

# VARIABILIDADE DO FUNGO HELMINTHOSPORIUM ORYZAE<sup>1</sup>

NÁRA REGINA GERVINI SOUSA<sup>2</sup>, ALCÉU SALLABERRY RIBEIRO<sup>3</sup>  
e JOSÉ GALLI<sup>4</sup>

**RESUMO** - Foi estudado, em casa de vegetação, o comportamento de dez isolados de *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan, com o objetivo de avaliar a variabilidade desse fungo. Na ausência de uma série diferencial conhecida e padronizada para *H. oryzae*, foram utilizadas as cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) Bluebelle, EEA 406, Caloro, BR-IRGA 410, Dawn, Brazos, Stirpe, IRGA 408, Lebonnet e IV-29-4, as quais foram inoculadas quando as plantas atingiram a idade de 30 dias após a emergência. Os isolados H-1 a H-10, obtidos de folhas, colmos e sementes de arroz coletadas em diferentes locais, foram inoculados na série diferencial após o seu cultivo em meio de cultura batata-dextrose-agar (BDA) + estreptomicina (100 µg/l). De cada um dos isolados originais que apresentaram maior virulência (H-1, H-5 e H-8), foram feitos cinco isolados monospóricos e novamente inoculados na série diferencial. Os resultados obtidos mostraram que, tanto entre os isolados originais como dentro dos mais virulentos (monospóricos), foram observadas variações em características culturais. Entretanto, não houve interações diferenciais em patogenicidade entre isolados e cultivares.

Termos para indexação: arroz, mancha-parda, raças fisiológicas.

## VARIABILITY IN THE HELMINTHOSPORIUM ORYZAE FUNGUS

**ABSTRACT** - Cultural and pathogenic variation in *Helminthosporium oryzae* was studied using 10 isolates under greenhouse conditions. In the absence of a known and standard differential set for *H. oryzae*, 10 cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) Bluebelle, EEA 406, Caloro, BR-IRGA 410, Dawn, Brazos, Stirpe, IRGA 408, Lebonnet and IV-29-4, were used. Pathogenicity tests were conducted on 30-day old plants. The fungus isolates (H-1 to H-10), obtained from leaves, culms, and/or rice seeds collected from different localities were inoculated on the differential set. The cultures were maintained on Potato - Dextrose-Agar + Streptomycin (100 µg/l). Five single monosporic isolates obtained from each one of the three aggressive original isolates (H-1, H-5 and H-8) were tested on the differential set. The results showed variation in cultural characters between the original isolates and within the more aggressive ones (monosporic). However, differential interaction in pathogenicity was not observed among the isolates and cultivars.

Index terms: rice, brown spot disease, physiological races.

## INTRODUÇÃO

A doença denominada mancha-parda, causada pelo fungo *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan, é considerada danosa para a cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) na maioria dos países produtores

deste cereal, dada a sua ampla distribuição e às perdas que causa na produtividade, notadamente nos cultivos realizados em solos pobres ou degradados (Padwick 1950, Hashioka 1970, Ou 1972).

Na América do Sul, essa moléstia tem sido mais danosa nas regiões tropicais, conforme registros feitos na Colômbia, em 1940, por Bernal C. (Padwick 1950), no Suriname, por Klömp (1977), e no Brasil, por Prabhu et al. (1980).

Em nosso país, a doença é comum tanto nos cultivos em sequeiro como no irrigado, como foi relatado por Amaral & Ribeiro (1972) e Bedendo & Prabhu (1979). Entretanto, segundo Ribeiro (1979), nas lavouras irrigadas do Estado do Rio Grande do Sul, situado em região subtropical, os danos da mancha-parda são menores do que os verificados nas regiões tropicais. Contudo, nos últimos anos, com a introdução, nas lavouras, das cultivares de arroz de porte moderno (semi-anão),

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 20 de junho de 1984

Trabalho realizado na UEPAE-Pelotas - Convênio EMBRAPA/UFPEL, como parte da Dissertação apresentada pelo primeiro autor ao Curso de Fitomelhoramento da UFPEL, para obtenção do grau de Mestre.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., aluno do Curso de Pós-Graduação em Fitomelhoramento da UFPEL. Bolsista do CNPq; atualmente M.Sc., Pesquisador da EMPA - MT, Caixa Postal 191, CEP 78700 Cáceres, MT.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., M.Sc., EMBRAPA/Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual (UEPAE de Pelotas), Caixa Postal 553, CEP 96100 Pelotas, RS.

<sup>4</sup> Eng. - Agr., M.Sc., Professor do Departamento de Fitotecnia da FAEM/UFPEL e Pesquisador do Convênio EMBRAPA/UFPEL, Caixa Postal 553, CEP 96100 Pelotas, RS.

mais suscetíveis à mancha-parda, e com a repetição mais freqüente da cultura nas mesmas áreas, tem aumentado muito a severidade da doença no Rio Grande do Sul (Ribeiro 1979).

Com relação à taxonomia do agente causal da mancha-parda, a espécie *H. oryzae*, segundo Ou (1972), foi transferida em 1966 para o novo gênero *Dreschlera*, passando a ser denominada *Dreschlera oryzae* (Breda de Haan) Subr. & Jain. Entretanto, este novo nome ainda é pouco usado, em virtude da consagração do nome anterior, pelo grande número de trabalhos publicados com ele. Esta espécie de fungo também pode ser encontrada na sua forma perfeita ou sexuada, denominada *Cochliobolus miyabeanus* (Ito & Kurib.) Drech. & Dast.

Segundo vários autores, citados por Padwick (1950), Hashioka (1970) e Ou (1972), o fungo *H. oryzae*, de maneira semelhante à outras espécies de *Helminthosporium*, freqüentemente forma saltantes, dependendo da natureza do meio e da temperatura de cultivo. Diversos autores, citados por Ou (1972), também determinaram que o fungo possui vários núcleos por célula, aparecendo mais seguidamente dois ou quatro. Essa presença de vários núcleos numa mesma célula caracteriza a condição heterocariótica desse fungo, o que, segundo Azevedo (1976), representa maior fonte de variação.

A existência de variações, em *H. oryzae*, quanto à morfologia, fisiologia e virulência, foi noticiada há muitos anos por Nisikado, segundo citação de Ou (1972). Em 1937, Tochinai & Sakamoto, também citados por Ou (1972), estudando 132 isolados monospóricos desse patógeno em quatro meios de cultura não especificados, e inoculando-os sobre quinze cultivares de arroz, observaram a formação de saltantes, variação morfológica, e uma ampla variabilidade na patogenicidade desses isolados, indo desde o extremamente virulento ao pouco patogênico. Em 1962, Nawaz & Kausur, citados por Ou (1972), também obtiveram resultados semelhantes aos de Tochinai & Sakamoto, enquanto que Padmanabhan, em 1953, considerou que não houve especialização em patogenicidade.

Vorruarai & Giatgong, em 1970, segundo cita Ou (1972), encontraram variação de patogenicidade entre isolados monospóricos precedentes de uma cultura e, inclusive, entre isolados obtidos de

pontas de hifas provenientes de uma única célula.

Misra (1979) observou diferenças na resposta de cultivares de arroz ao fungo *H. oryzae*, e cita que mais tarde Misra & Chatterjee indicaram a existência de raças dentro das espécies de *Helminthosporium* ocorrentes na Índia. Segundo esse mesmo autor, em 1964, Misra & Mukerjee também induziram a formação de saltantes do fungo. Em estudos mais detalhados, com nove isolados de *H. oryzae*, observaram que dois deles, procedentes de locais diversos, diferiram marcadamente no tamanho dos conídios, no crescimento de micélio, na virulência e na série de hospedeiros, de outros dois isolados obtidos de um mesmo local.

Segundo Padwick (1950), em 1930, Matsura observou que os saltantes de *H. oryzae* formam placas brancas no micélio, na temperatura de 28°C, mas que essa coloração reverte para uma tonalidade escura, quando a temperatura é superior ou inferior a esse ponto.

Com relação à esporulação, Sherf et al., citados por Ou (1972), constataram, em 1947, que muitas raças de *H. oryzae* não produzem quantidade suficiente de conídios em meio de cultura, mantendo apenas o crescimento micelial.

Outras indicações da variabilidade do fungo *H. oryzae* foram observadas sobre espécies de plantas, notadamente gramíneas, que não arroz. Assim, conforme cita Ou (1972), Tochinai & Sakamoto, em 1937, encontraram suscetibilidade a algumas raças do fungo em plantas de milho, trigo, aveia e centeio.

Segundo Ou (1972), em 1940, Thomas informou que o fungo atacou intensamente trigo e *Setaria italica*; em milho, aveia e *Eleusine coracana*, a infecção foi fraca, enquanto que o sorgo não foi atacado. Já Shaw, em 1921, também citado pelo mesmo autor, encontrou um isolado de *Helminthosporium* sp. procedente de trigo que atacou o arroz, e outra de arroz que foi patogênico a milho, sorgo, cevada, aveia e cana-de-açúcar.

Ou (1972) cita também que Ocfemia, em 1924, obteve infecção em vinte e três gêneros de gramíneas por meio de inoculações artificiais.

Silva (1958), cita que Ganguly, em 1946, considerou que existe um grande número de gramíneas suscetíveis a *H. oryzae*, mas somente através de inoculações artificiais.

Pelas referências estudadas, depreende-se que a existência de variabilidade, patogênica ou não, no fungo *H. oryzae*, dificilmente pode ser contestada, embora existam discordâncias entre alguns dos autores citados. Sua quantificação, porém, é ainda pouco estimada, agravando-se a desinformação no que se refere às condições particulares do Rio Grande do Sul. Por isso, foi realizado este trabalho, com o objetivo de estudar a variabilidade, na população desse fungo, sob as condições deste Estado.

### MATERIAL E MÉTODOS

As pesquisas foram realizadas no período compreendido entre outubro de 1980 e agosto de 1981, no Laboratório de Fitopatologia e nas casas de vegetação da Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual (UEPAE) de Pelotas, RS, dentro do Convênio EMBRAPA/UFPEL.

Inicialmente, tendo em vista a ausência de uma série diferencial conhecida para identificação de raças de *H. oryzae*, foi testado preliminarmente um grupo de dez cultivares: Bluebelle, EEA 406, Caloro, BR-IRGA 410, Dawn, Brazos, Stirpe, IRGA 408, Lebonnet e IV-29-4, inoculado com alguns isolados do fungo que já existiam no Laboratório de Fitopatologia, para observar as suas reações à mancha-parda. Igualmente, nesses trabalhos preliminares, foram experimentados alguns meios de cultura visando determinar melhor esporulação do fungo (Batata-Dextrose-Agar, Richard, Richard + Extrato de levedura, Aveia-Agar e Farinha de grãos de sorgo-Agar) e a idade adequada para a inoculação das plantas de arroz, na fase vegetativa (30-35 e 40 dias após a emergência).

Os resultados iniciais permitiram escolher as cultivares inoculadas como série diferencial, o meio de cultivo Batata-Dextrose-Agar (BDA) + Estreptomina (100 µg/l), e a idade de 30 dias após a emergência. Escolheu-se o meio de cultura BDA, não só pelo seu comportamento satisfatório, como também por se tratar de meio comumente usado no Laboratório da UEPAE/Pelotas. Quanto à idade de inoculação das plantas, escolheu-se a de 30 dias, visando maior aproveitamento do tempo e pelo fato de as reações observadas nos testes preliminares terem coincidido com os resultados obtidos por Bedendo & Prabhu (1979).

Superadas as dificuldades iniciais, e com a aquisição do domínio no manuseio do fungo e das cultivares hospedeiras, foram iniciadas as pesquisas planejadas para avaliar a variabilidade de *H. oryzae*, seguindo as etapas descritas adiante.

#### Obtenção dos isolados de *H. oryzae*

Com exceção dos isolados H-1 e H-2, que já existiam em meio de cultura, no Laboratório de Fitopatologia (UEPAE/Pelotas), os demais foram obtidos de folhas, colmos e sementes de arroz com sintomas de mancha-

-parda, de diferentes procedências (Tabela 1). Tanto o tecido doente como as sementes foram previamente desinfestados com solução de hipoclorito de sódio na proporção de 1 parte de hipoclorito de sódio (5% de cloro ativo) por 3 partes de água destilada esterilizada.

a. **Isolados simples** - Para a obtenção desses isolados foram usados os métodos de transferência direta de fragmentos de tecido doente e de esporos formados sobre sementes para o meio de cultura BDA + Estreptomina (100 µg/l).

b. **Isolados monospóricos** - Para os isolamentos monospóricos usou-se o método de Keit, com algumas modificações (Rangel 1940). A partir de colônias de *H. oryzae* desenvolvidas em BDA + Estreptomina (100 µg/l), foram diluídas suspensões com baixa concentração de esporos para o meio de cultura Agar-Água. Logo após, com o auxílio de um anel cortador acoplado à objetiva de 5X do microscópio, foram retirados esporos bem afastados de outros, junto com uma pequena porção do meio, e transferidos, individualmente, para tubos com meio de cultura BDA + Estreptomina (100 µg/l).

Os isolados monospóricos germinados, bem como os isolados simples, foram mantidos em condições normais de cultivo por 12 dias, numa temperatura entre 25°C e 28°C, com luz fluorescente, num regime de 12/12 horas de luz e escuro, aproximadamente.

#### Determinação da variabilidade dos isolados

Utilizando-se os dez isolados simples, foram realizados os estudos de sua variabilidade em características culturais em laboratório, "in vitro" (crescimento, coloração, formação de saltantes e esporulação) e em patogenicidade em casa de vegetação.

a. **Variabilidade in vitro** - Durante o período de cultivo dos isolados, por 12 dias, foram realizadas as avaliações da variabilidade dos mesmos sob condições de cultura "in vitro". Para tal, foi realizado um experimento em placas-de-Petri (11 cm Ø) com meio de cultura BDA + Estreptomina (100 µg/l), delineado em blocos ao acaso com quatro repetições. Em cada parcela (placa) foi acompanhado e avaliado o crescimento vegetativo micelial, mediante a medida do diâmetro médio das colônias desenvolvidas a partir de um disco de colônia de *H. oryzae*, com 0,5 cm de diâmetro, transferido para o centro das placas. A coloração das colônias e a formação de saltantes também foram sendo observadas e anotadas durante o período de cultivo dos isolados do fungo.

Quanto à esporulação, foi avaliada aos doze dias, pela preparação de suspensões de esporos em cada placa, mediante a coloração de 10 ml de água destilada esterilizada, adicionada de Tween 20 (Polioxiétileno sorbitol monolaurato 20%) a 0,02%, seguida da raspagem das colônias com um bastão de vidro, e a posterior retirada de gotas da suspensão de esporos, por meio de uma alça circular de 0,5 cm de diâmetro, para lâminas de microscopia. Essas gotas, por sua vez, foram cobertas com uma

TABELA 1. Identificação e origem dos isolados de *H. oryzae* utilizados nos estudos de variabilidades do fungo.

Número	Ano <sup>a</sup>	Município (RS)	Cultivar <sup>b</sup>	Órgão <sup>c</sup>
H-1	1974	Cachoeirinha	EEA 406	folhas
H-2	1976	Cachoeirinha	Japonês Moti	folhas
H-3	1980	Santa Vitória do Palmar	BR-IRGA 409	folhas
H-4	1980	Pelotas	EEA 406	folhas
H-5	1980	Pelotas	Bluebelle	sementes
H-6	1980	Pelotas	Bluebelle	sementes
H-7	1980	Pelotas	Bluebelle	panículas
H-8	1980	Pelotas	Bluebelle	panículas
H-9	1980	Pelotas	EEA 406	panículas
H-10	1980	Pelotas	BR-IRGA 410	panículas

<sup>a</sup> Ano em que foi coletada a amostra de arroz com mancha-parda.

<sup>b</sup> Cultivar de arroz a partir da qual o fungo foi isolado.

<sup>c</sup> Órgão da planta de arroz atacada.

lâmina de 20 x 20 mm e observadas ao microscópio, sob um aumento de 125X (Ocular 12,5X e objetiva 10X), mediante a contagem de dez campos visuais, sendo a média deles considerada como valor de esporulação de cada parcela.

#### b. Variabilidade em patogenicidade em casa de vegetação

Em casa de vegetação, utilizando-se os dez isolados simples e as dez cultivares escolhidas como diferenciais, foi efetuado um experimento fatorial  $10^2$ , em delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições. Cada parcela consistiu de um vaso de barro (10 cm de diâmetro, por 8 cm de altura), contendo solo areno-argiloso proveniente do campo experimental da UEPAE/Pelotas, onde foram semeadas quinze sementes de uma única cultivar. Após a germinação, o número de plantas foi ajustado para dez por vaso, mediante a eliminação das excedentes. Não foi utilizada adubação de base, sendo apenas colocada uma cobertura, aos 20 dias, com 2 g de uréia diluída em água, para os 300 vasos.

Para a inoculação das cultivares foram preparadas suspensões de esporos, pela raspagem das culturas do fungo com um bastão de vidro, em água destilada estéril adicionada de Tween 20 (Polioxietileno sorbitol monolaurato 20%) a 0,02%.

O potencial de inóculo foi avaliado pela contagem do número médio (10 contagens) de conídios por campo microscópio de 125X (ocular 12,5X e objetiva 10X). O número foi padronizado para 20 conídios, por meio de diluições ou acréscimo de mais esporos. As inoculações foram feitas por meio da pulverização de 30 ml de inóculo para cada 300 plantas.

Após as inoculações, as plantas foram incubadas, sob condições de alta umidade relativa, por um período de

7-10 dias, após o qual procedeu-se à avaliação visual das reações à mancha-parda. Para tal, usou-se a escala proposta pelo International Rice Research Institute (1975) e adotada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1977) para avaliação da severidade da mancha-parda, com notas de 1 a 9 (Tabela 2).

Para comparação das reações das cultivares, as notas obtidas foram separadas, por classes (International Rice Research Institute 1975), em: resistentes (notas 1 - 3), intermediárias (notas 4 - 6) e suscetíveis (notas 7 - 9).

#### Determinação da variabilidade intra-isolados

Com base nos dados obtidos no experimento anterior, escolheram-se três isolados mais virulentos, a partir dos quais foram feitos cinco isolados monospóricos de cada um, como já descrito.

Com esses isolados monospóricos, foram realizados três experimentos fatoriais  $5 \times 10$  (5 isolados monospóricos x 10 cultivares de arroz), em delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições. Cada parcela foi formada nas mesmas condições do experimento anterior, usando-se o mesmo grupo de cultivares já testadas.

A adubação, o preparo das suspensões de inóculo, a inoculação, a incubação e a avaliação das reações foram realizados de acordo com a mesma metodologia usada no estudo dos isolados simples.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Determinação da variabilidade dos isolados

Os resultados destes experimentos estão representados pelas características dos isolados em meio de cultura "in vitro", no laboratório (Tabela 3) e

pelas reações das cultivares diferenciadoras inoculadas em casa de vegetação (Tabela 4).

Comparando-se as características dos isolados "in vitro", verifica-se que houve diferença entre elas, notadamente quanto à esporulação, coloração das colônias e formação de saltantes. Tais variações comprovaram a variabilidade existente entre os isolados estudados, quanto ao seu crescimento, coloração e esporulação, concordando com diversos

autores citados por Ou (1972) e Matsura, citado por Padwick (1950).

Com relação à esporulação, a variação foi maior, tendo sido necessário, em alguns isolados, usar até o dobro do número de frascos de culturas para obter o potencial de inóculo pré-estabelecimento para a inoculação.

No caso do isolado H-2, inclusive, não foi possível atingir o potencial desejado, permanecendo a

TABELA 2. Escala de notas para avaliação visual dos sintomas de mancha-parda (*H. oryzae*) em arroz, proposta pelo International Rice Research Institute (1975) e adotada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (1977).

Notas	Reação <sup>a</sup>	Tipo de lesão	Área foliar afetada (%)
1	R	Pequenas manchas do tamanho da cabeça de alfinete	Menos de 1%
3	MR		1 a 5%
5	I	Manchas típicas de coloração castanho-avermelhada	5 a 25%
7	MS		25 - 50%
9	S	Manchas grandes com centro claro	Mais de 50%

<sup>a</sup> R = resistente; MR = médio-resistente; I = intermediária; MS = médio-suscetível; S = suscetível.

TABELA 3. Variação de crescimento micelial, esporulação e coloração em colônias de dez isolados de *H. oryzae* cultivados em meio de cultura BDA + Estreptomicina. Pelotas, 1981.

Isolados	Diâmetro médio <sup>a</sup> (cm)	Coloração (visual)	Esporos por campo microscópico <sup>b</sup> (nº/125X)
H-1	7	preta-acinzentada <sup>c</sup>	94
H-2	8	cinza-escura	0
H-3	8	cinza-esverdeada <sup>c</sup>	04
H-4	8	cinza-clara <sup>c</sup>	06
H-5	8	preta	55
H-6	7	cinza <sup>c</sup>	02
H-7	8	cinza-clara	85
H-8	8	preta-esverdeada	81
H-9	8	preta-acinzentada	02
H-10	7	preta-esverdeada	93
Média	7,7		42,2

<sup>a</sup> Diâmetro médio da colônia, dez dias após a repicagem.

<sup>b</sup> Média de 10 contagens de conídios por campo microscópico de 125X.

<sup>c</sup> Com formação de saltantes.

TABELA 4. Reação média de dez cultivares de arroz com dez isolados de *H. oryzae*, inoculada em plântulas com 30 dias, em casa de vegetação. Pelotas, 1981.

Cultivares	Isolados									
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9	H-10
Bluebelle	4 <sup>a</sup>	2	3	2	4	2	2	7	2	1
EEA 406	6	2	3	4	7	2	4	7	5	3
Caloro	6	3	4	3	6	3	5	6	5	4
BR-IRGA 410	6	3	3	2	4	2	5	6	3	3
Dawn	6	2	4	3	5	2	2	7	4	2
Brazos	4	2	3	3	5	2	4	6	4	6
Stirpe	7	2	4	4	6	5	3	7	5	3
IRGA 407	4	1	3	2	4	4	3	5	4	2
Lebonnet	4	1	4	3	4	4	4	7	5	2
IV-29-4	6	3	4	4	6	4	3	6	4	4

<sup>a</sup> Reações à mancha-parda: resistente = notas 1 a 3; intermediárias = notas 4, 5 e 6; suscetíveis = notas 7 a 9.

suspensão com 1-2 esporos/125X e muitos fragmentos de micélio.

Quanto as reações à mancha-parda apresentadas pelas plantas das cultivares de arroz inoculadas, verificou-se que os isolados diferiram entre si, o que caracterizou também a existência de diferença de agressividade entre os mesmos.

Relacionando esses resultados com a bibliografia consultada, verificou-se que os mesmos concordam com citações de Padwick (1950), Ou (1972) e Misra (1979), segundo os quais foi observada a existência de variabilidade na patogenicidade desse fungo. Contudo, discordam de Padmanabhan, citado por Ou (1972), que não encontrou diferença de agressividade no fungo.

Entre os isolados estudados (Tabela 4), verificou-se que o H-8, recolhido da cultivar Bluebelle, foi o que apresentou maior agressividade com reações suscetíveis nas cultivares Bluebelle, EEA 406, Dawn, Stirpe, e Lebonnet; as demais foram intermediárias.

Os isolados H-1 e H-5 foram menos agressivos, com apenas uma reação suscetível sobre as cultivares. O H-1, recolhido da cultivar EEA 406, provocou reação suscetível sobre a cultivar Stirpe, e o H-5, recolhido da cultivar Bluebelle, provocou reação suscetível sobre a cultivar EEA 406.

Quanto aos isolados H-9, recolhido da cultivar EEA 406; H-7, da cultivar Bluebelle; H-3, da culti-

var BR-IRGA 409, H-4, da cultivar EEA 406; H-10, da cultivar BR-IRGA 410, e H-2, da cultivar Japonês Moti, apresentaram virulência que variou de média (notas 4 e 5) a fraca (notas 1, 2 e 3), seguindo aproximadamente a ordem relacionada acima. O isolado H-2 foi menos virulento, apenas com reações de resistência, provavelmente em virtude do pequeno número de esporos existentes no inóculo e da menor eficácia do micélio na infecção, concordando com citação de Ou (1972), na qual Sherf et al., em 1947, encontraram, também, menor virulência ao utilizar micélio.

No conjunto, verificou-se maior número de casos de reações suscetíveis (dois) nas cultivares EEA 406 e Stirpe, seguidos por apenas um caso nas cultivares Bluebelle, Dawn e Lebonnet, frente ao isolado H-8, mais virulento. Com exceção desses casos, predominaram as reações intermediárias.

Tal fato caracterizou ausência de interação perfeita entre o patógeno e o hospedeiro, sob o ponto de vista da resistência vertical. Isso mostra que o conjunto de cultivares utilizados não se prestou perfeitamente como série diferencial para *H. oryzae*, ou que as condições sob as quais o trabalho foi realizado, a fertilização e a idade das plantas não foram as mais adequadas para a expressão fenotípica dos genótipos dos hospedeiros e/ou do patógeno. Esta última hipótese pode encontrar

alguma base em citações feitas por Ou (1972), de que alguns autores encontraram maior suscetibilidade com o aumento da idade das plantas.

Entretanto, mesmo com a predominância de reações intermediárias caracterizando a existência de um grau médio de virulência nos isolados inoculados, verificou-se que a população do fungo *H. oryzae*, ocorrente na região, possui variabilidade considerável na sua agressividade. Quando se leva em conta também a variação observada a nível de laboratório, reforça-se mais a convicção de que tais variações não sejam casuais.

#### Determinação da variabilidade intra-isolados

Os resultados dos três experimentos em que se utilizaram cepas monospóricas, obtidas a partir de cada um dos isolados simples H-1, H-5 e H-8, encontram-se nas Tabelas 5 - A, B e C.

Analisando-se os dados da Tabela 5-A, observa-se que houve variabilidade nos isolados monospóricos obtidos do isolado simples H-1. O isolado monospórico H-1<sub>m1</sub> apresentou maior virulência que os demais, ocasionando, inclusive, uma reação de suscetibilidade sobre a cultivar BR-IRGA 410. Nas Tabelas 5-B e 5-C, observa-se pequena varia-

TABELA 5-A. Reações médias de dez cultivares de arroz a cinco isolados monospóricos de *H. oryzae*, obtidos a partir do isolado simples H-1 e inoculados em plântulas com 30 dias, na casa de vegetação. Pelotas, 1981.

Cultivares	Isolados monospóricos				
	H-1 <sub>m1</sub>	H-1 <sub>m2</sub>	H-1 <sub>m3</sub>	H-1 <sub>m4</sub>	H-1 <sub>m5</sub>
Bluebelle	2 <sup>a</sup>	1	1	2	1
EEA 406	2	2	1	1	2
Caloro	5	2	2	3	2
BR-IRGA 410	7	3	2	3	3
Dawn	3	2	1	1	2
Brazos	4	3	2	3	3
Stirpe	3	2	3	3	2
IRGA 408	2	2	1	1	1
Lebonnet	3	1	1	1	1
IV-29-4	1	1	1	1	1

<sup>a</sup> Notas de reações a mancha-parda: 1 - 3 = resistentes; 4 - 6 = intermediárias; 7 - 9 = suscetíveis.

TABELA 5-B. Reações médias de dez cultivares de arroz a cinco isolados monospóricos de *H. oryzae*, obtidos a partir de isolados simples H-5 e inoculados em plântulas com 30 dias, na casa de vegetação. Pelotas, 1981.

Cultivares	Isolados monospóricos				
	H-5 <sub>m1</sub>	H-5 <sub>m2</sub>	H-5 <sub>m3</sub>	H-5 <sub>m4</sub>	H-5 <sub>m5</sub>
Bluebelle	4 <sup>a</sup>	4	5	3	4
EEA 406	4	3	3	4	4
Caloro	4	4	2	4	3
BR-IRGA 410	6	3	3	4	3
Dawn	2	4	2	4	3
Brazos	4	5	3	5	3
Stirpe	4	3	4	5	4
IRGA (408)	4	2	3	3	4
Lebonnet	3	1	3	4	4
IV-29-4	1	1	3	5	3

<sup>a</sup> Notas de reações à mancha-parda: 1 - 3 = resistentes; 4 - 6 = intermediárias; 7 - 9 = suscetíveis.

TABELA 5-C. Reações médias de dez cultivares de arroz a cinco isolados monospóricos de *H. oryzae*, obtidos a partir do isolado simples H-8 e inoculados em plântulas com 30 dias, na casa de vegetação. Pelotas, 1981.

Cultivares	Isolados monospóricos				
	H-8 <sub>m1</sub>	H-8 <sub>m2</sub>	H-8 <sub>m3</sub>	H-8 <sub>m4</sub>	H-8 <sub>m5</sub>
Bluebelle	3 <sup>a</sup>	5	2	2	2
EEA 406	5	4	2	3	2
Caloro	3	4	2	3	3
BR-IRGA 410	3	3	3	3	4
Dawn	4	5	2	3	3
Brazos	4	4	3	3	4
Stirpe	4	3	2	3	5
IRGA 408	5	3	1	2	4
Lebonnet	3	3	1	3	4
IV-29-4	3	2	1	3	3

<sup>a</sup> Notas de reações à mancha-parda: 1 - 3 = resistentes; 4 - 6 = intermediárias; 7 - 9 = suscetíveis.

bilidade com respeito à virulência generalizada de cada monospórico; entretanto, registrou-se reação diferenciada, entre eles, com respeito à cultivar reagente.

Pela análise do conjunto, observa-se que entre os isolados monospóricos utilizados quase não houve diferença em agressividade, exceto entre os isolados monospóricos originários do isolado simples H-1, entre os quais o H-1<sub>m1</sub> diferiu bastante dos outros. Também observou-se que as reações dos isolados monospóricos diferiram sempre das dos isolados simples, a partir dos quais foram obtidos. Esses fatos provavelmente ocorreram em virtude de diferenças nas épocas de inoculação dos isolados simples e dos isolados monospóricos, ou, talvez, também por causa da variabilidade do fungo, de acordo com citações feitas por Ou (1972).

#### CONCLUSÕES

1. O fungo *H. oryzae* apresenta variações "in vitro" quanto ao crescimento, coloração das colônias, formação de saltantes e capacidade de esporulação em diferentes isolados, variações, estas, que dificilmente são casuais.

2. O fungo *H. oryzae* varia, em agressividade, sobre plantas de arroz com 30 dias, entre isolados de diferentes procedências.

3. Entre os isolados monospóricos obtidos de uma cultura simples, o fungo *H. oryzae* varia em agressividade.

#### REFERÊNCIAS

- AMARAL, R.E.M. & RIBEIRO, A.S. Informe sobre as doenças do arroz no Brasil. In: REUNIÃO DO COMITÊ DE ARROZ PARA AS AMÉRICAS, 2., Pelotas, 1971. Brasília, Ministério da Agricultura, DNPEA, 1972. p.133-47.
- AZEVEDO, J.J. Variabilidade em fungos patogênicos. *Summa phytopathol.*, Piracicaba, 2(1):3-15, 1976.
- BEDENDO, I.P. & PRABHU, A.S. Epifitotias de *Helminthosporium oryzae* em arroz, em condições de casa de vegetação. Goiânia, EMBRAPA-CNPAF, 1979. 3p. (EMBRAPA-CNPAF. Pesquisa em Andamento, 10).
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Goiânia, GO. Manual de métodos de pesquisa em arroz. Goiânia, 1977. 106p.
- HASHIOKA, Y. Rice diseases in the world. VII. Disease due to *Sphaeriales, Ascomycetes* (Fungal diseases - 4). *II Riso*, Milano, 19(4):309-38, 1970.
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, Los Baños, Filipinas. Standard evaluation system for rice. Los Baños, 1975. 64p.
- KLÖMP, A.O. Early senescence of rice and *Drechslera oryzae* in the Wageningen Polder, Surinam. *Agric. Res. Rep.*, Wageningen, (859), 1977. 97p.
- MISRA, A.P. Variability, physiologic specialization and genetics of pathogenicity in graminicolous *Helminthosporia* affecting cereal crops. *Indian Phytopathol.* 32(1):1-22, 1979.



- OU, S.H. Rice diseases. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1972. 368p.
- PADWICK, G.W. Manual of rice diseases. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1950. 191p.
- PRABHU, A.S.; LOPES, A.D. & ZIMERMANN, F.J. Infecção da folha e do grão do arroz por *Helminthosporium oryzae* e seus efeitos sobre os componentes de produção. Pesq. agropec. bras., Brasília, 15(2):183-9, 1980.
- RANGEL, J.F. Técnicas fitopatológicas. Separata da R. Soc. Bras. Agron., Rio de Janeiro, 1940. 67p.
- RIBEIRO, A.S. Doenças do arroz irrigado. Pelotas, EMBRAPA-UEPAE de Pelotas, 1979. 44p. (EMBRAPA-UEPAE de Pelotas. Circular Técnica, 3).
- SILVA, M.V. Doenças do arroz. Lisboa, Comissão Reguladora do Comércio de Arroz, 1958. 164p.