

PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DO GÊNERO *Myrothecium*
EM CULTIVARES COMERCIAIS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)

VANDA MARIA ANGELI MALAVOLTA

Orientador: Dr. CLELIO LIMA SALGADO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Março - 1985

A meus pais,
esposo
e filhos

D E D I C O

AGRADECIMENTOS

- Ao Instituto Biológico de São Paulo, à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e aos professores do Departamento de Fitopatologia, que possibilitaram nossa participação no curso de Pós-graduação e realização dessa dissertação.
- Ao Professor Dr. Clélio Lima Salgado, pela orientação desta pesquisa e revisão dos originais.
- Ao Pesquisador Científico do Instituto Biológico Regina Esmeralda de Mello Amaral, cuja amizade e incentivo encaminham-nos na pesquisa científica, pelas valiosas sugestões durante a execução deste trabalho e revisão dos originais.
- Ao Pesquisador Científico do Instituto Biológico Dr. Mário Barreto Figueiredo, pelas sugestões durante a execução deste trabalho, revisão dos originais, versão do resumo em Inglês, e acima de tudo, pelo estímulo constante.
- Ao Pesquisador Científico do Instituto Biológico Júlio Rodrigues Neto, pela colaboração prestada na liofilização das culturas empregadas neste trabalho.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela concessão de Bolsa de Estudos durante parte do Curso de Pós-Graduação.
- À Seção de Fotomicrografia do Instituto Biológico, pela execução do serviço fotográfico.
- Aos Funcionários da Seção de Micologia Fitopatológica e Seção de Doenças das Plantas Alimentícias Básicas e Olerícolas do Instituto Biológico, pelo auxílio prestado na execução deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
RESUMO	vi
SUMMARY	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Patogenicidade de espécies do gênero <i>Myrothecium</i>	3
2.2. Métodos de preservação de fungos	5
2.3. Métodos de inoculação	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1. Obtenção e identificação dos isolados	9
3.2. Manutenção dos isolados	10
3.2.1. Manutenção em meio de Batata-dextrose-agar (BDA)	10
3.2.2. Manutenção em material vegetal herborizado	10
3.2.3. Manutenção em água destilada esterilizada	10
3.2.4. Manutenção em óleo mineral	11
3.2.5. Manutenção em solo esterilizado	11
3.2.6. Liofilização	12
3.2.7. Verificação da viabilidade e patogenicidade dos isolados	13
3.3. Determinação do ótimo de temperatura	13
3.4. Comparação dos isolados quanto a dimensões dos esporos e capacidade de esporulação	14
3.5. Testes de Patogenicidade	15
3.5.1. Determinação do meio de cultura	15
3.5.2. Preparo de inóculo	15
3.5.3. Métodos de Inoculação	16
3.5.3.1. Inoculação de sementes	16

	Página
3.5.3.2. Inoculação do solo	16
3.5.3.3. Inoculação de folhas	17
3.5.3.4. Inoculação das hastes	18
3.5.3.5. Inoculação das bainhas das fo lhas bandeira	19
4. RESULTADOS	22
4.1. Obtenção e identificação dos isolados	22
4.2. Verificação da viabilidade e patogenicidade dos isolados	25
4.3. Determinação do ótimo de temperatura	25
4.4. Comparação dos isolados quanto a dimensões dos esporos e capacidade de esporulação	29
4.5. Testes de patogenicidade	30
4.5.1. Determinação do meio de cultura	30
4.5.2. Métodos de inoculação	30
4.5.2.1. Inoculação de sementes	30
4.5.2.2. Inoculação do solo	31
4.5.2.3. Inoculação de folhas	31
4.5.2.4. Inoculação das hastes	33
4.5.2.5. Inoculação das bainhas das fo lhas bandeira	33
5. DISCUSSÃO	38
5.1. Identificação das espécies do gênero <i>Myrothe- cium</i>	38
5.2. Verificação da viabilidade e patogenicidade dos isolados após 1 ano de manutenção sob va- rios métodos	40
5.3. Determinação do ótimo de temperatura	42
5.4. Comparação dos isolados quanto a dimensões dos esporos e capacidade de esporulação	43
5.5. Testes de Patogenicidade	43
5.5.1. Determinação do meio de cultura	43

	Página
5.5.2. Métodos de inoculação	44
5.5.2.1. Inoculação de sementes	44
5.5.2.2. Inoculação do solo	44
5.5.2.3. Inoculação de folhas	45
5.5.2.4. Inoculação das hastes	46
5.5.2.5. Inoculação das bainhas das fo lhas bandeira	46
6. CONCLUSÕES.....	48
LITERATURA CITADA	50-57

PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DO GÊNERO *Myrothecium* EM
CULTIVARES COMERCIAIS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)

VANDA MARIA ANGELI MALAVOLTA

Orientador: Clélio Lima Salgado

RESUMO

Desde 1964 vem sendo observada em lavouras de arroz de sequeiro do Estado de São Paulo uma anomalia conhecida pelo nome de "mulata", caracterizada por um escurecimento da haste das plantas. A partir de plantas de arroz com os sintomas descritos, provenientes dos municípios de São Carlos, Caconde e Campinas (SP), Itiquira (MS) e Rondonópolis (MT), foram obtidos cinco isolados de um fungo do gênero *Myrothecium*, sendo dois de *M. verrucaria* (Alb. et Schw.) Ditm. ex Fr., um de *M. indicum* Rama Rao e dois de *Myrothecium* sp., os quais, juntamente com um isolado de *M. roridum* Tode ex Fr., obtido de plantas de *Apheleandra squarrosa* Nees provenientes de Jaguariuna (SP), foram objeto de estudo do presente trabalho.

Esses isolados foram submetidos a vários métodos de preservação, comparados quanto a aspectos morfo-fisiológicos e avaliados quanto ao grau de patogenicidade, mediante inoculação em nove cultivares comerciais de arroz, das quais cinco de sequeiro - Batatais, IAC 25, IAC 47, IAC 164 e IAC 165 e quatro de irrigado - IAC 899, IAC 1278, IAC 4440 e IR 841. Foram empregados diferentes métodos de inoculação:

imersão das sementes em suspensão de esporos, incorporação de inóculo no solo, pulverização das folhas e injeção nas hastes e nas bainhas das folhas bandeira com suspensões de esporos.

Os resultados obtidos evidenciaram que: 1) Os métodos de preservação mais eficientes na manutenção das características dos isolados foram os de água destilada estéril e liofilização. 2) O ótimo de temperatura para o desenvolvimento miceliano radial dos isolados está compreendido entre 27 e 33°C. 3) Houve diferenças na capacidade de esporulação dos isolados. 4) Os cultivares diferiram quanto a resistência quando inoculados nas folhas por pulverização. 5) As reações apresentadas pelos cultivares foram intensas e pouco variáveis quando suspensões de esporos dos isolados mais patogênicos - 193H, 216H, 228H e 233H - foram inoculadas por injeção nas hastes e nas bainhas das folhas bandeira. 6) A patogenicidade das espécies *M. verrucaria*, *M. indicum* e *M. rosidum* foi constante, considerando cada um dos 9 cultivares inoculados. 7) Os isolados de *Myrothecium* sp. foram pouco patogênicos.

PATHOGENICITY OF ISOLATES OF THE GENUS *Myrothecium*
IN COMMERCIAL CULTIVARS OF RICE (*Oryza sativa* L.).

VANDA MARIA ANGELI MALAVOLTA

Adviser: Clélio Lima Salgado

SUMMARY

Since 1964 an abnormality characterized by a stem darkening of rice plants, commonly known as "mulata", has been observed in upland rice crops in the State of São Paulo, Brazil.

Five isolates of *Myrothecium* two of *M. verrucaria*, one of *M. indicum* and two of *Myrothecium* sp., obtained from rice plants from the counties of São Carlos, Caconde and Campinas (State of São Paulo), Itiquira (State of Mato Grosso do Sul) and Rondonópolis (State of Mato Grosso) were studied. One isolate of *M. noridum*, obtained from an ornamental plant *Aphelandra squarrosa* Nees from Jaguariúna (State of São Paulo) was also included in the studies.

The isolates were submitted to various preserving methods, compared according to the morpho-physiological characteristics and evaluated in relation to the degree of pathogenicity by the inoculation of nine commercial rice cultivars. Out of nine cultivars inoculated, five namely "Batatais", IAC 25, IAC 47, IAC 164 and IAC 165 were for upland conditions, and four, namely IAC 899, IAC 1278, IAC 4440 and IR 841, were for irrigated conditions.

Several inoculations methods were employed:

immersion of the seeds in a spore suspension; mixture of the inoculum (inoculated rice grains) with soil; leaf spraying; injections of a spore suspension into the stems and flag leaf sheaths.

The results have shown that: 1) distilled water and liophylization were the most effective methods for the preservation of viability and physiologic characteristics of the isolates of *Myrothecium*; 2) optimum temperature for mycelium radial development ranged between 27 and 33°C; 3) there were differences in the sporulation of the isolates; 4) differences in resistance were observed among the cultivars when the method of leaf spraying was employed; 5) considering the isolates 193H, 216H, 228H e 233H, highly pathogenic, no significant variations in resistance of cultivars was observed when injections into the stems and flag leaves were the inoculation methods used; 6) the pathogenicity of *M. verrucaria*, *M. indicum* and *M. roridum* was constant considering each one of the nine inoculated cultivars; 7) the isolates of *Myrothecium* sp. were poorly pathogenic.

1. INTRODUÇÃO

O levantamento da ocorrência de doenças fúngicas em lavouras de arroz de sequeiro do Estado de São Paulo vem permitindo, desde 1964, a observação de uma anomalia conhecida entre nós pelo nome de "mulata", caracterizada por um escurecimento da haste das plantas, variável desde um escurecimento brando e escasso, na forma de um leve bronzeamento, até uma coloração forte, marrom escuro, que chega a abranger toda a haste (ISSA et alii, 1967; AMARAL e RIBEIRO, 1971).

ISSA et alii (1973) relataram a ocorrência dessa anomalia em muitos cultivares de arroz, referindo-se a ela como sendo de causa desconhecida.

Entretanto, em 1976, pesquisadores da Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico isolaram o fungo *Myrothecium verrucaria* (Alb. et Schw.) Ditm. ex Fr. a partir de plantas de arroz provenientes de São Carlos (SP) que apresentavam a sintomatologia descrita acima (MALAVOLTA et alii, 1979). Posteriormente, provaram a patogenicidade desse fungo através de inoculações em plantas de arroz (AMARAL et alii, 1980; MALAVOLTA et alii, 1984), confirmando trabalho da literatura internacional que relata esse fungo como patogênico à cultura do arroz, ocasionando uma doença semelhante à "mulata" (DE CAROLIS et alii, 1972).

Outras espécies do gênero *Myrothecium* são tam-

bêm citadas como patogênicas ao arroz, entre elas *M. roxidum* Tode ex Fr. (ALMEIDA et alii, 1980), *M. indicum* Rama Rao (PAVGI et alii, 1966); *M. leucotrichum* (Pk.) Tulloch (= *M. jollymanni* Preston) (NGUYEN et alii, 1973) e *M. oryzae* Saccardo (PAVGI et alii, 1966).

Embora seja pequeno o numero de referências bibliográficas quanto a ocorrência de fungos do gênero *Myrothecium* em culturas de arroz, inúmeras citações relatam a patogenicidade de espécies desse gênero a plantas de cerca de 20 famílias, ocasionando danos variáveis de acordo com o local e o hospedeiro.

Tendo em vista a ocorrência generalizada de "mulata" em nossos arrozais, o isolamento de *M. verrucaria* a partir de plantas com os referidos sintomas, a comprovada patogenicidade de outras espécies do gênero *Myrothecium*, tanto ao arroz como a outras espécies vegetais, torna-se oportuno o presente trabalho que tem por objetivos:

- a) estudo comparativo de isolados quanto a aspectos morfo-fisiológicos.
- b) determinação dos melhores métodos de preservação dos isolados.
- c) avaliação da patogenicidade de espécies de *Myrothecium* em cultivares comerciais de arroz.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Patogenicidade de espécies do genero *Myrothecium*

A patogenicidade de espécies de fungos do genero *Myrothecium* em plantas pertencentes a várias famílias botânicas foi relatada em inúmeros trabalhos, que são relacionados a seguir, em ordem cronológica, de acordo com a espécie considerada.

Myrothecium verrucaria (Alb. et Schw.) Ditm. ex Fr. foi citado como patogênico por THOMPSON (1961) em *Canna* sp.; por CLINTON e PEREGRINI (1963) em *Agave* sp. (sisal); por SINGH e AUJLA (1965) em *Oryza sativa* L. (arroz), como agente causal de manchas foliares; por CUNFER et alii (1969) em *Trifolium pratense* L.; por BRAVERMAN (1971) em *Lotus corniculatus* L. e *Lotus* spp.; por DE CAROLIS et alii (1972) em arroz, na Itália, ocasionando lesões nos grãos e nas bainhas das folhas bandeira; por NGUYEN et alii (1973) em *Glycine max* (L.) Merr. (soja) e em arroz, como patogênico quando inoculado nas folhas e no solo; por GROSU e HULEA (1973) em *Triticum aestivum* L. (trigo), *Lathyrus hirsutus* L. (ervilha), *Zea mays* L. (milho), *Phaseolus vulgaris* L. (feijão) e soja; por GAYED E WATSON (1975) em *Nicotiana tabacum* L. (fumo); por MALAVOLTA et alii (1979) em arroz, sendo essa a 1ª constatação de *M. verrucaria* no Brasil; por KANAUIA (1977) em *Nyctantes arbor-tristis* L.

por AMARAL et alii (1980) em arroz, ocasionando escurecimento nas hastes das plantas; por SRIVASTAVA e GUPTA (1980) em *Zinnia* sp.; por BARBETTI e SIVASITHAMPARAM (1981) em *Brassica* sp.; por ARUNYANART et alii (1982) em *Azolla* sp.; por LEATH e KENDALL (1983) em *Trifolium pratense* e *Medicago sativa* L. (alfafa).

Myrothecium roridum Tode ex Fr. foi citado como patogênico por SCHIEBER e ECHANDI (1963) em *Coffea arabica* L. (café); por TANDON e SRIVASTAVA (1963) em *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate); por COGNEE e BIRD (1964) em *Gossypium hirsutum* L. (algodão); por LITTRELL (1965) em *Sinningia speciosa* (Lodd.) Hiern. (gloxinias); por NATH et alii (1966) em *Solanum melongena* L. (berinjela); por SINGH et alii (1967) em *Vinca rosea* L.; por SCHNEIDER e KUHNE (1967) em *Hypocyrta glabra* Hook.; por SINGH e SRIVASTAVA (1967) em *Sesamum orientale* L. (gergelim); por PAVGI e UPADHYAY (1967) em *Hydrastis canadensis* L.; por CUNFER et alii (1969) em *Trifolium pratense*; por NATH et alii (1970) em *Phaseolus aureus* Roxb.; por SAKSENA e TRIPATHI (1971) em soja; por PONNAPPA (1971) em *Trapa bispinosa* Roxb., *Antirrhinum* sp., *Brassica oleracea* L. var. *gongylodes*, *Calotropis gigantea* R. Br., *Passiflora laurifolia* L. (maracujá), *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms, *Lochnera rosea* (L.) Reichenb., *Ricinus communis* L. (mamona) e *Solanum tuberosum* L. (batata); por NGUYEN et alii (1973) em arroz, soja, *Sorghum vulgare* Pers. (sorgo), *Vigna sinensis* (L.) Savi ex. Hassk. (caupi), *Dahlia variabilis* Desf. e *Tropaeolum majus* L.; por RAO e SUBRAMONIAM (1974) em *Cucumis sativus* L. (pepino); por SHARMA e JAIN (1977) em *Kalanchoe* spp.; por TEWARI e SKOROPAD (1977) em *Brassica* spp.; por SHARMA e BHARGAVA (1977) em *Momordica charantia* L.; por KUMAR e TANDON (1978) em *Carissa carandas* L.; por LAXMINARAYANA e REDDY (1978) em *Capsicum frutescens* L. var. *longum*; por GAUTAM e MUNJAL (1979) em *Humulus lupulus* L. (lúpulo); por FREIRE (1979) em *Corchorus capsularis* L. (juta); por CHAUHAN (1979) em *Apios americana* Medik.; por HUMPHREY-JONES (1980)

em *Kolkwitzia amabilis* Graebn.; por ALMEIDA et alii (1980) em arroz, soja, feijão, sorgo e caupi; por SARMA (1981) em *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich (rami); por JYOTI SINGH e NARAIN (1980) em *Celosia argentea* L.; por CARDOSO e PITTA (1982) em *Aphelandra squarrosa* Nees; por LEATH e KENDALL (1983) em *Trifolium pratense* e alfafa.

Myrothecium indicum Rama Rao foi citado por PAVGI et alii (1966) como patogênico ao arroz, ocasionando manchas indefinidas, de tamanho variado, nas folhas e glumas do arroz, com desenvolvimento superficial de esporodóquios e os graos parcialmente chochos.

Myrothecium leucotrichum (Pk.) Tulloch foi citado por NGUYEN et alii (1973) como patogênico em arroz, soja, sorgo, caupi, *Dahlia variabilis* e *Tropaeolum majus*. Foi citado ainda por MAHANTA e SATYANARAYANA (1978) como patogênico em *Thea sinensis* L. (chá).

Myrothecium oryzae Saccardo foi constatado por PAVGI et alii (1966) como patogênico em arroz, ocasionando lesões nas glumas no estágio leitoso e no período de maturação dos grãos.

Myrothecium medium foi citado por SINGH e DWIVEDI (1978) como patogênico em *Ixora parviflora* Vahl.

Myrothecium sp. foi citado por LASCA (1981) como componente da flora fúngica de sementes de arroz no Brasil.

2.2. Métodos de preservação de fungos

Vários métodos de preservação de fungos descritos por TUIITE (1969) foram utilizados neste trabalho, tais como manutenção das culturas em solo, água destilada, óleo mineral, tecido herborizado do hospedeiro e liofilização.

A metodologia empregada para a conservação de fungos em solo foi descrita por GREENE e FRED (1934), que ob-

servaram a manutenção da viabilidade de culturas dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* por período superior a 2 anos, sem perda de características essenciais e desejáveis. Usando a mesma metodologia, BAKERSPIGEL (1953) constatou que fungos de 5 gêneros fitopatogênicos permaneceram viáveis, sem apresentarem mudanças pleomórficas, após períodos de estocagem variáveis de 1 a 4 anos.

A preservação de algumas espécies do genero *Myrothecium* através do método de imersão das culturas em óleo mineral foi descrita por BUELL e WESTON (1947) e por STEBBINS e ROBBINS (1949), que constataram a viabilidade das culturas após períodos de 14 e 24 meses, respectivamente.

A aplicação do método de conservação em água destilada a fungos fitopatogênicos foi descrita por FIGUEIREDO (1967) e FIGUEIREDO e PIMENTEL (1975), que evidenciaram as vantagens desse método, através do qual fungos de vários generos mantiveram-se viáveis e com as características inalteradas por cerca de 10 anos. Por esse mesmo método, PIMENTEL et alii (1980) verificaram que a maioria das culturas preservadas por mais de 7 anos mantiveram inalterada sua patogenicidade.

A viabilidade de culturas liofilizadas foi verificada por HESSELTINE et alii (1960), que constataram excelente desenvolvimento das espécies *Myrothecium verrucaria* e *M. noridum* após 17 e 10 anos, respectivamente.

2.3. Métodos de inoculação

A patogenicidade das espécies *M. verrucaria* e *M. noridum* a plantas de *Trifolium pratense* foi demonstrada por CUNFER et alii (1969), através de inoculações realizadas por pulverização com suspensão de esporos e micélio, em folhas previamente feridas com agulha estéril. À suspensão de esporos foi adicionado o produto Tween 20, e as plantas foram

mantidas após a inoculação em câmara úmida, sob temperatura e fotoperíodo adequados.

DE CAROLIS et alii (1972) isolaram *M. verrucaria* das bainhas das folhas bandeira e de grãos de arroz que apresentavam escurecimento. Os mesmos sintomas foram reproduzidos em plantas de arroz injetando-se 1 ml de uma suspensão de esporos dentro das bainhas das folhas bandeira na época da emissão da panícula. Os autores realizaram também inoculações por pulverização em plantas no estágio de 4-5 folhas, através da qual induziram lesões foliares, e inoculação das sementes antes do plantio, inibindo completamente o processo germinativo.

A influência de metabolitos de *M. verrucaria* na germinação de milho, trigo e ervilha foi estudada por GROSU e HULEA (1973), que verificaram que sementes de trigo e ervilha foram mais severamente afetadas. Foi também estudado o efeito de filtrados de *M. verrucaria* no desenvolvimento de plântulas de 5 espécies vegetais, mostrando que soja, ervilha e feijão foram altamente suscetíveis aos efeitos dos filtrados, enquanto que trigo e milho não foram afetados.

Inoculação foliar por pulverização de esporos com as espécies *M. roridum* e *M. verrucaria* foi realizada, em plantas de arroz, por NGUYEN et alii (1973), que obtiveram respectivamente, severa e moderada infecção, representada por lesões nas folhas e escurecimento das nervuras. Essas duas espécies foram também inoculadas no solo, sendo que *M. verrucaria* ocasionou severa infecção as plantas, representada por lesões necróticas na parte basal da haste e extensa podridão de raízes.

Testes de patogenicidade com *M. roridum*, isolado de sementes de soja, foram realizados por ALMEIDA et alii (1980) em plantas de arroz com 2 semanas de idade, que foram pulverizadas com suspensão de esporos (20×10^4 esporos/ml) e cobertas com saco plástico por 48 h, período após o qual as plantas apresentaram lesões foliares.

Diversos cultivares de arroz foram inoculados com a espécie *M. verrucaria*, através do método de injeção com

suspensão de esporos nas hastes das plantas, por AMARAL et alii (1980), que obtiveram sintomas de extenso escurecimento das hastes no cultivar IR 841.

Através do mesmo método e com a mesma espécie, MALAVOLTA et alii (1984) realizaram inoculações em plantas de arroz de 17 cultivares. Os primeiros sintomas tornaram-se evidentes a partir do 3º dia após as inoculações, observando-se nos cultivares inoculados um escurecimento progressivo das hastes; nos cultivares IAC 47, IAC 165, IAC 1246 e IAC 5100, mais suscetíveis, esse escurecimento atingiu toda a haste, com conseqüente seca das folhas e morte das plantas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção e identificação dos isolados

Os isolados foram obtidos de plantas de arroz que apresentavam escurecimento generalizado das hastes, sintoma de anomalia conhecida pelo nome de "mulata", coletadas em lavouras situadas nos municípios de São Carlos, Caconde e Campinas (SP), Itiquira (MS) e Rondonópolis (MT). Pedacos das hastes dessas plantas foram colocados sobre papel de filtro umedecido com água, contido em placas de Petri. Diariamente foi feita a observação das hastes ao estereomicroscópio, e após um período de 5 a 8 dias foram notadas frutificações de um fungo do gênero *Myrothecium*. Os isolamentos foram feitos transferindo-se esporos do fungo para placas de Petri contendo meio de Batata-dextrose-agar (BDA), e as culturas puras foram mantidas à temperatura ambiente. A identificação da espécie relativa aos isolados obtidos foi feita de acordo com ELLIS (1971).

Um outro isolado, obtido por CARDOSO e PITTA (1982) de plantas de *Aphelandra squarrosa* e identificado como *M. rotidum*, também foi incluído neste trabalho.

3.2. Manutenção dos isolados

Vários métodos de preservação de fungos foram empregados, visando a determinação do método mais recomendável para a preservação das características morfológicas, viabilidade e patogenicidade dos isolados.

3.2.1. Manutenção em meio de batata-dextrose-agar (BDA).

A manutenção dos isolados foi feita pelo método tradicional mediante repicagens sucessivas para meio de BDA contido em tubos de ensaio, tamponados com algodão e mantidos à temperatura ambiente.

3.2.2. Manutenção em material vegetal herborizado

As plantas coletadas, que apresentavam escurecimento das hastes e que permitiram a obtenção dos diversos isolados do fungo, foram herborizadas, prensando-se o material vegetal entre folhas de papel, e secando-se naturalmente temperatura ambiente durante 1 mês. Após esse período, o material já seco foi guardado em sacos de papel devidamente identificados, à temperatura ambiente.

3.2.3. Manutenção em água destilada esterilizada.

Os isolados foram repicados para meio de BDA contido em placas de Petri. Quando as culturas tinham de cerca 10 dias, fase de grande atividade metabólica, pedaços de

1 cm² contendo meio de cultura e o fungo a ser preservado foram retirados, com um vazador, da zona mais jovem da colônia e transferidos para frascos de 6 ml de capacidade, contendo 4 ml de água destilada esterilizada, que foram depois tamponados com rolha de borracha e lacrados com tampas herméticas de alumínio, para evitar contaminação e evaporação de água, conforme o indicado por FIGUEIREDO (1967), FIGUEIREDO e PIMENTEL (1975) e PIMENTEL et alii (1980). Esses frascos foram mantidos à temperatura ambiente.

3.2.4. Manutenção em óleo mineral

Os isolados foram repicados para meio de BDA contido em tubos de ensaio de 13 x 125 mm. Quando as culturas estavam com cerca de 7 dias de idade, foram imersas em óleo mineral, o qual foi previamente autoclavado e colocado a 160°C em estufa elétrica durante 2 horas. O nível de óleo no tubo foi de 1 cm acima do nível máximo do meio de cultura, e os tubos, tamponados com algodão, foram mantidos à temperatura ambiente. O procedimento foi o indicado por BUELL e WESTON (1947) e TUIITE (1969).

3.2.5. Manutenção em solo esterilizado

Foram utilizados dois tipos de solo, sendo um arenoso e outro com alto teor de matéria orgânica - capacidade de campo 38% e 92% respectivamente. O solo foi preparado conforme segue, de acordo com TUIITE (1969). Inicialmente, para determinação das respectivas capacidades de campo, os dois solos foram secos em estufa elétrica a 70°C, durante aproximadamente 3 horas, até peso constante; a seguir foram colocados em funis, contendo papel de filtro já umedecido, onde receberam

água até atingir o ponto de saturação ou capacidade de campo. Após essa determinação, porções de 5 g de solo seco até peso constante foram colocadas em tubos de ensaio e receberam quantidade de água equivalente a 25% de sua capacidade de campo, isto é, 0,5 ml de água para o solo arenoso e 1,2 ml para o solo orgânico, e a seguir autoclavados. A inoculação do solo foi feita colocando-se em cada tubo uma suspensão concentrada de esporos, na quantidade equivalente a 25% da capacidade de campo do solo. Os tubos, tamponados com algodão, foram mantidos à temperatura ambiente.

3.2.6. Liofilização

Foram liofilizadas 6 ampolas de cada isolado, mediante o seguinte procedimento: os isolados foram repicados para meio de BDA contido em placas de Petri, e quando as colônias tinham cerca de 20 dias de idade, foram preparadas suspensões de esporos em solução de sacarose a 7% e solução de peptona a 7%, na proporção de 4:1. A seguir, alíquotas 0,3 de ml de suspensão foram distribuídas em ampolas de vidro com capacidade para 0,5 ml, e submetidas a vácuo (pressão final 10^{-3} Torr.) durante 6 horas, em liofilizador Edwards, Modelo GS 400 L, e seladas sob vácuo ao final do processo.

Após a liofilização, uma ampola de cada um dos 6 isolados foi aberta, e feito o plaqueamento do material liofilizado em BDA para verificação da viabilidade dos esporos. As ampolas restantes de cada isolado foram estocados à temperatura ambiente.

3.2.7. Verificação da viabilidade e patogenicidade dos isolados

Após um período de 12 meses, os 6 isolados do gênero *Myrothecium* que vinham sendo mantidos através de repiçagens sucessivas em BDA, água destilada esterilizada, óleo mineral, solo esterilizado e liofilização foram transferidos diretamente para meio de BDA contido em placas de Petri, enquanto que o material vegetal herborizado foi primeiramente colocado sobre papel de filtro umedecido contido em placas de Petri, e após 7 dias feita a transferência das frutificações do fungo observadas sobre esse material para meio de BDA.

As placas foram mantidas durante 15 dias à temperatura de 27°C, sob alternância de 12 horas de luz fluorescente e 12 horas de escuro. Após esse período foram feitas observações quanto ao desenvolvimento miceliano e esporulação das colônias, e, quando possível, preparadas suspensões de esporos para inoculação por injeção nas hastes de plantas de arroz. Para estas inoculações foram empregadas plantas do cultivar IAC-25, desenvolvidas em vasos contendo solo esterilizado, adubado com 50 g da mistura 20-60-30 por metro quadrado de superfície.

3.3. Determinação do ótimo de temperatura

Para determinar o ótimo de temperatura para o desenvolvimento miceliano dos seis isolados do fungo, discos de cultura de 7mm de diâmetro, retirados dos bordos de colônias com 7 dias de idade desenvolvidas em meio de BDA foram transferidos para o centro de placa de Petri de 70mm de diâmetro, contendo 20 ml de meio BDA. Foram preparadas 30 placas de cada isolado, que foram incubadas às temperaturas de 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 33°C, em ausência de luz, sendo

3 repetições por temperatura. Após um período de 9 dias foram medidos o maior e o menor diâmetro das colônias, para cálculo do diâmetro médio relativo ao crescimento miceliano radial, e elaborado um gráfico relacionando o crescimento médio às diferentes temperaturas para cada isolado.

3.4. Comparação dos isolados quanto a dimensões dos esporos e capacidade de esporulação.

A partir de culturas com 15 dias de idade, desenvolvidas em meio de arroz em casca, descrito detalhadamente no item 3.5.1. deste trabalho, foram preparadas suspensões de esporos dos diversos isolados para a medição dos esporos. Foram medidos 50 esporos de cada isolado, para cálculo do comprimento e largura médios.

Para comparação da capacidade de esporulação dos seis isolados, discos de cultura de 7 mm de diâmetro, retirados dos bordos de colônias com 7 dias de idade desenvolvidas em meio BDA, foram transferidos para o centro de placas de Petri de 90 mm de diâmetro, contendo 25 ml de meio BDA. As placas, 3 repetições por isolado, foram incubadas à temperatura de 27°C, sob alternância de 12 h de luz fluorescente e 12 h de escuro, considerando-se que YUSEF e ALLAM (1967) demonstraram a influência da luz na esporulação de *M. verrucaria*. Após 13 dias foi feita a avaliação da esporulação, utilizando-se a câmara de Neubauer para contagem ao microscópio dos esporos existentes em suspensão preparada da seguinte forma: 10ml de água destilada e 0,1 ml de uma solução de Tween 20 a 2% foram colocados em cada placa, utilizando-se para o despreendimento dos esporos uma alça de Drigalski.

3.5. Testes de Patogenicidade

3.5.1. Determinação do meio de cultura

Visando determinar qual o melhor substrato para o cultivo e esporulação dos isolados, foram preparados e comparados meios de cultura constituídos por grãos de arroz em casca, palha de arroz, folhas verdes de arroz e BDA. O preparo desses meios diferiu de acordo com o material empregado.

Em Erlenmeyers de 250 ml de capacidade foram colocados: para o preparo do meio constituído por grãos de arroz - 100 ml de grãos de arroz em casca e 50 ml de água; para o preparo do meio constituído por palha de arroz - 100 ml de palha de arroz e 10 ml de água; para o preparo do meio constituído por folhas verdes de arroz - 200 ml de folhas cortadas em pedaços de 2 cm de comprimento e 5 ml de água. Os Erlenmeyers contendo os meios acima foram autoclavados a 120°C durante 30 minutos. O meio BDA, previamente autoclavado sob as mesmas condições, foi distribuído em placas de Petri esterilizadas.

Os Erlenmeyers e as placas foram então inoculados com os diversos isolados, mediante discos de culturas com 7 dias de idade desenvolvidas em meio BDA, e incubados à temperatura de 27° C sob alternância de 12 h de luz fluorescente e 12 h de escuro. Após 8 dias foi feita uma avaliação ao estereomicroscópio da quantidade de esporodóquios desenvolvidos nos quatro meios estudados.

3.5.2. Preparo de inóculo

Pedaços de cultura de 1 cm² foram retirados dos bordos de colônias com 7 dias de idade desenvolvidos em meio

BDA e transferidos para Erlenmeyers de 250 ml contendo meio de cultura constituído por grãos de arroz em casca, que se mostrou mais favorável à esporulação dos isolados. A seguir foram incubados à temperatura de 27°C sob alternância de 12h de luz fluorescente e 12h de escuro durante 15 dias. Após esse período foram preparadas suspensões de esporos em destilada, padronizadas na concentração de 10⁶ esporos por ml.

3.5.3. Métodos de Inoculação

3.5.3.1. Inoculação de sementes

Para verificação do efeito dos isolados na germinação e no desenvolvimento das plântulas, 2 lotes de sementes de arroz do cultivar IAC-25 foram imersos antes da semeadura durante 2 e 24 horas, em suspensões de esporos dos diversos isolados na concentração de 60 esporos por campo de microscópio (400 x). As sementes testemunha foram imersas durante os mesmos períodos em água esterilizada. O plantio foi feito em vasos de 10cm de diâmetro e 12cm de altura, contendo terra esterilizada, adubada na proporção de 50 g da mistura 20-60-30 por metro quadrado de superfície. Foram semeadas 10 sementes por vaso empregando-se 3 repetições por tratamento. Os vasos foram mantidos à temperatura ambiente, em condições de laboratório, e regados diariamente.

3.5.3.2. Inoculação do solo

Foi utilizado o método de inoculação recomendado por NGUYEN et alii (1973) que consiste na mistura de solo esterilizado com o inóculo na proporção de 5:1 em volume. Co-

mo inóculo foi utilizado meio de arroz em casca contido em Erlenmeyers, inoculados com cada um dos 6 isolados. Como testemunha foi utilizado solo misturado na mesma proporção com grãos de arroz em casca autoclavados.

No solo assim preparado, distribuído em vasos de 10 cm de diâmetro e 12 cm de altura, foi realizado o plantio de 10 sementes por vaso do cultivar IAC-25, com 3 repetições por isolado.

3.5.3.3. Inoculação de folhas

Para a inoculação das folhas, caixas plásticas de 80 x 40 x 20 cm contendo solo esterilizado, adubado como descrito no ítem 3.5.3.1., foram semeadas com os cultivares Batatais, IAC 25, IAC 47, IAC 164, IAC 165, IAC 899, IAC 1278, IAC 4440 e IR 841. O espaçamento empregado foi de 8 cm entre linhas, sendo 1 linha de 25 sementes por cultivar.

As plântulas foram inoculadas aos 15 dias de idade, quando tinham 4 a 5 folhas, estágio de crescimento das plantas utilizadas por DE CAROLIS et alii (1972) e ALMEIDA et alii (1980).

O método de inoculação empregado foi o de pulverização das plantas com suspensões de esporos dos diversos isolados, na concentração de 10^6 esporos/ml, às quais foi adicionado 0,02% de Tween 20. Após a inoculação as plântulas foram mantidas por 48 h em câmara úmida, e a seguir em casa de vegetação. As leituras foram feitas diariamente para verificação da presença de lesões foliares, que foram notadas 4 dias após a inoculação. Foram avaliados o tipo de lesão - R, MR, M, MS e S, isto é, resistente, moderadamente resistente, moderada, moderadamente suscetível e suscetível, e a porcentagem de área foliar lesionada de 5 plantas de cada cultivar coletadas ao acaso. Para avaliação das reações foliares foi elaborada a escala, constante da Tabela 1.

TABELA 1. Escala utilizada para avaliação das reações apresentadas pelas plantas, após inoculação foliar.

TIPO DE REAÇÃO	LESÃO		ÁREA FOLIAR LESIONADA
	Comprimento	Coloração	
R	até 1 mm	marrom	até 1%
MR	até 3 mm	marrom	2 - 5%
M	até 5 mm	marrom	6 - 20%
MS	até 5 mm	marrom com halo avermelhado de até 2 mm.	21 - 50%
S	até 5 mm	marrom com halo avermelhado maior que 2 mm.	51 - 100%

3.5.3.4. Inoculação das hastes

Para essa inoculação, a semeadura foi feita conforme descrito no ítem 3.5.3.3., utilizando-se os mesmos cultivares, adubação, espaçamento e densidade de plantio. As plantas foram inoculadas aos 47 dias de idade com suspensões de esporos dos diversos isolados, nas concentrações de 10^6 esporos/ml. O método de inoculação, empregado anteriormente por AMARAL *et alii* (1980) e MALAVOLTA *et alii* (1984) consistiu em injetar com uma seringa, a 1 cm acima do nível do solo, aproximadamente 1 ml de suspensão de esporos na parte interna das hastes das plantas, até o momento em que 1 gotícula dessa suspensão fosse notada na parte superior da haste, junto a inserção das folhas. As plantas testemunha receberam, através do mesmo método, água destilada estéril. As plantas, que vinham sendo mantidas em casa de vegetação, continuaram após a inoculação sob as mesmas condições.

As reações de 5 plantas de cada cultivar, coletadas ao acaso, foram avaliadas empregando-se a escala constante da Tabela 2, elaborada com base em trabalho de ISSA et alii (1973).

TABELA 2. Escala utilizada para avaliação das reações apresentadas pelas plantas, após inoculação das hastes.

TIPO DE REAÇÃO	SINTOMAS
R	lesão < 0,5 cm no ponto de inoculação.
MR	lesão de 0,5 a 2,0 cm no ponto de inoculação.
M	até 20% da haste escurecida, e folha primordial morta.
MS	de 21 a 50% da haste escurecida, e folha primordial morta.
S	acima de 51% da haste escurecida, e folha primordial morta.

3.5.3.5. Inoculação das bainhas das folhas bandeira

Esse tipo de inoculação foi realizado nos cultivares Batatais, IAC 25, IAC 164 e IAC 165, semeados nas mesmas condições de adubação, espaçamento e densidade, descritas no item 3.5.3.3. As plantas, que se encontravam na fase de emborrachamento, próximo à emissão da panícula, foram inoculadas com suspensões de esporos dos diversos isolados, com concentrações de 10^6 esporos/ml, injetando-se com uma seringa 1 ml de suspensão de esporos dentro da bainha da folha bandeira, método utilizado por DE CAROLIS et alii (1972). As plantas testemunha receberam, através do mesmo método, 1 ml de

água destilada. As plantas, que vinham sendo mantidas em casa de vegetação, continuaram, após a inoculação, sob as mesmas condições.

A avaliação das reações apresentadas pelas plantas foi feita 13 dias após a inoculação, examinando-se 10 plantas de cada cultivar, coletadas ao acaso. Para tal avaliação foram elaboradas duas escalas: na primeira, constante da Tabela 3, foi considerada a porcentagem de área da haste com escurecimento, e na segunda - Tabela 4, a sanidade das panículas, grãos e folhas bandeira.

TABELA 3 - Escala utilizada para avaliação das reações apresentadas pelas hastes das plantas, após inoculação das bainhas das folhas bandeira.

TIPO DE REAÇÃO	SINTOMAS
R	lesão < 1,0 cm no ponto de inoculação.
MR	escurecimento tênue abrangendo até 20% da haste.
M	escurecimento mais forte, abrangendo 21 de a 50% da haste.
MS	escurecimento abrangendo de 51 a 70% da haste.
S	escurecimento abrangendo acima de 70% da haste.

TABELA 4. Escala utilizada para avaliação das reações apresentadas pelas panículas, grãos e folhas bandeira, após inoculação das bainhas das folhas bandeira.

TIPO DE REAÇÃO	SINTOMAS
R	até 2% dos grãos manchados e folha bandeira verde.
MR	de 3 a 10% dos grãos manchados e folha bandeira verde.
M	de 11 a 50% dos grãos manchados e folha bandeira verde.
MS	acima de 50% dos grãos manchados e folha bandeira verde.
S	100% dos grãos manchados e folha bandeira seca.

4. RESULTADOS

4.1. Obtenção e identificação dos isolados

A partir de plantas de arroz que apresentavam escurecimento das hastes, foram obtidos 5 isolados de fungos do gênero *Myrothecium*, registrados na Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico de São Paulo sob os números 104H, 193H, 228H, 233H e 234H.

A identificação das espécies foi feita com base em chave proposta por ELLIS (1971), observando-se as características do esporodóquio e o tamanho e forma dos esporos, o que evidenciou a ocorrência de 3 espécies do gênero *Myrothecium* como parasitas do arroz: *M. verrucaria* (Alb. & Schw.) Ditm. ex Fr. - isolados 193H e 233H; *M. indicum* Rama Rao - isolado 228H e *Myrothecium* sp. - isolados 104H e 234H.

Na Tabela 5 estão relacionados todos os isolados que foram utilizados no presente trabalho, a espécie a que pertencem, o hospedeiro e a procedência, incluindo o isolado de *M. horridum* Tode ex Fr., registrado sob número 216H, obtido por CARDOSO e PITTA (1982) de lesões em folhas de *Aphelandra squarrosa*, e que vinha sendo mantido em meio de batata-dextrose-agar (BDA) na Seção de Micologia Fitopatológica.

As diferenças morfológicas apresentadas pelos

esporos dos diversos isolados são apresentadas na Figura 1.

TABELA 5. Isolados do gênero *Myrothecium* estudados no presente trabalho.

Nº DO ISOLADO	ESPÉCIE	HOSPEDEIRO	PROCEDÊNCIA
104 H	<i>Myrothecium</i> sp.	<i>Oryza sativa</i> (arroz)	São Carlos (SP)
193 H	<i>M. verrucaria</i>	<i>Oryza sativa</i> (arroz)	Caconde (SP)
216 H	<i>M. rotidum</i>	<i>Aphelandra squarrosa</i>	Jaguariuna (SP)
228 H	<i>M. indicum</i>	<i>Oryza sativa</i> (arroz)	Rondonópolis (MT)
233 H	<i>M. verrucaria</i>	<i>Oryza sativa</i> (arroz)	Campinas (SP)
234 H	<i>Myrothecium</i> sp.	<i>Oryza sativa</i> (arroz)	Itiquira (MS)

Com base nas observações realizadas no presente trabalho, são descritas as características dessas espécies quando cultivadas em meio constituído por grãos de arroz em casca:

M. verrucaria - Esporodóquios negros, irregulares, com até 5 mm de comprimento, rodeados por franja de hifas brancas, e presença de hifas brancas curtas e contorcidas emergindo da massa viscosa de esporos. Ausência de setas. Conídios ovóides com protuberância truncada na base, medindo 7-10 x 2-3 μm (média de 8,3 x 2,6 μm).

M. rotidum - Esporodóquios negros, circulares, até 2mm de diâmetro, rodeados por franja de hifas brancas. Ausência de setas. Conídios cilíndricos, com extremidades arredondadas, medindo 6-7 x 1,5-2 μm (média de 6,3 x 1,6 μm).

M. indicum - Esporodóquios negros, circulares, até 2mm de diâmetro, rodeados por setas rígidas, hialinas, septadas, medindo 220-300 x 3-4 μm (média de 256,2 x 3,7 μm). Conídios cilíndricos, com extremidades arredondadas, medindo 6-7 x 1,2-2 μm (média de 6,7 x 1,5 μm).

Myrothecium sp - Esporodóquios negros, circula-



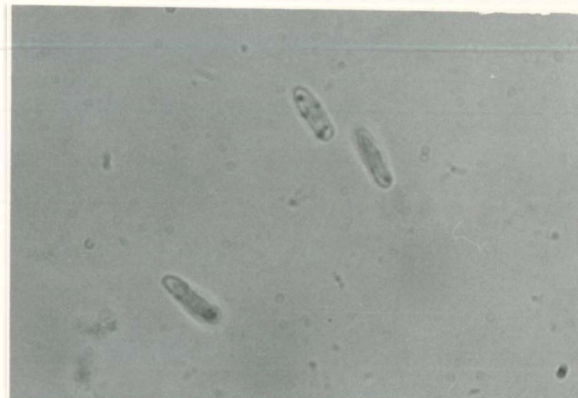
Myrothecium verrucaria- 193H



Myrothecium verrucaria- 233H



Myrothecium roridum - 216H



Myrothecium indicum - 228H



Myrothecium sp. - 104H



Myrothecium sp. - 234H

FIGURA 1. Diferenças morfológicas apresentadas pelos esporos dos seis isolados do gênero *Myrothecium* utilizados neste trabalho (aumento de 1200 x).

res, até 2mm de diâmetro, rodeados por franja de hifas brancas. Ausência de setas. Conídios cilíndricos, levemente fusiformes, com uma protuberância truncada na base, medindo 9-13 x 2,5-3,5 μm (média de 11,0 x 3,0 μm).

4.2. Verificação da viabilidade e patogenicidade dos isolados.

O resultado obtido quanto a preservação das características culturais - crescimento miceliano radial e esporulação - e da patogenicidade dos diversos isolados após 12 meses de manutenção pelos diversos métodos, foi variável de acordo com o isolado ou métodos de preservação empregados, conforme consta na Tabela 6. Os isolados 104H e 234H não foram inoculados em plantas de arroz após 12 meses de manutenção pelos diversos métodos de preservação, uma vez que originalmente haviam apresentado pouca patogenicidade.

O isolado 216H, quando conservado através do método de material vegetal herborizado, e o isolado 228H, quando conservado pelos métodos de solo estéril e de imersão em óleo mineral, não apresentaram esporulação após o período de 12 meses, motivo pelo qual também não foram inoculados em plantas de arroz.

4.3. Determinação do ótimo de temperatura

Os dados relativos aos diâmetros médios de cada isolado a diferentes temperaturas são apresentados na Tabela 7 e na Figura 2.

TABELA 6. Crescimento miceliano, esporulação e patogenicidade dos isolados após 12 meses de manutenção sob diversos métodos de preservação de fungos.

MÉTODO DE PRESERVAÇÃO	ISOLADOS	VIABILIDADE		PATOGENICIDADE
		CRESCIMENTO	ESPORULAÇÃO	
Repicagens sucessivas em BDA.	104 H	(+)	(+-)	XX
	193 H	(+)	(+)	(-)
	216 H	(+)	(+-)	(+-)
	228 H	(+)	(+-)	(-)
	233 H	(+)	(+)	(+-)
	234 H	(+)	(-)	XX
Material herborizado	193 H	(+)	(+)	(+)
	216 H	(-)	(-)	XX
	228 H	(+)	(+-)	(+-)
	233 H	(+)	(+)	(+)
Água destilada estéril	104 H	(+)	(-)	XX
	193 H	(+)	(+)	(+)
	216 H	(+)	(+)	(+)
	228 H	(+)	(+-)	(+)
	233 H	(+)	(+)	(+)
	234 H	(+)	(-)	XX
Óleo mineral	104 H	(+)	(-)	XX
	193 H	(+)	(+-)	(+)
	216 H	(+)	(+)	(+)
	228 H	(+)	(-)	XX
	233 H	(+)	(+-)	(-)
	234 H	(+)	(-)	XX
Solo	104 H	(+)	(-)	XX
	193 H	(+)	(+)	(+)
	216 H	(+)	(+)	(+)
	228 H	(+)	(-)	XX
	233 H	(+)	(+)	(+)
	234 H	(+)	(+)	XX
Liofilização	104 H	(+)	(-)	XX
	193 H	(+)	(+)	(+)
	216 H	(+)	(+)	(+)
	228 H	(+)	(+-)	(+)
	233 H	(+)	(+)	(+)
	234 H	(+)	(-)	XX

(+) crescimento, esporulação ou patogenicidade igual à apresentada pela cultura original.

(+-) crescimento, esporulação ou patogenicidade menor que a apresentada pela cultura original.

(-) crescimento, esporulação ou patogenicidade nula.

XX teste não realizado.

TABELA 7. Crescimento diametral dos diversos isolados apos 9 dias de incubação a diferentes temperaturas.

TEMPERA- TURA (°C)	CRESCIMENTO DIAMETRAL DOS ISOLADOS EM mm*					
	104 H	193 H	216 H	228 H	233 H	234 H
9	8,8 h	11,5 h	10,3 f	8,8 h	12,3 g	9,2 g
10	11,3 h	13,3 h	10,7 f	9,3 h	13,0 g	10,0 g
12	14,7 g	13,8 h	11,8 f	12,8 g	13,8 g	15,2 f
15	27,2 f	19,8 g	19,3 e	17,0 f	22,0 f	25,8 e
18	39,8 e	22,7 f	24,3 d	23,0 e	27,2 e	39,0 d
21	49,8 d	29,0 e	33,2 c	26,8 d	34,7 d	49,7 c
24	58,7 b	33,8 d	40,0 b	32,0 c	42,3 c	57,8 b
27	62,2 a	40,5 c	43,0 a	34,8 b	49,7 b	62,0 a
30	54,3 c	45,0 b	42,7 a	39,0 a	53,8 a	59,3 ab
33	48,7 d	48,0 a	38,5 b	36,3 b	52,7 a	49,0 c

* Médias de 3 repetições

Tratamentos seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

A análise de variância dos dados evidenciou significância para o crescimento à diferentes temperaturas dos seis isolados estudados. A aplicação do teste de Tukey permitiu observar que o ótimo de temperatura para o crescimento diametral das culturas variou de um isolado para outro, sendo que o melhor desenvolvimento foi observado a 27°C para o isolado 104H; a 27 e 30°C para os isolados 216H e 234H; a 30°C para o isolado 228H; a 30 e 33°C para o isolado 233H; e a 33°C para o isolado 193 H.

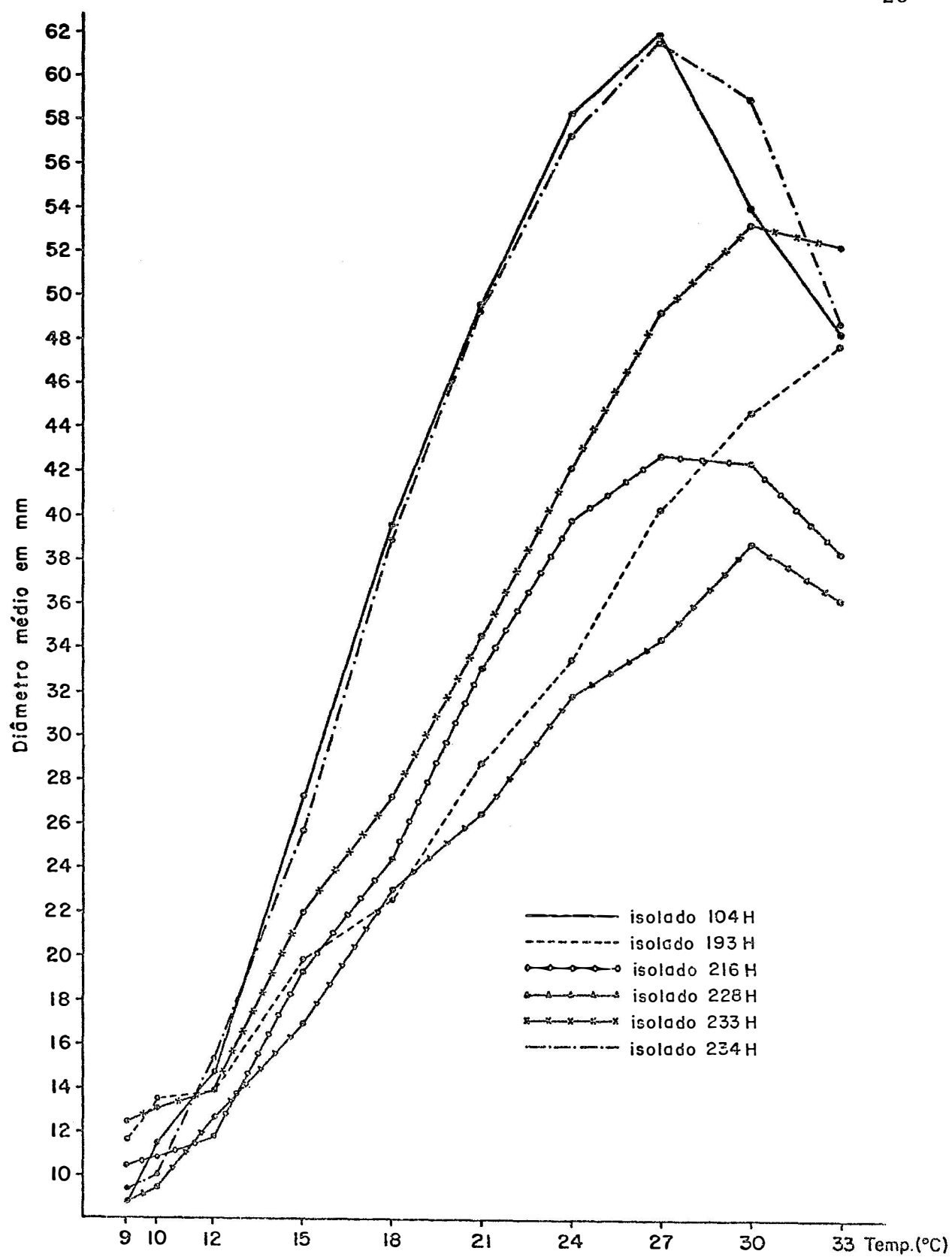


FIGURA 2. Crescimento miceliano - diâmetro médio em mm dos 6 isolados do gênero *Myrothecium*, à diferentes temperaturas (médias de 3 repetições).

4.4. Comparação dos isolados quanto a dimensões dos esporos e capacidade de esporulação

Os dados médios de 3 repetições referentes à capacidade de esporulação, e a média das dimensões de 50 esporos, para cada isolado, constam da Tabela 8, onde podem ser observadas as variações apresentadas pelos isolados quanto aos aspectos observados.

TABELA 8. Média da esporulação e dimensões dos esporos relativas aos 6 isolados do gênero *Myrothecium*, cultivados em meio BDA à temperatura de 27°C, sob alternância de 12 horas de luz fluorescente e 12 horas de escuro.

ISOLADOS	ESPORULAÇÃO (esporos/ml)	DIMENSÕES DOS ESPOROS (μm)	
		Comprimento	largura
104 H	$2,8 \times 10^6$	10,25	2,98
193 H	$1,5 \times 10^7$	8,59	2,67
216 H	$9,4 \times 10^6$	6,33	1,63
228 H	$1,6 \times 10^6$	6,73	1,52
233 H	$2,3 \times 10^7$	7,86	2,51
234 H	$8,9 \times 10^5$	11,80	3,10

4.5. Testes de patogenicidade

4.5.1. Determinação do meio de cultura

Intensa esporulação dos isolados de *Myrothecium* foi observada no meio constituído por grãos de arroz em casca, esporulação essa superior à constatada nos meios constituídos por folhas de arroz e BDA. O meio constituído por palha de arroz foi desfavorável tanto a esporulação como ao desenvolvimento miceliano do fungo.

4.5.2. Métodos de inoculação

4.5.2.1. Inoculação de sementes

A germinação apresentada pelo cultivar IAC 25 após inoculação das sementes, através de imersão por 2 e 24 horas em suspensão de esporos dos seis isolados do gênero *Myrothecium*, é apresentada na Tabela 9.

TABELA 9. Germinação apresentada pelo cultivar IAC 25, após inoculação de sementes através de imersão por 2 e 24 horas em suspensão de esporos dos seis isolados do gênero *Myrothecium*.

TEMPO DE IMERSÃO	PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO APRESENTADA PELOS ISOLADOS*						TESTEMUNHA
	104H	193H	216H	228H	233H	234H	
2 h	100	90	100	86,6	100	100	100
24 h	100	80	93,3	90	100	100	93,3

* Média de 3 repetições.

As diferenças observadas na germinação das sementes foram muito pequenas e não fornecem dados conclusivos quanto à capacidade dos isolados de inibirem o processo germinativo.

4.5.2.2. Inoculação do solo

Não foram observadas diferenças significativas em relação à testemunha, quanto a porcentagem de germinação ocorrida em solo inoculado com os seis isolados em estudo, conforme Tabela 10. Também não foram observadas diferenças quanto ao desenvolvimento das plântulas, considerando-se os aspectos de vigor e sanidade.

TABELA 10. - Germinação apresentada pelo cultivar IAC 25 quando semeado em solo inoculado com seis isolados do gênero *Myrothecium*.

	ISOLADOS						TESTE- MUNHA
	104H	193H	216H	228H	233H	234H	
Porcentagem de Germinação*	96,7	100	100	96,7	96,7	96,7	96,7

* Média de 3 repetições.

4.5.2.3. Inoculação de folhas

A avaliação das plantas inoculadas por pulverização, com suspensões de esporos dos diversos isolados, apresentada na Tabela 11, permite observar diferenças na resistência dos cultivares frente a um mesmo isolado, bem como dife-

TABELA 11. Reações de diversos cultivares de arroz às inoculações efetuadas nas folhas das plantas, com diversos isolados do gênero *Myrothecium*, em condições de casa de vegetação.

CULTIVAR	TIPO DE REAÇÃO AOS ISOLADOS						TESTE- MUNHA.
	104H	193H	216H	228H	233H	234H	
Batatais	R	R	MR	R	R	R	A
IAC 25	R	R	M	MR	R	R	A
IAC 47	R	R	M	R	MR	R	A
IAC 164	R	R	MR	R	R	R	A
IAC 165	R	R	MR	R	R	R	A
IAC 899	R	M*	M	MR	MR	R	A
IAC 1278	R	MR	MS*	MS*	MR	R	A
IAC 4440	R	MS*	MS*	MS*	MR	R	A
IR 841	R	S*	S**	S**	MS*	R	A

A - ausência de sintomas, R - resistente, MR - moderadamente resistente, M - moderada, MS - moderadamente suscetível, S - suscetível.

* - até 10% das folhas secas por coalescência de lesões.

** - 10 a 20% das folhas secas por coalescência de lesões.

renças na patogenicidade dos isolados. O cultivar IR 841 foi o mais suscetível, tendo sido o único a apresentar lesões nas folhas do tipo S- suscetível quando inoculado com os isolados 228H, 216H, 193H, e do tipo MS- moderadamente suscetível quando inoculado com o isolado 233H. Os isolados 104H e 234H foram pouco patogênicos, uma vez que induziram apenas o aparecimento de lesões nas folhas do tipo R- resistente, inclusive no cultivar IR 841, o mais suscetível aos outros isolados.

4.5.2.4. Inoculação das hastes

As plantas inoculadas no estágio de perfilhamento com os diversos isolados mostraram reações de escurecimento das hastes, variando do tipo R- resistente a S- suscetível, evidenciando maior patogenicidade dos isolados 193H, 216H, 228H e 233H, e menor dos isolados 104H e 234H. Frente a um mesmo isolado, observa-se pequena variação nas reações dos cultivares, conforme a Tabela 12.

4.5.2.5. Inoculação das bainhas das folhas bandeira

As avaliações das plantas inoculadas na época do emborrachamento, próximo à emissão da panícula, são apresentadas na Tabela 13, onde podem ser observadas diferenças quanto a patogenicidade dos isolados. As reações apresentadas pelos cultivares não variaram, frente a um mesmo isolado.

Com exceção dos isolados 104H e 234H, que foram pouco patogênicos, os demais isolados - 193H, 216H, 228H e 233H - induziram, tanto nas hastes como nas panículas das plantas inoculadas o aparecimento de reações do tipo M- moderada, MS- moderadamente suscetível ou S- suscetível.

TABELA 12. Reações de diversos cultivares de arroz às inoculações efetuadas nas hastes das plantas, com diversos isolados do gênero *Myrothecium*, em condições de casa de vegetação.

CULTIVAR	TIPOS DE REAÇÃO AOS ISOLADOS							TESTE- MUNHA.
	104H	193H	216H	228H	233H	234H		
Batatais	MR	M	S (MS)	MS	MS	R	A	
IAC 25	MR	MS (M)	S	S (MS)	S	MR	A	
IAC 47	MR	S (MS)	S (MS)	S	S	MR	A	
IAC 164	MR	MS	S	S (MS)	S	MR	A	
IAC 165	MR	S	S	S	S	MR	A	
IAC 899	R	MS (M)	S (MS)	M (MS)	MS	R	A	
IAC 1278	R	S (MS)	S (MS)	MS (M)	S (MS)	R	A	
IAC 4440	R	MS (M)	S	MS (M)	MS (S)	R	A	
IR 841	R	S (MS)	S (MS)	MS	MS (S)	R	A	

A - ausência de sintomas, R- resistente, MR - moderadamente resistente, M- moderada, MS - moderadamente suscetível, S - suscetível.

OBS: Em alguns cultivares foram observados dois tipos de reação, sendo que fora do parênteses está a que ocorreu predominantemente.

TABELA 13. Reações de diversos cultivares de arroz as inoculações efetuadas nas bainhas das folhas bandeira, com diversos isolados do gênero *Myrothecium* em condições de casa de vegetação.

CULTIVAR	TIPOS DE REAÇÃO AOS ISOLADOS													
	104 H		193 H		216 H		228 H		233 H		234 H		TESTEMUNHA	
	Haste	Panícula	Haste	Panícula	Haste	Panícula	Haste	Panícula	Haste	Panícula	Haste	Panícula	Haste	Panícula
Bataiais	R	R	M	S	MS	MS	M	M	MS	MS(S)	R	R	A	A
IAC 25	R	R	M	S	MS	S	M	MS	MS	MS(S)	R	R	A	A
IAC 164	R	R	M	S	MS	MS(S)	M	S*	MS	S(MS)	R	R	A	A
IAC 165	R	R	M	S	MS	S	M	MS	MS	MS(S)	R	R	A	A

A - ausência de sintomas, R - resistente, MR - moderadamente resistente, M - moderada, MS - moderadamente suscetível, S - suscetível.

* impediu a emissão da panícula.

OBS. Em alguns cultivares foram observados dois tipos de reação, sendo que fora do parênteses está a que ocorreu predominantemente.

As reações apresentadas pelos cultivares IAC 25 e IAC 165 quando inoculados por esse método com o fungo *M. verrucaria* - isolado 233H - são ilustradas na Figura 3.



FIGURA 3. Reações apresentadas pelos cultivares IAC 25 e IAC 165, inoculados com o fungo *Myrothecium verrucaria* - isolado 233H através do método de injeção com suspensão de esporos nas bainhas das folhas bandeira. Observa-se na parte superior das fotos as plantas testemunha, e na parte inferior, as plantas inoculadas.

5. DISCUSSÃO

5.1. Identificação das espécies do gênero *Myrothecium*

A identificação das espécies relativas aos isolados utilizados no presente trabalho foi baseada no tipo de frutificação e no tamanho e forma dos esporos, segundo chave dicotômica de ELLIS (1971).

Os isolados de *M. verrucaria* - 193H e 233H - apresentaram os esporos com dimensões semelhantes as descritas para esta espécie por ELLIS (1971), e os esporodóquios apresentaram hifas brancas, curtas e retorcidas emergindo da massa de esporos, conforme descrito por NGUYEN et alii (1973).

A obtenção desses dois isolados de *M. verrucaria* a partir de plantas de arroz que apresentaram escurecimento da haste, concorda com DE CAROLIS et alii (1972), que relataram a ocorrência dessa espécie em culturas de arroz em condições de campo, ocasionando lesões nos grãos e bainha da folha bandeira. MALAVOLTA et alii (1979) também já haviam se referido a essa espécie como parasita do arroz, enquanto que SINGH e AUJLA (1965), NGUYEN et alii (1973) e AMARAL et alii (1980) provaram sua patogenicidade em plantas de arroz, em condições de casa de vegetação.

As dimensões dos esporos de *M. roxidum* - isola-

do 216 H estão de acordo com as descritas por ELLIS (1971). Concordam ainda com as dimensões observadas em meio de BDA por CARDOSO e PITTA (1982), evidenciando que o meio de cultura empregado no presente trabalho não afetou o tamanho dos esporos. Esse isolado de *M. noridum*, obtido por CARDOSO e PITTA (1982) de lesões em folhas de *Aphelandra squarrosa*, foi incluído neste trabalho porque, embora essa espécie nunca tenha sido constatada em condições de campo como patogênica ao arroz, ela apresenta pouca especificidade, e também porque NGUYEN et alii (1973), trabalhando com isolados dessa espécie obtidos de *Dahlia variabilis* e *Tropaeolum majus*, e ALMEIDA et alii (1980) trabalhando com 1 isolado obtido de soja, induziram em condições de casa de vegetação, infecção em plantas de arroz.

As dimensões e as características das setas apresentadas pela espécie *M. indicum* concordaram com o descrito por ELLIS (1971) assim como a largura dos esporos. Entretanto, os esporos apresentaram comprimento de 6-7 μm , enquanto que esse autor os descreveu como medindo 8-11 μm de comprimento.

A espécie *M. indicum* foi anteriormente relatada por PAVGI et alii (1966) como patogênica ao arroz, ocasionando manchas em folhas e glumas, e ocasionando danos à formação dos grãos. Entretanto a espécie descrita por PAVGI et alii (1966) apresenta setas de coloração marrom escuro, medindo 110-175 x 5,6-6,5 μm , enquanto que ELLIS (1971) descreveu as setas de *M. indicum* como rígidas, hialinas, septadas, medindo mais de 250 μm de comprimento por 2-4 μm de largura. As descrições feitas por esses autores discordam também quanto as medidas dos esporos, o que parece indicar que foram descritas 2 espécies distintas como *M. indicum*. No presente trabalho, as características do isolado 228H concordam com as relatadas por ELLIS (1971).

Os isolados de *Myrothecium* sp. - 104H e 234H apresentaram dimensões dos esporos que não se enquadraram em qualquer das espécies descritas por ELLIS (1971), motivo pelo

qual essa espécie não pode ser identificada. Entretanto, as características comuns aos dois isolados tais como dimensões dos esporos, ótimo de temperatura para o crescimento micelial, tipo de crescimento vigoroso, resposta aos métodos de preservação e ausência de patogenicidade são indicação que esses dois isolados pertencem a uma mesma espécie.

5.2. Verificação da viabilidade e patogenicidade dos isolados após 1 ano de manutenção sob vários métodos.

Os métodos de preservação em água destilada esterilizada e liofilização foram os mais eficientes para a manutenção das características culturais e patogenicidade dos isolados, excetuando-se os isolados de *Myrothecium* sp. - 104H e 234H, que não apresentaram esporulação após 1 ano de conservação por esses 2 métodos. Conforme observado na Tabela 6, o isolado de *M. indicum* - 228H, embora tenha apresentado, após 1 ano de conservação por esses 2 métodos, esporulação menor que a apresentada originalmente, teve mantida a sua patogenicidade.

A eficiência do método de conservação em água destilada esterilizada confirma o observado por FIGUEIREDO (1967), FIGUEIREDO e PIMENTEL (1975) e PIMENTEL et alii (1980). A liofilização dos isolados de *M. verrucaria* - 193H e 233H e *M. noridum* - 216H apresentou bons resultados concordando com os obtidos por HESSELTINE et alii (1960), que, trabalhando com essas espécies, constataram excelente viabilidade mesmo após 17 e 10 anos de estocagem, respectivamente.

Pelo método de conservação em solo esterilizado, somente 4 isolados apresentaram esporulação após 1 ano - 193H, 216H, 228H e 234H, dos quais somente os 3 primeiros apresentaram patogenicidade. Entretanto, tal fato não pode ser considerado como perda de patogenicidade do isolado 234H, uma vez

que a cultura original também não havia sido patogênica. A manutenção das características desses isolados pelo método de conservação em solo esterilizado está de acordo com o observado por BAKERSPIGEL (1953).

O método de conservação por repicagens sucessivas em BDA levou à perda total de patogenicidade dos isolados 193H e 228H, que não induziram o aparecimento de quaisquer sintomas nas plantas inoculadas, e a diminuição da patogenicidade dos isolados 216H e 233H, que induziram nas plantas inoculadas sintomas do tipo R - resistente ou MR- moderadamente resistente, enquanto as culturas originais induziram sintomas do tipo S - suscetível. O isolado 234 H perdeu a capacidade de esporulação quando conservado por esse método.

O método de imersão em óleo mineral não foi eficiente na conservação da patogenicidade do isolado 233H já que esse isolado, após 1 ano de conservação por esse método, não induziu quaisquer sintomas às plantas de arroz inoculadas. Com esse método, os isolados 193H e 216H tiveram todas as características mantidas, enquanto que os isolados 104H, 228H e 234H perderam a capacidade de esporulação. Com a aplicação do método de imersão em óleo mineral, BUELL e WESTON (1947) e STEBBINS e ROBBINS (1949) observaram que a viabilidade de espécies do gênero *Myrothecium* foi mantida por 14 e 24 meses respectivamente, concordando com os resultados obtidos neste trabalho, uma vez que os 6 isolados apresentaram crescimento após o período considerado. Entretanto, esses autores não fazem referência à esporulação ou patogenicidade das culturas, características que, no presente trabalho, só se mantiveram em dois isolados.

O método de manutenção em material vegetal herborizado foi adequado para os isolados de *M. verrucaria* - 193H e 233H, que tiveram a viabilidade e patogenicidade preservadas. O isolado de *M. indicum* - 228H apresentou perda parcial da capacidade de esporulação e diminuição da patogenicidade, enquanto que, por esse método, não foi possível manter a via-

bilidade do isolado de *M. noridum* - 216H.

5.3. Determinação do ótimo de temperatura

Na Figura 2 observa-se que os isolados de *Myrothecium* sp. - 104H e 234H - apresentaram crescimento semelhante às diferentes temperaturas, com os valores muito próximos, sendo o máximo de crescimento observado a 27 e a 27-30°C, respectivamente. Verifica-se também que esses dois isolados são os que apresentaram o maior desenvolvimento miceliano com diâmetros médios atingindo 62,2 e 62,0 mm respectivamente.

Os dois isolados identificados como *M. verrucaria* -193H e 233H - também apresentaram crescimento relativamente semelhante quando comparados aos outros isolados, tendo apresentado o máximo de desenvolvimento às temperaturas de 33 e 30-33°C, respectivamente. Esse resultado não concorda com o obtido por GROSU e HULEA (1973), que trabalhando com essa espécie encontraram que o máximo desenvolvimento estava compreendido entre 20 e 28°C. Pode-se observar que os isolados dessa espécie não apresentaram um crescimento tão vigoroso quanto a espécie *Myrothecium* sp. uma vez que, às temperaturas ótimas, apresentaram diâmetros médios de 48,0 e 53,8 mm.

O isolado de *M. indicum* - 228H apresentou, em relação aos demais isolados, o menor crescimento miceliano em quase todas as temperaturas. À temperatura de 30°C, quando ocorreu seu máximo desenvolvimento, atingiu o diâmetro médio de 39,0 mm.

O isolado de *M. noridum* - 216H, que apresentou crescimento relativamente semelhante ao apresentado por *M. indicum*, teve o ótimo de crescimento às temperaturas de 27-30°C, nas quais o diâmetro médio atingiu 43,0 mm.

5.4. Comparação dos isolados quanto a dimensões dos esporos e capacidade de esporulação.

Pelos dados da Tabela 8, observa-se que os isolados de *M. verrucaria* - 193H e 233H apresentaram valores próximos quanto as dimensões dos esporos - $8,59 \times 2,67$ e $7,86 \times 2,51 \mu\text{m}$, respectivamente, assim como os mais altos valores quanto a capacidade de esporulação - $1,5 \times 10^7$ e $2,3 \times 10^7$ esporos/ml, respectivamente. Essas características comuns aos dois isolados confirmam sua classificação dentro da mesma espécie.

Os isolados de *Myrothecium* sp. - 104H e 234H também apresentaram características comuns tais como dimensões dos esporos - $10,25 \times 2,98$ e $11,80 \times 3,10 \mu\text{m}$, respectivamente, e menores valores em relação aos demais isolados quanto à capacidade de esporulação - $2,8 \times 10^6$ e $8,9 \times 10^5$ esporos/ml, respectivamente.

O isolado de *M. roridum* - 216H e o de *M. indicum* - 228H apresentaram os menores valores quanto às dimensões dos esporos - $6,33 \times 1,63 \mu\text{m}$ e $6,73 \times 1,52 \mu\text{m}$, respectivamente, assim como valores intermediários, em relação aos demais isolados, quanto à capacidade de esporulação.

5.5. Testes de patogenicidade

5.5.1. Determinação do meio de cultura

Os resultados mostraram superioridade do meio constituído por grãos em casca em relação aos demais meios utilizados - BDA, folhas de arroz e palha de arroz no sentido de induzir bom desenvolvimento e esporulação. Isso se deve provavelmente ao meio de arroz em casca, que além de ser mais

rico em nutrientes quando comparado aos meios constituídos por folhas e palha de arroz, favorece uma maior aeração quando comparado ao meio de BDA, devido tanto a maior superfície de exposição desse meio como ao recipiente utilizado.

5.5.2. Métodos de inoculação

5.5.2.1. Inoculação de sementes

A ausência de efeitos dos diversos isolados na germinação das sementes discorda do observado por DE CAROLIS et alii (1972), que conseguiram a completa inibição do processo germinativo inoculando-se as sementes de arroz com suspensão de esporos de *M. verrucaria*. Discorda também dos resultados obtidos por GROSU e HULEA (1973), que verificaram a influência de metabolitos de *M. verrucaria* na germinação de sementes de trigo e ervilha, discordância essa que pode ser atribuída a diferenças na concentração de inóculo, temperatura ambiental ou variedades, uma vez que esses autores não mencionaram as concentrações por eles utilizadas, as temperaturas sob as quais os ensaios foram desenvolvidos ou as variedades empregadas.

5.5.2.2. Inoculação do solo

Os resultados negativos obtidos quanto à germinação e posterior desenvolvimento das plantas, após a inoculação do solo com os diversos isolados, discordam do relatado por NGUYEN et alii (1973) que, com a mesma técnica de inoculação utilizada neste trabalho obtiveram severa infecção em plantas de arroz ocasionada pela espécie *M. verrucaria*. A di-

ferença entre esses resultados e aqueles, por nos obtidos, pode também ser devida aos mesmos fatores citados no item 5.5.2.1.

5.5.2.3. Inoculação de folhas

A observação de lesões foliares nas plantas de arroz inoculadas com suspensão de esporos em pulverização de *M. verrucaria* - isolados 193H e 233H - está de acordo com o relatado por SINGH e AUJLA (1965), DE CAROLIS et alii (1972) e NGUYEN et alii (1973).

Os resultados obtidos neste trabalho referentes as inoculações foliares realizadas com a espécie *M. rotundum* - isolado 216H - em plantas de arroz confirmam os relatos de NGUYEN et alii (1973) e ALMEIDA et alii (1980), que anteriormente já se referiram à patogenicidade dessa espécie quando inoculada por pulverização em folhas de arroz.

A espécie *M. indicum* - isolado 228H, responsável por lesões foliares observadas no presente trabalho, vem confirmar o relatado por PAVGI et alii (1966), que citam essa espécie como patogênica ao arroz. Deve ser ressaltado entretanto, que a classificação dessa espécie como *M. indicum* foi feita de acordo com ELLIS (1971), cuja descrição difere da apresentada por PAVGI et alii (1966).

A espécie *Myrothecium* sp. - isolados 104H e 234H apresentou pouca patogenicidade.

Pela Tabela 11 observa-se que os cultivares de irrigado - IAC 899, IAC 1278, IAC 4440 e IR 841 - mostraram-se mais suscetíveis que os de sequeiro - Batatais, IAC 25, IAC 47, IAC 164 e IAC 165 - provavelmente devido ao fato dos cultivares de irrigado terem sido cultivados em condições de sequeiro, e portanto, fora de seu "habitat" natural, como também por serem oriundos de material estrangeiro, sem adaptação

as nossas condições.

5.5.2.4. Inoculação das hastes

A reação de cada um dos cultivares de arroz foi pouco variável quando inoculados com os isolados de *M. verrucaria* - 193H e 233H, *M. indicum* - 228H e *M. roridum* 216H, evidenciando que a patogenicidade dessas espécies é praticamente a mesma quando este foi o método de inoculação utilizado. Conforme pode ser observado na Tabela 12, todos os 9 cultivares de arroz inoculados com estes 4 isolados apresentaram sintomas predominantes do tipo S- suscetível, ou MS- moderadamente suscetível. Esses resultados concordam com o obtido por MALAVOLTA et alii (1984), que verificaram esses mesmos tipos de sintomas em 17 cultivares inoculados com a espécie *M. verrucaria*. Por outro lado, complementam aqueles obtidos por AMARAL et alii (1980) que, inoculando por esse método 1 isolado de *M. verrucaria* em vários cultivares de arroz, obtiveram sintomas de escurecimento das hastes apenas no cultivar IR 841. Essa diferença de resultados pode ser atribuída a variações na idade das plantas quando inoculadas.

Os isolados de *Myrothecium* sp. - 104H e 234H apresentaram pouca patogenicidade, concordando com o observado nas inoculações foliares realizadas por pulverização.

5.5.2.5. Inoculação das bainhas das folhas bandeira.

A inoculação das bainhas das folhas bandeira foi feita somente em 4 cultivares de ciclos vegetativos semelhantes, e que encontravam-se, na mesma época, no estágio final do emborrachamento.

Os isolados de *Myrothecium* sp. - 104H e 234H induziram, por esse método de inoculação, somente reações do tipo R - resistente, evidenciando mais uma vez a pouca patogenicidade desses isolados, conforme os resultados obtidos nos 2 métodos de inoculação anteriores - pulverização foliar e injeção nas hastes de plantas.

Os isolados de *M. verrucaria* - 193H e 233H , *M. rosidum* - 216H e *M. indicum* - 228 H foram altamente patogênicos, induzindo sempre o aparecimento de reação de suscetibilidade nas panículas dos 4 cultivares inoculados, concordando com os resultados obtidos por DE CAROLIS et alii (1972), que provaram a patogenicidade de *M. verrucaria* a plantas de arroz, aplicando este método de inoculação.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- Fungos do gênero *Myrothecium* podem ser patogênicos ao arroz, tendo sido constatadas 3 espécies altamente patogênicas ocorrentes em nosso meio: *M. verrucaria*, *M. indicum* e *M. rotidum*.
- Dois isolados do gênero *Myrothecium*, estudados neste trabalho, cuja espécie não foi possível identificar, foram pouco patogênicos as plantas de arroz.
- As espécies *M. verrucaria*, *M. indicum* e *M. rotidum* podem ser preservadas, por período mínimo de 1 ano, sem perda de suas características morfo-fisiológicas e patogenicidade, pelos métodos de água destilada estéril e liofilização.
- O ótimo de temperatura para o crescimento miceliano de fungos do gênero *Myrothecium* encontra-se compreendido entre 27 e 33°C.
- Há diferenças entre as várias espécies estudadas do gênero *Myrothecium* quanto às características do esporodóquio, dimensões dos esporos, ótimo de temperatura, crescimento miceliano radial, capacidade de esporulação e resposta aos métodos de preservação.

- Nas inoculações realizadas por pulverização com suspensões de esporos dos isolados de *M. verrucaria* - 193H e 233H, *M. rotidum* - 216H e *M. indicum* - 228H, os cultivares de irrigado - IAC 899, IAC 1278, IAC 4440 e IR 841 - mostraram-se de maneira geral, mais suscetíveis que os de sequeiro-Batatais, IAC 25, IAC 47, IAC 164 e IAC 165.
- Os cultivares , tanto de sequeiro como de irrigado, apresentaram reação pouco variável quando inoculados mediante inoculações nas hastes e nas bainhas das folhas bandeira com os quatro isolados que se mostraram altamente patogênicos, evidenciando semelhança na resistência dos cultivares.
- A patogenicidade de *M. verrucaria*, *M. rotidum* e *M. indicum* foi pouco variável, considerando cada um dos 9 cultivares estudados.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, A.M.R., M.KASTER e F.C.ALBUQUERQUE, 1980. Ocorrência de *Myrothecium roxidum* Tode ex. Fr. em soja (*Glycine max* (L.) Merrill) no Estado do Piauí. Fitopatologia Brasileira. Brasília, 5: 129-33.
- AMARAL,R.E.M. e A.S.RIBEIRO, 1971. Informe sobre as doenças do arroz no Brasil. In: Contribuições técnicas da delegação brasileira à 2ª Reunião do Comitê de Arroz para as Américas da Comissão Internacional de Arroz - F.A.O., Pelotas, RS. p. 133-47.
- AMARAL,R.E.M., E.ISSA, V.M.A.MALAVOLTA, O.M.R.RUSSOMANNO, D. M.SOUZA e O.B.CAMARGO, 1980. Relatório das atividades de senvolvidas pela Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico de São Paulo no ano de 1980, 33 páginas datilografadas, não publicado.
- ARUNYANART,P., A.SURIN, W.ROCHANAHASADIN e S.DISTHAPORN,1982. Rotten disease of azolla. Int. Rice Res. Newsletter, 7: 10-11 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 61: 6745, 1982.

- BAKERSPIGEL, A., 1953. Soil as a storage medium for fungi. Mycologia. New York, 45: 596-604.
- BARBETTI, M.J. e K.SIVASITHAMPARAM, 1981. *Pseudocercospora capsellae* and *Myrothecium verrucaria* on rapeseed in Western Austrália. Australasian Plant Pathology, 10: 43-4 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 61: 4412, 1982.
- BRAVERMAN, S.W., 1971. Myrothecium leaf spot of birdsfoot trefoil. Abst. Phytopathology. St. Paul, 61: 127.
- BUELL, C.R. e W.H.WESTON, 1947. Application of the mineral oil conservation method to maintaining collections of fungous cultures. Am. J. Bot. Baltimore, 34: 555-61.
- CARDOSO, R.M.G. e G.P.B.PITTA, 1982. *Aphelandra squarrosa* Nees, um novo hospedeiro de *Myrothecium roridum* Tode ex. Fr. Biológico. São Paulo, 48: 183-7.
- CHAUHAN, L.S., 1979. A new leaf spot of groundnut caused by *Myrothecium roridum*. Indian Phytopathology, 32: 462-3 apud Rev. Plant Pathology. Kew, 60: 4094, 1981.
- CLENTON, P.K. e W.T.H.PEREGRINI, 1963. The zebra complex of Sisal hybrid nº 11648. E.Afr. Agric. for J., 29: 110-113 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 43: 2288, 1964.
- COGNEE, M. e L.S.BIRD, 1964. *Myrothecium roridum* Tode as a cotton pathogen. Annual Meeting of the Southern Division of the American Phytopathological Society, Atlanta, Ga, Feb. 3-5 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 43: 3382, 1964.
- CUNFER, B.M., J.H.GRAHAN e F.L.LUKEZIC, 1969. Studies on the biology of *Myrothecium roridum* and *M. verrucaria* pathogenic on red clover. Phytopathology. St Paul, 59: 1306-9.

- DE CAROLIS, C., G. MONATERI e B. VILLA, 1972. *Myrothecium verrucaria* (Alb. et Schw.) Ditm. ex. Fr. su riso in Itália. Il riso. Milão, XXI: 253-8.
- ELLIS, M.B., 1971. *Dematiaceous hyphomycetes*. Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute, p. 552-6.
- FIGUEIREDO, M.B., 1967. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos de plantas. Biológico. São Paulo, 33: 9-13.
- FIGUEIREDO, M.B. e C.P.V. PIMENTEL, 1975. Métodos utilizados para conservação de fungos na micoteca da Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico. Summa Phytopathológica. Piracicaba, 1: 299-302.
- FREIRE, F.C.O., 1979. Ocorrência de *Myrothecium noridum* Tode ex. Fr. sobre juta (*Corchorus capsularis* L.) na Amazônia (no prelo) apud ALMEIDA, A.M.R., 1980. Fitopatologia Brasileira. Brasília, 5: 129-133.
- GAUTAM, S.R. e R.L. MUNJAL, 1979. *Myrothecium* leaf spot of hop. Indian Phytopathology, 32: 290-1 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 60: 3282, 1981.
- GAYED, S.K. e M.C. WATSON, 1975. Diseases of flue-cured tobacco in Ontario and estimates of disease losses, 1972-73. Canadian Plant Disease Survey, 55: 31-35 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 55: 3733, 1976.
- GREENE, H.C. e E.B. FRED, 1934. Maintenance of Vigorous mold stock cultures. Ind. Eng. Chem. Washington, 26: 1297-9.
- GROSU, R. e A. HULEA, 1973. Morphogenesis, sporogenesis, cultural and physiological features of *Myrothecium verrucaria*

- (Alb. et Schw.) Ditm. ex. Fr. Rev. Roum. Botanique,
Biol. Bucarest, 18: 219-25
- HESSELTINE, C.W., B.J. BRADLE e C.R. BENJAMIN, 1960. Further investigations on the preservation of molds. New York, 52: 762-74. Mycologia.
- HUMPHREY-JONES, D.R., 1980. *Myrothecium roridum* leaf blotch on *Kolkwitzia amabilis*. Plant Pathology, 29: 55 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 60: 1476, 1981.
- ISSA, E., R.E.M. AMARAL, D.M. SOUZA e N.V. BANZATTO, 1973. Resistência varietal do arroz à brusone, à mancha parda e à "mulata". Biológico. São Paulo, 39: 321-335.
- ISSA, E., R.E.T. MELLO, D.M. SOUZA e N.V. BANZATTO, 1967. Resistência varietal do arroz à brusone, à mancha parda e à emulata. Rev. Soc. Bras. Fitopatol., 1: 11-2.
- JYOTI SINGH e U. NARAIN, 1980. Three new diseases of ornamental plants from India. National Academy Science Letters, 3: 261-2 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 61: 4172, 1982.
- KANAUJIA, R.S., 1977. A new leaf spot disease of *Nyctantes arbor-tristis* caused by *Myrothecium verrucaria* from India. Indian Phytopathology, 30: 291-2 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 58: 1892, 1979.
- KUMAR, S. e M.P. TANDON, 1978. A new fruit rot of *Carissa*. Indian Phytopathology, 31: 105 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 58: 5448, 1979.
- LASCA, C.C. 1981. Consultas de números 12 e 60 do ano de 1981, registradas na Seção de Micologia Fitopatológica do Instituto Biológico. Não publicado.

- LAXMINARAYANA, P. e S.M.REDDY, 1978. Some new post-harvest diseases of chillies. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 8: 202-3 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 59: 4872, 1980.
- LEATH, K.T. e W.A.KENDALL, 1983. *Myrothecium noridum* e *M. verrucaria* pathogenic to roots of red clover and alfafa. Plant Disease. Beltsville, 67: 1154-5.
- LITTRELL, R.H., 1965. A *Myrothecium* rot of gloxinias. Pl. Dis. Repr., 49: 78-80 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 44: 1586, 1965.
- MAHANTA, I.C. e G.SATYANARAYANA, 1978. Occurrence of *Myrothecium leucotrichum* (PK) Tulloch in tea soils of north east India. Two and a Bud, 25: 92-4 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 59: 1871, 1970.
- MALAVOLTA, V.M.A., R.E.M.AMARAL e J.ALEXANDRE, 1979. Fungos constatados na cultura do arroz em diferentes regiões do Brasil. Biológico, São Paulo, 45: 159-164.
- MALAVOLTA, V.M.A., R.E.M.AMARAL e O.M.R.RUSSOMANNO, 1984. Patogenicidade do fungo *Myrothecium verrucaria* (Alb. et Schw.) Ditm. ex Fr. em cultivares de arroz. In: XVII Congresso da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, São Paulo, SP. Fitopatologia Brasileira. Brasília, 9: 323.
- NATH, R., M.L.SETH e S.P.RAYCHAUDHURI, 1966. A new blight disease of Brinjal caused by *Myrothecium noridum* Tode ex Fr. Indian Phytopath., 19: 224-5 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 46: 2927, 1967.

- NATH, R., S.B.MATHUR e P.NEERGAARD, 1970. Seedborne fungi of Mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) from India and their significance. Proc. int. Seed. Test. Ass., 35: 225-41 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 50: 397, 1971.
- NGUYEN, T.H., S.B.MATHUR e P.NEERGAARD, 1973. Seed borne species of *Myrothecium* and their pathogenic potential. Trans. Br. Mycol. Soc. London, 61: 347-54.
- PAVGI, M.S.; R.A.SINGH e R.DULAR, 1966. Some parasitic fungi on rice from India. II. Mycopath. Mycol. Appl. The Hague, 30: 314-22.
- PAVGI, M.S. e R.UPADHYAY, 1967. Some parasitic fungi on Turmeric from India. Sydowia, 21: 100-104 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 48: 1889, 1969.
- PIMENTEL, C.P.V., G.P.B.PITTA e M.B.FIGUEIREDO, 1980. Preservação da patogenicidade de alguns fungos conservados em água destilada. Biológico, São Paulo, 46: 279-308.
- PONNAPPA, K.M., 1971. A highly virulent strain of *Myrothecium roxidum* on *Typha bispinosa*. Indian J. Mycol. P. Path., 1: 90-98 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 51: 4763, 1972.
- RAO, V.G. e V. SUBRAMONIAM, 1974. Studies into *Myrothecium* rot of cucumber. Rivista di Patologia Vegetale, IV, 10: 411 - 426 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 55: 3791, 1976.
- SAKSENA, H.K. e R.C.TRIPATHI, 1971. *Myrothecium* leaf spot soybean in India. Indian J. Mycol. Pl. Path., 1: 75-6 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 51: 4526, 1972.
- SARMA, B.K., 1981. Diseases of ramie (*Boehmeria nivea*). Tropical Pest Management, 27: 370-4 apud Rev. Plant Pathol.

Kew, 61: 2304, 1982.

SCHIEBER, E. e E. ECHANDI, 1963. *Myrothecium* stem necrosis and leaf spot, a new disease of coffee in Guatemala.

Abst. Phytopathology. St. Paul, 53: 25-6.

SCHNEIDER, R. e H. KUHNE, 1967. *Myrothecium noridum* as a causal agent of shoot and stem rot of *Hypocyrta glabra* in Germany. Nachr Bl. dt. PflSchulzdienst., Stuttg., 19: 75-7

apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 47: 227, 1968.

SHARMA, N. D. e A. C. JAIN, 1977. Three new leaf-spot diseases of *Kalanchoe* spp. Current Science, 46: 831 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 57: 4505, 1978.

SHARMA, N. e K. S. BHARGAVA, 1977. Fruit rot of bittergourd.

Indian Phytopathology, 30: 557-8 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 58: 5082, 1979.

SINGH, D. B. e H. S. SRIVASTAVA, 1967. A new leaf spot disease of *Sesamum orientale* L. caused by *Myrothecium noridum* Tode

ex. Fr. Indian Jnl. Microbiol., 7: 39-40 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 47: 868, 1968.

SINGH, D. V., R. S. SINGH e H. S. SRIVASTAVA, 1967. *Myrothecium*

leaf spot of *Vinca rosea* L. Sci. Cult., 33: 70-1 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 46: 2449, 1967.

SINGH, I. D. e R. S. DWIVEDI, 1978. Leaf spot disease of *Ixora passiflora*. Indian Phytopathology, 31: 358-9 apud Rev.

Plant Pathol. Kew, 59: 2865, 1980.

SINGH, M. e S. S. AUJLA, 1965. *Myrothecium verrucaria* Ditm. ex.

Fr. on rice in Punjab. Jnl Res., Ludhiana, 2: 120-1 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 46: 2016, 1967.

SRIVASTAVA, R.N. e J.S.GUPTA, 1980. Leaf blight disease of *Zinnia* - a new host record from India. Indian Phytopathology, 33: 633 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 61: 4196, 1982

logy, 33: 633 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 61: 4196, 1982

STEBBINS, M.E. e W.J.ROBBINS, 1949. Mineral oil and preservation of fungous cultures. Mycologia. New York, 41: 632-6.

TANDON, R.N. e M.P.SRIVASTAVA, 1963. Myrothecium rot of Tomato. Curr. Sci., 32: 426-7 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 43: 1151, 1964.

TEWARI, J.P. e W.P.SKOROPAD, 1977. *Myrothecium noridum* a potential pathogen of rapeseed and mustard in Alberta. Canadian Plant Disease Survey, 57: 37-41 apud Rev. Plant Pathol. Kew, 57: 5737; 1978.

THOMPSON, H.S. 1961. Petal blight, a new disease of the *Canna* "Pfitzer's Dwarf". Canad. J. Pl. Sci. 41: 503-6 apud Rev. Appl. Mycol. Kew, 41: 91, 1962.

TUITE, J. 1969. Plant Pathological Methods - Fungi and Bacteria. Minneapolis, Minn., Burgess Publishing Company, 239p.

YUSEF, H.M. e M.E.ALLAM, 1967. The effect of light on growth and sporulation of certain fungi. Mycopath. Mycol. Appl. The Hague, 33: 81-9.