

INFLUÊNCIA DO MEIO DE CULTURA NA ESPORULAÇÃO DE *Magnaporthe grisea* E DA CONCENTRAÇÃO DE CONÍDIOS NA SEVERIDADE DA BRUSONE DO ARROZ

INFLUENCE OF CULTURE MEDIUM ON THE SPORULATION OF *Magnaporthe grisea* AND THE CONIDIA CONCENTRATION ON BLAST SEVERITY ON RICE

Justino José DIAS NETO¹; Gil Rodrigues dos SANTOS²; Manoel Delintro de CASTRO NETO;
Liamar Maria dos ANJOS¹; Azelma Correa Fontana CUNHA⁴; Máira IGNÁCIO⁵

1. Mestre em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins - UFT, Gurupi, TO e Doutorando em Fitopatologia, Universidade de Brasília - UnB, Brasília, DF, Brasil; 2. Professor, Doutor, Campus Universitário de Gurupi – UFT, Gurupi, TO, Brasil. gilrsan@uft.edu.br; 3. Engenheiro Agrônomo, Mestre em Produção Vegetal, UFT, Gurupi, TO, Brasil; 4. Graduada em Engenharia Agrônômica, UFT, Gurupi, TO, Brasil; 5. Pesquisadora, UFT, Gurupi, TO e Mestre em Botânica, Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa, MG, Brasil.

RESUMO: Foram desenvolvidos dois experimentos com objetivo de avaliar diferentes meios de cultura para esporulação de *M. grisea* e a influência da concentração de conídios na severidade da brusone do arroz. Ambos os ensaios foram desenvolvidos em DIC com quatro repetições, sendo o primeiro composto por sete tratamentos representados por meios de cultura e o segundo ensaio representado por três concentrações de esporos inoculados em três cultivares de arroz irrigado. Os melhores resultados foram obtidos nos meios de cultura a base de aveia, V8, farelo de arroz e BDA não comercial. O tratamento a base de aveia foi significativamente superior aos demais, produzindo $202,5 \times 10^3$ conídios.mL⁻¹. Em todas as três cultivares a maior concentração de esporos proporcionou maior severidade da brusone. Entre as cultivares avaliadas a BRS Jaçanã foi considerada resistente e a cv. Metica 1 e Epagri 109 foram suscetíveis em todas as concentrações estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: *Oryza sativa*. *Pyricularia grisea*. Substrato. Esporulação.

INTRODUÇÃO

O fungo *Pyricularia grisea* Sacc., teleomorfo *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, agente causal da brusone, possui uma ampla gama de hospedeiros que causa doenças em mais de 50 espécies de gramíneas. No Brasil, arroz, trigo, triticale, milho e cevada são as culturas que sofrem quedas significativas de produtividade devido ao ataque desse patógeno (GALBIERI; URASHIMA, 2008; ALVES; FERNANDES, 2006). Dentre os vários hospedeiros desse fungo, o arroz (*Oryza sativa* L.) é o mais importante pela sua ampla distribuição geográfica, sendo a brusone de ocorrência generalizada nesse hospedeiro em praticamente todas as regiões produtoras do mundo e também pela sua capacidade de destruição (NUNES et al., 2007), podendo a doença ser considerada uma das ameaças à segurança alimentar no mundo (VALENT, 2004).

Mesmo sendo um agente biológico amplamente estudado, o fungo *M. grisea* apresenta uma série de limitações de cultivo em condições controladas. A composição do meio de cultura, bem como, temperatura, luminosidade e aeração, são mencionadas como os principais fatores para a obtenção de culturas *in vitro* de diversos fungos fitopatogênicos (DHINGRA; SINCLAIR, 1985).

Estudos anteriores com *M. grisea*, apontam algumas preferências do patógeno quanto a esses fatores (MOSS; TREVATHAN, 1987; NAMAI et al., 1983), no entanto, trabalhos envolvendo algumas características como a influência de diferentes meios de cultura e as concentrações de conídios para inoculação de *M. grisea* nas plantas devem ser realizados de acordo com os isolamentos obtidos nas diferentes regiões. Já que as exigências nutricionais dos isolados a serem utilizados nos estudos podem ser variáveis (PRABHU; FILIPPI, 2006) e exigem adaptações ou inovações dos pesquisadores para possibilitar o desenvolvimento de ensaios.

O presente estudo teve como objetivo avaliar diferentes meios de cultura para esporulação de *M. grisea* e a influência da concentração de conídios na severidade da brusone em arroz.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), campus universitário de Gurupi. Ambos os experimentos foram repetidos por duas vezes.

Ensaio I – Influência de meios de cultura na esporulação de *M. grisea*

O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos e quatro repetições, sendo repetido por duas vezes. Foram testados os meios de cultura: Av - Aveia; Fa - Farelo de Arroz; Ft - Farinha de trigo; Mi - Milharina; BDA - Batata Dextrose Agar; BDAC - BDA comercial e V8 - suco concentrado de tomate. Para o preparo desses meios, os reagentes utilizados foram: Agar-Agar granulado (puro, purificado e livre de inibidores microbiológicos com pH inferior a 6,0); Dextrose (D[+] glucose anidra C₆H₁₂O₆) e Antibiótico (Ampicilina).

Para os meios de cultura Av, Fa, Ft e Mi foram utilizadas 50g das bases, submetidas individualmente a um processo de cozimento em 1,0 L de água destilada por um período de cinco minutos. Após o cozimento, foram peneiradas e tiveram os volumes completados com água destilada para 1,0 L. Em seguida, foram adicionados 20g dextrose, 15g Agar e 250mg de antibiótico para cada meio de cultura. Para o preparo do meio de cultura BDA não comercial foi utilizado 250g de batata picada em pequenos cubos, obtendo-se o extrato através de cozimento em 1,0 L de água destilada. Com o extrato de batata pronto, foram adicionados 20g dextrose, 15g Agar e 250mg de antibiótico, sendo completado o volume com água destilada para 1,0 L. O meio BDAC foi preparado utilizando-se 39g do produto comercial (Acumedia), correspondente a 4g de infusão de batata desidratada, 20g de dextrose e 15g de Agar, sendo acrescido 250mg de antibiótico. Para o preparo do V8, foram cozidos 300g de tomates cortados em cubos em 500 mL de água destilada durante 10 minutos. O material foi peneirado, obtendo-se somente o suco concentrado. Em 230g desse suco foram adicionados 3g CaCO₃, 20g dextrose, 15g Agar e 250mg de antibiótico, em seguida, o volume foi completado para 1,0 L.

Após o preparo, todos os meios de cultura foram submetidos ao processo de esterilização por autoclavagem durante 20 minutos a 121°C. Em seguida, foram vertidos para placas de petri em câmara de fluxo laminar sobre condições assépticas. Com auxílio de um bisturi, um isolado monospóric de *M. grisea* foi repicado em cada placa contendo os diferentes meios de cultura. Os monospóricos utilizados foram classificados, anteriormente, como pertencentes à raça IA-1, considerada como a mais freqüente no Estado do Tocantins (DIAS NETO et al., 2008). Após a transferência, as placas foram vedadas com fita PVC, identificadas e colocadas em câmara incubadora tipo B.O.D., com temperatura

ajustada para 25°C, para crescimento das colônias no escuro.

Aos doze dias, foi dado o estresse nas colônias. As placas foram abertas em câmara de fluxo laminar e o micélio superficial foi raspado com um bastão de aço estéril, sendo os isolados colocados em câmara de crescimento com temperatura ajustada para 25°C. As placas foram cobertas por pano crepe e deixadas sob luz fluorescente contínua por 48 horas. Nestas condições, o meio de cultura desidratou rapidamente e possibilitou a esporulação das culturas.

A avaliação do número de conídios foi realizada aos 14 dias após a repicagem. Para contagem da esporulação, cada placa foi lavada com 20 mL de água destilada estéril e foi realizada raspagem com o auxílio de um pincel de cerdas macias para desprendimento dos conídios dos micélios. Após a lavagem, a solução foi filtrada em gaze e os conídios foram quantificados em câmara de Neubauer.

Para a análise estatística, foram feitas as médias dos dois ensaios e os dados foram tabulados e submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT (SILVA; AZEVEDO, 2006).

Ensaio II – Influência da concentração de conídios na severidade da brusone em diferentes cultivares de arroz irrigado

O experimento foi instalado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, em esquema fatorial de 3 x 3, sendo o fator A= cultivares e o fator B= concentrações de esporos. Foram utilizadas três cultivares de arroz irrigado: Epagri 109, BRS Jaçanã e Metica-1 inoculadas nas concentrações de 3×10^3 , 3×10^4 e 3×10^5 conídios.mL⁻¹. O ensaio foi conduzido em bandejas plásticas com dimensões de 45 x 30 x 10 cm, sendo utilizado para o plantio 4,0 kg de substrato comercial PLANTMAX (casca de pinus, vermiculita, turfa, corretivo de acidez, superfosfato simples e nitrato de potássio), autoclavado a 120°C por 30 minutos. Não foi realizada adubação de plantio em função do tempo de permanência da cultura no substrato e dos teores de nutrientes apresentados em análise química: pH 5.2 (CaCl₂), Ca 16.4, Mg 10.1, Al 0.24, H+Al 10.1 (cmol/dm³), K 709.5, P 362.0 (ppm) e 10.7% de matéria orgânica.

Cada bandeja foi semeada com todas as três cultivares avaliadas, sendo três linhas para cada cultivar e 15 sementes por linha. As bandejas foram mantidas em casa-de-vegetação climatizada para

crescimento das plântulas até o momento da inoculação, com temperatura de 25°C. Aos quinze dias após a emergência (DAE), foi realizada adubação de cobertura com 3g de Uréia (45% N) por bandeja.

Simultaneamente ao desenvolvimento das plântulas, foi realizada a multiplicação do inóculo, sendo utilizada a raça IA-1. Foram realizadas repicagens do micélio da placa matriz para 10 placas de Petri contendo meio de cultura BDA. As placas foram acondicionadas em incubadora B.O.D., com temperatura de 25°C, para o crescimento micelial. Aos 12 dias, foi dado o estresse nas culturas conforme descrito no Ensaio I.

Aos 21 DAE as bandejas contendo as plantas a serem inoculadas foram transportadas da casa de vegetação para o laboratório. Para o preparo do inóculo, cada placa com a cultura esporulada foi lavada com 20mL de água destilada estéril e realizada raspagem com o auxílio de um pincel de cerdas macias para desprendimento dos micélios. Após a lavagem, a solução foi filtrada em gaze e os conídios foram quantificados em câmara de Neubauer. Para inoculação do patógeno, a concentração da solução de conídios foi ajustada para 3×10^3 , 3×10^4 e 3×10^5 conídios.mL⁻¹. Foram utilizados 20mL da solução por bandeja, com auxílio de um borrifador manual. A solução foi distribuída da maneira mais homogênea possível entre as três variedades de cada bandeja. Após a inoculação, as plantas foram colocadas por 24 horas sob condições de câmara úmida com umidade relativa maior que 95%, proporcionada por umidificador em ambiente fechado, e com ausência total de luz, possibilitando condições favoráveis para infecção das plantas. Em seguida, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 25°C, 70% de umidade relativa do ar e fotoperíodo de 12 h, por sete dias, até o momento da avaliação.

A avaliação foi realizada nove dias após a inoculação, baseada na escala de notas de seis graus (0, 1, 3, 5, 7 e 9) proposta por Leung et al. (1988), sendo adicionada a nota 4 de uma escala padronizada de 1 a 9 (0, 1, 3, "4", 5, 7 e 9) (IRRI, 1976), conforme também sugerido por Prabhu e Filippi (2006). A escala de sete graus utilizada permite diferenciar com clareza os tipos de infecção, sendo: 0 - ausência total de lesões; 1 - pequenas lesões cabeça de alfinete de cor marrom e que não se desenvolvem; 3 - lesões pequenas, na sua maioria pouco alongadas, com pouca ou nenhuma esporulação; 4 - Poucas lesões típicas e esporulativas, com centro cinza caracterizada por algumas lesões abertas; 5 - muitas lesões típicas e

altamente esporulativas que podem estar isoladas ou coalescentes; 7 - lesões coalescentes e com mais de 50% da área foliar afetada e 9 - muitas lesões que coalescem, causando murcha e morte das folhas. O experimento foi repetido duas vezes.

Para a análise estatística, foram feitas as médias dos dois experimentos e os dados originais de severidade (notas) foram transformados em $(\sqrt{x+0,5})$, sendo submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico ASSISTAT (SILVA; AZEVEDO, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio I – Influência de meios de cultura na esporulação de *M. grisea*

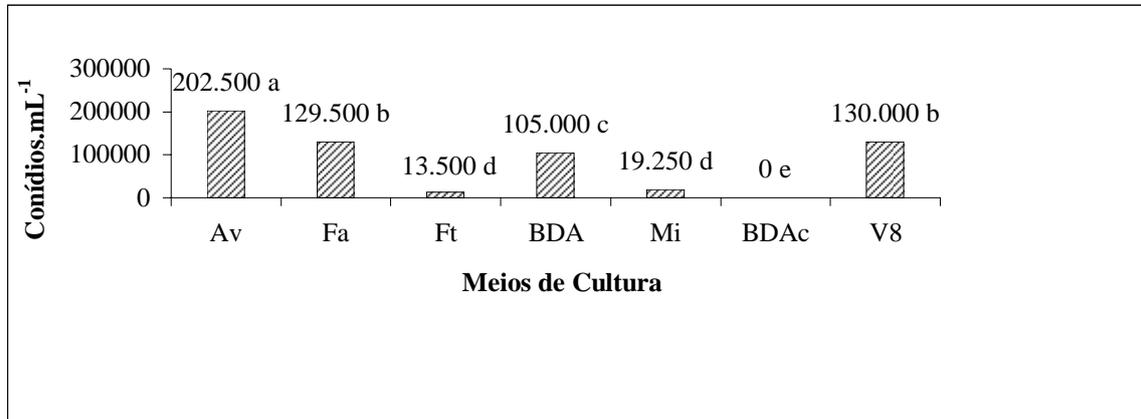
Os tratamentos testados apresentaram diferenças significativas (Figura 1). Verificou-se que a maior esporulação de *M. grisea* foi proporcionada pelo meio de cultura a base de aveia, seguido de V8, farelo de arroz e BDA não comercial. O tratamento com aveia foi significativamente superior aos demais, produzindo $202,5 \times 10^3$ conídios.mL⁻¹. Resultado semelhante foi obtido por Cruz e Prestes (2007) quando testaram diferentes meios de cultura na esporulação de *P. grisea*. Prabhu e Filippi (2006) também descrevem os meios Av, Fa e V8 como sendo adequados para a produção de esporos de *M. grisea* com relação a outros meios. Brunelli et al. (2007), trabalhando com o efeito de diferentes meios de cultura na esporulação de *Cercospora zea-maydis*, agente causal da cercosporiose do milho, constataram que o meio V8 induziu grande quantidade de conidióforos. Também verificaram neste estudo que os meios BDA e aveia estimularam a formação de conidióforos, porém em quantidade bem inferior ao V8. O meio V8 é relatado como bom indutor de esporulação em várias espécies de fungos também considerados de difícil esporulação como, por exemplo, do gênero *Cercospora* (HANADA et al., 2002; QUEIROZ; MENEZES, 1993). O BDA não comercial, embora não tenha sido o mais produtivo entre os tratamentos avaliados, tem o seu uso justificado em função da praticidade do seu preparo e obtenção de um número razoável de conídios.

Os meios de cultura a base de farinha de trigo e milharina não produziram conídios em quantidade satisfatória. Ao compará-los com o tratamento Av, verificou-se que onde se utilizou Ft e Mi, formou-se apenas 6,7 e 9,5%, respectivamente, dos esporos produzidos em relação ao meio aveia. Dos sete substratos analisados, somente o meio

BDA comercial não induziu formação de conídios. Este fato pode estar relacionado com a presença de

alguma substância na composição do produto, que estaria atuando como inibidora da esporulação.

Figura 1. Influência de diferentes meios de cultura na produção de conídios de *M. grisea*. Av - Aveia, Fa - Farelo de arroz, Ft - Farinha de trigo, BDA - Batata dextrose agar, Mi - Milharina, BDAC - BDA comercial e V8 - suco concentrado de tomate.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV= 8,71%.

Alguns meios de cultura são mais favoráveis para a esporulação de fungos que outros, por apresentarem carboidratos complexos que são menos adequados para a produção de hifas vegetativas, porém mais adequados à produção de esporos (DHINGRA; SINCLAIR, 1985). Andrade et al. (2007), trabalhando com *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose no mamoeiro verificou que diferentes meios de cultura, além de ocasionar diferenças quanto ao crescimento e desenvolvimento das colônias, podem influenciar na futura severidade do patógeno na cultura inoculada.

Neste trabalho foi verificado, através de análise visual, grande variação entre as características culturais das colônias fúngicas nos diferentes meios de culturas utilizados no experimento. As colorações variaram de cinza-escuro ao branco e a massa miceliana de ralas a cotonosas. Resultado semelhante foi descrito por Ellis (1971), quanto às características culturais do patógeno. De acordo com Prabhu e Filippi (2006), as colônias podem apresentar características culturais distintas, dependendo do isolado e do meio de cultura utilizado, sendo a parte aérea constituída por uma massa grossa, de aspecto algodãoceco.

Os dados obtidos mostraram que diferentes meios de cultura podem induzir a esporulação de *M. grisea*. No entanto, no desenvolvimento de determinada pesquisa, como por exemplo, na identificação de raças fisiológicas de *M. grisea*, apenas um meio de cultura deve ser utilizado. Segundo Prabhu e Filippi (2006), o método deve ser padronizado com a finalidade de se evitar falhas.

Santoro et al. (2007), pesquisando a interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos, verificaram que existe diferença na virulência entre conídios produzidos em diferentes meios de cultura. Também o uso de meios naturais pode evitar a seleção de mutantes nutricionais menos patogênicos, muito comuns quando se utiliza meios artificiais (PEREIRA; EIRA, 1999).

Ensaio II – Influência da concentração de conídios na severidade da brusone em diferentes cultivares de arroz irrigado

Os resultados obtidos, através da inoculação de três concentrações de conídios de *P. grisea* em diferentes cultivares de arroz irrigado, mostraram que existe correlação positiva entre a concentração de conídios e a severidade da brusone nas folhas. Para as cultivares suscetíveis, Epagri 109 e Metica 1, o coeficiente de correlação foi $R=0,7037$. Para a BRS Jaçanã, cultivar que se mostrou resistente, o coeficiente de correlação foi $R=0,3602$. Apesar dessa diferença, o aumento da concentração de conídios aumentou a severidade da brusone nas folhas nas três cultivares testadas (Tabela 1), apresentando diferença estatística significativa. No entanto, a severidade da brusone nas folhas foi maior nas cultivares suscetíveis em relação à resistente. As concentrações de 3×10^3 e 3×10^4 não apresentaram diferença estatística entre si, porém, entre as concentrações testadas, a de 3×10^5 mostrou-se significativamente superior às demais. Estes resultados concordam com os obtidos por outros autores. Arendt (2006), testando diferentes

concentrações de inóculo de *P.grisea* em trigo observou que a severidade do patógeno aumentou gradativamente conforme o aumento da concentração do inóculo. Araujo e Prabhu (2002), trabalhando com diferentes concentrações de inóculo em somaclones de arroz, também verificaram aumento na severidade da brusone em

função da crescente concentração do inóculo. Este fato também já foi verificado em outros patossistemas. Silveira et al. (2004), trabalhando com *Acidovorax avenae* subsp. *citruilli*, causador da mancha-aquosa do melão, verificaram reação similar da doença em função da concentração do inóculo.

Tabela 1: Severidade de brusone nas folhas em função de três concentrações de esporos de *P. grisea* em três cultivares de arroz.

Cultivares	Concentração (esporos.mL ⁻¹)					
	3 x 10 ³		3 x 10 ⁴		3 x 10 ⁵	
	Severidade média de brusone nas folhas					
Epagri 109	4,6	aB	5,1	aB	7,0	aA
Metica 1	4,1	aB	4,6	aAB	4,9	bA
BRS Jaçanã	0,5	bB	1,0	bAB	1,3	cA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si de acordo com o teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV = 11,32%.

Entre as cultivares avaliadas, a BRS Jaçanã foi a única que se mostrou resistente à brusone nas folhas para a raça IA-1 inoculada. Cutrim et al. (2007), testando a cultivar BRS Jaçanã no Viveiro Nacional de Brusone nos anos agrícolas de 2002/03 e 2003/04, mostraram que esta cultivar apresentou boa resistência à brusone nas folhas. Os autores comentaram que a resistência pode ser devido a um de seus genitores, o IRI 344, ser fonte de resistência a essa doença. Mesmo a cultivar sendo considerada resistente, o aumento da concentração do inóculo causou o aumento da severidade da doença. As cultivares Epagri 109 e Metica 1 foram amplamente plantadas no Estado do Tocantins e são consideradas suscetíveis a brusone. A cultivar Epagri 109, em todas as concentrações do inóculo, mostrou-se mais suscetível do que a cv. Metica 1, apresentando maiores índices de severidade, chegando a obter nota 7 na maior concentração utilizada. Segundo Prabhu et al. (2002), esta cultivar foi lançada em 1996 a partir do Estado de Santa Catarina. Devido ao seu elevado potencial produtivo e qualidade de grão, ainda é utilizada pelos produtores, mesmo com o alto grau de suscetibilidade apresentado. Metica 1 também mostrou-se suscetível em todas as concentrações utilizadas, cuja severidade variou de 4,1 a 4,9. Esta cultivar foi desenvolvida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), sendo introduzida no Brasil em 1981 pela Embrapa - Centro Nacional

de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP). Na época em que foi lançada, em 1986, mostrou moderada suscetibilidade à brusone nas folhas e panículas e foi recomendada para cultivo em condições irrigadas no Brasil (Prabhu; Ferreira, 1991). Tal suscetibilidade aumentou ao longo dos anos, resultando em perdas significativas de produtividade. Mas, por causa do seu potencial produtivo e certa rusticidade, permanece como uma das cultivares plantadas por alguns produtores (ARAUJO et al., 2002).

CONCLUSÕES

O meio de cultura a base de aveia foi o que apresentou melhor eficiência na produção de conídios de *M. grisea*.

O meio de cultura a base de BDA comercial não induziu a esporulação.

Existe grande influência do meio de cultura sobre as características culturais das colônias fúngicas e sobre a produção de conídios de *M. grisea*.

O aumento da concentração de conídios aumentou a severidade da brusone foliar em arroz.

AGRADECIMENTOS

O primeiro autor agradece a CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

ABSTRACT: Two experiments were carried out aiming to evaluate different culture medium for sporulation of *M. grisea* and the influence of conidia concentration in rice blast severity. Both experimental were performed in a

completely randomized block scheme with four replicates. The first experimental consisted of seven culture media (7 treatments) and the second was constituted of three spore concentration that were inoculated in three irrigated rice cultivars (9 treatments). The best results were obtained in the oats culture medium, V8, rice bran and not commercial Potato Dextrose Agar. The oats medium culture was significantly better when compared to the others, producing 202,500 conidia/mL. In all the three evaluated cultivars, the highest concentration of spore resulted in the highest blast severity. Among the evaluated cultivars, the cultivar BRS Jaçanã presented more resistance, while the cultivars Metica 1 and Epagri 109 were susceptible in all the studies concentrations.

KEYWORDS: *Oryza sativa*. *Pyricularia grisea*. Substrate. Sporulation.

REFERÊNCIAS

- ALVES K. J. P.; FERNANDES J. M. C. Influencia da temperatura e da umidade relativa do ar na esporulação de *Magnaporthe grisea* em trigo. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 31, n. 6, p. 579-584. 2006.
- ARAUJO, L. G.; PRABHU, A. S. Somaclones da cultivar de arroz aromático Basmati-370 resistentes à brusone. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v. 37, n. 8, p. 1127-1135. 2002.
- ARAUJO, L. G.; PRABHU, A. S. Indução de variabilidade na cultivar de arroz Metica-1 para resistência a *Pyricularia grisea*. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v. 37, n. 12, p. 1689-1695. 2002.
- ARENDRT, P. F. **Resistência de genótipos de trigo à brusone**. 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2006.
- BRUNELLI, K. R.; FAZZA, A. C.; ATHAYDE SOBRINHO, C.; CAMARGO, L. E. A. Efeito do meio de cultura e do regime de luz na esporulação de *Cercospora zeaemaydis*. **Summa Phytopatologica**. Botucatu, v. 32, n. 1, p. 92-94. 2006.
- CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura. In: Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 1., e do Seminário Técnico de Trigo, 7., 2007, Londrina. **Anais...** Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2007. 1p. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do71_tc21-1.PDF. Acesso em: 26 set. 2008.
- CUTRIM, V. A.; RANGEL, P. H. N.; FONSECA, J. F.; CORDEIRO, A. C. C.; LOPES, A. M.; SANTIAGO, C. M. BRS Jaçanã: Cultivar de arroz irrigado para a região tropical. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2007. 4p. (Comunicado técnico, 140).
- DIAS NETO, J. J.; SANTOS, G. R.; SILVA, L. M. A.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E.; CUNHA, A. C. F.; CANJÃO, E. R.; CASTRO NETO, M. D. Identificação de raças fisiológicas de *Pyricularia grisea* em arroz no Estado do Tocantins. **Tropical Plant Pathology**. Brasília, v. 33, Suplemento, p. 186. 2008.
- DHINGRA, O.; SINCLAIR, J. B. **Basic Plant Pathology Methods**. Boca Raton: CRC Press Inc., 1985. 434 p.
- ELLIS, M. B. *Dematiaceous hyphomycetes*. Kew Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute/CAB, 1971. 608 p.
- GALBIERI, R.; URASHIMA, A. S. Caracterização, compatibilidade e ocorrência de reprodução sexual entre isolados de *Pyricularia grisea* de diferentes hospedeiros. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 34, n. 1, p. 22-28. 2008.
- HANADA, R. E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. Esporulação de *Mycosphaerella fijiensis* em diferentes meios de cultura. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 27, n. 2, p. 170-173. 2002.

IRRI - International Rice Research Institute. **Standard evaluation system for rice**. 2. ed. Los Baños: International Rice Research Institute, 1976. 64p.

LEUNG, H.; BORROMEO, E. S.; BERNARDO, M. A.; NOTTEGHEM, J. L. Genetic analysis of virulence in the blast fungus *Magnaporthe grisea*. **Phytopathology**. Saint Paul, v.78, n.99, p. 1227-1233. 1988.

MONTARROYOS, A. V. V.; COELHO, R. S. B.; FERRAZ, G. M. G.; SANTOS, R.; SANTOS, V. F.; ANDRADE, P. P. Efeitos de meio de cultura, fontes de carbono e nitrogênio, pH e regime luminoso no crescimento de *Mycosphaerella musicola*. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 33, n. 1, p. 86-89. 2007.

MOSS, M. A.; TREVATHAN, L. E. Environmental conditions conducive to infection of ryegrass by *Pyricularia grisea*. **Phytopathology**. Saint Paul, v. 77, n.6, p.863-866. 1987.

NAMAI, T.; YAMANAKA, S. A component contained in oatmeal that favors the sporulation of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cavara. **Annals of the Phytopathological Society of Japan**. Tokyo, v. 49, p.274-276. 1983.

NUNES, C. D. M.; CARVALHO, F. I. F.; PIEROBOM, C. R.; OLIVEIRA, A. Genética da resistência de cultivares de arroz à raça IA-1 de *Pyricularia grisea*. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 32, n. 1, p.64-69. 2007.

PEREIRA, S. R. M.; EIRA, A. F. Metodologia para produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin em cultivo submerso: esporulação da biomassa, efeito da concentração de açúcar e custo do inoculante. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 29, n. 3, p.389-394. 1999.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. C. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 388 p.

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

PRABHU, A. S.; FERREIRA, R. P. Avaliação e seleção no melhoramento de arroz visando resistência a brusone e mancha parda. In: REUNIÓN SOBRE MEJORAMIENTO DE ARROZ EN EL CONO SUR, 1989, Goiânia. **Trabajos...** Montevideú: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, p. 75-85. 1991.

QUEIROZ, F. M.; MENEZES, M. Efeito de meios de cultura e do regime de luz na esporulação de *Cercospora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 18, n. 4, p. 545-547. 1993.

SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; ALEXANDRE, T. M.; ALVES, L. F. A. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v. 42, n. 4, p. 483-489. 2007.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. A new version of the Assistat - Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., Orlando-FL-USA: **Anais...** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p. 393-396.

SILVEIRA, E. B.; MARIANO, R. L. R.; MICHEREFF, S. J.; OLIVEIRA, S. M. A. Influencia da temperatura, umidade, concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citruilli* e idade do fruto no desenvolvimento da mancha-aquosa em melão. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 29, n. 1, p. 34-38. 2004.

VALENT, B. Plant disease: underground life for rice foe. **Nature**. v. 431, n. 7008, p. 516-517. 2004.