

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**RESISTÊNCIA DO TRIGO À BRUSONE, MANEJO
QUÍMICO E DIVERSIDADE DE *Magnaporthe grisea***

ANA PAULA DA SILVA PAGANI

2011

ANA PAULA DA SILVA PAGANI

**RESISTÊNCIA DO TRIGO À BRUSONE, MANEJO
QUÍMICO E DIVERSIDADE DE *Magnaporthe grisea***

Dissertação apresentada ao Departamento
de Fitopatologia, do Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade de Brasília
como requisito para a obtenção do título de
Mestre em Fitopatologia.

Orientador

Prof. Adalberto Corrêa Café Filho

BRASÍLIA

DISTRITO FEDERAL- BRASIL

2011

Dissertação de Ana Paula da Silva Pagani, intitulada RESISTÊNCIA DO TRIGO À BRUSONE, MANEJO QUÍMICO E DIVERSIDADE DE *MAGNAPORTHE GRISEA*, apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Fitopatologia junto ao Departamento de Fitopatologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, em 31 de outubro de 2011, sob a orientação do Prof. Dr. Adalberto Corrêa Café-Filho. Com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES. Defendida e aprovada pela banca examinadora abaixo assinada:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Adalberto Corrêa Café Filho

Universidade de Brasília

Prof (a). Dr (a). Marisa Álvares da Silva Velloso Ferreira

Universidade de Brasília

Dr. Alexei Campos Dianese

Embrapa Cerrados

Suplente: Luiz Eduardo Bassay Blum – Universidade de Brasília

Aos meus pais, irmãos e ao meu noivo Gilberto
que tanto os amo!

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sou tua ovelha Senhor, ora mansa, ora agitada, não permita que eu me perca do teu caminho, mas se eu me perder, por favor, meu Deus venha me encontrar.

Aos meus pais Carlos Roberto Pagani e a minha mãe Maria Jose da Silva Pagani e irmãos Luiz Carlos Pagani e Adriano J. Pagani, às minhas cunhadas e sobrinhos, pela força e incentivo.

Com todo o carinho deste mundo, agradeço ao meu noivo Gilberto pelo amor, carinho, compreensão e por estar sempre ao meu lado em todos os momentos.

Em especial aos meus orientadores Adalberto Café e Dr. Alexei Dianese, pela ajuda, compreensão, paciência, dedicação e incentivo comigo durante todo o mestrado, pois fostes bem mais que orientadores são meus bondosos amigos.

Ao Dr. Márcio Elias pela permissão de realizar os trabalhos moleculares em seu âmbito de trabalho, pela confiança depositada em mim, e pelos ensinamentos adquiridos contigo, agradeço profundamente a ti, pois sem seu apoio parte deste trabalho não teria realizado. Agradeço também por disponibilizar a sua equipe de trabalho para ajudar-me. Tenho muito a agradecer à Bruninha, ao Pedro e à Lorena pela imensa boa vontade de me auxiliar.

A todos os professores do departamento de Fitopatologia pelos ensinamentos.

Ao Césinha pela imensa boa vontade e ajuda nos experimentos em campos e laboratoriais. E pela nossa amizade adquirida durante o curso.

Ao pessoal do galpão de trigo no CPAC que são muito queridos, obrigada pelas boas gargalhadas, ajuda e pelos momentos maravilhosos que passamos, sentirei muitas saudades de vocês: José Carlos, Dominginho, Domingão, Genivaldo, Júlio, Laís, Leinha, Maninho, Gaú e ao Santiago. E todos os assistentes que me ajudaram muito nos trabalhos de campo, que são muitos para serem citados. A vocês toda a felicidade do mundo.

A empresa Coacris por ter colaborado para a minha vida acadêmica no início de tudo.

Aos amigos Andressa, Érica, Maíra, Mariana, Liamar, Cecília, Claudênia, Jéssica, Daniel, Guilherme e Ricardo, a todos um grande abraço, sentirei muitas saudades de vocês!

Em especial ao meu amigo Justino pela ajuda incessante na Embrapa Cenargen, pelas boas conversas e conselhos.

Ao amigo José pela ajuda na análise estatística dos dados e pela boa companhia.

Ao César e ao Ari representantes da empresa Agronelli- Silício por disponibilizarem seus materiais para realização do experimento em campo.

A galerinha do alojamento da Embrapa Cerrados, a vocês amigos boa sorte. A Jaqueline, Roberta, Inês, Priscila, Elian, a Gislane e Lisiane pela amizade e forças quando estava desanimada.

Agradeço a Embrapa Cerrados, Cenargen e Embrapa Trigo, as quais disponibilizaram a infra-estrutura para o desenvolvimento científico da presente pesquisa.

À Universidade de Brasília –UnB pela oportunidade de realização do curso

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES pela ajuda financeira.

E todos aqueles que de alguma forma contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

Sumário

RESUMO GERAL	11
DISSERTATION ABSTRACT.....	12
REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
O Trigo: origem e evolução.....	14
Importância do Trigo	15
Importância econômica e social do trigo no Brasil	15
A Brusone do Trigo	16
Taxonomia e Morfologia do Patógeno	17
Sintomatologia da brusone do trigo.....	18
Epidemiologia da brusone do trigo.....	20
Ciclo da Doença.....	22
Controle da Doença	23
Uso do Silício e do Fosfito no manejo da brusone de trigo.....	25
Marcadores Microsatélites.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
CAPÍTULO 1: Avaliação de genótipos de trigo comum e sintético visando resistência e tolerância à brusone em condições de campo no Cerrado.....	44
RESUMO	44
ABSTRACT	45
INTRODUÇÃO.....	46
MATERIAL & MÉTODOS	47
Origem dos genótipos.....	48
Delineamento e manejo dos Experimentos	48
Sistema de Irrigação	49

Avaliação dos genótipos quanto à reação à brusone	49
Determinação das perdas da produção	50
Análise estatística	50
RESULTADOS	51
Reação dos genótipos à brusone em 2011	51
Correlação entre incidência e perdas	53
Reação dos genótipos à brusone em 2010	54
DISCUSSÃO	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
CAPÍTULO 2: Avaliação de fungicidas sintéticos, resistência parcial e produtos alternativos para o manejo da brusone do trigo.....	80
RESUMO.....	83
ABSTRACT	81
INTRODUÇÃO.....	85
MATERIAL & MÉTODOS	85
Área Experimental.....	85
Avaliação da eficiência de silicatos para o manejo da brusone em duas cultivares de trigo com níveis diferentes de resistência à brusone	86
Avaliação do fosfito e de fungicidas químicos para o manejo da brusone do trigo ...	86
Variáveis avaliadas e análise estatística	87
RESULTADOS & DISCUSSÃO	88
Avaliação da eficiência de silicatos para o manejo da brusone em duas cultivares de trigo com níveis diferentes de resistência.....	88
Avaliação do fosfito e de fungicidas sintéticos para o manejo da brusone do trigo...	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

CAPÍTULO 3: Variabilidade genética de isolados de <i>Magnaporthe</i> associados à brusone do trigo e do arroz.....	102
RESUMO	102
ABSTRACT	102
INTRODUÇÃO.....	103
MATERIAL & MÉTODOS	104
Obtenção e seleção dos isolados.....	104
Produção de micélio para extração de DNA	105
Extração e quantificação do DNA	105
Genotipagem usando marcadores microsatélites	105
Análise Estatística	106
RESULTADOS & DISCUSSÃO.....	107
CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

**RESISTÊNCIA DO TRIGO À BRUSONE, MANEJO
QUÍMICO E DIVERSIDADE DE *Magnaporthe grisea***

RESUMO GERAL

A brusone do trigo, causada pelo fungo *Magnaporthe grisea*, embora de ocorrência esporádica devido às exigências climáticas específicas, tais como alta umidade e temperatura é uma doença muito severa, acarretando em elevadas perdas de produtividade. O Capítulo 1 desta dissertação descreve a reação de 147 genótipos de trigo comum e sintético à doença em condições de campo, visando resistência e tolerância à brusone. Tolerância foi definida como resiliência quanto à produção, mesmo com reação suscetível. A intensidade da doença variou entre os plantios, sendo baixa em 2010 e elevada incidência em 2011. A grande maioria dos materiais avaliados foi suscetível à doença. Apenas 3,4% dos genótipos apresentaram reação de resistência (incidência nas espigas menor que 5 %), enquanto outros 16 % dos genótipos foram moderadamente resistentes. Genótipos resistentes incluem Melchior, Safira, Jesuita, CASW94Y00116S (ciclo médio) e Trintecinco (ciclo longo). Os materiais de ciclo curto foram os que apresentaram os maiores percentuais de doença nas espigas. Com relação à tolerância, destacaram-se os materiais BH1146 e PF909 (ciclo curto) e África 43 (ciclo médio). O Capítulo 2 teve como objetivo verificar a eficiência de fungicidas sintéticos e de métodos alternativos de controle da brusone do trigo, em quatro experimentos de campo. Dois experimentos, análogos e repetidos em 2010 e em 2011, examinaram o efeito de aplicações de silicato de Ca e Mg em duas cultivares de trigo com diferentes níveis de resistência de campo à brusone, BRS-264 (Altamente Suscetível) e BR-18 Terena (Moderadamente Resistente). Foram determinadas a incidência e a severidade da brusone (utilizando uma escala de notas). Dois outros experimentos, análogos e instalados nas mesmas épocas, examinaram o efeito de aplicação de fosfito de K e de fungicidas sintéticos no controle da doença na cv. BR-264. No ano de 2010 a intensidade média da doença foi bastante inferior que a observada em 2011, mas a cv. BR-18 apresentou consistentemente menor incidência e severidade em 2010 e 2011, respectivamente. Em 2010 foi encontrada interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os genótipos e a aplicação de Si quanto à incidência de brusone e apenas BRS-264 apresentou significativa redução da incidência com aplicações de Si, via sulco ou via foliar. Quanto à severidade em 2010, não houve interação genótipo e Si, e menores severidades também foram observadas com Si via sulco e via foliar. No ano de 2011 não houve interação significativa ($p > 0,05$) entre genótipos e Si, e a aplicação de Si via foliar resultou em menores severidades da

doença. Com relação ao uso de fosfito e de fungicidas, em 2010, todos os tratamentos apresentaram controle superior à testemunha ($p \leq 0,05$) tanto para incidência quanto para severidade. Em 2011, a aplicação de fosfito resultou em resposta intermediária, não se distinguindo dos tratamentos com fungicidas sintéticos nem da testemunha ($p > 0,05$). Em média, os fungicidas apresentaram apenas 34 % de controle da brusone. No Capítulo 3, estimou-se a diversidade genética de 40 isolados monospóricos de *Magnaporthe* de trigo e de arroz, coletados na região central do país. Foram empregados 25 marcadores microssatélites com fluorescência para a genotipagem. A análise filogenética separou dois grandes grupos, um constituído apenas por isolados oriundos de cultivares de trigo e outro de apenas de cultivares de arroz. A similaridade genética entre os isolados de *M. grisea* provenientes de plantas de arroz e de trigo foi de apenas 3 %. Em conclusão, este estudo indica que fontes de resistência ou tolerância a brusone são raras no germoplasma de trigo, embora alguns materiais potencialmente úteis tenham sido identificados. Além disso, constata-se que o controle atual da brusone do trigo no Cerrado necessita da integração de várias ferramentas de manejo, uma vez que as opções químicas, genéticas e alternativas apresentaram apenas efeitos parciais em condições ambientais favoráveis. Por fim, este trabalho indica diferenças fundamentais entre os isolados de trigo e de arroz, o que sugere significativo isolamento genético e possível origem filogenética distinta entre essas populações.

DISSERTATION ABSTRACT

Wheat blast, caused by *Magnaporthe grisea*, is a severe disease, causing significant yield losses. The disease occurs sporadically, due to specific climatic conditions, such as high temperature and humidity. Dissertation Chapter 1 describes the field reaction of 147 wheat lines and commercial cultivars to blast, aiming to identify disease resistance and tolerance (i.e., yield resilience in susceptible genotypes). Disease intensity varied among years, was low in 2010 and very high in 2011. The great majority of genotypes was susceptible to the disease. Only 3.4 % were resistant (ear incidence < 5 %), while another 16 % were classified as moderately resistant. Resistant genotypes included Melchior, Safira, Jesuita, CASW94Y00116S (intermediate cycle) and Trintecinco (late maturing cycle). Early maturing genotypes had the highest disease incidence in the ears. Genotypes BH1146 e PF909 (early) and África 43 (intermediate) were distinguished as

tolerant. Chapter 2 aimed to estimate the efficiency of synthetic fungicides and alternative methods of wheat blast control, by means of four field experiments. Two similar experiments, replicated in 2010 and 2011, examined the effect of Ca and MG silicates in two wheat cultivars with different levels of field resistance to blast, BRS-264 (Highly Resistant) and BR-18 Terena (Moderately Resistant). Blast incidence and severity (with a disease scale) were determined. Two other separate experiments, carried out concurrently in 2010 and 2011, investigated the effect of K phosphite and fungicide applications on disease control in cv. BRS-264. Overall disease intensity was much lower in 2010 than in 2011, but cultivar BR-18 consistently displayed lower incidence and severity values in 2010 and 2011, respectively. In 2010, a significant ($p \leq 0.05$) interaction was found between genotypes and Si for incidence, and only BRS-264 showed a significant incidence reduction by Si applications via planting furrow or via leaf applications. For severity in 2010, there was no genotype x Si interaction and lower severities were again observed by Si applications in the planting furrow or by foliar applications. In 2011, no significant ($p > 0.05$) genotype x Si interaction was found, and foliar Si applications resulted in lower disease severity. In the fungicide-phosphite experiment, in 2010 all treatments reduced disease component to the non-treated control plots ($p \leq 0.05$), both in incidence and severity. In 2011, the K phosphite treatment was intermediate, not significantly different from synthetic fungicides, nor from the untreated control. ($p > 0.05$). Overall, synthetic fungicides were not rather inefficient for wheat blast control, reducing disease levels by only 34 %. Finally, Chapter 3 estimated the genetic diversity among 40 monosporic wheat and rice isolates of *Magnaporthe grisea*, collected in commercial fields in the Brazilian Mid-West. Twenty-five fluorescent microsatellite markers were employed for genotyping and the filogenetic analysis separated two great groups, one comprising only isolates from wheat and another with only rice isolates. Genetic similarity among *Magnaporthe grisea* isolates collected on rice or wheat plants was only 3 %. In conclusion, this study indicates that sources of resistance or tolerance to blast are relatively rare in the wheat germoplasm, even if some potentially promising materials have been identified. Furthermore, these data shows that present control of wheat blast in the Brazilian Mid-West necessitates the integration of several complementary methods, once no single chemical, genetic or alternative option is sufficient for disease control in climate conditions conducive to the disease. Finally, this work indicates fundamental differences among wheat and rice

isolates, suggesting genetic isolation and a probable distinct phylogenetic origin of these two populations.

REFERENCIAL TEÓRICO

O trigo: origem e evolução

O trigo pertence à família *Poaceae* (gramínea), tribo *Triticeae*, subfilo *Triticum* e espécie *Triticum aestivum* L., sendo esta a mais cultivada em todo o mundo. É uma planta que possui ciclo anual, hermafrodita, autógama e é uma das mais abundantes fontes de carboidratos e proteínas. Acredita-se que a domesticação ocorreu nas lavouras primitivas do Sudeste da Ásia entre 7000 a 9000 a.C. (Schereeren, 1986; Brammer *et al*, 2000, Moraes-Fernandes, 2000; Patnaik & Khurana, 2001).

As espécies do gênero *Triticum* possuem o número básico de sete cromossomos, com diferentes níveis de ploidia, incluindo espécies diplóides ($2n=14$, genoma AA), tetraplóides ($2n=28$, genomas AABB) e hexaploides ($2n=42$, genomas AABBDD). As espécies cultivadas comercialmente em grande escala são do tipo hexaplóide *Triticum aestivum* L., sendo esse o mais comum cultivado em todo o mundo e possui três genomas distintos e o tipo duro tetraplóide *Triticum turgidum* L. (Jauhar 1993; Moraes-Fernandes 1982).

Frente à baixa variabilidade genética dentro do taxon hexaplóide *Triticum aestivum*, algumas espécies robustas geneticamente e afins ao trigo cultivado aparecem como alternativas para a busca de genes de resistência à brusone (Cruz *et al.*, 2010). O trigo denominado sintético, que é o resultado do cruzamento entre uma espécie tetraplóide AABB e outra diplóide DD, originando um híbrido estéril ABD com 21 cromossomos. O embrião resultante desse cruzamento deve passar por cultivo *in vitro*, após a fertilização, para evitar a degeneração do endosperma. Posteriormente, é feita a aclimatização da plântula gerada e o tratamento com colchicina duplicando o número de cromossomos (42 cromossomos, AABBDD), daí então a fertilidade é restaurada, denominando-se o material resultantes de trigo sintético, representando a síntese artificial de uma linhagem hexaplóide. Este processo de cruzamento sob condições controladas reproduz artificialmente o processo ocorrido naturalmente para a origem do

trigo hexaplóide (Moraes-Fernandes, 1985; 2000). Esses genótipos de trigo sintético podem conter novos genes capazes de conferir resistência às doenças que atingem a cultura do trigo, conforme já identificados em estudos visando fontes de resistência à ferrugem (Almeida *et al.*, 2007, Fernandes *et al.*, 2000) e ao oídio (Fernandes *et al.*, 2000)

Importância do trigo

O trigo é uma planta adaptada às mais diversas regiões do mundo. Grãos de trigo, milho (*Zea mays*) e arroz, contêm 75% dos carboidratos e 50% das proteínas importantes para alimentação humana. O trigo se mostra o mais nutritivo entre esses três cereais e é uma excelente fonte de proteínas, carboidratos, fibras e minerais (Gill, 2010). Depois de transformado em farinha possui inúmeras finalidades, na fabricação de pães, biscoitos, macarrão, bolacha, bolos, confeitarias, entre outros, e é um produto fundamental para a alimentação humana.

Importância econômica e social do trigo no Brasil

As estatísticas apontam que a produção de trigo no mundo concentra-se atualmente em torno de 669,5 milhões de toneladas e a União Européia é a maior entidade produtora de trigo do mundo, (com destaques para a França, Alemanha, Reino Unido e Polônia, respectivamente), seguido pelos países como a China, Índia, Rússia, Estados Unidos entre outros (USDA, 2011).

Segundo o oitavo levantamento de acompanhamento de safras de grãos, realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), a safra do trigo 2011/12 é de 5,3 milhões de toneladas (oscilando entre 5 a 6 milhões de toneladas). A produção interna ainda é inferior à demanda, girando esta em torno de 10 milhões de toneladas, das quais aproximadamente 6,2 milhões de toneladas são importadas principalmente da Argentina. Contudo, por razões econômicas, o Brasil exporta cerca de 1,1 milhões de toneladas (Conab, 2011, Embrapa, 2011; Usda 2011; Usda 2011b).

No Brasil a produção de trigo concentra-se principalmente na Região Sul, com destaque para os estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, responsáveis por 90 % da produção total nacional. No entanto, a cultura vem se expandindo rapidamente para as regiões centrais do País, em especial para os estados de Minas

Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Goiás (Lima, 2004). A produtividade média por hectare é de 2.736 Kg/ha (Conab, 2011).

A brusone do trigo

A produção de trigo é limitada por aproximadamente 91 doenças de origem biótica ou abiótica, incluindo bactérias, fungos, nematóides e vírus registrados em diversos países do mundo, que reduzem significativamente a produtividade, bem como, a qualidade fisiológica e sanitária das sementes (Murray, 2010). Os fungos constituem uns dos principais causadores de doença nessa cultura, pois esses podem entrar por meio de aberturas naturais ou ferimentos na planta ou através da penetração direta na epiderme da planta (Murray, 2010). Dentre estas destaca-se a brusone do trigo causada por *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr./ anamorfo *Pyricularia grisea* (Cook) Sacc. Este patógeno é descrito como causador de severas doenças em gramíneas, em especial nas culturas de arroz e trigo, mas também pode infectar outros cereais para consumo humano e gramíneas forrageiras.

A brusone é uma doença importantíssima na cultura do arroz e foi descoberta desde 1.637 na China e no Japão (Bedendo & Prabhu, 2005). No entanto, a brusone do trigo, também chamada de branqueamento da espiga, é uma doença recente para a ciência tendo sido detectada pela primeira vez no Brasil no estado do Paraná em meados da década de 80 (Igarashi, *et al.*, 1986). Rapidamente a brusone disseminou-se para novas áreas. Desde então, tem ocasionado grandes prejuízos aos produtores de trigo. A doença ocorre com maiores frequências no norte do Paraná, Rio Grande do Sul, São Paulo, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Goulart, 2000; Goulart, 1990; Anjos, 1996).

De acordo com Torres *et al.* (2009) a brusone está presente, além do Brasil, em áreas do Paraguai e da Bolívia, causando danos irreparáveis nas culturas de trigo. Quatro anos após a sua descoberta pela primeira vez no Brasil no ano de 1985, causou danos graves nos campos de trigo do Paraguai. Em 2007 a doença foi registrada em campos de trigo na Argentina, com 100% de incidência de plantas infectadas na área (Cabrera & Gutiérrez, 2007; Perelló *et al.*, 2011). Além do Paraguai e Argentina também esta presente no Uruguai e Bolívia (Urashima, 2010b). A forte intensidade com que a brusone vem se manifestando nas lavouras de trigo no cerrado brasileiro e nas principais

regiões produtoras tem preocupado tanto a comunidade científica nacional quanto internacional. Recentemente na safra 2009/2010, a ocorrência de brusone foi intensa, devido às condições climáticas favoráveis prevalentes nas regiões produtoras, abrangendo desde o norte do Paraná até o Distrito Federal (Torres, 2009).

Taxonomia e morfologia do patógeno

O agente causal da brusone do trigo é o fungo *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. (teleomorfo) cujo anamorfo é *Pyricularia grisea* (Cook) Sacc.

A fase sexuada *M.grisea* pertence à classe Ascomycetes e a ordem Diaporthales, apresentando peritécio escuro, globoso, pescoço comprido, cilíndrico, ligeiramente projetado, ou não, acima da bainha foliar; ascos unitunicados, de parede fina, ascósporos longos, fusiforme, curvos, septados, hialinos ou cor de marrom-amarelado na maturidade e paráfises parcialmente gelatinosas na maturidade (Purchio-Muchovej & Murchovej, 1994) (Figura 1). Até o presente, peritécios não foram encontrados de forma comum na natureza nas condições de campo.

A forma mitospórica do patógeno pertence à espécie *Pyricularia grisea*, classe Deuteromycetes, subclasse Hyphomycetidae, ordem Moniliales e família Moniliaceae (Menezes & Oliveira, 1993). *P. grisea* apresenta conídios piriformes, lisos, obclavados, com base arredondada e afinando em direção ao ápice. São hialinos a oliva-claro, com pequeno hilo protuberante na base e a maioria possui dois septos transversais, ligam-se ao conidióforo pelo seu lado mais dilatado através da célula conidiogênica, e ao serem amadurecidos são liberados para o meio, produzindo um pequeno denticulo na base do conídio e na lateral do conidióforo (Figura 2) (Purchio-Muchovej & Murchovej, 1994).

Os conídios são produzidos isoladamente nos conidióforos e esses são longos, delgados, livres e eretos, geralmente emergindo isolados ou em pequenos grupos através dos estômatos (Purchio-Muchovej & Murchovej, 1994; Reis & Casa, 2005). As dimensões dos conídios variam bastante entre isolados, quando submetidos a diferentes temperaturas bem como nos diferentes hospedeiros. Isolados obtidos de trigo, retirados de meio de cultura apresentaram médias de comprimento e largura que variaram entre 12,5-46,1 x 5,1-13,5 μm (Prabhu & Filippi, 2006; Purchio, 1992).

Alguns trabalhos (Rossman *et al.*, 1990) sugeriram que as espécies *Magnaporthe grisea* (anamorfo: *Pyricularia grisea*) e *M. oryzae* (anamorfo: *Pyricularia oryzae*) são sinônimas, mas a literatura atual se mostra confusa quanto a isso. Comparações morfológicas entre diversos isolados de *Pyricularia* de uma gama de hospedeiros diferentes não mostraram diferenças entre si (Sprague 1950; Ou 1987; Rossman *et al.*, 1990). Rossman *et al.* (1990) também confirmaram a semelhança morfológica após exame dos espécimes-tipo de *P. grisea* e *P. oryzae* sinonimizando-as, sendo *P. grisea* o nome mais antigo, o qual deve ter prevalência sobre o homônimo mais recente.

Mesmo assim, ainda se tem mantido o epíteto “*oryzae*” pela conveniência na maioria da literatura publicada até o momento, alguns autores sugerem então *M. oryzae* para os isolados associados à cultura do arroz e *M. grisea* a isolados oriundos de outras gramíneas (Sprague, 1950; Purchio-Muchovej & Murchovej, 1994; Couch & Kohn 2002).

Entretanto, Couch & Kohn (2002), afirmam que, embora *M. oryzae* e *M. grisea* não difiram entre si morfológicamente, estas são descritas como espécies molecularmente diferentes, pois isolados oriundos de diversas gramíneas inclusive de arroz, agrupam-se em grupos filogenéticos distintos.

Estudos realizados por Hamer *et al.* (1989) com o genoma de isolados patogênicos de arroz foi possível confirmaram a presença de mais de 40 seqüências repetitivas de DNA, enquanto que nos isolados patogênicos às outras gramíneas havia apenas uma ou poucas seqüências repetitivas. Esse tipo de estudo forneceu bases genéticas para a diferenciação desses indivíduos e a separação molecular das espécies de *Magnaporthe*.

Sintomatologia da brusone do trigo

O patógeno causa lesões em toda parte aérea na planta de trigo incluindo bainhas, nós, colmo, pedúnculo e glumas. No entanto, a infecção na espiga resulta em maiores danos. Além disso, o patógeno infecta sementes, presumivelmente o principal meio de transmissão da brusone (Urashima, 2010).

Nas folhas, inicialmente as lesões são bem pequenas e aumentam de tamanho rapidamente, tornando-se elípticas e /ou ovais dependendo da reação genética ou idade fenológica da cultivar, cuja margem da lesão definida possui coloração marrom-

avermelhado a marrom escuro. As lesões podem ser circundadas por um anel clorótico e seu interior normalmente claro e seco (Couch, 1973) citado por Puchio-Muchovej & Muchovej, 1994). Em condições climáticas favoráveis são observadas no centro da lesão uma coloração acinzentada correspondente a esporulação do patógeno, na face abaxial e adaxial das folhas (Figura 3) (Lima, 2004; Toledo & Escobar, 2002; Barea & Toledo 1997). No colmo as lesões são semelhantes aquelas que incidem nas folhas (Figura 4) e nos nós da planta é possível visualizar uma massa pulverulenta de esporos acinzentada circulares e às vezes pode causar o estrangulamento.

Nas glumas as lesões são elípticas-ovaladas de coloração variando de castanho claro a escuro nas bordas e o centro esbranquiçados, e sob condições de clima favorável é possível visualizar a esporulação do patógeno de cor acinzentada (Figura 5), podendo ser confundidas com “giberela” (*Gibberella zae* (Schow.) Petch; anamorfo: *Fusarium graminearum* Schw.). Quando as infecções ocorrem nestas áreas, causam deformações nas sementes em desenvolvimento.

De acordo com Igarashi (1988), os sintomas mais característicos ocorrem nas espigas, isto, devido à infecção do patógeno na ráquis, onde observa-se lesão de coloração negra brilhante com formato irregular, e posteriormente com abundante frutificação do fungo. Tais lesões apresentam uma necrose no ponto de infecção, causando um secamento prematuro a partir deste ponto de infecção para cima, que impede a translocação da água e dos nutrientes, e como consequência dependendo do local da infecção, provoca o branqueamento parcial ou total da espiga imediatamente acima da lesão (Figura 6) (Igarashi, 1988; Igarashi & Balan, 2004; Espinoza & Shohara, 2003).

A infecção da espiga é a forma mais destrutiva de ocorrência da doença. Esse estrangulamento da espiga inviabiliza o enchimento dos grãos, e mesmo quando há produção de grãos nessas espigas, os mesmos tornam-se enrugados, pequenos, deformados e com baixo peso específico, o que caracteriza perdas no rendimento, tornando-os inutilizáveis tanto para comercialização, quanto para utilização humana (Figura 7) (Cruz *et al.*, 2009).

Quando a infecção ocorre no pedúnculo também pode ocorrer o estrangulamento, ocasionando branqueamento total da espiga (Figura 8) (Igarashi & Balan, 2004).

Estudos relatam que as toxinas produzidas por *Pyricularia oryzae*, denominadas de piricularina e ácido α -picolínico provavelmente são as mesmas para os isolados da cultura do trigo (Pacholati, 1995). A piricularina mostra-se tóxica a plantas superiores bem como a vários microrganismos. Quando aplicada em plantas de arroz suscetíveis ou resistentes, essa toxina ocasiona aumento na atividade respiratória (Pacholati, 1995). Em variedades susceptíveis, induz sintomas de clorose, manchas foliares e enfezamento de plântulas. A fitotoxina mostra-se um composto contendo nitrogênio ($C_{18}H_{14}N_2O_3$) e é altamente tóxica aos próprios conídios de *P. oryzae*, mas esse efeito inibitório é suprimido pelo fungo, que produz uma proteína contendo cobre, que se liga a piricularina, formando um complexo não tóxico ao patógeno, mas ainda é altamente tóxico à planta hospedeira. O ácido α -picolínico é altamente tóxico à planta de arroz, da mesma forma que ácido fusárico, por possuírem propriedades quelantes (capacidades de ligar a íons metálicos), seqüestrando os íons de ferro e cobre do interior dos tecidos da planta, inibindo enzimas oxidativas possuidoras de íons metálicos e alterando a respiração e permeabilidade das membranas, o que resulta na alteração no equilíbrio iônico e a perda de eletrólitos pelas células (Pascholati, 1995).

Epidemiologia da brusone do trigo

Magnaporthe grisea ocorre na natureza como agente patogênico em mais de 80 gêneros de plantas, inclusive em espécies da família Poaceae, à qual pertence o trigo e possui a capacidade de infectar numerosas gramíneas cultivadas, nativas e invasoras. Certamente, as fontes de inóculo mais importantes são esses hospedeiros secundários e os restos culturais de plantas cultivadas, embora, não se descarte a importância do uso de sementes contaminadas (Reis & Casa 2005; Purchio & Muchovej 1994; Prestes *et al.*, 2002).

O ciclo primário da doença acontece quando uma cultivar de trigo suscetível é plantada em área de cultivo onde o inóculo está presente e há condições ambientais favoráveis. Conídios que permaneceram nos restos culturais infectados, sementes contaminadas e plantas daninhas também podem constituir em inóculo inicial.

O principal meio de dispersão do patógeno é por conídios transportados pelo ar através do vento. Segundo Urashima *et al.*, (2007), os esporos de *P. grisea* podem

atingir campos distantes a pelo menos 1 quilômetro do foco da doença e indica que qualquer estratégia de controle da brusone deve levar essa distância em consideração.

O desenvolvimento do ciclo da brusone, desde a germinação dos conídios até o surgimento das primeiras lesões, depende de condições climáticas adequadas, principalmente umidade e temperatura. Esta doença é observada com frequência nas regiões tritícolas tropicais, principalmente onde as precipitações pluviais são moderadas.

A umidade tanto no estado líquido ou gasoso é o fator determinante e essencial à ocorrência das doenças, ao passo que a temperatura age como um catalisador, retardando ou acelerando o processo infeccioso e de reprodução do patógeno (Bergamin Filho *et al.*, 1995; Reis, 2004). Conídios de *P. oryzae* requerem água livre na superfície do hospedeiro para a germinação, e nesse patossistema a severidade da doença está diretamente relacionada à quantidade e à duração do período de orvalho, porquanto conídios não são formados quando a umidade relativa está abaixo de 93% (Bedendo, 1995).

A duração do processo de penetração varia com a temperatura levando 6,8 e 12 horas sob temperaturas de 24°C, 28°C e 32°C respectivamente. Os conídios necessitam de moderado período de molhamento foliar para germinarem e penetrarem na folha de trigo. Períodos longos com presença de orvalho por 2 ou 3 dias consecutivos favorecem a doença (Picinini & Fernandes, 1995). A temperatura ótima para favorecer a conidiogênese, está ao redor de 28°C e umidade relativa entre 95 a 100% (Alves & Fernandes, 2006). A brusone é uma doença policíclica, uma lesão é produzida em média 6 dias após a infecção e uma lesão típica é capaz de produzir 2.000 a 6.000 conídios por dia por aproximadamente 14 dias em condições controladas (Ou, 1985).

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

Segundo estudos de Prabhu & Felippi (2006) a luz também pode influenciar o crescimento micelial e a produção dos conídios em isolados de arroz. A alternância de luz tem um papel importante sobre a esporulação, quanto menor for o número de horas diárias de sol, maiores serão as probabilidades do ataque de *P. grisea*.

Ciclo da doença

A brusone do arroz é considerada como modelo para estudo, tanto do ponto de vista da planta quanto do patógeno, pois a literatura sobre esse patossistema é vasta. No entanto, em trigo, informações sobre a natureza da relação patógeno-hospedeiro e os possíveis mecanismos de resistência envolvidos são escassas. Assim, o grande volume de informações geradas no modelo envolvendo arroz serve de referência e ponto de partida para o entendimento da interação de *P. grisea* com outros hospedeiros, como o trigo.

As primeiras etapas do ciclo de vida de *P. grisea* iniciam-se quando os conídios produzidos nas lesões são disseminados pelo vento e respingos d'água e caem sobre folhas e espigas de trigo (Filippi *et al.*, 2006). A partir daí inicia-se os eventos de infecção, pois os conídios de *P. grisea* possuem uma cobertura mucilaginosa que permite a aderência na superfície da folha mesma molhada. Essa mucilagem é composta por carboidratos e glicoproteínas principalmente glucosil e manosil (Howard & Valent, 1996). Nas condições de alta de umidade os conídios germinam e o tubo germinativo é emitido em torno de 30 a 120 minutos após o contato com a água a partir da célula basal ou apical, mas raramente da célula mediana (Prabhu & Filippi 2006) e produzem estruturas especializadas que possibilitam a infecção, chamadas de apressórios permitindo a adesão e infecção do tecido na planta (Figura 9) (Tucker & Talbot, 2001). A parede celular externa do apressório forma uma camada de melanina, gerando uma enorme pressão de turgor em torno de 8 MPa ou 79 atm. Um “peg” de penetração é formado que rompe mecanicamente a superfície externa da planta internalizando-o e (Howard & Valent, 1996; Talbot, 2003; Medgen, 1996), produzindo uma hifa especializada chamada de grampo de penetração. O grampo se torna um condutor para mover o conduto nuclear e citoplasmático do apressório para a hifa primária em desenvolvimento. A hifa infectiva procura pelos plasmodesmas na parede celular rompendo para alcançar as células vizinhas formando hifas infectivas secundárias e assim colonizá-las (Kankanala *et al.*, 2007), e subseqüentes dentro das células da epiderme e do mesófilo, resultando na colonização do tecido invadido e na formação das lesões (Prabhu & Filippi, 2006; Medgen *et al.*, 1996). Desta forma a colonização intra e intercelular da folha produz lesões a partir das quais o fungo forma novos conídios assexuais e dissemina para formação de novas lesões em novas folhas e/ou plantas (Ribot *et al.*, 2008).

Após a penetração na cutícula e parede celular das células da epiderme, há um crescimento biotrófico, em seguida são formadas hifas secundárias, que matam a célula da hospedeira e se prolifera por crescimento necrotrófico, caracterizando-se uma fase hemibiotrófica (Heath *et al.*, 1990; Munch *et al.*, 2008; Ribot *et al.*, 2008).

A brusone do trigo segue os modelos das vias horárias e anti-horárias de infecção propostos por Bergamin Filho (1995) na qual sítios doentes podem gerar novos sítios doentes por meio de infecção dos sítios adjacentes aqueles previamente doentes, assim, o progresso da doença pode ser explicado tanto pelo aumento de novas lesões (via horária) quanto pelo crescimento das lesões existentes (via anti-horária).

Controle da doença

As medidas de controle da brusone do trigo ainda são ineficazes e depende da conjugação de medidas que devem ser adotadas adequadamente e no momento oportuno. Considerando-se a escassez de materiais do hospedeiro com níveis eficazes de resistência genética, a natureza policíclica e explosiva da doença e a incompleta proteção química fornecida pelos fungicidas, o manejo integrado deve incluir medidas preventivas para minimizar a severidade da doença durante a condução da cultura.

É necessário um conjunto de técnicas e medidas a serem aplicados integradamente com as práticas agronômicas, reduzindo a população do patógeno a níveis toleráveis sem causar danos econômicos. Porém o seu sucesso depende da seleção de técnicas apropriadas para os diferentes ecossistemas (Prabhu & Filippi 2006). De modo geral, os níveis de brusone podem ser minimizados de forma satisfatória através do uso de conjunto de medidas como: uso de variedades com resistência parcial, incorporação de restos culturais, eliminação de plantas hospedeiras, uso de sementes de boa qualidade, rotação de cultura, tratamento químico de sementes, plantio em época menos favorável à doença e pulverização com fungicidas.

Em relação à época de plantio na região do cerrado, não se recomenda que o produtor faça a semeadura antes do dia 10 de abril. A semeadura mais tardia visa escapar dos períodos chuvosos no início do ciclo da cultura (Santana *et al.*, 2009; Embrapa 2005).

Os fungicidas recomendados apresentam eficiência baixa (Goulart & Paiva, 1993) e as cultivares existentes são na maioria, suscetíveis (Goulart *et al.*, 2007). Os fungicidas

deverão ser aplicados antecipadamente logo no perfilhamento do trigo, quando as condições climáticas são favoráveis. O controle químico pode ser realizado preventivamente, quando as condições estiverem favoráveis, com aplicação de fungicidas na parte aérea, antes do espigamento. Recomenda-se uma aplicação no florescimento, e uma segunda aplicação após 10-12 dias. Entretanto, o controle da brusone mediante ao uso de fungicidas tem demonstrado baixa eficiência, não tem passado de 50%, independentemente do princípio ativo utilizado (Goulart, 2004).

Quanto a materiais resistentes de trigo, até o momento não há variedades altamente resistentes à doença (Goulart & Paiva 1993). Por exemplo, Maciel *et al.* (2008), testando diferentes genótipos de trigo submetidos a inoculação de *P. grisea* concluiu que a maioria demonstrou alta suscetibilidade à doença na espiga, embora alguns materiais tenham demonstrado graus de resistência à doença nas folhas-bandeira. De acordo com Trindade *et al.* (2006), a cultivar BR-18, genótipo mais semeado na região do cerrado no cultivo de safrinha, demonstrou o melhor nível de resistência parcial comparada aos outros genótipos de trigo testados.

O tratamento de sementes é o processo pelo qual se objetiva destruir ou inativar os patógenos presentes nas sementes através de métodos físicos e químicos (Reis & Forcelini, 1994). Trabalhos realizados por Goulart *et al.* (1990, 1991) demonstraram eficiência do tratamento de sementes de trigo à brusone contra a infecção inicial do fungo protegendo as plântulas nos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura, reduzindo a transmissão do patógeno da sementes para a parte aérea do trigo.

A opção pelo controle químico da brusone, nas regiões de risco e tradicional ocorrência de danos, deve ser feita monitorando-se o clima e considerando os seguintes critérios: se, da emergência até o emborrachamento, ocorrer chuva frequente e temperatura média elevada, o potencial de inóculo na lavoura deverá ser elevado, justificando-se então o controle químico, com uma aplicação preventiva-erradicativa no final desse estágio; uma segunda aplicação deverá ser feita no florescimento, protegendo assim, a fase de maior risco de dano à cultura. A infecção pode ocorrer enquanto tiver tecido verde nas espigas, mas quando mais tarde acontecer, menor será o dano, e uma terceira aplicação (12 dias após a segunda), porém somente justifica-se se persistir o clima favorável à doença e a lavoura apresentar elevado potencial produtivo. Resultados de pesquisa da safra de 2004 e 2005 indicaram que os novos fungicidas no mercado, envolvendo a mistura de estrobilurina + triazol, mostraram controle mais

efetivo da brusone, comparativamente aos produtos baseados em triazóis isoladamente, até então indicados (Salvadori *et al.*, 2009).

Como *M. grisea* apresenta numerosos hospedeiros secundários e também pode colonizar saprofiticamente os substratos de restos culturais, estas características reduzem drasticamente o efeito erradicante da rotação de culturas. A produção de esporos a partir de plantas hospedeiras secundárias ou restos de cultura, facilmente transportados pelo vento a longas distâncias, pode introduzir o patógeno naquelas áreas onde se procurou eliminá-lo através da rotação de culturas (Reis & Forcelini, 1995). Desta forma, a rotação de culturas tem efeito bastante limitado para o controle da doença.

Uso do silício e do fosfito no manejo da brusone de trigo

O silício (Si) é um elemento extremamente abundante na crosta terrestre. O uso do silício pelo homem, em suas múltiplas formas, é bastante diversificado. No reino mineral o silício tem uma importância fundamental por sua quantidade e onipresença. Por outro lado, no reino vegetal e animal sua presença é pequena, mas tem papel fundamental em ambos (Lima-Filho, 2010).

Na solução do solo, o silício encontra-se prontamente disponível para as plantas na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4), também denominado de ácido ortossilícico ou ácido silícico. Após ser absorvido e transportado até a parte aérea das plantas, esse nutriente deposita-se na forma de sílica amorfa hidratada inicialmente nos tecidos mais jovens e posteriormente vai se acumulando rapidamente nas células senescentes, sob forma de sílica polimerizada (SiO_2) ou também chamada de Opala biogênica ou fitólitos (Dayanandam *et al.*, 1983; Epstein & Bloom, 2006).

Acredita-se que o Si esteja envolvido no aumento e na rigidez da parede celular da planta, o acúmulo e deposição de Si nas células da camada epidérmica constitui-se numa barreira física (Belángier *et al.*, 2003; Cai *et al.*, 2009). Teoricamente descrita por dois mecanismos: o primeiro na deposição de sílica leva à modificação na anatomia da planta, como por exemplo, aumento da espessura das células da epiderme, o que acarreta em defesa mecânica contra a infestação de pragas e doenças; e o segundo na modificação nas propriedades fisiológicas e bioquímicas da planta, como por exemplo, produção de substâncias inibitórias à infecção do patógeno, tais como as fitoalexinas, precursores de lignina, biossíntese de suberina e silicificação, agindo o silício como ativador de resistência (Rodrigues *et al.*, 2001).

As principais fontes de ácido silícico presentes na solução do solo originam-se da decomposição de resíduos vegetais, dissociação do ácido silícico polimérico, liberação de silício dos óxidos e hidróxidos de Fe e Al, dissociação de minerais cristalinos e não cristalinos; adição de fertilizantes silicatados e a água de irrigação (Lima-Filho, 2010). No Brasil existem várias marcas comerciais de produtos contendo silício que podem ser encontrados comercialmente como fertilizante minerais simples obtidos através de subprodutos da indústria siderúrgica e da produção de fósforo elementar (Korndorfer & Oliveira, 2010).

Para o patossistema trigo-*Pyricularia grisea* existem poucos trabalhos evidenciando o efeito do silício na redução dos sintomas de brusone, principalmente na espiga, e na potencialização de mecanismos de defesa das plantas contra a infecção deste patógeno. No entanto, para a cultura do arroz esse efeito já foi demonstrado por vários estudos. Recentemente, Xavier-Filha *et al.* (2011), demonstraram que o uso de silício no trigo proporcionou uma redução da intensidade da brusone presente nas folhas. Bélanger *et al.* (2003) induziram a resistência do trigo a oídio *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*.

Em arroz, foi verificado que o uso do Si, quando as condições de incidência da doença foram baixas, obteve bons resultados no controle da brusone da panícula (Seebold Jr *et al.*, 2004; Berni & Prabhu, 2003; Santos *et al.*, 2011). A aplicação de 800 kg ha⁻¹ de SiO₂ reduziu a severidade da brusone nas panículas em 12 genótipos de arroz em experimento realizado em solo de cerrado no Brasil central (Prabhu *et al.*, 2001). A brusone do arroz tende a ser reduzida com o aumento da concentração de silício no tecido foliar (Aleshin *et al.*, 1987).

Os fosfitos (HPO₃⁻²), ácidos fósforos ou Fosety-Al como são assim chamados, são sais derivados do ácido fosforoso (H₃PO₃) obtidos da reação neutralização por uma base de hidróxido de potássio, hidróxido de sódio ou de amônio, sendo mais utilizado o hidróxido de potássio, formando o fosfito de potássio (Reuveni, 1997; McDonald *et al.*, 2001; Grant *et al.*, 1990). Embora contenha fósforo em sua composição, não é recomendado como fonte de nutriente para a planta (Forster *et al.*, 1998). Pois os fosfitos possuem três átomos de oxigênio (O) e um de hidrogênio (H) ligados ao fósforo (P), diferentemente dos fosfatos que possuem em sua molécula quatro átomos de oxigênio (O) ligado ao fósforo (P), que reage com enzima catalizadoras para ser metabolizado. Possivelmente a enzima fosfatase reconhece três dos quatro átomos de oxigênio, liga o íon fosfato na superfície da enzima e o outro oxigênio torna-se

disponível para reagir com outras enzimas catalizadoras. Assim o fosfito não pode entrar nas mesmas reações bioquímicas que o fosfato, sendo descartado pela maioria das enzimas envolvidas nas reações de transferência de fósforo (Plaxton, 1998).

Os fosfitos possuem a capacidade de serem translocados via xilema e floema nas plantas (Ouimette and Coffey, 1989) possuindo funções biológicas tanto nas plantas como nos patógenos (Plaxton & Carswell, 1999). Os fosfitos tem um modo de ação complexo, atuando diretamente sobre o patógeno inviabilizando a germinação dos esporos e crescimento micelial ou indiretamente induzindo a resistência sistêmica adquirida das plantas com a produção de fitoalexinas, fenilalanina-amônia-liase, enzimas hidrolíticas e compostos como lignina e etileno que agem inibindo o desenvolvimento do patógeno (Guest & Grant, 1991; Panicker & Gangadharam, 1999; Guest & Bompeix, 1990; Nemestothy & Guest, 1990; Fenn & Coffey, 1989; Sônego *et al.*, 2003; Andreu *et al.*, 2006; Brackmann *et al.*, 2008).

Na literatura existem diversos trabalhos utilizando fosfitos como indutores de resistência em plantas para o controle de doenças, indicado principalmente para o controle de *Phytophthora* sp. e de fungos causadores de podridões do colo, raiz, tronco e frutos (Lovatt & Mikkelsen, 2006; Forster *et al.*, 1998), como por exemplo na podridão (*Colletotrichum gloeosporioides*) da goiaba em pós colheita (Ferraz, 2010), míldio (*Plasmopora viticola*) da videira (Peruch & Bruna, 2008), sarna (*Venturia inaequalis*) da macieira (Araujo *et al.*, 2008) e podridão (*Phytophthora plamivora*) do pé do mamoeiro (Dianese *et al.*, 2007).

Estudos afirmam que o fosfito causa acúmulo de fósforo nas formas de polifosfato e pirofosfato e também possui sítio de ação na síntese de adenilato nos fungos (Griffith *et al.*, 1990; Fenn & Coffey 1989; Niere *et al.*, 1994). Em espécies de *Phytophthora* está relacionado com o metabolismo do pirofosfato, o qual interfere em várias vias metabólicas essenciais ao crescimento fúngico. (Fenn & Coffey 1989; Niere *et al.*, 1994).

Marcadores microsátélites

Marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados para análise genética de população de microrganismos. Os marcadores microssátélites, também denominados de SSR- *Simple Sequence Repeats* (seqüências repetitivas simples), são pequenas

seqüências de 1 a 6 nucleotídeos repetidos lado a lado na fita de DNA, e são abundantes nos genomas de procariotos e eucariotos (Tautz 1989; Litt & Luty, 1989). Seu uso pode detectar polimorfismos presentes entre espécies e dentro de espécies de organismos, e essa ferramenta tem sido elucidativa na estimativa da diversidade genética dos isolados de *Magnaporthe grisea* (Brondani *et al.*, 2000; Garrido, 2001).

Os marcadores microssatélites caracterizam-se por serem codominantes, são abundantes, aparentemente distribuídos por todo o genoma, multialélicos, possuem alto polimorfismo genético e dependentes de pequenas quantidades de DNA dos indivíduos analisados (Moretzsohn, 2007; Queller *et al.*, 1993; Valdes *et al.*, 1993; Jarne & Lagoda, 1996). Adicionalmente, cada *locus* microssatélite pode ser amplificado por PCR e analisado individualmente ou por *multiplex* onde vários *loci* podem ser amplificados e analisados de uma só vez em sistemas semi-automatizados ou automatizados, características estas altamente desejadas em um marcador molecular (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Essas características fazem dos microssatélites marcadores aplicáveis em estudos de análise genética em várias situações tais como: na identificação de clones, linhagens, híbridos, cultivares, testes de paternidade, “fingerprinting” de DNA e estudos forenses, na estimativa de diversidade, fluxo gênico, taxa de cruzamento, parentesco e na construção de mapas genéticos (Salles *et al.*, 2003; Hummel & Schutes, 2000). São também usados em genotipagem de indivíduos, dada a sua capacidade de revelar alta diversidade de alelos por *locus* (Cregan *et al.*, 1994).

Os microssatélites estão presentes nas regiões codificadoras e não codificadoras (Zane, 2002) e podem ser classificados em três famílias: perfeitos (ex.: CACACACACACACA), imperfeitos (ex.: CACATTCACACATTCA) e compostos (ex.: CACACACAGAGAGAGA). Qualquer tipo de combinação entre estas famílias é possível. Os dinucleotídeos CA e GA tem uma freqüência maior em genomas de animais, já TC e AG são mais encontrado nas plantas (Jarne & Lagoda 1996; Depeigeus *et al.*, 1995 e Weber, 1990, citados por Ramos, 2009).

Desta forma, os microssatélites são ferramentas ideais para esclarecer a diversidade de isolados de *M.grisea* de trigo e suas relações com os isolados de arroz. Assim este trabalho procura gerar informações básicas e aplicadas para o patossistema trigo-

brusone em três linhas de investigação: (i) avaliar a reação de genótipos de trigo comum e sintético, visando resistência/ tolerância à brusone; (ii) verificar a eficiência do controle químico ou com produtos alternativos em trigo; (iii) comparar, usando-se marcadores moleculares, a variabilidade genética de isolados de trigo e de arroz, coletados na região central do país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aleshin NE, Avakyan ER, Dyakunchak SA, Aleshkin EP, Baryshok VP, Voronkov MG (1987) Role of silicon in resistance of rice to blast. Doklady Akademii Nauk SSSR, 291: 217-219.
- Almeida AB, Chaves MS, Brammer SP, Baggio MI (2007) Identificação e caracterização de fontes de resistência à ferrugem da folha em *Triticum tauschii*. Fitopatologia Brasileira 32:349-352.
- Alves KIP, Fernandes JMC (2006) Influência da temperatura e da umidade relativa do ar na esporulação de *Magnaporthe grisea* em trigo. Fitopatologia Brasileira 31:579-584.
- Andreu AB, Guevara MG, Wolski EA, Daleo GR, Caldiz DO (2006) Enhancement of natural disease resistance in potatoes by chemicals. Pest Management Science 62:162-170.
- Anjos JRN, Silva DB, Charchar MJD, Rodrigues GC (1996) Ocorrência de brusone (*Pyricularia grisea*) em trigo e centeio na região dos cerrados do Brasil Central. Pesquisa Agropecuária Brasileira 31:79-82.
- Araújo L, Stadnik MJ, Borsato LC, Valdebenito – Sanhueza RM (2008) Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. Tropical Plant Pathology 33:148-152.
- Barea G, Toledo J (1997) Identificación y zonificación de *Pyricularia* o Bruzone (*Pyricularia oryzae*) en cultivo de trigo em el Dpto. de Santa Cruz. Informe Técnico. Santa Cruz – Bolívia.
- Bedendo IP, Prabhu AS (2005) Doenças do arroz (*Oryza Sativa*). In: Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (Ed.). Manual de Fitopatologia Vol 2: Doenças de Plantas Cultivadas 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres p.79-90.
- Bedendo IP (1995) Ambiente e Doença In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L Manual de Fitopatologia Vol. 1: Princípios e Conceitos. Ed. Ceres: São Paulo p 337-338.
- Bélanger RR, Benhamou N, Menzies JG (2003) Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). Phytopathology 93:402-412.

- Bergamin Filho A (1995) A epidemia como um sistema In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L. Manual de Fitopatologia Vol. 1: Princípios e Conceitos. Ed. Ceres: São Paulo p 587.
- Berni RF, Prabhu AS (2003) Eficiência relativa de fontes de silício no controle de brusone nas folhas em arroz. Pesquisa Agropecuária Brasileira 38: 195-201.
- Brackmann A, Giehl RFH, Sestari I, Weber A, Pinto JAV, Eisermann AC (2008) Controle de podridões em maçãs 'fuji' frigoconservadas com a aplicação de fosfitos e cloretos de benzalcônio em pré e pós colheita. Uruguiana 15: 35-43.
- Brammer SP, Barcellos AL, Moraes-Fernandes MIB, Milach SK (2000) Bases genéticas da resistência durável à ferrugem da folha do trigo e estratégias biotecnológicas para o melhoramento no Brasil. Fitopatologia Brasileira 25: 5-20.
- Brondani RP, Brondani RPV, Garrido LC, Ferreira ME (2000) Development of microsatellite markers for the genetic analysis of *Magnaporthe grisea*. Genetics and Molecular Biology 23:753-762.
- Cabrera MG, Gutiérrez SA (2007) Primer registro de *Pyricularia grisea* en cultivos de trigo del noreste de Argentina. Jornada de actualización en enfermedades de trigo. Libro de Resúmenes: 60. Lavallol: Buenos Aires.
- Cai K, Gao D, Chen J, Luo S (2009) Mini- Review: Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. Plant Signaling & Behavior 4:1-3.
- CONAB Companhia Nacional de Abastecimento (2011). Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos- Safra 2010/2011 Oitavo Levantamento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_02_09_09_29_24_boletim_fevereiro_corrigido.pdf>.
- Couch BC, Kohn LM (2002) A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. Mycologia 94:683-693.
- Cregan PB, Akkaya MS, Bhagwat AA, Lavi U, Rongwen J (1994) Length polymorphisms of simple sequence repeat (SSR) DNA as molecular markers in plants. In: Gresshoff PM (Ed.) Plant Genome Analysis . CRC. Press, Boca Raton, Florida.
- Cruz MFA, Maciel JLN, Prestes AM, Bombonato EAS, Pereira JF, Consoli L (2009) Caracterização genética e fenotípica de isolados de *Pyricularia grisea* do trigo Tropical Plant Pathology 34:393-401.
- Cruz MF, Prestes AM, Maciel JLN, Scheeren PL (2010) Resistência parcial à brusone de genótipos de trigo comum e sintético nos estádios de planta jovem e de planta adulta. Tropical Plant Pathology 35:024-031.
- Dayanandam P, Kaufman PB, Frakin CI (1983) Detection of silica in plants. American Journal of Botany 70:1079-1084.

Dianese AC, Blum LEB, Dutra JB, Lopes LF, Sena MC, Freitas LF, Yamanishi OK (2007) Redução da Podridão do Pé (*Phytophthora palmivora*) do Mamoeiro (*Carica papaya*) por Fosfitos . Fitopatologia Brasileira 32:166-167.

Embrapa (2005) Informações Técnicas para a cultura de trigo na Região Central do Brasil Central: safras 2005 e 2006. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão CNPAF; Planaltina DF: Embrapa Cerrados CPAC; Passo Fundo: Embrapa Trigo CNPT (EMBRAPA: Documentos 173).

Embrapa, O trigo no Brasil, disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/aunidade/trigo_brasil.htm> acesso: 15/10/2010.

Embrapa (2011) Cultivares de trigo, disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/cultivares/index.htm>> acesso: 15/05/2011.

Epinoza IG, Shohara K (2003) Investigación relativa a La ocurrencia de Piricularia en trigo. Santa Cruz: Centro Tecnológico Agropecuario en Bolívia 2 :11-4.

Epstein E, Bloom AJ (2006) Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas. 2th Ed. Londrina PR. Planta.

Fernades MIBM, Zonatta ACA, Prestes AM, Caetano VR, Barcellos AL, Angra DC, Pandolfi V (2000) Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). Genetics and molecular biology 23:1051-1062.

Fenn ME, Coffey MD (1989) Quantification of phosphonate and ethyl phosphate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. Phytopathology 79:76-82.

Ferraz, DMM (2010) Controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em pós-colheita da goiaba (*Psidium guajava*), produzida em sistema de cultivo convencional e orgânico, pela aplicação de fosfitos, hidrotermia e cloreto de cálcio. Dissertação de Mestrado Brasília DF: UNB -Universidade de Brasília.

Ferreira ME, Grattapaglia D (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética: Embrapa-Cenargen. Brasília. p 120.

Filippi MC, Cortes C, Beckerman J, Sweigard J, Valent B, Gonzalez C, Ebbole D (2006) Novos aspectos da patogenicidade de *Magnaporthe grisea*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão- CNPAF (EMBRAPA: CNPAF Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 22).

Forster H, Adaskaveg JE, Kim DH, Stanghellini ME (1998) Effect of phosphate on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to *Phytophthora* root and crown rot in hydroponic culture. Plant Disease 82:1165–1170.

Garrido LR (2001) Identificação, desenvolvimento e uso de marcadores de regiões hipervariáveis do genoma de *Magnaporthe grisea* na análise da estrutura de populações do patógeno infectando plantações de arroz (*Oryza sativa*). Tese de Doutorado. Brasília, DF: Universidade de Brasília.

Gill BS (2010) Introduction In: Bockus WW, Bowdwn RL, Hunger RM, Morrill WL, Murray TD, Smiley RW Compendium of Wheat Disease and Pests- Third Edition, The American Phytopathological Society: Minnesota 55121, USA.

Goulart ACP (2000) Perdas no rendimento de grãos de trigo causado por *Pyricularia grisea* nos anos de 1991 e 1992 no Mato Grosso do Sul. Summa Phytopathologica 26: 279-282.

Goulart ACP (2004) Perdas em trigo causadas pela brusone. In: Vale FXR (Org.) Anais do I Workshop de epidemiologia de doenças de plantas: quantificação de perdas no manejo de doenças de plantas. Viçosa, MG: UFV/DFP. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dfp/workshop/Resumos/Perdas%20trigo%20brusone.pdf>>.

Goulart ACP, Paiva FA, Mesquita NA (1990) Ocorrência da brusone (*Pyricularia oryzae*) do trigo (*Triticum aestivum*) em Mato Grosso do Sul. Fitopatologia Brasileira 15: 112-114.

Goulart ACP, Paiva FA (1991) Controle de *Pyricularia oryzae* e *Helminthosporium sativum* pelo tratamento de sementes de trigo com fungicidas. Pesquisa Agropecuária Brasileira 26:1983-1988.

Goulart ACP & Paiva FA (1993) Avaliação de fungicidas no controle da brusone (*Pyricularia oryzae*) do trigo (*Triticum aestivum*). Fitopatologia Brasileira 18:167-173.

Goulart ACP, Sousa PG, Urashima AS (2007) Danos em trigo causados pela infecção de *Pyricularia grisea*. Summa Phytopathologica 33:358-363.

Grant BR, Dunstan RH, Griffith JM, Niere JO, Smillie RH (1990) The mechanism of phosphonic (phosphorous) acid action in *Phytophthora*. Australasian Plant Pathology 19:115-121.

Griffith JM, Smillie RH, Grant BR (1990) Alterations in nucleotide and pyrophosphate levels in *Phytophthora palmivora* following exposure to the antifungal agent potassium phosphonate (phosphite). Journal Gen Microbiol 136: 1285–1291.

Guest DI, Grant BR (1991) The complex action of phosphonates as antifungal agents. Biological Reviews 66:59–187.

Guest DI, Bompeix G (1990) The complex mode of action of phosphonates. Australasian Plant Pathology 19:113-115.

Hamer JE, Farrall L, Orbach MJ, Valent B, Chumley FG (1989) Host species specific conservation of a family of repeated DNA sequences in the genome of a fungal plant pathogen. Proc.Natl. Acad. Scie. 86:9981-5.

Heath MC, Valent B, Howard RJ, Chumley FG (1990) Correlations between cytologically detected plant-fungal interactions and pathogenicity of *Magnaporthe grisea* toward weeping lovegrass. Phytopathology 80:1382-1386.

Howard RJ, Valent B (1996) Breaking and entering: Host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*. Annual Review of Microbiology 50:491-512.

Hummel S, Schultes T (2000) From skeletons to fingerprints- STR typing of ancient DNA. *Ancient Biomolecules* 3:103-116.

Igarashi S (1988) Análise da ocorrência de brusone do trigo no Paraná. Trabalho apresentado na XV RENAPET – Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo Passo Fundo: CNPT/EMBRAPA.

Igarashi S, Balan MG (2004) Brusone do trigo. *Atualidades Agrícolas Basf* p.28-31.

Igarashi S, Utiamada CM, Igarashi LC, Kazuma AH & Lopes RS (1986) *Pyricularia* em trigo. 1. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira* 11:351-352.

Jarne P, Lagoda PJJ (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution* 11:424-429.

Jauhar PP (1993) Alien gene transfer and genetic enrichment of bread wheat. In: Damania AB (Ed.) *Biodiversity and wheat improvement*. ICARDA: A Wiley- Sayce Publication.

Kankanala P, Czymmek K, Valent B (2007) Roles for rice membrane dynamics and plasmodesmata during biotrophic invasion by the blast fungus. *The Plant Cell* 19: 706-724.

Korndorfer GH, Oliveira LA (2010) Uso do silício em culturas comerciais. In: Rodrigues FA (Ed) *Silício na Agricultura – Anais do V Simpósio Brasileiro sobre silício na agricultura*. Viçosa, MG: UFV.

Lima Filho, OF (2010) Aspecto Gerais sobre silício em solos, plantas e animais. In: Rodrigues FA (Ed) *Silício na Agricultura – Anais do V Simpósio Brasileiro sobre silício na agricultura*. Viçosa, MG: UFV.

Lima MIPM (2004) Giberela ou Brusone-Orientações para identificação correta dessas enfermidades em trigo e em cevada. Passo Fundo: Embrapa trigo - CNPT (EMBRAPA: CNPT Documentos Online N° 40).

Litt M, Luty JÁ (1989) A hypervariable microsatellite revealed by invitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac-muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics* 44:397-401.

Lovatt CJ & Mikkelsen RL (2006) Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do? *Better crops* 90:11-13.

Maciel JLN, Paludo EA, Só e Silva M, Scheeren PL, Caierão E (2008) Reação à brusone de genótipos de trigo do programa de melhoramento da Embrapa Trigo no estágio de planta adulta. Passo Fundo: Embrapa Trigo CNPT 14p (EMBRAPA - CNPT Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Online, 64).

McDonald AE, Grant BR, Plaxton WC (2001) Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. *Journal of Plant Nutrition* 24:1505-1519.

- Mendgen H, Hahn M, Deizing H (1996) Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 34:367-86.
- Menezes M, Oliveira M A (1993) *Fungos Fitopatogênicos*. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 227p.
- Moraes-Fernandes MIB, Zanatta ACA, Prestes AM, Caetano VR, Barcellos AL, Angra DC, Pandolfi V (2000) Cytogenetics and immature culture embryo at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Genetics and Molecular Biology* 23:1051- 1062.
- Moraes-Fernandes, MIB (1982) Citogenética. In: Osório EA (Ed) *Trigo no Brasil*. Campinas: Fundação Cargill p 95-144.
- Moraes-Fernandes MIB (1985) O trigo nosso de cada dia - domesticar o grão. *Ciência Hoje* 7: 36 – 45.
- Moretzsohn MC (2007) Desenvolvimento e mapeamento de marcadores microssatélites e identificação de QTLs ligados à produtividade e à resistência à mancha preta em *Arachis* spp. Tese de Doutorado. Brasília DF: UnB Universidade de Brasília.
- Munch S, Lingner U, Floss DS, Ludwig, Sauer N, Deising (2008) The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. *Journal of Plant Physiology* 165:41-51
- Murray TD (2010) Diseases Caused by Fungi and Fungus-Like Organisms In: Bockus WW, Bowdwn RL, Hunger RM, Morrill WL, Murray TD, Smiley RW (Eds) *Compendium of Wheat Diseases and Pests- Third Edition*, The American Phytopathological Society: Minnesota 55121, USA.
- Nemestothy GS, Guest DI (1990) Phytoalexin accumulation, phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene buisynthesis in fosetyl-Al treated resistant and susceptible tobacco cultivars infected with *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 37:207-219.
- Niere JO, Deangelis G, Grant BR (1994) The effect of phosphonate on acidsoluble phosphorus components in the genus *Phytophthora*. *Microbiology* 140:1661-1670.
- Ou SH (1985) Blast. In: Ou S H (Ed.) *Rice diseases*. 2nd ed. Wallingford, UK: CAB International p.109-201.
- Ou SH (1985b) *Rice diseases*. 2.ed. Kew Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute 380p.
- Ou SH (1987) *Rice Diseases*. Surrey: The Commonwealth Mycological Institute. p 109–20.
- Quimette DG, Coffey MD (1989) Comparative antifungal activity of four phosphonate compounds against isolates of nine *Phytophthora* species. *Phytopathology* 79:761-767.

Panicker S, Gangadharan K (1999) Controlling downy mildew of maize caused by *Peronosclerospora sorghi* by foliar sprays of phosphonic acid compounds. *Crop Protection* 18:115-118.

Pascholati SF (1995) Fitopatógenos: Fitotoxinas e Hormônios In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L (Eds) Manual de Fitopatologia Vol. 1: Princípios e Conceitos. Ed. Ceres: São Paulo p 381.

Patnaik D, Khurana P (2001) Wheat Biotechnology: a minireview. *Electronic Journal of Biotechnology* 4:1-29.

Perelló A, Alberione E, Annone J, Campos P, Cordo CA, Formento N, González M, Kripelz N, Melegari A, Monterroso L, Pérez BA, Romero AM, Sagadin M, Sisterna M, Truol G, Copia P, Nome SF (2011) Enfermidades de *Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*. In: Nome SF, Docampo DM, Conci LR, Pérez BA (Eds.) Atlas Fitopatológico Argentino. Córdoba: Argentina 4:1851-8974. Disponível em: <<http://www.fitopatoatlas.org.ar/default.asp?hospedante=1045>>

Peruch LA, Bruna MB (2008) Relação entre doses de calda bordaleza e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv. 'Goethe'. *Ciência Rural* 38: 2413-2418.

Picinini EC, Fernandes JMC (1989) Ocorrência da brusone (*Pyricularia oryzae*) em lavouras comerciais de trigo (*Triticum aestivum*) no estado do Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira* 14:351-354.

Picinini, E.C. Fernandes JMC (1995) Doenças de cereais de inverno: aspectos epidemiológicos e controle. Passo Fundo: CNPT/EMBRAPA. 85p.

Plaxton WC (1998) Metabolic aspects of phosphate starvation in plants, phosphorus in Plant Biology: Regulatory Roles in Molecular, Cellular, Organismic, and Ecosystem Processes. In: Lynch J. P., Deikman J (Eds) American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD.

Plaxton WC, Carswell MC (1999) Metabolic aspects of the phosphate starvation response in plants. In Lerner HR (ed) Plant Responses to Environmental Stresses: From Phytohormones to Genome Reorganization. Marcel Dekker, NY.

Prabhu AS, Barbosa Filho MP, Filippi MC, Datnoff LE, Snyder GH (2001) Silicon from disease control perspective in Brazil. In: Datnoff LE, Snyder G H, Korndörfer GH (Ed) Silicon in agriculture. Amsterdam: Elsevier 8: 293-311.

Prabhu AS, Felippi MCC (2006) Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão - CNPAF.

Prestes AM, Rigo LL, Bevilaqua GAP, Mhül FR (2002) Ocorrência de brusone em aveia preta em Passo Fundo, RS. *Fitopatologia Brasileira* 27(Suplemento.):153.

Purchio AF, Muchovej JJ (1991) *Pyricularia* diseases of grasses: a historical overview. *Rasen-Turf-Gazon* 22: 63-90.

- Purchio, AF (1992) Estudo taxonômico do anamorfo (*Pyricularia*) de *Magnaporthe grisea*. Dissertação de Mestrado. Viçosa, MG: UFV Universidade Federal de Viçosa.
- Purchio-Muchovej A, Muchovej JJ (1994) O gênero *Pyricularia* e seus teleomorfos. In: Luz WC, Fernandes JM, Prestes AM, Picinini EC (Eds.) RAPP-Revisão Anual de Patologia de Plantas vol 2. Rio Grande do Sul: Passo Fundo p. 175-208.
- Queller DC, Strassmann JE, Hughes CR (1993) Microsatellites and kinship. Trends in Ecology & Evolution 8: 285-288.
- Ramos L N (2009) Estrutura Populacional e Parâmetros Epidemiológicos de isolados de *Magnaporthe grisea* (Barr). Dissertação de Mestrado. Brasília, DF: UnB - Universidade de Brasília.
- Reis E M, Forcelini C A (1994) Fungicidas: guia para o controle de doenças de plantas 3ª. Ed. Passo Fundo, Gráfica e Editora Pe. Berthier.
- Reis EM (2004) Previsão de doenças de plantas. Passo Fundo: UPF 316p.
- Reis EM, Forcelini AC (1995) Controle Cultural In: Bergamim Filho A, Kimati H, Amorim L (Ed) Manual de Fitopatologia Vol. 1: Princípios e Conceitos. Ed. Ceres: São Paulo p 714.
- Reis EM, Casa RT (2005) Doenças do Trigo. In: Kimati H, Amorim L, Bergamin-Filho A, Camargo LEA, Rezende, JAM (Eds.) Manual de Fitopatologia Vol. 2: Doenças das plantas cultivadas. Ed. Ceres: São Paulo p.637.
- Reuveni M (1997) Post-infection applications of K_3PO_3 , phosphorous acid and dimethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapes. Journal of Small Fruit & Viticulture 5: 27-38.
- Ribot C, Hirsch J, Balzergue S, Tharreau D, Nottoghem JL, Lebrun MH, Morel JB (2008) Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. Journal of Plant Physiology 165:114-124.
- Rodrigues FA, Datnoff LE, Korndorfer GH, Seebold KW, Rust MC (2001) Effect of silicon and host resistance on sheath blight development in rice. Plant Disease 85:827-832.
- Rossman AY, Howard RJ, Valent B (1990) *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus. Mycologia 82: 509–512.
- Salles G, Buso C, Ciampi AY, Moretzsohn MC, Amaral ZPSA (2003) Protocolo para desenvolvimento de marcadores microssatélites. Embrapa Centro Nacional de Recursos Genéticos - Cenargen: Brasília DF (Embrapa: CENARGEN Circular Técnica 20).
- Salvadori JR, Pereira PRVS, Silva Jr JPS, Caierão E, Vargas L, Maciel JLN, Voss M, Ferreira PE (2009) Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale 2008: Informações técnicas para safra 2009: Trigo/ Triticale, Embrapa Trigo: Passo Fundo RS.

Santana FM, Chaves MS (2009) Sistema de produção de trigo. Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Trigo/CultivodeTrigo/doencas.htm>>. Acesso 08/05/11.

Santos GR, Castro Neto MD, Ramos LN, Sarmiento RA, Kornodorfer GH, Ignácio M (2011) Effect of silicon sources on Rice diseases and yield in the State of Tocantins, Brazil. *Acta Scientiarum Agronomy* 33:451-456.

Scheeren PL (1986) Informações sobre o trigo (*Triticum* spp.) Passo Fundo: Embrapa Trigo-CNPT p.34(EMBRAPA-CNPT Documentos 2).

Seebold Jr KW, Datnoff LE, Correa-Victoria FJ, Kucharek TA, Snyder GH (2004) Effects of silicon and fungicides on the control of leaf and neck blast in upland rice. *Plant Disease* 88:253-258.

Sonego OR, Garrido LR, Czermainski AB (2003) Avaliação de Fosfitos no controle do Míldio da videira. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho (EMBRAPA-CNPV Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 11).

Sprague R (1950) Diseases of cereals and grasses in North America. Ronald Press: New York 538 p.

Tautz D (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17:6463-6471.

Talbot NJ (2003) On the trail of a cereal Killer: Exploring the biology of *Magnaporthe grisea*. *Annual Rev. Microbiology* 57:177-202.

Toledo J, Escobar R (2002) Piricularia o brusone del trigo. CIAT: Santa Cruz, Bolívia.

Torres GAM, Santana FM, Fernandes JMC, Só E Silva M (2009) Doenças da espiga causam perda de rendimento em trigo nos estados do Paraná, São Paulo e Mato Grosso do Sul, em 2009. Passo Fundo: Embrapa Trigo - CNPT p10 (EMBRAPA - CNPT Comunicado Técnico online, 255).

Trindade MG, Prabhu AS, Só e Silva M (2006). Resistência parcial de genótipos de trigo a brusone nas folhas. Passo Fundo: Embrapa Trigo 8p (EMBRAPA - CNPT Comunicado Técnico Online, 201).

Tucker SL, Talbot NJ (2001) Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi. *Annual Rev. Phytopathology* 29:385-417.

Urashima AS (2010) Blast In: Bockus WW, Bowdwn RL, Hunger RM, Morrill WL, Murray TD, Smiley RW Compendium of Wheat Diseases and Pests- Third Edition, The American Phytopathological Society: Minnesota 55121, USA.

Urashima AS, Leite SF, Galbieri R (2007) Eficiência da disseminação aérea em *Pyricularia grisea*. *Summa Phytopathologica* 33: 275-279.

Urashima AS (2010b) Wheat Blast: a potential threat to global wheat production. Resumos IV-O-105. Disponível em:

<http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/ad_hoc/622505005thInternationalRiceBlastConference/program-for-web-0809.pdf>

USDA- State Department of Agriculture: Foreign Agricultural Service - (2011) World Agricultural Production. Office of Global Analyses: Circular Series WAP 05-11.

USDA- State Department of Agriculture: Foreign Agricultural Service - (2011 b) Grain: World Markets and Trade. Circular Series FG 02-11.

Valdes AM, Slatkin M, Freimer NB (1993) Allele frequencies at microsatellite loci: The stepwise mutation model revisited. *Genetics* 133: 737-749.

Xavier Filha MS, Rodrigues FA, Domiciano GP, Oliveira HV, Silveira PR, Moreira WR (2011) Wheat resistance to leaf blast mediated by Silicon. *Australasian Plant Pathology* 40: 28-38.

Zane L, Bargelloni L, Patarnello T (2002) Strategies for microsatellite isolation: A Review *Mol. Ecol.* 11: 1-16.

FIGURAS

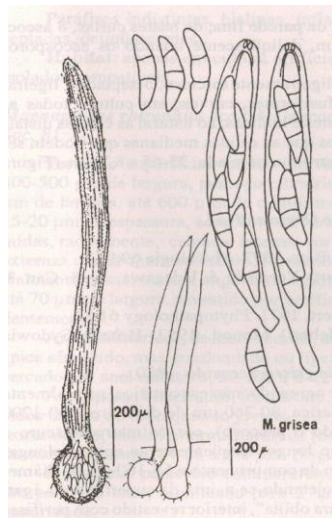


Figura 1: Peritécios, ascas e ascósporos de *Magnaporthe grisea* (Fonte: Purchio & Muchovej, 1994).

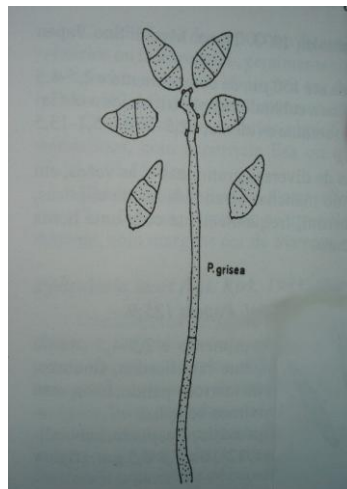


Figura 2: Conídios e conidióforos de *Pyricularia grisea* (Fonte: Purchio & Muchovej, 1994).

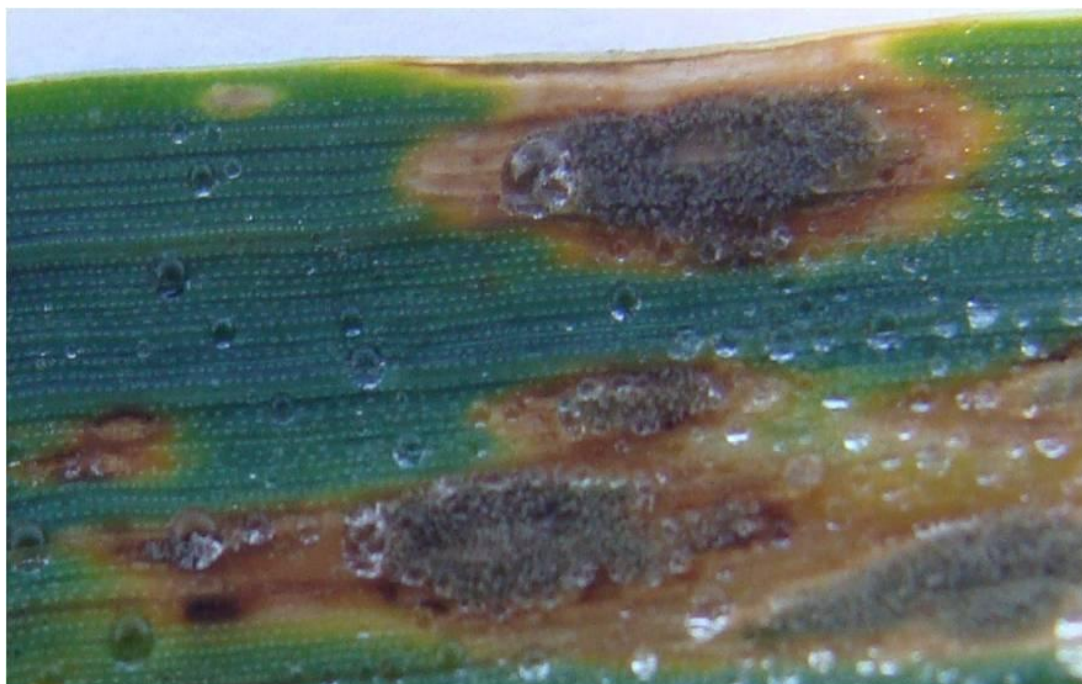


Figura 3- Esporulação acinzentada de *Pyricularia grisea* na face abaxial em folhas de trigo (Cultivar BRS-264). Sob condições de orvalho favoráveis ao desenvolvimento do patógeno observa-se lesões em formato elípticas com bordas castanho-amarelada (Foto: Ana Paula S. Pagani)



Figura 4: Lesão elíptica causada por *Pyricularia grisea* , localizada no colmo da planta de trigo(Cultivar BRS-264) (Foto: Ana Paula S. Pagani).



Figura 5: Lesão causada por *Pyricularia grisea* nas glumas da espiga de trigo (Cultivar BRS-264). (Foto: Ana Paula S. Pagani).



Figura 6: Infecção causada por *Pyricularia grisea* na ráquis de trigo com coloração escura com formato irregular, nota-se que a parte superior da espiga de trigo mostra-se esbranquiçada decorrente do estrangulamento causado pelo fungo e na parte inferior da espiga logo abaixo da infecção, a espiga encontra-se verde. (Foto: Ana Paula S. Pagani).



Figura 7: Grãos de trigo obtidos de espigas altamente infectadas pela brusone causada por *Pyricularia grisea*. A esquerda grãos com o aspecto enrugados, pequenos e deformados e com baixo peso específico. A direita, grãos saudáveis com alto peso específico e boa aparência. (Foto: Ana Paula S. Pagani).



Figura 8: Infecção causada por *Pyricularia grisea* no pedúnculo, causando branqueamento total da espiga. (Foto: Ana Paula S. Pagani).

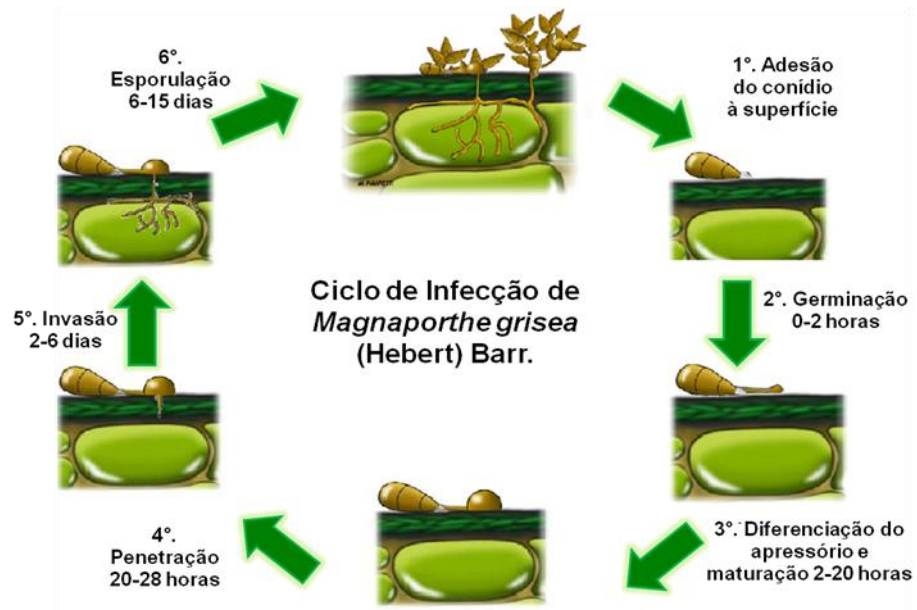


Figura 9: Etapas do ciclo de infecção de *Magnaporthe grisea*. Adaptação de: Ribot *et al.*, 2008.

**Avaliação de genótipos de trigo comum e sintético visando resistência e tolerância
à brusone em condições de campo no Cerrado**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de uma coleção de 147 genótipos de trigo hexaplóides à brusone, incluindo materiais comerciais, linhagens e materiais sintéticos, em condições de campo muito favoráveis à doença (ensaios tipo *hot spot*). Experimentos similares foram conduzidos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com três repetições nos anos de 2010 e 2011, com data de semeadura em 17 de março e 17 de fevereiro respectivamente, em Planaltina, DF. Os genótipos foram classificados de acordo com seu ciclo de desenvolvimento em curto, médio e longo e estimou-se a incidência de brusone na espiga e as perdas. A análise estatística foi realizada com o programa IBM SPSS 19.0, com uma análise preliminar de agrupamento dos genótipos quanto à reação à brusone e posterior comparação das médias de incidência pelo teste de Tukey b. Os resultados de 2010 não permitiram determinar a reação de resistência ou de tolerância (*i.e.*, resiliência de produção apesar de suscetibilidade à doença) dos genótipos, devido à baixa incidência da doença, possivelmente pelas condições climáticas desfavoráveis ao desenvolvimento de epidemias, em função do plantio tardio. Em 2011, foi possível determinar que a grande maioria dos materiais avaliados apresentou reação de suscetibilidade à doença, e apenas 3,4 % apresentaram-se como resistentes, enquanto outros 16 % foram moderadamente resistentes. Os materiais resistentes (incidências menores que 5%), foram: Melchior, Safira, Jesuita, CASW94Y00116S (ciclo médio) e Trintecinco (ciclo longo). Os materiais de ciclo curto de desenvolvimento apresentaram as maiores incidência de brusone nas espigas. BH1146 e PF909 (ambos de ciclo curto) e África 43 (ciclo médio) destacaram-se como tolerantes.

Evaluation of wheat genotypes for field resistance and tolerance to blast in the Brazilian Mid-West

ABSTRACT

This work aimed at the evaluation of a collection of 147 hexaploid wheat genotypes for resistance to blast, including breeding lines and commercial and synthetic genotypes, under field conditions conducive to the disease (*hot spot* assays). Two experiments were carried out in the Randomized Complete Block Design, with three replicates per genotype with sowing dates in March 17 of 2010 and February 17 of 2011 in Planaltina, DF. Genotypes were classified according to their respective maturing cycle, as early, intermediate and late, the incidence of blast on the ears, and yield. Statistical analyses used the IBM SPSS 19.0 software, with a preliminary group analysis of the genotype reaction, followed by mean separation by Tukey's b test. Results of 2010 did not allow the separation of tolerant (*i.e.*, possessing resilience of yield, even though susceptible to the disease) or resistant genotypes and susceptible ones. This was due to the low disease levels, probably because of the climatic conditions unfavorable for epidemic development, in connection with the late planting date in 2010. Contrarily, in 2011, the great majority of the genotypes were susceptible to the disease, and only 3.4 % were resistant, while 16 % were moderately resistant. Resistant genotypes (blast incidences lower than 5 %) were: Melchior, Safira, Jesuita, CASW94Y00116S (intermediate maturing cycle) and Trintecinco (late cycle). Early maturing genotypes showed the highest incidences of blast. BH1146 and PF909 (early cycle) and África 43 (intermediate cycle) were considered tolerant.

INTRODUÇÃO

A brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe grisea* (anamorfo: *Pyricularia grisea*) é hoje foco central dos programas de melhoramento de trigo (*Triticum aestivum*), que buscam fontes de resistência para o desenvolvimento de cultivares com níveis adequados de resistência à doença. Esta demanda ocorre em virtude dos enormes danos que a brusone provoca nas lavouras de trigo, principalmente nas regiões dos Cerrados e ao norte do Paraná, que possuem histórico elevado de incidência da doença (Anjos *et al.*, 1996; Arruda *et al.*, 2005; Trindade *et al.*, 2006). A doença é reconhecida como ameaça mundial para produção de trigo (Peterson *et al.*, 2011) e estudos de avaliação de risco foram iniciados no Brasil (Fernandes & Pavan, 2011) e no mundo (Duveiller *et al.*, 2011).

O Cerrado brasileiro tem um ótimo potencial para produzir trigo de alta qualidade e em grande quantidade, desde que medidas essenciais, como o uso de cultivares resistentes à brusone e adaptadas a região sejam tomadas, isso porque a ocorrência da doença é extremamente alta nas condições de trigo safrinha nos Cerrados, sendo o principal fator limitante da produtividade (Trindade *et al.*, 2006). Tal situação é agravada pela carência de cultivares resistentes, ou mesmo, tolerantes à doença, bem como a baixa eficiência dos produtos disponíveis para o controle químico (Goulart & Paiva, 1993; Goulart & Paiva, 2000; Urashima 2004; Marchioro & Franco 2010).

Além disso, o desenvolvimento de cultivares com resistência completa e duradoura tem sido tecnicamente difícil e financeiramente oneroso (Urashima *et al.*, 2001). No caso da resistência à brusone obtida no melhoramento de arroz (*Oryza sativa*) esta tem sido de baixa durabilidade, o que tem sido explicado pela alta variabilidade do fungo. Raças de *Magnaporthe oryzae*, inicialmente raras na população do patógeno, mas compatíveis com as novas linhagens resistentes introduzidas são rapidamente selecionadas e se tornam prevalentes, quebrando a resistência em poucas safras (Zeigler *et al.*, 1994). O mesmo padrão pode se repetir para o patossistema trigo-*Magnaporthe*, embora a origem dos isolados compatíveis com trigo possa ser de outras gramíneas silvestres e não do arroz (Ceresini *et al.*, 2011).

O melhoramento genético visando à resistência envolve a avaliação e seleção de plantas com a maior variabilidade genética disponível, sob níveis uniformes de inóculo.

A intensidade de uma doença nas plantas varia com as alterações na frequência das populações do patógeno ou das condições climáticas. Assim, a avaliação da doença deve levar em consideração tanto o meio ambiente quanto o estágio de crescimento e desenvolvimento da planta (Prabhu & Filippi, 2006). No contexto das doenças de plantas, ensaios do tipo “hot spots” são instalados em locais com alta variabilidade natural do patógeno, permitindo captar a maior diversidade da população do patógeno possível, tanto no aspecto temporal quanto espacial, assegurando maior estabilidade da resistência genética do hospedeiro.

No patossistema *Magnaporthe grisea* x trigo até o momento são desconhecidos quaisquer genes de resistência vertical à brusone (Trindade, 2006). Além disso, na grande maioria dos casos, a resistência em folhas, não se correlaciona com a resistência nas espigas de trigo (Arruda *et al.*, 2005). Cruz *et al.* (2011), encontram alguma relação, mas esta é incompleta: apenas 64% de reação de espiga foi explicado pela reação de folha.

A brusone do trigo caracteristicamente tem uma importância maior a partir do início do florescimento, sendo esse estágio considerado o principal, pois uma vez à doença estabelecida nas espigas, são maiores os impactos na produtividade, levando à produção de grãos chochos, de baixo peso específico ou de espigas sem grãos.

Neste trabalho avaliou-se a reação de uma coleção de 147 genótipos de trigo hexaplóides, incluindo materiais comerciais, linhagens e materiais sintéticos, em condições de campo, em época e local (Cerrado) extremamente favoráveis à doença (ensaios tipo *hot spot*).

MATERIAL & MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no campo experimental da Embrapa-Cerrados (CPAC- Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado) – Planaltina/DF, entre o período de fevereiro do ano de 2010 a julho de 2011, em sistema de sequeiro, com irrigação suplementar para favorecer a doença.

Origem dos genótipos

Foram testados 147 genótipos de trigo do Banco de Germoplasma (BAG) da Embrapa Trigo, sendo 133 cultivares comerciais e linhagens de trigo hexaplóide e 14 genótipos de trigo hexaplóide sintéticos. Os genótipos foram escolhidos favorecendo a mais ampla diversidade genética possível.

Delineamento e manejo dos experimentos

Foram realizados dois experimentos para avaliação dos genótipos. O primeiro com época de semeadura em 17 de março de 2010, e o segundo em 17 de fevereiro de 2011 em sistema de sequeiro, com irrigação suplementar.

Para cada genótipo testado foram plantadas três linhas de três metros cada, semeando-se 90 sementes/m, cada linha correspondendo a uma parcela. O espaçamento entre linhas foi de 20 centímetros. Os materiais foram separados por ciclo de maturação. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado. A semeadura foi realizada manualmente e todos os genótipos foram semeados no mesmo momento. Utilizou-se para a bordadura a cultivar de trigo Anahuac, considerada altamente suscetível à brusone.

A adubação de base foi de 400 kg ha⁻¹ da formulação 4-30-16 + Boro. Foram realizadas duas aplicações iguais de adubação de cobertura na dosagem de 80 Kg de N/ha aos 20 e aos 40 dias após a semeadura. O fungicida propiconazol (Singenta) que não tem ação sobre a brusone, na dosagem de 0,5 l/ha, foi aplicado com intervalo de 15 dias, até o período de formação de grãos, para controle de outras doenças causadoras de manchas foliares. Capinas manuais e demais tratos culturais foram realizados de acordo com a necessidade e o desenvolvimento da cultura. Aplicou-se o herbicida metsulfuron-metil (DuPont), na dosagem de 10g/ia/ha, para controle de plantas invasoras dicotiledôneas.

A colheita foi realizada manualmente, separando-se as espigas sadias das infectadas, em sacos de papel devidamente identificados com o número da parcela. Foi feita a contagem do número de espigas sadias, infectadas e total de cada parcela. As espigas de trigo que não apresentaram sintomas foram trilhadas mecanicamente e as espigas doentes foram trilhadas manualmente. Os grãos trilhados foram peneirados e

posteriormente pesados os grãos oriundos das espigas sadias e infectadas, para estimativa da produção.

Sistema de irrigação

O sistema de irrigação utilizado foi com mangueiras do tipo Santeno II com microfuros distribuídos ao longo do comprimento. Este sistema de microfuros garantiu uniformidade de distribuição da água ao longo das mangueiras e assegurou o molhamento superficial das folhas, que combinado com as altas temperaturas prevalentes nas épocas dos experimentos, proporcionou condições ideais ao desenvolvimento da brusone. Nesse sistema não teve como objetivo irrigar as plantas para suprir as necessidades de água, mas apenas molhamento superficial das plantas.

Avaliação dos genótipos quanto à reação à brusone

Os materiais foram classificados conforme o número de dias entre o plantio e espigamento de 50% das plantas nas parcelas sendo denominados de ciclo curto (até 60 dias), ciclo médio (61 a 75 dias) e ciclo longo (acima de 75 dias), segundo Andrade (1998), Doto *et al.* (2001) e Sobrinho *et al.* (2008).

Os genótipos foram avaliados para incidência de brusone a cada sete dias, a partir do início do espigamento. Em geral, foram realizadas de 6 a 9 avaliações conforme o ciclo de desenvolvimento das plantas, marcando-se as espigas sintomáticas com barbantes de cores diferentes a cada nova avaliação. Por fim, anotou-se o número de espigas infectadas de cada parcela.

A classificação da reação de resistência dos materiais foi realizado separadamente nos anos de 2010 e de 2011 segundo a escala arbitrária de Goulart *et al.* (1991), através da determinação dos percentuais de espigas com sintomas de brusone ao final do ciclo, onde: Resistente (R), de 1 a 5%; Moderadamente Resistente (MR), de 6 a 25%; Moderadamente Suscetível (MS), de 26 a 50%; Suscetível (S), de 51 a 75%; e Altamente Suscetível (AS), mais de 75% das espigas com sintomas. A incidência (I) em porcentagem de doença foi dada pela equação: $I = (Nei / Net) \times 100$, onde Nei=números de espigas infectadas; Net= número total de espigas.

Determinação das perdas da produção

As perdas (P) foram determinadas de acordo com os cálculos propostos por Goulart (2004) através da diferença entre o rendimento potencial (RP) e o rendimento realmente obtido (RR), pelas seguintes fórmulas:

$$RP = (P_{ges}/N_{es}) \times Net$$

$$RR = P_{ges} + P_{gei}$$

$$P = RP - RR$$

Onde, P_{ges} = peso total de grãos de espigas sadias (g/m^2); N_{es} = número total de espigas sadias/ m^2 ; Net = número total de espigas; P_{gei} = peso total de grãos de espigas infectadas/ m^2 , sendo os valores finais extrapolados para kg/ha. Considerou-se como perda a redução na quantidade de grãos. Para melhor compreensão das relações entre incidência e perdas foi também realizada a análise de regressão entre estas variáveis.

Análise estatística

Por se tratar de um grande conjunto de genótipos, uma análise conjunta dos anos de 2010 e 2011 foi realizada, pelo método hierárquico de agrupamento construído por meio de uma estrutura “tipo árvore”, representada por dendrograma (anexos). Para determinação dos agrupamentos foi utilizado o algoritmo de hierarquização de Ward que consiste em um procedimento de agrupamento no qual a medida de similaridade usada para agrupá-los é calculada como a soma de quadrados. Este método tende a resultar em agrupamentos de tamanhos aproximadamente iguais devido a sua minimização de variação interna. E cada estágio, combinam-se os dois agrupamentos que apresentarem menor aumento na soma global de quadrados dentro dos agrupamentos (Hair *et al.*, 2005).

Em ambos os experimentos foi utilizado o Delineamento Inteiramente Casualizados (DIC) e o programa estatístico Statistical Package for Social Sciences – IBM SPSS 19.0. Empregou-se o teste de Kolmogorov- Smirnov para análise da normalidade dos dados. Após agrupamento dos genótipos, foi avaliada a homogeneidade de variância e aplicado a ANOVA. Constatado efeitos dos tratamentos (genótipos), as médias dos grupos foram comparadas pelo método de Tukey’s-b ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS

A classificação dos genótipos por ciclo e sua reação à brusone, segundo a escala atribuída de Goulart *et al.* (1991) estão apresentada nas Tabelas 1 e 2. Em 2010, 74 genótipos foram de ciclo curto, 39 de ciclo médio e 25 de ciclo longo (Tabela 2). Em 2011, 80 genótipos foram de ciclo curto, 42 de ciclo médio e 25 de ciclo longo (Tabela 1).

No experimento de 2011 a incidência de brusone foi muito maior que em 2010, e separou melhor os genótipos em relação à reação de resistência. Em 2011, 147 genótipos foram classificados como AS, S, MS, MR e R, enquanto em 2010, as porcentagem máximas de incidência da brusone nas espigas foram de 17,78% inviabilizando a distribuição dos genótipos nas classes de Goulart *et al.* (1991). A aplicação do algoritmo de Ward permitiu a separação dos genótipos em 3 ou 4 grupos, com diferenças significativas na comparação de médias desses grupos ($P \leq 0,05$), principalmente em 2011.

Reação dos genótipos à brusone em 2011

Em 2011, as temperaturas amenas combinadas com alta umidade e precipitação até os 70 dias após o plantio (Figura 5A) predisuseram à ocorrência de níveis severos da brusone em espigas de trigo. Nesse ano, cerca de 5 % dos genótipos apresentaram algum nível de resistência ou tolerância à brusone do trigo, enquanto a maioria foi muito suscetível.

Oitenta materiais de trigo foram classificados como de ciclo curto (espigamento entre 40 e 60 dias), 42 materiais como ciclo médio (entre 61 e 75 dias) e 25 materiais como ciclo longo (acima de 75 dias). Esses genótipos foram classificados quanto à reação de resistência segundo Goulart *et al.* (1991) e também foram separados em quatro grupos, conforme a incidência nas espigas de trigo pelo método de Ward (Tabela 1).

A Figura 1 mostra a separação de médias dos grupos de resistência para materiais de ciclo curto, segundo o método de Ward. Dentre os materiais de ciclo curto, os grupos 1 e 2, compostos por 38 e 14 genótipos respectivamente, reúnem os genótipos altamente suscetíveis (AS) à brusone, com incidência média entre 79,6 % e 97,9 %. No grupo 3, composto por 15 genótipos, encontram-se aqueles que apresentaram incidência média

de 58,8 %, sendo 14 genótipos caracterizados como suscetíveis (S) e o genótipo mexicano Siete Cerros, com incidência de 46,1 %, caracterizado como moderadamente suscetível (MS). E por fim o grupo 4, com 13 genótipos, apresentou as menores incidências (média de 23,9 %) incluindo genótipos moderadamente resistente (MR). Dentro desse grupo os genótipos BRS 179 e 307 apresentaram as menores incidências de brusone nas espigas, com 7,2 % e 7,6 % respectivamente e são promissoras fontes de resistência para o melhoramento do trigo visando resistência à *Magnaporthe grisea* (Tabela 1, Figura 1).

Quarenta e dois genótipos foram classificados de ciclo médio desenvolvimento. O agrupamento desses materiais quanto à reação à brusone ($P \leq 0,05$) se encontra na Figura 2. Dentre os materiais de ciclo médio o grupo 1 reuniu sete genótipos, com incidência média de 95,9 %, todos classificados como altamente suscetível (AS). O grupo 2, com nove genótipos consiste os materiais que apresentaram reações suscetíveis (S) e altamente suscetíveis (AS), com incidência média nas espigas de 76,5 %. O grupo 3 compreende onze genótipos com reação de suscetibilidade (S) e moderadamente suscetível (MS), com incidência média de 51,4 % de brusone nas espigas. Alguns genótipos deste grupo apresentaram reações MS, tais como Castigo (46%); 302 (44,7 %); Patriarca (41,6 %) e Peladinho (48,0 %). O grupo 4 reuniu os genótipos que apresentaram os menores índices percentuais de brusone nas espigas, caracterizados nas classes MR e R, com destaque para Jesuíta (1,1 %); Melchior (4,6 %); Safira (3,8 %) e o trigo sintético CASW94Y000116S (0,7 %). Os demais genótipos do grupo 4 foram considerados moderadamente resistentes (MR) (Tabela 1, Figura 2).

Os vinte e cinco materiais que apresentaram ciclo longo de desenvolvimento foram separados em apenas 3 grupos quanto à incidência de brusone ($P \leq 0,05$). No grupo 1 apresentou as maiores incidências, com média de 94,3 % e todos os genótipos foram considerados altamente suscetíveis (AS). No grupo 2, com incidência-média de 69,8 %, todos os genótipos foram classificados como S. O grupo 3, representado por 18 genótipos, foi o que apresentou os menores valores de incidência, com média de 15,5 % (Figura 3). Este grupo incluiu o genótipo Karim, representado no gráfico como um *outlier* isto porque esse genótipo apresentou maior valor de incidência dentro desse grupo com 40,0 %, valor discrepante ao ser comparado com os demais genótipos. Ainda assim obteve-se normalidade entre os dados. No grupo 3, encontra-se o genótipo Trintecino com 3,0 % de incidência apresentando reação de resistência (R). Os demais

genótipos apresentados dentro desse grupo apresentaram reação moderadamente suscetível (MS) à brusone (Tabela 1, Figura 3).

Correlação entre incidência e perdas

A relação entre a incidência e perdas ocasionada pela brusone, foi estudada independentemente para os genótipos de ciclo curto, médio e longo, através de modelos de regressão linear (Figura 4 A, B, C). A incidência da brusone da espiga foi utilizada como variável independente e variável de perdas como dependente. Para essa análise não foram incluídos os materiais de trigo hexaplóides sintéticos, pela dificuldade de trilhá-los e, por conseguinte, estimar as perdas.

Entre os genótipos de ciclo curto 67% das perdas de produção podem ser atribuídos à incidência da doença nas espigas ($r^2=0,6725$) explicando que as perdas de produção ocorreram principalmente em função da incidência da doença. Por exemplo, os genótipos Sonalika, IAC-24, Bul Bul, Embrapa 22, BR 33 e IAC 5, dentre outros genótipos inseridos no grupo de alta suscetibilidade, apresentaram 100% de incidência de brusone nas espigas e altos valores de perdas entre 89,2 % e 98,0 % .

Entretanto, nem sempre as maiores incidências ocasionaram as maiores perdas. Em alguns poucos casos, como por exemplo, a linhagem PF 909 (Figura 4A) com incidência média de 78,0 %, apresentou baixas perdas com apenas 1,3 % caracterizando o material possivelmente tolerante à doença. O genótipo BH 1146 também foi considerado tolerante pois teve 64,3 % de incidência e apenas 1,6 % de perdas (Figura 4A), diferentemente dos resultados obtidos por Arruda (2005), onde essa mesma cultivar foi considerado resistente, tanto na fase de plântulas como na fase adulta com, 9,9 % de incidência nas espigas. Igarashi & Utiamada (1986), Igarashi (1988), Barros & Felício (1988) e Goulart & Paiva (1992) também verificaram baixas percentagens de espigas infectadas por brusone nesse material. No entanto, embora essa cultivar apresentasse baixa incidência da doença, seu rendimento de grãos foi inferior aos obtidos por algumas cultivares que apresentaram maior porcentagem de espigas com brusone (Goulart & Paiva 1992). Segundo esses autores, o motivo da baixa produção estaria condicionada ao acamamento da cultivar, o que não foi observado no presente estudo.

Para os genótipos de ciclo médio, a relação entre os percentuais de incidência e perdas está apresentada na Figura 4B com $r^2 = 0,7866$. Dentre todos os materiais destaca-se o genótipo África 43, também com aparente reação de tolerância à brusone, já que neste trabalho apresentou alta incidência (81,0 %) e baixos percentuais de perdas, em torno de 13,3 %.

A mais alta correlação foi encontrada entre incidência da brusone e perdas foi encontrada nos materiais de ciclo longo (Figura 4 C, $r^2 = 0,9042$). Materiais de trigo hexaplóide sintético de ciclo médio e longo não foram incluídos nesta regressão, devido às dificuldades de trilhá-los.

Os altos índices de doença observados no ano de 2011 podem ser relacionados às condições climáticas extremamente favoráveis ao desenvolvimento de epidemias nesse ano. Por exemplo, os genótipos de ciclo curto, que apresentaram os maiores níveis de incidência da brusone, no experimento, espigaram entre 40 e 60 dias após o plantio e tiveram o espigamento coincidente com temperatura média de 22°C e umidade relativa do ar entre 80 % e 85% (Figura 5A).

Reação dos genótipos à brusone em 2010

Foram avaliados neste ano de 2010, 75 materiais apresentaram ciclo curto, 40 materiais de ciclo médio e 25 genótipos de ciclo longo de desenvolvimento. A baixa incidência da doença nas espigas nos mais diversos genótipos avaliados nesse ano limitou as possibilidades de comparação do desempenho dos genótipos de trigo quanto à reação de resistência da brusone nas espigas.

No entanto, mesmo apresentando valores de percentuais de incidência baixo, houve diferenças significativas entre os genótipos de trigo dentro de cada ciclo. No ciclo curto os genótipos foram separados em cinco grupos distintos: o grupo 1 representado apenas por uma única cultivar, Maiten Inia, que apresentou índices de incidência de 15,07% da doença; grupo 2 com 5 genótipos de 7,5%; grupo 3 com 8 genótipos com 4,36%; grupo 4 com 20 genótipos de trigo com 2,2%; e por fim o grupo 5 compreendeu 41 genótipos apresentando incidência média de 0,50% (Tabela 2, Figura 6).

Da mesma maneira os genótipos com ciclo médio de desenvolvimento foram separados em cinco grupos: o grupo 1 indicado apenas por único genótipo de trigo, o PF

93159, que apresentou incidência de 17,7%; grupo 2 com 2 genótipos apresentando 8,4% de incidência média; grupo 3 com 7 genótipos com incidência média de 4,5%; grupo 4 com 12 genótipos com incidência média de 2,5%; e por último grupo 5 com 18 genótipos com média de incidência de 0,58% (Tabela 2, Figura 7).

Para os genótipos que apresentaram ciclo longo de desenvolvimento, apesar dos valores baixos de incidências mostraram diferenças estatísticas pelo teste de Tukey α -b ($P \leq 0,05$), quatro grupos foram definidos: grupo 1 com 3 genótipos e 6,21% de incidência; grupo 2 composto por 3 genótipos e média de incidência de 3,88%; grupo 3 com 10 genótipos e média de 1,45% e por último o grupo com 9 genótipos e média de 0,06%; (Tabela 2, Figura 8).

No ano de 2010 não foi possível separar os materiais de trigo quanto a reação de resistência ou tolerância à brusone, devido a baixa intensidade de brusone neste ano nas condições naturais de campo, provavelmente em função das condições ambientais prevalentes (Figura 5B) especialmente pela ausência de precipitação após 40 dias após a semeadura e menores umidades relativas.

DISCUSSÃO

De acordo com Arruda *et al.* (2005), a seleção de materiais de trigo com resistência à brusone pode ser realizada através da incidência de espigas doentes, pois existe correlação altamente significativa desta com a severidade da doença. A seleção de genótipos pela estimativa de severidade é dificultada pela necessidade de treinamento e uniformização de critérios, ao passo que a incidência é uma variável de mensuração direta, que não apresenta essas particularidades (Arruda *et al.*, 2005).

Baseado nas diferenças de comportamento da doença nos anos de 2010 e 2011 demonstraram importância das condições climáticas na ocorrência de uma epidemia de brusone, conforme pode ser visto pelos dados climáticos (Figuras 5A, B). Observou-se que as condições de clima prevalentes no ano de 2010 foram desfavoráveis para a ocorrência de epidemias da brusone, pois o espigamento dos genótipos iniciou-se na segunda quinzena do mês de abril, com aproximadamente 40 dias após a semeadura e esta época coincidiu com o final do período chuvoso e umidade relativa do ar baixa

(média de 62%), explicando a baixa incidência da doença e a ausência dos prejuízos no rendimento da cultura. Contudo, acredita-se que o aparecimento da doença mesmo em baixa intensidade foi devido ao processo de irrigação do experimento.

Diferentemente do ano de 2010, em 2011 a intensidade da doença foi alta, com base no parâmetro da incidência. Este fato deve-se ao plantio antecipado dos genótipos de trigo no mês de fevereiro, o qual coincidiu o início do espigamento com as épocas favoráveis do desenvolvimento da brusone. As plantas espigaram quando as condições climáticas encontravam-se ótimas para o desenvolvimento da epidemia da doença, com temperaturas amenas em torno de 22°C e umidade relativa do ar entre 88% e 83% nas condições de campo, justificando a elevada percentagem de espigas com brusone (Goulart *et al.*, 2007). Além das condições climáticas favoráveis, a associação do fungo com outras gramíneas como hospedeiras explica a ocorrência irregular e aos surtos esporádicos da doença no campo (Fernandes, 2011).

Desta maneira, a baixa ocorrência da doença nos materiais no ano de 2010 pode ser considerado resultado de escapes. De acordo com Prabhu & Morais (1993) a planta não pode ser considerada resistente com base na ausência de sintomas se as condições ambientais são desfavoráveis. Para redução de perdas por brusone, Mehta *et al.* (1992), recomendam plantio após o dia 10 de abril no cone Sul do continente sulamericano. Esta estratégia permite que o florescimento da planta ocorra quando o ambiente é mais seco e não são favorável ao desenvolvimento da brusone, evitando de fato a infecção precoce das espigas de trigo (Urashima, 2004).

Os resultados dos experimentos, avaliados em conjunto, permitiram identificar fontes de resistência em uma amostra representativa do germoplasma de *Triticum aestivum*. A ocorrência de resistência foi mais rara entre os materiais precoces e mais frequente entre os materiais de ciclo médio e longo. No experimento de 2011 cerca de 16% dos genótipos de ciclo curto (grupo 4 - Tabela 1 e Figura 1) apresentaram reação MR destacando-se os genótipos 307, possíveis fontes de resistência em programas de melhoramento. Entretanto, neste trabalho alguns materiais pareceram exibir resistência de alto efeito, semelhantes à resistência vertical (sensu VanderPlank, 1963), com incidências menores que 5 %, tais como os genótipos Melchior, Safira, Jesuita, CASW94Y00116S (ciclo médio) e Trintecinco (ciclo longo). Esses materiais representam cerca de 3 % do total de 147 genótipos avaliados. Resultados semelhantes

também foram relatados por Peterson *et al.* (2011), analisando uma coleção de 200 genótipos de trigo encontrou apenas 3% dos materiais com fontes de resistência de interesse para o melhoramento, dos quais 3 cultivares apresentaram menos de 4% de infecção e 3 materiais com menos de 10% de infecção à brusone. Também Cruz *et al.* (2011) verificando o comportamento de 72 cultivares de trigo, encontraram seis cultivares de trigo com reação de resistência à brusone do trigo, dos quais apenas uma cultivar apresentou menos de 1% de infecção e 5 cultivares apresentaram 2,5% de infecção de brusone nas espigas, correspondendo a 8% do total das cultivares estudadas. Diante desses resultados verificamos que a distribuição de fontes de resistência e tolerância à brusone no banco de germoplasma do trigo é rara, bem como os materiais tolerantes também são raros no banco de germoplasma. Nas Figuras 9 A, B e C está apresentado o ‘continuum’ de reação à brusone observados nos genótipos de ciclo curto, médio e longo no ano de 2011, indicando que a resistência identificada neste estudo é de natureza poligênica, compatível com a resistência horizontal (*sensu* VanderPlank, 1963). Logo, graus intermediários de incidência podem representar níveis de resistência horizontal (Santos *et al.*, 2002).

Até o momento a resistência vertical no patossistema trigo x *Magnaporthe grisea*, ainda não foi encontrada embora haja relatos de cultivares que apresentam resistência parcial à doença (Trindade *et al.*, 2006). A resistência horizontal, dada pelo conjunto de genes menores, pode desempenhar um importante papel na manutenção de níveis aceitáveis de doença em condições de campo. A combinação entre os tipos de resistência vertical e horizontal seria uma estratégia para aumentar a vida útil das futuras linhagens de melhoramento para resistência à brusone do trigo.

Embora os resultados no presente trabalho sejam positivo, os materiais mais promissores devem ser testados em outras regiões, para maior validação da reação de resistência a moderadamente resistente, pois sabe-se que sob condições naturais de campo a resistência de um determinado genótipo de trigo em uma região geográfica nem sempre se confirma em outras regiões (Maciel *et al.*, 2008).

Dificuldade em se obter cultivares com alta com alta resistência a essa doença está de acordo com as hipóteses levantadas por Urashima & Kato (1994), que seria devido à homogeneidade de germoplasma de trigo cultivado no mundo para esta nova doença e associada ao amplo espectro de variabilidade da patogenicidade dos isolados de fungo

causadores de brusone no trigo. A diversidade de virulência de isolados também explicaria porque algumas cultivares resistentes em estudos anteriores se comportaram como suscetíveis nestes ensaios *hot spot*.

Os materiais que aparecem como *outliers* nas Figuras 4 A e B como BH1146, PF909 (ambos de ciclo curto) e África 43(ciclo médio), apresentaram altas incidências com baixas perdas de produção, parecem reunir características de tolerância à brusone. Segundo Goulart (2007; 2005a), essa relação pode ser explicada pelo momento de infecção da espiga, sendo maiores os danos quando a infecção ocorre na época de formação dos grãos (infecção precoce), incluindo infecção durante o florescimento, antes mesmo da fecundação do óvulo. De maneira inversa, quanto mais tardia for a infecção menores serão os danos.

Considerando-se estes aspectos, é difícil dizer quanto uma planta poderia tolerar uma doença, sem sofrer perdas significativas na produtividade, sendo que a intensidade da perda na produção é determinada, geralmente, pela época em que ocorre a infecção e pelo órgão afetado na planta (Goulart 2005 b; 2005c).

Quanto a reação imune, os resultados aqui obtidos concordaram com anteriores, mostrando que até o presente momento não se dispõe de materiais de trigo imunes a doença (Goulart *et al.*, 1991; Urashima & Kato 1994; Urashima *et al.*, 1999; Urashima *et al.*, 2004; Arruda *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2010).

Em geral conjuntos de estratégias de medidas devem ser adotadas durante a condução da lavoura de trigo. As informações relatadas neste trabalho levam ao produtor o conhecimento das cultivares de trigo que apresentaram reação de resistência conhecida, possibilitando então a escolha de materiais adequados à adoção de um manejo integrado e sustentável de produção.

Os resultados aqui relatados demonstram a importância que o trabalho de seleção de genótipos seja conduzido em regiões e épocas de clima favorável ao processo de epidemia da doença e de grande diversidade natural do patógeno (*hot spots*), conforme verificado nestes ensaios, especialmente em 2011.

Conclui-se que dos 147 genótipos de trigo avaliados em condições de campo, somente cinco genótipos a saber: Jesuíta, Melchior, Safira, Trintecinco e o trigo

hexaploide sintético CASW94Y000116S mostraram reação de resistência à brusone. Três outros genótipos, PF909, BH 1146 e África 43 mostraram tolerância a brusone. Contudo o pequeno número de genótipos que sobressaíram durante a condução dos ensaios indica que no germoplasma de *Triticum aestivum* é relativamente pobre em fontes de resistência para o programa de melhoramento genético contra a brusone.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida AB, Chaves MS, Brammer SP, Baggio MI (2007) Identificação e caracterização de fontes de resistência à ferrugem da folha em *Triticum tauschii*. *Fitopatologia Brasileira* 32:349-352.

Andrade JMV, Albrecht JC, Sousa CAN, Braz AJBP, Souza MA (1998) Embrapa 21: Nova cultivar de trigo para Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Distrito Federal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33:1209-1213.

Anjos JRN, Silva DB, Charchar MJD, Rodrigues GC (1996) Ocorrência de brusone (*Pyricularia grisea*) em trigo e centeio na região dos cerrados do Brasil Central. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 31:79-82.

Arruda MA, Bueno CRN, Zamprogno KC, Lavorenti NA, Urashima AS (2005) Reação do trigo à *Magnaporthe grisea* nos diferentes estádios de desenvolvimento. *Fitopatologia Brasileira* 30:121-126.

Barros BC, Felício JC (1988) Comportamento de cultivares de trigo em relação à brusone (*Pyricularia oryzae*) a nível de campo. In: Reunião da comissão centro-sul brasileira de pesquisa de trigo, v 4, Campinas, Resultados de pesquisa. Instituto biológico.

Camargo LEA (2011) Genética da interação patógeno-hospedeiro In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin-Filho A (Eds) Manual de Fitopatologia vol. 1: princípios e conceitos 4.ed. São Paulo SP. Agronômica Ceres p119-132.

Ceresini PC, Maciel JL, Kohn L, Levy M, McDonald BA (2011) A “de novo” origin for the wheat –adapted populations of *Magnaporthe oryzae* in Southern Brazil and levels of gene flow 20 years after the first epidemics. *Phytopathology* 101 (Suplemento): S 221. (Resumo).

Cruz CD, Bockus W, Pedley K, Peterson G, Stack J, Tang X, Valent B (2011) Resistance among U.S. wheat (*Triticum aestivum*) cultivars to the wheat pathotype of *Magnaporthe oryzae*. *Phytopathology* 101 (Suplemento): S 220. (Resumo).

Dotto SR, Brunetta D, Bassoi MC, Scheeren PL, Tavares LC (2001) Cultivar de trigo BRS 208: qualidade, rusticidade e qualidade. Londrina: Embrapa Soja (EMBRAPA CNPS, Circular técnica n° 31). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/446142/1/circtec31.pdf>>

Duveiller E, Hodson D, Sonder K, Von- Tiedemann A (2011) An international perspective on wheat blast. *Phytopathology* 101 (Suplemento): S 220. (Resumo).

Field A (2009) Descobrimos a estatística usando o programa SPSS. 2ª ed. Porto Alegre: Astmed.

Fernandes JC, Pavan W (2011). Risk mapping wheat blast potential in Brazil. *Phytopathology* 101 (Suplemento): S221. (Resumo).

Fernandes MIBM, Zonatta ACA, Prestes AM, Caetano VR, Barcellos AL, Angra DC, Pandolfi V (2000) Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Genetics and molecular biology* 23:1051-1062.

Goulart ACP (2000) Avaliação de perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, no período de 1988 a 1992, em Mato Grosso do Sul. Dourados MS: Embrapa Agropecuária Oeste (EMBRAPA - CNPAO Boletim de Pesquisa nº 07).

Goulart ACP (2004) Perdas em trigo causadas pela brusone. In: Workshop de epidemiologia de doenças de plantas, 1. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dfp/workshop/Resumos/Perdas%20trigo%20brusone.pdf>>.

Goulart ACP (2005a) Perdas em trigo causada pela brusone. In: Workshop de epidemiologia de doenças de plantas. Viçosa MG. Quantificação de perdas no manejo de doenças de plantas anuais. Universidade Federal de Viçosa -123-130.

Goulart ACP (2005 b) Trigo: Chave do problema. Caderno Técnico Cultivar Trigo. Circular encartado em Cultivar: Grandes Culturas, Pelotas, 73:7-10.

Goulart ACP (2005 c) Trigo: escolhendo os fungicidas. Caderno Técnico Cultivar Trigo. Circular encartado em Cultivar: Grandes Culturas, Pelotas 73:11-12.

Goulart ACP (2005 d) Trigo: Segurança dobrada. Caderno Técnico Cultivar Trigo. Circular encartado em Cultivar: Grandes Culturas, Pelotas, 72: 8-10.

Goulart ACP, Paiva FA (1991) Controle de *Pyricularia oryzae* e *Helminthosporium sativum* pelo tratamento de sementes de trigo com fungicidas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26:1983-1988.

Goulart ACP, Paiva FA (1992) Incidência da brusone (*Pyricularia oryzae*) em diferentes cultivares de trigo (*Triticum aestivum*) em condições de campo. *Fitopatologia Brasileira* 17:321-325.

Goulart ACP, Paiva FA (1993) Avaliação de fungicidas no controle da brusone (*Pyricularia oryzae*) do trigo (*Triticum aestivum*). *Fitopatologia Brasileira* 18:167-173.

Goulart ACP, Paiva FA (2000) Perdas no rendimento de grãos de trigo causada por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. *Summa Phytopathologica* 26:279-282.

Goulart ACP, Paiva FA, Colman OP (1991) Reação de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) à brusone (*Pyricularia oryzae* Cav.) em condições de campo. Resultados de pesquisa com trigo-1990/ VII Reunião da comissão Centro-Sul Brasileira de pesquisa de trigo-Dourados MS. (Embrapa UEPAE Documentos 47).

Goulart ACP, Sousa PG, Urashima AS (2007) Danos em trigo causados pela infecção de *Pyricularia grisea*. Summa Phytopathologica 33:358-363.

Hair JF, Anderson RE, Tatham RL, Black WC (2005) Análise multivariada de dados. Anna ASS, Neto AC (trad). 5 ed. Porto Alegre: Bookman.

Igarashi S, Utiamada CM, Igarashi LC, Kazuma AH, Lopes RS (1986) *Pyricularia* em trigo. 1. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. Fitopatologia Brasileira 11:351-352

Maciel JLN, Paludo EA, Silva MS, Scheeren PL, Caierão (2008) Reação à brusone de genótipos de trigo do programa de melhoramento da Embrapa Trigo no estágio de planta adulta. Passo Fundo: Embrapa Trigo – CNPT (EMBRAPA – CNPT Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 64).

Marchioro VS, Franco FA (2010) Informações técnicas para trigo e triticale – Safra 2011. IV Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de trigo e triticale. Coodetec: Cascavel-PR.

Mehta YR, Riede CR, Campos LAC, Kohli MM (1992) Integrated management of major wheat diseases in Brazil: an example for the Southern Cone region of Latin America. Crop Protection 11:517-524.

Moraes Fernandes MIB, Zanatta ACA, Prestes AM, Caetano VR, Barcellos AL, Angra DC, Pandolfi V (2000) Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial and synthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell). Genetics and Molecular Biology 23:1051-1062.

Moraes-Fernandes MIB (1985) O trigo nosso de cada dia - domesticar o grão. Ciência Hoje 7: 36 – 45.

Moraes-Fernandes MIB, Antonioli SR, Barcellos AL, Linhares WI (1988) Obtenção de linhagens hexaplóides sintéticas através de cruzamentos interespecíficos entre *Triticum durum* Desf. e *Aegilops squarrosa* L., resistentes a moléstias fúngicas. In: XV RENAPET, Resumos. Passo Fundo: Embrapa Trigo.

Myers N, Milttermeier RA, Milttermeier CG, Fonseca AB, Kents J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403:853-858.

Peterson GL, Pedley KF, Bockus WW, Stack JP, Cruz CD, Valent BS (2011) Susceptibility of select U.S. winter wheat cultivars to wheat blast (*Magnaporthe oryzae*). Phytopathology 101 (Suplemento): S 141. (Resumo).

Prabhu AS, Filippi MC (2006) Estratégias de melhoramento para resistência à brusone. In: Prabhu AS, Filippi MC (Eds) Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Santo Antonio do Goiás: Embrapa Arroz e Feijão.

Prabhu AS, Morais OP (1993) Resistência estável às doenças de plantas. In: Luz WC, Fernandes JM, Prestes AM, Picinini EC (Eds.) RAPP- Revisão Anual de Patologia de Plantas. Passo Fundo.

Santos GR, Saboya LMF, Rangel PHN, Oliveira-Filho JC (2002) Resistência de genótipos de arroz a doenças no sul do estado do Tocantins, Brasil. Bioscience Journal 18:3-12.

Sobrinho JS, Silva MS, Casarotti DC, Alvarenga CB (2008) Comportamento de genótipos de trigo de sequeiro nos ensaios para determinação de VCU, em Coromandel-MG, no ano de 2007. Passo Fundo RS: Embrapa Trigo (EMBRAPA - CNPT Boletim de Pesquisa n° 56). Disponível em: <www.cnpt.embrapa.br/biblio/bp/p_bp56.pdf>

Toniazzo C, Vooss AT, Brammer SP, Bonow S (2009) Análise citogenética de acessos de trigo sintéticos. Passo Fundo: Embrapa Trigo (EMBRAPA –CNPT Documentos online 115).

Trindade MG, Prabhu AS, Só e Silva M (2006) Resistência parcial de genótipos de trigo a brusone nas folhas. Passo Fundo: Embrapa Trigo (EMBRAPA – CNPT Comunicado Técnico Online n° 201) Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co201.htm>

Urashima AS, Bruno AC, Lavorenti NA (2001) Análise da segregação de avirulência de *Magnaporthe grisea* do trigo. Fitopatologia Brasileira 26:644-648.

Urashima AS, Hashimoto Y, Don LD, Kusaba M, Tosa Y, Nakayashiki H, Mayama S (1999) Molecular analysis of the wheat blast population in Brazil with a homolog of retrotransposon MGR583. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 65:429-436.

Urashima AS, Igarashi S, Kato H (1993) Host range, mating type, and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil. Plant Disease 77:1211-1216.

Urashima AS, Kato H (1994) Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. Summa Phytopathologica 20:107-112.

Urashima AS, Lavorent NA, Goulart ACP, Mehta Y (2004) Resistance spectra of wheat cultivars and virulence diversity of *Magnaporthe grisea* isolates in Brazil. Fitopatologia Brasileira 29:511-518.

Vanderplank, JE (1963) Plant Diseases: Epidemics and Control. New York: Academic Press.

Zeigler RS, Tohme J, Levy M, Correa-Victoria FJ (1994) Lineage exclusion: a proposal for linking blast population analyses to resistance breeding. In: Zeigler RS, Leong SA, Teng PS (Eds) Rice blast disease Wallingford: CAB International.

Tabela 1: Agrupamentos dos genótipos de trigo avaliados no ensaio de 2011, quanto a incidência de brusone causada por *Pyricularia grisea* em função da época de espigamento como ciclo curto, ciclo médio e ciclo longo e agrupamento de acordo com os níveis médios de incidência de brusone nas espigas de trigo.

Genótipos							
Ciclo Curto							
Agrupamento segundo nível de incidência na espiga pelo método de Ward e Classificação segundo Goulart <i>et al.</i> (1991)							
1 (média = 97,6%)		2 (média = 79,6%)		3 (média = 58,8%)		4 (média = 23,9%)	
Sonalika	AS	INIA F66	AS	CASS03GH00084S**	S	M6 Synthetic**	MR
Precoz Paraná Inta	AS	Chhoti Lerma	AS	Embrapa 10	S	BRS 207	MS
Pampeano Inta	AS	PF 909	AS	Anahuac 75	S	T 50130	MR
Huanca	AS	Lagoa Vermelha	AS	BH 1146	S	Embrapa 40	MR
Morocco	AS	Trigo BR 24	AS	Giza	S	BRS 208	MS
W 185	AS	PF 92482	AS	Trigo BR 18	S	Embrapa 27	MS
MGS1 Aliança	AS	Ruminahui	AS	Hartog	S	IPF 71349	MR
Bul Bul	AS	Janz	AS	Siete Cerros	MS	PF 990606	MR
Embrapa 22	AS	PF 022203	AS	Tota 63	S	Onix	MS
LR 12 (RL 6011)	AS	PF 980354	AS	Londrina	S	PF 020458	MR
Trigo BR 33	AS	IPR 85	AS	BRS Louro	S	BRS 179	MR
ANGAS	AS	BRS 49	AS	PAT 7392	S	CNT 10	MS
BRS Guamirim	AS	Menceki	S	Trigo BR 32	S	307*	MR
Gigas 1381	AS	PF 030019	S	PF 0237	S	-	
IAC 24	AS	-		Brilhante	S	-	
PF 87849	AS	-		-		-	
IAC 5	AS	-		-		-	
PF 89326	AS	-		-		-	
Cailloux	AS	-		-		-	
Embrapa 42	AS	-		-		-	
PF 9127	AS	-		-		-	
PF 92393	AS	-		-		-	
CD 105	AS	-		-		-	
Cruza 0454	AS	-		-		-	
IAS 20	AS	-		-		-	
Karamu	AS	-		-		-	
PF 980270	AS	-		-		-	
PF 815299	AS	-		-		-	
Trigo BR 35	AS	-		-		-	
BRS Timbaúva	AS	-		-		-	
Maiten Inia	AS	-		-		-	
RS - 1 Fenix	AS	-		-		-	
PF 781198	AS	-		-		-	
PF 010255	AS	-		-		-	
PF 0262*	AS	-		-		-	

Jacuí	AS	-	-	-			
303*	AS	-	-	-			
Ning 84 N 1406	AS	-	-	-			
Ciclo Médio							
1 (média = 95,9%)		2 (média = 76,5%)		3 (média = 51,4%)		4 (média = 13,82)	
BRS 194	AS	Africa 43	AS	CASW94Y00065S**	S	BRS 220	MR
BRS Comboatã	AS	Agatha	AS	Castico	MS	BRS Angico	MR
Colônias	AS	BRS Guabiju	S	Colonista	S	CASW00GH00065S**	MR
PF 010161	AS	CASW94Y00064S**	S	Fundacep 30	S	CASW94Y00063S**	MR
PF 040183	AS	CEP 24	AS	G 1179-37	S	CASW94Y00116S**	R
PF 93157	AS	Kenya Farmer	S	Patriarca	MS	CIGM89.559-1B**	MR
Relin	AS	OR 1	AS	Peladinho	MS	Frontana	MR
-		PF 93159	S	PF 926	S	Jesuíta	R
-		Trigo BR 23	AS	Toropi	S	Maya 74	MR
-		-		Wuhan 3	S	Melchior	R
-		-		302	MS	Opata 85	MR
-		-		-		PF 89156	MR
-		-		-		PF 9052	MR
-		-		-		PF 990283	MR
-		-		-		Safira	R
Ciclo Longo							
1 (média = 94,3%)		2 (média = 69,8%)		3 (média = 15,5%)		4	
Narino 59	AS	Cotiporã	S	CASS03GH00077S**	MR	-	-
PG 1	AS	Estanzuela Dorado	S	CASW00GH00019S**	MR	-	-
CASS03GH00099S**	AS	IPR 84	S	BRS 177	MR	-	-
Snogg	AS	-		CASW02GH00002S**	MR	-	-
-		-		CASW02GH00005S**	MR	-	-
-		-		CASW02GH00045S**	MR	-	-
-		-		Embrapa 16	MR	-	-
-		-		Fronoso	MR	-	-
-		-		Galego Rapado	MR	-	-
-		-		Granarolo	MR	-	-
-		-		Greece 78310-A-3	MS	-	-
-		-		Har 604	MR	-	-
-		-		Karim	MR	-	-
-		-		Klein Lucero	MR	-	-
-		-		Lovrin 13	MR	-	-
-		-		PF 010069	MR	-	-
-		-		Shangai	MS	-	-
-		-		Trintecinco	R	-	-

* Genótipos de trigo avaliados apenas nos anos de 2011;

** Genótipos de trigo hexaplóides sintéticos

Tabela 2: Agrupamentos dos genótipos de trigo avaliados no ensaio de 2011, quanto a incidência de brusone causada por *Pyricularia grisea* em função da época de espigamento como ciclo curto, ciclo médio e ciclo longo e agrupamento de acordo com os níveis médios de incidência de brusone nas espigas de trigo.

Genótipos				
Ciclo Curto				
Agrupamento segundo nível de incidência na espiga pelo método de Ward				
1 (média = 15,1%)	2 (média = 7,5%)	3 (média = 4,36%)	4 (média = 2,2%)	5 (média = 0,5%)
Maiten Inia	Angas	Embrapa 42	Anahuac 75	BH 1146
-	BRS 208	IAC 24	BRS 179	BRS 49
-	CASS03GH00084S**	Jacuí	BRS 207	BR 24
-	CD 105	Londrina	BRS Guamirim	BR 35
-	Gigas 1381	PF 781198	BRS Louro	BRS Timbaúva
-	-	PF 815299	BR 18	Chhoti Lerma
-	-	PF 990606	BR 32	CNT 10
-	-	Siete Cerros	BR 33	Cruza 0454
-	-	-	Bul Bul	Embrapa 22
-	-	-	Cailloux	Embrapa 27
-	-	-	Embrapa 10	Embrapa 40
-	-	-	Hartog	Giza
-	-	-	Janz	Huanca
-	-	-	Karamu	IAC 5
-	-	-	Menceki	IAS 20
-	-	-	Ning 84 N 1406	INIA F66
-	-	-	PF 030019	IPF 71349
-	-	-	PF 87849	IPR 85
-	-	-	PF 9127	Lagoa Vermelha
-	-	-	Ruminahui	LR 12 (RL 6011)
-	-	-	-	M6 Synthetic**
-	-	-	-	MGS1 Aliança
-	-	-	-	Morocco
-	-	-	-	Onix
-	-	-	-	Pampeano Inta
-	-	-	-	PAT 7392
-	-	-	-	PF 010255
-	-	-	-	PF 020458
-	-	-	-	PF 022203
-	-	-	-	PF 89326
-	-	-	-	PF 909
-	-	-	-	PF 92393
-	-	-	-	PF 92482
-	-	-	-	PF 980270
-	-	-	-	PF 980354
-	-	-	-	Precoz Pr Inta
-	-	-	-	RS - 1 Fenix

-	-	-	-	Sonalika
-	-	-	-	T 50130
-	-	-	-	Tota 63
-	-	-	-	W 185
Ciclo Médio				
1 (média = 17,7%)	2 (média = 8,4%)	3 (média = 4,5%)	4 (média = 2,5%)	5 (média = 0,58%)
PF 93159	PF 010161	Agatha	CIGM89.559-1B**	Africa 43
-	PF 990283	BRS Comboatã	BRS 194	BRS Angico
-	-	BR 23	BRS 220	Castico
-	-	G 1179-37	BRS Guabiju	CASW00GH00065S**
-	-	Kenya Farmer	CEP 24	CASW94Y00063S**
-	-	PF 040183	Fundacep 30	CASW94Y00064S**
-	-	PF 93157	Jesuíta	CASW94Y00065S**
-	-	-	Opata 85	CASW94Y00116S**
-	-	-	OR 1	Colônias
-	-	-	Peladinho	Colonista
-	-	-	PF 9052	Frontana
-	-	-	Wuhan 3	Maya 74
-	-	-	-	Melchior
-	-	-	-	Patriarca
-	-	-	-	PF 89156
-	-	-	-	PF 926
-	-	-	-	Relin
-	-	-	-	Toropi

Ciclo Longo				
1 (média = 6,21%)	2 (Média = 1,45%)	3 (média = 3,88%)	4 (média = 0,63%)	5
Karim	BRS 177	CASW02GH00045S**	CASW02GH00005S**	-
Har 604	CASS03GH00077S**	Embrapa 16	Cotiporã	-
Greece 78310-A-3	CASS03GH00099S**	IPR 84	Fronoso	-
-	CASW00GH00019S**	-	Galego Rapado	-
-	CASW02GH00002S**	-	Narino 59	-
-	Estanzuela Dorado	-	PF 010069	-
-	Granarolo	-	PG 1	-
-	Klein Lucero	-	Snogg	-
-	Lovrin 13	-	Trintecinco	-
-	Shangai	-	-	-

** Genótipos de trigo hexaplóides sintéticos.

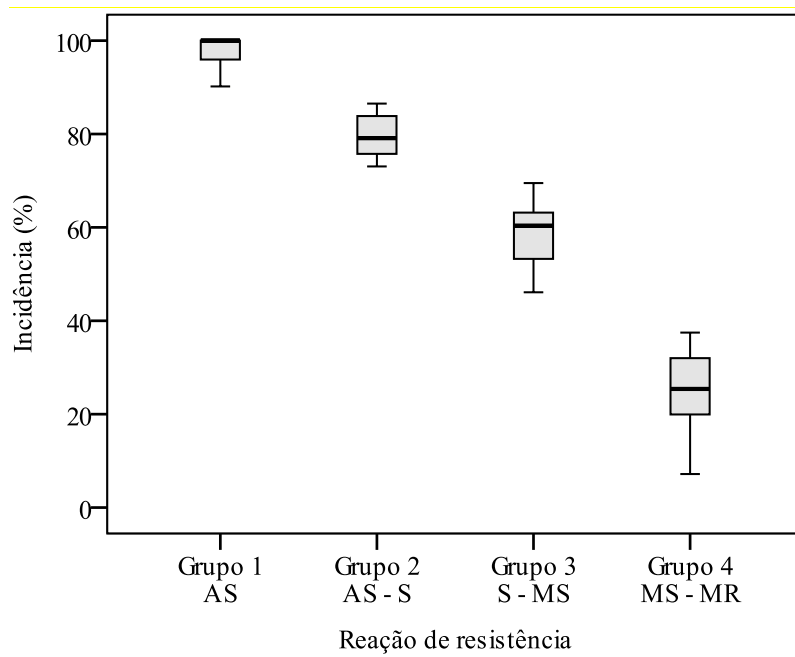


Figura 1: Intervalo de confiança ($P \leq 0,05$) das médias de incidência da brusone nas panículas de trigo pertencente ao ciclo de desenvolvimento curto e grupos de reação de resistência à brusone. As caixas no gráfico correspondem à distribuição dos valores de incidência onde, dentro caixa, tem-se os valores, e a linha horizontal é a média da incidência.

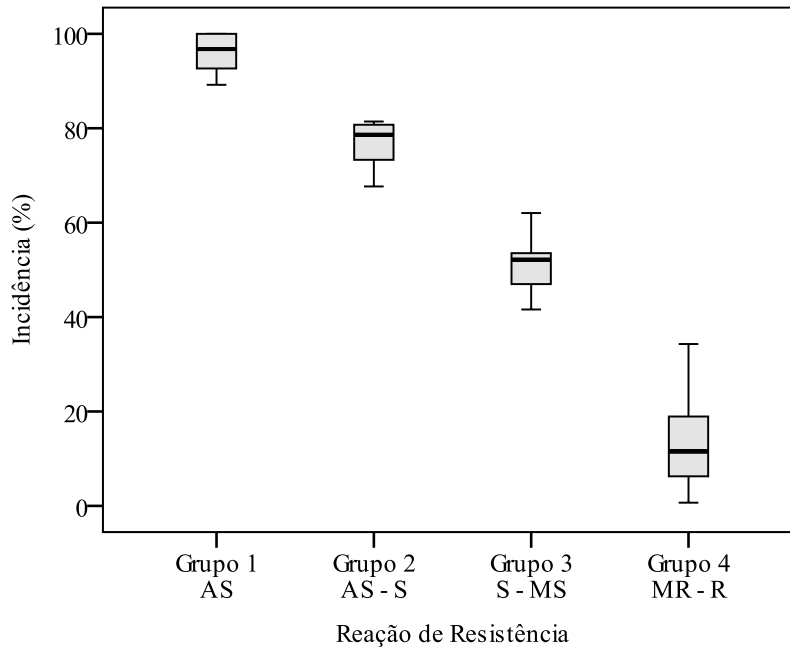


Figura 2: Intervalo de confiança ($P \leq 0,05$) das médias de incidência da brusone nas panículas de trigo pertencente ao ciclo de desenvolvimento médio e grupos de reação de resistência à brusone. As caixas no gráfico correspondem à distribuição dos valores de incidência onde, dentro caixa, tem-se os valores, e a linha horizontal é a média da incidência.

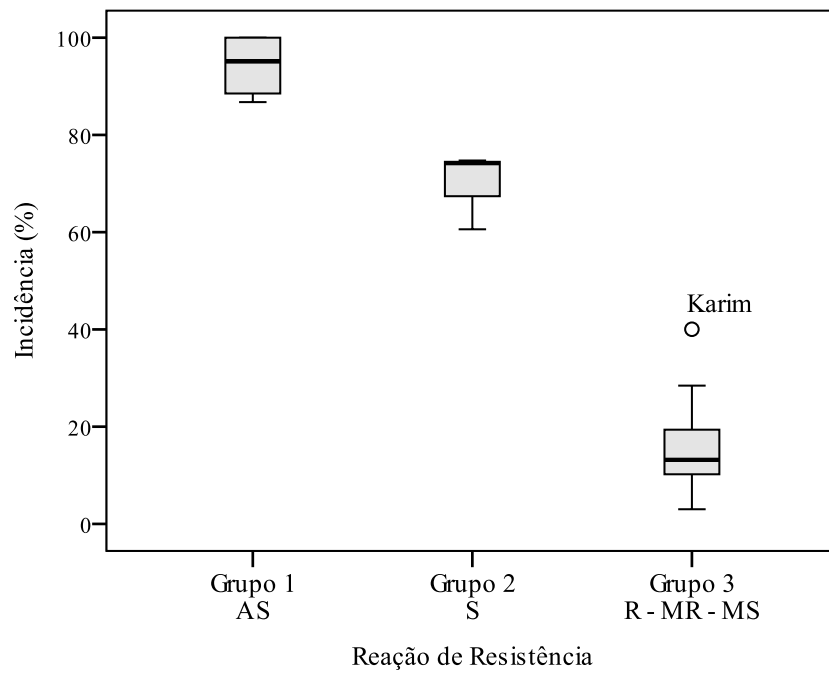


Figura 3: Intervalo de confiança ($P \leq 0,05$) das médias de incidência da brusone nas panículas de trigo pertencente ao ciclo de desenvolvimento longo e grupos de reação à brusone. As caixas no gráfico correspondem à distribuição dos valores de incidência onde, dentro caixa, tem-se os valores, e a linha horizontal é a média da incidência.

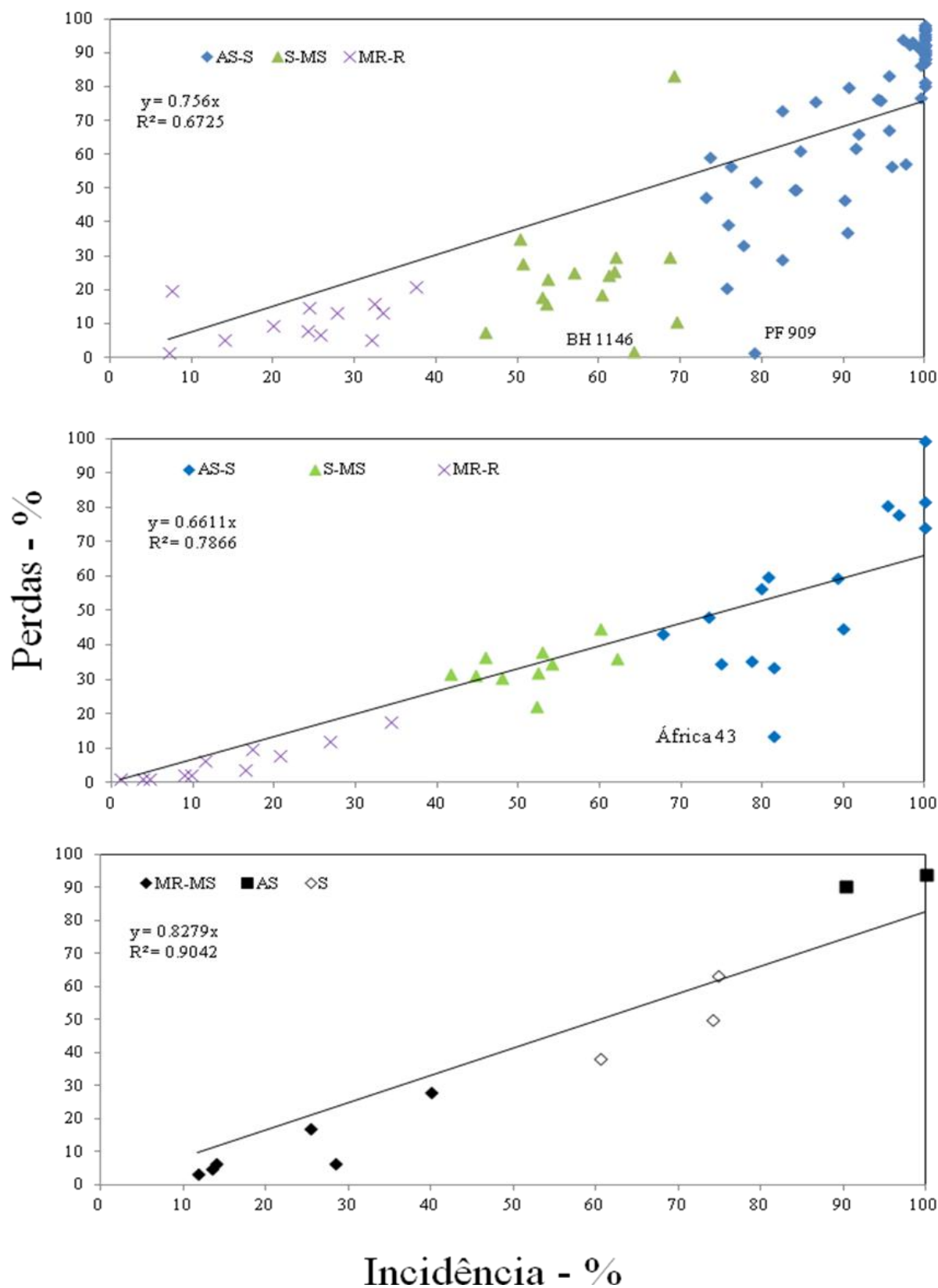


Figura 4: Regressão entre incidência e perdas de produção dos genótipos de trigo devido a brusone causada por *Pyricularia grisea*. (A) Relação entre os genótipos com ciclo curto de desenvolvimento. (B) Com ciclo médio de desenvolvimento. (C) Ciclo longo de desenvolvimento.

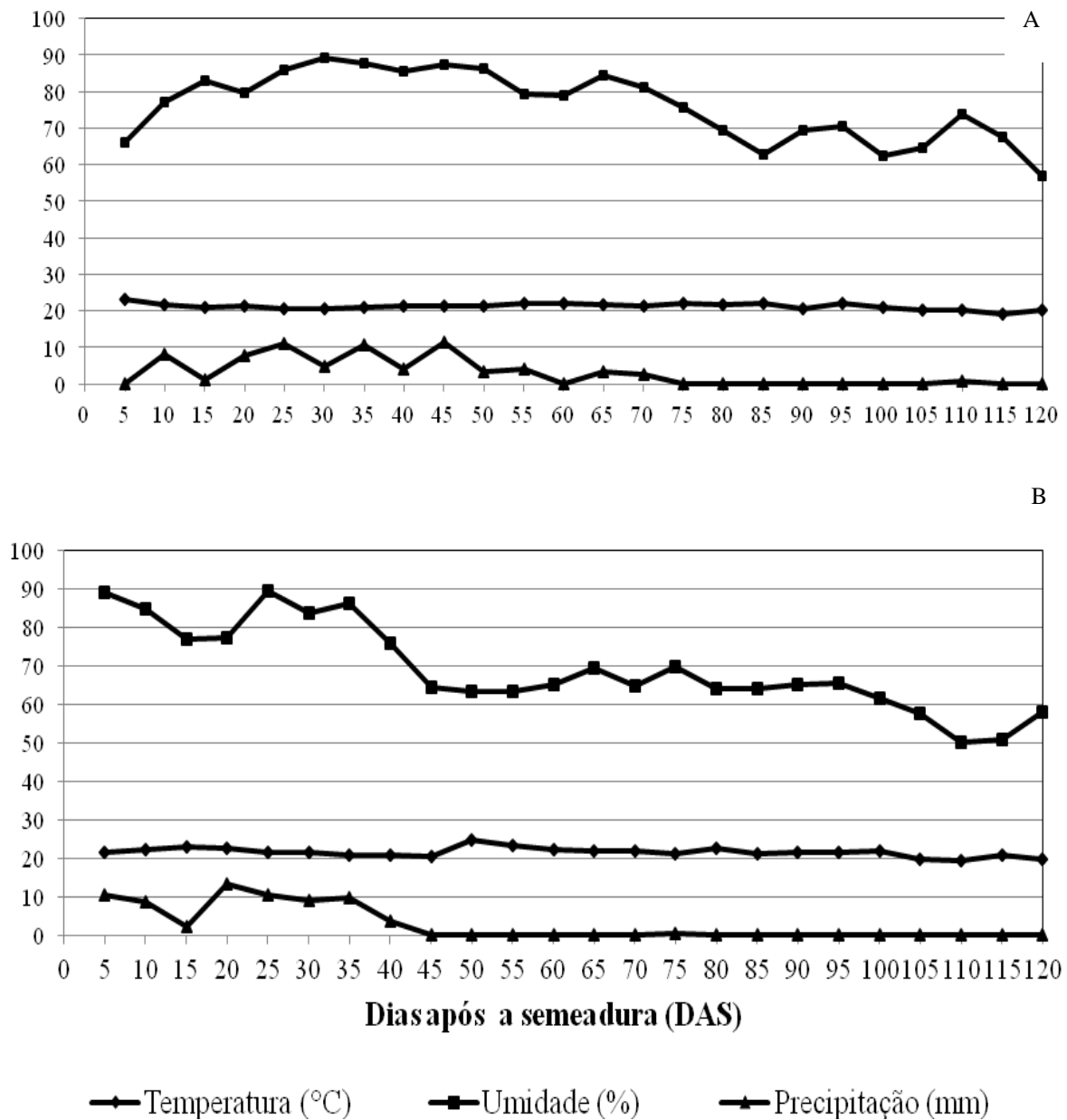


Figura 5: Dados climáticos durante a condução do experimento. (A) Condições de clima decorridas no ano de 2011. (B) Condições de clima decorridas no ano de 2010 - Fonte: Estação meteorológica da Embrapa Cerrados – CPAC.

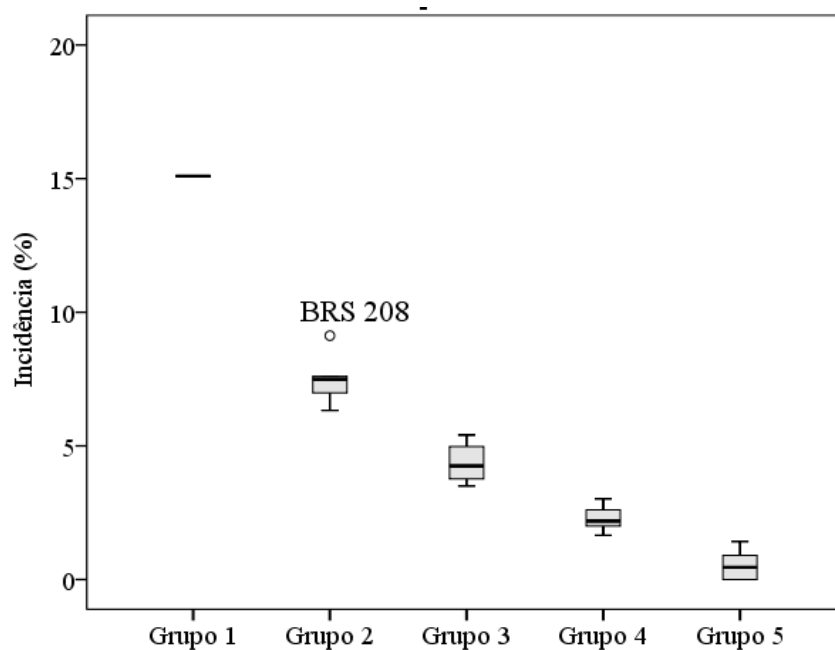


Figura 6: Intervalo de confiança ($P \leq 0,05$) das médias de incidência da brusone nas panículas de trigo pertencente ao ciclo de desenvolvimento curto do ano de 2010. As caixas no gráfico correspondem à distribuição dos valores de incidência onde, dentro caixa, tem-se os valores, e a linha horizontal é a média da incidência.

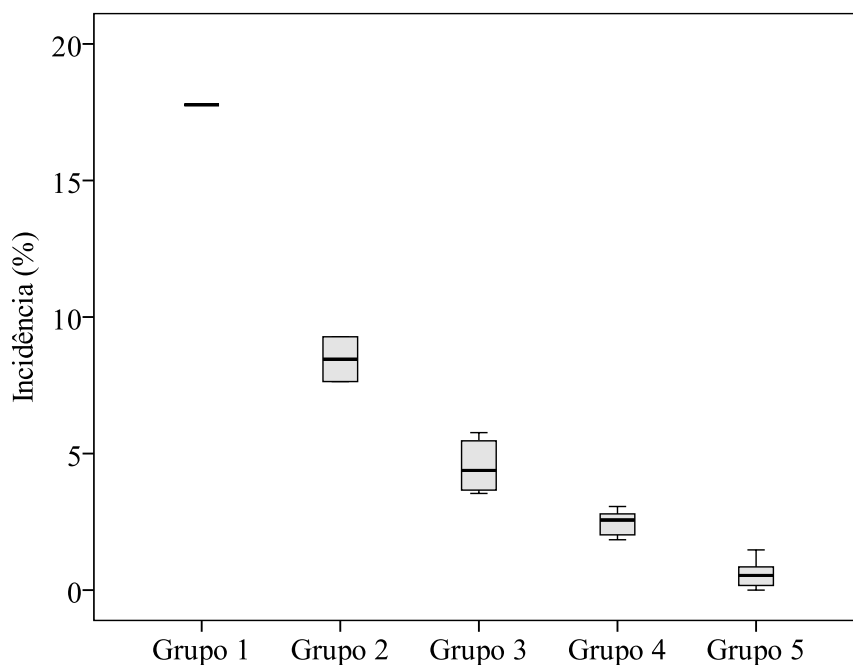


Figura 7: Intervalo de confiança ($P \leq 0,05$) das médias de incidência da brusone nas panículas de trigo pertencente ao ciclo de desenvolvimento médio do ano de 2010. As caixas no gráfico correspondem à distribuição dos valores de incidência onde, dentro caixa, tem-se os valores, e a linha horizontal é a média da incidência.

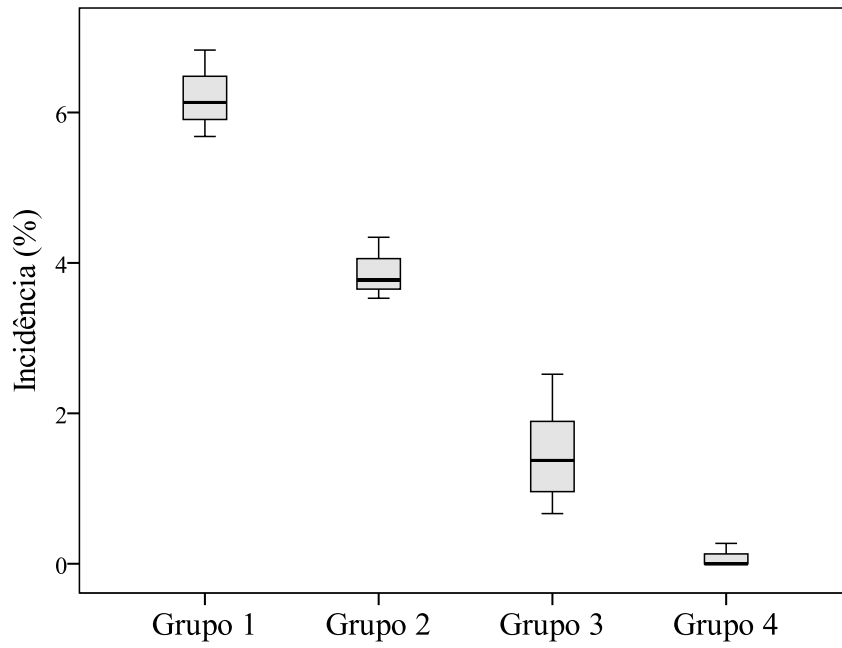


Figura 8: Intervalo de confiança ($P \leq 0,05$) das médias de incidência da brusone nas panículas de trigo pertencente ao ciclo de desenvolvimento longo do ano de 2010. As caixas no gráfico correspondem à distribuição dos valores de incidência onde, dentro caixa, tem-se os valores, e a linha horizontal é a média da incidência.

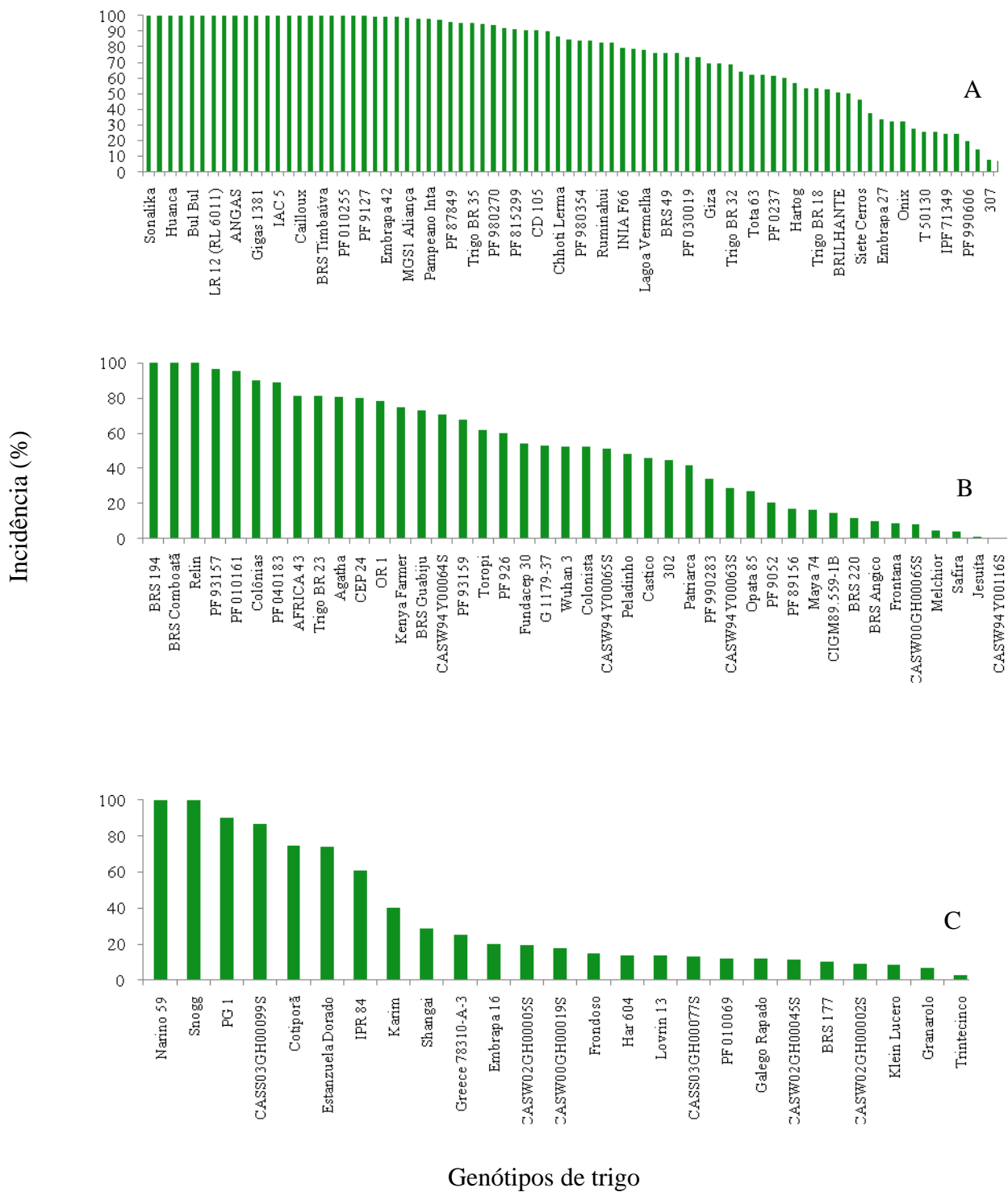
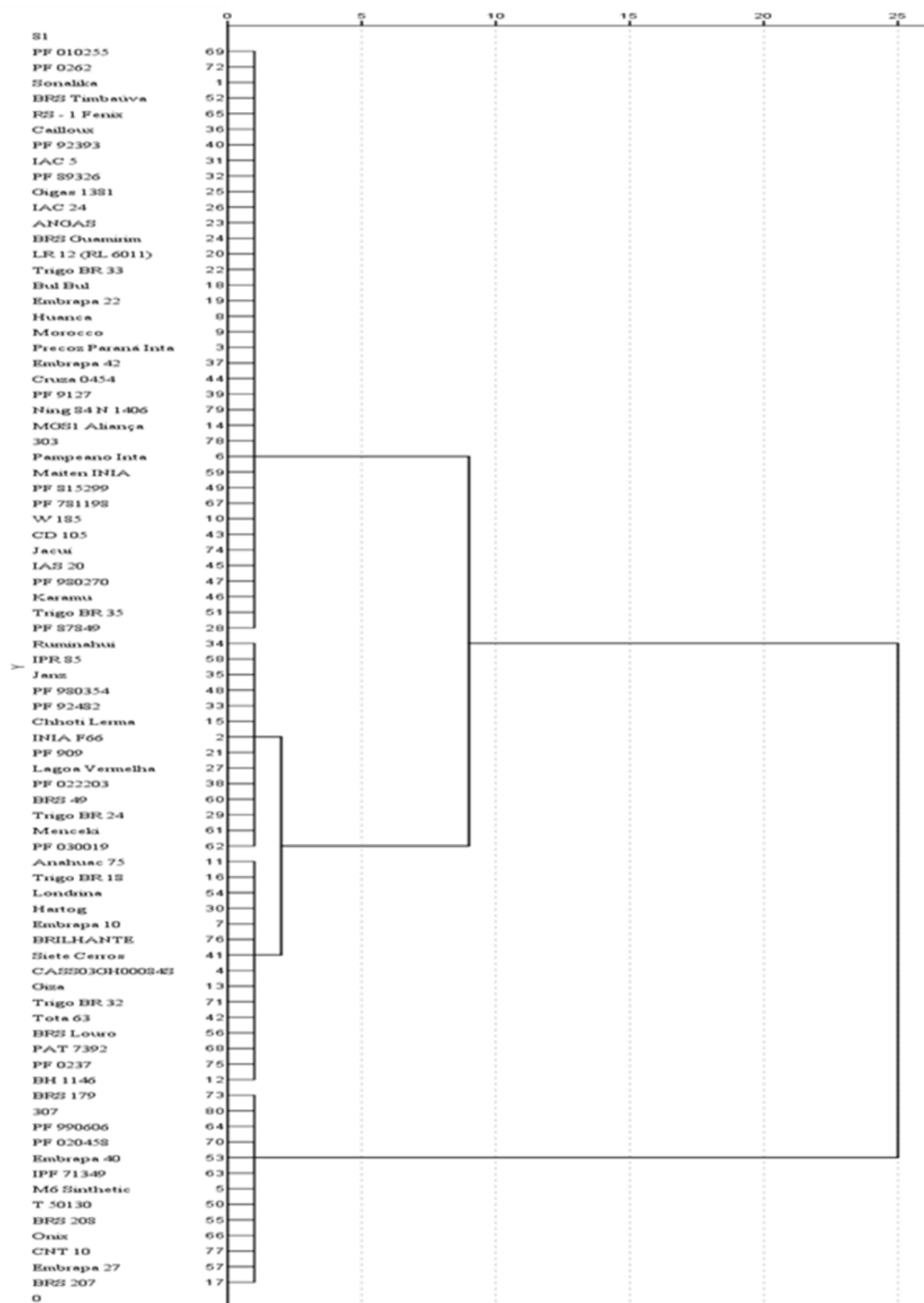


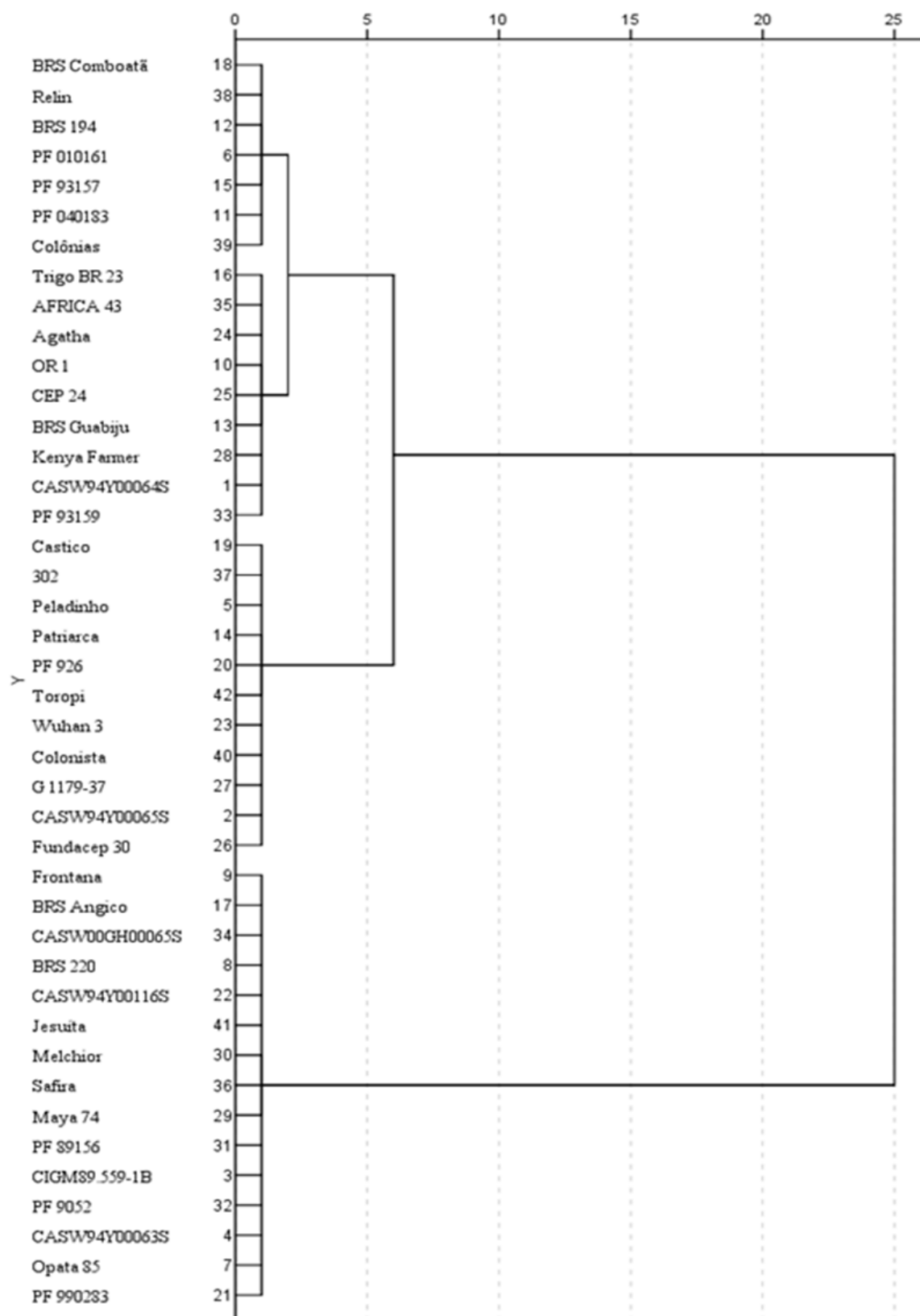
Figura 9: “Continuum” reações de trigo frente à brusone no ano de 2011. (A) Genótipos compreendidos por ciclo curto. (B) Genótipos compreendidos por ciclo médio e; (C) Genótipos de ciclo longo.

ANEXO -1 Dendrogramas

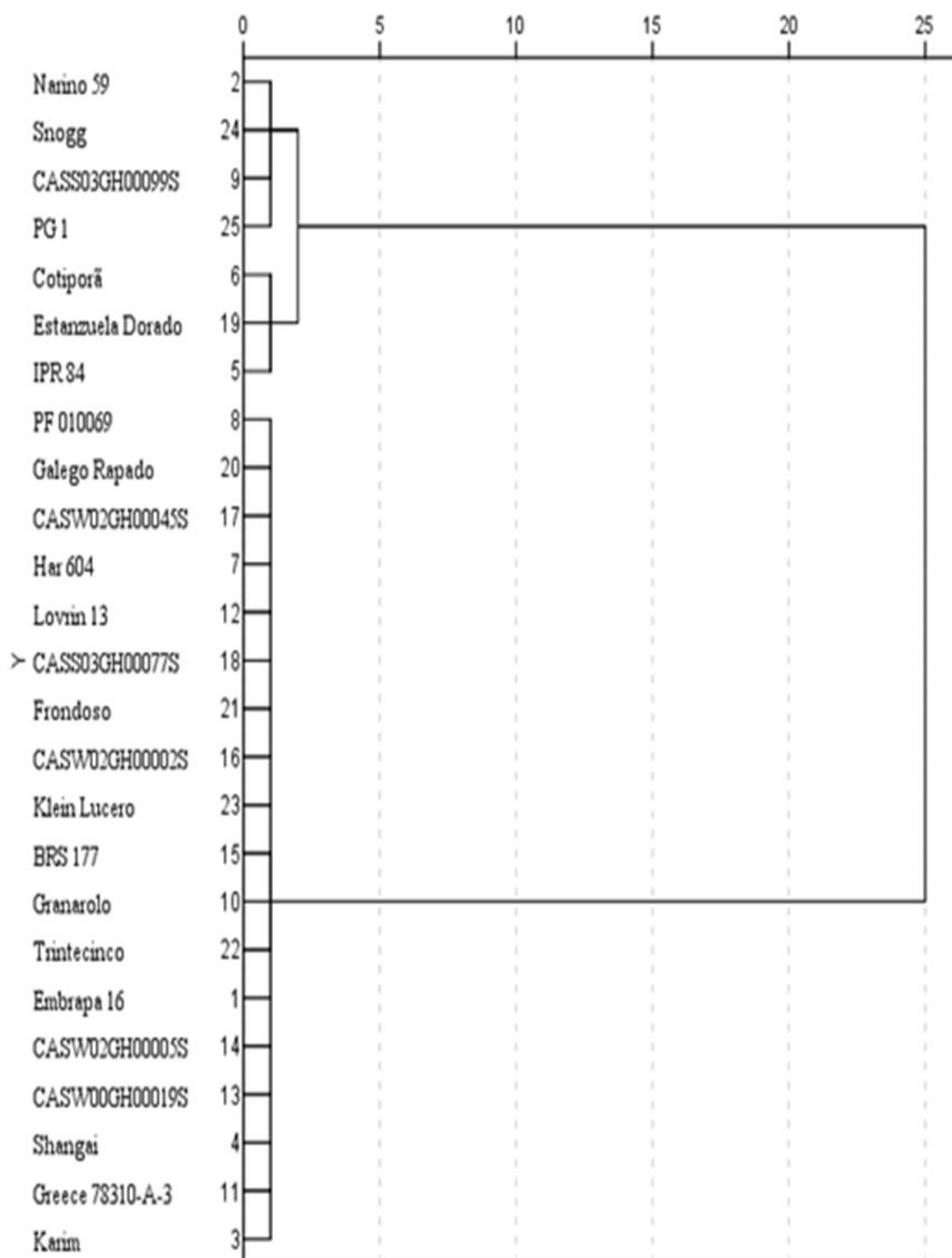
Análise Hierárquica em *Clusters* – Ciclo Curto 2011
 Dendrograma utilizando o algoritmo de Ward
 Escala de Distância



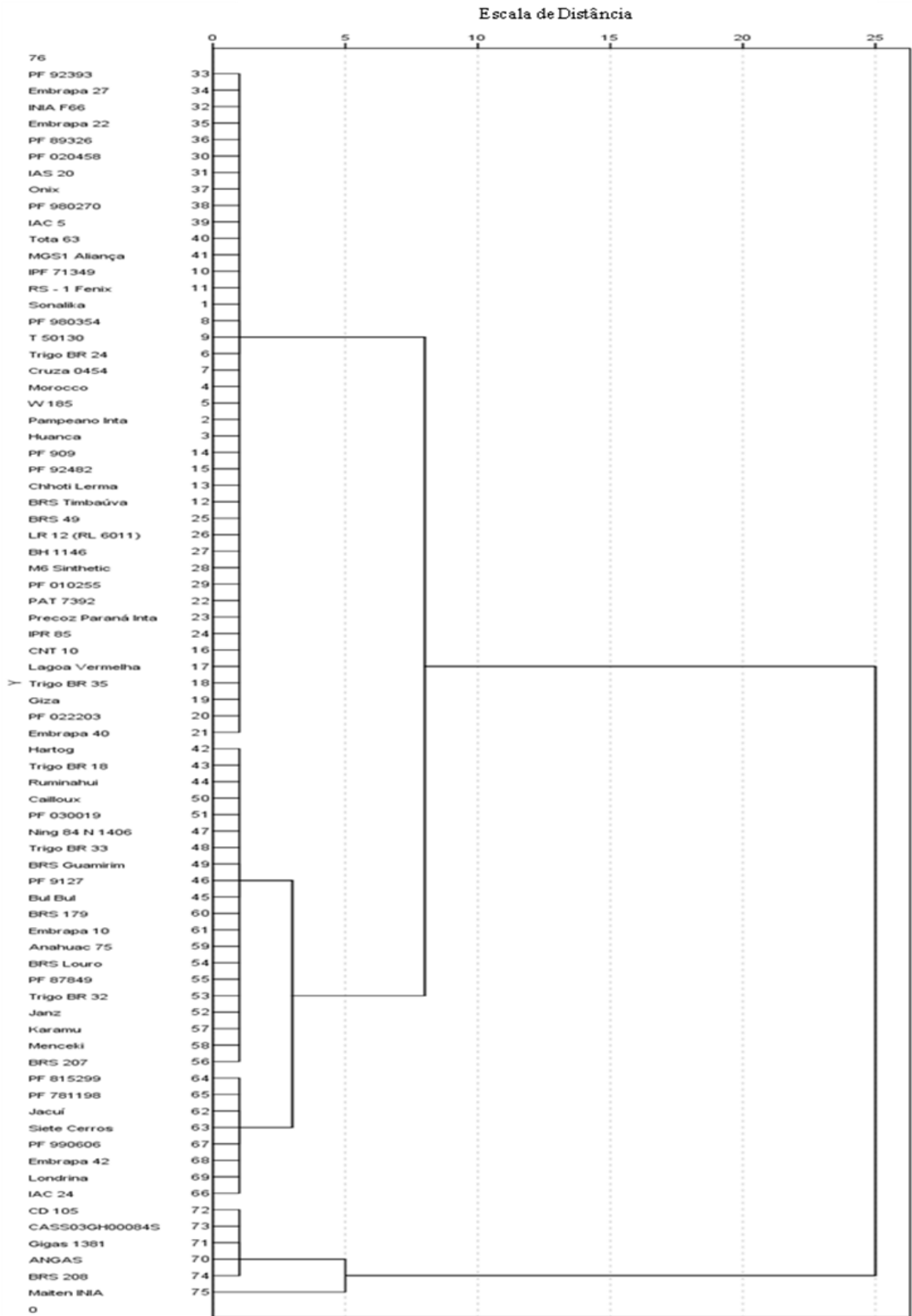
Análise Hierárquica em Clusters – Ciclo Médio 2011
Dendrograma utilizando o algoritmo de Ward
Escala de Distância



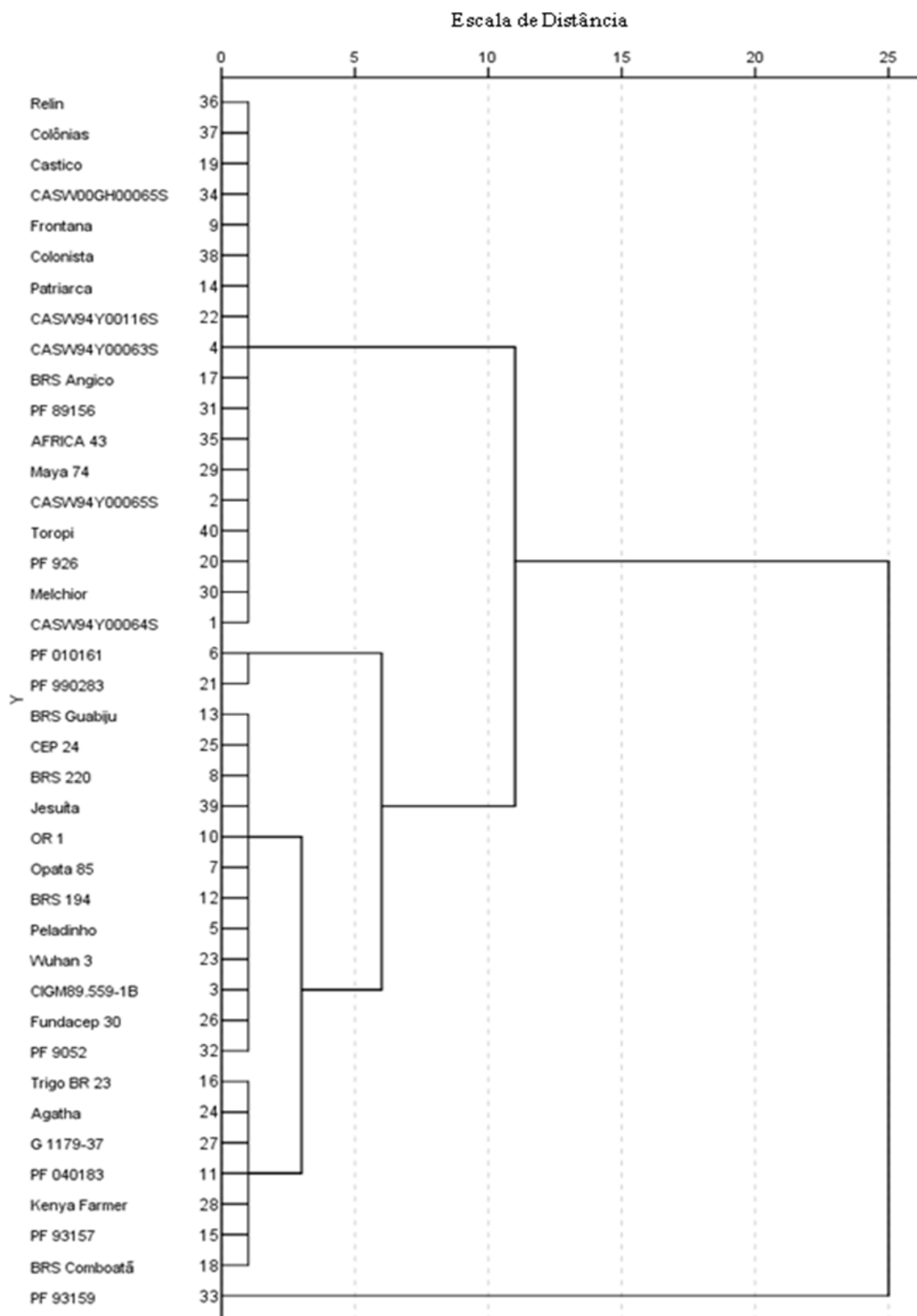
Análise Hierárquica em *Clusters* – Ciclo Longo 2011
 Dendrograma utilizando o algoritmo de Ward
 Escala de Distância



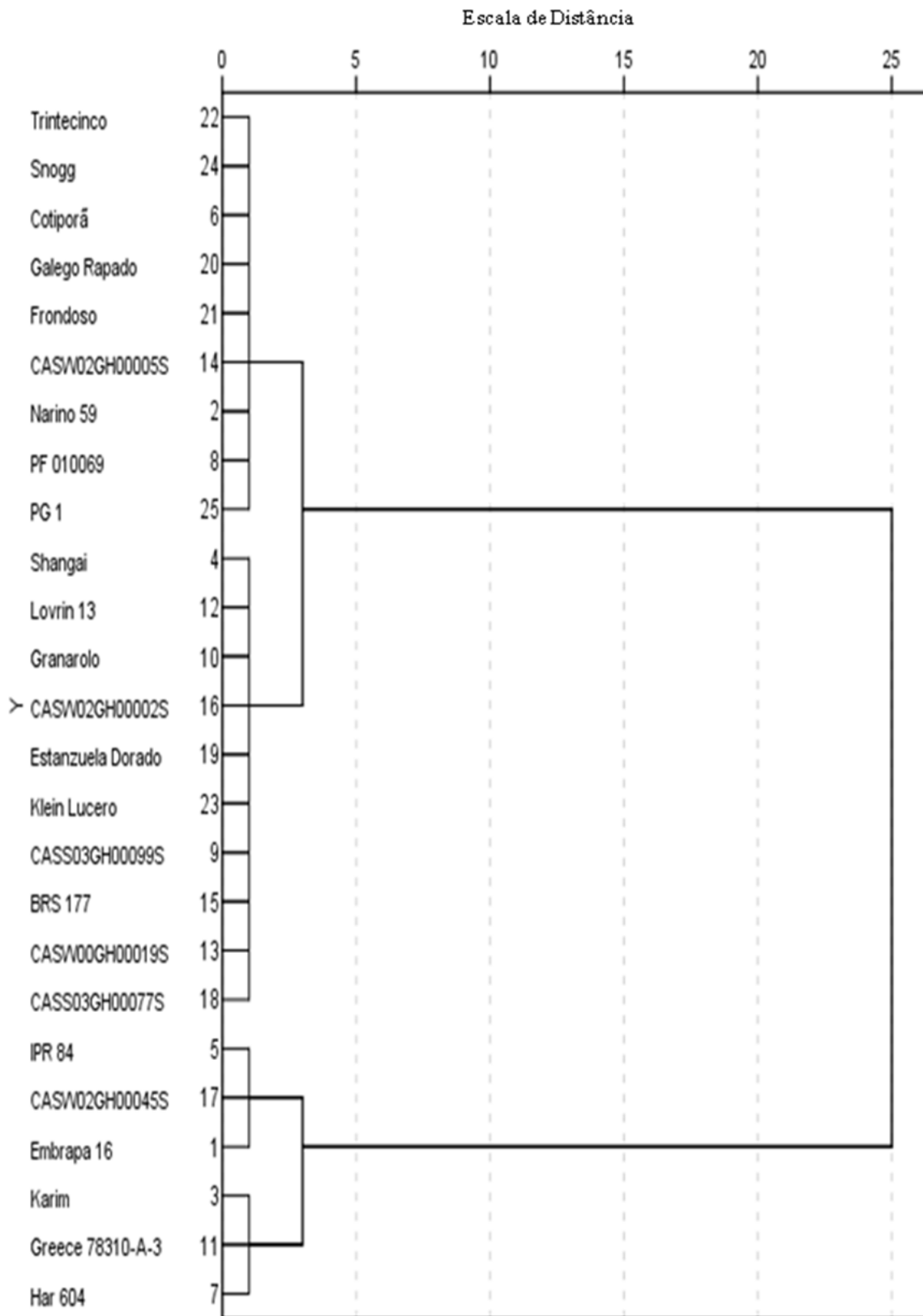
Análise Hierárquica em *Clusters* – Ciclo Curto 2010
 Dendrograma utilizando o algoritmo de Ward



Análise Hierárquica em Clusters – Ciclo Médio 2010
 Dendrograma utilizando o algoritmo de Ward



Análise Hierárquica em *Clusters* – Ciclo Longo 2010
 Dendrograma utilizando o algoritmo de Ward



Avaliação de fungicidas sintéticos, resistência parcial e produtos alternativos para o manejo da brusone do trigo

RESUMO

Quatro experimentos foram instalados em campo com o objetivo de verificar a eficiência de fungicidas sintéticos, resistência genética parcial e métodos alternativos de controle da brusone do trigo. Dois experimentos, análogos e repetidos em dezembro de 2010 e fevereiro de 2011, visaram o exame do efeito de aplicações de silicato em duas cultivares de trigo com diferentes níveis de resistência de campo à brusone, BRS 264 (Altamente Suscetível) e BR-18 Terena (Moderadamente Resistente), com os seguintes tratamentos: silicato de Ca e Mg via sulco de plantio (300 kg ha^{-1}); silicato de Ca e Mg a lanço sobre o solo após a semeadura (1 ton ha^{-1}); aplicação foliar de silício na forma de argila silicatada (30 g L^{-1}) e testemunha sem aplicação de silício. Os ensaios foram conduzidos em arranjo fatorial (2×4) e delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro repetições. Foram determinadas a incidência (percentagem de espigas infectadas por *Pyricularia grisea*) e a severidade da brusone (utilizando uma escala de notas). Dois outros experimentos, análogos e instalados nas mesmas épocas descritas acima, examinaram o efeito de aplicação de fosfito de potássio e fungicidas químicos no controle da doença na cv. BR-264, com os seguintes tratamentos: fosfito de K ($100 \text{ ml } 100 \text{ L}^{-1}$); epoxinazol + piraclostrobina (700 ml ha^{-1}), tebuconazol (600 ml ha^{-1}), tebuconazol + trifloxistrobina (750 ml ha^{-1}) e testemunha não pulverizada. No ano de 2010 a intensidade média da doença foi bastante inferior à observada em 2011, tanto para o ensaio de Si quanto para o de fungicidas químicos. Nos experimentos de silicatos, a cv. BR-18 apresentou menor incidência da brusone em 2010 e menor severidade em 2011. Em 2010, foi encontrada interação significativa entre Si e genótipos para incidência de brusone ($p \leq 0,05$) e apenas BRS 264 apresentou significativa redução da incidência com aplicações de Si no sulco ou via foliar. Quanto à severidade em 2010, não se encontrou interação Si X genótipos e as menores médias foram observadas com Si aplicado via sulco e via foliar. No ano de 2011 não houve interação significativa ($p > 0,05$) entre genótipos e Si, nem diferenças significativas para incidência da brusone, porém a aplicação de Si via foliar resultou em menor severidade em BRS-264. Com relação ao uso de fosfito e de fungicidas, em 2010, todos os tratamentos apresentaram controle superior à testemunha ($p \leq 0,05$) tanto para

incidência quanto para severidade. Em 2011, a aplicação de fosfito resultou em resposta intermediária, não se distinguindo dos tratamentos fungicidas nem da testemunha ($p > 0,05$). Em média, os fungicidas apresentaram apenas 34 % de controle da brusone. Os resultados de dois anos de testes de campo, com condições variáveis de pressão da doença, utilizando genótipos de trigo com diferentes reações à brusone indicam que várias alternativas apresentam efeitos parciais de controle. Em geral, a cv. BR-18 apresentou menores intensidades da doença enquanto que a cv. BRS-264 respondeu melhor ao efeito indutor de resistência do Si. Entretanto, nenhum método, isoladamente, apresentou resultados eficientes. Em conclusão, o controle atual da brusone do trigo no Cerrado necessita da integração combinada de várias alternativas para o eficiente manejo da doença.

Management of wheat blast with synthetic fungicides, partial resistance, and alternative products

ABSTRACT

Four field experiments were carried out to verify the efficiency of synthetic fungicides, partial genetic resistance and alternative products for the management of wheat blast. Two similar experiments, replicated in December 2010 and February 2011, sought to exam the effect of silicate mineral applications in two wheat cultivars with different levels of resistance to blast, BR 264 (Highly Susceptible) and BR-18 Terena (Moderately Resistant), with the following treatments: Ca and Mg silicate applied in the plant furrow (300 kg ha^{-1}); Ca and Mg silicate scattered over the soil after planting (1 ton ha^{-1}); Foliar silicate clay application (30 g L^{-1}), and non-treated control. Each assay was conducted as a 2 X 4 factorial in a Randomized Complete Block Design, with four replicates. Blast incidence (percentage of ears infected by *Pyricularia grisea*) and severity (with aid of a rating scale) were scored. Two other similar experiments were conducted at the same periods described above, for examining the effect of potassium phosphite and synthetic fungicides for the control of wheat blast on cv. BR-264, with the following treatments: K phosphite ($100 \text{ ml } 100 \text{ L}^{-1}$), epoxinazole + piraclostrobin (700 ml ha^{-1}), tebuconazole (600 ml ha^{-1}); tebuconazole + trifloxistrobin (750 ml ha^{-1}) and non-treated control. In 2010, overall disease intensity was much lower than in 2011,

both for the silicate and the synthetic fungicides assays. In the silicate efficiency experiments, cv. BR-18 had significantly lower blast incidence in 2010 and significantly lower severity in 2011. In 2010, a significant Si X genotype interaction was found for incidence ($p \leq 0.05$), and incidence of wheat blast was only reduced in BRS 264 with leaf or furrow Si applications. There was no Si X genotype interaction for severity in 2010, but lower blast severities were found with furrow and leaf Si applications. In 2011 no significant ($p > 0.05$) Si X genotype interactions were found and treatments did not differ with respect to blast incidence. However, foliar Si applications reduced disease severity in BRS-264. In the fungicide and phosphite experiment, in 2010 all treatments reduced disease levels compared to the untreated control ($p \leq 0.05$), both for incidence as well as for severity. In 2011, K phosphite application resulted in an intermediate response, not significantly different from the untreated control neither from the fungicide treatments ($p > 0.05$). Fungicide treatments showed an average of 34 % of blast control. Results of two years of field studies carried out in conditions of varying disease pressure, including wheat genotypes of different disease reactions indicate that several control methods have partial effects on wheat blight. Cultivar. BR-18 had consistent lower disease levels, while cv. BRS-264 generally responded better to the resistance induced by silicon applications. However, no disease control routine, when applied isolated, resulted in sufficient control. We conclude that present control of wheat blast in the Brazilian Mid-West necessitates the combined integration of several alternatives for the efficient disease management. seem

INTRODUÇÃO

A brusone do trigo (*Magnaporthe grisea* (Cook) Sacc., anamorfo: *Pyricularia grisea* (Hebert) Barr.) mostra maior importância nas regiões de expansão agrícola do Brasil Central, ocasionando elevadas perdas no rendimento de grãos (Goulart, 2004). A doença foi encontrada pela primeira vez no estado do Paraná, em 1985 e hoje está presente em todas as áreas de cultivo de trigo do Brasil, Argentina, Bolívia e Paraguai (Fernandes & Pavan, 2011; Cabrera & Gutiérrez, 2007). Os sintomas mais característicos ocorrem nas espigas, devido à infecção do patógeno na ráquis, onde se observa lesão de coloração negra brilhante com formato irregular. Posteriormente as lesões evoluem juntamente com abundante frutificação do fungo, impedindo a translocação da água e dos

nutrientes, e como consequência, o branqueamento parcial ou total da espiga imediatamente acima da lesão, que inviabiliza o enchimento dos grãos tornando-os inutilizáveis tanto para comercialização, quanto para utilização humana (Cruz *et al.*, 2009; Igarashi, 1988; Igarashi & Balan, 2004; Espinoza & Shohara, 2003).

Dependendo das condições climáticas predominantes em uma determinada região, a intensidade dessa doença varia de ano para ano (Picinini & Fernandes, 1989). Nos anos em que há excesso de chuvas associado a altas temperaturas e elevada umidade, coincidindo com o estágio fenológico de florescimento da planta suscetível no tempo, constata-se o rápido progresso da epidemia, que pode constituir um fator limitante ao cultivo do trigo (Paes, 2010; Alves & Fernandes, 2006). Segundo Igarashi (1988), Goulart & Paiva (1991), Moreira *et al.* (2006) e Marchioro & Franco (2010), o controle da brusone do trigo deve ser realizado através de um conjunto de medidas, destacando-se o uso de cultivares com melhor nível de resistência, a eliminação de plantas hospedeiras, uso de sementes livres do patógeno, o tratamento químico das sementes, escolha da época de semeadura mais adequada e, por fim, pelo controle químico. Entretanto, há necessidade de conduzir estudos visando determinar a eficiência de fungicidas, para seu emprego de forma racional, eficiente e econômica (Goulart *et al.* 1996).

Deve-se ainda evitar favorecer o surgimento de resistência de fungos a fungicidas, especialmente em se tratando de *Magnaporthe*, que é reconhecidamente um patógeno com alto risco para resistência à fungicidas em arroz (*Oryza sativa*). A resistência a fungicidas está atribuída a fatores relativos ao fungo, ao fungicida e ao modo como este é utilizado. Em relação ao fungo, quanto maior sua variabilidade genética inerente a uma determinada espécie, tanto maior será a possibilidade de surgirem mutantes resistentes. Quanto aos fungicidas, o risco de surgimento de resistência é proporcional à especificidade do modo de ação do fungicida, e fungicidas sistêmicos, mais específicos e seletivos, são mais predispostos à induzirem resistência. E por fim, a resistência está ligada ao uso do princípio ativo: quanto mais generalizado o uso de um determinado fungicida, mais frequente o número de aplicações e menor o intervalo entre as mesmas, tanto maior é o risco de resistência (Reis & Forcelini, 1994). A aplicação contínua, tanto no tempo como no espaço, de um determinado fungicida, ou de produtos com princípios ativos que apresentam resistência cruzada, aumentará as chances de desenvolvimento de resistência. Desse modo, aplicações repetidas e desnecessárias devem ser evitadas, tanto

como estratégias anti-resistência, como por razões econômicas e ambientais (Ghini & Kimati 2000).

Desta forma, a incorporação de outras medidas de controle da brusone, complementares ao uso de fungicidas, desfavorece a pressão de seleção para resistência na população do patógeno e favorece a sustentabilidade do sistema de produção. Desta forma, medidas de controle não convencionais podem ser integradas ao controle, como a utilização de produtos alternativos que estão disponíveis no mercado, tais como os fosfitos e os silicatados.

Segundo Brackmann *et al.* (2008) e Reuveni (1997), os fosfitos são compostos à base de fósforo, obtidos pela reação do ácido fosforoso com hidróxido de potássio, de sódio ou de amônio, sendo mais utilizado o hidróxido de potássio, originando o fosfito de potássio. Esses compostos são facilmente assimilados pelas células das folhas e pelas raízes, além de apresentarem elevada mobilidade no interior da planta. Os fosfitos são comercializados, por exemplo, na forma de etil fosfonato (Fosetyl-Al). Quando aplicado na planta ou no solo Fosetyl-Al é degradado a fosfito (HPO_3^{2-}) e apresenta alta atividade fungicida *in planta*, conduzido via xilema e floema (Fenn & Coffey, 1989; Boneti & Katsurayama, 2005). Atualmente é indicado para o controle dos fungos do gênero *Phytophthora* e dos fungos causadores de podridões do colo, raiz, tronco e frutos, e tem demonstrado efeitos de indução de resistência nas plantas contra fungos fitopatogênicos (Lovatt & Mikkelsen, 2006; McDonald *et al.*, 2001; Forster *et al.*, 1998). Diversos trabalhos relatam bons resultados de controle como por exemplo, o controle do míldio (*Plasmopara viticola*) da videira (Peruch & Bruna, 2008); da sarna (*Venturia inaequalis*) da macieira (Araújo *et al.*, 2008) . Em podridão pós colheita (*Colletotrichum gloeosporioides*) em frutos de goiaba (Ferraz, 2010) e podridão do pé (*Phytophthora palmivora*) e varíola (*Asperisporium caricae*) do mamoeiro (Dianese *et al.* 2007, 2008).

Outra alternativa de controle não convencional inclui o uso do silício (Si), o que vem sendo bastante difundido no país, especialmente para gramíneas, como o arroz. Doenças economicamente importantes do arroz, tais como a brusone, a queima das bainha e a mancha parda, além da antracnose do sorgo têm sido eficientemente controladas pelo fornecimento de silício às plantas (Datnoff *et al.*, 2007; Resende *et al.*, 2009). O silício quando absorvido pelas plantas provoca efeitos positivos na fisiologia e estrutura física

vegetal. Um dos mecanismos de ação mais aceitos é pela acumulação e deposição de Si logo abaixo da cutícula das folhas, formando barreira mecânica à penetração de alguns patógenos (Cai *et al.*, 2009). Mas efeitos, incluindo indução de resistência também são conhecidos (Datnoff *et al.*, 2007). Os silicatos são aplicados principalmente na forma sólida (pó ou granulado), mas também podem ser aplicados na forma líquida (via solo ou foliar) (Korndorfer *et al.*, 2004).

Constata-se atualmente que a expansão do trigo na região central do país está fortemente limitada pela ocorrência da brusone, que ocasiona perdas irreparáveis à lavoura tritícola. Tendo em vista que o seu controle é extremamente difícil, objetiva-se com esse trabalho verificar a eficiência e praticidade agrônômica dos fungicidas e métodos alternativos de controle de brusone do trigo com o uso de silício e fosfito, em períodos altamente favoráveis ao desenvolvimento da doença, em dois cultivares com graus diferentes de suscetibilidade à doença.

MATERIAL & MÉTODOS

Área Experimental

O trabalho foi realizado no campo experimental da Embrapa-Cerrados em Planaltina-DF a partir de inóculo naturalmente presente na região, considerado um “hot spot” para diversidade de *Magnaporthe grisea*. O solo predominante da área é um Latossolo-Vermelho Amarelo, com: pH (água) 6; e (em cmol_c /dm³): Ca: 2,9; Mg:0,7; K: 0,72; Na:0,05; Al: 00; Acidez (H+Al): 4,3; (mg /dm³): P:49; B:0,61; Cu:1,36; Fe: 69,2; Mn:16,7; Zn: 13,4; S: 6,8 e Matéria Orgânica (MO): 35,40 g/Kg.

Foram realizados dois estudos de campo, independentes, e ambos foram repetidos nas épocas de plantio de 15 de novembro de 2010 e 17 de fevereiro de 2011, totalizando quatro ensaios experimentais. Em todos os experimentos as parcelas foram constituídas de cinco linhas com três metros de comprimento e espaçamento de 0,20 m, considerando-se como área útil as três linhas centrais e eliminando 0,50 m das extremidades das linhas. A semeadura do trigo foi realizada manualmente, distribuindo-se 80 sementes por metro linear com 100% de germinação. A adubação mineral de plantio foi de 400 kg da formulação NPK 4-30-16 + Boro. Foram feitas duas aplicações de uréia fertilizante (NH₂)₂CO na dosagem de 180 Kg/ha, aos 25 e 45 dias após a emergência. Para controle de plantas daninhas invasoras de “folhas largas” foi aplicado

o herbicida metsulfurom metílico na dosagem de 3 g ha⁻¹, além de duas aplicações do fungicida Propiconazol na dosagem de 750 ml ha⁻¹ para o controle de manchas foliares causados por patógenos (*Bipolaris sorokiniana*, *Dreschlera tritici-repentis*, *Puccinia spp*, *Septoria tritici*, *Fusarium graminearum* e *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) e por fim o inseticida Lorsban (Cloropirifós) (500ml ha⁻¹) para controle de pulgões e lagartas.

Avaliação da eficiência de silicatos para o manejo da brusone em duas cultivares de trigo com níveis diferentes de resistência à brusone

Para ao estudo da eficiência de silicatos sobre a brusone do trigo foi utilizado o delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 4, com quatro repetições. Foram testados duas cultivares de trigo com diferentes reações à brusone, BRS 264 (Altamente Suscetível, AS) e BR18- Terena (Moderadamente Resistente, MR) e três métodos de aplicação de silício: aplicação de silicato de Cálcio e Magnésio via sulco de plantio (300 kg ha⁻¹); silicato de Cálcio e Magnésio lançado superficialmente no solo após a semeadura (1 tonelada ha⁻¹); aplicação foliar de silício na forma de argila silicatada (marca comercial Rocksil) (30g L⁻¹) e uma testemunha sem aplicação de silício. O silicato de Ca e Mg utilizado no experimento apresenta a seguinte composição química em porcentagem: Ca: 25,0%; CaO: 34,9%; Mg:6,0%; MgO: 9,9%; Si: 10,5; SiO: 22,4%. A argila silicatada (pó de rocha moído) utilizado na aplicação foliar apresenta a seguinte composição: Al₂O₃: 20,56%; SiO₂: 17,43%; Ca: 12%; S: 9,82%; K:3% CaO: 1,31%; TiO₂: 0,34%; Mg: 0,18%; Fe₂O₃: 0,16%; P₂O₅: 0,10% . Foram realizadas três aplicações de silício foliar com intervalos de 15 dias cada uma, sendo que a primeira aplicação foi realizada quando 50% das plantas de trigo apresentavam o estágio fenológico 47 (abertura da bainha da folha bandeira) da escala de Zadoks *et al.* (1974). O ensaio foi conduzido com data de plantio em 15 de novembro/ 2010 e posteriormente repetido em 17 de fevereiro de 2011.

Avaliação do fosfito e de fungicidas químicos para o manejo da brusone do trigo

Estes experimentos foram conduzidos com a cv. BRS-264 (AS) e os seguintes tratamentos e dosagens: fosfito de potássio (100 ml 100 L⁻¹ água; 40% P₂O₅ e 20% K₂O), epoxiconazol + piraclostobina (700 ml ha⁻¹ do p.c; 50 g L⁻¹ de i.a. + 133 g L⁻¹ de i.a.), tebuconazol (600 ml ha⁻¹p.c.; 250 g L⁻¹ de i.a.), tebuconazol + thefloxistrobina (750 ml p.c. ha⁻¹; 200 g L⁻¹ de i.a. + 100 g L⁻¹ de i.a.) e testemunha não pulverizada. O

delineamento utilizado foi de blocos ao acaso composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Foram feitas duas aplicações dos produtos, a primeira quando as plantas estavam no início da inflorescência e a segunda 15 dias após a primeira, nos seguintes estádios fenológicos 50 e 70 (Zadoks *et al.*, 1974). Este estudo constou de dois experimentos análogos, o primeiro conduzido com data de plantio de 15 de novembro de 2010 e posteriormente repetido em 17 de fevereiro/2011.

Variáveis avaliadas e análise estatística

Foram conduzidas avaliações de incidência e severidade da doença. O cálculo da incidência foi obtido através da razão entre o número de espigas infectadas pelo número total de espigas (sadias + doentes), expressas em percentagem. Para determinação da severidade da brusone foi utilizada a escala proposta por Trindade *et al.* (2006), atribuindo-se notas de 0 a 4 de acordo com o ponto de penetração do patógeno na ráquis, ou seja, a área necrosada da espiga, 0 = sem sintomas, 1 = 25 %, 2 = 50%, 3 = 75% e 4 = 100% da espiga infectada. Durante a fase de espigamento, a partir do estágio 70 da escala de Zadoks *et al.* (1974), as plantas que apresentavam sintomas típicos de brusone, caracterizado pelo branqueamento total ou parcial, da espiga, foram marcadas com barbantes colorido a cada sete dias até o fim de ciclo da cultura. Por ocasião da maturação foram colhidas separadamente as espigas sadias das doentes. A colheita foi realizada manualmente, coletando separadamente as espigas de trigo infectadas e as sadias e adicionando-as em sacos de papel devidamente identificado. Essas foram contadas e trilhadas separadamente em equipamento específico, e por fim as amostras foram pesadas em balança de precisão.

Para a análise estatística os valores de severidade foram retro-transformados para valores de severidade conforme Campell & Madden (1989) e utilizou-se o programa estatístico IBM-SPSS v. 19.0. Inicialmente procedeu-se análise normalidade dos dados através do teste Kolmogorov- Smirnov (Field, 2009). Em seguida, procedeu-se análise de variância por anova simples ou fatorial (2 x 4), seguida pela comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS & DISCUSSÃO

Avaliação da eficiência de silicatos para o manejo da brusone em duas cultivares de trigo com níveis diferentes de resistência.

Houve interação significativa ($P \leq 0,05$) entre Si e genótipos de trigo em relação à incidência no ano de 2010. Os tratamentos Si aplicado via sulco e Si foliar foram os que apresentaram menores incidências da doença, especialmente no genótipo BRS-264 (Tabela 1). Para a variável severidade no mesmo ano, não ocorreu interação significativa ($P \leq 0,05$) entre Si e genótipos. No entanto, houve diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) entre as severidades médias, onde a aplicação do silício foliar apresentou a menor severidade da doença, da ordem de 54 % contra 85% na testemunha. Os tratamentos Si via sulco (63%) e a lanço (69%) também refletiram em redução da severidade da brusone da espiga do trigo em relação à testemunha (Tabela 1).

Em 2011, a intensidade geral da brusone foi ainda muito superior à encontrada no experimento de 2010. Em 2011 (Tabela 2) não houve diferenças significativas entre os tratamentos e nem interação entre os genótipos de trigo para incidência da brusone, o que pode ser explicado devido às condições climáticas muito favoráveis para a ocorrência da doença no campo, levando a níveis de incidência uniformemente altos em todos os tratamentos. No entanto, para a variável severidade da doença, foi detectada interação entre os genótipos (Tabela 2). Em geral, maiores severidades foram observadas no genótipo AS (BR-264), porém esta cv. no tratamento com Si via foliar apresentou redução de severidade em relação à testemunha (75,9 % vs. 97,7, $P \leq 0,05$). Esse resultado indica, preliminarmente, uma maior predisposição da cv. BR-264 em interagir com Si de forma a reduzir a brusone, embora maiores estudos sejam indicados para confirmar esta hipótese.

Diversos estudos anteriores demonstraram alto potencial dos silicatos para o manejo da brusone do arroz, com redução da incidência e severidade da brusone foliar (*e.g.* Santos *et al.*, 2003; Berni & Prabhu, 2003; Cacique *et al.*, 2010; Datnoff *et al.*, 1992), ou redução da infecção na panícula (Prabhu, 2001; Santos *et al.*, 2011; Datnoff *et al.*, 1997). Em trigo, o uso do silício em trigo induziu resistência ao oídio (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, Bélanger *et al.*, 2003), à mancha marrom (*Bipolaris sorokiniana*)

na folha bandeira (Domiciano *et al.*, 2010) e, recentemente também contra a brusone (Xavier-Filha *et al.*, 2011). Em comparação a estes, a redução da intensidade da brusone em trigo com aplicação de Si verificada no presente estudo foi bem mais modesta. Isto pode ser devido à alta intensidade da doença nos ensaios das duas épocas, especialmente em 2011, à variável capacidade de resposta intrínseca de cada cultivar de trigo ao silício, à característica genética dos isolados de *Pyricularia grisea* patogênicos ao trigo e naturalmente prevalentes no Cerrado, ou a outras causas não determinadas.

Seebold *et al.* (2004) concluíram que a aplicação de Si na dose de 1000 Kg ha⁻¹ reduziu a brusone na panícula de arroz mais efetivamente do que o fungicida tricyclazole quando a severidade foi baixa em experimentos realizados na Colômbia. Da mesma forma, segundo os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2, demonstraram a redução da intensidade da brusone do trigo com aplicação de Si foi maior em condições menos favoráveis para a doença (2010). Quando a pressão da doença é excessiva, devido à condições climáticas mais favoráveis (2011), os efeitos da aplicação de Si foram marginais.

Alguns trabalhos demonstraram que a concentração de silício nas folhas de trigo é baixa, em torno de 1 a 2%, enquanto que nas folhas de arroz essa concentração chega a até 10% (Dallagnol *et al.*, 2009; Rafi & Epstein, 2009). No entanto, recentemente, Xavier-Filha *et al.* (2011), estudando o efeito do silício sobre a brusone nas cultivares de trigo Aliança e BH1146, observaram que a concentração de silício foliar foi de 14,8%, e o silício auxiliou na potencialização de respostas bioquímicas (lignina ácido-tioglicólico) de defesa das plantas, conseqüentemente reduzindo a suscetibilidade do trigo à brusone nas folhas. Isso indica que as plantas diferem bastante na capacidade de absorver o Si, e o mesmo foi verificado até entre genótipos de uma mesma espécie, como o arroz (Winslow, 1992; Barbosa Filho *et al.*, 1998). Baseado nos dados de 2011 (Tabela 2), os genótipos de trigo também podem exibir respostas variáveis quanto às diferentes formas de aplicação de Si, sendo a cv. BR-264 aparentemente mais predisposta que BR-18 aos efeitos dos silicatos.

Resumidamente, alta intensidade de brusone foi observada nos anos em diferentes épocas de plantio, independentemente da aplicação de Si ou reação da cultivar de trigo. Mesmo que reduções significativas ($P \leq 0,05$) na intensidade de brusone sido encontrada, os altos índices de doença acarretariam em elevadas perdas de produção.

Desta maneira o uso de silício no controle da brusone não deve ser utilizado isoladamente como uma única forma de controle, mas pode ser indicado em condições menos favoráveis à doença e de forma integrada com outras medidas complementares de controle. Quanto à forma de aplicação (Tabelas 1, 2) aplicações no sulco ou foliares foram superiores à aplicação a lanço.

Avaliação do fosfito e de fungicidas sintéticos para o manejo da brusone do trigo

As intensidades da brusone observadas nas testemunhas não tratadas em 2010 e 2011 foram muito elevadas, chegando a 100% de incidência (ambos os anos) e 89,7 e 98,6% de severidade, respectivamente. Não obstante, diferenças significativas entre os tratamentos foram observadas (Tabela 3). Em 2010, todos os tratamentos apresentaram redução da incidência e severidade da doença em relação à testemunha ($P \leq 0,05$). O fungicida epoxiconazol+piraclostrobina refletiu em melhor controle, reduzindo em aproximadamente 52% a incidência e 75% a severidade da doença no campo, resultado semelhante ao obtido por Utiamada *et al.* (2005). Ainda em 2010, ressalta-se o tratamento com fosfito que não se distinguiu estatisticamente dos tratamentos de fungicidas comerciais e apresentou controle sobre a incidência na ordem de 36% e da severidade em 60%.

O efeito positivo do uso do fosfito na redução doenças de plantas em várias culturas já foi verificado. Em tomate foi observado que o uso de fosfito reduziu a severidade das doenças bacterianas causadas por *Erwinia* spp. e *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* (Nascimento *et al.*, 2008); em frutos de mamão obteve-se redução da podridão, causada por *Phytophthora palmivora* e varíola, causada por *Asperisporium caricae* (Dianese *et al.*, 2007; 2008); e em abacaxi, na redução de *Phytophthora* spp. (Rohrback & Schenck, 1985). Santos (2008) mostrou efeitos positivos no controle de mancha amarela (*Dreschlera tritici-repentis*) e mancha marrom (*Bipolaris sorokiniana*) no trigo. Na cultura da soja o uso de fosfito isoladamente não contribui para redução da severidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) (Meneghetti, 2009). Aparentemente a resposta ao fosfito depende de cada cultura e patossistema.

No ano de 2011 a incidência e severidade da doença foram bem maiores do que em 2010. Conforme a Tabela 3, a incidência da brusone nos tratamentos com os fungicidas epoxinoconazol + piraclostrobina; tebuconazol + trifloxistrobina e tebuconazol foram

significativamente ($p \leq 0,05$) menores comparadas com fosfito e a testemunha. Quanto à severidade, os fungicidas se assemelham entre si estatisticamente, enquanto a aplicação de fosfito mostrou comportamento intermediário não diferindo estatisticamente dos tratamentos epoxinoconazol + piraclostobina; tebuconazol + trifloxistrobina, nem da testemunha, evidenciando um efeito positivo na redução da brusone, mesmo nas condições climáticas ótimas para a ocorrência de epidemias severas de brusone (Figura 1 e 2). Além condições de clima favorável, os altos índices de incidência e severidade neste ano, também está atribuído à presença dos restos culturais advindo do ensaio realizado anteriormente na área, tendo como fonte de inóculo para a cultura.

No geral os fungicidas controlaram em torno de 34% da incidência da brusone no trigo, eficiência inferior à dos mesmos produtos na cultura do arroz, onde são relatadas reduções de 84 a 90% da brusone na panícula (Scheuermann & Eberhardt 2011; Swamy *et al.*, 2009). Este resultado está de acordo com Urashima & Kato (1994), Goulart & Paiva (1991) e Goulart (1989), que indicaram que produtos com bom desempenho no controle da brusone do arroz, não se mostraram eficientes na proteção de panículas do trigo.

A eficiência de controle, registrada com o produto tebuconazol + trifloxistrobina, nos dois anos (2010/2011) foi inferior à encontrada por Igarashi *et al.* (2006), que obteve 80 % de controle da brusone do trigo no estado do Paraná. O fungicida tebuconazol apresentou redução na incidência e severidade da brusone em 2011 da ordem de 39% e de 63%, respectivamente, resultado semelhante ao encontrado por Goulart (1993), para incidência da doença (32%). A maioria dos relatos na literatura parece demonstrar que o controle químico da brusone do trigo não tem sido satisfatório, em função da baixa eficiência dos fungicidas recomendados e disponíveis no mercado.

Na média dos dois anos e considerando todos os tratamentos, estes revelaram baixo controle da brusone do trigo (máximo 52% em 2010 e 38% em 2011 para incidência). Isso vem confirmar dados obtidos pela Santana & Chaves (2009), Goulart *et al.* (1996, 2004), Igarashi & Oliveira (1991), Igarashi (1988) e Goulart & Paiva (1991; 1993), Urashima & Kato (1994), que relataram um controle máximo de 30 a 50%, com duas ou três aplicações de fungicidas e indicam que o controle da doença por fungicidas somente é economicamente inviável pela elevação do custo de produção, resultando em receita líquida negativa. Segundo Goulart & Paiva (1993), a baixa eficiência desses

fungicidas pode ser atribuída à deficiência de sua deposição dos produtos na ráquis, onde a atuação do fungo é direta.

Não foram observados efeitos fitotóxicos, nas plantas de trigo, para quaisquer dos tratamentos testados, durante o período de condução do experimento. As avaliações de perdas de produção não foram calculadas porque os genótipos foram semeados fora das épocas recomendadas.

Em conclusão, o uso de silicatados e fosfitos aplicados isoladamente no trigo proporcionaram baixo controle sobre a doença no campo, em condições favoráveis ao seu aparecimento. Da mesma forma, as aplicações isoladas de fungicidas também foram ineficientes no controle. A resistência parcial de BR-18 Terena foi confirmada nestes testes, mas o nível de resistência de campo tampouco foi suficiente para reduzir adequadamente a intensidade da brusone do trigo. Entretanto, todas essas alternativas podem ser conjugadas em eventuais recomendações integradas de manejo da brusone, visando o concurso de seus efeitos parciais de forma aditiva.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves KJP, Fernandes JMC (2006) Influência da temperatura e da umidade relativa do ar na esporulação de *Magnaporthe grisea* em trigo. *Fitopatologia Brasileira* 31:579-584.

Field A (2009) *Descobrimo a estatística usando o SPSS*. 2ª ed. Porto Alegre: Astmed

Araújo L, Stadnik MJ, Borsato LC, Valdebenito-Sanhueza R (2008) Fosfito de Potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. *Tropical Plant Pathology* 33:148-152.

Barbosa Filho MP, Snyder GH, Elliot CL, Datnoff LE, Prabhu AS, Silva OF, Korndorfer GH (1998) Resposta do arroz de sequeiro à aplicação de silício. In: *Fertbio 98. Resumos XXIII. Reunião Bras. Fertilidade do solo e Nut. Plantas*. Lavras: UFL/Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Sociedade Brasileira de Microbiologia p 57.

Bélanger RR, Benhamou N, Menzies JG (2003) Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). *Phytopathology* 93:402-412.

Berni RF, Prabhu AS (2003) Eficiência relativa de fontes de silício no controle de brusone nas folhas de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38:195-201.

Boneti JIS, Katsurayama Y (2005) Viabilidade no uso de fosfitos no controle da sarna da macieira. *Agropecuária Catarinense* 18:51-54.

Brackmann A, Giehl RF, Sestari I, Weber A, Pinto JAV, Eisermann AC (2008) Controle de podridão em maçãs 'Fuji' frigoconservadas com a aplicação de fosfitos e cloretos de Benzalcônio em pré e pós-colheita. *Revista da FZVA* 15:35-43.

Cabrera MG, Gutiérrez SA (2007) Primer registro de *Pyricularia grisea* en cultivos de trigo del noreste de Argentina. *Jornada de actualización en enfermedades de trigo. Libro de Resúmenes: 60.* Lavallol: Buenos Aires.

Cacique IS, Domiciano GP, Soares GCB, Barros MVC, Porto GRPA, Rodrigues FA, Vale FXR (2010) Silício e Manganês e interação desses elementos na resistência do arroz a brusone. In: Rodrigues FA (Ed.) *Silício na Agricultura- Anais do V Simpósio Brasileiro sobre Silício na Agricultura*, UFV: Viçosa-MG.

Cai K, Gao D, Chen J, Luo S (2009) Mini- Review: Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. *Plant Signaling & Behavior* 4:1-3.

Campbell CL & Madden LV (1989) *Introduction to plant disease epidemiology.* New York. John Wiley & Sons

Cruz MFA, Maciel JLN, Prestes AM, Bombonato EAS, Pereira JF, Consoli L (2009) Caracterização genética e fenotípica de isolados de *Pyricularia grisea* do trigo. *Tropical Plant Pathology* 34: 393-401.

Dallagnol LJ, Rodrigues FA, Mielli MVB, Ma JF, Datnoff LE (2009) Defective active silicon uptake affects some components of rice resistance to brown spot. *Phytopathology* 99:116-121.

Datnoff LE, Deren CW, Snyder GH (1997) Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. *Crop Protection* 16:525-531.

Datnoff LE, Rodrigues FA, Seebold KW (2007) Silicon and Plant Disease In: Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (Eds.) *Mineral Nutrition and Plant Disease.* Saint Paul MN. APS Press. pp. 233-246.

Datnoff LE, Snyder GH, Deren CW (1992) Influence of silicon fertilizer grades on blast and brown spot development and on rice yields. *Plant Disease* 76:1011-1013.

Dianese AC, Blum LEB, Dutra JB, Lopes LF, Sena MC, Freitas LF (2008) Avaliação do efeito de fosfitos na redução da varíola (*Asperisporium caricae*) do mamoeiro (*Carica papaya*). *Revista Brasileira de Fruticultura* 30:834-837.

Dianese AC, Blum LEB, Dutra JB, Lopes LF, Sena MC, Freitas LF, Yamanishi OK (2007) Redução da podridão do pé (*Phytophthora palmivora*) do mamoeiro (*Carica papaya*) por fosfitos. *Fitopatologia Brasileira* 32:166-167.

Domiciano GP, Rodrigues FA, Moreira WR, Oliveira HV, Vale FXR, Filha MSX (2010) Silício no progresso da mancha marrom na folha bandeira do trigo. *Tropical Plant Pathology* 35:186-189.

Espinoza IG, Shohara K (2003) Investigación relativa a la ocurrencia de Piricularia en trigo. Santa Cruz: Centro Tecnológico Agropecuario en Bolivia 2:11- 4.

Fenn ME, Coffey MD (1989) Quantification of phosphonate and ethy phosphate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. *Phytopathology* 79:76-82.

Fernandes JC, Pavan W (2011). Risk mapping wheat blast potential in Brazil. *Phytopathology* 101 (Suplemento):S221. (Resumo).

Ferraz, DMM (2010) Controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em pós-colheita da goiaba (*Psidium guajava*), produzida em sistema de cultivo convencional e orgânico, pela aplicação de fosfitos, hidrotermia e cloreto de cálcio. Dissertação de Mestrado, Brasília, DF: UnB -Universidade de Brasília.

Forster H, Adaskaveg JE, Kim DH, Stanghellini ME (1998) Effect of phosphite on tomato and pepper plants and susceptibility of pepper to *Phytophthora* root and crown rot in hydroponic culture . *Plant Disease* 82:1165-1170.

Ghini R, Kimati H (2000) Resistência de Fungos a Fungicidas. Jaquariuna SP: Embrapa Meio Ambiente.

Goulart ACP & Paiva FA (1993) Avaliação de fungicidas no controle da brusone (*Pyricularia oryzae*) do trigo (*Triticum aestivum*). *Fitopatologia Brasileira* 18:167-173.

Goulart ACP (2004) Perdas em trigo causadas pela brusone. In: Workshop de epidemiologia de doenças de plantas, 1. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dfp/workshop/Resumos/Perdas%20trigo%20brusone.pdf>>.

Goulart ACP, Mesquita AN, Paiva FA (1989) Avaliação de fungicidas no controle da brusone (*Pyricularia oryzae* Cav.) do trigo (*Triticum aestivum* L.). *Fitopatologia Brasileira* 14:149 (resumo).

Goulart ACP, Paiva FA (1991) A avaliação de fungicidas no controle da brusone (*Pyricularia oryzae*) do trigo (*Triticum aestivum*). *Fitopatologia Brasileira* 16:22 (resumo).

Goulart ACP, Paiva FA, Melo-Filho GA, Richetti A (1996) Efeito da época e do número de aplicações dos fungicidas tebuconazole e mancozebe no controle da brusone (*Pyricularia grisea*) do trigo- Viabilidade técnica e econômica. *Fitopatologia Brasileira* 21:381-387.

Igarashi S & Oliveira MAC (1991) Efeito de fungicidas para o controle de doenças fúngicas da parte aérea na cultura do trigo (*Triticum aestivum*) BV do Paraíso PR. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo 16. Dourados, Resumos. Dourados, Embrapa – UEPAE p.93.

Igarashi S (1988) Uma análise da ocorrência de “brusone” do trigo no Paraná. Trabalho apresentado no Seminário sobre melhoramento para Resistência a Enfermidades, Passo Fundo RS.

Igarashi S, Balan MG (2004) Brusone do trigo. Atualidades Agrícolas Basf p.28-31.

Igarashi S, Oliveira MAC, Hama S (2006) Avaliação da eficiência agrônômica dos fungicidas Thifloxystrobin+Tebuconazole e Trifloxystrobin+ Propiconazole, visando o controle da brusone (*Magnaporthe grisea*=*Pyricularia grisea*), na cultura do trigo, através de aplicação na parte aérea das plantas. XIII Reunião da Comissão Centro-brasileira de Pesquisa de trigo e II Seminário Técnico e Trigo - Atas e Resumos expandidos. (EMBRAPA - CNPT Documentos, 67).

Korndörfer GH, Pereira HS, Camargo MS (2004) Silicatos de cálcio e magnésio na agricultura. Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU. 23p. (GPSi-ICIAG-UFU. Boletim Técnico, 01- 3ª. Edição)

Lovatt CJ & Mikkelsen RL (2006) Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do? Better Crops 90:11-13.

Marchioro VS, Franco FA (2010) Informações técnicas para o trigo e triticale – Safra 2011 : IV Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale. Cascavel: Coodetec. Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e triticale

McDonald AE, Grant BR, Plaxton WC (2001) Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. Journal of Plant Nutrition 24:(10):1505-1519.

Meneghetti RC (2009) Avaliação do fosfito de potássio sobre o progresso de *Phakopsora pachyrhizi* em soja. Tese de Doutorado- Universidade Federal de Santa Maria, RS.

Moreira JAA, Stone LF, Trindade MG, Cânovas AD (2006) A cultura do trigo irrigado no Sistema Plantio Direto. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão (EMBRAPA- CNPT Circular técnica 78).

Nascimento AR, Fernandes PM, Rocha MR, Silva EA (2008) Fontes de fosfitos e acibenzolar-s-metil no controle de doenças e produtividade do tomateiro. Bioscience Journal Uberlândia 24:53-59.

Paes CL (2010) Estudo quer viabilizar produção de trigo sequeiro no Cerrado. Embrapa: CPAC. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/noticias/noticia_completa/336/> Acessado: 09/08/2011.

Peruch LA, Bruna MB (2008) Relação entre doses de calda bordaleza e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv. 'Goethe'. Ciência Rural 38: 2413-2418.

Prabhu AS, Barbosa Filho M P, Filippi MC, Datnoff LE, Snyder GH (2001) Silicon from disease control perspective in Brazil. In: Datnoff LE, Snyder GH, Korndörfer GH Silicon in Agriculture. Amsterdam: Elsevier p. 293-311.

Picinini EC, Fernandes JMC (1989) Ocorrência da brusone (*Pyricularia oryzae*) em lavouras comerciais de trigo (*Triticum aestivum*) no estado do Rio Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira 14:351-354.

Rafi MM, Epstein E (1999) Silicon absorption by wheat (*Triticum aestivum* L). Plant and Soil 211:223-230.

Reis E M, Forcelini C A (1994) Fungicidas: guia para o controle de doenças de plantas. 3ª Ed. Passo Fundo: Pe Berthier.

Resende RR, Rodrigues FA, Soares JM, Casela CR (2009) Influence of silicon on some components of resistance to anthracnose in susceptible and resistant sorghum lines. European Journal of Plant Pathology 124:533-541.

Reuveni M (1997) Post-infection applications of K_3PO_3 , phosphorous acid and dimethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapes. Journal of Small Fruit & Viticulture 5: 27-38.

Rohrbach KG, Schenck S (1985) Controle f pineapple heart rot, caused by *Phytophthora parasitica* and *P. cinnamomi*, with fosetyl-al and phosphorous acid. Plant disease, St. Paul 69: 320-323.

Santana FM, Chaves MS (2009) Doenças e métodos de controle. In: Pasinato A, Santi A, Faganello A, Tibola CS, Lau D, Caierão E, Guarienti EM, Santana FM, Dalmago GA, Cunha GR, Santos HP, Pires JL, Denardin JE, Silva-Junior JP, Salvadori JR, Vargas L, Chaves MS, Pereira PRVS, Fontanelli RS Sistema de Produção 4. Passo Fundo: Embrapa Trigo. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Trigo/CultivodeTrigo/doenas.htm>>

Santos GR, Korndorfer GH, Pelúzio JM, Didonet J, Reis Filho JCD, César NS (2003) Influência de fontes de silício sobre a incidência e severidade de doenças e produtividade do arroz irrigado. Bioscience Journal 19:65-72.

Santos GR, Castro Neto MD, Ramos LN, Sarmiento RA, Kornodorfer GH, Ignácio M (2011) Effect of silicon sources on rice diseases and yield in the State of Tocantins, Brazil. Acta Scientiarum Agronomy 33:451-456.

Santos HAA (2008) Efeito de fosfito no controle de doenças foliares de trigo *in vitro* e *in situ*. Dissertação de mestrado, Ponta Grossa, PR –UEPG- Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Santos HAA, Pria MD, Silva OC, Mio LLM (2011) Controle de doenças do trigo com fosfitos e acibenzolar-s-metil isoladamente ou associados a piraclostrobina + epoxicoxazole. Semina: Ciências Agrárias 32:433-442.

Scheuermann KK, Eberhardt DS (2011) Avaliação de fungicidas para o controle da brusone de panícula na cultura do arroz irrigado. Revista de Ciências Agroveterinárias 10:23-28.

Seebold KW, Datnoff LE, Correia-Victoria FJ, Kucharek TA, Snyder GH (2004) Effects of silicon and fungicides on the control of leaf and neck blast in upland rice. Plant Disease 88:253-258.

Swamy HN, Sannaulla S, Kumar MD (2009) Evaluation of new fungicides against rice blast in Cauvery delta. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 22:450-451.

Urashima AS, Kato H (1994) Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. *Summa Phytopathologica* 20:107-112.

Trindade MG, Prabhu AS, Só e Silva M (2006). Resistência parcial de genótipos de trigo a brusone nas folhas. Passo Fundo: Embrapa Trigo 8p (EMBRAPA - CNPT Comunicado Técnico Online, 201).

Utiamada CM, Sato LN, Klingelfuss-Baptista LH (2005) Eficiência agrônômica de fungicidas, em aplicação foliar, no controle da brusone (*Magnaporthe grisea*) na cultura do trigo. XX Reunião da comissão Centro-Sul Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale- Ata e resumos, Londrina: Embrapa Soja (EMBRAPA – CNPSo Documentos 252).

Winslow MD. 1992. Silicon, disease resistance and yield of rice genotypes under upland cultural conditions. *Crop Science* 32: 1208-1213.

Xavier Filha MS, Rodrigues FA, Domiciano GP, Oliveira HV, Silveira PR, Moreira WR (2011) Wheat resistance to leaf blast mediated by silicon. *Australian Plant Pathology Society* 40:28-38.

Zadoks JC, Chang TT, Konzac CFA (1974) A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14:415-4211.

Tabela 1: Comparação das médias dos percentuais de incidência e severidade da brusone nas espigas no ano de 2010, com o uso de silício e duas cultivares de trigo.

Incidência			
Tratamentos	Média (s)*	Genótipos	
		BRS-264	BR-18
(Si) Lanço	85,35 ($\pm 2,95$) b**	89,51 ($\pm 4,17$) Aa**	81,19 ($\pm 4,17$) Aa
(Si) Sulco	73,76 ($\pm 2,95$) a	64,80 ($\pm 4,17$) Ab	82,72 ($\pm 4,17$) Aa
(Si) Foliar	66,58 ($\pm 2,95$) a	64,43 ($\pm 4,17$) Ab	68,72 ($\pm 4,17$) Aa
Testemunha	89,99 ($\pm 2,95$) b	99,35 ($\pm 4,17$) Aa	80,62 ($\pm 4,17$) Aa
	Quadrado médio	F	p-valor
Genótipos	11,72	0,16	0,68
Tratamentos	914,25	13,11	2,84E-05
Genótipos * Tratamentos	502,44	7,20	0,001
Severidade			
Tratamentos	Média (s)*	Genótipos	
		BRS-264	BR-18
(Si) Lanço	69,09($\pm 2,78$) b**	72,04($\pm 3,93$) Aa**	66,14 ($\pm 3,93$) Aa
(Si) Sulco	63,08($\pm 2,78$) ab	58,09 ($\pm 3,93$) Aa	68,08 ($\pm 3,93$) Aa
(Si) Foliar	53,89 ($\pm 2,78$) a	56,95 ($\pm 3,93$) Aa	50,83 ($\pm 3,93$) Aa
Testemunha	85,08 ($\pm 2,78$) c	86,12 ($\pm 3,93$) Aa	84,04 ($\pm 3,93$) Aa
	Quadrado médio	F	p-valor
Genótipos	8,47	0,13	0,71
Tratamentos	1375,77	22,24	4,11E-07
Genótipos * Tratamentos	114,84	1,85	0,164

*s, desvio padrão

** Letras iguais maiúsculas na linha e minúscula na coluna indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 2: Comparação das médias dos percentuais de incidência e severidade de brusone na espiga no ano de 2011, com o uso de silício e duas cultivares de trigo.

Incidência			
Tratamentos	Média (s)*	Genótipos	
		BRS-264	BR-18
(Si) Lanço	99,85 (±0,60) a**	100,00 (±0,85) Aa	99,71 (±0,85) Aa
(Si) Sulco	98,51 (±0,60) a	97,70 (±0,85) Aa	99,31 (±0,85) Aa
(Si) Foliar	99,68 (±0,60) a	99,80 (±0,85) Aa	99,57 (±0,85) Aa
Controle	99,76 (±0,60) a	100,00 (±0,85) Aa	99,53 (±0,85) Aa
	Quadrado médio	F	p-valor
Genótipos	0,192	0,066	0,799
Tratamentos	3,210	1,106	0,366
Genótipos * Tratamentos	1,894	0,653	0,589
Severidade			
Tratamentos	Média (s)*	Genótipos	
		BRS-264	BR-18
(Si) Lanço	93,02 (±3,19) a**	99,16 (±4,52) Aa	86,87 (±4,52) Aa
(Si) Sulco	88,23 (±3,19) a	99,32 (±4,52) Aa	77,14 (±4,52) Aa
(Si) Foliar	85,84 (±3,19) a	75,91 (±4,52) Ab	95,78 (±4,52) Aa
Testemunha	93,54 (±3,19) a	97,91 (±4,52) Aa	89,16 (±4,52) Aa
	Quadrado médio	F	p-valor
Genótipos	272,777	3,334	0,080
Tratamentos	111,775	1,366	0,277
Genótipos * Tratamentos	651,946	7,968	0,001

*s, desvio padrão

** Letras iguais maiúsculas na linha e minúscula na coluna indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 3: Incidência e severidade de brusone, causada por *Pyricularia grisea* em espigas de trigo, nos anos de 2010 e 2011, submetidos ao tratamento com fungicidas e fosfito de potássio.

Ano	Incidência (s)*		Severidade (s)*	
	2010	2011	2010	2011
Tratamentos e Dosagens (i.a. g L ⁻¹)				
Fosfito de K	64,35 (±19,13)a **	98,33 (± 1,22) b	39,75 (± 11,49) a	76,53 (± 9,00) BC
Epoconazol (50) + Piraclastobina (133)	47,94 (± 7,15) a	68,13 (± 14,20) a	24,75 (± 9,77) a	51,41 (± 14,28) ab
Tebuconazol (250)	55,85 (± 20,02) a	61,76 (± 4,28) a	43,10 (± 0,754) a	37,28 (± 16,88) a
Tebuconazol (200)+ Trifloxistrobina (100)	60,45 (± 6,18) a	67,99 (±16,97) a	31,91 (± 14,21) a	63,91 (±13,32) ab
Testemunha	100 (± 0,00) b	100 (± 0,00) b	89,66 (± 11,46) b	98,95 (± 1,57) c

*s, desvio padrão

** letras diferentes na linha indica diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

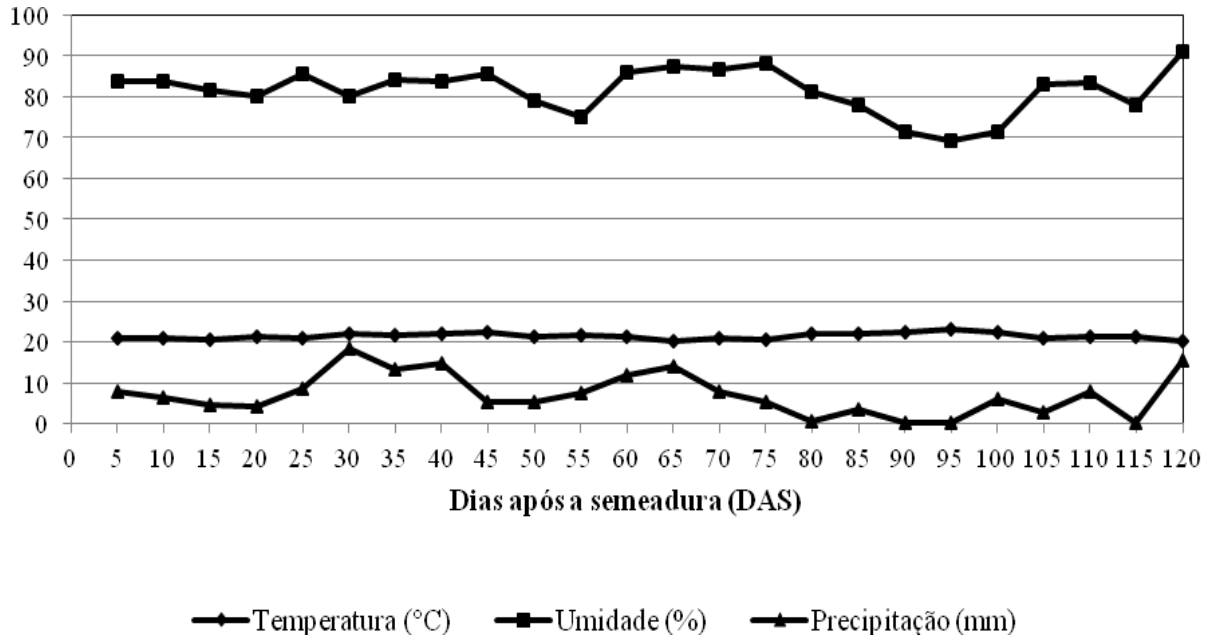


Figura 1: Dados climáticos ocorrido durante a execução do experimento realizado no ano de 2010.

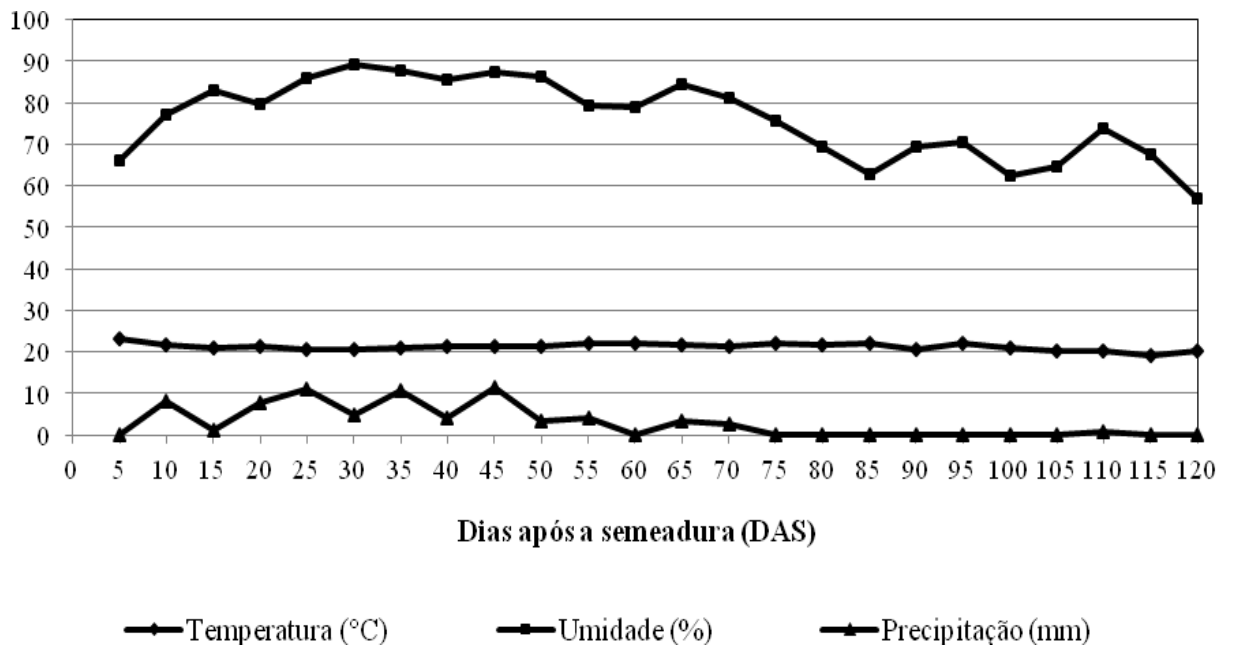


Figura 2: Dados climáticos ocorrido durante a execução do experimento realizado no ano de 2011.

Variabilidade genética de isolados de *Magnaporthe* associados à brusone do trigo e do arroz

RESUMO

A brusone causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* tem sido estudada por várias décadas, devido a sua alta capacidade destrutiva em arroz. Em contrapartida, a brusone de trigo, também causada por variantes de *Magnaporthe*, é muito menos estudada, embora os prejuízos em trigo sejam também muito elevados. A relação entre os agentes causais da brusone em trigo e em arroz é objeto de discussão e o uso de marcadores moleculares microssatélites pode auxiliar no esclarecimento da diversidade genética entre populações de *Magnaporthe oryzae* e *M. grisea*. O objetivo desse trabalho foi verificar a variabilidade genética entre isolados de trigo e de arroz por meio de marcadores microssatélites multiplex. Foram utilizados 40 isolados de *Magnaporthe* obtidos a partir de plantas de trigo e de arroz de diversas regiões geográficas em genótipos cultivados ou linhagens de melhoramento. Os isolados foram estudados com auxílio de 25 marcadores microssatélites com fluorescência para a genotipagem após sequenciamento de DNA. A árvore filogenética construída a partir do uso de marcadores microssatélites com os isolados dos fungos mostrou dois grupos distintos, um constituído apenas por isolados oriundos de cultivares de trigo e outro de isolados de cultivares de arroz. A similaridade genética entre esses dois grupos foi de apenas 3% evidenciando que as populações de *Magnaporthe* de trigo e de arroz são geneticamente separadas.

Genetic variability of *Magnaporthe* isolates of associate wheat and rice blast

ABSTRACT

Blast, caused by *Magnaporthe oryzae* has been studied for several decades, due to its destructive potential in rice. On the other hand, wheat blast, caused by distinct varieties of *Magnaporthe*, has been much less studied, despite the fact that yield losses in wheat are also extremely high. The relationship between the blast causal agents in wheat and rice is object of discussion and the use of microsatellite molecular markers may be helpful in clarifying the genetic diversity among populations of *Magnaporthe oryzae* and *M. grisea*. The objective of this study was to verify the genetic variability among

blast-causing isolates from wheat and rice, by multiplex molecular markers. Forty *Magnaporthe* isolates were obtained from cultivated genotypes or breeding lines of wheat and rice, from widely different geographical regions. Isolates were studied with 25 microsatellite fluorescent markers for genotyping following DNA sequencing. The resulting phylogenetic tree showed two distinct groups, one made only of wheat isolates and the other only by rice isolates. The genetic similarity among both groups was only 3%, evidencing that *Magnaporthe* of wheat and rice are genetically isolated.

INTRODUÇÃO

A brusone é uma doença presente em gramíneas selvagens e cultivadas e é extremamente importante em culturas de alto valor econômico como o arroz (*Oryza sativa*) e o trigo (*Triticum aestivum*). A brusone do arroz é conhecida em todas as regiões rizícolas do mundo (Ou, 1985). Já em trigo, a brusone foi descrita apenas recentemente, a partir do Brasil (Igarashi, *et al.*, 1986) e hoje está restrita a alguns países da América do Sul, onde causa danos elevados (Torres, 2009).

A questão da identidade do agente causal da brusone do trigo é de relevância prática e acadêmica. A origem do patógeno do trigo tem sido debatida desde que a doença foi identificada na década de 1980, principalmente quanto ao grau de isolamento genético entre as populações de *Magnaporthe* de arroz e trigo. Segundo os trabalhos de Urashima (1998) e Prabhu *et al.* (1992) realizando estudos de inoculação cruzada constataram que os isolados de arroz foram capazes de infectar o trigo, no entanto os isolados de trigo não foram infectivos ao arroz. Couch & Kohn (2002) verificaram uma diversidade genética em uma coleção de isolados de *Magnaporthe grisea* através de um conjunto de três genes que permitiram diferenciar os isolados oriundos do gênero *Digitaria* dos isolados associados às plantas oriundas de arroz e de outras gramíneas. Recentemente, Ceresini *et al.* (2011) apresentaram evidências preliminares de que a população que infecta o trigo pode ter se originado de populações selvagens de Poaceae (e não de populações que infectam o arroz).

Entre as poucas opções de controle da brusone de arroz, destaca-se o uso de cultivares resistentes onde muitos genes que conferem a resistência à brusone já foram encontrados. No entanto trata-se esta de uma resistência transiente, não durável,

normalmente quebrada no período de dois ou três anos após o lançamento da cultivar, devido o surgimento de novas raças do patógeno (Ballini *et al.*, 2008; Prabhu & Filippi, 2006; Bruno & Urashima 2001). Por outro lado, no patossistema trigo-*Magnaporthe*, não se conhecem cultivares resistentes ou imunes a essa doença (Cruz *et al.*, 2010).

Um das razões da dificuldade de desenvolver cultivares com resistência durável em arroz é alta variabilidade genética do patógeno (Ou, 1980; Valent & Chumley, 1991; Garrido 2001; Dias Neto *et al.*, 2010). Esse fenômeno está possivelmente associado à trocas genéticas, gerando novas combinações de virulência, e ao aumento da frequência de patótipos do fungo de ocorrência inicialmente rara na área de cultivo, após a introdução do gene de resistência (Levy *et al.*, 1993; Prabhu & Filippi 2006), em um processo denominado seleção direcional.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade genética de isolados de *Magnaporthe grisea* do trigo e do arroz através do uso de marcadores moleculares microssatélites.

MATERIAL & MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Genética Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Cenargen, localizada em Brasília-DF, entre maio e julho de 2011.

Obtenção e seleção dos isolados

Foram avaliados 40 isolados monospóricos de *Magnaporthe*, dos quais 20 de cultivares distintas de arroz e 20 de diferentes genótipos cultivados e linhagens de trigo. Os isolados foram obtidos de regiões geográficas diversas, distribuídas nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Pará e Distrito Federal (Tabela 1). Dentre os isolados de trigo, 10 foram cedidos pela Dra. Valácia Lobo (Embrapa-Arroz e Feijão), e outros 10 foram coletados em campo de “screening” de linhagens de trigo da Embrapa Cerrados. Os isolados de arroz foram cedidos pelo Dr. Márcio Elias Ferreira (Embrapa-Cenargen). A escolha dos isolados para estudo teve como critério a seleção daqueles que representassem a maior diversidade possível, de diferentes raças patogênicas ao arroz e origens geográficas.

Produção de micélio para extração de DNA

Os isolados foram cultivados em meio de cultura estéril de aveia (30 g de aveia, 18 g de ágar e 10 g de sacarose), adicionado de 0.02 g/L do antibiótico Cloranfenicol. Os isolados repicados foram incubados no escuro, em temperatura ambiente por cinco dias. Em seguida as colônias miceliais foram transferidas para frascos Erlenmeyers (250 ml), contendo 200 ml de meio líquido (5 g de extrato de levedura, 2 g de KH_2PO_4 , 20g de D-glucose, 3g de KNO_3 , 0,5g de MgSO_4 e água destilada até completar o volume de 1 L) em agitadores tipo “*Shaker*” à 28°C, agitação de 150 rpm, por 7 dias. Após esse período efetuou-se a filtragem do micélio com TE gelado (4°C) e o material foi armazenado no congelador a -20°C para posterior extração do DNA.

Extração e quantificação do DNA

O micélio foi macerado em nitrogênio líquido até atingir a granulometria extremamente fina (pó) e transferido para tubos tipo Eppendorf. Em seguida o DNA foi extraído seguindo protocolo de extração com CTAB 2X descrito por Ferreira & Gratapaglia (1998). A avaliação quantitativa do DNA total extraído foi verificada em espectrofotômetro Nanodrop ND-1000 (Thermo Scientific) a 230 nm e a pureza foi admitida pela relação 230/280 nm acima de 1,8. A avaliação qualitativa da integridade do DNA total extraído foi dada por eletroforese em gel de agarose a 1% (tampão de corrida TBE (Tris-HCl EDTA-ácido bórico) 1% e voltagem de 80 V por 20 minutos), utilizando o DNA λ (Invitrogen) como padrão para quantificação. Logo após a quantificação, o DNA foi diluído em tampão TE para uma concentração final de 2ng/ μl para a realização da reação de polimerase em cadeia (PCR).

Genotipagem usando marcadores microssatélites

Para a análise da variabilidade genética entre os isolados de *Magnaporthe* foram constituídos treze painéis múltiplex (variando de um a quatro *loci* por painel) compostos por 25 marcadores microssatélites com fluorescência (Tabela 2) desenvolvidos por Garrido (2001) e por Kaye *et al* (2003). A eficiência destes marcadores em detectar polimorfismos em isolados de arroz foi comprovada por Ramos (2009). Em cada painel incluiu-se *locus* com a mesma temperatura de anelamento. As amplificações das reações foram feitas utilizando o Kit Multiplex PCR (Qiagen) contendo os seguintes reagentes: 2,5 μL de *PCR Master Mix*; 0,5 μL de *Q-solution*; e uma solução dos iniciadores direto e

reverso de forma a se obter uma concentração na reação de 0,2 μM ; 1,7 μL de H_2O *RNAase-free* e 2 ng de DNA.

As reações de polimerase em cadeia (PCR) foram realizadas em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer, EUA) utilizando o seguinte programa de amplificação: (I) uma primeira etapa de 95°C por 15 minutos; (II) seguida de 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, temperatura de anelamento 58°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto; (III) e por fim uma extensão final de 72°C por 60 minutos. Cada painel inclui *locus* com a mesma temperatura de anelamento, a saber, do painel 1 ao 7 a temperatura foi de 58°C e do 8 ao 13 foi de 60°C.

Os produtos de PCR foram diluídos em uma proporção de 1:5 e 1 μL do produto diluído foi adicionado a 8 μL de formamida Hi-Di (Applied Biosystems), 0,35 μL do padrão de fragmentos de DNA de tamanho conhecido desenvolvido por Brondani & Grattapaglia (2001) e 0,9 μL de H_2O padrão Milli-Q. A eletroforese capilar para a separação dos fragmentos amplificados em cada *locus* microssatélite foi realizada em um seqüenciador automático DNA Analyzer 3730 (Applied Biosystems). A análise de definição do tamanho dos fragmentos foi realizada com o emprego do programa Gene Mapper v 4.1TM (Applied Biosystems).

Análise Estatística

Os valores do tamanho dos fragmentos amplificados em pares de base dos marcadores foram padronizados utilizando o software “Allelobin” (Idury & Cardon, 1997), que desempenha um procedimento de categorização de alelos em classe, definido por meio de quadrados mínimos, eliminando então o problema de padronização com o uso de critérios pessoais.

Os dados polimórficos de DNA dos isolados de *Magnaporthe* foram analisados empregando uma estimativa de similaridade genética entre os isolados através do coeficiente de Band. A matriz diagonal de distância genéticas foi submetida à análise de agrupamento dado pelo método de *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean* (UPGMA) (Sneath & Sokal, 1973) e um dendrograma de distância foi construído com o programa *Numerical Taxonomy and Multivariate Analyses* (NTSYS) versão 2.10z (Adams *et al.*, 2002).

RESULTADOS & DISCUSSÃO

O uso de marcadores microssatélites (SSR) multiplex possibilitou a diferenciação entre os isolados de trigo e de arroz. Uma matriz diagonal de distâncias genética entre os 40 isolados monospóricos de *Magnaporthe* foi submetida à análise de agrupamento através do coeficiente de Band. O dendrograma de distância genética (Figura 1) indica evidente diversidade genética entre as populações, formando dois grandes grupos de isolados: os 20 isolados provenientes de genótipos de trigo constituíram o grupo um e os 20 isolados originalmente de genótipos de arroz no grupo dois. Além disso, o coeficiente de similaridade entre esses dois grupos (isolados de trigo e de arroz) obtidos através dos produtos de amplificação e ao uso dos 25 marcadores moleculares microssatélites em painéis multiplex foi de apenas 3%, o que demonstra claramente a separação entre essas populações com base na hospedeira. Diversos trabalhos baseados na diversidade genética, compatibilidade sexual e fertilidade, inoculação cruzada, comparação de padrões da banda e outros dados moleculares demonstraram que os isolados de trigo e de arroz são distintos (Lebrun *et al.*, 1990; Orbach *et al.*, 1996; Prabhu *et al.*, 2002; Urashima *et al.*, 1993; Urashima & Kato, 1998; Valent, 1990).

Em relação ao primeiro clado, constituído somente de isolados de *Magnaporthe* obtidos de plantas de trigo, é possível verificar significativa diversidade genética entre os isolados, com coeficiente de similaridade mínimo de 32%. Entretanto, no segundo clado, onde foram agrupados os isolados obtidos de arroz, a similaridade mínima foi ainda menor (apenas 14%), demonstrando que estes apresentam maior grau de polimorfismo dentro deste clado (Figura 1).

Para o agrupamento dos isolados de trigo, constatou-se efeito da origem geográfica, cultivar e parte da planta afetada (espiga ou folha). O efeito da origem geográfica dos isolados foi marcante, embora não determinante em todos os casos. Os isolados PyTDF 06, PyTDF 07, PyTDF 08, PyTDF 09, PyTDF 10, PyTDF 11, PyTDF 12 e PyTDF 13, ainda que coletados de espigas de diferentes genótipos de trigo (screening de linhagens, Planaltina, DF) apresentaram coeficiente de similaridade de 59,5 %. Por outro lado, o isolado PyTDF 01, obtido de lesões na folha, também em Planaltina, DF, mostrou similaridade de 100 % com isolados obtidos de sementes de trigo, oriundos de Rio Verde, GO (PyT 5995, PyT 5997 e PyT 5998). Não foi observado o efeito da parte da planta (sementes, folhas e espigas) de onde cada isolado foi originalmente obtido.

Em um estudo com 18 isolados de *Magnaporthe* de trigo, através da técnica de SSR, Cruz *et al.* (2009) mostraram que 16 desses 18 isolados apresentaram coeficiente de similaridade maior que 75%. Apenas dois isolados separaram-se dos demais, com coeficiente de similaridade de 47 % com os demais isolados. Urashima *et al.* (1999) também constataram a ocorrência de diferenças moleculares na maioria dos isolados de trigo comparados com alguns isolados de arroz e de outras gramíneas hospedeiras do patógeno. Couch & Kohn (2002) estudando a variabilidade genética de um grande número de isolados de *Magnaporthe* obtidos de diferentes hospedeiras, por meio da técnica molecular RFLP também constataram que os isolados de arroz e de gramíneas mostraram alta variabilidade genética. Estes autores utilizaram um único isolado oriundo do trigo que por sinal não se agrupou com os isolados provenientes do arroz, mas agrupou-se com os isolados obtidos de algumas espécies de gramíneas hospedeiras de *Magnaporthe*

Os isolados de arroz apresentaram alta diversidade genética entre si com o uso dos marcadores microssatélites (Figura 1), resultados semelhantes aos obtidos por Ramos *et al.* (2009). A diversidade genética entre os isolados de *Magnaporthe oryzae* do arroz já foi relatada em vários outros estudos, usando técnicas moleculares diferentes, como por exemplo, nos trabalhos realizados por Silva *et al.* (2009); Prabhu *et al.* (2002); Kumar *et al.* (1999).

Em geral, os isolados obtidos dos genótipos de trigo apresentaram menor variabilidade genética quando comparados com os isolados de arroz. Essa menor variabilidade pode ser devida a três motivos: (i) uso de *primers* desenvolvidos com base no seqüenciamento do genoma de *Magnaporthe grisea* isolado do arroz. No entanto, *primers* desenvolvidos para os isolados de arroz, já foram testados em isolados oriundos de outras gramíneas, inclusive do trigo, e estes foram eficientes em detectar diferenças entre isolados do fungo obtidos de trigo (Brondani *et al.*, 2000; Cruz *et al.*, 2009). (ii) critério de seleção dos isolados de arroz para este estudo, onde se procurou escolher os mais diversos isolados de raças fisiológicas conhecidas, enquanto que os isolados de trigo até o momento não possuem nenhuma raça fisiológica descrita para a ciência. Note-se porém, que mesmo dentro da mesma raça fisiológica, o grau de polimorfismo entre isolados de arroz pode ser muito alto. Por exemplo, os isolados de PyAL6-1 e PyAPA-05 pertencem à mesma raça fisiológica IA-1 e não são monomórficos havendo alta variabilidade genética entre si (Figura 1). (iii) finalmente, é possível que realmente

a população de isolados de trigo apresente menor variabilidade genética em relação à população de isolados de arroz. Essa terceira hipótese é congruente com o fato que a doença em trigo é de origem recente e pode ter sido originada de adaptação de populações selvagens em outras Poaceae para o trigo, conforme aventado recentemente (Ceresini et al., 2011). Além disso, Bruno & Urashima (2001) mostraram que os isolados de arroz possuem baixa fertilidade sexual e, portanto, provavelmente não tem contribuição para variabilidade da brusone no trigo. Este mesmo estudo verificou que existe alta compatibilidade sexual entre os isolados de algumas espécies de gramíneas hospedeiras, tais como *Brachiaria plantaginea*, e do trigo os quais podem favorecer a variabilidade genética do fungo.

De acordo com Ou (1980) as diferenças entre raças da brusone do arroz variam com as localidades e épocas e condições ambientais e o entendimento dessa variabilidade é importante do ponto de vista acadêmico, como também do melhoramento genético. Urashima & Kato (1998) mostraram em estudos de inoculação cruzada que isolados causadores de brusone do trigo não são capazes de infectar as cultivares de arroz, enquanto que isolados de arroz têm a capacidade de infectar as plantas de trigo. Assim sendo, programas de melhoramento genético de trigo devem levar em conta esses eventos naturais de fluxo natural de genes de um hospedeiro para o outro. Os dados apresentados neste trabalho demonstram que a população de *Magnaporthe* associada ao trigo também apresenta alto poliformismo, aumentando o desafio aos programas de melhoramento. Finalmente, este trabalho, baseado em uma seleção isolados altamente representativa da variabilidade atual dos agentes causais da brusone do trigo e do arroz, mostrou que as essas populações estão relativamente isoladas na natureza, com similaridade genética de apenas 3%.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, este estudo indica que fontes de resistência ou tolerância a brusone são raras, embora alguns materiais potencialmente úteis tenham sido identificados.

Além disso, constata-se que o controle da brusone do trigo no Cerrado necessita da integração de várias ferramentas de manejo, uma vez que as opções químicas, genéticas e alternativas apresentaram apenas efeitos parciais em condições ambientais favoráveis.

Por fim, este trabalho indica diferenças fundamentais entre os isolados de trigo e de arroz, o que sugere significativo isolamento e origem filogenética distinta entre essas populações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams SD, Kim J, Jensen R, Marcus L, Slice WJ (2002) NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analyses system, versão 2.10 Z. Applied Biostatistics.
- Ballini E, Morel JB, Droc G, Price A, Courtois B, Notteghem JL, Tharreau D (2008) A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21:859-868.
- Brondani RP, Brondani RPV, Garrido LC, Ferreira ME (2000) Development of microsatellite markers for the genetic analysis of *Magnaporthe grisea*. *Genetics and Molecular Biology* 23:753-762.
- Brondani RP, Grattapaglia D (2001) Cost-effective method to synthesize a fluorescent internal DNA standard automated fragment sizing. *Biotechniques* 4: 795-793.
- Bruno AC, Urashima AS (2001) Inter- relação sexual de *Magnaporthe grisea* do trigo com a brusone de outros hospedeiros. *Fitopatologia Brasileira* 26:21-26.
- Ceresini PC, Maciel JL, Kohn L, Levy M, McDonald BA (2011) A “ de novo” origin for the wheat –adapted populations of *Magnaporthe oryzae* in Southern Brazil and levels of gene flow 20 years after the first epidemics. *Phytopathology* 101 (Suplemento): S 221. (Resumo).
- Couch BC, Kohn LM (2002) A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. *Mycologia* 94:683-693.
- Cregan PB, Akkaya MS, Bhagwat AA, Lavi U, Rongwen J (1994) Length polymorphisms of simple sequence repeat (SSR) DNA as molecular markers in plants. In: Gresshoff PM (Ed.) *Plant Genome Analysis* . CRC. Press, Boca Raton, Florida.
- Cruz MFA, Maciel JLN, Prestes AM, Bombonato EAS, Pereira JF, Consoli (2009) Caracterização genética e fenotípica de isolados de *Pyricularia grisea* do trigo. *Tropical Plant Pathology* 34:393-401.
- Cruz MF, Prestes AM, Maciel JLN, Scheeren PL (2010) Resistência parcial à brusone de genótipos de trigo comum e sintético nos estádios de planta jovem e de planta adulta. *Tropical Plant Pathology* 35:024-031.
- Dias Neto JJ, Santos GR, Anjos LM, Rangel PHN, Ferreira ME (2010) Host spots for diversity of *Magnaporthe oryzae* physiological races in irrigated rice fields in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45:252-260.
- Ferreira ME, Grattapaglia D (1998) Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética: Embrapa-Cenargen. Brasília. p 120.
- Garrido LR (2001) Identificação, desenvolvimento e uso de marcadores de regiões hipervariáveis do genoma de *Magnaporthe grisea* na análise da estrutura de populações

do patógeno infectando plantações de arroz (*Oryzae sativa*). Tese de Doutorado. Brasília, DF: Universidade de Brasília.

Idury RM, Cardon LR (1997) A simple method for automated allele binning in microsatellite markers. *Genoma Research* 7:1104-1109.

Igarashi S, Utiamada CM, Igarashi LC, Kazuma AH, Lopes RS (1986) *Pyricularia* em trigo. 1. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira* 11:351-352

Kaye C, Milazzo J, Rozenfend S, Lebrun MH, Tharreau D (2003) *Fungal Genetics and biology* 40:207-214.

Kumar J, Nelson RJ, Zeigler RS (1999) Population structure and dynamics of *Magnaporthe grisea* in the Indian Himalayas. *Genetic Society of America* 152:971-984.

Lebrun MH, Capy MP, Garcia N, Dutertre M, Brygoo Y, Nottoghem JL, Vales M (1990) Biology and genetics of *Pyricularia oryzae* and *Pyricularia grisea* populations: current situation and development of RFLP markets. In: *Rice Genetics Conference*. Los Baños, IRRI. p: 1-12.

Levy M, Correa-Victoria FS, Zeigler RS, Xu S, Hamer JE (1993) Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia. *Phytopathology* 83:1427-1433.

Orbach MJ, Chumley FG, Valent B (1996) Electrophoretic karyotypes of *Magnaporthe grisea* pathogens of diverse grasses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9:261-271.

Ou, SH (1980) Pathogen variability and host-resistance in rice blast disease. *Annual Review of Phytopathology* 18:167-187.

Ou SH (1985b) *Rice diseases*. 2.ed. Kew Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute 380p.

Prabhu AS, Filippi MC (2006) Estratégias de melhoramento para resistência à brusone. In: Prabhu AS, Filippi MC (Eds) *Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas*. Santo Antônio do Goiás: Embrapa Arroz e Feijão.

Prabhu AS, Filippi MC, Castro N (1992) Pathogenic variation among isolates of *Pyricularia grisea* affecting rice, wheat and grass in Brasil. *Tropical Pest Management*. 38: 367-371.

Rafalski JA, Vogel JM, Morgante M, Powell W, Andre C, Tingey SV (1996) Generating and using DNA markers in plants. In: Birren B, Lai E, (Eds) *Nonmammalian genomic analysis. A practical guide*. Academic Press, San Diego Calif. p: 75-134.

Ramos LN, Café-Filho AC, Lins TCL, Ohse BJB, Rangel PHN, Ferreira ME (2009) Variabilidade genética e estrutura de população de isolados monospóricos de *Magnaporthe grisea* coletados no Centro-Norte do Brasil. *Tropical Plant Pathology* 34 (Suplemento): S163 (Resumo).

Rossmann AY, Howard RJ, Valent B (1990) *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus. *Mycologia* 82: 509–512.

Salles G, Buso C (2003) Protocolo para desenvolvimento de marcadores microssatélites. Circular técnica nº 20, Brasília: Embrapa Cenargen.

Silva GB, Prabhu AS, Filippi MCC, Trindade MG, Araújo LG, Zambolim L (2009) Genetic and phenotypic diversity of *Magnaporthe oryzae* from leaves and panicles of rice in commercial fields in the State of Goiás, Brazil. *Tropical Plant Pathology* 34:71-76.

Sneath PHA, Sokal RR (1973) Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification. San Francisco: Freeman. 573p.

Torres GAM, Santana FM, Fernandes JMC, Só E Silva M (2009) Doenças da espiga causam perda de rendimento em trigo nos estados do Paraná, São Paulo e Mato Grosso do Sul, em 2009. Passo Fundo: Embrapa Trigo - CNPT p10 (EMBRAPA - CNPT Comunicado Técnico online, 255).

Urashima AS, Hashimoto Y, Don LD, Kusaba M, Tosa Y, Nakayashiki H, Mayama S (1999) Molecular analysis of the wheat blast population in Brazil with a homolog of retrotransposon MGR583. *Annual Phytopathological Society* 65:429-436.

Urashima AS, Igarashi S, Kato H (1993) Host range, mating type and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil. *Plant Disease* 77:1211-1216.

Urashima AS, Kato H (1998) Pathogenic relationship between isolates of *Pyricularia grisea* of wheat and other hosts at different host developmental stages. *Fitopatologia Brasileira* 23:30-35.

Valent B (1990) Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology* 80:33-36.

Valent B, Chumley FG (1991) Molecular genetic analysis of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Phytopathology* 29:443-467.

Weber JL, May PE (1989) Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain-reaction. *American Journal of Human Genetics* 44:388-396.

Tabela 1: Características dos isolados monospóricos de *Magnaporthe* de arroz e trigo utilizados para a genotipagem.

Isolados*	Raça	Origem geográfica	Cultivares	Segmento da Planta	Ano
PyA154	IB-1	Dueré/TO	Epag. 109	Panícula	2007
PyA155	IC-1	Dueré/TO	Epag. 109	Folha	2007
PyA284	IB-34	Lagoa (D. Carolina)/TO	Piracema	Folha	2007
PyA33	ID-10	Formoso/TO	Epagri 108	Folha	2007
PyA449	IF-1	Lagoa da Confusão/TO	Piracema	Folha	2007
PyA475	ID-5	Lagoa (D. Carolina)/TO	Piracema	Folha	2007
PyA585	IB-49	Luiz Alves / GO	Epag. 109	Folha	2008
PyA610	IA-41	Lagoa da Confusão/TO	Piracema	Folha	2007
PyA615	ID-9	Dueré/TO	Epag. 109	Panícula	2007
PyA616	IA-65	Formoso/TO	Epagri 108	Folha	2006
PyA62	ID-1	Lagoa da Confusão/TO	Best 2000	Folha	2007
PyA628	IA-33	Luiz Alvez/GO	Epag. 109	Folha	2008
PyA633	IB-17	Luiz Alvez/GO	Epag. 109	Folha	2008
PyA635	IB-41	Luiz Alvez/GO	Epag. 109	Folha	2008
PyA639	IB-33	Lagoa (Arco Iris)	Epag. 109	Folha	2007
PyA689	IC-9	Lagoa (Arco Iris)	Epag. 109	Folha	2007
PyAL10-1	IG-1	Lagoa da Confusão/TO	CNA8502	Folha	2007
PyAL2P3	IF-1	Lagoa da Confusão/TO	Diamante	Folha	2007
PyAL6-1	IA-1	Lagoa da Confusão/TO	Diamante	Folha	2007
PyAPA-05	IA-1	Paragominas/ PA	Primavera	Folha	2008
PyT7608	-	Costa Rica/MS	BR-17	Espiga	2004
PyT5995	-	Rio Verde / GO	-	Semente	2002
PyT5997	-	Rio Verde / GO	-	Semente	2002
PyT5998	-	Rio Verde / GO	-	Semente	2002
PyT7602	-	Minas Gerais	BR-17	Espiga	2004
PyT7603	-	Minas Gerais	BR-17	Espiga	2004

PyT7604	-	Minas Gerais	BR-17	Espiga	2004
PyT7605	-	Minas Gerais	BR-17	Espiga	2004
PyT7607	-	Costa Rica/MS	BR-17	Espiga	2004
PyT7613	-	Mato Grosso	BH 1146	Espiga	2004
PyTDF01	-	Planaltina/DF	BRS-264	Folhas	2010
PyTDF04	-	Cristalina/GO	BRS-264	Espiga	2010
PyTDF06	-	Planaltina/DF	Morocco	Espiga	2011
PyTDF07	-	Planaltina/DF	PF89156	Espiga	2011
PyTDF08	-	Planaltina/DF	Whuan 3	Espiga	2011
PyTDF09	-	Planaltina/DF	CIGM93.209	Espiga	2011
PyTDF10	-	Planaltina/DF	Opata 85	Espiga	2011
PyTDF11	-	Planaltina/DF	Granarolo	Espiga	2011
PyTDF12	-	Planaltina/DF	302	Espiga	2011
PyTDF13	-	Planaltina/DF	Klein Lucero	Espiga	2011

* PyA=*Pyricularia grisea* do Arroz; PyT= *Pyricularia grisea* do Trigo.

Tabela 2: Marcadores microssatélites utilizados nos painéis multiplex para a verificação de *locus* polimórficos utilizados nos estudos de variabilidade genética entre isolados de trigo e arroz.

Painel	<i>Locus</i>	Fluorocromo	Cor	Tamanho alélico esperado	MOTIF	Supercontig
1	MS 93-94	6-FAM	Azul	211	ATC/TAC 12,5	6.18
	ms 109 - 110	HEX	Verde	176	TC/AC 12	6.29
2	ms 47 – 48	6-FAM	Azul	197	TA/AT 15	6.12
	PG-6	HEX	Verde	154	GA 24	6.24
	PG-16	NED	Amarelo	180	GA 26	6.29
3	ms 63 – 64	6-FAM	Azul	163	CT/GA	6.9
	ms 61 – 62	6-FAM	Azul	217	GA/CT 9	6.21
	ms 107 – 108	6-FAM	Azul	500	GA/CT 10	6.18
	ms 115 – 116	HEX	Verde	203	GA/CT 33	6.28
4	ms 41 – 42	6-FAM	Azul	117	CT/GA 16	6.21
	ms 125 – 126	HEX	Verde	213	CAA/GTT 32	6.23
5	ms 87 – 88	6-FAM	Azul	203	TGC/ACG 12	6.28
6	ms 99 – 100	6-FAM	Azul	208	ACC/TGG 20	6.26
7	ms 81-82	6-FAM	Azul	190	ACT/TGA 12	6.12
	PG-26	NED	Amarelo	211	GA 9	6.13
8	ms 83-84	6-FAM	Azul	181	TCA/AGT 13	6.18
	PG-5	HEX	Verde	164	CT 26	6.29
	PG-21	NED	Amarelo	207	CT 21	6.24
9	PG-9	HEX	Verde	171	GA 42/A 8 G	6.10
	PG-35	NED	Amarelo	205	CT 17/AT 2	6.24
10	ms 77-78	6-FAM	Azul	200	CA/GT 17	6.24
	PG-19	NED	Amarelo	202	CT 26	6.27
11	PG-30	NED	Amarelo	196	GA 22	6.24
12	ms 67-68	6-FAM	Azul	200	CA/GT 17	6.8

	PG-15	NED	Amarelo	189	GA 46	6.18
	PG-12	HEX	Verde	110	CT 17	6.29
13	PG-20	NED	Amarelo	199	GA 48	6.12

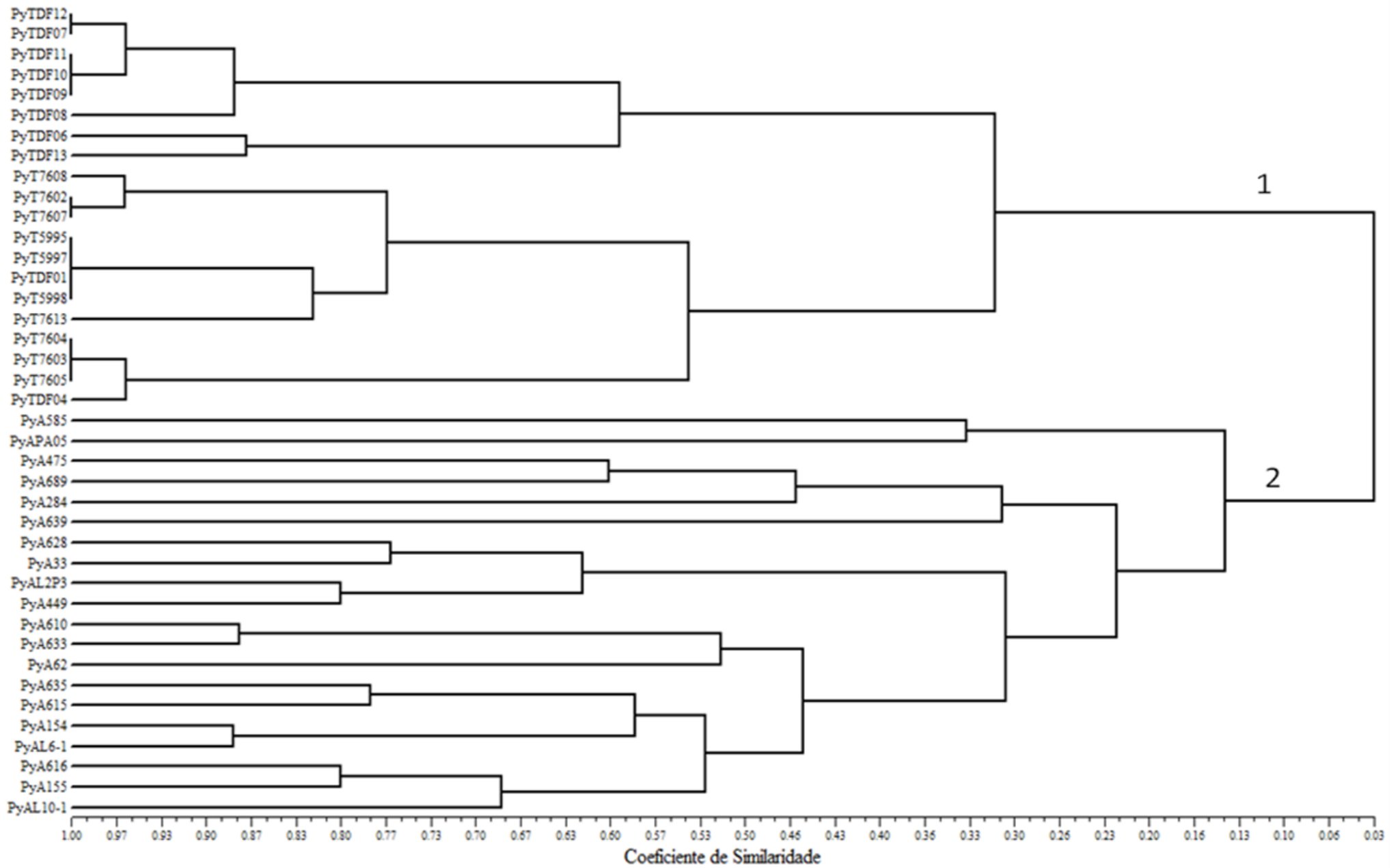


Figura 1: Dendrograma de similaridade genética entre as populações de isolados monospóricos de *Magnaporthe* obtidos de trigo e arroz.

