE CAPINS E CEREAIS COM ISOLADO DE <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> PROVENIENTE DE ARROZ.....	76
2.3	RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS A <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i>	77
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.1	IDENTIFICAÇÃO DE HOSPEDEIROS COLATERAIS DE <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> EM LAVOURAS DE ARROZ AFETADAS COM MAL-DO-PÉ.....	79
3.2	INOCULAÇÃO DE CAPINS E CEREAIS COM ISOLADO DE <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> PROVENIENTE DE ARROZ.....	82

3.3	RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS A <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i>	88
4	CONCLUSÕES.....	91
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92

CAPÍTULO III

	PROGRESSO E DISSEMINAÇÃO DO MAL-DO-PÉ CAUSADO POR <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , EM ARROZ DE TERRAS ALTAS.....	95
	RESUMO.....	95
	ABSTRACT.....	96
1	INTRODUÇÃO.....	97
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	99
2.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	99
2.2	INOCULAÇÃO NO CAMPO.....	100
2.3	AVALIAÇÃO DA DOENÇA.....	100
2.4	ANÁLISE DOS DADOS.....	101
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	103
4	CONCLUSÕES.....	113
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114
	CONCLUSÕES GERAIS.....	116
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS.....	118

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1	Escala de notas para avaliação de severidade de mal-do-pé em plântulas de arroz, inoculadas com isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em casa-de-vegetação.....	38
Figura 2	Micélio característico de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> mostrando macrohifas, microhifas, micélio em raízes de plântulas de arroz , e hifas em leque.....	45
Figura 3	Hifopódios de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em bainhas de arroz, proveniente de infecção natural e de infecção artificial.....	46
Figura 4	Peritécios de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> produzidos sobre lesões em bainhas de arroz infectadas nas condições naturais de infecção, nas bainhas de arroz desinfestadas e inoculadas em câmara úmida na placa de Petri.....	48
Figura 5	Peritécio, ascas, massa de ascósporos sendo ejetada de peritécios e ascósporos de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i>	49
Figura 6	Germinação de ascósporos de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> e formação de hifopódio e clamidósporos.....	51
Figura 7	Características culturais de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em meio de cultura BDA. Isolados provenientes de arroz e de capins com 4 e 8 dias de idade.....	52
Figura 8	Colônia de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , aos 90 dias de idade, mostrando a formação de peritécios em meio de cultura sintético BDA.....	54
Figura 9	Setores de micélio em meio de cultura sintético BDA; características culturais de <i>Phialophora</i> sp e de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i>	55
Figura 10	Estruturas de <i>Phialophora</i> sp. em meio de cultura sintético BDA, isolado Ggg-c 33; hifas, conídios e fíalides.....	65
Figura 11	Progresso de mal-do-pé em plantas de arroz inoculadas artificialmente com diferentes níveis de inóculo de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> aos 35 dias e 60 dias de idade, em relação ao tempo.....	60
Figura 12	Proporção de mal-do-pé do arroz observada e estimada pelos modelos Logístico, Monomolecular e Gompertz, em plantas da cultivar Bonança	

	inoculadas aos 35 (A) e 60 dias (B) de idade, em casa-de-vegetação, em relação ao tempo.....	61
Figura 13	Lesão característica de mal-do-pé em arroz, inoculado com suspensão de ascósporos de isolado de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> (sintomas aos 30 dias após a inoculação).....	64
Figura 14	Infecção de plantas sadias da cultivar Bonança, a partir de ascósporos de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> produzidos em soca de arroz.....	65

CAPÍTULO II

Figura 1	Peritécios de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> produzidos em meio de cultura sintético de BDA.....	82
Figura 2	Cereais inoculados com <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> apresentando sintomas típicos de mal-do-pé.....	84
Figura 3	Características de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em plantas de cereais inoculadas em casa-de-vegetação.....	85
Figura 4	Plantas de gramíneas inoculadas com <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em casa-de-vegetação.....	87
Figura 5	Distribuição de genótipos de arroz de acordo com a altura de lesão no colmo, em inoculações artificiais com o isolado Ggg-a 01 de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , aos dezoito dias após a inoculação.....	90

CAPÍTULO III

Figura 1	Gradiente de infecção de mal-do-pé do arroz em plantas inoculadas no solo com <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , com quatro níveis de inóculo multiplicado em grãos de sorgo autoclavados, nas condições de campo, em duas safras.....	107
Figura 2	Gradiente de infecção de mal-do-pé do arroz em plantas inoculadas com <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , com quatro níveis de inóculo em pedaços de bainhas de arroz contendo peritécios e micélio do patógeno inseridos em perfilhos das plantas, em duas safras, nas condições de campo.....	108

Figura 3	Severidade de mal-do-pé em relação ao tempo, em plantas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolado de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , através de diferentes níveis de inóculo, em condições de campo, nas safras 2002/2003 e 2004/2005.....	109
Figura 4	Severidade de mal-do-pé do arroz observada e estimada pelos modelos logístico, monomolecular, Gompertz e exponencial, em plantas da cultivar Bonança, em resposta a dois tipos de inoculação, no solo e na planta, com isolado de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em condições de campo, nas safras 2002/2003 e 2004/2005.....	112

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Identificação de isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , provenientes de diferentes locais e hospedeiros.....	35
Tabela 2	Severidade de mal-do-pé em plântulas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em dois substratos, em casa-de-vegetação.....	57
Tabela 3	Severidade de mal-do-pé e produção de peritécios de isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> em plantas adultas de dois cultivares de arroz, inoculadas aos 58 dias de idade, em casa-de-vegetação.....	59
Tabela 4	Efeito de níveis de inóculo de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> e idade de plantas de arroz sobre a severidade de mal-do-pé, em condições artificiais de inoculação.....	60
Tabela 5	Coefficientes de determinação múltiplo (R) e ajustado (R* ²), erro padrão e quadrado médio dos desvios obtidos na análise de variância (QMR), para os modelos logístico, monomolecular e Gompertz.....	62
Tabela 6	Severidade de mal-do-pé em plantas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolados de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em casa-de-vegetação.....	63

CAPÍTULO II

Tabela 1	Incidência de mal-do-pé, causado por <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em lavouras de arroz em condições naturais de infecção.....	80
Tabela 2	Reação de espécies hospedeiras de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> à inoculação com isolado do fungo proveniente de arroz.....	83
Tabela 3	Severidade de mal-do-pé em colmos de genótipos de arroz de terras altas, dezoito dias após a inoculação com isolado de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em casa-de-vegetação.....	89

CAPÍTULO III

Tabela 1	Severidade de mal-do-pé em plantas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolado de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , com diferentes níveis de inóculo em condições de campo.....	103
Tabela 2	Severidade e área sob curva de progresso da doença (ASCPD) mal-do-pé, em plantas de arroz da cultivar Bonança, em resposta a diferentes níveis de inóculo de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em 2002/2003 e 2004/2005.....	104
Tabela 3	Componentes de produção e severidade de mal-do-pé, em arroz da cultivar Bonança, inoculado com diferentes níveis de inóculo de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em condições de campo, nas safras 2002/2003 e 2004/2005.....	105
Tabela 4	Eficiência da fonte de inóculo de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> (a), inclinação do gradiente de mal-do-pé (b), em arroz da cultivar Bonança, estimados pelos modelos não lineares de Kiyosawa & Shiyomi e de Gregory, e respectivos coeficientes de determinação (R^2) e quadrado médio do resíduo (QMR), nos dois lados da fonte de inóculo (lado esquerdo e direito), causado por diferentes níveis de inóculo do patógeno, em duas safras nas condições de campo.....	106
Tabela 5	Resumo dos resultados de regressões não lineares na avaliação de quatro modelos matemáticos usados para descrever o progresso de mal-do-pé do arroz, resultante de inoculação com isolado de <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> , em diferentes níveis de inóculo nas condições de campo, em dois anos de experimento.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS

- Gg** *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier
- Ggt** *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var. *tritici* Walker
- Gga** *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var. *avenae* (Turner) Dennis
- Ggg** *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var. *graminis*

RESUMO

PEIXOTO, C.N. Estudos epidemiológicos do mal-do-pé (*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*) em arroz (*Oryza sativa* L.) de terras altas, no Estado de Goiás. 2006. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

Foram estudadas características morfológicas e culturais de isolados de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* provenientes de arroz e capins. O fungo se estabelece formando dois tipos de hifas: macrohifas, escuras, superficiais que se juntam lateralmente e formam cordões ou rizomorfias e microhifas, hialinas ou infecciosas, que penetram no hospedeiro. Forma também hifas em leque sobre as bainhas, a partir de macrohifas, que caracterizam o patógeno. Houve a formação de hifopódios lobados e pigmentados em bainhas, tanto em condições naturais como em inoculações. Observou-se peritécios contendo ascas e ascósporos, característicos do fungo, nas bainhas sobre as lesões em amostras coletadas no campo. Através de inoculação artificial, foram produzidos peritécios em bainhas de plantas, em bainhas destacadas e esterilizadas e em meio de cultura de batata-dextrose-ágar (BDA). Foram formadas hifas e hifopódios a partir de tubos germinativos dos ascósporos e as hifas crescidas em condições de estresse hídrico produziram clamidósporos, inicialmente hialinos e, posteriormente, de coloração escura. O micélio de Ggg, geralmente de aspecto aéreo fofo, é branco no início do crescimento, com variação de cor com a idade, do branco cinza ao marrom oliváceo e quase preto. Uma característica marcante é a aparência espiralada das macrohifas escuras nas bordas da colônia. Entre os isolados testados houve variação na quantidade de peritécios bem como na época de formação. Os testes de virulência realizados com vinte isolados provenientes de arroz e capins apresentaram diferenças em agressividade, tanto em plântulas quanto em plantas de arroz. Em geral, os isolados provenientes de arroz foram mais agressivos em arroz que os isolados de capins. O teste com quatro níveis de inóculo (0,5, 1,0, 2,0, e 4,0 g de inóculo por planta, multiplicado em grãos de sorgo autoclavados) e duas idades de plantas mostrou que as plantas inoculadas aos 60 dias após o plantio foram mais suscetíveis do que aquelas inoculadas aos 35 dias, requerendo menor nível de inóculo para a infecção. A patogenicidade de ascósporos de Ggg em plantas de arroz foi comprovada, bem como o papel dos ascósporos na disseminação do mal-do-pé do arroz. A incidência de mal-do-pé em lavouras de arroz de terras altas nas condições naturais de infecção variou de 68 a 100% de perfilhos infectados, entre seis lavouras avaliadas em fase avançada de maturação. Foi estudada também a patogenicidade dos vinte isolados de Ggg obtidos, provenientes de arroz e capins. Todos os isolados foram patogênicos a arroz e aos capins: capim arroz (*Echinochloa crusgalli*), capim avião (*Pennisetum setosum*), capim braquiária (*Bachiaria* sp.), capim digitaria (*Digitaria horizontalis*), capim marmelada (*Brachiaria plantaginea*), capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*) e capim timbete (*Cenchrus echinatus*). Os cereais de inverno, trigo, aveia, centeio, cevada e triticale, bem como sorgo, milho, e milheto apresentaram diferentes graus de suscetibilidade ao isolado Ggg-a 01. As diferenças foram significativas quanto a sintomas típicos na base do colmo, altura de lesão escura na bainha, número de perfilhos ou plantas mortas, presença de micélio característico, hifas em leque e produção de hifopódios e

peritécios. Não foram observados peritécios em milheto, sorgo, timbete e milho e a maior suscetibilidade foi apresentada pelo trigo, com a morte de todas as plantas inoculadas. Foi testada a resistência de 58 genótipos de arroz de terras altas, utilizando o isolado Ggg-a 01 proveniente de arroz, em casa-de-vegetação. Entre os genótipos avaliados, SCIA16 e SCIA08 apresentaram altura de lesão significativamente menor, sendo considerados resistentes em relação ao genótipo CNAS10351, altamente suscetível. O progresso e disseminação do mal-do-pé do arroz foram estudados durante dois anos, em condições de campo em solo de cerrado. Utilizou-se delineamento experimental de blocos completos ao acaso e quatro repetições. Cada parcela foi constituída de dezenove linhas de sete e cinco metros, respectivamente no primeiro e segundo ano, com espaçamento de quarenta centímetros. Foi inoculada a linha central de cada parcela com isolado de Ggg para estabelecer os focos de disseminação da doença. O solo foi infestado com micélio em quatro níveis de inóculo (5,0, 10,0, 20,0 e 40,0 gramas de grãos de sorgo autoclavados e colonizados com micélio / 40 cm da linha) e perfilhos foram inoculados (4, 8, 16 e 32 perfilhos / 40 cm da linha) com pedaços de bainhas de arroz de dois centímetros de comprimento, contendo peritécios e micélio, inseridos entre o colmo e a bainha. Não houve efeito de níveis de inóculo na severidade da doença, tanto para micélio no solo quanto para peritécios na planta, nos dois anos de experimento. Entretanto, a área total sob a curva de progresso da doença na safra 2002/2003 foi significativamente menor nas plantas infectadas com peritécios, do que nas plantas infectadas através de infestação do solo com micélio. A avaliação de incidência da doença para análise do gradiente foi baseada nos perfilhos contados em 1,6 metros quadrados, compostos de cinco linhas de quarenta centímetros de cada lado da fonte de inóculo, na linha central. A análise de gradiente, conforme modelos de Gregory (1968) e Kiyosawa & Shiyomi (1972) mostrou existência de gradiente no primeiro ano, tanto para níveis de inóculo quanto para os focos provenientes dos dois tipos de inóculo. No segundo ano (2004/2005), não houve gradiente definido para os tratamentos testados. O progresso da doença não foi afetado pelos níveis, tanto na infecção do solo com micélio, quanto na planta com peritécios. Em teste de ajuste de modelo matemático para estudos epidemiológicos, o modelo monomolecular foi o mais apropriado para estudos de mal-do-pé do arroz nas condições de casa-de-vegetação e os modelos de Gompertz e monomolecular são os que melhor descrevem o progresso da doença, nas condições de campo.

Palavras-chave: Biologia, patogenicidade, hospedeiros, resistência, progresso de mal-do-pé.

¹Orientador: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

ABSTRACT

PEIXOTO, C.N. **Studies on epidemiology of black sheath rot (*Gaeumannomyces. graminis* var. *graminis*) in upland rice (*Oryza sativa* L.), in Goiás State.** 2006. 120 f. Thesis (Doctorate in Agronomy: Crop Sciences) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

The morphological and cultural characteristics of *G. graminis* var. *graminis* isolates from rice and grasses were studied. The fungus forms two types of mycelia, dark macrohyphae that join laterally to form runner hyphae or rhizomorphs and hyaline or infectious microhyphae, as well as fan shaped hyphae characteristic of the pathogen. Pigmented and lobed hyphopodia on lower leaf sheaths were formed both under natural conditions and artificial inoculations of plants. The perithecia containing asci and ascospores were found on leaf sheaths lesions on field samples. The perithecia were produced on leaf sheaths of inoculated plants as well as on detached sterilized leaf sheaths and on culture medium, potato-dextrose-agar (PDA). Hyphae and hyphopodia were formed from germination tubes of ascospores, and the hyphae under moist stress conditions produced chlamydospores which were initially hyaline and later attained dark color. The culture of Ggg, was characterized by fluffy aerial mycelium, white in the initial stages of growth and later with age, the colony color changed from dirty-white or mouse gray to almost black. The marked diagnostic colony characteristic of whorled appearance was the curling back of marginal hyphae. The amount and time of formation of perithecia varied among the isolates tested. The virulence test conducted with 20 isolates of rice and grasses, showed differences in aggressiveness both on rice seedlings and adult plants. In general, isolates from rice were more aggressive on rice than isolates from grasses. The test with four levels of inoculum (0, 5, 1.0, 2.0, 4.0 g per plant of autoclaved sorghum grains) and two plant ages showed that 60-day old were more susceptible than 35-day old plants. The spontaneous infection of healthy plants was observed in the greenhouse indicating the role of ascospores in the dissemination of black sheath rot in rice. Furthermore, the pathogenicity of ascospores of Ggg on rice plants was confirmed by inoculations tests. Six fields of upland rice were surveyed in the advanced stages of maturation for the incidence of black sheath rot. The disease incidence on tillers, under natural conditions of infection, ranged from 68 to 100%. The pathogenicity of 20 isolates retrieved from rice and grasses were studied. All isolates were pathogenic to rice and grasses such as baranyard grass (*Echinochloa crusgalli*), fountain grass (*Pennisetum setosum*) signal grass (*Brachiaria* sp), crab grass (*Digitaria horizontalis*), plantain signal grass (*Brachiaria plantaginea*), indian goose grass (*Eleusine indica*) and southern sandbur (*Cenchrus echinatus*). Winter cereals such as wheat, oat, rye, barley and triticale as well as sorghum, corn, and millet exhibited different degrees of susceptibility to the isolate Ggg-a 01. Significant differences were observed in relation to characteristic symptoms on the culm, lesion height, number of tillers or dead plants, presence of characteristic mycelium, fan shaped hyphae, production of hyphopodia and perithecia. The formation of perithecia was not observed on leaf sheaths of inoculated plants of millet, sorghum, southern sandbur and maize. All inoculated wheat plants were killed indicating more susceptibility than other cereals. The resistance of 58 upland rice genotypes were tested in the greenhouse, utilizing rice isolate Ggg-a 01. Of the genotypes assessed, the lesion height of SCIA16 and

SCIA08 was significantly shorter compared to the highly susceptible genotype CNAS10351. The progress and dissemination of black sheath rot in rice was studied during two years under field conditions in savanna *sensu lato* 'cerrado'. The central line of each plot was inoculated with isolate of Ggg to establish the infection foci. The soil was infested with four levels of inoculum (5.0, 10.0, 20.0 and 40.0 g of autoclaved sorghum grains containing mycelium / 40 cm) and main tiller of plants (4, 8, 16 and 32, tillers per plot/ 40 cm) were inoculated with 2.0 cm-long detached leaf sheaths containing perithecia by insertion between the culm and leaf sheath of the tiller. There was no significant effect of inoculum level on the disease severity obtained by soil infestation with mycelium as well as the plants infected with perithecia. However, the total area under disease progress curve was significantly smaller for plant infection with perithecia than for soil infestation by mycelium, during 2002/2003. The evaluation of disease incidence for the analysis of gradients was based on infected tillers in 1.6 square meter area, five lines on either side of the inoculated 40 cm-long central line. The analysis according models of Gregory (1968) and Kiyosawa & Shiyomi (1972) showed the existence of gradients in the first year, both for levels of inoculum of soil infection by mycelium and plant infection with perithecia. In the second year (2004/2005), there was no well defined gradient for all the treatments. The disease progress was not affected by inoculum levels on soil or plant infections. Monomolecular model was found more adequate in tests conducted under greenhouse conditions while the models of Gompertz and monomolecular, better described the disease progress under field conditions.

Key-words: Biology, pathogenicity, host-range, resistance, disease progress.

¹Adviser: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

INTRODUÇÃO GERAL

O arroz é cultivado em todos os continentes, em cerca de 120 países e o seu consumo pela população mundial é hábito inquestionável (Yokoyama et al., 1999). A maior parte da produção e consumo de arroz no mundo está localizada no continente asiático, onde basicamente é utilizado o cultivo irrigado. O sistema de sequeiro ou de terras altas é encontrado predominantemente no Brasil e, em menor escala, no continente africano. A produção de arroz no Brasil, em 2005, foi de 13,23 milhões de toneladas e a previsão para esta safra de 2006, é de 11,5 milhões de toneladas, com uma redução de 13,07% (IBGE, 2006).

Entre os principais fatores limitantes da produção ou da produtividade da cultura estão o tipo da planta, os fatores edafoclimáticos, insetos, pragas e doenças. A planta do arroz, em todas as fases de crescimento e desenvolvimento está sujeita ao ataque de doenças, que reduzem a produtividade e a qualidade de grãos. No Brasil, muitas informações sobre doenças têm sido agregadas ao longo dos anos, porém não é conhecido o número exato de moléstias causadas por patógenos que afetam o arroz, sendo a brusone (*Pyricularia grisea*), a doença mais expressiva e que provoca perdas significativas.

A doença denominada mal-do-pé em arroz, causada por *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var. *graminis*, foi identificada pela primeira vez em arroz de terras altas, no Brasil, na safra 1997/98 e posteriormente em arroz irrigado. Vem assumindo importância econômica tanto em arroz de terras altas, como irrigado, principalmente nos plantios com cultivares melhoradas (Prabhu & Filippi, 2002). As lavouras de arroz afetadas apresentam sintomas típicos da doença na base do colmo, causando rápido amadurecimento de grãos e acamamento, dependendo da época de infecção, durante o crescimento da cultura. O fungo afeta diversas gramíneas que podem constituir-se em hospedeiros secundários para a sobrevivência do patógeno (Walker, 1981; Datnoff et al. 1997; Prabhu & Filippi, 2002).

As espécies de *Gaeumannomyces* são todas parasitas de raízes, coroa e porções inferiores de colmos e bainhas de *Gramineae* e *Cyperaceae* (Walker, 1981). As variedades mais conhecidas e estudadas no mundo são *G. graminis* var. *tritici*, agente causal do mal-do-pé do trigo e cevada e *G. graminis* var. *avenae*, agente causal do mal-do-pé da aveia. As

características morfológicas que distinguem as variedades são o tamanho dos ascósporos e a forma dos hifopódios, que são órgãos de fixação e penetração encontrados nas hifas dos fungos (Walker, 1981).

Estudos de inoculações cruzadas de Ggg, entre isolados de arroz, de *Stenotaphrum secundatum* (Walter) Kuntze e *Cynodon dactylon* (L.), realizados em condições controladas, mostraram patogenicidade aos três hospedeiros. Um dos isolados de arroz causou maior severidade na base das bainhas e nas raízes das plantas de arroz inoculadas, comparado com os outros isolados, tanto de arroz quanto de outras gramíneas, indicando existência de diferenças na virulência entre isolados (Datnoff et al., 1997).

Os hospedeiros de Ggg foram pouco estudados e a ocorrência natural foi relatada em arroz e gramíneas como *Pennisetum* e *Stenotaphrum* nas condições tropicais (Walker, 1981). Testes de resistência varietal foram realizados por Prabhu & Filippi (2002) utilizando doze genótipos de arroz irrigado e o isolado de arroz (Ggg-a 01) multiplicado em grãos de milho autoclavados. Os resultados mostraram que todos os genótipos testados apresentaram reação de suscetibilidade. Não há informação em relação ao grau de resistência de genótipos de arroz de terras altas a Ggg para sua utilização como fonte de resistência no melhoramento.

A compreensão da dinâmica temporal e espacial de epidemias de doenças de plantas é imprescindível para se efetuar o manejo de epidemias, se for considerado que epidemia é o aumento da doença, numa população de plantas, em tempo e espaço (Zadocks & Schein, 1979). O modo de disseminação e o progresso de epidemia do mal-do-pé do arroz, nas condições de campo, nos solos de cerrado são desconhecidos. Estes conhecimentos são importantes e têm valor aplicado para desenvolvimento de estratégias do manejo dessa enfermidade.

Os ascósporos de Ggg podem ser liberados no ar através de mecanismos ativos de ejeção das ascas (Hornby, 1981). Observações preliminares do mal-do-pé do arroz, em condições de casa-de-vegetação, indicaram a possibilidade de disseminação do patógeno através de ascósporos. Entretanto, não há informação sobre o papel do peritécio de *G. graminis* var. *graminis* na disseminação do fungo em condições de campo.

Os objetivos deste trabalho foram estudar aspectos biológicos, patogenicidade e identificar hospedeiros de *G. graminis* var. *graminis*, bem como avaliar a resistência de genótipos de arroz ao patógeno e estudar a disseminação e progresso de mal-do-pé do arroz em plantas da cultivar Bonança, em condições de campo.

CAPÍTULO I

ASPECTOS DE BIOLOGIA E PATOGENICIDADE DE *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*

RESUMO

PEIXOTO, C.N. Aspectos de biologia e patogenicidade de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*. 2006. Cap I, 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

Foram estudadas as características morfológicas e culturais de isolados de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* provenientes de arroz e capins. O fungo se estabelece formando dois tipos de hifas: macrohifas, escuras, superficiais que se juntam lateralmente e formam cordões ou rizomorfias e microhifas, hialinas ou infecciosas, que penetram o hospedeiro. Forma também hifas em leque sobre as bainhas, a partir de macrohifas, que caracterizam o patógeno. Houve a formação de hifopódios lobados e pigmentados em bainhas, tanto em condições naturais como em inoculações. Observou-se peritécios, contendo ascas e ascósporos característicos do fungo, nas bainhas sobre as lesões, em amostras coletadas no campo. Através de inoculação artificial, foram produzidos peritécios em bainhas de plantas, em bainhas destacadas e esterilizadas e em meio de cultura sintético de batata-dextrose-ágar (BDA). Hifas e hifopódios foram formados a partir de tubos germinativos dos ascósporos e as hifas crescidas em condições de estresse, produziram clamidósporos, inicialmente hialinos e, posteriormente, de coloração escura. O micélio de Ggg, geralmente de aspecto aéreo fofo, no início do crescimento é branco, com variação de cor com a idade que vai do branco cinza ao marrom oliváceo e quase preto. Uma característica marcante é a aparência espiralada das hifas escuras, nas bordas da colônia. Entre os isolados testados houve variação na quantidade de peritécios, bem como na época de formação. Os testes de virulência, realizados com vinte isolados provenientes de arroz e capins, apresentaram diferenças em agressividade, tanto em plântulas como em plantas adultas de arroz. Em geral, os isolados provenientes de arroz foram mais agressivos em arroz que os isolados de capins. O teste com quatro níveis de inóculo (0,5, 1,0, 2,0, e 4,0 g por planta, multiplicado em grãos de sorgo autoclavados) e duas idades de plantas mostrou que as plantas inoculadas aos 60 dias após o plantio foram mais suscetíveis do que aquelas inoculadas aos 35 dias, requerendo menor nível de inóculo para a infecção. Em teste de ajuste de modelo matemático para estudos epidemiológicos, o modelo monomolecular foi o mais apropriado para estudos em condições de casa-de-vegetação. A patogenicidade de

ascósporos de Ggg em plantas de arroz foi comprovada, bem como o papel dos ascósporos na disseminação do mal-do-pé do arroz.

Palavras-chave: Mal-do-pé do arroz, características culturais e morfológicas, epidemiologia, disseminação.

¹Orientador: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

ABSTRACT

PEIXOTO, C.N. **Biology and pathogenicity of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*.** 2006. Cap I, 120 f. Thesis (Doctorate in Agronomy: Crop Sciences) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

The morphological and cultural characteristics of *G. graminis* var. *graminis* isolates from rice and grasses were studied. The fungus forms two types of mycelia, dark macrohyphae that join laterally to form runner hyphae or rhizomorphs and hyaline or infectious microhyphae, as well as fan shaped hyphae characteristic of the pathogen. Pigmented and lobed hyphopodia on lower leaf sheaths were formed both under natural conditions and artificial inoculations of plants. The perithecia containing asci and ascospores were formed on leaf sheaths lesions under field conditions. The perithecia were produced on leaf sheaths of inoculated plants as well as on detached sterilized leaf sheaths under moist conditions and on culture medium potato-dextrose-agar (PDA). Hyphae and hyphopodia were formed from germination tubes of ascospores and the hyphae under moist stress produced chlamydospores which were initially hyaline and later attained dark color. The mycelia of Ggg, was characterized by fluffy aerial mycelium, white in the initial stages of growth and with age the color ranging from dirty-white, mouse gray to almost black. The marked diagnostic colony characteristic of whorled appearance was curling back of marginal hyphae. The amount and time of formation of perithecia varied among the isolates tested. The virulence test conducted with 20 isolates of rice and grasses, on rice seedlings raised in autoclaved sand and soil and on adult plants raised in non-sterilized soil, showed differences in aggressiveness among isolates. In general, the isolates from rice were more aggressive on rice plants than the isolates from grasses. The test with four levels of inoculum (0.5, 1.0, 2.0, and 4.0 g per plant of autoclaved sorghum grains) and two plant ages showed that 60-day old plants were more susceptible than 35-day old plants. Monomolecular model was found more adequate in tests conducted under greenhouse conditions. The spontaneous infection of healthy plants was observed in the greenhouse, indicating the role of ascospores in the dissemination of black sheath rot in rice. Furthermore, the pathogenicity of ascospores of Ggg on rice plants was confirmed by inoculation tests.

Key-words: Black sheath rot, morphological and cultural features, epidemiology, dissemination.

¹Adviser: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

1 INTRODUÇÃO

A doença denominada mal-do-pé, causada pelo fungo *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx & Olivier var. *graminis*, foi identificada pela primeira vez em arroz de terras altas no Brasil na safra 1997/98 e, posteriormente, em arroz irrigado (Prabhu & Filippi, 2002). As espécies de *Gaeumannomyces* são todas parasitas de raízes, coroa e porções inferiores de colmos e bainhas de *Gramineae* e *Cyperaceae* (Walker, 1981). A variedade mais conhecida e estudada no mundo é *G. graminis* var. *tritici* agente causal do mal-do-pé do trigo ou “Take-all disease”, principal enfermidade radicular do trigo (*Triticum aestivum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.). Juntamente com *G. graminis* var. *avenae* (Turner) Dennis, agente causal do mal-do-pé da aveia (*Avena sativa* L.) e que, ocasionalmente, também infecta outras gramíneas, inclusive trigo e cevada, constituem as três variedades (Ggg, Gga e Ggt) de maior importância do gênero (Walker, 1975; Mathre, 1992). As características morfológicas, que distinguem as variedades, são o tamanho dos ascósporos e a forma dos hifopódios (Mathre, 1992), que são órgãos de fixação e penetração encontrados na hifa do fungo e são produzidos abundantemente por *Gaeumannomyces* no micélio que recobre a base do colmo das plantas infectadas ou em cultura pura *in vitro* (Walker, 1975; Walker, 1981). Ggt e Gga produzem hifopódios simples, sobre a superfície do tecido hospedeiro, enquanto Ggg produz tanto hifopódios simples como lobados, hialinos ou marrons. Quanto ao tamanho dos ascósporos, Gga possui os maiores comprimentos (65-176 µm) enquanto Ggt apresenta ascósporos de 27 a 124 µm de comprimento (Walker, 1975) e Ggg de 75 a 105 µm (Domsch et al., 1980; Walker, 1981; Datnoff et al., 1993).

O agente causal do mal-do-pé do arroz (*G. graminis* var. *graminis*), variedade tipo de *G. graminis*, tem sido relatado como *Ophiobolus oryzinus* e *Ophiobolus graminis* como sinonímia, sendo sua ocorrência observada por diversos autores em países dos continentes: África, Oceania (Austrália e Nova Guiné), América (América do Norte e do Sul), Ásia (Filipinas, Índia, Japão, Malásia, Sri Lanka), e Europa (Itália e Suécia) (Walker, 1981). O anamorfo ou fase imperfeita de *G. graminis* muitas vezes não é observado, mas envolve a produção de fialósporos e tem sido relacionado com *Phialophora* spp. Conídios do fungo

são encontrados, freqüentemente, em cultura de Ggt e nunca em tecidos hospedeiros, naturalmente infectados, sendo desconhecido o seu papel (Mathre, 1992).

Muitos isolados de Ggg são considerados patógenos fracos, causando poucos danos aos hospedeiros infectados e alguns podem até ser utilizados como agentes de controle biológico, na proteção de gramíneas e cereais, contra o ataque de Ggt e Gga (Walker, 1981). No entanto, na Suécia, Nilsson (1972) obteve isolados morfológicamente semelhantes a Ggg, provenientes de solo cultivado anteriormente com trigo, que foram patogênicos à plantas de trigo, em testes de inoculação artificial. Estudos de inoculações cruzadas de Ggg, entre isolados de arroz, de *Stenotaphrum secundatum* (Walter) Kuntze e *Cynodon dactylon* (L.), realizados em condições controladas, mostraram patogenicidade aos três hospedeiros. Um dos isolados de arroz causou maior severidade na base das bainhas e nas raízes das plantas de arroz inoculadas, comparado com os outros isolados, tanto de arroz quanto de gramíneas, indicando existência de diferenças na patogenicidade entre isolados (Datnoff et al., 1997).

A sobrevivência saprofítica de algumas espécies de *Gaeumannomyces*, provavelmente ocorra através de micélio dormente ou estruturas de repouso (Garret, 1972). Em Ggt, como a produção de esporos é rara, tanto de origem sexual como assexual, a partir de micélio em hospedeiro infectado ou na matéria orgânica do solo, é sugerido que a sobrevivência possa ocorrer através de estruturas perenes de resistência, tais como esclerócios (Shipton, 1981). Hornby (1981) relata o desenvolvimento de clamidósporo e microesclerócios de Ggt *in vitro* após adição de 5 a 10% de ácido clorídrico ao meio de cultura, embora não haja informação da ocorrência destas estruturas, na natureza. Não há relatos, na literatura, sobre o modo de sobrevivência de Ggg, através de estruturas de resistência.

Os ascósporos de Ggg podem ser liberados no ar, através de mecanismos ativos de ejeção das ascas. No campo, é necessário 0,25 mm de chuva para a liberação de ascósporos (Gregory & Stedman, 1958). Em estudos realizados em trigo com Ggt, embora tendo mostrado a presença de ascósporos no ar, a significância epidemiológica não foi determinada. Gerlagh (1968), Prew (1977) e Thomas et al. (2004) consideraram pouco importante a infecção de trigo, através de ascósporos de Ggt e que os ascósporos não apresentavam papel significativo na disseminação do fungo, em condições de campo. Ao contrário, o aumento de mal-do-pé em trigo e cevada no sul da Inglaterra, foi atribuído à infecção por ascósporos, por Shipton (1972).

Gerlagh (1968) também relatou infecção espontânea em plantas saudas de trigo, em casa-de-vegetação, atribuída à infecção causada por ascósporos.

Observações preliminares do mal-do-pé do arroz, em condições de casa-de-vegetação, indicaram a possibilidade de disseminação do patógeno através de ascósporos. Entretanto, não há informação sobre o papel dos ascósporos, liberados por peritécios de Ggg, na disseminação do fungo.

No presente trabalho são relatados aspectos biológicos e de patogenicidade de Ggg, agente causal do mal-do-pé do arroz.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ORIGEM E OBTENÇÃO DE ISOLADOS

Os isolados foram obtidos, a partir de colmos de arroz e de outras gramíneas infectadas, apresentando sintomas característicos da doença, procedentes de diferentes lavouras e locais (Tabela 01). Também foram utilizados, na presente investigação, isolados da micoteca do laboratório de fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, conservados em papel de filtro esterilizado em freezer (-25°C).

Para obtenção do isolado em cultura pura, os colmos afetados foram lavados com água e sabão, para eliminar terra e estruturas de outros organismos, cortados em porções de até cinco centímetros e secos com papel toalha. A seguir foram transferidos para uma placa de Petri, contendo papel de filtro sobre uma pequena camada de algodão, esterilizados e umedecidos. A câmara úmida foi mantida no laboratório para incubação, com o objetivo de estimular a formação de peritécios e liberação de ascósporos do patógeno.

Também foi realizado isolamento convencional em meio de cultura, através de fragmentos de tecido infectado, além de multiplicação em folhas ou bainhas de arroz autoclavadas, para assegurar a obtenção de peritécios e, conseqüentemente, garantir o isolamento do fungo em cultura pura. Após o aparecimento, os ascósporos foram transferidos e espalhados no meio de cultura sintético BDA e submetidos à incubação, observando-se o início da formação de colônias monospóricas de ascósporos, que foram multiplicadas e mantidas em cultura pura nos tubos de ensaio e placas de Petri com BDA, e também conservadas em papel de filtro à temperatura de -25°C.

Quando os peritécios estavam presentes, a liberação de ascósporos ocorreu de forma mais rápida, facilitando o isolamento. Porém, quando não havia a presença de peritécios nos colmos afetados, estes colmos foram deixados em câmara úmida por mais tempo, até a sua formação e liberação dos ascósporos, haja vista a dificuldade de isolamento constatada a partir de micélio ou tecidos lesionados.

Tabela 1 – Identificação de isolados de *G. graminis* var. *graminis*, provenientes de diferentes locais e hospedeiros

Código	Descrição do isolado
¹ Ggg-a 01	Proveniente de infecção natural no campo em lavouras de arroz em Humaitá (AM), coletado na safra 1997/1998, também denominado anteriormente de Gg 002.
² Ggg-c 18	Amostra de capim colchão miúdo (<i>Digitaria horizontalis</i> Willd.), coletada nos campos experimentais da Embrapa Arroz e Feijão, em 2003.
² Ggg-c 20	Isolado de capim colônia (<i>Panicum maximum</i> Jacq.), coletado em campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, em 2003.
¹ Ggg-a 21	Proveniente de arroz inoculado nos canteiros da Embrapa Arroz e Feijão com isolado Ggg-a 01, e reisolado em 2003.
² Ggg-c 28	Amostra de capim colchão miúdo (<i>Digitaria horizontalis</i> Willd.), coletada nos canteiros da Embrapa Arroz e Feijão, em 2003.
¹ Ggg-a 30	Proveniente de infecção natural no campo em lavouras de arroz “Canastra” coletado na lavoura do COEP, Santo Antonio/GO, em 2003.
¹ Ggg-a 31	Isolado proveniente de arroz, infecção natural em casa-de-vegetação do Programa de Melhoramento, Embrapa Arroz e Feijão, em 2003.
¹ Ggg-a 32	Isolado proveniente de infecção natural no campo em lavouras de arroz “Colosso” coletado em Paraúna/GO, em 10/02/2005.
² Ggg-c 33	Isolado de capim coloninho (<i>Panicum</i> sp.), coletado nos canteiros da Embrapa Arroz e Feijão, em 23/02/2005. Metade da cultura com <i>Phialophora</i> sp.
² Ggg-c 34	Isolado de capim marmelada (<i>Brachiaria</i> sp.) coletado nos canteiros da Embrapa Arroz e Feijão, em 23/02/2005.
² Ggg-c 36	Isolado de capim coloninho (<i>Panicum</i> sp.), coletado nos canteiros da Embrapa Arroz e Feijão, em 23/02/2005. Metade da colônia com <i>G. graminis</i> var. <i>graminis</i> .
¹ Ggg-a 37	Reisolado de plantas de arroz do cultivar Bonança, inoculadas com o isolado Ggg-a 01, proveniente de experimento de campo (epidemiologia), instalado no pivô II, da Embrapa Arroz e Feijão, em 29/04/2005.
¹ Ggg-a 38	Isolado proveniente de arroz irrigado, cultivado na Faz. Palmital da Embrapa Arroz e Feijão, em 11/04/2005.
¹ Ggg-a 39	Isolado proveniente de infecção natural em campo em lavouras de arroz (campos experimentais da Embrapa Arroz e Feijão), anteriormente denominado Santos-1, de propriedade da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, monospórico em 05/09/2003.
¹ Ggg-a 40	Isolado proveniente de lavoura de arroz “Biguá”, infecção natural em Flores/GO, de propriedade da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão.
¹ Ggg-a 41	Isolado proveniente de lavoura de arroz “Epagri”, infecção natural em Formoso/TO, de propriedade da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, monospórico realizado em 05/09/2003.
¹ Ggg-a 42	Isolado proveniente de lavoura de arroz “Metica”, infecção natural em Formoso/TO, de propriedade da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, monospórico realizado em 05/09/2003.
¹ Ggg-a 43	Isolado proveniente de lavoura de arroz, denominado “Unai”, infecção natural em Unai/MG, de propriedade da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, monospórico realizado em 05/09/2003.
¹ Ggg-a 44	Isolado proveniente de lavoura de arroz “Maravilha”, infecção natural em Paraúna/GO, de propriedade da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, monospórico realizado em 05/09/2003.
¹ Ggg-a 45	Isolado proveniente de lavoura de arroz irrigado “Palmital”, infecção natural na Faz. Palmital, de propriedade da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Arroz e Feijão, monospórico realizado em 2003.

¹Ggg-a = Isolado proveniente de arroz;

²Ggg-c = Isolado proveniente de capim.

Ggg-c 33 e Ggg-c 36 – São isolados provenientes da mesma amostra, onde a cultura apresentou um setor na placa com *Phialophora* sp e outro com *G. graminis* var. *graminis*.

A identificação e seleção dos isolados de Ggg para testes de patogenicidade foram feitas com base na observação do micélio característico, produção de hifopódios lobados em bainhas de arroz e de peritécios com ascas e ascósporos com as características morfológicas de Ggg descritas por Walker (1975).

2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E CULTURAIS DE *G. graminis* var. *graminis*

Para determinar as características morfológicas e culturais de *G. graminis* var. *graminis* observou-se plantas doentes provenientes de infecção natural do campo, plantas inoculadas em casa-de-vegetação, bainhas inoculadas no laboratório e crescimento de isolados em meios de cultura sintéticos ou naturais, como folhas autoclavadas e bainhas desinfestadas superficialmente.

Com auxílio de lupa e microscópio, estudou-se as estruturas típicas do patógeno, nos materiais infectados antes do isolamento. O isolamento foi efetuado, conforme metodologia descrita anteriormente (item 2.1) e a partir das culturas puras obtidas foram testados meios de culturas sintéticos e substratos para produção de peritécios. Para este organismo os peritécios são as estruturas-chave para a identificação do patógeno e para inoculações artificiais. Foram utilizados os meios de cultura BDA e ágar simples e como substratos, folhas, colmos e bainhas de gramíneas e cereais (trigo, milho, milheto, sorgo, braquiária e arroz) autoclavados ou desinfestados superficialmente, com álcool 70% e hipoclorito de sódio 0,83% (uma parte de hipoclorito a 2,5% para três partes de água destilada). Foi selecionado o meio mais eficiente na produção de peritécios, de maior facilidade e precocidade. Os isolados foram multiplicados em bainhas de arroz desinfestadas superficialmente e incubadas em condições de câmara úmida, em Placa de Petri, e em meio sintético de BDA.

As bainhas de arroz foram cortadas em fragmentos de aproximadamente sete centímetros, desinfestadas superficialmente com álcool 70%, hipoclorito 0,83% e lavadas duas vezes com água estéril. Em seguida, incubadas em câmara úmida e inoculadas com discos de meio de cultura sintético, contendo estruturas de cada isolado. Da mesma forma, placas de Petri, contendo BDA, foram inoculadas com dois discos de meio de cultura, contendo

estruturas do patógeno de cada isolado, para comparação do crescimento micelial e produção de peritécios. Após a inoculação, as placas foram mantidas no laboratório, nas condições de temperatura ambiente (média de 25°C) e luminosidade (12 horas luz branca/12 horas escuro) e observadas quanto ao seu desenvolvimento, coloração e formação de peritécios, por noventa dias.

A origem dos ascósporos, para o estudo de germinação foi de peritécios do isolado Ggg-a 01, produzidos em bainhas de arroz desinfestadas superficialmente. Os ascósporos foram retirados com auxílio de um estilete e transferidos para um tubo de ensaio com água estéril. Seis gotas desta suspensão foram colocadas sobre lâmina de vidro escavada e sobre uma camada de parafilme, também sobre lâmina de vidro. As lâminas com suspensões de ascósporos foram acondicionadas em câmara úmida e incubadas a 25°C.

Durante a incubação, as avaliações foram feitas a cada duas horas por doze horas, vinte e 42 horas após. O acompanhamento foi feito até a completa formação de clamidósporos escuros, quatorze dias após a inoculação.

2.3 TESTES DE VIRULÊNCIA EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

2.3.1 Virulência em plântulas de arroz, de isolados de *G. graminis* var. *graminis* inoculados em solo e areia

Para os testes de virulência, foram utilizados os isolados do patógeno, provenientes de diferentes locais no Brasil, conservados em papel de filtro e a cultivar de arroz de terras altas, Bonança.

Objetivando-se estudar a virulência e agressividade de vinte isolados monospóricos de Ggg, foram infestados dois tipos de substratos previamente autoclavados, em condições de casa-de-vegetação. O plantio das sementes de arroz, como planta hospedeira, foi realizado após quinze dias de incubação.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições. Utilizou-se os dois tipos de substratos, solo e areia, e vinte isolados do patógeno, mais testemunha sem inoculação. Os substratos foram acondicionados em vasos de alumínio com capacidade para um quilograma e a seguir autoclavados.

A infestação do substrato autoclavado foi realizada, incorporando-se o inóculo previamente multiplicado em grãos de sorgo autoclavados (5 g/vaso), a uma profundidade aproximada de um centímetro. Para incubação do inóculo, os vasos contendo os substratos foram umedecidos, cobertos com papel alumínio e colocados sobre uma bandeja de zinco, contendo uma lâmina de água, durante quinze dias. Em seguida, cada vaso recebeu semeadura de quarenta sementes de arroz da cultivar Bonança. As plantas, em desenvolvimento, foram mantidas sob condições de alta umidade.

Quinze dias após a semeadura, observou-se o número de plantas germinadas. Dentre estas, foram retiradas vinte plantas ao acaso, para avaliação da severidade da doença, conforme escala de notas: **0** = plantas com ausência de sintomas visíveis, **1** = plantas infectadas com sintoma de lesão escura, apenas na folha cotiledonar ou coleóptilo, **3** = plantas infectadas e com lesão escura, até a primeira folha ou plúmula e **5** = plantas infectadas com lesão escura, acima da primeira folha (Figura 1) e da medição da altura de lesão no colmo das plantas.

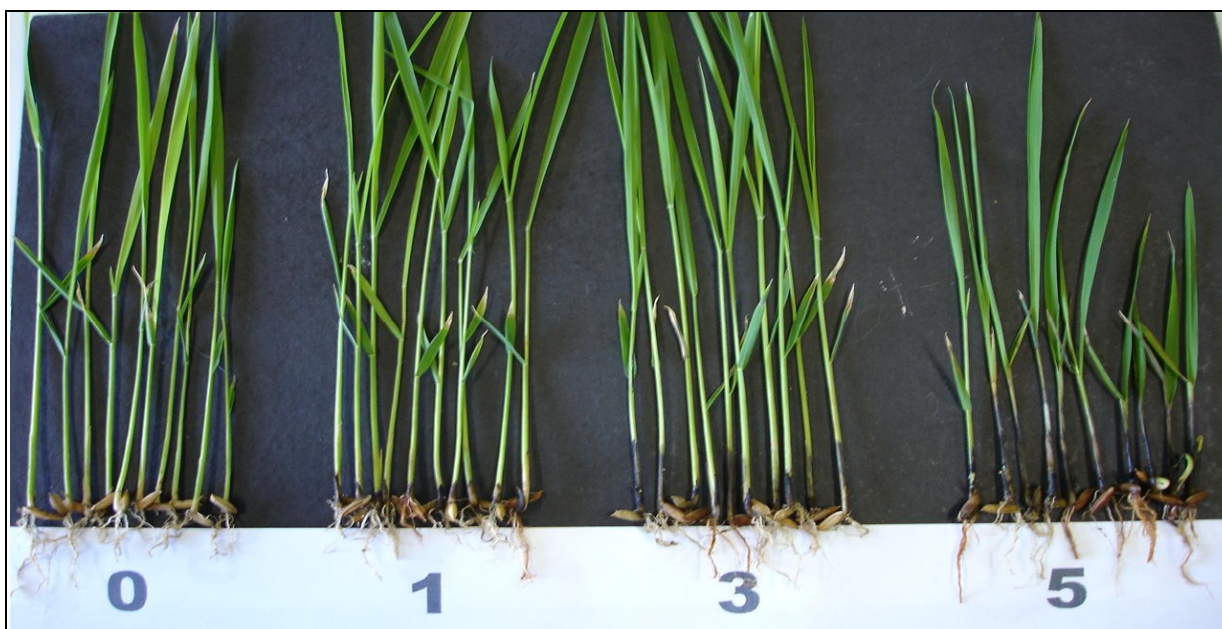


Figura 1 – Escala de notas para avaliação de severidade de mal-do-pé em plântulas de arroz, inoculadas com isolados de *G. graminis* var. *graminis*, em casa-de-vegetação.

Os dados de severidade da doença foram utilizados para calcular o Índice de Doença, pela fórmula: $ID = \Sigma (\text{grau da escala} \times \text{frequência}) / \text{número total de plântulas avaliadas}$.

Foram mantidas dez plantas, por vaso, para avaliação final da infecção, aos 33 dias de idade, através da medida da altura de lesão em centímetros e da classificação das plantas, conforme a mesma escala visual mencionada.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e correlação e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3.2. Virulência de isolados de *G. graminis* var. *graminis* em plantas adultas de duas cultivares de arroz

Foram utilizados cinco isolados do patógeno, provenientes de lavouras de arroz de diferentes locais no Brasil e as cultivares de arroz de terras, altas Bonança e Primavera.

O experimento foi conduzido, em condições de casa-de-vegetação e o delineamento utilizado foi de blocos completos casualizados, com parcelas subdivididas e quatro repetições, em que as parcelas foram constituídas pelas cultivares de arroz e as subparcelas pelos cinco isolados.

Foram utilizados vasos de alumínio, contendo dois quilogramas de solo natural retirado de mata, adubado com NPK+Zinco e uma planta. A inoculação foi realizada em plantas de 58 dias de idade, utilizando-se inóculo multiplicado em grãos de sorgo autoclavados e previamente colonizados com os isolados. O inóculo (5 g/vaso) foi colocado na superfície do solo ao redor da base das plantas. Os vasos foram mantidos, durante todo experimento, sob condições de alta umidade (acima de 90% de umidade relativa).

A avaliação da severidade, caracterizada pela altura relativa de lesão no colmo em relação à altura máxima do perfilho, foi feita em três perfilhos, previamente marcados e foi iniciada oito dias após a inoculação. A partir daí foram feitas seis avaliações, cada quatro ou cinco dias, durante 31 dias. A avaliação final foi realizada 57 dias após a inoculação, quando os perfilhos marcados foram colhidos na altura do solo, medidos sua altura total e a altura da infecção. Em seguida, foram identificados, acondicionados e levados ao laboratório, para quantificação do número de peritécios. No laboratório, as bainhas foram retiradas e colocadas

sobre lâminas de vidro, para a contagem dos peritécios. Um molde vazado, com área de meio centímetro quadrado, foi colocado sobre as bainhas, para limitar o campo de contagem. Foram feitas leituras em cinco campos por perfilho.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e de correlação e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3.3 Efeito de níveis de inóculo de *G. graminis* var. *graminis* e idade de plantas de arroz sobre a severidade de mal-do-pé

Foi estudado o efeito de níveis de inóculo de Ggg na produção de doença, em condições de casa-de-vegetação. Foi cultivada uma planta de arroz/vaso, em vasos de alumínio, com capacidade para dois quilogramas de solo. Os tratamentos consistiram de quatro níveis diferentes de inóculo (0,5, 1,0, 2,0 e 4,0 gramas de grãos de sorgo por vaso, previamente autoclavados e colonizados com o isolado Ggg-a 01), mais testemunhas não inoculadas (quatro vasos com uma planta cada um) e duas idades diferentes de plantas de arroz da cultivar Bonança. O inóculo foi colocado na superfície do solo, ao redor da base da planta, aos 35 e 60 dias, após o plantio. As plantas foram mantidas, em condições de alta umidade (acima de 90% de umidade relativa).

Foi utilizado delineamento experimental, inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida, com idade das plantas nas parcelas e quantidades de inóculo nas subparcelas e quatro repetições. A primeira avaliação foi feita 12 dias, após inoculação e daí a cada cinco dias, por mais cinco avaliações, até 39 dias após a inoculação.

Avaliou-se, nas quatro repetições, o progresso da doença, nas plantas inoculadas, baseando-se na média do percentual de severidade, a qual é expressa pela altura relativa de lesão, em dois perfilhos por planta, em relação à altura máxima do perfilho.

Curvas de progresso da doença foram plotadas, utilizando-se os valores observados da severidade em função do tempo. Os dados originais de severidade de doença (Y) foram ajustados pelos modelos logístico, monomolecular e Gompertz e a seguir plotados em gráficos, tendo os dias após a inoculação (DAI), como variável independente, seguindo a metodologia descrita por Jesus Junior et al. (2004). O melhor ajuste, ou o modelo apropriado para descrever o progresso de mal-do-pé, nas condições testadas, foi selecionado com base no

maior valor do coeficiente de determinação ajustado (R^{*2}), menor valor do quadrado médio dos resíduos e gráfico dos resíduos, sem tendências e com os valores mais próximos do eixo X, bem como na forma da curva do Y observado e Y estimado, pelos modelos, em função do tempo. Após a seleção do modelo que proporcionou melhor ajuste aos dados observados, foi descrita a equação para cada idade de plantas, através da análise de regressão linear, entre o Y observado (y) e Y estimado, pelo modelo selecionado ($\hat{Y}$).

2.3.4 Agressividade de isolados de *G. graminis* var. *graminis*, provenientes de arroz e capins, em plantas de arroz

Os isolados utilizados foram os mesmos do experimento 2.3.1, coletados em lavouras de diferentes locais no Brasil e testados em plantas de arroz da cultivar de terras altas, Bonança.

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, utilizando-se os vinte isolados monospóricos de Ggg, obtidos a partir de ascósporos, mais uma testemunha sem inoculação. Foram estudadas a patogenicidade e agressividade dos diferentes isolados, através de inoculação das plantas de arroz da cultivar Bonança, aos 49 dias de idade.

As plantas de arroz foram cultivadas, em vasos de alumínio, com capacidade para dois quilogramas de solo e utilizado solo de mata adubado com NPK+Zinco, como substrato. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e mantidas quatro plantas por vaso.

A inoculação foi realizada com cada um dos isolados, utilizando-se o método de inoculação padronizado. O inóculo (5 g/vaso), multiplicado em grãos de sorgo autoclavados e previamente colonizados com os isolados, foi colocado na superfície do solo, ao redor da base das plantas, que foram mantidas durante todo experimento em condições de alta umidade (acima de 90% de umidade relativa).

A avaliação foi realizada, aos 14 e 35 dias após a inoculação das plantas, com os diferentes isolados, medindo-se a altura de infecção. Na última avaliação, também mediu-se a altura das plantas e realizou-se a classificação, conforme escala visual: **0** = ausência de sintomas, **1** = lesão escura de até 5 cm de altura, **3** = lesão escura de 5 a 10 cm de altura, **5** = lesão escura de mais de 10 cm de altura e **7** = plantas mortas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

2.3.5. Patogenicidade de ascósporos de *G. graminis* var. *graminis* em plantas adultas de arroz

Foi estudada a patogenicidade de ascósporos de Ggg em plantas de arroz, através da inoculação artificial, utilizando-se suspensão de ascósporos de diferentes isolados, nas condições de casa-de-vegetação. Foram utilizadas plantas de arroz, da cultivar Bonança, com setenta dias de idade e dez isolados selecionados do patógeno (Ggg-a 01, Ggg-c 18, Ggg-c 28, Ggg-a 30, Ggg-a 31, Ggg-a 32, Ggg-a 37, Ggg-a 43, Ggg-a 44 e Ggg-a 45).

O delineamento foi inteiramente casualizado e os tratamentos consistiram de 10 isolados de Ggg, mais uma testemunha sem inoculação, com três repetições.

Os ascósporos foram obtidos de peritécios produzidos em laboratório, em isolados transferidos para pedaços de bainha de arroz, desinfestadas superficialmente, sobre papel de filtro umedecido e acondicionado em placas de Petri. A menor concentração obtida, referente ao isolado Ggg-c 18, definiu a concentração adotada para o experimento, sendo de $1,2 \times 10^4$ ascósporos por mililitro de suspensão.

Para o preparo da suspensão de ascósporos, a massa de ascósporos ejetada dos peritécios das bainhas foi transferida para tubos de ensaio, contendo água estéril, com auxílio de um estilete fino. A concentração foi ajustada para $1,2 \times 10^4$ ascósporos/ml, utilizando-se a câmara de Neubauer.

A inoculação foi feita, colocando-se gotas de um mililitro da suspensão nas duas ou três bainhas mais velhas da planta. As plantas foram desbastadas, deixando-se apenas o perfilho principal e suas folhas e bainhas verdes para facilitar a observação dos sintomas. Após a inoculação, os vasos com as plantas foram acondicionados em gaiolas de plástico sobre bandejas com filme de água e mantidos em casa-de-vegetação, com irrigação por aspersão, para manutenção da umidade relativa elevada e proporcionar incubação e germinação dos ascósporos.

A avaliação foi efetuada, através da observação das plantas e o registro dos sintomas nas bainhas inoculadas.

2.3.6. Infecção de plantas de arroz com ascósporos de *G. graminis* var. *graminis* liberados de peritécios em casa-de-vegetação

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, com o objetivo de constatar a disseminação do fungo, através de ascósporos liberados pelos peritécios, presentes em soca de plantas infectadas.

Utilizou-se o delineamento experimental, inteiramente casualizado, com três tratamentos (distâncias da fonte de inóculo) e três repetições. A fonte de inóculo foi constituída de uma fileira de vasos, com socas de arroz infectadas com mal-do-pé e contendo peritécios do patógeno. O inóculo, constituído de peritécios presentes na soca de arroz, foi obtido através de plantas de arroz inoculadas com grãos de sorgo, previamente autoclavados e colonizados com Ggg (isolado Ggg-a 01), conforme metodologia adotada e descrita anteriormente e cultivadas em vasos plásticos, com capacidade para sete quilogramas de solo. Após infecção e produção de peritécios, as plantas foram podadas, deixando-se apenas os colmos, a uma altura de aproximadamente 35 centímetros. Os vasos, assim infectados, foram dispostos em fileira, no centro da bandeja, contendo uma lâmina de água, enquanto os vasos com as plantas sadias da cultivar Bonança, de 35 dias de idade, foram acondicionados de ambos os lados da fonte de inóculo, constituindo as distâncias de 12,5, 40,0 e 67,5 centímetros da fonte.

A avaliação foi feita por observações diárias e anotações semanais de plantas infectadas, através de sintomas ou sinais característicos da doença nos colmos e a marcação em diagrama de ocorrência. A partir dos dados originais, mapeados nos diagramas, foram confeccionados mapas, representando o progresso, a disseminação e distribuição espacial da doença, na parcela experimental.

Durante o experimento foi mantida umidade acima de 90%, utilizando umidificador (mist blower).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E CULTURAIS DE *G. graminis* var. *graminis*

3.1.1 Crescimento e características do micélio

O fungo estabelece-se, através do crescimento de hifas, na base das bainhas dos colmos da planta hospedeira, em contato com o solo. O micélio de Ggg forma uma rede de coloração marrom, com hifas septadas de paredes espessas e escuras, caracterizadas como macrohifas ou “runner hyphae” (Figura 2 a), comumente crescendo juntas, fundidas lateralmente, formando cordões de micélio ou rizomorfias, na superfície do hospedeiro, podendo ser observadas a olho nu (Figura 2 b). Um outro tipo de hifa foi encontrado dentro do tecido hospedeiro, a qual é infecciosa e hialina, com parede celular mais fina, caracterizada como microhifa ou hifa infecciosa (Figura 2 a). O ápice das macrohifas ou macrohifas jovens é hialino a levemente marrom, com paredes finas, que se tornam espessas e marrom escuras, com o passar do tempo. Ao contrário de Ggt, o micélio não é facilmente observado nas raízes e nos pelos radiculares. No entanto, em plântulas de arroz, provenientes de solo artificialmente inoculado com Ggg, incubadas em rolo de papel germiteste por cinco dias, foi observado, com auxílio de uma lupa, a presença de micélio escuro, característico do patógeno, em raízes próximas à coroa (Figura 2 c).

Em condições naturais de infecção no campo, em lavouras de terras altas, foi observada a presença de micélio escuro, em bainhas de plantas adultas de arroz, até aproximadamente quinze centímetros de altura, sendo a maior concentração encontrada até dez centímetros da superfície do solo. Nas plantas, em que as bainhas apresentam sintomas com lesão escura, geralmente as primeiras ou mais externas dos colmos principais e de perfilhos, na maioria dos casos, resultam em secamento ou morte de folhas. Neste caso, o micélio também é comumente observado na face interna das bainhas e dos colmos, com a freqüente formação de hifas em leque (Figura 2 d), facilmente visualizadas.

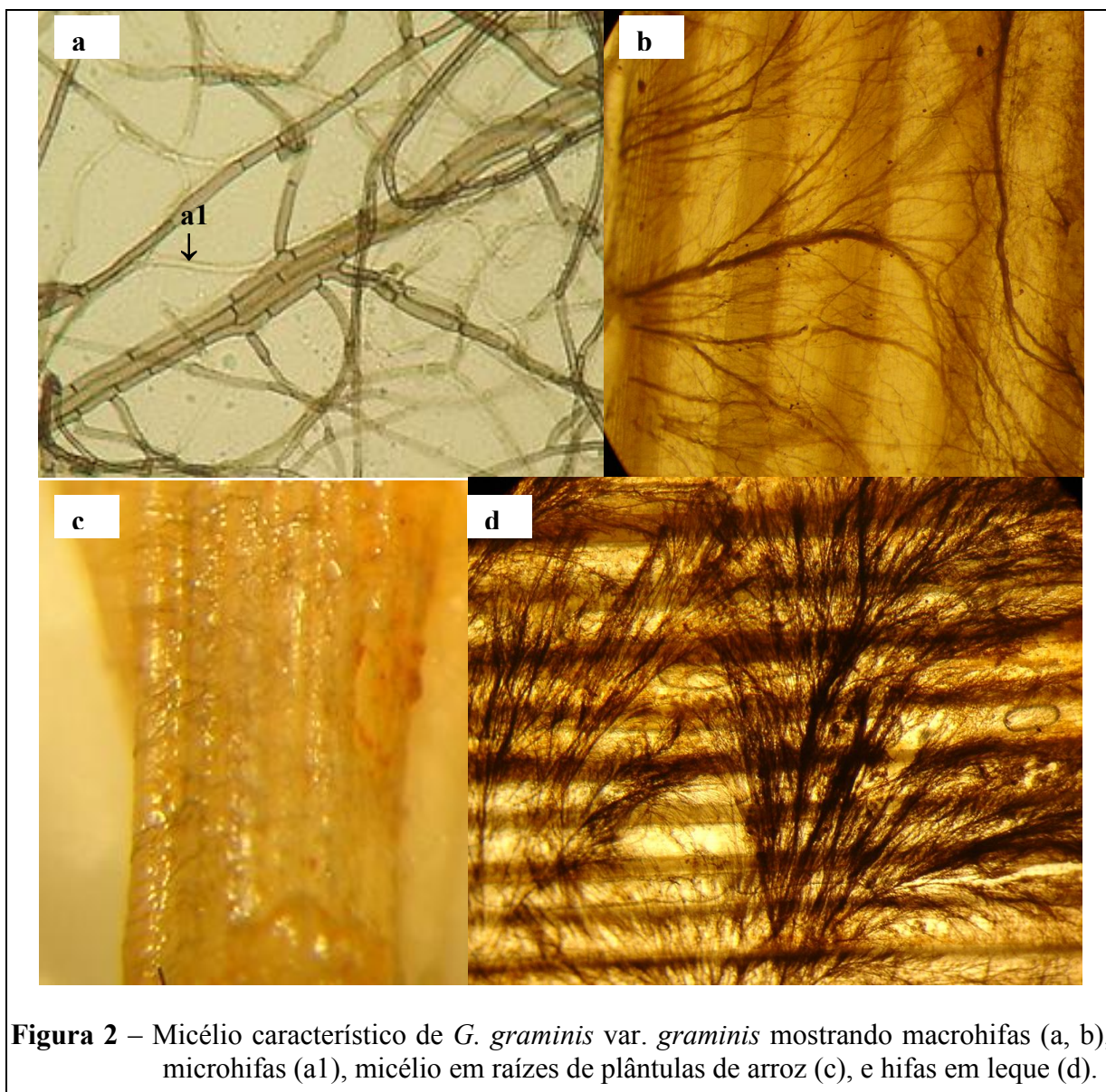


Figura 2 – Micélio característico de *G. graminis* var. *graminis* mostrando macrohifas (a, b), microhifas (a1), micélio em raízes de plântulas de arroz (c), e hifas em leque (d).

3.1.2 Formação de hifopódios

Os hifopódios de Ggg são marrons, lobados ou simples, terminais ou em ramificações de micélio. São estruturas formadas apenas em tecidos hospedeiros vivos (Deacon, 1974). Em condições naturais de infecção, foi observada a formação de hifopódios, na superfície de bainhas de arroz, que apresentaram formato irregular, variando de fraco ou

fortemente lobados, característicos de *Ggg*, localizados nas ramificações laterais e nas extremidades das hifas (Figura 3 a, b).

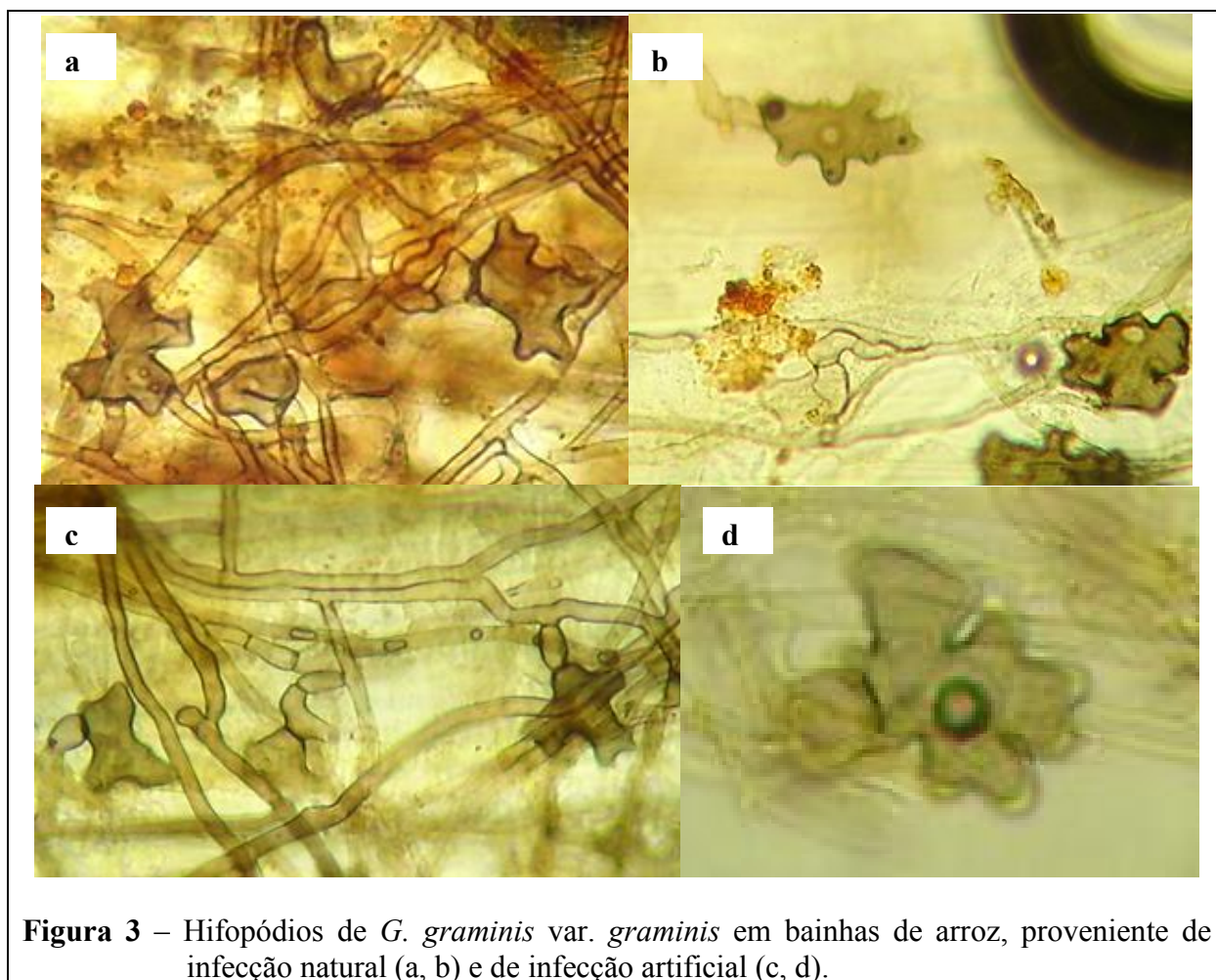


Figura 3 – Hifopódios de *G. graminis* var. *graminis* em bainhas de arroz, proveniente de infecção natural (a, b) e de infecção artificial (c, d).

Tanto nas bainhas de plantas inoculadas em casa-de-vegetação (Figura 3 c, d), como em bainhas desinfestadas superficialmente e incubadas em câmara úmida, ocorreu a formação de hifopódios. Em laboratório, foi observada a formação de hifopódios, entre 24 e 48 horas, após a incubação de bainhas de arroz desinfestadas.

A formação de dois tipos de hifopódios, com base no tamanho e coloração, foi relatada por Walker (1981). O primeiro tipo caracterizado por coloração marrom, formato lobado e terminal nas ramificações laterais, com tamanhos variáveis de 15-35 x 10-25 μm . O outro tipo foi caracterizado por coloração marrom pálida ou quase hialina, simples ou não

lobado, terminal ou intercalar, com tamanho variando de 7-15 x 4-10 μm . Durante o crescimento de um mesmo isolado, a proporção de hifopódios simples e lobados produzidos pode variar, bem como a quantidade de lobos formados, o formato e enfim a habilidade para formação destas estruturas (Walker, 1981).

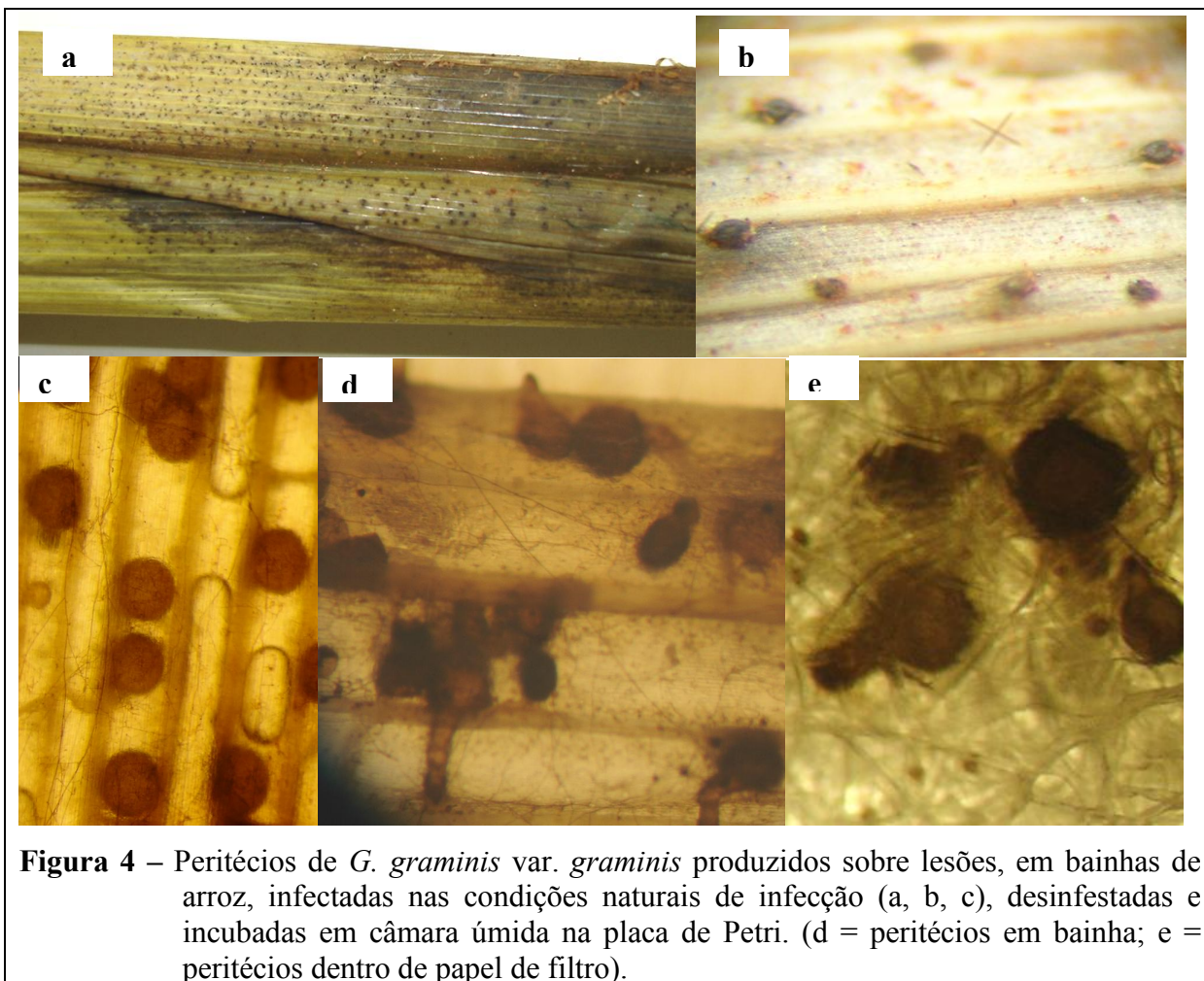
No presente trabalho, observou-se a produção de apenas um tipo de hifopódio lobado, tanto em meio de cultura sintético, quanto em bainhas de arroz em condições naturais e inoculadas. Os hifopódios, na fase inicial, são hialinos e posteriormente apresentam coloração pigmentada, bem como tamanho e formato variáveis. Não foram observados hifopódios simples, sem lobos, em bainhas de arroz, em condições naturais ou artificiais de infecção, nem em meio de cultura.

3.1.3 Formação de peritécios e ascósporos

Foi observada a formação de peritécios, tanto em condições naturais de infecção, como em condições artificiais de inoculação. Normalmente, os peritécios são produzidos de forma agrupada, sobre as lesões das bainhas, na base dos colmos das plantas de arroz, até cerca de quinze centímetros de altura (Figura 4 a), tanto em infecções naturais de campo, como em condições controladas. Crescem imersos nas bainhas externas dos colmos, com os ostíolos voltados para a superfície, normalmente expondo-se, quando ocorria o rompimento da epiderme (Figura 4 b, c). Datnoff et al. (1993) observou em bainhas de arroz irrigado, a formação de muitos peritécios, escuros e com pescoços distintos de Ggg, imersos no tecido lesionado, especialmente próximos da folha bandeira. Os autores referem-se aos sintomas de mal-do-pé, que iniciam-se nas bainhas de arroz, acima da linha da água. Da mesma forma, também foi observado, no presente trabalho, que tanto os sintomas, quanto a produção de peritécios foram visualizados nas bainhas, em posição mais altas nos colmos, acima da linha da água, em plantas provenientes de lavoura irrigada. Este fato evidencia, que a importância do mal-do-pé do arroz para os cultivos irrigados não é a mesma, comparado aos de terras altas.

Há relatos, na literatura, sobre a formação de peritécios por isolados altamente virulentos de Gg, tanto em meio de cultura, quanto no tecido hospedeiro, mas não por aqueles que foram considerados patógenos fracos (Chambers & Flentje, 1967a, 1967b), embora a

relação entre virulência e esporulação em cultura, ainda não tenha sido explicada (Cunningham, 1981).



Na inoculação de bainhas de arroz desinfestadas, sobre papel de filtro em câmara úmida, os peritécios formados, em geral, são superficiais e podem ser facilmente removidos com estilete (Figura 4 d). A formação de peritécios ocorreu de forma aleatória, em toda a extensão da bainha, diferente da formação agrupada em cima das lesões, nas condições naturais de infecção. O fungo cresce, além das bainhas inoculadas, espalhando-se pelo papel de filtro, inclusive com a produção de peritécios, dentro do papel, na placa (Figura 4 e).

Os peritécios apresentam tamanho variado, formato globoso a ovalado, produzidos dentro do tecido das bainhas do hospedeiro (Figura 5 a). Apresenta pescoço também de

tamanho variável, tanto em cultura, quanto em condições naturais. Neste trabalho, observou-se a produção de peritécios, em bainhas de arroz desinfestadas, em condições de laboratório, doze dias após a inoculação e foram observadas ascas e ascósporos maduros cinco dias após, portanto, aos dezessete dias após a inoculação.

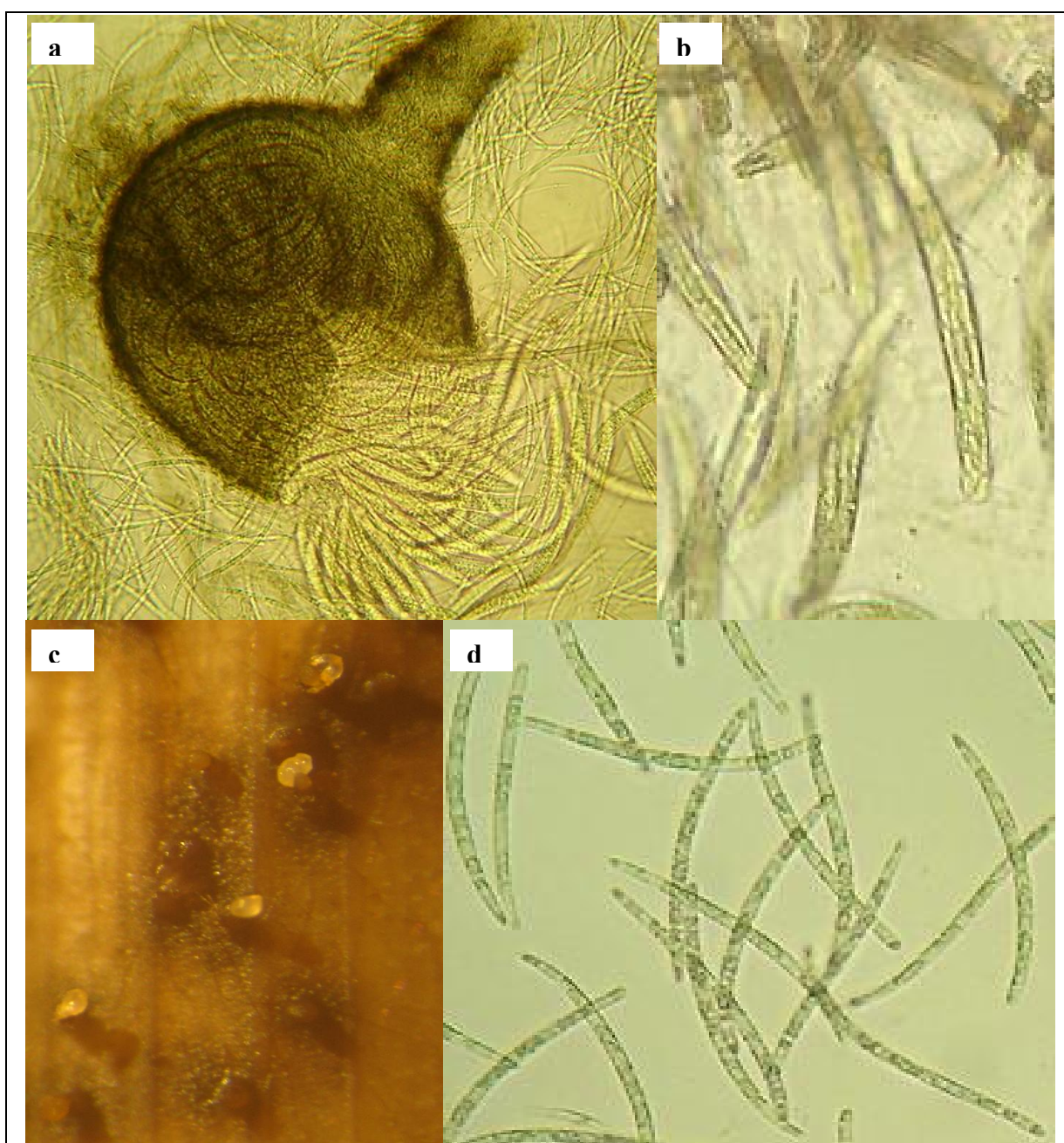


Figura 5 –Peritécio (a), ascas (b), massa de ascósporos, sendo ejetada de peritécios (c) e ascósporos (d) de *G. graminis* var. *graminis*.

As ascas são hialinas (Figura 5 b), unitunicadas, alongadas e clavadas, contendo oito ascósporos e apresentando um anel apical. Os ascósporos liberados em massa de coloração branca ou amarelada (Figura 5 c), são hialinos ou fracamente coloridos, vacuolados, septados (3 a 5 septos), curvados ou levemente sinuosos com as extremidades arredondadas e mais largos no meio, apresentando as dimensões de 70 a 105 x 2,3 a 3,3 μm (Figura 5 d). No entanto, há referência de que o tamanho dos ascósporos e a septação são apresentados como indicativo de maturidade (Cunningham, 1981). Os ascósporos são produzidos, abundantemente, por Ggg.

3.1.4 Germinação de ascósporos

A germinação dos ascósporos de Ggg, em água e a 25°C, iniciou-se doze horas após o preparo da suspensão e indução, porém há relatos que a germinação pode ocorrer de 2 a 10 horas (Samuel, 1923) a dois ou três dias, após (Cunningham, 1981). Em Ggt, os ascósporos são sensíveis a condições ambientais de temperatura e pH, sendo que a melhor condição para a germinação ocorre, entre uma temperatura de 20 a 25 °C e pH em torno de 7,0 (Cunningham, 1981; Kirby, 1925), porém é inibida em meio ácido (Guyot, 1925).

Neste trabalho, observou-se a formação de tubos germinativos a partir das células das extremidades dos ascósporos, da mesma forma observada em ascósporos de Ggt por Davis (1925). A formação de hifas e hifopódios, a partir do tubo germinativo de ascósporos, ocorreu quando a suspensão foi colocada sobre uma superfície (lâmina escavada e camada de parafilme sobre lâmina de vidro) (Figura 6 a, b), diferente de quando a suspensão foi mantida em tubos de ensaio, quando houve apenas a formação de micélio, comprovando o papel dos hifopódios na fixação e penetração nos hospedeiros, conforme relata Walker (1981).

Após a formação dos tubos germinativos, hifopódios e micélio, o material foi mantido em câmara úmida, porém sem a água da suspensão, caracterizando uma situação de estresse. Observou-se crescimento do micélio e engrossamento das hifas (Figura 6 c), evoluindo para a formação de clamidósporos (Figura 6 d, e), estruturas unicelulares compostas de material granuloso (reserva alimentar), com posterior liquefação da parede celular das hifas. Situações de estresse também podem induzir a formação de características incomuns em

Ggt (Nilsson, 1972), tais como a formação de microesclerócios e clamidósporos, em meio de cultura, quando houve adição de ácido clorídrico (Sivasithamparam & Parker, 1976). Observou-se, no presente trabalho, que os clamidósporos são hialinos no início de sua formação (Figura 6 d) e posteriormente se tornam pigmentados (Figura 6 e). Possivelmente, os clamidósporos de Ggg também sejam estruturas de resistência utilizadas para a sobrevivência do fungo, no solo e em restos culturais. Esta possibilidade explica a dificuldade de reisolamento do fungo, em solos infestados.

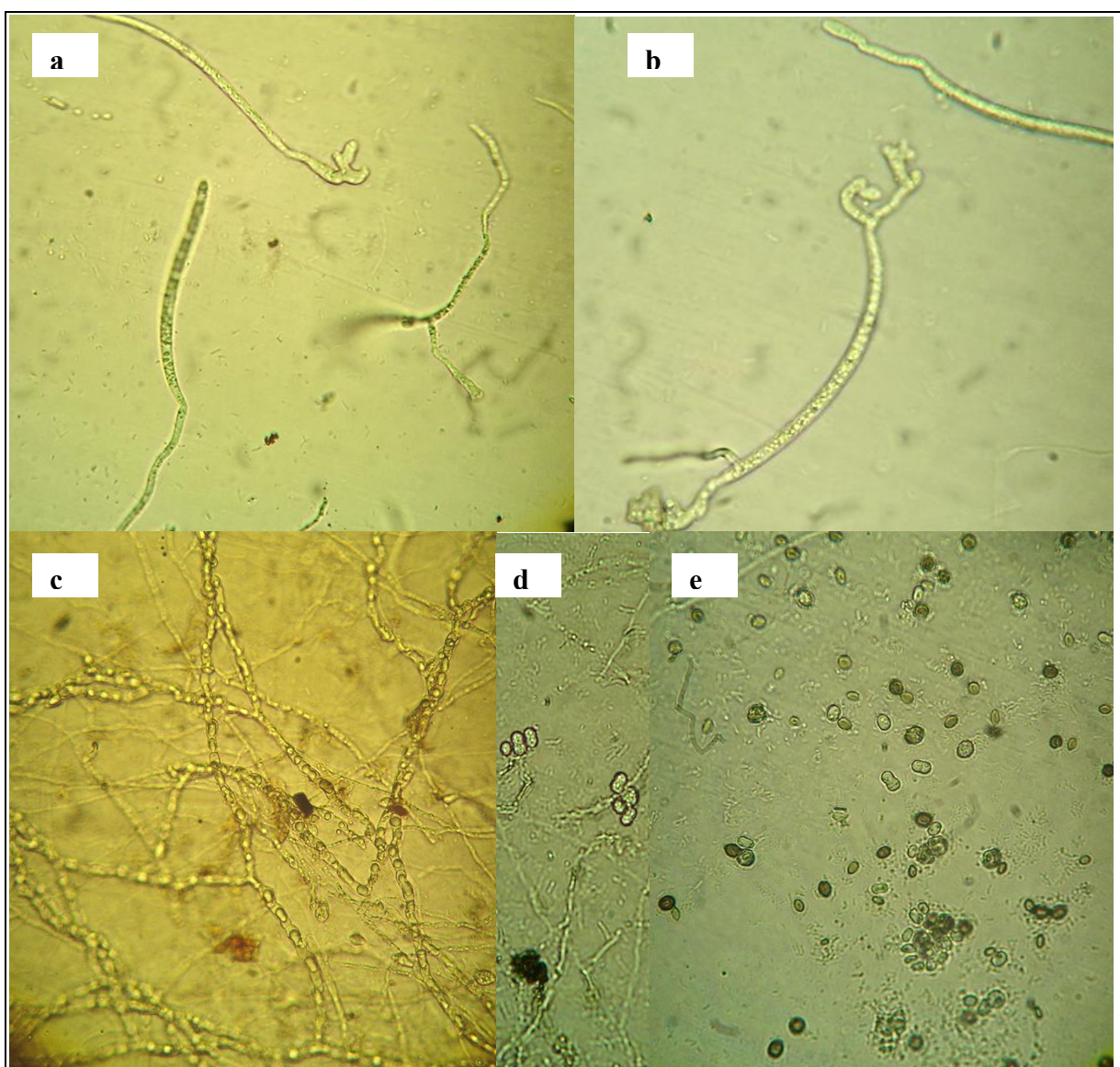


Figura 6 – Germinação de ascósporos de *G. graminis* var. *graminis* (a, b) e formação de hifopódio (b) e clamidósporos (c, d, e).

3.1.5 Características culturais

O crescimento e características miceliais de isolados de Ggg (vinte isolados) foram observados em meio de cultura BDA. Não houve diferenças marcantes no crescimento e tipo da colônia (Figura 7 a, c), apresentando apenas leves diferenças de coloração da colônia, no início do crescimento.

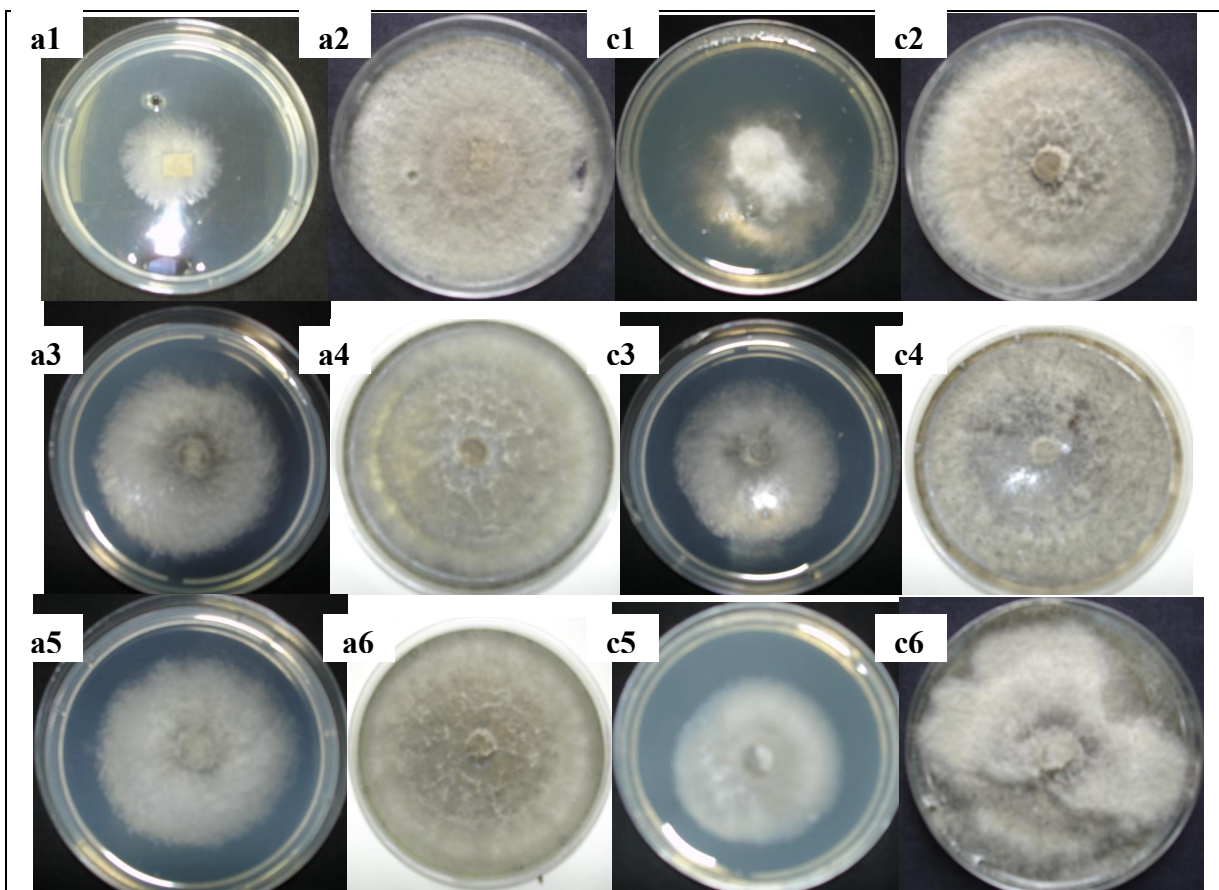


Figura 7 – Características culturais de *G. graminis* var. *graminis* em meio de cultura BDA. Isolados provenientes de arroz (a) e de capins (c) com 4 e 8 dias de idade; Isolados: Ggg-a 01 (a1, a2), Ggg-a 43 (a3, a4), Ggg-a 37 (a5, a6), Ggg-c 20 (c1, c2), Ggg-c 28 (c3, c4) e Ggg-c 18 (c5, c6).

Cunningham (1981) ressalta, que todas as três variedades de Gg possuem características comuns de colônia e estas características são inadequadas para a diferenciação entre Gga, Ggt e Ggg. Segundo Butler (1961), a característica mais marcante da cultura é a aparência espiralada ou ondulada das hifas nas bordas da colônia, devido à tendência de

encaracolamento das extremidades das hifas. O crescimento micelial, em BDA, no início da colônia é branco (Figura 7 a1, a3, a5, c1, c3, c5), escurecendo a seguir com a idade (Figura 7 a2, a4, a6, c2, c4, c6). O aspecto da cultura é de micélio aéreo fofo ou cotonoso, com variação de cor, que vai do branco cinza ao marrom oliváceo e quase preto, composto de hifas escuras e septadas e hifas hialinas. Depois de o fungo completar o diâmetro da placa de Petri, continua avançando pelas bordas, até na tampa da placa, sendo que em alguns casos avança para fora das bordas, em visíveis cordões ou rizomorfos formados pelo ajuntamento paralelo de hifas.

3.1.5.1 Produção de peritécios em meio de cultura

Observou-se, na maioria dos isolados, a produção de peritécios agrupados, imersos em uma matriz gelatinosa ou tufos de micélio fino e hialino, que em conjunto se apresentava geralmente de coloração branca ou bem mais clara que a do micélio de Ggg e com alto relevo (Figura 8 a). Em alguns isolados, como o Ggg-c 28, a produção dos peritécios ocorreu espalhada sobre o meio de cultura (Figura 8 b). Na maioria dos isolados, os peritécios apresentaram pescoço muito longo (Figura 8 c), emergindo dos tufos no meio BDA.

Os resultados em relação à produção de peritécios de vinte isolados de Ggg em meio sintético BDA, noventa dias após o plaqueamento, mostraram que o isolado Ggg-c 28, proveniente do capim digitaria ou colchão miúdo (*Digitaria horizontalis*) e Ggg-a 37, proveniente de arroz, destacaram-se devido a maior produção de peritécios, em relação aos demais isolados.

O início de formação de peritécios ocorreu em torno de sessenta dias após a inoculação do meio de cultura, havendo diferenças entre isolados, razão pela qual, na data da avaliação, alguns isolados que produziram os peritécios mais cedo, já os apresentavam vazios e murchos (Figura 8 d). Os peritécios, ascas e ascósporos apresentaram as características de Ggg, descritas por Walker (1981). Há relatos quanto ao crescimento micelial de Ggt em diversos meios de cultura sintéticos, mas a formação de peritécios ocorreu em poucos destes meios (Kirby, 1922, 1925). No entanto, como nos fungos homotáticos, a formação de peritécios parece ser um problema fisiológico, dependente apenas de condições ambientais (Hornby, 1981). Provavelmente a resposta para a formação destas estruturas esteja na

combinação de fatores ambientais, como a luz, relatada por Davis (1925), que a considera um fator essencial na formação de peritécios. Entre outros métodos relatados para induzir a formação de peritécios de *Ggt*, em meio de cultura, encontra-se a utilização de outros microrganismos, como bactérias (Lemaire et al., 1966), uso de herbicidas (Nilsson, 1973), exposição da colônia à radiação com comprimento de onda próxima à da ultravioleta (Leach, 1962) e meios de cultura especiais (Weste & Thrower, 1963).

Apenas os isolados Ggg-a 38, Ggg-c 33 e Ggg-c 36 não produziram peritécios no meio de cultura BDA.

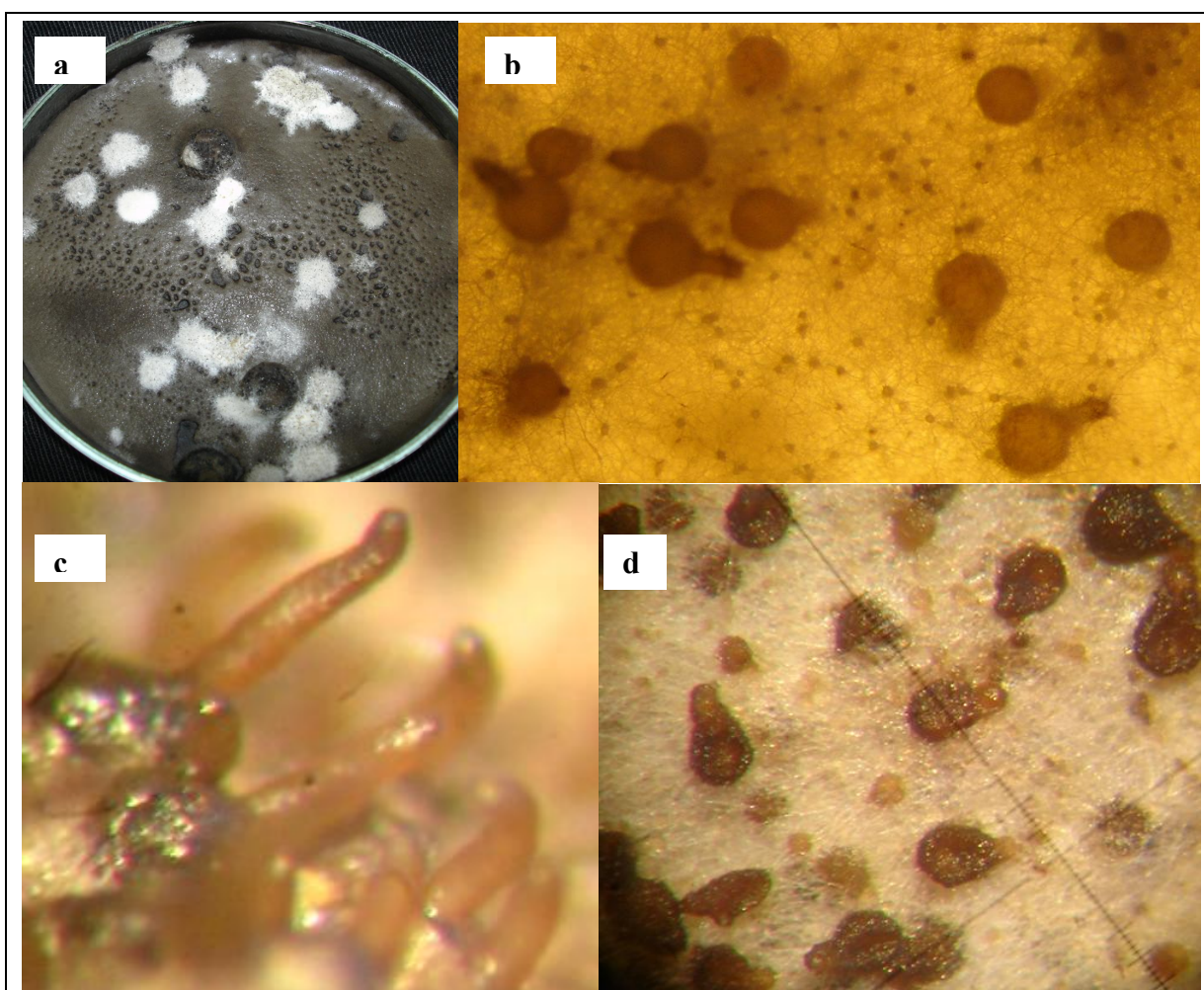


Figura 8 – Colônia de *G. graminis* var. *graminis*, aos 90 dias de idade, mostrando a formação de peritécios sobre os tufos brancos (a); peritécios do isolado proveniente de capim (Ggg-c 28) em meio de cultura sintético BDA (b); peritécios murchos (d); peritécios com pescoços longos (c) apresentados pela maioria dos isolados.

3.1.6 Ocorrência da fase imperfeita de *G. graminis* var. *graminis*

Constatou-se micélio e estruturas típicas de *Phialophora* sp., fase imperfeita de Ggg, nos isolados monospóricos de ascósporos de Ggg-a 21 e Ggg-c 36, quando cultivados em meio de cultura BDA. Conídios são encontrados, freqüentemente, em cultura de Ggt e nunca em tecidos hospedeiros, naturalmente infectados (Mathre, 1992). Durante o presente trabalho, foi observada, apenas uma vez, ocorrência natural de *Phialophora* sp. em amostras provenientes das gramíneas estudadas, apesar de relatos afirmarem, que espécies de *Phialophora* podem invadir raízes de gramíneas e causar sintomas similares aos de mal-do-pé, embora menos severos (Clarkson & Polley, 1981).

O gênero *Phialophora* possui teleomorfos ou fase perfeita em *Pyrenopeziza* Fuckel, *Mollisia* (FR.) Karst., *Ascocoryne* Groves & Wilson, *Coniochaeta* (Sacc.) Massee e *Gaeumannomyces* Arx & Olivier (Domsch et al., 1980).

Em isolamento realizado a partir de capim coloninho (*Panicum* sp.), com sintomas de Ggg, a colônia apresentou um setor nitidamente diferenciado, sendo metade característico de Ggg e a outra metade com micélio rosado (Figura 9 a) e intensa esporulação. As duas colônias foram repicadas e purificadas (Figura 9 a1, a2), identificadas como isolados Ggg-c 33 (a1) e Ggg-c 36 (a2) e reservadas para testes de patogenicidade em plântulas e em plantas adultas de arroz.

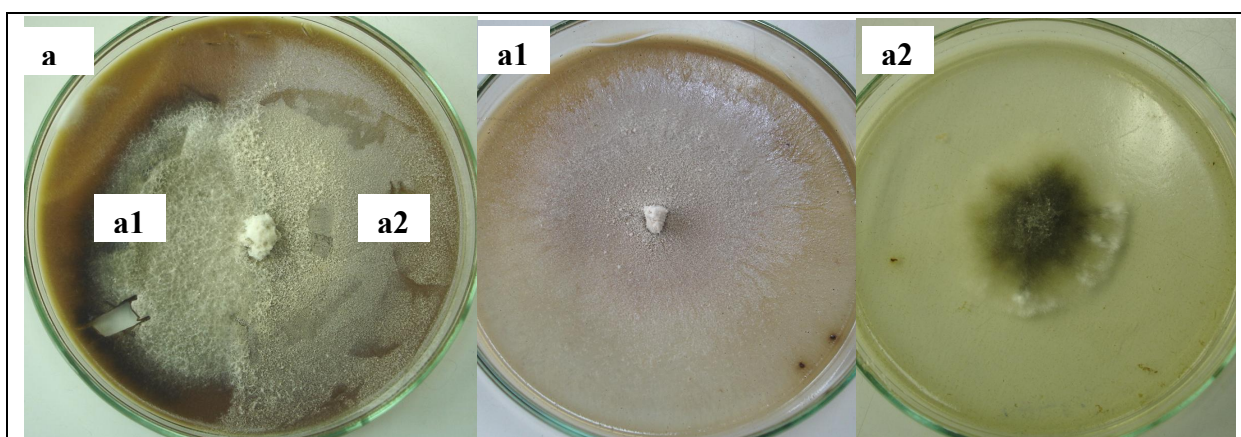


Figura 9 – Colônia com setores de micélio (a1 e a2) em meio de cultura sintético BDA; características culturais de *Phialophora* sp (a1) e de *G. graminis* var. *graminis* (a2).

As características culturais e o exame microscópico do isolado Ggg-c 33 mostraram características morfológicas típicas de *Phialophora* sp., com hifas subhialinas, conidióforos curtos ou reduzidos a fiálides simples ou ramificadas (Figura 10 a,b) e conídios (fialósporos) subhialinos, unicelulares, globosos ou ovóides (Figura 10 a), de acordo com a descrição de Barnett & Hunter (1998). As características de produção de fiálides e fialósporos podem variar de um isolado para outro, assim como as três variedades de *G. graminis* não podem ser distinguidas pelos seus estádios imperfeitos de *Phialophora* (Walker, 1981).



Figura 10 – Estruturas de *Phialophora* sp. em meio de cultura BDA, isolado Ggg-c 33; hifas e conídios (a); fiálides (b).

Observou-se que ambos os isolados apresentaram resultados de fraca virulência a arroz. O isolado Ggg-c 33 de *Phialophora* sp. apresentou sintomas de infecção em plântulas de arroz, quando o substrato foi inoculado e incubado, no vaso coberto com papel alumínio, antes do plantio das sementes. Em plantas adultas inoculadas, com o fungo multiplicado em grãos de sorgo, provocou lesões escuras de zero a 2,25 cm de altura. Tanto em plantas infectadas, como em bainhas inoculadas com esse isolado no laboratório não foram observadas nem a formação de hifopódios nem peritécios, tampouco em meio de cultura BDA. Da mesma maneira, em estudos realizados por Deacon (1973, 1974), com coleções de isolados de *Phialophora* spp., não foram observados peritécios em meio de cultura.

São necessários trabalhos mais detalhados para investigar o papel de *Phialophora* sp. no ciclo de vida de Ggg e na perpetuação da doença mal-do-pé do arroz.

3.2 TESTES DE VIRULÊNCIA EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

3.2.1. Virulência em plântulas de arroz, de isolados de *G. graminis* var. *graminis* inoculados em solo e areia

Houve uma diferença na porcentagem de germinação de arroz, quando inoculado com os vinte isolados diferentes, tanto em areia como em solo. Com exceção do isolado Ggg-a 37, nenhum isolado diferiu da testemunha sem inoculação (Tabela 2).

Tabela 2 – Severidade de mal-do-pé em plântulas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolados de *G. graminis* var. *graminis* em dois substratos, em casa-de-vegetação

Isolado	15 dias após o plantio				33 dias após o plantio			
	Areia		Solo		Areia		Solo	
	*ID ¹	Germ (%)	*ID ¹	Germ (%)	**AL ²	**ID ¹	**AL ²	**ID ¹
Ggg a 32	5,000 ^a	88,333 ^{abcde}	2,667 ^{bcdefg}	95,833 ^a	4,627 ^{ab}	5,000 ^a	5,103 ^a	5,000 ^a
Ggg a 31	4,933 ^a	84,167 ^{abcde}	4,933 ^a	84,167 ^{ab}	4,577 ^{ab}	4,700 ^{ab}	4,407 ^{ab}	5,000 ^a
Ggg a 43	4,900 ^a	81,667 ^{abcde}	2,100 ^{cdefghi}	90,000 ^{ab}	5,813 ^{ab}	5,000 ^a	4,513 ^{ab}	5,000 ^a
Ggg a 44	4,867 ^a	86,667 ^{abcde}	3,350 ^{abcde}	92,500 ^{ab}	4,717 ^{ab}	5,000 ^a	4,667 ^{ab}	5,000 ^a
Ggg a 45	4,600 ^{ab}	81,667 ^{abcde}	3,367 ^{abcd}	90,833 ^{ab}	5,750 ^{ab}	5,000 ^a	4,933 ^a	5,000 ^a
Ggg a 39	4,533 ^{ab}	77,167 ^{bcde}	1,767 ^{defghij}	89,167 ^{ab}	3,583 ^b	4,733 ^{ab}	4,943 ^a	5,000 ^a
Ggg a 37	4,263 ^{ab}	73,333 ^c	3,767 ^{ab}	89,167 ^{ab}	5,730 ^{ab}	5,000 ^a	4,527 ^{ab}	5,000 ^a
Ggg a 30	4,000 ^{abc}	80,000 ^{abcde}	3,633 ^{abc}	93,333 ^{ab}	5,787 ^{ab}	5,000 ^a	4,407 ^{ab}	5,000 ^a
Ggg a 21	3,570 ^{abcd}	82,500 ^{abcde}	2,317 ^{bdefgh}	91,667 ^{ab}	3,837 ^{ab}	4,667 ^{ab}	4,733 ^{ab}	5,000 ^a
Ggg a 01	3,563 ^{abcd}	79,167 ^{bcde}	3,167 ^{bcd}	89,167 ^{ab}	5,960 ^a	5,000 ^a	4,803 ^{ab}	5,000 ^a
Ggg c 18	3,083 ^{bcde}	81,667 ^{abcde}	0,977 ^{hijk}	76,667 ^b	2,740 ^{bc}	4,267 ^{ab}	2,857 ^b	4,867 ^{ab}
Ggg a 42	2,517 ^{cdef}	85,833 ^{abcde}	1,183 ^{ghijk}	95,000 ^a	2,780 ^{bc}	4,633 ^{ab}	3,637 ^{ab}	4,867 ^{ab}
Ggg a 41	2,133 ^{defg}	80,833 ^{abcde}	1,700 ^{efghij}	94,167 ^a	2,993 ^{bc}	5,000 ^a	2,092 ^b	4,744 ^{ab}
Ggg a 40	1,817 ^{efgh}	94,167 ^{ab}	1,533 ^{ghijk}	81,667 ^{ab}	2,151 ^{bc}	3,579 ^b	2,740 ^b	5,000 ^a
Ggg c 28	1,050 ^{fghi}	91,667 ^{abc}	1,083 ^{ghijk}	93,333 ^{ab}	0,923 ^c	1,900 ^c	1,487 ^b	2,833 ^b
Ggg c 36	1,050 ^{fghi}	79,167 ^{bcde}	0,617 ^{ijk}	83,333 ^{ab}	0,363 ^c	0,633 ^c	1,460 ^b	1,600 ^b
Ggg c 33	0,967 ^{fghi}	95,833 ^a	1,200 ^{ghijk}	95,000 ^a	0,433 ^c	0,800 ^c	1,167 ^b	1,833 ^b
Ggg c 20	0,800 ^{ghi}	88,333 ^{abcde}	0,317 ^{jk}	93,333 ^{ab}	0,983 ^c	1,867 ^c	0,960 ^b	1,467 ^b
Ggg a 38	0,650 ^{ghi}	88,333 ^{abcde}	0,517 ^{ijk}	91,667 ^{ab}	0,727 ^c	1,667 ^c	1,093 ^b	1,833 ^b
Ggg c 34	0,560 ^{hi}	75,000 ^{de}	0,700 ^{hijk}	90,000 ^{ab}	0,613 ^c	1,367 ^c	0,813 ^b	1,733 ^b
Testemunha	0,000 ⁱ	90,000 ^{abcd}	0,000 ^k	91,667 ^{ab}	0,000 ^c	0,000 ^c	0,000 ^c	0,000 ^c
Teste de F	37,07**	4,23**	19,10**	2,33**	28,44**	62,28**	22,71**	37,63**
C.V. (%)	17,82	6,06	27,35	6,20	22,36	11,11	20,22	12,36

¹ – ID-Índice de Doença, estabelecido pela fórmula: ID=Σ(grau da escala x frequência observada)/número total de plântulas.

² – AL-Altura de Lesão escura e característica da doença, em centímetros; ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F; *ID¹ = Cada número representa a média de três repetições e cada repetição foi constituída da média das observações de 20 plantas; Em **AL e **ID cada número representa a média de três repetições, constituídas por 10 plantas cada;

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p ≤ 5%).

O índice de doença (ID), aos quinze dias após o plantio, variou de 0,56 a 5,0 em areia e de 0,31 a 4,93 em solo. Os resultados foram mais marcantes nas avaliações feitas aos 33 dias após o plantio. Os isolados apresentaram diferenças significativas no índice de doença e altura de lesão, tanto em areia, como em solo.

Houve correlação positiva e altamente significativa entre a altura de lesão e o índice de doença, tanto em areia ($r=0,874$; $p\leq 0,01$), como em solo ($r=0,847$; $p\leq 0,01$). Não houve correlação entre o índice de doença e a germinação, indicando que a doença não afetou a germinação das sementes.

Os isolados de arroz apresentaram, com poucas exceções, valores altos de índice de doença, tanto em areia, como em solo, em relação aos isolados provenientes de capins.

3.2.2. Virulência de isolados de *G. graminis* var. *graminis* em plantas adultas de duas cultivares de arroz

Os resultados do teste de virulência, utilizando cinco isolados de Ggg e duas cultivares de arroz, Primavera e Bonança, mostraram diferenças altamente significativas entre isolados, em relação à altura relativa de lesão para a cultivar Primavera e altamente significativas, quanto ao número de peritécios produzidos nas bainhas para a cultivar Bonança (Tabela 4).

Não houve correlação significativa entre a severidade, representada pela altura relativa de lesão nos colmos das plantas, e a produção de peritécios.

3.2.3. Efeitos de níveis de inóculo de *G. graminis* var. *graminis* e idade de plantas de arroz sobre a severidade de mal-do-pé

Houve diferenças significativas entre os quatro níveis de inóculo e entre as diferentes idades de plantas inoculadas. Não houve interação significativa, entre dose e idade de plantas. O nível de inóculo 4,0 g diferiu significativamente, em relação à severidade média de mal-do-pé, nas plantas das duas idades, sendo que não houve diferenças entre os outros níveis (Tabela 5).

Tabela 3 – Severidade de mal-do-pé e produção de peritécios de isolados de *G. graminis* var. *graminis*, em plantas adultas de duas cultivares de arroz, inoculadas aos 58 dias de idade, em casa-de-vegetação

Cultivar	Isolado	ARL ¹	Peritécios (número/0,5cm ²) ²
Bonança	Ggg-a 43	0,454	42,194 ^{ab}
	Ggg-a 01	0,452	61,757 ^a
	Ggg-a 40	0,435	60,128 ^a
	Ggg-a 39	0,471	55,483 ^{ab}
	Ggg-a 44	0,453	28,417 ^b
Média		0,453	49,596
Teste de F		0,23 ^{ns}	4,30**
C.V. (%)		19,90	47,55
Primavera	Ggg-a 43	0,510 ^{ab}	36,74
	Ggg-a 01	0,577 ^a	37,99
	Ggg-a 40	0,384 ^b	39,64
	Ggg-a 39	0,445 ^{ab}	41,75
	Ggg-a 44	0,433 ^b	38,70
Média		0,470	38,96
Teste de F		4,64**	0,07 ^{ns}
C.V. (%)		25,88	63,84

ARL – Proporção da altura relativa de lesão, considerando altura total do perfilho;

^{ns} – Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F;

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F;

¹Cada número representa a média de quatro repetições e cada repetição foi constituída da média das observações de três perfilhos;

²Cada número representa a média de quatro repetições e cada repetição foi constituída da média das observações de três perfilhos, com cinco campos cada um;

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 5\%$).

Estes resultados indicaram que é necessário um nível de inóculo superior a 1,0 g de grãos de sorgo colonizados com o patógeno, quando inoculados na base da planta, na superfície do solo, em condições de casa-de-vegetação.

A severidade média das plantas inoculadas, aos sessenta dias (21,45), foi significativamente maior do que nas plantas inoculadas aos 35 dias de idade (13,72).

Tabela 4 – Efeito de níveis de inóculo de *G. graminis* var. *graminis* e idade de plantas de arroz sobre a severidade de mal-do-pé, em condições artificiais de inoculação

Nível de inóculo ¹ (g)	Severidade de mal-do-pé ² (26 DAI ³)
0,5	15,725 ^a
1,0	16,875 ^{ab}
2,0	17,606 ^{ab}
4,0	20,125 ^b
C.V. (%)	13,26

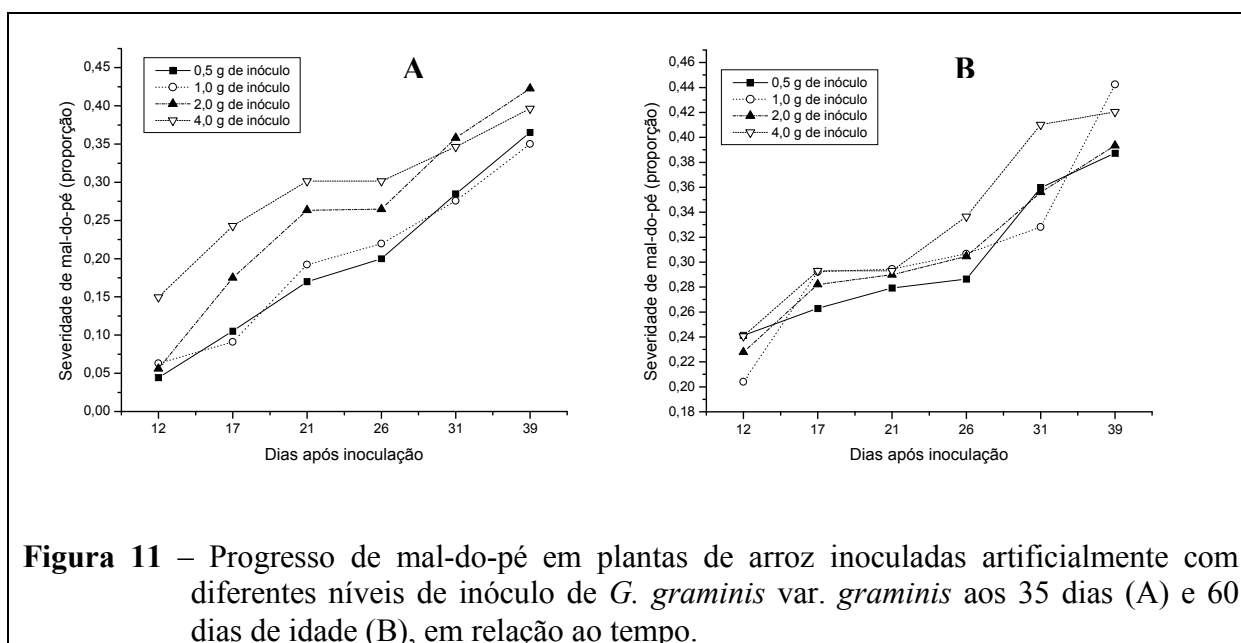
Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 5\%$);

¹O inóculo foi multiplicado em grãos de sorgo autoclavados;

²Severidade baseada na altura de lesão em relação a altura total do perfilho; As médias são provenientes de quatro repetições e duas idades de plantas (35 e 60 dias após o plantio);

³DAI – Dias após inoculação.

A proporção do mal-do-pé aumentou em todos os níveis testados em relação ao tempo nas duas idades de plantas (Figura 11 A, B), sendo este aumento maior nos níveis elevados (2,0 e 4,0 g), em comparação aos níveis mais baixos (0,5 e 1,0 g), nas plantas de menor idade (35 DAP). Nas plantas mais velhas (60 DAP), não houve diferença entre os níveis de inóculo quanto ao progresso da doença. Estes resultados indicaram que o grau de suscetibilidade ao mal-do-pé, do arroz, é maior em plantas adultas, por necessitarem de menor nível de inóculo para a infecção.



As proporções da doença, observadas e estimadas pelos modelos testados, são apresentadas na Figura 12 A e B. Verificou-se que, nas plantas de maior idade, a diferença entre os dados observados e estimados foi menor com o modelo monomolecular do que nos modelos logístico e Gompertz (Figura 12 B). Os ajustes não foram semelhantes nas plantas de 35 dias de idade, provavelmente devido a menor suscetibilidade destas plantas.

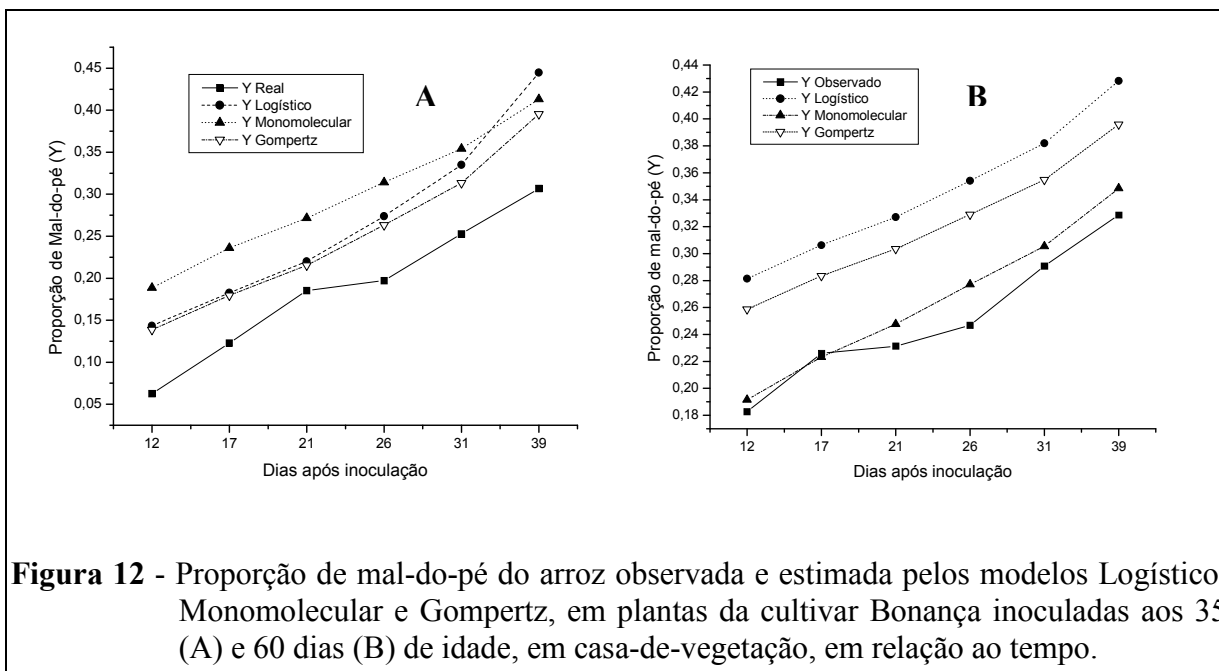


Figura 12 - Proporção de mal-do-pé do arroz observada e estimada pelos modelos Logístico, Monomolecular e Gompertz, em plantas da cultivar Bonança inoculadas aos 35 (A) e 60 dias (B) de idade, em casa-de-vegetação, em relação ao tempo.

O modelo monomolecular foi escolhido, com base no maior coeficiente de determinação (R^2), menor quadrado médio do resíduo (QMR) (Tabela 5) e análise da curva de proporção de doença observada e estimada, em cada modelo testado. O modelo escolhido poderá ser empregado para o estudo epidemiológico de mal-do-pé do arroz, nas condições de casa-de-vegetação.

As equações descritas pelo modelo monomolecular, onde $\hat{Y}$ = severidade estimada pelo modelo e y = severidade observada, para as duas idades de plantas, são:

$$1 \text{ (35 DAP)} \hat{Y} = 0,146 + 0,88 y$$

$$2 \text{ (60 DAP)} \hat{Y} = 0,048 + 1,35 y$$

Tabela 5 - Coeficientes de determinação múltiplo (R) e ajustado (R^{*2}), erro padrão e quadrado médio dos desvios obtidos na análise de variância (QMR), para os modelos logístico, monomolecular e Gompertz

Idade	Parâmetro	Modelo		
		Logístico	Monomolecular	Gompertz
35 DAP ¹	R múltiplo	0,942	0,989	0,965
	R* quadrado	0,887	0,979	0,932
	Erro padrão	0,213	0,018	0,079
	QMR	0,045	0,0003	0,006
60 DAP	R múltiplo	0,983	0,985	0,985
	R* quadrado	0,966	0,970	0,969
	Erro padrão	0,048	0,015	0,027
	QMR	0,002	0,0002	0,0007

¹ DAP – Dias após o plantio.

3.2.4. Agressividade de isolados de *G. graminis* var. *graminis*, provenientes de arroz e capins, em plantas de arroz

Os isolados apresentaram diferenças significativas de altura de lesão (AL), aos quatorze e 35 dias após a inoculação (DAI), conforme Tabela 7. O isolado Ggg-a 32 apresentou maior agressividade do que onze isolados (Ggg-a 40, Ggg-c18, Ggg-a 21, Ggg-c 34, Ggg-a 42, Ggg-a 38, Ggg-c 33, Ggg-a 41, Ggg-c 28, Ggg-c 20, Ggg-c 36), em relação a AL, tanto na avaliação aos quatorze, quanto aos 35 DAI. Considerando a nota visual, como critério de avaliação, o mesmo isolado foi superior aos três isolados menos agressivos (Ggg-c 33, Ggg-c 20 e Ggg- 36), mostrando menor precisão comparado a AL, como critério de avaliação.

Os isolados de Ggg proveniente de arroz e capins (*Cynodon dactylon* (L.) Pers. x *transvaalensis* Burtt-Davy e *Stenotaphrum secundatum* (Walter) Kuntze) diferiram em agressividade, em testes de inoculações cruzadas, realizados por Datnoff et al. (1997). Apenas um dos isolados de arroz (FL 173), causou maior severidade de mal-do-pé na base das bainhas e nas raízes de plantas de arroz, comparado com todos os outros isolados testados. Neste trabalho, observações feitas sobre a severidade da doença nas raízes, causada pelos isolados de Ggg proveniente de arroz e capins, demonstraram que todos os isolados testados não apresentaram sintomas visuais nas raízes das plantas de arroz.

Os isolados provenientes de arroz foram, com poucas exceções, mais agressivos em plantas adultas de arroz, comparados aos isolados provenientes de capins, como esperado, haja vista que isolados de arroz provavelmente estejam mais adaptados a causar doença neste hospedeiro, do que isolados de capins, confirmando os resultados obtidos no teste de virulência em plântulas de arroz.

Tabela 6- Severidade de mal-do-pé em plantas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolados de *G. graminis* var. *graminis*, em casa-de-vegetação

Isolado	Altura de lesão ¹		Nota visual ³
	14 DAI ²	35 DAI ²	
Ggg-a 32	4,878 ^a	5,928 ^a	5,00 ^a
Ggg-a 43	4,786 ^{ab}	5,283 ^{ab}	4,00 ^{abc}
Ggg-a 45	4,753 ^{ab}	5,720 ^a	4,50 ^{ab}
Ggg-a 31	4,595 ^{abc}	5,253 ^{ab}	4,50 ^{ab}
Ggg-a 01	4,583 ^{abc}	6,409 ^a	5,00 ^a
Ggg-a 30	4,220 ^{abc}	5,315 ^{ab}	4,50 ^{ab}
Ggg-a 37	4,205 ^{abc}	5,128 ^{ab}	4,50 ^{ab}
Ggg-a 44	4,085 ^{abc}	4,753 ^{abc}	4,00 ^{abc}
Ggg-a 39	4,065 ^{abc}	5,003 ^{abc}	4,00 ^{abc}
Ggg-a 40	3,083 ^{bcd}	3,553 ^{bcd}	3,50 ^{abc}
Ggg-c 18	2,965 ^{cd}	3,285 ^{cde}	3,00 ^{abc}
Ggg-a 21	2,002 ^{de}	3,565 ^{bcd}	3,00 ^{abc}
Ggg-c 34	1,390 ^{def}	1,815 ^{def}	3,00 ^{abc}
Ggg-a 42	0,860 ^{ef}	2,063 ^{def}	3,00 ^{abc}
Ggg-a 38	0,578 ^{ef}	1,440 ^f	3,00 ^{abc}
Ggg-c 33	0,503 ^{ef}	0,740 ^f	2,23 ^c
Ggg-a 41	0,468 ^{ef}	2,253 ^{def}	3,00 ^{abc}
Ggg-c 28	0,215 ^f	1,438 ^f	3,00 ^{abc}
Ggg-c 20	0,145 ^f	1,038 ^f	2,50 ^{bc}
Ggg-c 36	0,110 ^f	1,598 ^{ef}	2,25 ^c
Testemunha	0,00 ^f	1,128 ^f	2,50 ^{bc}
Teste de F	32,90**	31,61**	4,73**
C.V. (%)	26,98	19,66	23,42

¹ –Altura de lesão = valores referentes à altura de lesão escura e característica da doença, medida em centímetros.

² DAI – Dias após inoculação

³ Nota visual – Estabelecida pela fórmula escala de notas: 0=ausência de sintomas visíveis, 1=lesão escura de até 5 cm de altura, 3=lesão escura de 5 a 10 cm de altura, 5=lesão escura de mais de 10 cm de altura e 7=plantas mortas;

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F; Cada número representa a média de quatro repetições e cada repetição foi constituída da média das observações de quatro plantas;

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 5\%$);

Inoculação realizada com as plantas de arroz aos 49 dias após o plantio.

3.2.5. Patogenicidade de ascósporos de *G. graminis* var. *graminis* em plantas adultas de arroz

As inoculações, feitas com suspensões de ascósporos dos dez isolados, mostraram os primeiros sintomas da infecção, nove dias após a inoculação das plantas e progrediram até 21 dias (Figura 13). Aos trinta dias, após a inoculação, os sintomas, em alguns isolados, não evoluíram. Possivelmente devido às condições climáticas, as plantas conseguiram suplantar a infecção. As condições climáticas, em casa-de-vegetação, foram alta umidade contínua e temperaturas variando de 25 a 30°C. Os isolamentos, feitos a partir das lesões nas bainhas das plantas inoculadas, mostraram micélio característico de Ggg.

Estes resultados constituem o primeiro relato, quanto à comprovação de patogenicidade de ascósporos de Ggg em plantas de arroz, com testes controlados de inoculação.



Figura 13 – Lesão característica de mal-do-pé em arroz, inoculado com suspensão de ascósporos de isolado de *G. graminis* var. *graminis* (sintoma aos 30 dias após a inoculação).

3.2.6. Infecção de plantas de arroz com ascósporos de *G. graminis* var. *graminis* liberados de peritécios em casa de vegetação

Aos sete dias, foram observados os primeiros sintomas de mal-do-pé, nas plantas saudáveis, tendo como inóculo uma fileira central de plantas infectadas na parcela. A doença foi detectada, primeiramente na fileira de plantas mais próximas da fonte (localizada a 12,5 cm), e posteriormente disseminada de forma aleatória até a infecção de todas as plantas, aos 66 dias após a introdução do inóculo. O mapa da distribuição espacial da doença, nas plantas de arroz, encontra-se representado na Figura 14. Estes resultados indicaram o papel de ascósporos, produzidos nas socas de plantas de arroz, na infecção espontânea de plantas saudáveis.

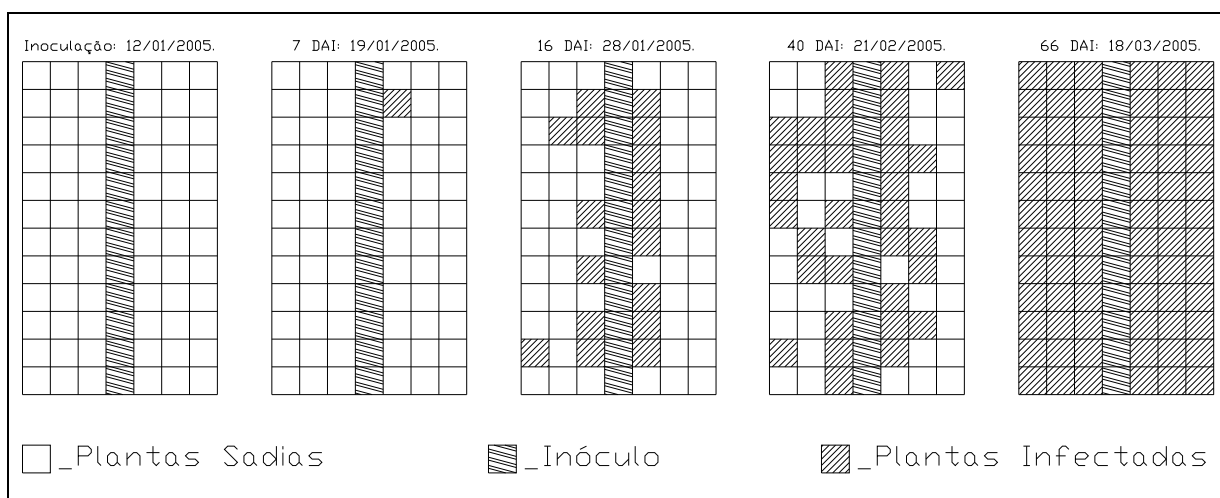


Figura 14 - Infecção de plantas saudáveis da cultivar Bonança, a partir de ascósporos de *G. graminis* var. *graminis* produzidos em soca de arroz (Mapa da distribuição espacial de mal-do-pé do arroz, onde cada quadrado corresponde a um vaso com quatro plantas, em diferentes dias após a introdução da fonte de inóculo na linha central, constituída por vasos com soca de arroz contendo peritécios).

Em estudos realizados com trigo, Gerlag (1968) e Thomas et al. (2004) consideraram que a infecção por ascósporos é menos importante. Segundo Prew (1977), o papel dos ascósporos de Ggt, na disseminação local, em condições de campo é insignificante. Ao contrário, Shipton (1972) sugeriu, que o aumento substancial de mal-do-pé em trigo e cevada, em monocultura, possivelmente tenha sido proveniente de ascósporos de Ggt. Gerlag (1968) relatou que a infecção espontânea de plantas saudáveis de trigo, em vasos, partiu da

disseminação de ascósporos de Ggt, em casa-de-vegetação, da mesma forma que o aparecimento não esperado de mal-do-pé do trigo, em plântulas de trigo cultivadas também em casa-de-vegetação, na estação experimental de Rothamsted na Inglaterra, foi atribuído à infecção causada por ascósporos (Hornby, 1981). Até o presente, não houve relato, quanto a infecção de plantas de arroz causada por ascósporos de Ggg, nem sobre seu papel na disseminação da doença.

4 CONCLUSÕES

- *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* ocorre em condições naturais de infecção.
- Isolados de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* provenientes de arroz e capins são patogênicos a arroz.
- A formação de peritécios de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* é obtida em bainhas inoculadas e em meio de cultura BDA.
- Clamidósporos de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* são obtidos, após a germinação de ascósporos, nas condições de estresse hídrico.
- As plantas adultas de arroz são mais suscetíveis ao mal-do-pé, do que as plântulas, em testes de inoculações.
- As plantas adultas de arroz não necessitam de níveis elevados de inoculo, para infecção.
- O modelo monomolecular é o mais indicado para estudos epidemiológicos de mal-do-pé do arroz, em casa-de-vegetação.
- Ascósporos de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* são patogênicos a plantas de arroz e disseminam o mal-do-pé.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3. ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1998. 218 p.
- BUTLER, F. C. **Root and foot rot diseases of wheat**. Sydney: Department of Agriculture, 1961. 98 p. (Science Bulletin, 77).
- CHAMBERS, S. C.; FLENTJE, N. T. Studies on oat-attacking and wheat-attacking isolates of *Ophiobolus graminis* in Australia. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 20, p. 927-940, 1967a.
- CHAMBERS, S. C.; FLENTJE, N. T. Studies on variation with *Ophiobolus graminis* in Australia. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 20, p. 941-951, 1967b.
- CLARKSON, J. D. S.; POLLEY, R. W. Diagnosis, assessment, crop-loss appraisal and forecasting. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 251-269.
- CUNNINGHAM, P. C. Isolation and culture. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 103-123.
- DATNOFF, L. E.; ELLIOTT, M. L.; JONES, D. B. Black sheath rot caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* on rice in Florida. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, n. 2, p. 210, Feb. 1993.
- DATNOFF, L. E.; ELLIOTT, M. L.; KRAUSZ, J. P. Cross pathogenicity of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* from Bermudagrass, St. Augustinegrass, and rice in Florida and Texas. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 10, p. 1127-1131, Oct. 1997.
- DAVIS, R. J. Studies on *Ophiobolus graminis* Sacc. and the take-all disease of wheat. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 31, p. 801-825, 1925.
- DEACON, J.W. *Phialophora radiculicola* and *Gaeumannomyces graminis* on roots of grasses and cereals. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 61, p. 471-485, Dec. 1973.
- DEACON, J.W. Further studies on *Phialophora radiculicola* and *Gaeumannomyces graminis* on roots and stem bases of grasses and cereals. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 63, p. 307-327, Oct. 1974.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. **Compendium of soil fungi**. London: Academic Press, 1980. 859 p.
- ELLIOTT, M. L.; HAGAN, A. K.; MULLEN, J. M. Association of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* with a St. Augustinegrass root rot disease. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, n. 2, p. 206-209, Feb. 1993.

- GARRET, S. D. Factors affecting survival of six species of cereal foot-root fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 59, p. 445-452, 1972.
- GERLAGH, M. Introduction of *Ophiobolus graminis* into new polders and its decline. **Meded. Lab. Phytopath.** n 241, 1968.
- GREGORY, P.H.; STEDMAN, O.J. Spore dispersal in *Ophiobolus graminis* and other fungi of cereal foot roots. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 41, p. 449-456, 1958.
- GUYOT, L. De l'existence de formes pycnidiennes chez *Ophiobolus graminis* Sacc., et *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. **Revue Path. Vég. Ent. Agric. Fr.** v. 12, p. 74-78, 1925.
- HORNBY, D. Inoculum. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 271-293.
- JESUS JUNIOR, W. C.; POZZA, E. A.; VALE, F. X. R.; MORA-AGUILERA, G. Análise temporal de epidemias. In: VALE, F. X. R.; JESUS JUNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfíl, 2004. p. 127-191.
- KIRBY, R. S. The take-all disease of cereals and grasses. **Phytopathology**, St. Paul, v. 12, p. 66-88, 1922.
- KIRBY, R.S. **The take-all disease of cereals and grasses caused by *Ophiobolus cariceti* (Berkeley & Broome) Saccardo**. Ithaca: Cornell University Agricultural Experiment Station, 1925. 45 p. (Memoir, n. 88).
- LEACH, C. M. Sporulation of diverse species of fungi under near-ultraviolet radiation. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 40, p. 151-161, 1962.
- LEMAIRE, J.M.; PONCHET, J.; JOUAN, B. Contribution à l'étude des facteurs physiques et microbiologiques qui induisent la fructification d' *Ophiobolus graminis* sacc. = *Linocarpon cariceti* B et Br. **Annales des Epiphyties**, Paris, v. 17, p. 61-73, 1966.
- MATHRE, D.E. *Gaeumannomyces*. In: SINGLETON, L. L.; MIHAIL, J. D.; RUSH, C. M. (Ed.). **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: APS Press, 1992. p. 60-63.
- NILSSON, H.E. Studies of root and foot rot diseases of cereals and grasses. I. On resistance to *Ophiobolus graminis* Sacc. **Lantbruks-Högskolans Annaler**, Uppsala, v. 35, p. 275-807, 1969.
- NILSSON, H.E. The occurrence of lobed hyphopodia on an isolate of take-all fungus, "*Ophiobolus graminis* Sacc.", on wheat in Sweden. **Swedish Journal of Agricultural Research**, Stockholm, v. 2, p. 105-118, 1972.

NILSSON, H.E. Influence of the herbicide mecoprop on *Gaeumannomyces graminis* and the take-all disease in spring wheat. **Swedish Journal of Agricultural Research**, Stockholm, v. 3, p. 105-113, 1973.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. Ocorrência do mal-do-pé causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, uma nova enfermidade em arroz no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 4, p. 417-419, 2002.

PREW, R.D. **Studies of the spread, survival and control of Take-all and other foot and root diseases of wheat and barley**. 1977. Thesis (Ph.D) - University of London.

SAMUEL, G. Take-all investigations. II. **Journal of the Department of Agriculture of South Australia**, Adelaide, v. 27, p. 1134-1147, 1923.

SHIPTON, P.J. Take-all in spring-sown cereals under continuous cultivation: disease progress and decline in relation to crop succession and nitrogen. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 71, n. 1, p. 33-46, 1972.

SHIPTON, P. J. Saprophytic survival between susceptible crops. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 295-316.

SIVASITHAMPARAM, K.; PARKER, C.A. Production of chlamydospores and microsclerotia by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 8, n. 1, p. 71-73, 1976.

THOMAS, S.L.; RHODES, L.H.; BOEHM, M.J. Following the disease progressions of an ectotrophic root-infecting fungus. The Plant Health Instructor. 2004. Disponível em <http://www.apsnet.org/education/Labexercices/RootInfectFungus/default.htm>. Acesso em 21 jul. 2006.

WALKER, J. Take-all diseases of *Gramineae*: a review of recent work. **Review of Plant Pathology**, Survey, v.54, n. 3, p. 113-145, Mar. 1975.

WALKER, J. Taxonomy of take-all fungi and related genera and species. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 15-74.

WESTE, G.; THROWER, L.B. Production of perithecia and microconidia in culture by *Ophiobolus graminis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 53, n. 3, p. 354, 1963.

CAPÍTULO II

MAL-DO-PÉ DO ARROZ: HOSPEDEIROS E RESISTÊNCIA A *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*

RESUMO

PEIXOTO, C.N. **Mal-do-pé do arroz: hospedeiros e resistência a *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis***. 2006. Cap. II, 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

A incidência de mal-do-pé, causada por *G. graminis* var. *graminis* em lavouras de arroz de terras altas, nas condições naturais de infecção, variou de 68 a 100% de perfilhos infectados, entre seis lavouras avaliadas, em fase avançada de maturação. Alguns capins, nas mesmas lavouras, que apresentaram sintomas do mal-do-pé, foram coletados para isolamento de Ggg e testes de patogenicidade. Foi estudada a patogenicidade de vinte isolados de Ggg, provenientes de arroz e capins. Todos os isolados foram patogênicos a arroz e aos capins: capim arroz (*Echinochloa crusgalli*), capim avião (*Pennisetum setosum*), capim braquiária (*Brachiaria* sp.), capim digitaria (*Digitaria horizontalis*), capim marmelada (*Brachiaria plantaginea*), capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*) e capim timbete (*Cenchrus echinatus*). Cereais de inverno, como trigo, aveia, centeio, cevada e triticale, bem como sorgo, milho, e milheto apresentaram diferentes graus de suscetibilidade ao isolado Ggg-a 01. As diferenças foram significativas quanto a sintomas típicos na base do colmo, altura de lesão escura, número de perfilhos ou plantas mortas, presença de micélio característico, hifas em leque e produção de hifopódios e peritécios. Não foram observados peritécios em milheto, sorgo, timbete e milho e a maior suscetibilidade foi apresentada pelo trigo, com a morte de todas as plantas inoculadas. A resistência de 58 genótipos de arroz de terras altas foi testada em casa-de-vegetação, utilizando o isolado Ggg-a 01 proveniente de arroz. Entre os genótipos avaliados, SCIA16 e SCIA08 apresentaram altura de lesão significativamente menor, sendo considerados resistentes em relação ao genótipo CNAS10351, altamente suscetível.

Palavras-chaves: Patogenicidade, suscetibilidade, cereais de inverno.

¹Orientador: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

ABSTRACT

PEIXOTO, C.N. **Black sheath rot of rice: host-range and resistance to *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis***. 2006. Chapter II, 120 f. Thesis (Doctorate in Agronomy: Crop Sciences) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

Six fields of upland rice were surveyed in the advanced stages of maturation for the incidence of black sheath rot caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*. The disease incidence on tillers, under natural conditions of infection, ranged from 68 to 100%. Some grasses in the same fields showing symptoms of black sheath rot were collected for isolation of Ggg and pathogenicity tests. The pathogenicity of 20 isolates obtained from rice and grasses were studied. All isolates were pathogenic to rice and grasses such as baranyard grass (*Echinochloa crusgalli*), fountain grass (*Pennisetum setosum*) signal grass (*Brachiaria* sp), crab grass (*Digitaria horizontalis*), plantain signal grass (*Brachiaria plantaginea*), indian goose grass (*Eleusine indica*) and southern sandbur (*Cenchrus echinatus*). Winter cereals such as wheat, oat, rye, barley and triticale as well as sorghum, corn, and millet exhibited different degrees of susceptibility to the isolate Ggg-a 01. Significant differences were observed in regarding to characteristic symptoms on the culm, lesion height, number of tillers or dead plants, presence of characteristic mycelium, fan shaped hyphae, production of hyphopodia and perithecia. The formation of perithecia was not observed on leaf sheaths of inoculated plants of millet, sorghum, southern sandbur and maize. All inoculated wheat plants died indicating higher susceptibility than other cereals. The resistance of 58 upland rice genotypes were tested in the greenhouse, using rice isolate Ggg-a 01. Of the genotypes assessed, the lesion height of SCIA16 and SCIA08 was significantly smaller compared to the highly susceptible genotype CNAS10351.

Key-words: Pathogenicity, susceptibility, winter cereals.

Adviser: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

1 INTRODUÇÃO

O agente causal do mal-do-pé do arroz (*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*) é a variedade tipo de *G. graminis*, e tem sido relatado como *Ophiobolus oryzinus* e *Ophiobolus graminis* como sinonímia, sendo sua ocorrência relatada por diversos autores em países dos continentes: África, Ásia (Índia, Japão, Malásia, Filipinas, Sri Lanka), América (América do Norte e do Sul), Europa (Suécia e Itália) e Oceania (Austrália e Nova Guiné), (Walker, 1981). O anamorfo de *G. graminis* muitas vezes não é observado, mas envolve a produção de fialósporos e tem sido relacionado com *Phialophora* spp. Conídios são encontrados, freqüentemente, em cultura de *G. graminis* var. *tritici* causador do mal-do-pé, em trigo e nunca em tecidos hospedeiros, naturalmente infectados, sendo desconhecido o seu papel (Mathre, 1992).

Embora seja mais conhecido como causador do mal-do-pé do arroz, provavelmente Ggg encontra-se amplamente espalhado no mundo inteiro, relacionado às estações quentes e úmidas particularmente em países tropicais e subtropicais, como parasitas de *Gramineae* e *Cyperaceae* (Domsch et al., 1980; Walker, 1981), associado com raízes, coroas e parte basal de colmos, bainhas e estolões. O fungo Gg já foi encontrado infectando plantas dos gêneros *Aristida*, *Avena*, *Axonopus*, *Bromus*, *Chloris*, *Cynodon*, *Microlaena*, *Molinia*, *Oryzae*, *Paspalidium*, *Pennisetum*, *Phalaris*, *Stenotaphrum*, *Stipa*, *Triticum* e *Zizania*, observado em infecção natural ou artificial (Walker, 1981). Cook et al., (1968) citam *Bromus* spp., *Festuca* spp., e *Medicago sativa* como hospedeiros alternativos do patógeno e responsáveis pela sua perpetuação. Os Capins são hospedeiros comuns de Gg e seu papel como disseminadores de mal-do-pé do trigo é de considerável importância (Nilsson & Drew Smith, 1981). No Brasil, estudos com mal-do-pé do trigo (Ggt) foram desenvolvidos principalmente por Prestes (1972) e Reis (1989).

O fungo Gg é, quase exclusivamente, parasita de gramíneas, embora existam relatos ocasionais sobre a ocorrência em outras famílias (Scott, 1981) e em algumas condições é capaz de sobreviver na superfície de raízes de espécies não gramíneas. Segundo Nilsson (1969), mais de 350 espécies de gramíneas apresentam algum grau de suscetibilidade ao patógeno. Os gêneros *Triticum*, *Agropyron* e *Hordeum* são considerados os mais suscetíveis, enquanto os gêneros *Phleum*, *Poa* e *Zea* se encontram entre os mais

resistentes à variedade Ggt. O maior número de hospedeiros é relatado para Gga, sendo os hospedeiros de Ggg pouco estudados. A ocorrência natural de Ggg foi relatada em arroz e em gramíneas como *Pennisetum* e *Stenotaphrum*, nas condições tropicais (Walker, 1972). Segundo Nilsson (1972), um isolado proveniente de trigo, apresentando hifopódios lobados e morfologicamente similar a Ggg, mostrou alta patogenicidade ao trigo, cevada, aveia, centeio e milho. Scott & Hollins (1980), relataram diferenças consistentes de resistência, entre cultivares hexaplóides de trigo, em experimentos conduzidos, durante três anos, no campo. Cultivares de trigo, com suscetibilidade reduzida a Ggt, são consideradas adequadas para melhoramento genético (Nilsson, 1972). A tolerância ao mal-do-pé do trigo foi observada em gramíneas, que permaneciam sadias, mesmo em campos de produção de trigo, altamente atacados com a doença (Kirby, 1925). Brooks (1965) também observou gramíneas provenientes de campos de aveia, severamente atacados por mal-do-pé, que apesar do sério comprometimento do sistema radicular, não mostravam sintomas aparentes em suas partes aéreas. Para o mal-do-pé do trigo, a forma de colonização superficial ou com penetração do patógeno Ggt em raízes, bem como o crescimento, o número e a função das raízes afetadas, são fatores que influenciam a suscetibilidade ou tolerância do hospedeiro à doença. No entanto, a variabilidade apresentada tem dificultado os estudos sobre resistência ou suscetibilidade de gramíneas a Gg, especialmente em campo (Nilsson & Drew Smith, 1981).

Testes de resistência foram realizados por Prabhu & Filippi (2002), utilizando doze genótipos de arroz irrigado e o isolado proveniente de arroz (Ggg-a 01), multiplicado em grãos de milheto autoclavados. Os resultados mostraram que todos os genótipos testados apresentaram reação de suscetibilidade.

Não há informação, em relação ao grau de resistência de genótipos de arroz de terras altas a Ggg, que possam ser utilizados como fonte de resistência, no melhoramento genético. Os objetivos deste trabalho foram obter informações sobre hospedeiros e resistência de genótipos de arroz a *G. graminis* var. *graminis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. IDENTIFICAÇÃO DE HOSPEDEIROS COLATERAIS DE *G. graminis* var. *graminis* EM LAVOURAS DE ARROZ AFETADAS COM MAL-DO-PÉ

Foram visitadas áreas nas proximidades de Goiânia, nos municípios de Hidrolândia, Bela Vista e Santo Antônio, para coleta de amostras, objetivando observar a presença e a incidência de Ggg. Foram coletadas de 20 a 50 touceiras de arroz, que constituíram amostras de cada lavoura, na fase de maturação de cachos, nos meses de janeiro a abril de 2003.

O esquema de amostragem adotado foi o caminhar em diagonal em uma área na forma de quadrado de 200 x 200 metros, coletando-se metade das amostras em cada diagonal. A touceira que constituiu a amostra foi colhida com enxada, na base das plantas, conservando-se parte das raízes, acondicionadas em sacos de papel e levadas para o laboratório. A amostra, formada por 25 perfilhos férteis, foi examinada com auxílio de lupa e microscópio ótico, para observação dos sintomas e das estruturas do patógeno. O exame minucioso das amostras foi realizado no laboratório, observando-se não apenas os sintomas visuais de lesões escuras, mas também a presença de estruturas características de Ggg. A incidência da doença nos perfilhos, das amostras avaliadas, incluiu aqueles que apresentaram sintomas visíveis e aqueles que continham estruturas características de Ggg, embora sem os sintomas.

O procedimento de amostragem para os capins hospedeiros colaterais de Ggg, ou seja, aqueles encontrados no mesmo ciclo da cultura, nas lavouras de arroz visitadas foi efetuado após constatação do fungo através de lupa manual, sendo colhida as touceiras ou parte delas para o exame em laboratório. Após a constatação da presença do patógeno e feita a identificação da gramínea hospedeira, foi efetuado o isolamento do fungo, em cultura pura, para posterior utilização.

O isolamento foi realizado, a partir dos colmos doentes, os quais foram lavados com água e sabão, para eliminar o excesso da terra e estruturas de outros organismos, cortados em porções de até cinco centímetros, secos com papel toalha e transferidos para

uma câmara úmida, que foi mantida no laboratório para incubação, estimulando a formação de peritécios e posterior liberação de ascósporos do patógeno. Após o aparecimento dos ascósporos, estes foram transferidos para o meio de cultura sintético e submetidos à incubação, observando-se a formação de colônias monospóricas originadas de ascósporos. As culturas puras foram mantidas em tubos de ensaio com BDA, placas de Petri e conservadas em papel de filtro, armazenadas a -20°C .

A incidência da doença, nas plantas de arroz, foi o parâmetro avaliado, formado pelo percentual de perfilhos com sintomas e ou sinais do patógeno. Os dados foram analisados, observando-se a variância, o erro e desvio padrão e a amplitude das médias de incidência, para cada lavoura.

2.2. INOCULAÇÃO DE CAPINS E CEREAIS COM ISOLADO DE *G. graminis* var. *graminis* PROVENIENTE DE ARROZ

Foram testadas sete espécies de capins mais comumente encontrados no cerrado goiano: capim arroz (*Echinochloa crusgalli* L.), capim avião (*Pennisetum setosum* (Swartz) L. Rich.), capim braquiária (*Brachiaria* sp), capim digitária (*Digitaria horizontalis* Willd.), capim marmelada (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch.), capim pé-de-galinha (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.), capim timbete (*Cenchrus echinatus* L.) e os seguintes cereais: milheto (*Pennisetum glaucum* L.), sorgo (*Sorghum* sp.), milho (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), cevada BRS 180 (*Hordeum vulgare* L.), cevada BRS 195 (*Hordeum vulgare* L.), aveia preta (*Avena strigosa*), triticale (*Triticosecale* Wittmack), centeio (*Secale cereale* L.) e arroz (*Oryza sativa* L), cultivar Bonança, para inoculação do patógeno, em casa-de-vegetação. A inoculação, realizada nos cereais aos 36 DAP e nos capins 65 dias após o transplante, foi feita em três plantas por vaso, utilizando-se o isolado Ggg-a 01 e o método de inoculação padronizado, através de grãos de sorgo autoclavados e previamente colonizados com o fungo. O inóculo (5 g/vaso) foi colocado na superfície do solo, ao redor da base das plantas, que foram mantidas durante todo experimento em condições de alta umidade (acima de 90% de umidade relativa).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos, em número de dezessete, constituíram-se das espécies testadas, sendo que para cada espécie, foi mantida uma repetição não inoculada, como controle.

Para avaliação, as plantas foram arrancadas dos vasos, efetuada poda da parte aérea e da raiz, deixando aproximadamente quinze centímetros de colmo. As amostras foram identificadas e transportadas ao laboratório, acondicionadas em sacos de papel, para posterior observação sob lupa e microscópio ótico. Foram feitas observações quanto à presença e quantidade das seguintes estruturas: micélio característico, hifopódios lobados, peritécios, perfilhos e plantas mortas e presença de hifa tipo leque nos colmos das plantas, de forma a permitir melhor avaliação da incidência e severidade da doença.

A severidade da doença, em todas as espécies testadas, foi quantificada através da medida de altura de lesão escura nos colmos das plantas e dos perfilhos e / ou plantas mortas, em centímetros. Quanto às demais características observadas (micélio característico, hifas em leque, peritécios e hifopódios), a avaliação foi feita utilizando a seguinte escala visual: **0**=Ausência, **1**=Pouca quantidade, **3**=Quantidade mediana e **5**=Muita quantidade.

Os dados das três repetições inoculadas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3. RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS A *G. graminis* var. *graminis*

Para avaliar o grau da resistência genética ao mal-do-pé do arroz causado por Ggg, foram utilizados 58 genótipos de arroz de terras altas, que apresentaram variações de resistência para outras enfermidades, como brusone (*Pyricularia grisea*) e escaldadura (*Macrodochium oryzae*) e que estão disponíveis no banco ativo de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão.

O experimento foi realizado em condições de casa-de-vegetação em vasos de alumínio, capacidade para dois quilogramas de solo, adubado com NPK+Zinco, contendo três plantas por vaso. As inoculações foram feitas com as plantas aos 45 dias de idade, utilizando o isolado Ggg-a 01, previamente multiplicado em grãos de sorgo autoclavados.

O inóculo (2,0 g/vaso) foi colocado ao redor da base da planta, na superfície do solo e as plantas foram mantidas, durante todo experimento, em condições de alta umidade (acima de 90% de umidade relativa).

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições.

Avaliou-se o grau de resistência dos genótipos, ao mal-do-pé, aos dezoito dias após a inoculação, considerando como parâmetros para quantificar a severidade, a altura de lesão no colmo e altura relativa da lesão. Calculou-se a média dos perfilhos principais das três plantas por vaso, para análise de variância e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 IDENTIFICAÇÃO DE HOSPEDEIROS COLATERAIS DE *G. graminis* var. *graminis* EM LAVOURAS DE ARROZ AFETADAS COM MAL-DO-PÉ

Na lavoura de arroz da cultivar Bonança, localizada no município de Bela Vista/GO, foram coletadas seis amostras de capins com sintomas da doença: duas de capim braquiária (*Brachiaria* sp.), uma de capim avião ou amargoso (*Pennisetum setosum*), uma de capim rabo de raposa (*Setaria* sp.), uma de capim colônia (*Panicum maximum*) e outra de capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*). Em Hidrolândia/GO, em lavoura de arroz cultivar Primavera, foram coletadas mais seis amostras, sendo quatro de capim braquiária (*Brachiaria* sp.), uma de capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*) e uma de capim navalha (*Cyperus* sp.).

Nas lavouras de arroz visitadas, no município de Santo Antônio/GO e nos campos experimentais da Embrapa Arroz e Feijão foram coletadas: uma amostra de capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*), duas de capim timbete (*Cenchrus equinatus*), uma de tiririca (*Cyperus rotundus*), duas de capim colchão miúdo (*Digitaria horizontalis*), duas de capim avião ou amargoso (*Pennisetum setosum*), duas de capim colônia (*Panicum maximum*), uma de capim andropogon (*Andropogon gayanus*), uma de capim comprido (*Paspalum dilatatum*), duas de capim marmelada (*Brachiaria plantaginea*), uma de capim coloninho (*Panicum* sp.) e outra de capim favorito (*Rhynchelytrum roseum*).

No total foram coletadas 28 amostras de capins, nas quais foram observados sintomas e ou sinais de Ggg. Todas as amostras foram registradas em um caderno, recebendo um número seqüencial pelo qual passaram a ser identificadas na micoteca da Embrapa arroz e Feijão. As amostras, tanto de arroz, quanto das outras gramíneas, receberam o mesmo tratamento para o isolamento do patógeno, em cultura pura.

A avaliação das amostras de arroz coletadas confirmou a ocorrência de Ggg em todas as lavouras visitadas. Observou-se que os sintomas do patógeno foram mais facilmente visualizados nas plantas de arroz, em fase de maturação

avançada (senescência da raiz e parte aérea), próxima à época da colheita. As lavouras visitadas encontravam-se todas nessa fase fisiológica, exceto a localizada em Bela vista/GO, que encontrava-se no início da maturação dos cachos e, durante o exame minucioso dos perfilhos, a visualização dos sintomas e estruturas do patógeno foi bem mais difícil, inclusive apresentando a menor porcentagem de incidência da doença, conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Incidência de mal-do-pé, causado por *G. graminis* var. *graminis*, em lavouras de arroz em condições naturais de infecção

Lavoura Município	Número de amostras	Porcentagem de Incidência	Erro padrão	Desvio padrão	Variância	Amplitude ¹
Bela Vista/Go	20	68,4	3,6	16,1	259,20	60,87-75,93
Santo Antonio/GO	20	100,0	0,0	0,0	0,00	100,00
Santo Antonio/GO	48	87,8	1,9	13,3	177,67	83,93-91,67
Santo Antonio/GO	48	99,2	0,6	4,1	16,99	98,0-100,0
Santo Antonio/GO	40	94,4	1,4	8,8	77,74	91,58-97,22
Hidrolândia/GO	20	99,2	0,5	2,1	4,38	98,22-100,0

¹Amplitude calculada no intervalo de confiança de 95%

Embora tenham sido observados sinais característicos do fungo, nem todas as amostras coletadas produziram isolados puros, em virtude da dificuldade de isolamento do patógeno, a partir de seu micélio ou de fragmentos de lesão. Há relatos do isolamento de Ggt a partir de micélio, em restos culturais de trigo em solo (Warcup, 1957), porém Hornby (1969) não conseguiu isolar o patógeno, seguindo a mesma metodologia, quando realizou vários testes, na estação experimental de Rothamsted na Inglaterra. O isolamento do fungo, direto do solo raramente é obtido, justificando o conceito de Garret, (1970) de que embora seja considerado um habitante do solo, o fungo *Gaeumannomyces* é um organismo altamente especializado no parasitismo de raízes, que no seu processo evolutivo, perdeu muitas de suas características naturais de competidor saprofítico (Hornby, 1969; Domsch et al., 1980; Cunningham, 1981).

A metodologia de isolamento, a partir de ascósporos liberados pelos peritécios de Ggg, apresentou eficiência e praticidade em concordância com a literatura, a qual relata que o isolamento das três variedades de Gg foi prontamente obtido a partir de ascósporos

(Cunningham, 1981). Alguns autores examinaram as características de isolados em função da origem, isto é, se proveniente de ascósporos ou de micélio, não tendo sido detectada significância quanto a morfologia, crescimento e virulência (Cunningham, 1966; Skou, 1968). Ao contrário, Henry & McKenzie (1959) relataram respostas diferenciais entre isolados monospóricos provenientes de ascósporos e de micélio, quando testados em solo esterilizado e não esterilizados. Por outro lado, existem evidências na redução de virulência de isolados, provenientes de ascósporos produzidos em meio de cultura, quando comparado aos isolados, provenientes de ascósporos produzidos em tecido hospedeiro vivo. Estes últimos foram altamente virulentos, sugerindo que a virulência pode ser influenciada pela relação (saprofítica ou parasítica), entre fungos e substratos (Chambers & Flentje, 1967).

No presente trabalho foram obtidos quatorze isolados provenientes de arroz e oito provenientes de amostras de capins (um de cada capim: navalha, avião, colonião, coloninho, e dois dos capins: colchão miúdo e marmelada). Todos os isolados de arroz e somente seis isolados de capins foram utilizados nos experimentos subsequentes (isolados Ggg-c 18, Ggg-c 20, Ggg-c 28, Ggg-c 33, Ggg-c 34 e Ggg-c 36).

Os isolados obtidos foram avaliados quanto ao crescimento, multiplicação e produção de peritécios em diversos meios de culturas sintéticos e substratos. Não foram detectadas diferenças, entre os isolados quanto ao micélio e crescimento da colônia, mas houve diferença entre eles para a produção de peritécios. Dentre os isolados testados, destacou-se o isolado Ggg-c 28, obtido do capim colchão miúdo (*Digitaria horizontalis*), que cresceu e produziu peritécios, espalhados e sobre o meio de cultura BDA (Figura 1, a, b). Os demais isolados apresentaram produção variada, de forma agrupada em tufo gelatinosos sob micélio fino e hialino, com característica marcante de pescoço muito longo (Figura 1, c), que formaram zonas diferenciadas sobre o crescimento na placa (Figura 1, d, e). Os isolados Ggg-a 38, Ggg-c 33 e Ggg-a 36 não produziram peritécios em meio de cultura.

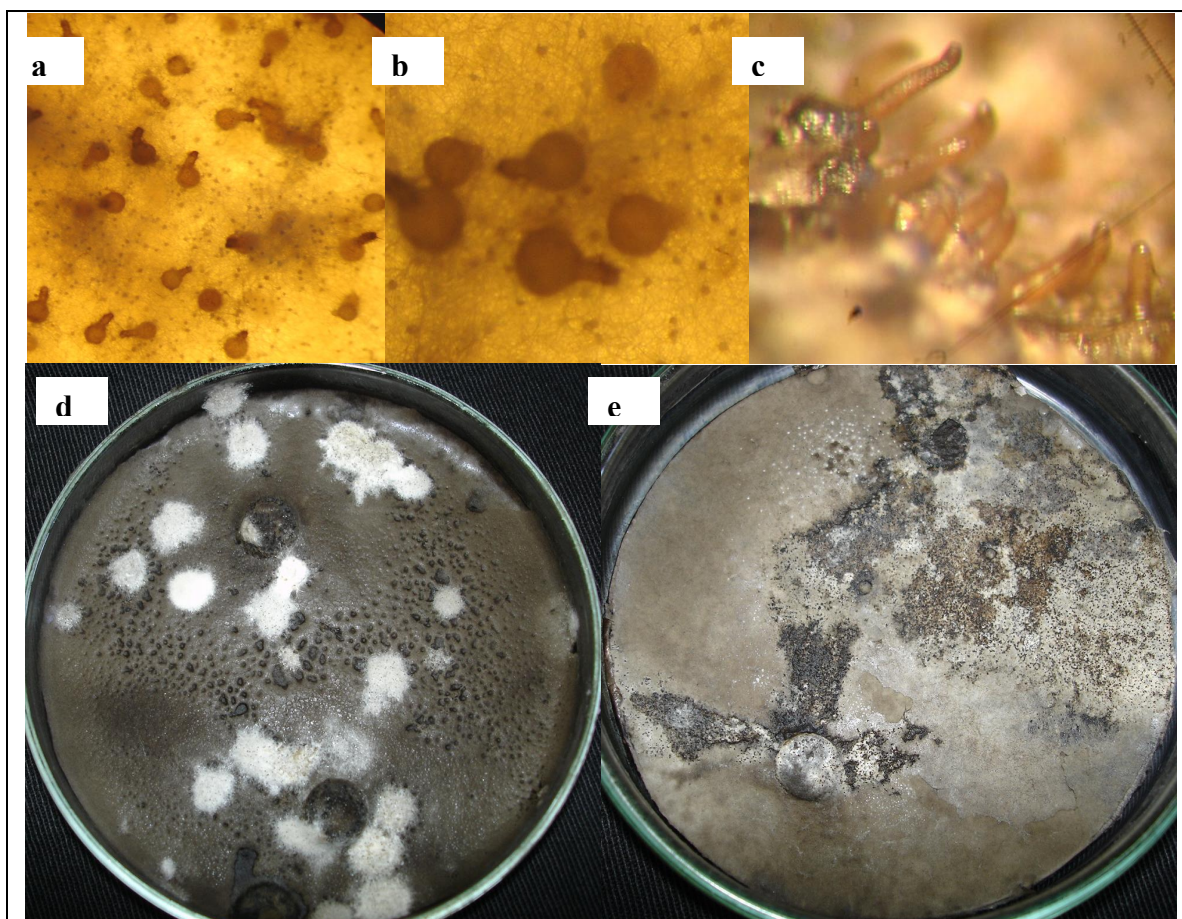


Figura 1 – Peritécios de *G. graminis* var. *graminis* produzidos em meio de cultura sintético BDA. Peritécios espalhados sobre o meio, produzidos pelo isolado Ggg-c 28 (a, b) e agrupados em tufos (c), visualizados na placa como as áreas mais claras e com relevo mais alto (d, e).

3.2. INOCULAÇÃO DE CAPINS E CEREAIS COM ISOLADO DE *G. graminis* var. *graminis* PROVENIENTE DE ARROZ

Os resultados obtidos demonstraram que todos os hospedeiros foram infectados ou colonizados pelo patógeno e apresentaram diferenças significativas com relação aos parâmetros avaliados (Tabela 2). Todas as espécies testadas apresentaram sintomas típicos de mal-do-pé, com exceção de capim colchão miúdo, sorgo e milho, sendo que o capim braquiária apresentou significativamente maior valor em relação à altura de lesão escura no colmo, comparado aos demais hospedeiros testados. Os valores menores foram para milho,

timbete, capim arroz e sorgo, caracterizando a resistência destes hospedeiros ao patógeno em estudo.

Hifas em leque e hifopódios em micélio característicos de Ggg foram apresentados por todos os hospedeiros, enquanto a formação de peritécios não foi observada em milheto, sorgo, timbete e milho. Das espécies testadas o trigo apresentou maior suscetibilidade a Ggg, com a morte de todas as plantas inoculadas, ao contrário dos resultados obtidos por Deacon (1974) e Holden (1976). Estes autores encontraram resultados que mostram a baixa patogenicidade de isolados de Ggg, em inoculações artificiais de plantas de trigo. Neste trabalho não foi observada a morte de perfilhos ou de plantas em milho, sorgo, aveia preta, milheto, capim colchão miúdo e arroz.

Tabela 2 – Reação de espécies hospedeiras de *G. graminis* var. *graminis* à inoculação com isolado proveniente de arroz

Hospedeiro	Sint típ ¹	A L ²	P morto ³	M caract ⁴	Hifopódio ⁵	Peritécio ⁶	M Leque ⁷
Capim braquiária (<i>Brachiaria</i> sp)	Sim	11,3 ^a	1,3 ^{ab}	5,0 ^a	5,0 ^a	4,3 ^{ab}	5,0 ^a
Capim pé-de-galinha (<i>Eleusine indica</i>)	Sim	9,7 ^{ab}	0,3 ^b	3,0 ^{bc}	2,3 ^{cd}	1,0 ^{de}	3,7 ^{ab}
Arroz (<i>Oryza sativa</i>)	Sim	7,6 ^{bc}	0,0 ^b	3,0 ^c	3,0 ^{bc}	3,0 ^{abcd}	3,0 ^{abc}
Capim marmelada (<i>Brachiaria plantaginea</i>)	Sim	7,3 ^{bcd}	0,7 ^{bc}	5,0 ^a	5,0 ^a	1,0 ^{de}	3,0 ^{abc}
Cevada BRS 195 (<i>Hordeum vulgare</i>)	Sim	6,7 ^{bcd}	1,3 ^{ab}	5,0 ^a	5,0 ^a	4,3 ^{ab}	4,3 ^{ab}
Capim colchão (<i>Digitaria horizontalis</i>)	Não	6,0 ^{cdef}	0,0 ^b	4,3 ^{ab}	2,3 ^{cd}	1,7 ^{cde}	1,0 ^c
Cevada BRS 180 (<i>Hordeum vulgare</i>)	Sim	5,8 ^{cdef}	1,0 ^{ab}	5,0 ^a	5,0 ^a	1,7 ^{cde}	3,0 ^{abc}
Capim avião (<i>Pennisetum setosum</i>)	Sim	5,0 ^{cdefg}	2,0 ^{ab}	5,0 ^a	5,0 ^a	3,0 ^{abcd}	2,3 ^{bc}
Triticale (<i>Triticumsecale</i>)	Sim	5,0 ^{cdefg}	1,7 ^{ab}	5,0 ^a	5,0 ^a	3,7 ^{abc}	5,0 ^a
Milheto (<i>Pennisetum glaucum</i>)	Sim	4,7 ^{cdefg}	0,0 ^b	4,3 ^{ab}	4,3 ^{ab}	0,0 ^e	5,0 ^a
Centeio (<i>Secale cereale</i>)	Sim	4,6 ^{cdefg}	0,7 ^b	3,0 ^{bc}	3,0 ^{bc}	5,0 ^a	5,0 ^a
Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Sim	4,0 ^{defg}	3,0 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a	3,0 ^{abcd}	5,0 ^a
Aveia preta (<i>Avena strigosa</i>)	Sim	3,9 ^{efg}	0,0 ^b	5,0 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a
Sorgo (<i>Sorghum vulgare</i>)	Não	3,3 ^{efg}	0,0 ^b	1,0 ^d	1,0 ^d	0,0 ^e	1,0 ^c
Capim arroz (<i>Echinochloa crusgalli</i>)	Sim	3,0 ^{efg}	0,3 ^b	1,0 ^d	1,7 ^{cd}	2,3 ^{bcd}	4,3 ^{ab}
Capim timbete (<i>Cenchrus equinatus</i>)	Sim	2,8 ^{fg}	0,7 ^b	2,3 ^{cd}	2,3 ^{cd}	0,0 ^e	2,3 ^{bc}
Milho (<i>Zea mays</i>)	Não	1,9 ^g	0,0 ^b	5,0 ^a	5,0 ^a	0,0 ^e	3,7 ^{ab}
Teste de F		13,47**	3,73**	27,05**	13,90**	17,75**	7,51**
C.V (%)		20,30	97,51	11,51	16,58	30,36	22,84

¹ Sint típ = Sintoma típico (presença ou ausência); ² A L = Altura de lesão escura nas bainhas dos colmos, em centímetro; ³ P.morto= Perfilho morto (número observado); ⁴ M. caract= Micélio característico de Ggg; valores originados da avaliação conforme escala visual: 0=ausência, 1=pouca quantidade, 3=quantidade mediana e 5=muita quantidade; ^{5, 6} - Valores originados da avaliação conforme escala visual: 0=ausência, 1=pouca quantidade, 3=quantidade mediana e 5=muita quantidade; ⁷ M. Leque=micélio em leque; valores originados da avaliação conforme escala visual: 0=ausência, 1=pouca quantidade, 3=quantidade mediana e 5=muita quantidade; ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F; Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 5\%$); Cada número representa a média de três repetições e cada repetição foi constituída da média das observações de três plantas.

Foram observados sintomas de mal-do-pé do arroz, caracterizados por lesão de coloração escura, marrom ou preta em bainhas na base dos colmos, conforme relatado por Prabhu & Filippi (2002). As lesões apresentaram altura variada, dependendo do hospedeiro e das condições climáticas (Figura 2 e 3). Apenas milho e sorgo não apresentaram a lesão escura, sintoma típico da doença, apesar da presença de muito micélio, próximo às raízes do primeiro nó e no internódio, entre a coroa e o primeiro nó, na base das bainhas.

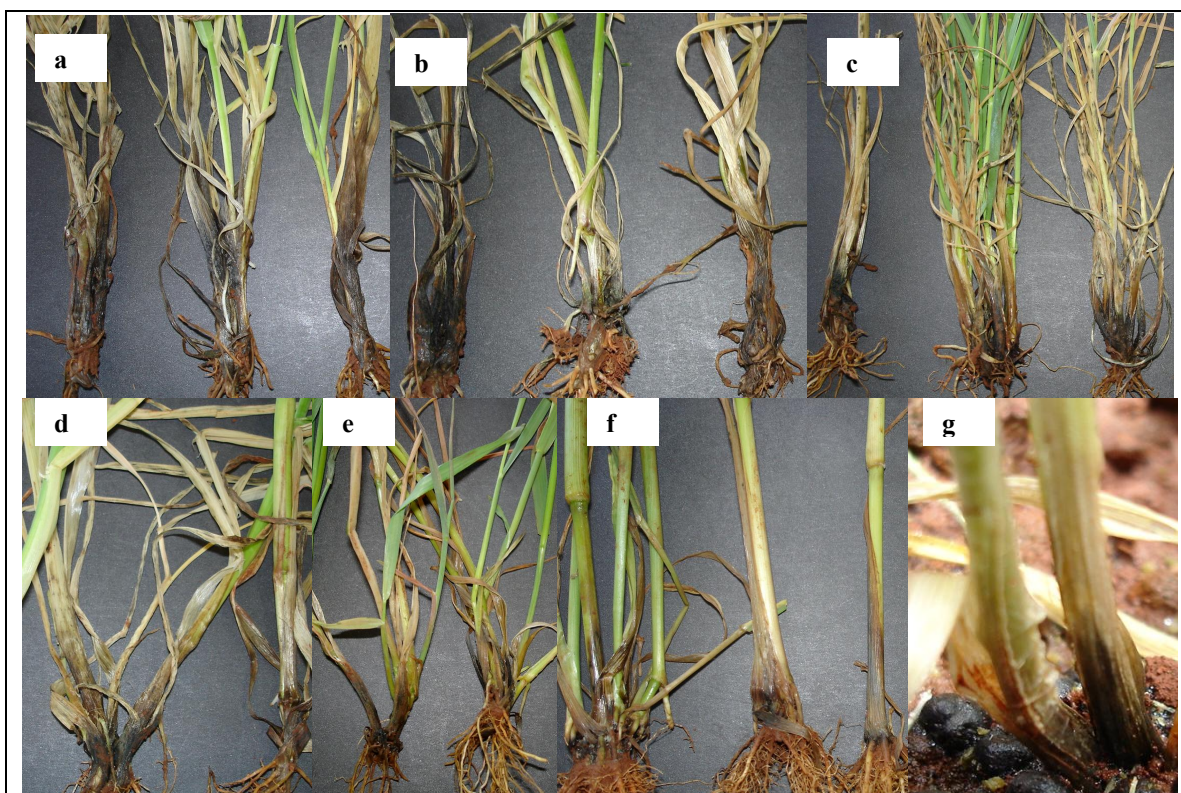


Figura 2 – Cereais inoculados com *G. graminis* var. *graminis*, apresentando sintomas típicos de mal-do-pé: cevada BRS 195 (a), tritcale (b), centeio (c), cevada BRS 180 (d), aveia preta (e), milheto (f) e trigo (g).

O micélio observado, na maioria das espécies hospedeiras, se apresentou superficialmente sobre colmos e bainhas, com muitos hifopódios, macrohifas e hifas em leque (Figura 3 a, b, c), formando uma rede densa e escura em alguns locais da base das bainhas e colmos.

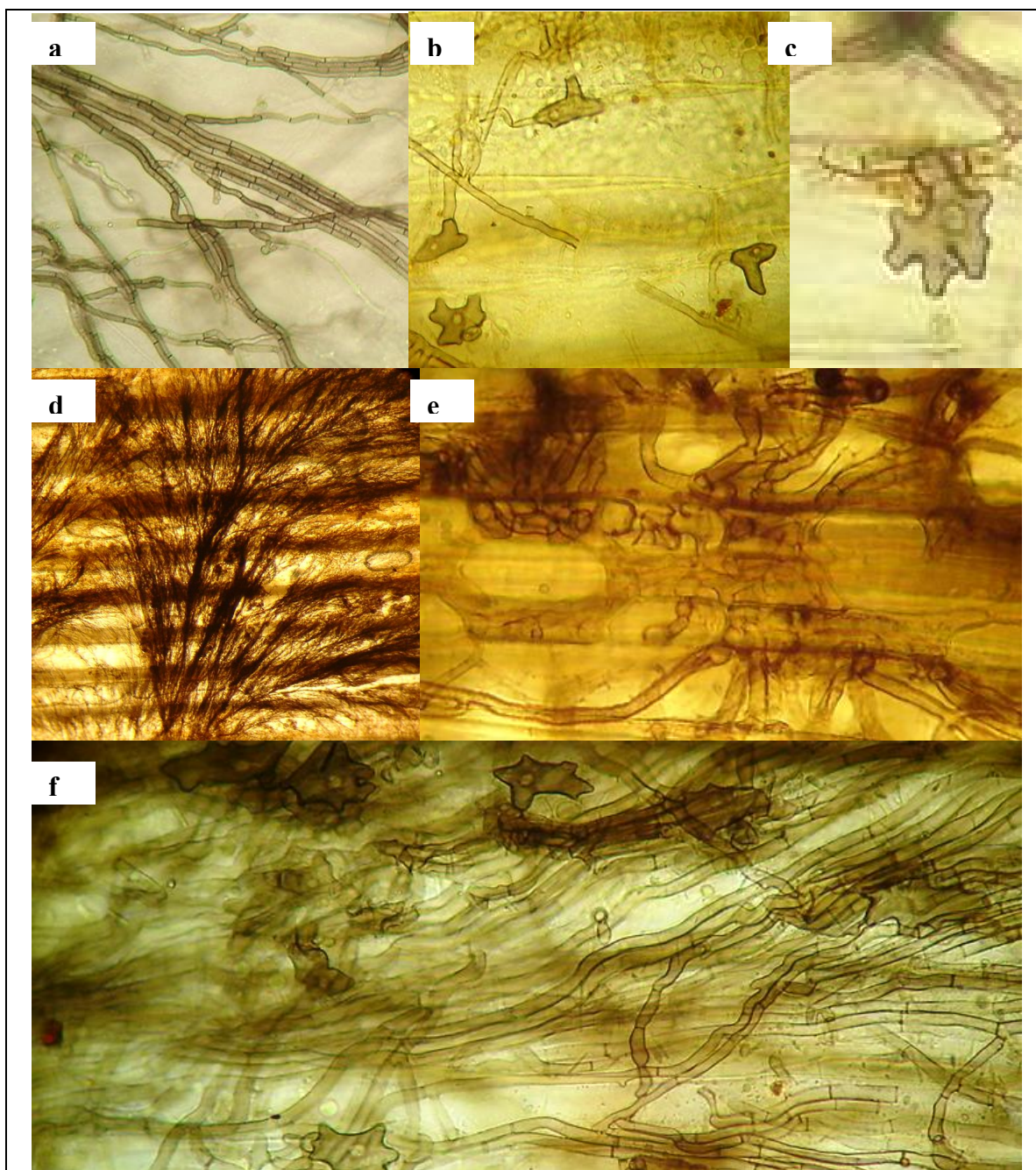


Figura 3 – Características de *G. graminis* var. *graminis* em cereais inoculados: micélio com macrohifas (a) , hifopódios em cevada (b, c), hifas em leque (d), micélio dentro de bainhas de cevada (e) e micélio com macrohifas e hifopódios em centeio (f).

Em sorgo foi observado micélio semelhante, porém com poucos hifopódios. Em trigo, milheto, cevada e aveia preta, onde as bainhas são mais finas e quase

translúcidas, foi observada, além do micélio característico na superfície e muitos hifopódios, a presença de micélio dentro do tecido hospedeiro (Figura 3 e). Em centeio foi observada presença de muito micélio e hifopódios característicos, porém com hifas mais engrossadas, curtas e bem mais escuras (Figura 3 f).

Os capins, da mesma forma, apresentaram sintomas de lesão escura nas bainhas dos colmos (Figura 4), micélio característico e hifopódios, bem como a presença de hifa em leque. As características de micélio, hifopódios, peritécios, ascas e ascósporos observados nas plantas das espécies estudadas foram semelhantes aos de Ggg, descritos por Walker (1981).

Este patógeno é relatado, como causador de infecções em gramíneas rizomatosas ou estoloníferas em muitos países (Walker, 1972) e provavelmente seja de ocorrência comum em capins em todas as regiões quentes do mundo (Walker, 1975). Também há relato de Ggg, em vagens senescentes de soja, mas o fungo não reinfectou esse hospedeiro, em teste de inoculação artificial (Deacon, 1981). Nilsson (1972) obteve um isolado de trigo na Suécia, com hifopódio lobado, semelhante a Ggg, que foi altamente patogênico a trigo, embora Deacon (1974) e Holden (1976) tenham provado a baixa patogenicidade de isolados de Ggg em inoculações artificiais de plantas de trigo.

Quanto à produção de peritécios, os hospedeiros apresentaram diferenças significativas, conforme Tabela 2. Observou-se que aveia preta, centeio, cevada BRS 195, capim braquiária e tritcale produziram as maiores quantidades de peritécios, enquanto em milho, sorgo, milheto e capim timbete, não foi observada a presença destas estruturas. Na base das bainhas, nos colmos das plantas de timbete e junto ao micélio, foram observadas poucas estruturas semelhantes a peritécios, porém de tamanhos menores e estéreis.

Apesar da referência de que as variedades de Gg são quase exclusivamente parasitas de *Graminae* (Scott, 1981), há relato de fungo com peritécios semelhantes aos de Ggg, com hifas em leque e hifopódios lobados, encontrado também em *Cyperaceae* (Walker, 1981).

De acordo com Turner (1951), citado por Nilsson & Drew Smith (1981), nos testes de inoculação em casa-de-vegetação, de dezenove espécies de gramíneas, utilizando três isolados de Gga, proveniente de aveia e três isolados de Ggt de trigo, nenhuma delas mostrou resistência a Gga. Apenas sete das gramíneas (*Agrostis stolonifera*, *Anthoxanthum*

odoratum, *Arrhenatherum elatius*, *Cynosurus cristatus*, *Dactylis glomerata*, *Holcus lanatus* e *Poa trivialis*) apresentaram menos que 50% do sistema radicular infectado e apenas quatro (*Alopecurus pratensis*, *Festuca elatior*, *Lolium multiflorum* e *L. perenne*) apresentaram mais de 50% das raízes seminais infectadas pelos isolados.

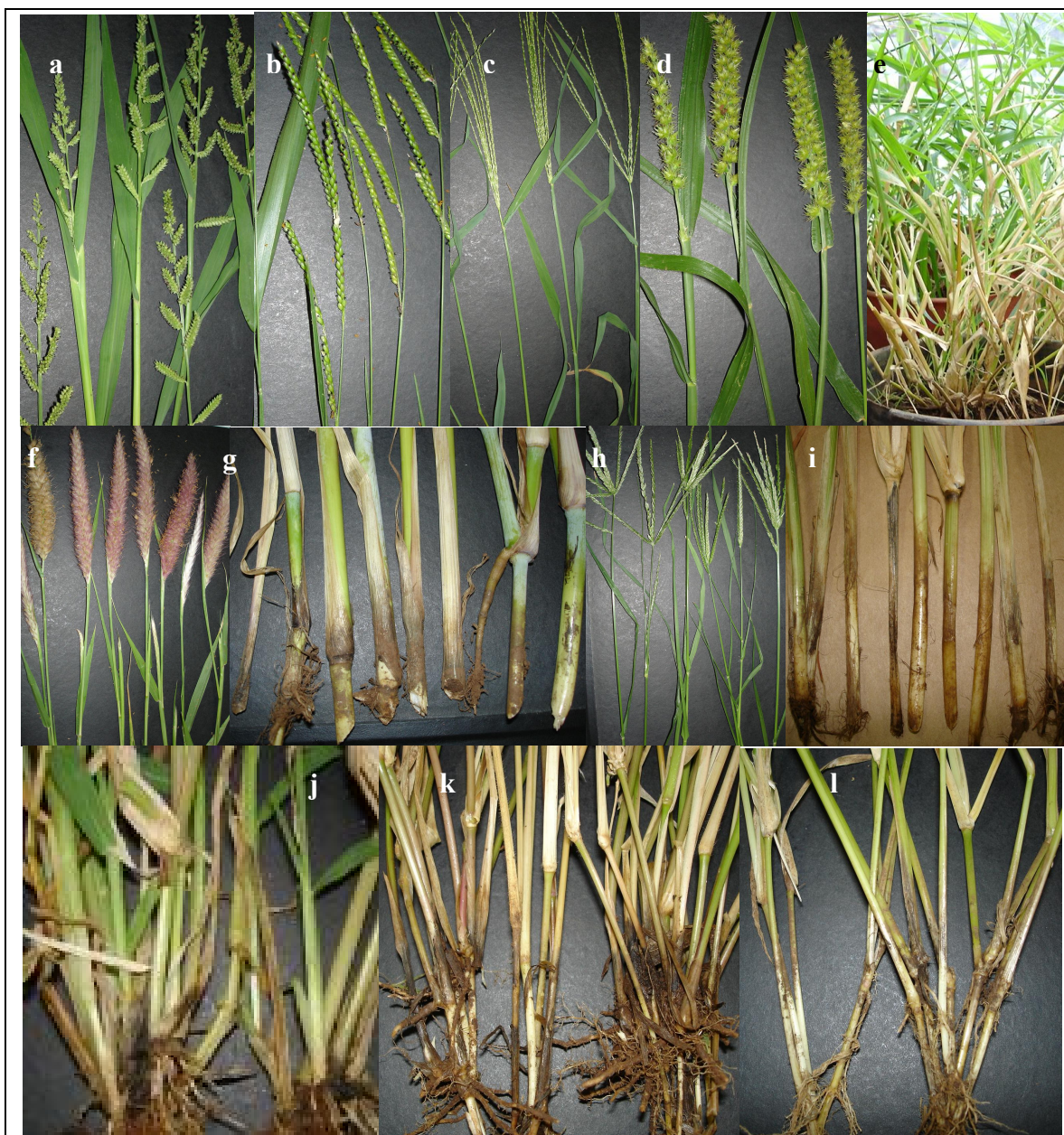


Figura 4 – Plantas de gramíneas inoculadas com *G. graminis* var. *graminis*. Capim arroz (a), capim braquiária (b), capim colchão miúdo (c), timbete (d), capim marmelada (e), capim avião (f) e capim pé-de-galinha (h). Sintomas de mal-do-pé em capim avião (g), capim pé-de-galinha (i), capim arroz (j), braquiária (k) e capim marmelada (l).

Em testes de patogenicidade, de cerca de trinta espécies de cereais e capins, com isolados de Ggt e Ggg, todos foram severamente infectados por Ggg, enquanto diferenças em suscetibilidade foram constatadas, com relação aos isolados de Ggt (Nilsson & Drew Smith, 1981). As espécies mais freqüentemente avaliadas quanto à suscetibilidade ao mal-do-pé da aveia (Gga) e trigo (Ggt) são cereais de inverno tais como trigo, cevada, aveia e centeio. Os testes efetuados através de diversas técnicas em diferentes cultivares, levam a concluir que o trigo é em geral mais suscetível, cevada pouco menos suscetível e centeio moderadamente resistente. A aveia é altamente resistente a muitos isolados de Ggt, e ao mesmo tempo é bastante suscetível a Gga e a outros isolados morfológicamente semelhante a Ggt e possivelmente também seja a Ggg. A evidência dessa generalização é fruto de numerosas publicações sobre o assunto (Scott, 1981). Outros cereais não são, na prática, afetados pelo mal-do-pé e testes experimentais têm mostrado que arroz, milho, milheto e sorgo são espécies altamente resistentes (Kirby, 1922, 1925; Foex, 1935; Gottlieb et al. 1958; Nilsson, 1969; Mielke, 1974).

No presente trabalho, considerando altura de lesão nas bainhas, na base dos colmos, trigo, aveia preta, sorgo e milho foram mais resistentes do que arroz ao isolado de Ggg, proveniente de arroz. Por outro lado, trigo foi altamente suscetível, levando em consideração a morte das plantas. As discrepâncias nos testes realizados por vários investigadores foram atribuídas à utilização de técnicas de inoculação e parâmetros de avaliação diferentes (Nilsson, 1969).

3.3. RESISTENCIA DE GENÓTIPOS DE ARROZ DE TERRAS ALTAS A *G. graminis* var. *graminis*

Os genótipos de arroz testados apresentaram diferenças em grau de resistência a Ggg, considerando altura de lesão no colmo, como critério de avaliação (Tabela 3). Ao contrário, os resultados obtidos por Prabhu & Filippi (2002), não apresentaram significância neste parâmetro, em teste de resistência relativa de doze genótipos de arroz irrigado, ao mesmo isolado utilizado neste trabalho. Os autores constataram, que todos os genótipos foram infectados pelo isolado de Ggg, apresentando reação de suscetibilidade ao patógeno.

TABELA 3 – Severidade de mal-do-pé em colmos de genótipos de arroz de terras altas, dezoito dias após a inoculação com isolado de *G. graminis* var. *graminis*, em casa-de-vegetação

Genótipo	Altura de Lesão (cm)	ARL (%) ³	Genótipo	Altura de Lesão (cm)	ARL (%) ³
CNAS10351 ¹	19,33 a ³	74,84	SCIA05 ²	15,48 abc	75,10
CNAS10367 ¹	18,28 ab	72,11	SCIA23 ²	15,45 abc	62,07
CNAS10363 ¹	18,25 ab	80,84	CNAS10369 ¹	15,39 abc	70,22
SCIA01 ²	17,83 ab	83,43	SCIA34 ²	15,33 abc	59,07
SCIA26 ²	17,78 ab	69,35	SCIA38 ²	15,33 abc	67,97
SCIA29 ²	17,50 ab	71,26	SCIA25 ²	15,06 abc	66,36
SCIA06 ²	17,36 ab	71,73	CNAS10366 ¹	14,89 abc	66,00
CNAS10356 ¹	17,00 ab	62,79	SCIA36 ²	14,89 abc	78,89
SCIA10 ²	16,94 ab	55,94	SCIA31 ²	14,72 abc	60,00
CNAS10362 ¹	16,94 ab	66,52	CNAS10359 ¹	14,58 abc	54,99
SCIA14 ²	16,94 ab	72,44	SCIA15 ²	14,45 abc	66,09
SCIA27 ²	16,83 abc	78,12	SCIA32 ²	14,22 abc	58,47
SCIA17 ²	16,83 abc	62,71	CNAS10352 ¹	14,22 abc	63,15
SCIA11 ²	16,78 abc	66,31	SCIA28 ²	14,11 abc	62,62
CNAS10364 ¹	16,63 abc	70,27	CNAS10360 ¹	14,08 abc	57,23
CNAS10353 ¹	16,61 abc	59,94	SCIA24 ²	13,83 abc	69,73
SCIA21 ²	16,45 abc	56,50	CNAS10368 ¹	13,45 abc	63,68
SCIA07 ²	16,39 abc	71,67	SCIA02 ²	13,45 abc	84,64
CNAS10361 ¹	16,33 abc	77,01	CNAS10354 ¹	13,45 abc	54,60
SCIA12 ²	16,22 abc	75,03	SCIA19 ²	13,39 abc	59,94
CNAS10356 ¹	16,00 abc	61,65	CNAS10357 ¹	13,11 abc	56,68
SCIA04 ²	15,87 abc	61,08	SCIA09 ²	12,89 abc	49,00
CNAS10358 ¹	15,81 abc	71,18	CNAS10370 ¹	12,78 abc	51,05
SCIA18 ²	15,78 abc	72,52	SCIA36 ²	12,61 abc	78,31
CNAS10365 ¹	15,72 abc	54,97	SCIA30 ²	12,33 abc	65,77
SCIA37 ²	15,72 abc	64,13	SCIA39 ²	12,16 abc	55,94
SCIA13 ²	15,61 abc	64,73	SCIA16 ²	9,44 bc	44,90
SCIA22 ²	15,61 abc	54,36	SCIA08 ²	7,50 c	54,88
SCIA40 ²	15,56 abc	56,81	Teste de F	1,65**	0,75 ^{NS}
SCIA20 ²	15,51 abc	73,90	C.V. (%)	18,06	26,74

¹Somaclone derivado da cultivar Araguaia; ²somaclone derivado da cultivar IAC 47; ³ARL = Altura relativa de lesão baseada na altura total do perfilho; ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F; ^{NS} Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F; As médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Não houve diferença, entre genótipos, considerando a altura relativa de lesão, como parâmetro de avaliação. Entre os genótipos avaliados, dois deles (SCIA16 e SCIA08) apresentaram altura de lesão significativamente menor, sendo considerados resistentes em relação ao genótipo CNAS10351, altamente suscetível. Os demais genótipos são considerados suscetíveis, com alturas de lesões intermediárias. Milhares de cultivares de

trigo, cevada ou centeio foram testados, em vinte países e segundo Nilsson (1969), nenhum desses mostrou alto grau de resistência ou imunidade, como apresentado pelo milho ou aveia para a maioria dos isolados de Ggt. Existem poucas evidências consistentes, quanto a diferenças em suscetibilidade de cultivares de trigo.

A altura média de lesão nos colmos das plantas dos genótipos testados, aos dezoito dias após a inoculação, foi de 15 cm, sendo que a maioria dos genótipos apresentou altura de lesão, entre quatorze e dezesseis centímetros, conforme mostra a distribuição de genótipos, de acordo com a altura de lesão nos colmos, apresentada na Figura 5.

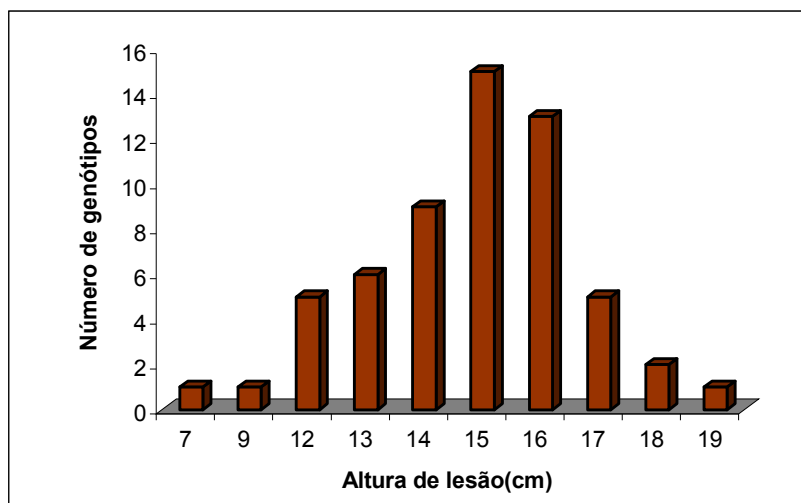


Figura 5- Distribuição de genótipos de arroz, de acordo com a altura de lesão no colmo, em inoculações artificiais com o isolado Ggg-a 01 de *G. graminis* var. *graminis*, aos dezoito dias após a inoculação.

O baixo grau de resistência dos genótipos de arroz testados no presente trabalho e sua utilidade na seleção de populações segregantes, no melhoramento genético, requer estudos mais detalhados e aprofundados. Sugere-se a realização de estudos, envolvendo o processo e a forma de infecção e colonização do patógeno, nas plantas hospedeiras.

4 CONCLUSÕES

- A incidência de mal-do-pé, nas condições de infecção, em lavouras de arroz de terras altas, foi maior que 68%, na fase final de ciclo;
- Diversos capins foram identificados como hospedeiros de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, nas condições naturais de infecção de mal-do-pé, em lavouras de arroz e possuem potencial, como hospedeiros colaterais, na perpetuação da doença;
- A patogenicidade de isolado de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* proveniente de arroz, em capins, foi comprovada em testes de inoculação;
- Cereais de inverno como trigo, aveia, centeio, cevada e triticale, bem como sorgo, milho e milheto, apresentam diferentes graus de suscetibilidade a isolado de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* proveniente de arroz;
- Foram observadas diferenças no grau de resistência de genótipos de arroz de terras altas, em testes de inoculação, com um isolado de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, proveniente de arroz.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROOKS, D. H. Wild and cultivated grasses as carrier of the take all fungus (*Ophiobolus graminis*). **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 55, p. 307-316, 1965.
- CHAMBERS, S. C.; FLENTJE, N. T. Studies on variation with *Ophiobolus graminis* in Australia. **Australian Journal of Biological Sciences**, Victoria, v. 20, p. 941-951, 1967.
- COOK, R. J.; HUBER, D.; POWELSON R. L. BRUEHL, G. W. Occurrence of take-all in wheat in the pacific northwest. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 52, n. 9, p. 716-718, 1968.
- CUNNINGHAM, P. C. Isolation and Culture. In: ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 103-123.
- CUNNINGHAM, P. C. **Disease and pathogen investigations of cereal foot and root rots**. 1966. 134 p. Thesis (Ph.D) - National University of Ireland, Dublin.
- DEACON, J. W. Further studies on *Phialophora radiculicola* and *Gaeumannomyces graminis* on roots and stem bases of grasses and cereal. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 63, p. 307-327, 1974.
- DEACON, J. W. Ecological relationships with other fungi: competitors and hyperparasites. In ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 75-101.
- DOMSCH, K. H.; GAMS. W.; ANDERSON, T. **Compendium of Soil Fungi**. London: Academic Press Ltd., 1980. 859 p.
- FOEX, E. Quelques observations sur les maladies du pied des cereals. **C. R. Hebd. Séanc. Acad. Agric. Fr.** v. 21, p. 501-505, 1935.
- GARRET, S. D. **"Pathogenic Root-infecting Fungi"**. Cambridge University Press, 1970. 294 p.
- GOTTLIEB, D.; DE HERNANDEZ, D. V.; ROGERS, M. The resistance of various grasses to *Ophiobolus graminis*. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 42, p. 26-29, 1958.
- HENRY, A. W.; MCKENZIE, A. R. Note on the comparative activity of monosporous and mycelialisolates of *Ophiobolus graminis* Sacc. From the same source as wheat pathogens in natural and sterilized soil. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 39, p. 405-407, 1959.
- HOLDEN, J. Infection of wheat seminal roots by varieties of *Phialophora radiculicola* and *Gaeumannomyces graminis*. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 8, p. 109-119, 1976.
- HORNBY, D. Methods of investigating populations of the take-all fungus (*Ophiobolus graminis*) in soil. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 64, p. 503-513, 1969.

KIRBY, R. S. The take-all disease of cereals and grasses. **Phytopathology**. St. Paul, v.12, p. 66-88, 1922.

KIRBY, R. S. **The take-all disease of cereals and grasses caused by *Ophiobolus cariceti* (Berkeley & Broome) Saccardo**. Ithaca: Cornell University Agricultural Experiment Station, 1925. 45 p. (Memoir, 88).

MATHRE, D. E. Gaeumannomyces. In: SINGLETON, L.L.; MIHAIL, J.D.; RUSH, C.M. (Ed.). **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: APS Press, 1992. p. 60-63.

MIELKE, H. Untersuchungen über die Anfälligkeit verschiedener Getreidearten gegen den Erreger der Schwarzbeinigkeit, *Ophiobolus graminis* Sacc. **Mitt. Biol. BundAnst. Ld-u. Forstw.**, Berlin Dahlem, v. 160, 1974, 61 p.

NILSSON, H. E. Studies of root and foot rot diseases of cereals and grasses. I. On resistance to *Ophiobolus graminis* Sacc. **Lantbruks-Högskolans Annaler**, Uppsala, v. 35, p. 275-807, 1969.

NILSSON, H. E. The occurrence of lobed hyphopodia on an isolate of the take-all fungus, "*Ophiobolus graminis* Sacc.", on wheat in Sweden. **Swedish Journal of Agricultural Research**, Stockholm, v. 2, p. 105-118, 1972.

NILSSON, H. E.; DREW SMITH, J. Take-all grasses. In: ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.) **Biology and Control of Take-all**. London: Academic Press Inc. 1981. p. 433-448.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. Ocorrência do mal-do-pé causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, uma nova enfermidade em arroz no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 4, p. 417-419, 2002.

PRESTES, A.M. Acerca de "mal-do-pé do trigo" (*Ophiobolus graminis*) no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA, 5.,1972, Fortaleza, CE. **Resumos...** Fortaleza:SBF, 1972.

REIS, E.M. **Doenças do trigo II – O mal-do-pé**. 2. ed. São Paulo: Ciba-Geigy, 1989, 15 p.

ROY, K. W.; ABNEY, T. S.; HUBER, D. M.; KEELER, R. Isolation of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* from soybean in the Midwest. **Plant Disease**, St. Paul, v. 66, p. 822-825, 1982.

SCOTT, P. R. Variation in host susceptibility. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 219-236.

SCOTT, P. R.; HOLLINS, T. W. Take-all. **Rep. Pl. Breed.Inst.**1979. p.87, 1980.

SKOU, J. P. Studies on the take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis*. I. Notes on taxonomy, nomenclature, morphology and identification of varieties. **K. Vet.-og Landbohøisk. Aarsskr.** p. 109-116. 1968.

WALKER, J. Taxonomy of take-all fungi and related genera and species. In: ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 15-74.

WALKER, J. Take-all diseases of *Gramineae*: a review of recent work. **Review of Plant Pathology**, Survey, v. 54, n. 3, p. 113-145, 1975.

WALKER, J. Type studies on *Gaeumannomyces graminis* and related fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 58, p. 427-457, 1972.

WARCUP, J. H. Studies on the occurrence and activity of fungi in a wheat-field soil. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 40, p. 237-259, 1957.

CAPÍTULO III

PROGRESSO E DISSEMINAÇÃO DO MAL-DO-PÉ CAUSADO POR *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, EM ARROZ DE TERRAS ALTAS

RESUMO

PEIXOTO, C.N. **Progresso e disseminação do mal-do-pé causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, em arroz de terras altas.** 2006. Cap. III, 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2006.¹

Foram estudados o progresso e disseminação do mal-do-pé do arroz, durante dois anos, em condições de campo em solo de cerrado. Utilizou-se delineamento experimental de blocos completos ao acaso e quatro repetições. Cada parcela foi constituída de dezenove linhas de sete e cinco metros, respectivamente no primeiro e segundo ano, com espaçamento de quarenta centímetros. Foi inoculada a linha central, de cada parcela, com isolado de Ggg para estabelecer os focos de disseminação da doença. O solo foi infestado com micélio em quatro níveis de inóculo (5,0, 10,0, 20,0 e 40,0 gramas de grãos de sorgo autoclavados e colonizados com micélio / 40 cm da linha) e perfilhos foram inoculados (4, 8, 16 e 32 perfilhos / 40 cm da linha), com pedaços de bainhas de arroz de dois centímetros de comprimento, contendo peritécios e micélio, inseridos entre o colmo e a bainha. Não houve efeito de níveis de inóculo na severidade da doença, tanto para micélio no solo, quanto para peritécios na planta, nos dois anos de experimento. Entretanto, a área total sob a curva de progresso da doença na safra 2002/2003 foi significativamente menor, nas plantas infectadas com peritécios do que nas plantas infectadas através de infestação do solo com micélio. A avaliação de incidência da doença, para análise do gradiente, foi baseada nos perfilhos contados em 1,6 metros quadrados, compostos de cinco linhas de quarenta centímetros de cada lado da fonte de inóculo, na linha central. A análise de gradiente, conforme modelos de Gregory (1968) e Kiyosawa & Shiyomi (1972), mostrou existência de gradiente no primeiro ano (2002/2003), tanto para níveis de inóculo, quanto para os focos provenientes dos dois tipos de inóculo. No segundo ano (2004/2005), não houve gradiente definido para os tratamentos testados. O progresso da doença não foi afetado pelos níveis, tanto na infecção do solo com micélio, quanto na planta com peritécios. Em teste de ajuste de modelo matemático para estudos epidemiológicos, os modelos de Gompertz e monomolecular são os que melhor descrevem o progresso da doença, nas condições de campo.

Palavras-chaves: Epidemiologia, análise de gradiente.

¹Orientador: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

ABSTRACT

PEIXOTO, C.N. **Progress and dissemination of mal-do-pé caused by *G. graminis* var. *graminis*, in upland rice.** 2006. Chapter III, 120 f. Thesis (Doctorate in Agronomy: Crop Sciences) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

The progress and dissemination of black sheath rot in rice was studied during two years under field conditions in savanna *sensu lato* ‘cerrado’. The central line of each plot was inoculated with isolate of Ggg to establish the infection foci. The soil was infested with four levels of inoculum (5.0; 10.0; 20.0 and 40.0 g of autoclaved sorghum grains containing mycelium / 40 cm) and main tiller of plants (4, 8, 16 and 32, tillers per plot / 40 cm) were inoculated with 2.0 cm-long detached leaf sheaths containing perithecia by insertion between the culm and leaf sheath of the tiller. There was no significant effect of inoculum level on the disease severity obtained by soil infestation with mycelium as well as the plants infected with perithecia. However, the total area under disease progress curve was significantly smaller for plant infection with perithecia than for soil infestation by mycelium, during 2002/2003. The evaluation of disease incidence for the analysis of gradients was based on infected tillers in 1.6 square meter area, five lines on either side of the inoculated 40 cm-long central line. The analysis according models of Gregory (1968) and Kiyosawa & Shiyomi (1972) showed the existence of gradients in the first year, both for levels of inoculum of soil infection by mycelium and plant infection with perithecia. In the second year (2004/2005), there was no well defined gradient for all the treatments. The disease progress was not affected by inoculum levels on soil or plant infections. Monomolecular and Gompertz models better described the disease progress under field conditions.

Key-words: Epidemiology, gradient analysis.

¹ Adviser: Dr. Anne Sitarama Prabhu. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás/GO.

1 INTRODUÇÃO

O mal-do-pé em arroz, causado por *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx. & Olivier var. *graminis*, foi constatado pela primeira vez no Brasil no ano agrícola 1997/98, em lavouras de terras altas, com irrigação suplementar, em vários municípios dos Estados de Goiás, Minas Gerais e Amazonas (Prabhu & Filippi, 2002). As lavouras afetadas apresentaram sintomas típicos da doença, na base de colmo, caracterizado por lesão escura, causando rápido amadurecimento de grãos e acamamento, dependendo da época de infecção, durante o desenvolvimento das plantas (Prabhu & Filippi, 1999).

Epidemias de mal-do-pé em trigo (*G. graminis* var. *tritici*) se desenvolvem a partir de duas fontes de inóculo, infecção primária proveniente do inóculo sobrevivente no solo, e infecção secundária proveniente de infecção já existente (Gilligan, 1983, 1985). A taxa de infecção primária é considerada uma medida de efetividade do inóculo, no solo, em causar doença na planta e a taxa de infecção secundária é uma medida de efetividade das raízes infectadas dispersarem a doença para outras raízes. A contribuição da infecção primária, na epidemia, depende da taxa de decomposição do inóculo (Brassett & Gilligan, 1989).

A compreensão da dinâmica temporal e espacial de epidemias de doenças de plantas é imprescindível para se efetuar o manejo dessas epidemias, se for considerado que o termo é definido como o aumento da doença, em tempo e espaço, numa população de plantas (Zadocks & Schein, 1979). O estudo epidemiológico de doenças é importante, embora maior ênfase tem sido dada para estudos de dinâmica temporal das epidemias, pois o progresso de doenças é freqüentemente a manifestação mais óbvia delas. Os aspectos espaciais, apesar de importantes, são geralmente menos óbvios e, conseqüentemente, pouco investigados com maior discernimento (Jeger, 1989, 1990). Campbell & Madden (1990) discutem a análise do desenvolvimento temporal e espacial de doenças e os métodos utilizados para o entendimento da dinâmica de epidemias e apresenta a escolha do modelo apropriado para descrever o progresso da doença, como um dos aspectos importantes da análise. Na análise temporal de doenças, a curva de progresso é a melhor representação de uma epidemia e a descrição de uma única curva de progresso pode fornecer informações úteis e importantes, acerca desta epidemia. Interpretar o formato dessas curvas e determinar seus componentes, bem como a

área total sob a curva de progresso (ASCPD), são imprescindíveis para o manejo adequado de doenças. Os modelos são ferramentas para comparar epidemias e, assim, distinguir variedades, tratamentos fungicidas, técnicas de manejo, bem como quantificar danos, perdas e o efeito do ambiente no desenvolvimento das doenças de plantas. Vários modelos matemáticos têm sido propostos para descrever o progresso de epidemias (Madden, 1980; Campbell, 1986; Campbell & Madden, 1990; Bergamin Filho, 1995; Jesus Junior et al., 2004). Para estudos do progresso de doenças, têm-se usado principalmente, modelos empíricos, dentre os quais o exponencial, o logístico, de Gompertz e monomolecular (Jesus Junior et al., 2004).

Curvas de progresso de mal-do-pé em trigo foram analisadas para cultivos consecutivos de trigo de inverno, comparado com primeiro e segundo cultivos de trigo, após rotação intercalada com feijão. O objetivo foi identificar diferenças nas curvas de progresso do mal-do-pé do trigo, atribuídas à rotação de culturas (Werker et al., 1991).

O modo de disseminação e o progresso de epidemia do mal-do-pé do arroz, nas condições de campo, nos solos de cerrado, são desconhecidos. Estes conhecimentos são importantes e têm valor aplicado para desenvolvimento de estratégias do manejo dessa enfermidade. O objetivo do presente trabalho foi estudar o papel da infestação, no solo, com micélio e da planta com peritécios do patógeno, na disseminação e progresso da doença mal-do-pé do arroz, em condições de campo, além de determinar a influência do tamanho do foco de infecção, no progresso vertical da doença.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos campos experimentais da Fazenda Capivara, utilizando irrigação suplementar, para estudar a disseminação e progresso de mal-do-pé do arroz, a partir de focos de infestação com micélio no solo e com peritécios na planta. Foi instalado em uma área de cerrado recém desbravado, onde o mal-do-pé ainda não havia sido constatado. O plantio foi feito na época chuvosa, sendo no dia 14 de novembro de 2002 para o primeiro ano (safra 2002/2003) e 04 de novembro de 2004 no segundo ano (safra 2004/2005).

Utilizou-se a cultivar de arroz de terras altas Bonança, ciclo precoce, e melhorada para qualidade de grãos. Cada parcela no primeiro ano foi constituída de dezenove linhas de sete metros de comprimento, espaçadas em quarenta centímetros, com área total de 53,2 m². No segundo ano, em virtude de falhas no plantio das sementes, a parcela foi reduzida para 19 linhas de cinco metros, com o mesmo espaçamento de quarenta centímetros, e área total de 38 m². A densidade de semeadura foi de noventa sementes por metro linear, e sementes foram tratadas com Thiamethoxan 700 ws, na proporção de 130 g/100 kg de sementes. A adubação foi feita no sulco, com 350 kg/ha da fórmula 5-30-15+Zn no primeiro ano e 300 kg/ha da fórmula 4-30-16 no segundo ano. Nos dois anos a adubação de cobertura foi realizada com 30 kg/ha de N, na forma de sulfato de amônio, aos 45 dias após o plantio. O plantio, nos dois anos de experimento, foi mecanizado e as práticas culturais, como controle de plantas daninhas e insetos, foram realizadas conforme recomendações para cultivo de arroz.

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

O delineamento experimental utilizado foi blocos completos ao acaso, com oito tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram formados com a combinação de duas formas de inoculação, consistindo de foco de infestação no solo com micélio do fungo em grãos de sorgo previamente colonizados com Ggg, e infecção na planta com micélio e peritécios presentes em pedaços de bainhas inseridas entre bainhas e colmos das plantas no campo. Foram utilizados quatro níveis de inóculo com micélio no solo (5,0; 10,0; 20,0 e 40,0 gramas de grãos de sorgo infestados com o patógeno) e quatro níveis de infecção na planta

com peritécios (4, 8, 16 e 32 perfilhos inoculados com pedaços de bainhas contendo micélio e peritécios).

2.2 INOCULAÇÃO NO CAMPO

O isolado Ggg-a 01 de *G. graminis* var. *graminis*, previamente multiplicado em grãos de sorgo autoclavados, foi utilizado para inoculação do solo no campo. Para estudar a disseminação horizontal e progresso vertical, a partir da fonte de inóculo, foram estabelecidos focos de infestação, na linha central da parcela. Os grãos de sorgo infestados foram dispostos no solo, próximos à base das plantas (5,0; 10,0; 20,0 e 40,0 gramas), em quarenta centímetros da linha e no centro da parcela.

Para estudar a disseminação a partir de plantas infectadas com peritécios, as inoculações das plantas foram realizadas com o mesmo isolado. Para obtenção de peritécios, plantas de arroz cultivadas em vasos de alumínio, com capacidade para dois quilogramas de solo, foram inoculadas com grãos de sorgo previamente infestados com o patógeno, aos 46 dias de idade e mantidas em casa-de-vegetação, sob condições de alta umidade. Após 32 dias da inoculação, as bainhas das plantas, contendo peritécios, juntamente com micélio, foram cortadas em pedaços, de aproximadamente dois centímetros de comprimento. Os focos de infecção com peritécios e micélio no campo foram estabelecidos, com pedaços de bainhas inseridos entre bainhas e colmos dos perfilhos das plantas (4, 8, 16 e 32 perfilhos). As plantas, no meio da linha central da parcela, na extensão de quarenta centímetros marcados previamente, foram utilizadas para inoculação com os quatro níveis de inóculo.

As plantas, tanto da infestação do solo com micélio, como peritécios na planta, foram inoculadas aos 55 e 48 dias de idade, respectivamente no primeiro e segundo ano de cultivo.

2.3 AVALIAÇÃO DA DOENÇA

A severidade foi avaliada em dez perfilhos pré-marcados por parcela, dentro da linha central, nos quarenta centímetros inoculados, que constituiu o foco. O critério de

avaliação da severidade de mal-do-pé, para estudos do progresso da doença, constituiu-se de altura de lesão no colmo, a partir da base da planta, em relação à altura total do perfilho. A medição da altura de lesão foi realizada com auxílio de régua milimetrada, considerando os sintomas reflexos ocasionados pelo patógeno, geralmente caracterizados pela morte dos tecidos e secamento de bainhas e folhas e não apenas o tamanho ou extensão da lesão escura característica, nos perfilhos marcados.

Em relação às plantas inoculadas com peritécios, em cada tratamento foram avaliados os dez perfilhos marcados, com exceção das parcelas com quatro e oito bainhas como inóculo. O mesmo critério utilizado para avaliação de plantas inoculadas com micélio no solo foi adotado para avaliação de plantas inoculadas com peritécios em bainhas.

A incidência da doença, para análise do gradiente de infecção, baseou-se no número de perfilhos, em quarenta centímetros de linha, nas dez linhas centrais da parcela, constituindo uma área de 1,6 metros quadrados. Todas as dez linhas, a partir da linha central inoculada, sendo cinco à direita e cinco à esquerda, foram avaliadas quanto à incidência da doença. A avaliação de todos os perfilhos colhidos, na extensão de quarenta centímetros, de cada uma das linhas, foi feita no laboratório, através de exame visual, com auxílio de uma lupa, com base no sintoma característico da doença ou presença de micélio e hifopódios do patógeno.

Os componentes de produção, tais como número de panículas, peso de panículas, porcentagem de grãos cheios basearam-se no número de perfilhos férteis nos quarenta centímetros da linha central inoculada.

2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados sobre a incidência e severidade da doença, bem como componentes de produção de grãos foram submetidos à análise de variância, correlação e regressão. A área total sob a curva de progresso da doença (ASCPD) foi utilizada para comparar os tratamentos e foi calculada de acordo com Campbell & Madden (1990), sendo os dados também submetidos à análise de variância e correlação com severidade.

O progresso do mal-do-pé, em relação ao tempo, foi determinado com base na severidade da doença, expressa pela altura relativa de infecção, em relação à altura máxima da

planta infectada, na linha central inoculada, de cada parcela. Foram testados os modelos empíricos: exponencial, logístico, de Gompertz e monomolecular, visando a escolha do modelo que melhor descreva ou se ajuste aos dados de progresso do mal-do-pé do arroz, no tempo. Para tal, foi adotada a metodologia descrita por Jesus Junior et al. (2004) e Campbell & Madden (1990). As ferramentas estatísticas, utilizadas para escolha do modelo apropriado, foram o coeficiente de determinação ajustado da análise de regressão (R^{*2}), o valor do quadrado médio dos resíduos e o gráfico dos resíduos padronizados, em função da variável independente. Foi escolhido o modelo que apresentou maior valor de R^{*2} , menor valor de QMR e gráfico de resíduos sem tendências e com valores mais próximos possíveis de zero.

A disseminação da doença, a partir do foco de infecção de plantas, resultante da quantidade de inóculo no solo e na planta, foi determinada através da análise de gradientes, utilizando os modelos de Gregory (1968) e de Kiyosawa & Shiyomi (1972). O progresso espacial do mal-do-pé na parcela, com plantas infectadas e disseminadas pelos ascósporos teve como base os dados de incidência da doença, em uma área de 0,8 metros quadrados, de cada lado do foco na linha central.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da severidade em função de diferentes quantidades de inóculo, são apresentados na Tabela 1. A severidade da doença aos 71 e 77 dias, após inoculação, não foi influenciada pelas quantidades de inóculo, nos dois anos de experimento. Estes resultados indicam que as quantidades menores de inóculo, como cinco gramas de grãos de sorgo infestado com micélio no solo e, quatro pedaços de bainhas com peritécios em plantas, são suficientes para infecção e disseminação do patógeno.

Tabela 1– Severidade de mal-do-pé em plantas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolado de *G. graminis* var. *graminis*, com diferentes níveis de inóculo em condições de campo

Tratamento	Ano I (2002/2003)	Ano II (2004/2005)	Análise conjunta
	Severidade ³ (%) (71 DAI ⁴)	Severidade ³ (%) (77 DAI ⁴)	Severidade ³ (%)
1 (sorgo 5g) ¹	53,428	54,530	53,979
2 (sorgo10g)	46,110	59,910	53,010
3 (sorgo20g)	49,788	67,470	58,629
4 (sorgo40g)	48,308	57,120	52,715
5 (bainha4) ²	40,687	52,265	46,475
6 (bainha8)	47,499	61,828	54,664
7 (bainha16)	51,089	59,558	55,324
8 (bainha32)	46,484	67,570	58,629
Teste de F	1,86 ^{ns}	0,93 ^{ns}	1,37 ^{ns}
C.V. (%)	11,67	19,08	16,22

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F;

¹Inóculo de *G. graminis* var. *graminis* multiplicado em grãos de sorgo autoclavados, em gramas, no solo;

² Inóculo representado por pedaços de bainhas de arroz contendo micélio e peritécios de *G. graminis* var. *graminis*, na planta;

³Severidade em porcentagem representada pela altura de lesão em relação a altura máxima do perfilho;

⁴DAI = Dias após a inoculação;

Foi mantida uma parcela sem inoculação como testemunha.

Os resultados, quanto à severidade da infecção aos 47 e 40 dias, após a inoculação e ASCPD nos dois anos de experimento são apresentados na Tabela 2. As diferenças de severidade não foram significativas, quanto aos níveis de inóculo, tanto para inoculação com micélio no solo, quanto para peritécios na planta. Entretanto, os tratamentos apresentaram

diferenças significativas quanto aos valores de ASCPD no primeiro ano, sendo os valores das inoculações de plantas com peritécios, em todos os níveis, menores do que as inoculações do solo com micélio. O parâmetro ASCPD é empregado, principalmente quando os dados de progresso da doença observados não se ajustam aos modelos logístico, monomolecular, Gompertz e exponencial, conforme Jesus Junior et al. (2004).

Tabela 2– Severidade e área sob curva de progresso da doença (ASCPD) mal-do-pé, em plantas de arroz da cultivar Bonança, em resposta a diferentes níveis de inóculo de *G. graminis* var. *graminis*, em 2002/2003 e 2004/2005

Tratamento	Ano I (2002/2003)		Ano II (2004/2005)	
	Severidade ³ (%) (47 DAI ⁴)	ASCPD ⁵	Severidade ³ (%) (40 DAI ⁴)	ASCPD ⁵
1(sorgo 5g) ¹	29,93	1393,28 ^a	14,41	1320,25
2(sorgo10g)	31,25	1316,52 ^a	15,31	1371,40
3 (sorgo20g)	32,19	1372,39 ^a	17,36	1523,33
4 (sorgo40g)	31,37	1343,17 ^a	16,35	1357,78
5(bainha4) ²	27,86	938,23 ^b	15,37	1186,77
6(bainha8)	28,20	974,26 ^b	15,37	1256,08
7 (bainha16)	30,15	1030,99 ^b	14,68	1239,51
8 (bainha32)	30,15	1008,44 ^b	15,84	1299,14
Média	30,14	1172,16	15,59	1319,28
Teste de F	0,70 ^{ns}	13,64**	15,59 ^{ns}	1,78 ^{ns}
C.V. (%)	11,92	9,23	12,02	11,71

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F;

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F;

¹Inóculo de *G. graminis* var. *graminis* multiplicado em grãos de sorgo autoclavados, em gramas, no solo;

² Inóculo representado por pedaços de bainhas de arroz contendo micélio e peritécios de *G. graminis* var. *graminis*, na planta;

³Severidade em porcentagem representada pela altura de lesão em relação a altura máxima do perfilho;

⁴DAI = Dias após a inoculação.

⁵ASCPD= Área sob a curva de progresso da doença;

Foi mantida uma parcela sem inoculação como testemunha.

A doença mal-do-pé do arroz não afetou os componentes de produção avaliados, como o número de panículas, porcentagem de perfilhos férteis, peso de panículas e porcentagem de grãos cheios, tanto no primeiro como no segundo ano de experimento (Tabela 3). Estes resultados mostraram que as inoculações feitas após 48 e 55 dias do plantio não afetaram, significativamente, nos componentes de produção da cultivar precoce Bonança, utilizada nos experimentos.

Tabela 3– Componentes de produção e severidade de mal-do-pé, em arroz da cultivar Bonança, inoculado com dois tipos e diferentes níveis de inóculo de *G. graminis* var. *graminis*, em condições de campo, nas safras 2002/2003 e 2004/2005

Tratamento	Panícula (número)	Perfilho fértil (%)	Peso/panícula (g)	Grãos cheios (%)	Severidade ¹ (%)
Ano I (2002/2003)²					
1 (sorgo 5g)	47,25	92,87	2,24	80,00	53,43
2 (sorgo10g)	36,75	91,18	2,20	76,63	46,11
3 (sorgo20g)	42,50	83,55	2,27	79,75	49,79
4 (sorgo40g)	36,00	90,82	2,32	80,38	48,31
5 (bainha4)	44,25	78,97	2,44	74,88	40,69
6 (bainha8)	43,25	91,09	2,44	78,00	47,50
7 (bainha16)	45,50	88,40	2,52	81,13	51,09
8 (bainha32)	54,00	93,07	2,61	81,50	46,48
Média	43,69	89,87	2,38	79,03	47,92
Teste de F	2,01 ^{ns}	1,05 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,71 ^{ns}	1,86 ^{ns}
C.V. (%)	18,57	6,81	12,16	7,00	11,66
Ano II (2004/2005)³					
1 (sorgo 5g)	47,00	90,84	1,53	77,63	54,53
2 (sorgo10g)	39,00	93,00	1,60	78,00	59,91
3 (sorgo20g)	40,00	86,99	1,59	72,75	67,47
4 (sorgo40g)	35,75	94,47	1,61	78,25	57,12
5 (bainha4)	36,00	90,53	1,43	66,63	52,27
6 (bainha8)	42,25	87,98	1,44	77,13	61,83
7 (bainha16)	37,00	94,14	1,75	75,75	59,56
8 (bainha32)	40,00	81,08	1,34	71,50	67,57
Média	39,63	91,13	1,53	74,70	60,03
Teste de F	1,17 ^{ns}	1,16 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,93 ^{ns}
C.V. (%)	17,37	5,51	24,21	19,58	19,09

^{ns} Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F;

¹Severidade em porcentagem representada pela altura de lesão em relação a altura máxima do perfilho, aos 71 e 77 dias após inoculação, respectivamente no primeiro e segundo ano;

² Colheita realizada aos 116 dias após o plantio e 71 dias após a inoculação com *G. graminis* var. *graminis*;

³ Colheita realizada 125 dias após o plantio e 77 dias após a inoculação com *G. graminis* var. *gramini*;

Foi mantida uma parcela sem inoculação como testemunha.

Foram comparados os modelos de Gregory (1968) e de Kiyosawa & Shiyomi (1972) para representar o gradiente de mal-do-pé nas laterais direita e esquerda da fonte de inóculo localizada na linha central da parcela, nos dois anos de experimento (Tabela 4). Os valores de inóculos iniciais (a) (Tabela 4) foram maiores nas parcelas inoculadas em relação a não inoculadas, em todos os níveis, tanto na infecção com micélio no solo como com peritécios na planta, demonstrando a eficiência de todos os níveis de inoculação.

Tabela 4 -Eficiência da fonte de inóculo de *G. graminis* var. *graminis* (a), inclinação do gradiente de mal-do-pé (b), em arroz da cultivar Bonança, estimados pelos modelos não lineares de Kiyosawa & Shiyomi e de Gregory, e respectivos coeficientes de determinação (R²) e quadrado médio do resíduo (QMR), nos dois lados da fonte de inóculo (lado esquerdo e direito), causada por diferentes níveis de inóculo do patógeno, em duas safras nas condições de campo

Ano I (2002 / 2003)										Ano II (2004 / 2005)									
Tratamento	Lado	Modelo								Tratamento	Lado	Modelo							
		(Kiyosawa & Shiyomi) $Y = a \cdot e^{(-bX)}$				(Gregory, 1968) $Y = a \cdot X^{-b}$						(Kiyosawa & Shiyomi) $Y = a \cdot e^{(-bX)}$				(Gregory, 1968) $Y = a \cdot X^{-b}$			
		a	b*10 ⁻⁴	R ²	QMR	a	b	R ²	QMR			a	b*10 ⁻⁴	R ²	QMR	a	b*10 ⁻³	R ²	QMR
Test.	Esq	25,156	6,400	0,02	0,139	45,322	0,143	0,078	0,130	Test.	Esq	72,057	-2,8	0,014	0,029	73,109	-4,08	0,0003	0,029
Test.	Dir	30,062	10,4	0,14	0,036	38,314	0,079	0,080	0,039	Test.	Dir	69,293	-11,5	0,46	0,008	47,008	-113,16	0,46	0,008
Sorgo 5g	Esq	104,83	46,1	0,81	0,026*	382,68	0,398	0,61	0,055	Sorgo 5g	Esq	75,721	-6,8	0,17	0,012	64,198	-53,05	0,11	0,013
Sorgo 5g	Dir	102,59	44,8	0,85	0,018*	461,64	0,439	0,83	0,022*	Sorgo 5g	Dir	71,582	7,3	0,20	0,011	91,739	72,20	0,20	0,011
Sorgo 10g	Esq	68,231	24,0	0,53	0,028	177,33	0,268	0,66	0,020	Sorgo 10g	Esq	84,449	0,8	0,001	0,025	94,405	26,09	0,01	0,024
Sorgo 10g	Dir	72,258	44,5	0,86	0,017*	345,91	0,452	0,90	0,013**	Sorgo 10g	Dir	90,581	13,9	0,24	0,033	116,024	89,33	0,10	0,039
Sorgo 20g	Esq	95,963	37,6	0,91	0,007**	354,99	0,379	0,93	0,005**	Sorgo 20g	Esq	78,068	7,2	0,08	0,032	115,401	102,78	0,16	0,029
Sorgo 20g	Dir	124,147	58,1	0,81	0,043*	664,84	0,511	0,63	0,083	Sorgo 20g	Dir	66,226	13,2	0,38	0,016	40,332	-140,87	0,43	0,014
Sorgo 40g	Esq	94,174	26,3	0,85	0,006*	236,86	0,266	0,88	0,005**	Sorgo 40g	Esq	91,098	7,4	0,67	0,010	120,412	79,06	0,78	0,001*
Sorgo 40g	Dir	95,702	28,7	0,99	0,000**	250,86	0,282	0,96	0,002**	Sorgo 40g	Dir	139,846	63,4	0,45	0,258	715,015	514,91	0,30	0,329
Test.	Esq	41,681	17,3	0,28	0,042	67,41	0,148	0,20	0,046	Test.	Esq	70,209	-11,0	0,24	0,021	57,952	-69,73	0,10	0,024
Test.	Dir	26,045	3,1	0,003	0,130	28,12	0,024	0,002	0,131	Test.	Dir	91,738	20,3	0,31	0,048	167,737	182,28	0,26	0,052
Bainha 04	Esq	56,787	40,4	0,83	0,018*	232,37	0,407	0,85	0,016*	Bainha 04	Esq	61,256	-13,3	0,48	0,010	43,580	-107,66	0,31	0,014
Bainha 04	Dir	47,442	23,8	0,61	0,019	120,29	0,262	0,74	0,013	Bainha 04	Dir	66,282	-7,4	0,16	0,015	55,582	-57,03	0,09	0,017
Bainha 08	Esq	65,83	63,9	0,94	0,013**	617,56	0,647	0,98	0,005**	Bainha 08	Esq	77,447	3,6	0,05	0,014	100,106	64,51	0,15	0,013
Bainha 08	Dir	49,445	18,0	0,86	0,003*	90,00	0,175	0,83	0,003*	Bainha 08	Dir	73,671	-6,1	0,11	0,015	57,620	-68,53	0,15	0,015
Bainha 16	Esq	58,482	11,0	0,09	0,060	109,93	0,164	0,22	0,052	Bainha 16	Esq	86,797	29,2	0,72	0,018	259,443	311,05	0,83	0,010*
Bainha 16	Dir	80,900	39,9	0,64	0,047	247,91	0,343	0,49	0,066	Bainha 16	Dir	92,021	11,5	0,36	0,013	132,585	108,28	0,32	0,013
Bainha 32	Esq	62,160	27,8	0,92	0,004**	146,28	0,256	0,79	0,009*	Bainha 32	Esq	80,215	-8,0	0,14	0,021	121,167	109,47	0,26	0,018
Bainha 32	Dir	68,611	38,7	0,76	0,025*	199,22	0,329	0,56	0,046	Bainha 32	Dir	62,533	-12,6	0,29	0,021	47,084	-93,72	0,16	0,025

** Equação significativa a ≤1,0% pelo teste de F;

* Equação significativa a ≤5,0% pelo teste de F;

Os resultados mostraram também a infecção natural de parcelas não inoculadas. Quanto maior o valor absoluto de (b) (Tabela 4), maior a inclinação do gradiente. Na inoculação com micélio no solo, os valores da inclinação do gradiente (b) decresceram com o aumento de nível de inóculo, tanto no lado esquerdo, como direito da fonte, para os dois modelos estudados, no primeiro ano de experimento (Figura 1). Na inoculação com peritécios na planta, os valores da inclinação do gradiente (b) não foram significativos, nem definidos (Tabela 4), conforme visualizado também na Figura 2.

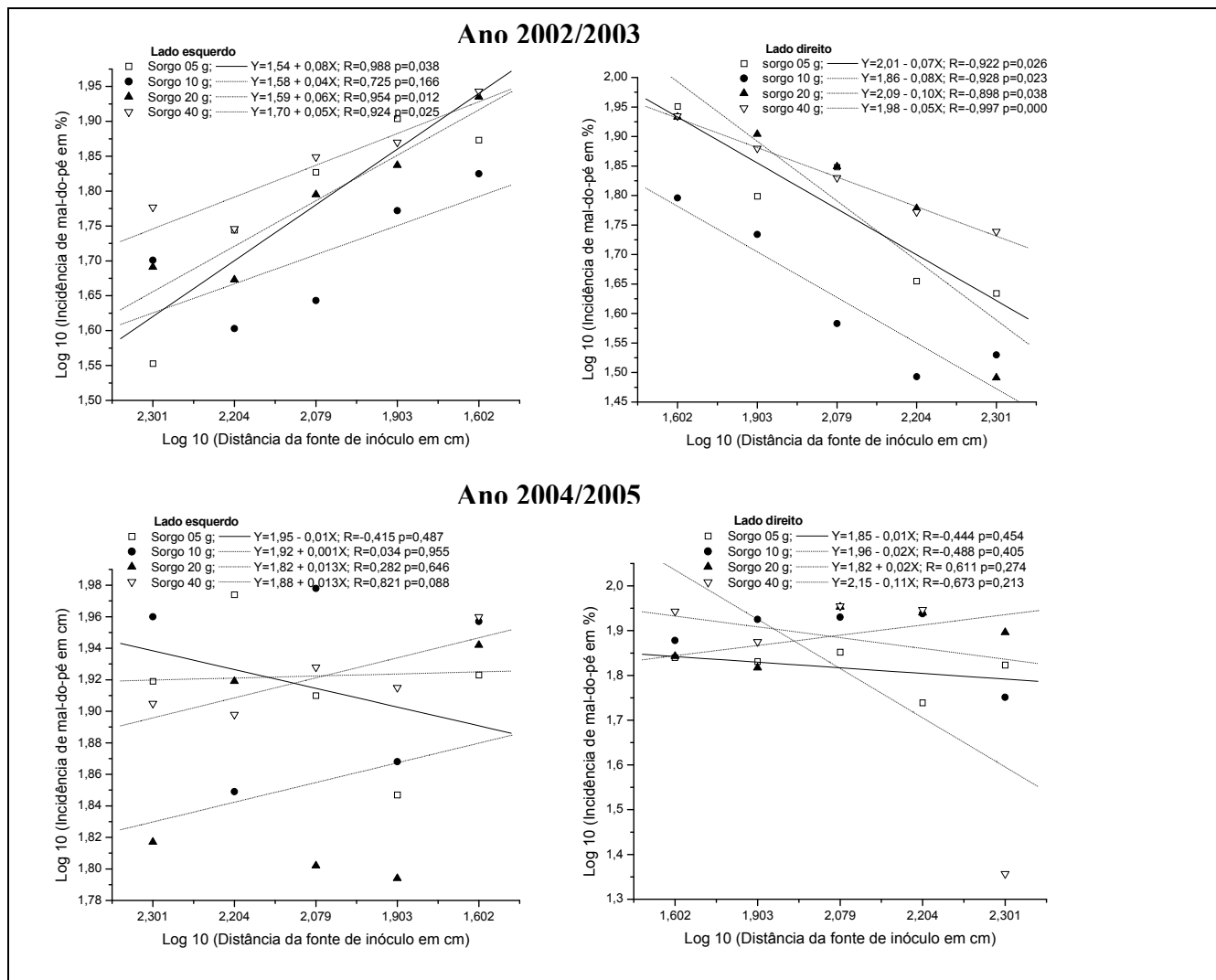


Figura 1 – Gradiente de infecção de mal-do-pé do arroz em plantas inoculadas no solo com *G. graminis* var. *graminis*, com quatro níveis de inóculo multiplicado em grãos de sorgo autoclavados, nas condições de campo, em duas safras.

Os resultados do segundo ano de experimento (safra 2004/2005), a partir dos focos ocasionados pelos dois tipos e diferentes quantidades de inóculo, tanto à esquerda quanto à direita, apresentaram baixos valores do coeficiente de determinação das retas (Figuras 1 e 2). Estes resultados demonstram a distribuição ao acaso dos propágulos de *Ggg* e que os resultados de infecção na planta por peritécios foram semelhantes aos obtidos com micélio no solo.

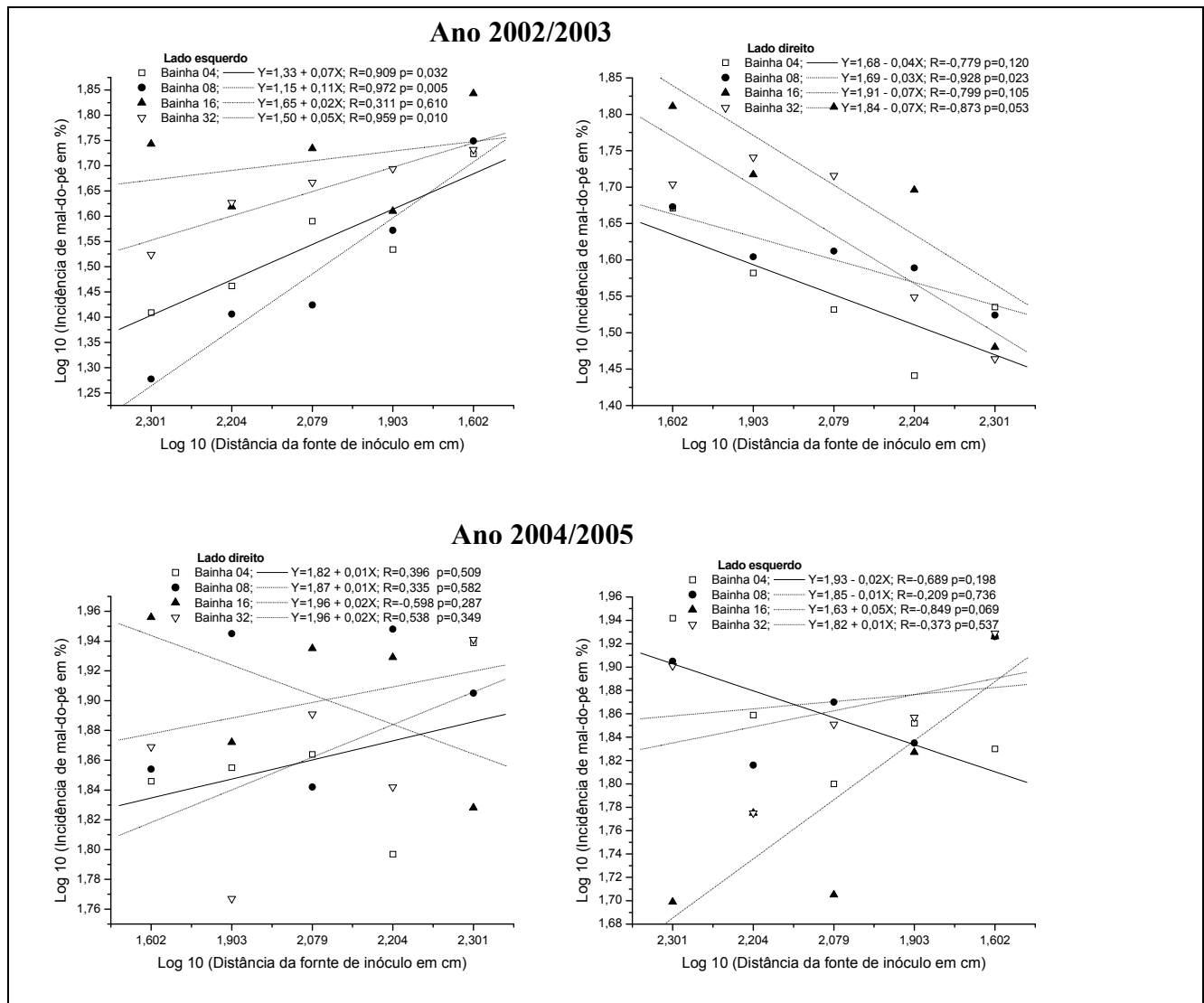


Figura 2— Gradiente de infecção de mal-do-pé do arroz em plantas inoculadas com *G. graminis* var. *graminis*, com quatro níveis de inóculo em pedaços de bainhas de arroz contendo peritécios e micélio do patógeno inseridos em perfilhos das plantas, em duas safras, nas condições de campo.

Os valores expressos pelos maiores coeficientes de determinação (R^2) e menor quadrado médio do resíduo (QMR) nas equações estimadas mostraram a existência de gradientes, a partir de focos de infecção no primeiro ano (Tabela 4 e Figuras 1 e 2), tanto nos focos provenientes dos dois tipos de inóculo, como nos níveis testados.

No segundo ano, não houve gradiente definido, possivelmente devido ao favorecimento de condições climáticas, para maior produção e disseminação de ascósporos, caracterizados como inóculo secundário, demonstrando a natureza policíclica da doença. O achatamento do gradiente primário de dispersão por inóculo secundário é relatado por Campbell & Madden (1990). Além do inóculo secundário, a presença de inóculo externo interfere na dispersão do inóculo utilizado, reduzindo a inclinação da reta e achatando o gradiente (Gregory 1968).

As curvas de progresso da doença, com relação ao tempo, proveniente de diferentes níveis de inóculo, são apresentados na Figura 3. A doença aumentou de maneira exponencial, igualmente nos níveis mais baixos e altos de inóculo, em resposta tanto à inoculação do solo com micélio, como de plantas com peritécios, nos dois anos de experimentos (Figura 3 A e B).

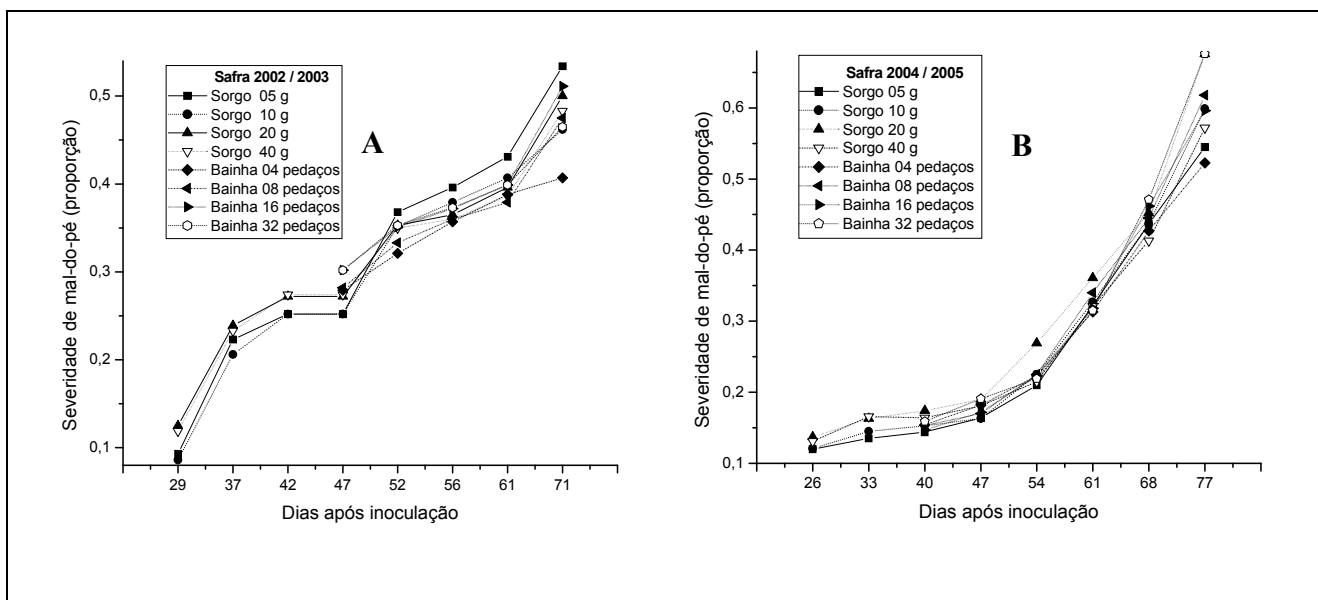


Figura 3 – Severidade de mal-do-pé em relação ao tempo, em plantas de arroz da cultivar Bonança, inoculadas com isolado de *G. graminis* var. *graminis*, através de diferentes níveis de inóculo, em condições de campo, nas safras 2002/2003 (A) e 2004/2005 (B).

Os resultados de análise, para escolha do modelo matemático, encontram-se na Tabela 5 e Figura 4. Os modelos de Gompertz e monomolecular apresentaram resultados, que descrevem o progresso de mal-do-pé do arroz, em plantas inoculadas da cultivar Bonança, tanto para infecção ocasionada por micélio no solo, como para peritécios na planta, em ambas as safras testadas. Os valores do coeficiente de determinação ajustado (R^{*2}) e do quadrado médio de resíduos (QMR) apresentados para os modelos de Gompertz e monomolecular foram:

Modelo de Gompertz:

Ano 1 – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $R^{*2}= 0,947$; QMR=1,003;

Ano 2 – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $R^{*2}= 0,926$; QMR=0,928;

Ano 1 – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $R^{*2}= 0,976$; QMR=1,06;

Ano 2 – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $R^{*2}= 0,929$; QMR=0,979;

Modelo Monomolecular:

Ano 1 – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $R^{*2}= 0,977$; QMR=0,026;

Ano 2 – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $R^{*2}= 0,745$; QMR=0,033;

Ano 1 – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $R^{*2}= 0,946$; QMR=0,03;

Ano 2 – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $R^{*2}= 0,862$; QMR=0,042;

As equações do modelo monomolecular e de Gompertz foram descritas para cada tipo de infecção, por ano de experimento, onde $\hat{Y}$ = severidade da doença estimada pelo modelo e y =severidade observada.

Equações do modelo de Gompertz:

Ano 1 (2002/2003) – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $\hat{Y} = -0,089+1,00y$;

Ano 2 (2004/2005) – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $\hat{Y} = -0,022+0,79y$;

Ano 1 (2002/2003) – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $\hat{Y} = 0,23+1,45y$;

Ano 2 (2004/2005) – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $\hat{Y} = 0,05+1,14y$;

Equações do modelo Monomolecular:

Ano 1 (2002/2003) – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $\hat{Y} = -0,406+0,61y$;

Ano 2 (2004/2005) – inoculação no solo com micélio em grãos de sorgo: $\hat{Y} = -0,032+0,90y$;

Ano 1 (2002/2003) – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $\hat{Y} = 0,24+0,96y$

Ano 2 (2004/2005) – inoculação na planta com peritécios em bainha de arroz: $\hat{Y} = 0,006+1,02y$;

Tabela 5 – Resumo dos resultados de regressões não lineares na avaliação de quatro modelos matemáticos usados para descrever o progresso de mal-do-pé do arroz, resultante de inoculação com isolado de *G. graminis* var. *graminis*, em diferentes níveis de inóculo nas condições de campo, em dois anos de experimento

Variável	Ano 1 Sorgo ¹				Ano 1 Balsa ²			
	Modelo				Modelo			
	Logístico	Monomolecular	Gompertz	Exponencial	Logístico	Monomolecular	Gompertz	Exponencial
R* ²	0,803	0,977	0,947	0,809	0,964	0,946	0,976	0,945
QMR*	34,16	0,026	1,003	32,83	33,86	0,03	1,06	32,00
Intercepto	-7,799	-0,226	-2,02	-7,572	-11,458	-0,293	-2,511	-11,165
Dpint	3,738	0,103	0,638	3,648	8,217	0,245	1,452	7,989
Inclinação	0,086	0,011	0,028	0,075	0,147	0,012	0,036	0,135
Dpinc	0,073	0,002	0,013	0,072	0,142	0,004	0,025	0,138
Variável	Ano 2 Sorgo				Ano 2 Balsa			
	Modelo				Modelo			
	Logístico	Monomolecular	Gompertz	Exponencial	Logístico	Monomolecular	Gompertz	Exponencial
R* ²	0,997	0,745	0,926	0,821	0,963	0,862	0,929	0,964
QMR*	33,40	0,033	0,928	31,980	33,210	0,042	0,979	31,640
Intercepto	-7,463	-0,334	-2,116	-7,129	-9,686	-0,663	-2,821	-9,023
Dpinterc	2,967	0,093	0,495	2,903	4,998	0,177	0,858	4,878
Inclinação	0,074	0,012	0,028	0,062	0,109	0,017	0,039	0,091
Dpinclin	0,056	0,002	0,009	0,054	0,084	0,003	0,015	0,082

¹Inóculo multiplicado em grãos de sorgo autoclavados; ² Inóculo em pedaços de balsa de arroz contendo micélio e peritécios;

R*²=Coeficiente de determinação ajustado, resultante da regressão entre os valores de severidade observados e previstos pelos modelos;

QMR* = Quadrado médio do resíduo resultante da regressão entre os valores de severidade observados e previstos por modelo;

Dpinterc = Desvio padrão do intercepto;

Dpinclin = Desvio padrão da inclinação.

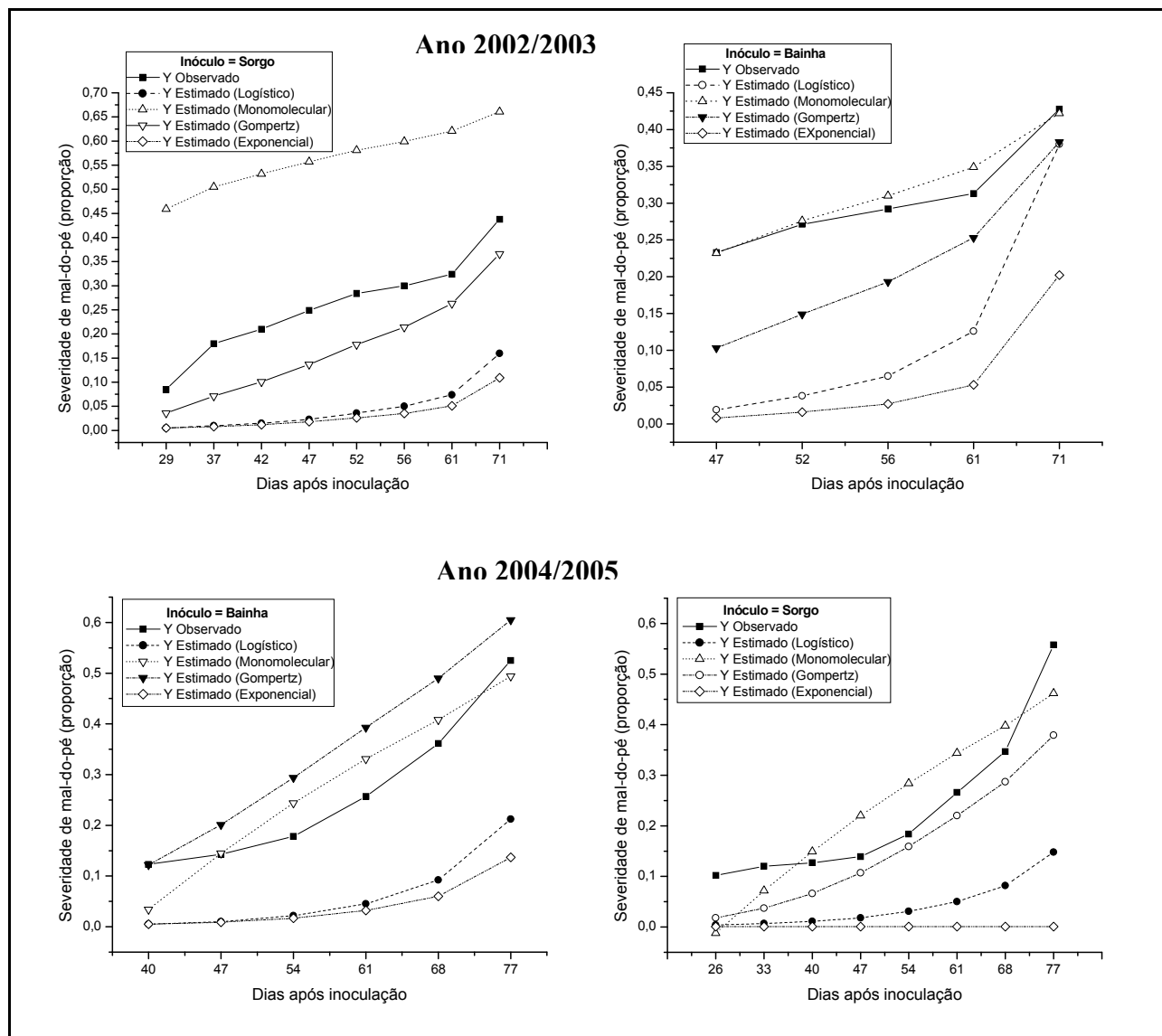


Figura 4— Severidade de mal-do-pé do arroz observada e estimada pelos modelos logístico, monomolecular, Gompertz e exponencial, em plantas da cultivar Bonança, em resposta a dois tipos de inoculação, no solo e na planta, com isolado de *G. graminis* var. *graminis*, em condições de campo, nas safras 2002/2003 e 2004/2005.

Os resultados obtidos reforçam a necessidade de mais estudos epidemiológicos para a compreensão da dinâmica espaço-temporal do mal-do-pé do arroz e, conseqüentemente, adequação de estratégias de manejo da doença, tendo em vista o caráter potencial dessa enfermidade.

4 CONCLUSÕES

- A severidade do mal-do-pé do arroz não difere, quando utilizados diferentes níveis de inóculo de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, tanto de micélio no solo, quanto de peritécios na planta;
- As inoculações com o patógeno, após 48 e 55 dias do plantio de arroz no campo, não afetam a produtividade da cultivar precoce Bonança;
- A doença mal-do-pé do arroz é disseminada tanto a partir da fonte de inóculo do patógeno na forma micélio no solo, quanto de peritécios na planta;
- O papel de peritécios de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* na disseminação da doença mal-do-pé do arroz foi comprovado no campo;
- Os gradientes da doença não são bem definidos, como esperado para uma doença de natureza monocíclica;
- A doença apresenta característica policíclica e aumenta de maneira exponencial em relação ao tempo de infecção;
- Os modelos monomolecular e Gompertz são os mais indicados para estudos epidemiológicos de mal-do-pé do arroz, em condições de campo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 602-626.
- BRASSET, P.R.; GILLIGAN, A. Fitting of simple models for field disease progress data for the take-all fungus. **Plant Pathology**, v. 38, p. 397-407, 1989.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York, John Wiley & Sons. 1990. 532 p.
- CAMPBELL, C.L. Interpretation and uses of disease progress curves for root diseases. In: LEONARD, K.J.; FRY, W.E. (Ed.). **Plant Disease Epidemiology: Population Dynamics and Management**. v. 1. New York, Macmillan, 1986. p. 38-54.
- GILLIGAN, C.A. modeling of soil-borne pathogens. **Annual Review of Phytopathology**. v. 21, p. 45-64, 1983.
- GILLIGAN, C.A. Construction of temporal models: III. Disease progress of soil-borne pathogens. In: GILLIGAN, C.A. (Ed.). **Advances in Plant Pathology**. v. 3, Mathematical Modelling of Crop Disease. 1985. London, Academic Press, p. 67-105, 1985.
- GREGORY, P.H. Interpreting plant disease dispersal gradients. **Annual Review of Phytopathology**. v. 6, p. 189-212, 1968.
- JEGER, M.J. The spatial component of plant disease epidemics. In: JEGER, J. (Ed.). **Spatial components of plant disease epidemics**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1989. p. 1-9.
- JEGER, M.J. Mathematical analysis and modeling of spatial aspects of plant disease epidemics. In: KRANZ, J. (Ed.). **Epidemics of plant diseases: Mathematical analysis and modeling**. 2. ed. Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p. 53-95.
- JESUS JUNIOR, W.C.; POZZA, E.A.; VALE, F.X.R.; MORA-AGUILERA, G. Análise temporal de epidemias. In: VALE, F.X.R.; JESUS JUNIOR, W.C.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Ed. Perffil, 2004. p. 127-191.
- KIYOSAWA, S.; SHIYOMI, M.A. A theoretical evaluation of the effects of mixing resistant variety with susceptible variety for controlling plant diseases. **Ann. Phytopathol. Soc. Jap.**, v. 38, p. 41-51, 1972.
- MADDEN, L.V. Quantification of disease progression. **Protection Ecology**. v. 2, p. 159-176, 1980.
- PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. Ocorrência do mal-do-pé causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, uma nova enfermidade em arroz no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. v. 27, n. 4, p. 417-419, 2002.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. Ocorrência do mal-do-pé, uma nova enfermidade em arroz, no Brasil. **Summa Phytopathologica**. v. 25, p. 33-34. 1999. (Resumo).

WALKER, J. Take-all diseases of *Gramineae*: A Review of Recent Work. **Review of Plant Pathology**, v.54, n. 3, p. 113-145, 1975.

WALKER, J. Taxonomy of Take-all Fungi and Related Genera and Species. In: ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.). **Biology and control of Take-all**. London: Academic Press Inc., 1981. p. 15-74.

WERKER, A.R.; GILLIGAN, C.A.; HORNBLY, D. Analysis of disease-progress curves for take-all in consecutive crops of winter wheat. **Plant Pathology**., v. 40, p. 8-24, 1991.

ZADOCKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and plant disease management**. New York: Oxford University Press, 1979. 427 p.

CONCLUSÕES GERAIS

- O fungo *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* ocorre em condições naturais de infecção.
- A incidência de mal-do-pé nas condições de infecção natural, em lavouras de arroz de terras altas, foi maior que 68%, na fase final de ciclo da cultura;
- Isolados de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* provenientes de arroz e capins são patogênicos a arroz.
- A patogenicidade de isolado de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* proveniente de arroz em capins foi comprovada em testes de inoculação;
- As plantas adultas de arroz são mais suscetíveis ao mal-do-pé do que as plântulas, em testes de inoculações.
- As plantas adultas de arroz não necessitam de níveis elevados de inóculo para infecção.
- A formação de peritécios de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* é obtida em bainhas inoculadas e em meio de cultura BDA.
- Clamidósporos de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* são obtidos após a germinação de ascósporos, nas condições de estresse hídrico.
- Ascósporos de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* são patogênicos a plantas de arroz.
- Diversos capins foram identificados como hospedeiros de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, nas condições naturais de infecção de mal-do-pé, em lavouras de arroz e possuem potencial como hospedeiros colaterais na perpetuação da doença;
- Cereais de inverno como trigo, aveia, centeio, cevada e triticale, bem como sorgo, milho e milheto,

apresentaram diferentes graus de suscetibilidade a isolado de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* proveniente de arroz;

- Foram observadas diferenças no grau de resistência de genótipos de arroz de terras altas, em testes de inoculação, com um isolado de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, proveniente de arroz.

- A severidade do mal-do-pé do arroz não difere, quando utilizadas diferentes quantidades de inóculo de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, tanto de micélio no solo quanto de peritécios na planta, em condições de campo;

- As inoculações com o patógeno após 48 e 55 dias do plantio de arroz no campo não afetam a produtividade da cultivar precoce Bonança;

- A doença mal-do-pé do arroz é disseminada tanto a partir da fonte de inóculo do patógeno na forma micélio no solo, quanto de peritécios na planta;

- O papel de peritécios de *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* na disseminação da doença mal-do-pé do arroz foi comprovado no campo;

- Os gradientes da doença no campo não são bem definidos, como esperado para uma doença de natureza monocíclica;

- A doença apresenta característica policíclica e aumenta de maneira exponencial em relação ao tempo de infecção;

- Os modelos monomolecular e Gompertz são os mais indicados para estudos epidemiológicos de mal-do-pé do arroz, em condições de campo, enquanto o modelo monomolecular é o mais indicado para estes estudos em casa-de-vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

- BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 602-626.
- BRASSET, P.R.; GILLIGAN, A. Fitting of simple models for field disease progress data for the take-all fungus. **Plant Pathology**, v. 38, p. 397-407, 1989.
- BRYAN, G.T.; DANIELS, M.J.; OSBOURN, A.E. Comparison of fungi within the *Gaeumannomyces - Phialophora* complex by analysis of ribosomal DNA sequences. **Applied Environmental Microbiology**, v. 61, n. 2, p. 681-689, 1995
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York, John Wiley & Sons. 1990. 532 p.
- CAMPBELL, C.L. Interpretation and uses of disease progress curves for root diseases. In: LEONARD, K.J.; FRY, W.E. (Ed.). **Plant Disease Epidemiology: Population Dynamics and Management**. v. 1. New York, Macmillan, 1986. p. 38-54.
- COOK, R. J.; HUBER, D.; POWELSON R. L. BRUEHL, G. W. Occurrence of take-all in wheat in the pacific northwest. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 52, n. 9, p. 716-718, 1968.
- DATNOFF, L. E.; ELLIOTT, M. L.; KRAUSZ, J. P. Cross pathogenicity of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* from Bermudagrass, St. Augustinegrass, and rice in Florida and Texas. **Plant Disease**, v. 81, n. 10, p.1127-1131, 1997.
- GERLAGH, M. Introduction of *Ophiobolus graminis* into new polders and its decline. **Meded. Lab. Phytopath.** n 241, 1968.
- GREGORY, P.H.; STEDMAN, O.J. Spore dispersal in *Ophiobolus graminis* and other fungi of cereal foot roots. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 41, p. 449-456, 1958.
- HORNBY, D. Inoculum. In: ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.). **Biology and control of Take-all**. London: Academic Press Inc., 1981. p. 271-293.
- IBGE –Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Brasil. 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatística/indicadores/agropecuária/lspa>. Acesso em 28 fev.2006.
- JEGER, M.J. The spatial component of plant disease epidemics. In: JEGER, .J. (Ed.). **Spatial components of plant disease epidemics**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1989. p. 1-9.
- JEGER, M.J. Mathematical analysis and modeling of spatial aspects of plant disease epidemics. In: KRANZ, J. (Ed.). **Epidemics of plant diseases: Mathematical analysis and modeling**. 2. ed. Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p. 53-95.

- JESUS JUNIOR, W.C.; POZZA, E.A.; VALE, F.X.R.; MORA-AGUILERA, G. Análise temporal de epidemias. In: VALE, F.X.R.; JESUS JUNIOR, W.C.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Ed. Perffil, 2004. p. 127-191.
- MADDEN, L.V. Quantification of disease progression. **Protection Ecology**. v. 2, p. 159-176, 1980.
- MATHRE, D.E. *Gaeumannomyces*. In: SINGLETON, L. L.; MIHAIL, J. D.; RUSH, C. M. (Ed.). **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**. St. Paul: APS Press, 1992. p. 60-63.
- NILSSON, H. E.; DREW SMITH, J. Take-all grasses. In: ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.) **Biology and Control of Take-all**. London: Academic Press Inc. 1981. p. 433-448.
- NILSSON, H.E. The occurrence of lobed hyphopodia on an isolate of take-all fungus, "*Ophiobolus graminis* Sacc.", on wheat in Sweden. **Swedish Journal of Agricultural Research**, Stockholm, v. 2, p. 105-118, 1972.
- PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. Ocorrência do mal-do-pé causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*, uma nova enfermidade em arroz no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. v. 27, n. 4, p. 417-419, 2002.
- PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C. Ocorrência do mal-do-pé, uma nova enfermidade em arroz, no Brasil. **Summa Phytopathologica**. v. 25, p. 33-34. 1999. (Resumo).
- PRESTES, A.M. Acerca de "mal-do-pé do trigo" (*Ophiobolus graminis*) no Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA, 5., 1972, Fortaleza, CE. **Resumos...** Fortaleza: SBF, 1972.
- PREW, R.D. **Studies of the spread, survival and control of Take-all and other foot and root diseases of wheat and barley**. 1977. Thesis (Ph.D) - University of London.
- REIS, E.M. **Doenças do trigo II – O mal-do-pé**. 2. ed. São Paulo: Ciba-Geigy, 1989, 15 p.
- SCOTT, P. R. Variation in host susceptibility. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 219-236.
- SCOTT, P. R.; HOLLINS, T. W. Take-all. **Rep. Pl. Breed. Inst.** 1979. p. 87, 1980.
- SHIPTON, P. J. Saprophytic survival between susceptible crops. In: ASHER, M. J. C.; SHIPTON, P. J. (Ed.). **Biology and control of take-all**. London: Academic Press, 1981. p. 295-316.
- SHIPTON, P.J. Take-all in spring-sown cereals under continuous cultivation: disease progress and decline in relation to crop succession and nitrogen. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 71, n. 1, p. 33-46, 1972.
- THOMAS, S.L.; RHODES, L.H.; BOEHM, M.J. Following the disease progression of an ectotrophic root-infecting fungus. **The Plant Health Instructor**. 2004. Disponível em <http://www.apsnet.org/education/Labexercises/RootInfectFungus/default.htm>. Acesso em 21 jul. 2006.

WALKER, J. Take-all diseases of *Gramineae*: A Review of Recent Work. **Review of Plant Pathology**, v.54, n. 3, p. 113-145, 1975.

WALKER, J. Taxonomy of Take-all Fungi and Related Genera and Species. In: ASHER, M.J.C.; SHIPTON, P.J. (Ed.). **Biology and control of Take-all**. London: Academic Press Inc., 1981. p. 15-74.

WALKER, J. Take-all diseases of *Gramineae*: a review of recent work. **Review of Plant Pathology**, Survey, v.54, n. 3, p. 113-145, Mar. 1975.

YOKOYAMA, L.P.; RUCATTI, E.G.; KLUTHCOUSKI, J. Economia da produção: conjuntura, mercados e custos. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A B.; SANT'ANA, E. P. (Ed.) **A Cultura do Arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p. 36-57.

ZADOCKS, J.C.; SCHEIN, R.D. **Epidemiology and plant disease management**. New York: Oxford University Press, 1979. 427 p.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O mal-do-pé em arroz, causado por *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) von Arx. & Olivier var. *graminis*, foi constatado pela primeira vez no Brasil, no ano agrícola 1997/98, em lavouras de terras altas com irrigação suplementar, em vários municípios de Goiás, Minas Gerais e Amazonas e, posteriormente, em arroz irrigado (Prabhu & Filippi, 2002). As lavouras afetadas apresentaram sintomas típicos da doença na base de colmo caracterizado por lesão escura, causando rápido amadurecimento de grãos e acamamento, dependendo da época de infecção durante o desenvolvimento das plantas (Prabhu & Filippi, 1999).

As espécies de *Gaeumannomyces* são todas parasitas de raízes, coroa e porções inferiores de colmos e bainhas de *Gramineae* e *Cyperaceae* (Walker, 1981). A variedade mais conhecida e estudada no mundo é *G. graminis* var. *tritici*, agente causal do mal-do-pé do trigo ou “Take-all disease”, principal enfermidade radicular do trigo (*Triticum aestivum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare* L.). Juntamente com *G. graminis* var. *avenae* (Turner) Dennis, agente causal do mal-do-pé da aveia (*Avena sativa* L.) e que ocasionalmente também infecta outras gramíneas, inclusive trigo e cevada, constituem as três variedades de maior importância do gênero (Walker, 1975; Mathre, 1992). Bryan et al (1995) citam também a variedade *G. graminis* var. *maydis*. As características morfológicas que distinguem as variedades principais são o tamanho dos ascósporos e a forma dos hifopódios (Mathre, 1992), que são órgãos de fixação e penetração encontrados na hifa do fungo e são produzidos abundantemente por *Gaeumannomyces* no micélio que recobre a base do colmo das plantas infectadas ou em cultura pura *in vitro* (Walker, 1975; Walker, 1981). As variedades Ggt e Gga produzem hifopódios simples sobre a superfície do tecido hospedeiro, enquanto Ggg produz tanto hifopódios simples como lobados, hialinos ou marrons. Quanto ao tamanho dos ascósporos, Gga possui os maiores comprimentos (65-176 µm) enquanto Ggt apresenta ascósporos de 27 a 124 µm de comprimento (Walker, 1975) e Ggg de 75 a 105 µm (Domsch et al., 1980; Walker, 1981; Datnoff et al., 1993).

O agente causal do mal-do-pé do arroz (*G. graminis* var. *graminis*), variedade tipo de *G. graminis*, tem sido relatado como *Ophiobolus oryzinus* e *Ophiobolus graminis*

como sinonímia, sendo sua ocorrência relatada por diversos autores em países dos seguintes continentes: África, Ásia (Índia, Japão, Malásia, Filipinas e Sri Lanka), América (América do Norte e do Sul), Oceania (Austrália e Nova Guiné) e Europa (Itália e Suécia) (Walker, 1981). O anamorfo de *G. graminis* muitas vezes não é observado, mas envolve a produção de fialósporos e tem sido relacionado com *Phialophora* spp. Conídios são encontrados, freqüentemente, em cultura de Ggt e nunca em tecidos hospedeiros naturalmente infectados, sendo desconhecido o seu papel (Mathre, 1992).

Muitos isolados de Ggg são considerados patógenos fracos, causando poucos danos aos hospedeiros infectados e alguns podem até ser utilizados como agentes de controle biológico, na proteção de gramíneas e cereais contra o ataque de Ggt e Gga (Walker, 1981). Na Suécia, Nilsson (1972) obteve isolados morfológicamente semelhantes a Ggg, provenientes de solo cultivado com trigo, mas altamente patogênicos à plantas de trigo, em teste de inoculação artificial. Estudos de inoculações cruzadas de Ggg, entre isolados de arroz, de *Stenotaphrum secundatum* (Walter) Kuntze e *Cynodon dactylon* (L.), realizados em condições controladas, mostraram patogenicidade aos três hospedeiros. Um dos isolados de arroz causou maior severidade na base das bainhas e nas raízes das plantas de arroz inoculadas, comparado com os outros isolados, tanto de arroz quanto de gramíneas, indicando existência de diferenças na patogenicidade entre isolados (Datnoff et al., 1997).

A sobrevivência saprofítica de algumas espécies de *Gaeumannomyces*, provavelmente ocorra através de micélio dormente ou estruturas de repouso (Garret, 1972). Em Ggt, como a produção de esporos é rara, tanto de origem sexual como assexual, a partir de micélio em hospedeiro infectado ou na matéria orgânica do solo, é sugerido que a sobrevivência possa ocorrer através de estruturas perenes de resistência, tais como esclerócios (Shipton, 1981). Hornby (1981) relata o desenvolvimento de clamidósporos e microesclerócios de Ggt *in vitro* após adição de 5 a 10% de ácido clorídrico ao meio de cultura, embora não haja informação da ocorrência destas estruturas na natureza. Não há relatos na literatura sobre o modo de sobrevivência de Ggg através de estruturas de resistência.

Os ascósporos de Ggg podem ser liberados no ar através de mecanismos ativos de ejeção das ascas. No campo, é necessário 0,25 mm de chuva para a liberação de

ascósporos (Gregory & Stedman, 1958). Em estudos realizados em trigo com Ggt, a significância epidemiológica de ascósporos não foi determinada, embora tenha sido detectada a presença dessas estruturas no ar. Gerlagh (1968), Prew (1977) e Thomas et al. (2004) consideraram a infecção de trigo através de ascósporos pouco importante e que os ascósporos não possuem papel significativo na disseminação da doença, em condições de campo. Ao contrário, o aumento de mal-do-pé em trigo e cevada no sul da Inglaterra, foi atribuído por Shipton (1972) à infecção por ascósporos. Gerlagh (1968) também relatou infecção espontânea em plantas sadias de trigo em casa-de-vegetação, atribuída a infecção causada através de ascósporos. Observações preliminares do mal-do-pé do arroz, em condições de casa-de-vegetação, indicaram a possibilidade de disseminação do patógeno através de ascósporos. Entretanto, não há informação sobre o papel dos ascósporos de Ggg na disseminação do fungo.

Embora o patógeno Ggg seja mais conhecido como causador do mal-do-pé do arroz, provavelmente encontra-se amplamente espalhado no mundo inteiro, relacionado às estações quentes e úmidas particularmente em países tropicais e subtropicais, como parasitas de *Gramineae* e *Cyperaceae* (Domsch et al., 1980; Walker, 1981), associado com raízes, coroas e parte basal de colmos, bainhas e estolões. O fungo tem sido encontrado infectando plantas dos gêneros *Aristida*, *Avena*, *Axonopus*, *Bromus*, *Chloris*, *Cynodon*, *Microlaena*, *Molinia*, *Oryzae*, *Paspalidium*, *Pennisetum*, *Phalaris*, *Stenotaphrum*, *Stipa*, *Triticum* e *Zizania*, observados em infecção natural ou artificial (Walker, 1981). Cook et al., (1968) citam *Bromus* spp., *Festuca* spp., e *Medicago sativa* como hospedeiros alternativos do patógeno e responsáveis pela sua perpetuação. Capins são hospedeiros comuns de Gg e seu papel como disseminadores de mal-do-pé do trigo é de considerável importância (Nilsson & Drew Smith, 1981). No Brasil, estudos com mal-do-pé do trigo foram desenvolvidos principalmente por Prestes (1972) e Reis (1989).

O fungo Gg é quase exclusivamente parasita de gramíneas, embora existam relatos ocasionais sobre a ocorrência em outras famílias (Scott, 1981) e em algumas condições é capaz de sobreviver na superfície de raízes de espécies não gramíneas. Segundo Nilsson (1969), mais de 350 espécies de gramíneas apresentam algum grau de suscetibilidade ao patógeno. Os gêneros *Triticum*, *Agropyron* e *Hordeum* são considerados os mais suscetíveis enquanto os gêneros *Phleum*, *Poa* e *Zea* se encontram entre os mais

resistentes a Ggt. O maior número de hospedeiros, no entanto, é relatado para Gga, sendo os hospedeiros de Ggg pouco estudados. A ocorrência natural de Ggg foi relatada em arroz e gramíneas como *Pennisetum* e *Stenotaphrum*, nas condições tropicais (Walker, 1972). Nilsson (1972) estudou um isolado proveniente de trigo e morfológicamente similar a Ggg, apresentando hifopódios lobados, que apresentou alta patogenicidade para trigo, cevada, aveia, centeio e milho. Scott & Hollins (1980), relataram diferenças consistentes de resistência entre cultivares hexaplóides de trigo, em experimentos conduzidos durante três anos em condições de campo. Cultivares de trigo com suscetibilidade reduzida são consideradas adequadas para melhoramento genético (Nilsson, 1972). A tolerância ao mal-do-pé do trigo foi observada em gramíneas que permaneciam sadias, mesmo em campos de produção de trigo altamente atacados com a doença (Kirby, 1925). Brooks (1965) também observou gramíneas provenientes de campos de aveia severamente atacados por mal-do-pé, que apesar do sério comprometimento do sistema radicular, não mostravam sintomas aparentes em suas partes aéreas. Para a variedade Ggt, a forma de colonização superficial ou com penetração do fungo em raízes, bem como o crescimento, o número e a função das raízes afetadas, são fatores que influenciam a suscetibilidade ou tolerância do hospedeiro à doença. Entretanto, a variabilidade apresentada nesses estudos, tem dificultado a padronização dos resultados sobre resistência ou suscetibilidade de gramíneas, especialmente em condições de campo (Nilsson & Drew Smith, 1981).

Testes de resistência varietal foram realizados por Prabhu & Filippi (2002), utilizando doze genótipos de arroz irrigado e o isolado de arroz (Ggg-a 01), multiplicado em grãos de milheto autoclavados. Os resultados mostraram que todos os genótipos testados apresentaram reação de suscetibilidade. Não há informação em relação ao grau de resistência de genótipos de arroz de terras altas a Ggg, para a utilização como fonte de resistência, no melhoramento genético.

Epidemias de mal-do-pé em trigo se desenvolvem a partir de duas fontes de inóculo, infecção primária proveniente do inóculo sobrevivente no solo, e infecção secundária proveniente de infecção já existente (Gilligan, 1983, 1985). A taxa de infecção primária é considerada uma medida de efetividade do inóculo no solo em causar doença na planta e a taxa de infecção secundária é uma medida de efetividade das raízes infectadas dispersarem a doença para outras raízes. A contribuição da infecção primária na epidemia

depende da taxa de decomposição do inóculo (Brassett & Gilligan, 1989).

A compreensão da dinâmica temporal e espacial de epidemias de doenças de plantas é imprescindível para se efetuar o manejo dessas epidemias, se for considerado que o termo é definido como o aumento da doença, em tempo e espaço, numa população de plantas (Zadocks & Schein, 1979). O estudo epidemiológico de doenças é importante, embora maior ênfase tenha sido para estudos de dinâmica temporal das epidemias, pois o progresso de doenças é freqüentemente a manifestação mais óbvia de epidemias. Os aspectos espaciais, apesar de importantes, são geralmente menos óbvios e, conseqüentemente, pouco investigados com maior discernimento (Jeger, 1989, 1990). Campbell & Madden (1990) discutem a análise do desenvolvimento temporal e espacial de doenças e os métodos utilizados para o entendimento da dinâmica de epidemias, sendo a escolha do modelo apropriado para descrever o progresso da doença, um dos aspectos importantes da análise. Na análise temporal de doenças, a curva de progresso é a melhor representação de uma epidemia. A descrição de uma única curva de progresso pode fornecer informações úteis e importantes acerca da epidemia. Interpretar o formato dessas curvas e determinar seus componentes, bem como a área sob a curva de progresso, são imprescindíveis para o manejo adequado de doenças. Os modelos são ferramentas para comparar epidemias e, assim, distinguir variedades, tratamentos fungicidas, técnicas de manejo, bem como quantificar danos, perdas e o efeito do ambiente no desenvolvimento das doenças de plantas. Vários modelos matemáticos têm sido propostos para descrever o progresso de epidemias (Madden, 1980; Campbell, 1986; Campbell & Madden, 1990; Bergamin Filho, 1995; Jesus Junior et al., 2004). Para estudos do progresso de doenças têm-se usado principalmente modelos empíricos, dentre os quais o exponencial, o logístico, de Gompertz e monomolecular (Jesus Junior et al., 2004).

Curvas de progresso de mal-do-pé em trigo foram analisadas para cultivos consecutivos de trigo de inverno, comparados com primeiro e segundo cultivos de trigo após rotação intercalada com feijão. Os autores tinham como objetivo, identificar diferenças nas curvas de progresso do mal-do-pé do trigo, atribuídas à rotação de culturas (Werker et al., 1991).

O modo de disseminação e o progresso de epidemia do mal-do-pé do arroz, nas condições de campo nos solos de cerrado, são desconhecidos. Estes conhecimentos são

importantes e têm valor aplicado para desenvolvimento de estratégias do manejo dessa enfermidade.

No presente trabalho são relatados aspectos biológicos e de patogenicidade de Ggg, agente causal do mal-do-pé do arroz, informações sobre hospedeiros e resistência de genótipos de arroz a Ggg, o papel da infestação no solo, com micélio e na planta com peritécios do patógeno, na disseminação e progresso da doença, em condições de campo, além da influência do tamanho do foco de infecção no progresso vertical da doença.